

**Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento**

Rodrigo Daniel Genske

**“Efeitos da terapia com Laser de Baixa Potência (GaAs 830 e 904 nm) em
osteoartrite induzida por adjuvante de Freund em ratos *Wistar*”**

São José dos Campos, SP
2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Rodrigo Daniel Genske

“Efeitos da terapia com Laser de Baixa Potência (GaAs 830 e 904 nm) em osteoartrite induzida por adjuvante de Freund em ratos *Wistar*”

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia, como complementação dos créditos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roxo Barja
Orientador: Prof.^a Dra. Marcela Redígolo

São José dos Campos, SP
2005

G294e

Genske, Rodrigo Daniel

Efeitos da terapia com Laser de Baixa Potência
(AsGa 830 e 904 nm) em osteoartrite induzida por
adjuvante de Freund em ratos *Wistar*/ Rodrigo Daniel
Genske. São José dos Campos: UniVap, 2005.
66f.:il.;30cm.

Dissertação apresentada o Programa de Pós-Graduação
em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e
Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba,
2005.

1.Terapia a Laser de Baixa Intensidade 2.Osteoartrite 3.
Adjuvante de Freund 4. Inflamação I. Barja, Paulo
Roxo, Orient II. Redigolo, Marcela, Co- Orient.
III. Título

CDU:616.72

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta Dissertação, por processos fotocopiadores ou transmissão eletrônica.

Assinatura do aluno:



São José dos Campos , 26 de junho de 2005.

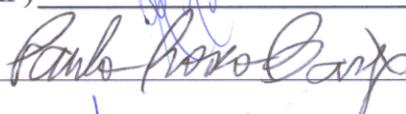
Rodrigo Daniel Genske

Banca Examinadora:

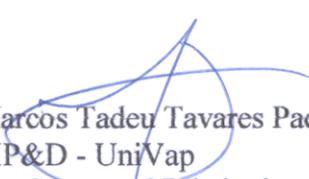
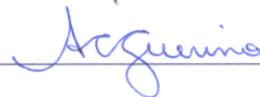
Profª. **Dra. RENATA AMADEI NICOLAU** (UNIVAP)



Prof. **Dr. PAULO ROXO BARJA** (UNIVAP)



Profª. **Dra. ADRIANE GUERINO** (UNIAMÉRICA)



Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D - UniVap
São José dos Campos, 27 de junho de 2005.

Dedicatória

À Deus, fonte de paz e meu guia pelos caminhos percorridos.

Em especial, minha esposa Juliana sem ela com certeza não estaria conquistando este momento... Mãe das minhas grandes paixões, Bruno e Vitor.

E... aos meus pais, Aaron e Marlene que sempre me apoiaram.

Agradecimentos

À Professora Dra. Marcela Redígolo, que me mostrou os caminhos da pesquisa científica, juntamente com a sua calma quando nada estava dando certo, incentivando-me muito, principalmente nos momentos que estava prestes a desistir.

Ao Prof. Dr. Paulo Barja, pela sua paciência e orientação no desenvolvimento deste trabalho, e também agradeço pela amizade em todos os momentos.

Ao Magnífico Senhor Reitor desta Universidade Prof. Dr. Baptista Gargione Filho, ao Excelentíssimo Diretor do IP&D Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco.

Ao Prof. Dr. Marcelo Renato Guerino, que me ajudou com o seu conhecimento já adquirido com pesquisas científicas, me mostrou caminhos à seguir neste trabalho e me forneceu várias bibliografias utilizadas nesta pesquisa.

À Prof. Dra. Adriane Guerino, que mostrou-me vários caminhos que foram percorridos durante toda esta etapa que está sendo vencida.

À amiga Vera (técnica do laboratório de histologia), que com certeza perdeu algumas noites de sono junto comigo para finalizarmos as análises desta pesquisa.

Ao meu grande amigo Prof. Msc. Elton Matias Dias, companheiro de viagens, peça chave nos caminhos trilhados durante a realização da pesquisa.

Aos meus amigos, Fernando (Bira), Flávio e Juliano que conviveram comigo no período de realização da pesquisa, me auxiliando principalmente nos procedimentos práticos de manejo dos animais.

Aos amigos Fábio, Manoel, Gilberto, Rogério, Marcelo Marcos, Getúlio e Márcio que estiveram juntos durante esses 2 anos de mestrado.

À amiga Simone Fonseca, que me deu suporte em vários momentos da realização desta pesquisa.

Ao meu grande amigo João Afonso Ruaro, por ter me ajudado na etapa final de confecção deste trabalho.

Resumo

Este trabalho foi realizado com o intuito de verificar os efeitos terapêuticos do laser de GaAs de 830nm e 904nm no processo inflamatório em articulações de ratos *Wistar*. Foram utilizados 84 animais distribuídos em 3 grupos, sendo um grupo controle com 12 animais, outro grupo com 36 ratos tratados com 830nm e finalmente 36 animais tratados com 904nm. Os animais foram subdivididos e sacrificados com 7, 14 e 21 dias após indução da osteoartrite por adjuvante de Freund e posteriormente realizada análise histopatológica. Na fase inicial houve um aumento significativo ($p < 0,05$) do potencial inflamatório, neovascularização e granuloma epitelióide nos animais tratados com laser em relação ao grupo controle. A fase intermediária apresentou resultados semelhantes ao anterior. Na fase final, foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) do potencial inflamatório, de neutrófilos, de mononucleares e granuloma epitelióide no grupo controle em relação aos grupos tratados. O laser de 904nm apresentou maior neovascularização ($p < 0,05$) na fase inicial e uma redução significativa ($p < 0,05$) de neutrófilos na fase intermediária, comparado ao laser 830nm. Na fase final, o laser de 830nm produziu uma maior neovascularização ($p < 0,05$) em relação ao laser 904nm. Conclui-se que o laser produziu uma resposta terapêutica significativa no controle do processo inflamatório. O laser 904nm obteve um melhor desempenho nas fases inicial e intermediária, entretanto na fase final o laser 830nm apresentou melhores resultados.

Palavras-chaves: Laserterapia de baixa potência, adjuvante de Freund, osteoartrite

Abstract

This work was done in order to verify the therapeutic effects of the laser (GaAs 830nm and 904 nm) on Wistar rats articulation's inflammatory process. For this purpose, 84 animals here distributed in 3 groups, being one control group with 12 animals, another group with 36 rats treated with 830 nm and the last 36 animals treated with 904 nm. The animals were divided again and sacrificed within, 7, 14 and 21 days after osteoarthritis induction and later on histopathologic analysis has been made upon this results. In the initial phase it has been a significant increase ($p<0,05$) of the inflammatory potential, neovascularization and granuloma epithelioid in the animals treated by the laser comparing to the control group. The intermediate phase presented similar results to the initial one. In the final phase, it has been observed a significant increase ($p<0,05$) of the inflammatory potential, of neutrophils, of mononucleasis and granuloma epithelioid in the control group comparing to the treated groups. The 904nm laser presented more neovascularization ($p<0,05$) in the initial phase and a significant reduction ($p<0,05$) of neutrophils in the intermediate phase, comparing to the 830nm laser. In the final phase, the 830 nm laser produced more neovascularization ($p<0,05$) comparing to the other laser. The conclusion is that the laser produced a significant therapeutic in the control of the inflammatory process. The 904nm laser was better in the initial and intermediate phases, but in the final phase the 830 nm laser presented better results.

Key Words: Low intensity laser therapy, Freund's Adjuvant, Osteoarthritis

Lista de Figuras

Fig. 1	Acondicionamento dos animais em gaiola no biotério da UNIOESTE.....	40
Fig. 2	Disposição dos animais nas gaiolas dentro do biotério da UNIOESTE.....	40
Fig. 3	Vista lateral da articulação do joelho do rato sendo submetida a injeção de adjuvante de Freund.....	41
Fig. 4	Indução do processo inflamatório com o Adjuvante de Freund.....	42
Fig. 5	Desarticulação da pata do animal que será utilizado no estudo.....	44
Fig. 6	Presença de neutrófilos e mononucleares caracterizando um processo inflamatório em ratos.....	48
Fig. 7	Caracterização de uma congestão vascular na articulação de ratos com osteoartrite induzida pelo adjuvante de Freund.....	50
Fig. 8	Fibrose cicatricial observada em articulações de ratos com osteoartrite induzida pelo adjuvante de Freund.....	51

Lista de Tabelas

Tab. 1	Divisão dos animais em grupos e cronograma de sacrifícios.....	42
Tab. 2	Avaliação histoquímica do grupo controle que foi submetida avaliação com adjuvante de Freund e posteriormente sacrificados com 7, 14 e 21 dias.....	47
Tab. 3	Valores de média e desvio padrão para os grupos de ratos tratados com laser GaAs 830nm (grupo B) e para os ratos tratados com laser GaAs 904nm (grupo C).....	48
Tab. 4	Correspondente a análise estatística utilizando o Teste de Wilcoxon para os ratos do grupo controle (A) e os ratos tratados com laser de GaAs 830nm (B) e laser GaAs 904nm (C) nos períodos de 7, 14 e 21 dias de sacrifício.....	49
Tab. 5	Valores correspondentes à avaliação entre os subgrupos de ratos tratados com laser GaAs 830nm utilizando o teste de Wilcoxon.....	50
Tab. 6	Valores de p correspondentes à avaliação entre os subgrupos de ratos tratados com laser GaAs 904nm utilizando o teste de Wilcoxon.....	51
Tab. 7	Valores de p referentes à avaliação do laser de GaAs 830nm (B) e do Laser GaAs 904nm (C) nos diferentes períodos.....	52

Lista de Abreviaturas e Siglas

Nm – Nanômetros

Hz – Hertz

HeNe – Hélio-Neônio

GaAs – Arseneto de Gálio

mW – mili Watts

J/cm² – Joules por centímetro quadrado

ATP – Adenosina Trifosfato

% - porcentagem

EDTA – Ácido Etilenodiaminotetracético

mm – milímetros

MMPs – metaloproteases de matriz

BMPs – proteínas morfogenéticas

IL-I – interleucina

FGFs – fatores de crescimento fibroblásticos

W – Watts

g – grama

mL – mililitros

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

RNA – Ácido Ribonucleico

CO₂ - Dióxido de Carbono

UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

PI – processo inflamatório

N – número de neutrófilos

M – mononucleares

CV – congestão vascular

NV – neoformação de vasos

pH – potencial hidrogeniônico

KLD Biossistemas – marca do laser GaAs utilizado

LBP – Laser de baixa potência

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	Osteoartrite.....	15
1.1.1	Definição.....	15
1.1.2	Nomenclatura.....	16
1.1.3	Classificação.....	17
1.1.4	Epidemiologia.....	18
1.1.5	Fatores de risco.....	19
1.1.6	Fisiopatologia.....	19
1.1.7	Quadro clínico.....	23
1.1.8	Achados radiológicos.....	25
1.2	Inflamação.....	25
1.3	Laser Arseneto de Gálio (GaAs)	30
2	JUSTIFICATIVA.....	37
3	OBJETIVOS.....	38
3.1	Objetivo geral.....	38
3.2	Objetivos específicos.....	38
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1	Animais.....	39
4.1.1	Grupos experimentais.....	39
4.2	Indução ao processo inflamatório.....	41
4.3	Aplicação do laser.....	42
4.4	Sacrifício dos animais.....	43
4.5	Histologia.....	44
4.5.1	Descalcificação.....	44
4.5.2	Técnica e preparo das lâminas e coloração.....	45
5	RESULTADOS.....	47
6	DISCUSSÃO.....	53
7	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60
	Anexo A.....	66

1. INTRODUÇÃO

A radiação laser (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação) apresenta as seguintes características principais: é monocromática, coerente e colimada (PETERSEN, *et al.*, 1999). O laser apresenta grande campo de atuação como recurso terapêutico, por exemplo, nas áreas de dermatologia, oftalmologia, cirurgia plástica, tratamento de lesões vasculares, hemangiomas e melanomas malignos. A partir dos efeitos biológicos observados, as aplicações dos lasers têm sido propostas (ABERGEL *et al.*, 1984; TANG *et al.*, 2000; ALORA; ANDERSON, 2000).

Segundo Low e Red (2001), os termos “laserterapia de baixa intensidade” e “laserterapia no nível baixo reativo” são termos usados para distinguir as aplicações de baixa energia usadas na fisioterapia (fotobiomodulação) das aplicações de alta energia usadas terapêuticamente para modificação tecidual por ablação.

Para Carvalho *et al.* (2001), as pesquisas dos efeitos biológicos e fisiológicos dos lasers abrangem três áreas principais que são pesquisa celular, estudos em animais e estudos controlados em humanos.

Terapias usando vários tipos de sistemas laser (Hélio-Neônio, Arseneto de Gálio) têm sido usadas para tratar uma série de condições nas quais a dor representa um papel significativo na observação clínica. Apesar de todas as investigações realizadas e de vários autores se reportarem ao tema, o rigor científico das publicações varia, gerando críticas de vários autores (BORGES *et al.*, 1996; CARVALHO *et al.*, 2001).

O laser como recurso fisioterapêutico é utilizado na cicatrização e controle da dor; conseqüentemente, é utilizado em tratamentos referentes a lesões dos tecidos moles, como distensões musculares, hematomas, tendinites e espasmos musculares. Utiliza-se também o chamado “laser acupuntura” para tratamento de artropatias (PETERSEN, *et al.*, 1999; LOW; RED, 2001), e o laser configura-se como um tipo de tratamento não invasivo usado na fisioterapia para o controle de afecções mioarticulares (BROSSEAU, WELLCH, WELLS, 2000).

O efeito da laserterapia foi comprovado por Petersen *et al.*, (1999), Brosseau *et al.*, (2000), Low e Red (2001), que constataram sua utilização como antiinflamatório e analgésico e mostraram que a laserterapia influencia no metabolismo do tecido conectivo (neoformação de colágeno), gera a proliferação de fibroblastos, induz a reepitelização e sintetiza proteoglicanos e DNA.

A osteoartrite é uma doença articular degenerativa e progressiva, que cursa com dor, inflamação e perda da funcionalidade da articulação acometida.

Qualquer forma de processo inflamatório conduz a níveis elevados de incapacidade fisiológica, que se não resolvidos podem apresentar quadros remissivos que comprometem tanto as atividades de vida diária como as atividades de vida profissional dos pacientes, principalmente no âmbito do quadro álgico e perda da amplitude de movimento. Pode-se diminuir o tempo em que o paciente convive com o processo inflamatório através de recursos fotomoduladores.

No presente trabalho, avalia-se primordialmente os efeitos do laser GaAs sobre processo inflamatório da osteoartrite na articulação do joelho de ratos, buscando comprovar alterações na resposta antiinflamatória nas diferentes fases (aguda, subaguda e crônica), e nos diferentes comprimentos de onda (830 e 904 nm).

1.1 Osteoartrite

A osteoartrite é considerada comumente como uma consequência inevitável do envelhecimento, uma manifestação do desgaste ou resultado de uma mecânica articular anormal (LIANZA, 2001). A osteoartrite do joelho é uma causa bastante comum de dor severa e inabilidade na comunidade (DIEPEE *et al.*, 1999). A ampla incidência de osteoartrite do joelho e seu efeito severo na incapacidade têm sido bem documentados nos Estados Unidos e em outros países industrializados (WALSH *et al.*, 1998). Os processos degenerativos que comprometem a articulação do joelho podem limitar gravemente as atividades do paciente. Os fatores limitantes são, na maioria das vezes, a dor e as deformidades (varo/valgo), que nas fases iniciais podem ser passíveis de tratamentos clínicos, fisioterapêuticos ou cirúrgicos, como artroscopias, debridamentos articulares ou osteotomias (MESTRINER; LAREDO, 1993). Quando o procedimento conservador falha na restauração da mobilidade ou na diminuição da dor, a intervenção cirúrgica é freqüentemente o tratamento de escolha (WALSH *et al.*, 1998).

1.1.1 Definição

A osteoartrite é uma doença degenerativa que causa destruição progressiva da cartilagem articular, inflamação, redução da função da articulação e dor. No joelho, a

osteoartrite severa está associada com a redução ou obliteração de um ou mais compartimentos do espaço articular, conduzindo para deformidade em varo ou valgo e diminuição da amplitude de movimento (FISHKIN et al, 2002).

Histologicamente, a osteoartrite é caracterizada pela diminuição da integridade da cartilagem articular, com formação de zonas de fusão e fibrilação e alterações hipertróficas no osso adjacente (COLE; HARNER, 1999). O processo de reparo tecidual acontece como consequência da destruição produzida pela inflamação. O organismo tenta realizar ações no sentido de reconstruir a morfologia dos tecidos envolvidos para elevar o nível de funcionalidade destes (MOW et al, 1992; ARCHER et al, 1994; THRELKELD et al, 1988). Há respostas diferentes aos distintos graus com que a lesão é produzida. Uma das formas de dar funcionalidade aos tecidos atingidos é a recuperação por células do mesmo tipo das que existiam antes da lesão (McCARTHY et al, 1996).

Para Hebert *et al.* (2003), a osteoartrite é uma lesão em espelho das superfícies articulares, com abrasão da cartilagem e desgaste progressivo do osso subcondral, sendo inicialmente bem localizada no ponto de hiperpressão máxima.

1.1.2 Nomenclatura

A osteoartrite, também é chamada de osteoartrose e doença articular degenerativa, e é a forma mais comum de artrite crônica (FRONTERA; DAUSON; SLOVICK, 2001). Artrite hipertrófica também é outro termo amplamente utilizado para designar esta patologia. Entretanto, segundo Larocca (1999), nenhuma dessas designações é completamente satisfatória. O termo osteoartrose significa, pelo sufixo “ose”, aumento, excesso de produção. Isso é pertinente considerando a hipertrofia dos elementos dentro e ao redor da articulação. Além disso, significa também que a doença não é inflamatória primariamente, o que não é correto. Sabe-se que existe sempre pelo menos um componente inflamatório nesta patologia.

Larocca (1999), ainda acrescenta que doença articular degenerativa também não constitui um termo muito aceitável, uma vez que implica a descrição de um processo puramente catabólico, o que também não é verdadeiro. Existem, em tal doença, processos de reparo bastante ativos. A terminologia artrite hipertrófica também caiu em desuso.

1.1.3 Classificação

Atualmente não existe nenhum sistema de classificação seguro e bem aceito para a osteoartrite. Idealmente, a classificação para a osteoartrite deveria incluir o tamanho, profundidade, localização e condição da superfície articular oposta (COLE; HARNER, 1999).

O sistema de classificação Outerbridge, inicialmente desenvolvido para condromalácia patelar, tem sido usado frequentemente para classificar os graus de osteoartrite, embora não incorpore todos os fatores relevantes. Grau 0 corresponde à cartilagem normal. Grau I é caracterizado por amolecimento e inchaço da cartilagem. No Grau II ocorre presença de fendas que não alcançam o osso subcondral e possuem diâmetro inferior a 0,5 polegada. Grau III mostra fendas que alcançam o osso subcondral mas não o expõem e possuem diâmetro superior a 0,5 polegada. No Grau IV há exposição do osso subcondral de algumas polegadas de diâmetro (COLE; HARNER, 1999).

Para Golding (2001), a osteoartrite pode ser classificada em osteoartrite primária e osteoartrite secundária. Segundo Cole e Harner (1999), a osteoartrite primária ou idiopática é uma condição degenerativa progressiva que aumenta a prevalência não linearmente com a idade após os cinquenta anos. Mais comum que a secundária, é quase sempre hereditária. Está associada a nódulos de Heberden e inclui diversas síndromes clínicas de articulações específicas para as quais não há base etiológica. Até o momento não há dados que mostrem correlação entre artrose prematura do joelho e níveis de atividade dos pacientes (FRONTERA; DAUSON; SLOVICK, 2001).

Golding (2001), afirma que a osteoartrite secundária é aquela que ocorre devido a fatores subjacentes que aceleram a degeneração da cartilagem relacionada à idade. Caracteriza-se por ser originária de alguma lesão traumática, inflamatória, metabólica ou decorrente de defeitos congênitos e/ou adquiridos.

Para Cole e Harner (1999), a osteoartrite secundária do joelho pode ocorrer bem mais cedo, usualmente após alguma lesão, resultando em deformidade (varo ou valgo), fratura intra-articular ou ainda deficiência ligamentar ou meniscal.

As causas traumáticas incluem as fraturas, sobrecargas intensas e repetitivas, lesões ligamentares, procedimentos cirúrgicos tais como as meniscectomias e as lesões ocupacionais ou desportivas. Entre as causas metabólicas encontram-se a

hemocromatose, a acromegalia, diabetes e artropatias por depósito de fosfato de cálcio, como a patologia de Milwaukee. São consideradas causas inflamatórias as artrites crônicas das doenças reumatológicas, as artropatias microcristalinas, as espondiloartropatias soronegativas e a artrite séptica. Quanto aos defeitos congênitos ou adquiridos, consideram-se causas as displasias epifisárias, a luxação congênita de quadril, doença de Legg-Calvé-Perthes, osteocondrites, encurtamento de membros e vícios posturais. Outras possíveis causas são as discrasias sangüíneas como hemartrose, doença de Paget e necrose asséptica (LAROCCA, 1999). Tais fatores, ao acometerem a articulação, deixam a superfície articular incôngrua, acelerando assim o dano à cartilagem em áreas específicas (FRONTERA; DAUSON; SLOVICK, 2001).

1.1.4 Epidemiologia

Essa patologia afeta uma grande parte da população e é considerada a maior causa de incapacidade em idosos, sendo que a sua prevalência aumenta com a idade, principalmente na sexta ou sétima décadas de vida. O padrão de comprometimento articular na osteoartrite é notavelmente afetado pela idade, sexo e histórico ocupacional anterior. A osteoartrite é a doença que acarreta maior morbidade da espécie humana (BROSSEAU *et al.* 2002; GOLDMAN; LIANZA, 2001).

As articulações submetidas a traumatismos repetitivos ou ao uso excessivo, exibem maior prevalência de osteoartrite. Aparece em 35% nos joelhos de pessoas com trinta anos de idade ou mais e chega a afetar quase todos os indivíduos a partir dos cinquenta anos, embora nem todos apresentem sintomas desse envolvimento (GOLDMAN; BENNET 2001; LIANZA, 2001).

Os fatores raciais e genéticos também são importantes na prevalência e padrão da osteoartrite. Constata-se menor incidência de osteoartrite do quadril nos chineses, negróides jamaicanos, negróides sul-africanos e indianos quando comparados com os caucasianos (GOLDMAN; BENNET, 2001).

Segundo Adams e Hamblen (1994), a osteoartrite do joelho é duas vezes mais comum em mulheres que em homens, particularmente em mulheres obesas e de idade avançada. O fato das mulheres usarem saltos altos suscitou a hipótese de que seu uso poderia aumentar a prevalência nesta população. Greve e Amatuzzi (1999), concluíram

que o uso de saltos altos poderia predispor a alterações degenerativas dos joelhos (GREVE; AMATUZZI, 1999).

1.1.5 Fatores de Risco

Segundo West (2000), existem seis fatores de risco para o desenvolvimento da osteoartrite, citados a seguir.

A obesidade é um fator de risco claro para o desenvolvimento da osteoartrite, especialmente para o joelho, e em menor grau para a mão. A perda de peso prévia ao desenvolvimento da osteoartrite está associada à redução do risco para osteoartrite. Acredita-se que a sobrecarga articular imposta pela obesidade aumente a pressão através da articulação, acelerando a degeneração da cartilagem articular. Entretanto, esta teoria é questionada pelo fato da obesidade não estar relacionada a osteoartrite de quadril.

Os outros fatores de risco para a osteoartrite são a hereditariedade, a idade, trauma articular prévio, biomecânica anormal (como exemplo o joelho excessivamente varo ou valgo) e o tabagismo, que pode contribuir para o surgimento de discopatia degenerativa (WEST, 2000).

A osteoartrite é provocada pelo desgaste e ruptura, mas geralmente algum outro fator presente provoca desgaste precoce da articulação mais cedo que o habitual. A sobrecarga é o fator mais comum, e parece impor um estresse maior ao joelho do que ao quadril ou tornozelo. Outros fatores predisponentes importantes são a fratura anterior que tenha causado irregularidade das superfícies articulares; moléstia anterior com dano à cartilagem articular (especialmente artrite reumatóide antiga, ou artrite infecciosa); dano mecânico intra-articular anterior, como ruptura de menisco ou osteocondrite dissecante, e mau alinhamento da tíbia e do fêmur (ADAMS; HAMBLIN, 1994).

1.1.6 Fisiopatologia

A osteoartrite envolve a articulação sinovial inteira, incluindo a cartilagem articular, sinóvia e osso subjacente. As células em cada um destes tecidos têm capacidades independentes de iniciar a resposta aos danos na articulação, resultando ao final em degeneração da cartilagem articular (SANDEL; AIGNER, 2001).

O achado inicial mais evidente na osteoartrite ocorre na cartilagem, em que ocorre perda do conteúdo de proteoglicanos, os quais têm sua capacidade de agregação

alterada e um aumento no teor de água. O condrócito, que normalmente é uma célula amitótica, divide-se para formar clones celulares. Estas células aumentam a sua produção de colágeno tipo II e de proteoglicanos, numa tentativa de reparar o processo destrutivo da matriz (LIANZA, 2001).

Acredita-se que a degeneração de cartilagem na osteoartrite seja caracterizada através de duas fases: uma fase biossintética, durante a qual os condrócitos residentes na cartilagem tentam consertar a matriz extracelular danificada; e uma fase degradativa, na qual a atividade de enzimas produzidas pelos condrócitos digere a matriz ao mesmo tempo em que a síntese de matriz é inibida, acelerando a conseqüente erosão da cartilagem. Quando a capacidade de síntese da matriz é menor do que a destruição, predomina o processo catabólico e a superfície da cartilagem perde a sua textura lisa, tornando-se fibrilar e desenvolvendo fendas e erosões. Tais fendas estendem-se até o osso subcondral (LIANZA, 2001; SAINDEL; AIGNER, 2001). O exame macroscópico nesse estágio revela uma cartilagem granular mais mole que o normal.

No decorrer do tempo, partes de toda a espessura da cartilagem são esfaceladas e a placa óssea subcondral torna-se a nova face articular. A fricção alisa e poli o osso exposto, conferindo-lhe a aparência de marfim polido, ou seja, ocorre o processo de eburnação óssea (ROBBINS, 2000).

No osso subcondral são observadas microfraturas, cistos, esclerose e o desenvolvimento de osteófitos nas margens articulares. As mudanças podem afetar predominantemente as articulações fêmoro-tibial ou patelo-femoral, mas normalmente a articulação do joelho é completamente afetada. Tais alterações são associadas ao quadro clínico de dor e rigidez articulares (ADAMS; HAMBLEN, 1994; GREVE; AMATUZZI, 1999).

A cartilagem articular envelhecida pode tornar-se mais susceptível a falhas mecânicas e à perda do conteúdo de água do tecido. A cartilagem articular desidratada pode ter uma capacidade reduzida de dissipar as forças através da articulação. O desgaste mecânico cumulativo da idade avançada pode causar ou estar fortemente associado ao enfraquecimento da cartilagem articular (NEUMANN, 1989).

O enfraquecimento do colágeno e a depleção dos proteoglicanos observados na osteoartrose avançada reduzem a capacidade da cartilagem de resistir às forças de tensão e compressão. Com conseqüência, forças articulares não amortecidas podem

causar um enrijecimento reativo ou esclerose do osso subcondral desprotegido. A cartilagem degenerada e o osso subcondral enrijecido não são capazes de atenuar as intensas forças transarticulares. Osteófitos e vários remodelamentos podem ocorrer, alterando as superfícies articulares, que perdem congruência (NEUMANN, 1989).

No osso subcondral ocorrem alterações proliferativas na tentativa de aumentar a superfície de suporte de peso; isto acaba por comprometer a elasticidade e aumentar a rigidez do osso, que se torna mais sensível ao desenvolvimento de microfraturas. As microfraturas curam com formação de calos e maior rigidez óssea; surgem osteófitos, luxações e instabilidade articular (LIANZA, 2001).

Não se sabe ao certo qual é o evento primário que inicia o processo da osteoartrite. Segundo Larocca (1999), alguns autores afirmam que o evento primário ocorre no osso subcondral. Exercícios repetitivos, praticados em excesso, levariam a sobrecarga do osso subcondral, permitindo a ocorrência de fraturas. Essas microfraturas são curadas com a formação do calo, o que torna o osso mais inelástico e esclerótico. Essas alterações estruturais fazem com que o osso deixe de absorver bem os impactos e aumentam a pressão venosa intra-óssea, considerada um dos elementos responsáveis pela dor na osteoartrite. Neste caso, a lesão da cartilagem articular seria secundária à perda da capacidade de absorção de choques pelo osso subcondral.

Outros pesquisadores (GOLDMANN; BENNETT, 2001) acreditam que o evento primário localize-se na cartilagem articular, na qual a atividade metabólica dos condrócitos é regulada pelo aumento na síntese de proteoglicanos, seguido pela perda dos condrócitos (apoptose). As razões de falha do reparo não são claras, mas podem se relacionar à incapacidade de reconstruir a estrutura tridimensional da cartilagem em indivíduos maduros.

Os processos responsáveis pela degradação do colágeno e dos proteoglicanos na osteoartrite são impulsionados por enzimas proteolíticas e liberadas pelos próprios condrócitos. A ativação subsequente dessas enzimas supera as defesas naturais da matriz, resultando na degradação do colágeno e clivagem dos proteoglicanos. A seguir, ocorre a liberação no líquido sinovial dos fragmentos dessas moléculas, que penetram na circulação e permitem detectar e avaliar o processo de degradação (GOLDMANN; BENNETT, 2001).

Na cartilagem do adulto normal, os condrócitos sintetizam os componentes da matriz muito lentamente. Entretanto, durante o desenvolvimento, a biossíntese é estimulada por uma variedade de citocinas anabólicas e fatores de crescimento, como o fator de transformação do crescimento (TGF)- β , proteínas morfogenéticas do osso (BMPs) e insulina como fator de crescimento (IGF-I). Na osteoartrite muitos desses fatores - e outros, como o fator de necrose tumoral (TNF)- α e a interleucina I (IL-1) - são produzidos pela sinóvia e condrócitos (SANDEL; AIGNER, 2001).

Na cartilagem normal, há um rígido controle do *turnover* da matriz, um delicado balanço entre síntese e degradação. Na osteoartrite, porém, este equilíbrio está perturbado, com degradação e síntese aumentadas. As citocinas inflamatórias IL-1, TNF- α , IL-17 e IL-18 aumentam a síntese de metaloproteases de matriz (MMPs), diminuem as enzimas inibitórias de MMP e diminuem a síntese de matriz extracelular. As citocinas anabólicas IGF-I, TGF- β 1, 2, e 3, fatores de crescimento fibroblásticos (FGFs) 2, 4, e 8 e BMPs estimulam a síntese de matriz extracelular. Estudos recentes têm explorado o papel das citocinas e dos fatores de crescimento na patogênese da osteoartrite (SANDEL; AIGNER, 2001).

Outras influências moleculares de degradação da cartilagem começam a emergir, demonstrando que tal degradação é o resultado de um desarranjo molecular inicial. Sabe-se agora que fragmentos de fibronectina podem induzir a expressão de metaloproteases e degradação de matriz nos condrócitos. O mecanismo molecular provavelmente é a indução aumentada da expressão de gene colagenase e estromelina (SANDEL; AIGNER, 2001).

A degradação na cartilagem articular é mediada principalmente pelas metaloproteases (MMPs), enzimas ativas em pH neutro que podem digerir sinergicamente todas as macromoléculas da matriz. A colagenase, gelatinase e estromelina constituem os três grupos de metaloproteases (SANDEL; AIGNER, 2001). Além das metaloproteases e citocinas responsáveis pela degradação da cartilagem articular na osteoartrite, também tem sido salientada a contribuição do óxido nítrico na patogenia desta doença. O óxido nítrico é produzido em grandes quantidades por condrócitos ativados por citocinas e exerce vários efeitos catabólicos tais como a inibição da síntese de colágeno e proteoglicanos, ativação de metaloproteases, inibição

da proliferação de condrócitos e indução da apoptose de condrócitos *in vitro* (SANDEL; AIGNER, 2001).

Deste modo, muitos são os mecanismos envolvidos na patogenia da osteoartrite, levando à degradação da cartilagem e perda da função articular. Entretanto, até o presente momento, o tratamento dessa doença está baseado em drogas direcionadas, predominantemente, para o controle da dor e/ou inflamação associada com sinovite, mas que não reduzem a destruição da cartilagem. Do mesmo modo, a utilização dos denominados condroprotetores não parece suficiente para conter o processo de degradação, nem induzir aparentemente a produção de matriz cartilaginosa pelos condrócitos (SANDEL; AIGNER, 2001).

1.1.7 Quadro clínico

Os estágios iniciais do processo osteoartítico são clinicamente silenciosos, o que explica a elevada prevalência de sinais radiológicos e histopatológicos da osteoartrite em paciente clinicamente assintomático. Mesmo em estágios avançados da osteoartrite, verifica-se correlação precária entre os sintomas clínicos e as alterações na integridade da cartilagem e do osso, definidas por artroscopia ou por técnicas indiretas de imageamento tais como radiografia e ressonância magnética (LAROCCA, 1999).

A artrite está associada com dor, sinais inflamatórios, rigidez articular, deformidade e perda progressiva da função (LIANZA, 2001).

Segundo Larocca (1999), os sinais e sintomas são geralmente localizados (poucas articulações ou uma única). A dor no início da doença acontece após o uso da articulação e é aliviada pelo repouso. Com a evolução do processo degenerativo, ela aparece com um uso mínimo e até mesmo sem ele. É descrita como uma dor surda e profunda sobre a articulação afetada e que, provavelmente, origina-se em outras estruturas articulares e periarticulares, dada a ausência de inervação na cartilagem. O espasmo muscular e instabilidade articular que causam estiramento da cápsula são outras causas de dor. Rigidez matinal por aproximadamente vinte minutos, sinovite e perda da mobilidade também são comuns na osteoartrite (LIANZA, 2001).

Derrames articulares quase sempre acontecem nos estágios precoces e durante exacerbações inflamatórias agudas. O líquido é claro, com elevado grau de viscosidade, baixo conteúdo de proteínas e baixa contagem celular. Há referências de cristais de

apatita nas articulações. Nos pacientes idosos podem ser observados derrames hemorrágicos, por força do sangramento de osteófitos soltos e fimbrias sinovias vasculares (GOLDING, 2001).

Independente da causa inicial, o paciente com artrite em estágio terminal sofre dor durante ações de sustentação de peso, sensação de arqueamento ou de falseio, rigidez e articulações inchadas que podem limitar os movimentos do joelho nos extremos de flexão e extensão (SNIDER, 2000).

A dor periarticular pode ser relacionada com a instabilidade, principalmente nas articulações de carga, por excessivo estiramento das estruturas ligamentares, tendinosas e bursas, principalmente nas inserções ósseas. As alterações da mecânica normal do movimento articular relacionadas às instabilidades pela perda da capacidade estabilizadora dos tendões e ligamentos também podem causar dor. Este tipo de dor manifesta-se durante a realização do movimento articular, associada à diminuição de potência muscular e amplitude de movimento. As alterações inflamatórias intrínsecas das estruturas periarticulares, principalmente tendões, bursas e ligamentos, também podem causar dor (GREVE; AMATUZZI, 1999).

Freqüentemente, os pacientes relatam sintomas de travamento ou agarramento, parecidos com os que ocorrem na laceração de menisco, pela “aderência” das superfícies articulares irregulares e/ou invólucro de tecido mole inflamado (SNIDER, 2000).

Algumas características da osteoartrite, como a piora no final do dia, relacionam-se ao uso da articulação envolvida, apresentando períodos de exacerbação relacionados com determinadas atividades. A rigidez matinal, geralmente fugaz, embora em alguns casos possa ser incapacitante, é muito freqüente, assim como a rigidez pós-inatividade (GREVE; AMATUZZI, 1999).

Pacientes que apresentam osteoartrite de joelho foram avaliados em sua força isométrica máxima, resistência e amplitude máxima de movimentos de flexão e de extensão. Esses pacientes apresentavam grande dificuldade de movimento, dor para as atividades de vida diária, grande diminuição da força de extensão e flexão, diminuição da resistência do quadríceps e isquiotibiais e diminuição da velocidade dos músculos da coxa. Esses dados mostram que a osteoartrite é realmente incapacitante, reduzindo

progressivamente a função muscular e a capacidade funcional dos indivíduos (GREVE; AMATUZZI,1999).

1.1.8 Achados Radiológicos

A radiografia pode ser normal nos estágios iniciais. Com a evolução da doença, há um estreitamento do espaço articular devido à perda da cartilagem articular, surgimento de osteófitos no fêmur e/ou na tíbia, aplainamento dos côndilos femorais, esclerose periarticular, cistos subcondrais, osteocondrite dissecante, corpos livres, fraturas de avulsão e condrocalcinose. Também podem ser encontradas deformidades de alinhamento no plano coronal como os joelhos varo e valgo, deformidades no plano sagital, patela alta e subluxação patelar (FRONTERA; DAUSON; SLOVICK, 2001; GOLDING, 2001).

Os achados característicos da osteoartrite aumentam em frequência após os cinquenta anos de idade. O primeiro sinal claro de osteoartrite no joelho é a agudização dos rebordos articulares, principalmente da patela e da tíbia (ADAMS; HAMBLÉN, 1994). Uma das características mais importantes da epidemiologia da osteoartrite é a falta de concordância entre o quadro radiológico e os sintomas (FRONTERA; DAUSON; SLOVICK, 2001). Segundo Frontera, Dauson e Slovic (2001), dois terços dos pacientes com características radiográficas não têm sintomas ou são oligossintomáticos. Entretanto, para Greve e AmatuZZi (1999), apenas 50% dos pacientes com alterações radiológicas graves apresentam sintomatologia dolorosa. Lianza (2001) relata que pelo menos 85% das pessoas com idade superior a 70-79 anos de idade apresentam diagnóstico radiológico da osteoartrite.

1.2 Inflamação

A inflamação é reação local do tecido vascularizado às agressões causadas por bactérias, traumas, substâncias químicas, calor ou qualquer outro fenômeno, sendo caracterizada pela reação dos vasos sanguíneos (GUYTON; HALL; KITCHEN; BAZIN, 1998). A resposta inflamatória é composta por duas fases, inflamação e reparo, que por estarem intimamente associados constituem um processo único. A inflamação tem o objetivo de destruir, diluir ou isolar agentes lesivos e as células que estes últimos

podem ter destruído. O reparo começa durante a fase ativa da inflamação e termina após a influência lesiva ter sido neutralizada. As células e os tecidos destruídos são substituídos por células vivas, às vezes pela proliferação de células parenquimatosas ativas, porém mais freqüentemente por fibroblastos menos especializados que formam o tecido cicatricial. Deste modo, a resposta inflamatória desencadeia uma série complexa de eventos que cura e reconstitui, tanto quanto possível, o tecido lesado (KITCHEN; BAZIN, 1998).

O homem não poderia sobreviver à lesão sem as respostas protetoras da inflamação. As infecções evoluiriam sem controle e as queimaduras e feridas permaneceriam ulceradas; assim, a inflamação é considerada um mecanismo protetor vital (KUMAR; COTRAN; ROBBINS, 1994; TIZARD, 1998).

Múltiplas substâncias como células fagocíticas e moléculas defensivas – como anticorpos e sistema complemento – ganham acesso aos locais de invasão microbiana ou de danos teciduais, induzindo mudanças secundárias dramáticas nos tecidos. Ao penetrar as barreiras mecânicas e tissulares, os microorganismos provocam uma reação complexa no tecido conjuntivo vascularizado, desencadeando um processo inflamatório com os eventos e seqüências monitoradas pelo hospedeiro (CORREA; CORREA, 1992; COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1996; GUYTON; HALL, 1997).

Os mecanismos de defesa celular são imediatamente mobilizados após a presença dos estímulos exógenos ou endógenos. Estes agentes inflamatórios atuam sobre os tecidos induzindo a liberação de mediadores que agem nos receptores das células lesadas, aumentando a permeabilidade vascular, exsudando plasma e células sangüíneas para o interstício (CORREA; CORREA, 1992; GUIDUGLI-NETO, 1997; BRASILEIRO-FILHO, 1998). Cessada a ação do estímulo, a liberação dos mediadores é reduzida, a microcirculação volta ao normal e o sistema linfático remove o exsudato.

A inflamação aguda limita-se pela curta duração de minutos a algumas horas e dias. É caracterizada por exsudação de líquidos e de proteínas plasmáticas (edema), e emigração de leucócitos, principalmente neutrófilos. O caráter de resposta inflamatória imediata é basicamente o mesmo, qualquer que seja o local ou a natureza do agente lesivo. Embora o padrão da inflamação aguda seja único, a intensidade da reação é determinada pela gravidade do agente lesivo e pela capacidade reacional do hospedeiro (CHANDRASSOMA et al, 1993; KITCHEN; BAZIN, 1998).

Calor e eritema (rubor) são decorrentes do aumento da circulação sangüínea na região acometida. O edema (tumor) advém da exsudação causada pela lesão celular, sendo que a dor provém da compressão das terminações nervosas sensitivas, podendo ser desencadeada por agentes irritantes como citocinas. A perda de função é outro sinal clínico, acrescido por Virchow (KUMAR; COTRAN; ROBBINS, 1994; COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1996; GUIDUGLI-NETO, 1997; MONTENEGRO; FRANCO, 1999).

A agudização do processo inflamatório compõem-se de fenômenos vasculares onde inicialmente ocorre uma constrição transitória das arteríolas locais, seguida de vasodilatação arteriolar e abertura dos leitos capilares na área danificada caracterizados pelo aumento do fluxo sangüíneo para a região agredida. O aumento da permeabilidade vascular leva ao extravasamento de proteínas plasmáticas com acúmulo significativo de leucócitos, permitindo aumento do edema, fibrina, neutrófilos e hemáceas (COTRAN *et al.*, 2000; KITCHEN; BAZIN, 1998).

A inflamação crônica é a soma das reações do organismo como conseqüência da persistência de um agente agressor com maior duração de tempo; está associada à presença de linfócitos, monócitos, macrófagos, neoformação vascular e tecido conjuntivo (fibroblastos decorrente à disposição de colágeno) (COTRAN *et al.*, 2000; KITCHEN; BAZIN, 1998).

Correa e Correa (1992), descrevem as células envolvidas no processo inflamatório, dentre elas os neutrófilos, basófilos, eosinófilos, plaquetas, mastócitos, fibroblastos do tecido conjuntivo, macrófagos e linfócitos, e ainda as células endoteliais que revestem os capilares, os pré e pós-capilares.

Os fagócitos são células envolvidas ativamente nos processos defensivos do organismo, especializados na fagocitose, digestão intracelular e capacidade de matar microorganismos; são divididos em polimorfonucleares (representados por neutrófilos e eosinófilos) e mononucleares (macrófagos) originados dos monócitos (COTRAN *et al.*, 2000; BRASILEIRO FILHO, 1998).

Os leucócitos neutrófilos são conhecidos como polimorfonucleares e são originados do tecido mielóide. São células fundamentais nos primeiros eventos da reação inflamatória representada pelas células brancas no sangue. Possuem em torno de 6 a 7 horas de vida quando ativados, necessitando de reposição contínua, tanto para

circulação como para os exsudatos inflamatórios encontrados no exsudato purulento (JONES et al, 2000). Possuem mobilidade (amebóides) deslocando-se dos vasos para os tecidos e fixam-se no endotélio através das moléculas de adesão. Possuem papel importante na quimiotaxia, desenvolvem e amplificam os eventos inflamatórios, são advindos dos efeitos produzidos através das prostaglandinas, sendo altamente fagocitários, contendo em seus grânulos vários sistemas microbicidas com grande variedade de enzimas digestivas, que ativa os leucócitos (STEVENS ; LOWE, 1998).

Os leucócitos, em geral, ingerem agentes ofensores, destroem microorganismos e degradam o tecido necrótico e antígenos estranhos; engolfam pequenas partículas no processo conhecido como fagocitose, podendo prolongar a inflamação e induzir uma lesão tecidual devido à liberação de mediadores químicos (COTRAN *et al.*, 2000).

Os leucócitos basófilos originam-se na medula óssea, sendo encontrados em pequenas quantidades no sangue circulante. Possui núcleo lobado, seu citoplasma contém grânulos basófilos e metacromáticos, que armazenam e liberam mediadores como heparina e histamina que atuam nas modificações vasculares. Suas funções são similares às dos mastócitos, ligando a IgE na superfície celular e degranulando o antígeno, agindo nas reações de hipersensibilidade (MONTENEGRO; FRANCO, 1999; AIRES, 1999; JONES; DUNCAN; KING, 2000).

Os fagócitos mononucleares na medula óssea são chamados de monócitos, quando na circulação sangüínea de macrófagos maduros, encontrados ao redor do endotélio vascular e na microcirculação. O número de células aumenta na medula óssea após a lesão. Algumas células são especializadas e diferenciadas, dependendo da sua localização; encontram-se em maior número no fígado e baço, de onde removem células senis do sangue circulante e dos linfonodos (CORREA; CORREA, 1992; JONES *et al.*, 2000).

De acordo com Montenegro e Franco (1999), os vasos proliferam-se em direção à lesão, sendo acompanhados pelos fibroblastos que sintetizam colágeno. Como consequência, a área lesada vai sendo substituída por cicatriz fibrosa. Podem modular-se formando verdadeiras barreiras celulares – células epitelióides – que secretam ativamente suas enzimas, exocitando-as. Modulam-se em células gigantes nos casos de inflamação crônica como no caso do *Mycobacterium*, substância utilizada para indução da inflamação aguda.

Os mastócitos estão localizados nas pequenas vênulas, propiciando a liberação de mediadores inflamatórios pré-formados que influenciam no tônus vascular e na qualidade de adesão leucocitária do endotélio. Devido aos estímulos no processo inflamatório, os mastócitos se desgranulam, liberando assim produtos pró-inflamatórios pré-formados como a histamina, uma amina que aumenta a permeabilidade vascular e possibilita a passagem de proteínas do plasma para o interstício causando edema (CORREA; CORREA, 1992).

Para Guidugli-Neto (1997), Correa e Correa (1992), a maior fonte de histamina encontra-se nos grânulos dos mastócitos presentes no tecido conjuntivo,, é o principal mediador químico pré-formado da inflamação.

Os linfócitos T e B exsudam nas inflamações; portanto, são células inflamatórias e imuno-reguladoras. Quando ativados, produzem as citocinas e regulam a atividade de outras células exsudadas, componente de suma importância nas inflamações crônicas, reações alérgicas, e nas inflamações provocadas por vírus. Diante de uma agressão antigênica, respondem a antígenos específicos desde sua expansão clonal até sua diferenciação. Quando estimulados por antígeno, receptores imunoglobulínicos por interleucina-1 ou histamina, os linfócitos produzem e secretam lindocinas (BRASILEIRO FILHO, 1998; AIRES, 1999; JONES *et al.*, 2000).

Os linfócitos B são responsáveis pela produção de imunoglobulina, sendo ativados no foco inflamatório ou linfonodo regional. Já os linfócitos T controlam a imunidade celular (COTRAN *et al.*, 1996; BRASILEIRO FILHO, 1998).

Segundo Montenegro e Franco (1999), a primeira resposta do organismo a agressores teciduais é a inflamação aguda, onde os fenômenos exsudativos procuram neutralizar, destruir e eliminar o agente causal. Quando o agente agressor não é digerível pelos neutrófilos (fagocitose), o ciclo de recrutamento de novos neutrófilos pode se perpetuar, substituindo a inflamação aguda pela crônica, que pode ser específica ou inespecífica.

A inflamação granulomatosa é um tipo de inflamação crônica. Caracteriza-se por um agregado de macrófagos modificados, designados de células epitelióides, ou células gigantes multinucleadas e circundadas por leucócitos mononucleares, monócitos linfócitos sendo estes, associados a microorganismos e a outros agentes capazes de

induzir a sensibilização dos linfócitos T (KUMAR *et al.*, 1994; GUIDUGLI-NETO, 1997).

As células envolvidas na formação do granuloma são os macrófagos e linfócitos. Se os macrófagos não forem destruídos pelo agente agressor através da fagocitose, perdem sua motilidade e acabam por se fixar no local, transformando-se em granuloma (MONTENEGRO; FRANCO, 1999).

Na microscopia eletrônica os granulomas apresentam limites pouco precisos. O núcleo tem limites regulares de forma oval e alongada; podem apresentar pregueamento na membrana nuclear e citoplasma amplo e fracamente eosinófilo. Os granulomas antigos desenvolvem um envoltório de fibroblastos e tecido conjuntivo (COTRAN *et al.*, 1994; GUIDUGLI-NETO, 1997).

1.3 Laser de Arseneto de Gálio (GaAs)

A palavra laser é um acrônimo para a amplificação da luz por meio da estimulação da emissão de radiação, sendo este o princípio que foi adotado na sua criação (LOW; RED, 2001; ORTIZ, *et al.*, 2001).

Para que a radiação laser produza efeito sobre o corpo humano, é necessário que seja absorvida pelo mesmo, e que ocorra interação da radiação com as estruturas moleculares e celulares (VEÇOSO, 1993).

Por volta de 1917, Albert Einstein tinha esboçado os princípios básicos para a produção da radiação laser como parte da teoria quântica. No entanto, somente na década de sessenta o primeiro feixe de luz foi produzido por Maiman, e em meados dos anos setenta, foi desenvolvido o laser Hélio-Neônio.

Por ser uma radiação óptica, o laser faz parte do espectro eletromagnético, e a faixa utilizada para a laserterapia de baixa intensidade inclui a luz visível e parte próxima do espectro infravermelho, sendo chamado de janela espectral para tecidos biológicos. (VEÇOSO, 1993; ORTIZ, *et al.*, 2001; LOW; RED, 2001).

Brosseau *et al.*, (2000) cita que o laser foi adotado recentemente nas Américas como uma forma de tratamento não invasivo usado na fisioterapia para obtenção de melhores resultados no controle de eventos inflamatórios.

O estudo da interação entre a luz laser e a matéria viva é bastante complexa; a energia depositada nos tecidos sofre fenômenos de absorção, reflexão, difusão e

transmissão. A pele é extremamente heterogênea do ponto de vista óptico e à medida que distanciamos-nos da superfície, menor é a energia absorvida (TARUNAS *et al.*, 1998; LOW; RED, 2001).

A luz vermelha estimula a produção dos citocromos na mitocôndria, alterando a permeabilidade celular; cada tipo de membrana celular apresenta diferentes fotorreceptores, portanto, diferentes comprimentos de onda podem apresentar ou não efeito sobre as células específicas (LOW; RED, 2001).

O laser de baixa potência (LLLT) age principalmente sobre organelas celulares (mitocôndrias e membranas), gerando aumento da síntese de ATP e modificando o transporte iônico, sendo que esses processos ocorrem por meio de fotorreceptores celulares, descritos acima. A reação do laser de baixa potência estimula os componentes de alguns cromóforos da cadeia respiratória gera, “vitaliza” a célula pelo aumento de ATP mitocondrial. A energia luminosa é absorvida nos citocromos e porfirinas dentro da mitocôndria e membrana celular. Uma pequena quantidade de oxigênio livre é produzida como resultado da absorção da luz dentro da célula. Isto causa formação de gradiente de prótons através da membrana celular e através da membrana da mitocôndria. Este tipo de estimulação pode ser interpretado como efeito de ressonância biológica. Dependendo do comprimento de onda, radiação eletromagnética na forma de luz pode estimular macromoléculas, iniciando mudanças conformacionais na proteína e transferindo energia para elétrons. Dessa forma, o LBP acelera, a curto prazo, a glicólise e a oxidação fosforilativa e a longo prazo, a transcrição e a replicação de DNA (KARU, 1987).

Quando a radiação penetra no tecido ela pode ser absorvida ou transmitida, dependendo para isto do comprimento de onda e da natureza dos tecidos. Para que ocorra absorção de um fóton é necessário que o comprimento de onda a ele associado corresponda à diferença de energia entre o estado existente do elétron e um nível de energia mais alto do que permitido (LOW; RED, 2001).

Segundo Ortiz *et al.*, (2001), os parâmetros que descrevem o laser são o tipo de comprimento de onda, a potência média, a potência de pico ou radiante, a área tratada, o tipo de feixe, densidade de energia ou fluência dado em J/cm^2 .

Segundo Matera, Dagli e Pereira (1994), Ortiz *et al.*, (2001), a profundidade de penetração de luz do laser diodo de GaAs é 1.6 vezes maior em comparação com o laser

HeNe devido à diferença no comprimento de onda (penetração de 1.6 mm). Este aparelho possui inúmeras qualidades, dentre elas seus efeitos já mencionados, é um aparelho de fácil aplicação, pequeno, econômico e seguro (TARUNAS; MATERA; ZAIDAN, 1998).

O laser GaAs é obtido por estimulação de um diodo semiconductor. O comprimento de onda de 904nm, tem emissão pulsada. Tem maior destaque para lesões profundas do tipo articular ou muscular. O modo de aplicação aconselhado é o pontual, mas também pode ser por varredura ou por zona (BAXTER, 1997; VEÇOSO, 1993).

Já o laser GaAs de 830nm trabalha em regime de emissão contínua e pulsada. Deste modo, uma considerável potência pode ser obtida de diodos que utilizam este comprimento de onda. O diodo de laser de 830 nm produz uma energia maior do que o de 904 nm. Assim, o laser de 830 nm é bastante indicado em dermatologia e nos tratamentos fisiológicos, nos quais é necessário atingir estruturas mais profundas (GENOVESE, 2000).

Recentes pesquisas mostram existir uma faixa de estimulação onde a síntese de DNA/RNA é maior. Foram encontrados quatro comprimentos de onda em que a estimulação em nível celular é máxima, sendo os de 620 nm, 670 nm, 760 nm e 830 nm. Outra vantagem do laser de 830 nm é de estar biotecnicamente dentro da faixa onde a fotobioativação é melhor (GENOVESE, 2000).

O laser, sendo uma radiação óptica, compõe parte do espectro eletromagnético. O laser de baixa potência utiliza faixa entre 620 a 1300 nm, ou seja, luz visível (vermelho) e invisível (parte do infravermelho) (OSHIRO; CALDRHEAD, 1991).

Densidade de energia, ou fluência, é calculado pela energia total transmitida por um feixe de laser (J) pelo tempo (s) sobre o tamanho da área do feixe (cm²). Os valores típicos para os tratamentos de rotina podem variar desde menos 1 até mais de 30 J/ cm²; contudo, a faixa de uso mais comum situa-se entre 1 e 12 J/ cm² (KITCHEN; BAZIN, 1998).

Outro parâmetro a ser considerado é o comprimento de onda, pois este define a profundidade de penetração no tecido alvo, sendo que radiações com diferentes comprimentos de onda atingem diferentes profundidades em um mesmo tecido. As radiações emitidas na região do ultravioleta e na região do infravermelho médio apresentam alto coeficiente de absorção pela pele, fazendo com que a radiação seja

absorvida na superfície, enquanto que na região no infravermelho próximo (820nm e 840nm) constata-se baixo coeficiente de absorção, implicando em máxima penetração no tecido. Também é importante ressaltar que existe uma janela óptica entre 700 e 1200nm, que permite a penetração da radiação em níveis mais profundos (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998).

Outra característica que merece destaque é o regime de atividade que pode ser pulsado ou contínuo, dependendo da fonte do material e configuração do sistema de produção do laser. Quando se utiliza um laser pulsado, deve-se especificar a dose de irradiação, além da taxa de repetição do pulso e da duração deste (KARU, 1987). Os cromóforos não conseguem detectar a pulsação quando a frequência é de 1000 Hz, distinguindo como se fosse contínuo. A potência emitida de um laser pulsado, se deve a soma de energias levadas pelo número de pulsos em um segundo, ou seja, a potência média é igual a potência de pico (W ou mW) vezes a duração do pulso (s) vezes a frequência do pulso (Hz).

Para Ortiz *et al.*, (2001), pesquisas têm demonstrado que as radiações com potência radiante inferior a 1 W, apresentam-se sem potencial destrutivo, dentre eles o laser Hélio-Neônio (HeNe) e laser Arseneto de Gálio (GaAs).

O efeito da laserterapia foi comprovado por inúmeros autores que constataram sua utilização como antiinflamatório, antiedematoso, analgésico, estimulante do metabolismo celular, neoformador de colágeno e sintetizador de proteoglicanos DNA (ABERGEL *et al.*, 1984; VEÇOSO, 1993; SCHIMITT *et al.*, 1993; STAINKI; RAISER; GRAÇA, 1998). O Laser é uma forma de tratamento não invasivo usado na fisioterapia para obtenção de melhores resultados no controle de afecções mioarticulares.

Seitz e Kleinkort (1986 apud LOW; RED 2001), comprovaram que a laserterapia é usada em muitas afecções que causam dor como artrite reumatóide, osteoartrite, bursite, inflamação nervosa e espasmo muscular.

No estudo do laser de baixa potência Mester (1985), obteve regeneração epitelial, collagenogênese, neovascularização e força de tensão aumentada em feridas radiadas quando comparado às isentas de tratamento laser. Em 1985 compila seus trabalhos e conclui que: a radiação laser de baixa potência atua no processo cicatricial,

dosagens altas ou pequenas, porém cumulativas, com um efeito inibidor; o laser atua no estágio inicial da cicatrização, favorecendo primariamente a colagenogênese.

A dose recomendada em laserterapia para promover aumento do número de fibroblastos e conseqüentemente de fibras colágenas, incremento vascular e reepitelização deve se situar entre 1 e 5 J/cm² (MESTER, 1985; TARUNAS, MATERA; ZAIDAN, 1998).

Schmitt *et al.*,(1993), concluiu que a laserterapia apresenta efeitos de biomodulação positiva, devido ao aumento de proliferação de células do tecido conjuntivo e estímulo para neovascularização quando em dosagem de 2 a 4 J/cm², onde o efeito depende do tipo de fonte de radiação, da duração da exposição, e da quantidade de energia por cm².

Para Ortiz *et al.*(2001), doses superiores a 4 J/cm² incapacitam as células de absorver mais energia, e têm sido usadas no tratamento de artrite reumatóide com finalidades de se utilizar capacidades inibitórias do laser para limitar o processo reumático.

Mester (1985), comprovou a aplicação do laser no processo cicatricial de feridas através da microscopia eletrônica onde evidenciou um aumento nas atividades dos fibroblastos, aumento das fibras colágenas, aumento dos corpúsculos celulares do tipo lisossoma, aumento das vesículas intracelulares e através de vias histoquímicas em ratos, comprovou o aumento da atividade da succinildesidrogenase e esterases não específicas dos fibroblastos (VEÇOSO, 1993).

Radiações infravermelhas aceleram a proliferação celular e reduzem a concentração de oxigênio nos meio intra e extracelular, normalizando o pH. Os efeitos do laser são de grande extensão e dependem do modo de aplicação (ângulo de incidência), da natureza dos tecidos, e comprimento de onda (VEÇOSO, 1993; ORTIZ, *et al.*, 2001; LOW; RED, 2001). Atua atenuando a dor, neoformando colágeno e na síntese de proteoglicanos e DNA (BROSSEAU *et al.*, 2000).

Veçoso (1993), também propõe os efeitos fisiológicos da laserterapia: devido à decorrência da incorporação da radiação laser, há liberação de substâncias pré-formadas como histamina, serotonina e bradicinina, estes porém atuam na síntese de prostaglandinas, na lise da fibrina, proporcionando modificações estimulatórias ou inibitórias em reações enzimáticas como na atividade da bomba sódio/potássio

mantendo-a com maior eficiência. Para que esta reação aconteça faz-se necessário à produção de ATP, devido ao grande consumo de energia.

O estudo de Tarunas, Matera e Zidan (1998), afirma que após a exposição ao processo inflamatório, os fibroblastos e os capilares aparecem dentro de 24 horas, aparentemente mais evidentes de 7 a 10 dias; este mesmo estudo cita o início do processo de reparação que ocorre de 3 a 4 dias.

Para Ortiz *et al.* (2001), a fagocitose de leucócitos foi consideravelmente aumentada por uma densidade de energia incidente de 0.05 J/cm^2 e inibida utilizando $2-4 \text{ J/cm}^2$, neste caso os leucócitos aglomeravam-se e atuavam no sentido de inibir a fagocitose como se houvesse aplicado grandes doses de energia.

A efetividade clínica depende das doses de energia adequadas, aplicadas corretamente e usadas gradual e regularmente. A sobre-dosificação pode não produzir efeito ou gerar prejuízos. Deve-se levar em conta que os resultados obtidos da exposição laser são cumulativos (MATERA; DAGLI; PEREIRA, 1994).

Mester (1985) e Veçoso (1993), consideram que nos tratamentos a cada dois dias ou duas vezes por semana se conseguem respostas positivas, e sugerem que doses de irradiação baixas repetidas com intervalo semanal induzem melhores efeitos comparados com altas doses de energia aplicadas em curto período de tempo.

Para Schimitt *et al.* (1993), a reparação tecidual ocorre por migração e proliferação de fibroblastos ou do tecido adjacente, e é confirmada a partir do momento que há um adequado suprimento sanguíneo para iniciar a síntese do colágeno. Em condições normais o processo lesivo do tecido é lento devido à vascularização local ser deficiente.

O laser difere da luz comum por apresentar características como: monocromaticidade (cada meio que gera laser corresponde a um comprimento de onda específico); coerência (feixe apresenta o mesmo comprimento de onda e a mesma fase, onde picos e depressões dos campos elétricos e magnéticos ocorram ao mesmo tempo, e possuem a mesma direção); e colimação (pode ser descrita como uma consequência da coerência espacial: o feixe apresenta alto grau de paralelismo; e pode ser propagado por longas distâncias (ORTIZ *et al.*, 2001).

Em suma, pode-se caracterizar um feixe laser como apresentador da mesma fase com coerência espacial e monocromaticidade. Estes fatores facilitariam a penetração do laser nos tecidos biológicos (ORTIZ *et al.*, 2001).

2 JUSTIFICATIVA

Justifica-se a escolha do tema pela alta incidência de osteoartrite (processo inicial e inflamatório) e pela incessante busca de novos recursos para o tratamento da mesma. A laserterapia vem sendo cada vez mais utilizada, devido aos efeitos que provoca no quadro clínico destes pacientes, principalmente alívio da dor e diminuição do processo inflamatório; porém, há uma escassez de estudos experimentais que comprovem quantitativamente, morfológicamente e bioquimicamente seus efeitos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da terapia com laser de baixa potência (GaAs 830 e 904nm) na reação inflamatória decorrente de uma osteoartrite em ratos *Wistar*.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar o efeito dos diferentes lasers sobre o processo inflamatório em osteoartrite induzida por Adjuvante de Freund, em ratos da linhagem *Wistar*.
- Comparar a eficácia dos diferentes lasers de baixa potência de GaAs com comprimento de onda de 830nm e de 904nm no processo inflamatório em osteoartrite, induzida por adjuvante Freund, em ratos da linhagem *Wistar*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram aplicados os princípios éticos da experimentação animal em conformidade a COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), tendo o trabalho aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP (Anexo).

4.1 Animais

O modelo animal escolhido para este estudo foi 84 ratos *Wistar* com peso entre 200 e 300g, machos, de idade variada provenientes e mantidos no Biotério da UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Cascavel-PR.

Os animais encontravam-se em gaiolas coletivas (5 e 6 animais por gaiola), onde inicialmente passaram por um período de ambientação, no referido laboratório, onde se realizou a pesquisa. O ambiente era climatizado (com temperatura controlada de 25°C) e com foto-período claro/escuro de 12 horas e os animais foram alimentados com ração balanceada e água *ad libitum*, com limpeza diária das caixas onde os animais eram mantidos.(Figura 1 e 2).

4.1.1 Grupos Experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos (conforme tabela 1), denominados Grupos A, B e C. No Grupo A encontravam-se um total de 12 ratos não tratados (animais controle) sendo divididos em 2 subgrupos, onde A1 foi o grupo controle sem indução de adjuvante de Freund (total de 3 ratos) e A2 o grupo controle com indução de adjuvante de Freund (total de 9 ratos).

No Grupo B encontram-se 36 ratos divididos em 3 subgrupos (todos tratados com laser GaAs 830nm). B1 com 12 animais sacrificados após 7 dias da indução; B2 com 12 animais sacrificados após 14 dias de indução e B3 com 12 animais sacrificados após 21 dias da indução.

No Grupo C, idem grupo B só que com tratamento laser GaAs com comprimento de onda de 904nm .



Figura 1: Acondicionamento dos animais em gaiola no biotério da UNIOESTE.



Figura 2: Disposição dos animais na gaiola dentro do biotério da UNIOESTE.

4.2 Indução do Processo Inflamatório

Os animais foram anestesiados através de injeção intramuscular (seringa e agulha estéril descartável – B.D[®]) de Zoletil[®] 50mg, 1,5mg IM (Zolazepan e Tiletamina, Laboratório Virbac S.A.). Após certificação do plano anestésico foi realizada a tricotomia da pata posterior direita, posteriormente assepsia local com solução tópica de polividona Iodo 10% (LM FARMA[®]) para aplicar a injeção de 0,4 ml de adjuvante de Freund no joelho da referida pata (no espaço intra-articular entre tíbia e fêmur) (Figura 3 e 4).

Após 5 dias, os animais para serem incluídos no estudo passaram por uma avaliação prévia na qual o animal deveria apresentar no mínimo três dos cinco sinais clássicos da inflamação (calor, dor, incapacidade funcional, rubor e edema).

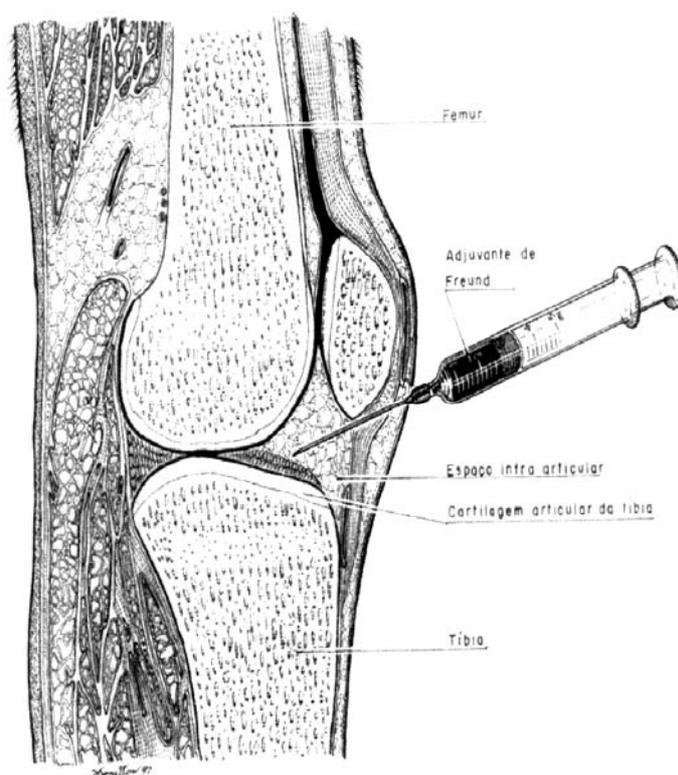


Figura 3: Vista lateral da articulação do joelho do rato sendo submetida à injeção de Adjuvante de Freund (GUERINO, 2001)



Figura 4: Indução do processo inflamatório com o Adjuvante de Freund.

4.3 Aplicação do laser

Para aplicação do tratamento, utilizou-se o laser infravermelho semiconductor diodo GaAs Endophoton LLTO0107, fabricado pela KLD Biosistemas, com potência de pico instantânea eleita para 45 Watts, pulsátil, com comprimento de onda de 830 e 904 nm. Os animais do grupo B1 e C1 receberam radiação com GaAs 830nm com dose de $4\text{J}/\text{cm}^2$ e 904nm com $4\text{J}/\text{cm}^2$ respectivamente por 2 dias consecutivos após o 5º dia de indução sendo sacrificados.

Os animais do grupo B2 e C2 receberam radiação com GaAs 830nm com dose de $4\text{J}/\text{cm}^2$ e 904nm com $4\text{J}/\text{cm}^2$ respectivamente por 5 dias consecutivos, tendo uma pausa de 2 dias (correspondente ao Sábado e Domingo) e novamente aplicações sendo então sacrificados (14º dia) (Tabela 1).

Tabela 1: Divisão dos animais em grupos e cronograma de sacrifícios

GRUPO	SUBGRUPO	Nº total de animais	Sacrificados 7 dias	Sacrificados 14 dias	Sacrificados 21 dias
A (controle)	A1 (s/ indução)	03	01	01	01
	A2 (c/ indução)	09	03	03	03
B (animais tratados GaAs 830nm)	B1, B2 e B3	36	12 (B1)	12 (B2)	12 (B3)
C (animais tratados GaAs 904nm)	C1, C2 e C3	36	12 (C1)	12 (C2)	12 (C3)

Os animais do grupo B3 e C3 receberam radiação com GaAs 830nm com dose de $4\text{J}/\text{cm}^2$ e 904nm com $4\text{J}/\text{cm}^2$ respectivamente por 2 (dois) dias consecutivos, tendo uma pausa de 2 (dois) dias (correspondente ao Sábado e Domingo), novamente tendo aplicação de 5 (cinco) dias consecutivos, outra pausa de 2 (dois) dias (Sábado e Domingo) e seguido de 2 (dois) dias de aplicação e sacrifício ao 21º dia.

Os animais de controle, com ou sem indução do processo inflamatório, foram manipulados no mesmo local e horário o mais próximo possível dos animais submetidos à radiação laser.

4.4 Sacrifício dos Animais

A escolha do sacrifício aos 7, 14 e 21 dias após a indução por adjuvante de Freund deve-se ao fato da inflamação caracterizar-se a partir do 5º dia após a indução e alcançar seu pico máximo após 20 dias de indução (HENZGEN et al, 1996; CREMER et al, 1998; SATO et al, 1999; TEMBOKUM et al, 1999; MOLLER et al, 1999).

Para o sacrifício foi administrada uma injeção IM (seringa e agulha estéril descartável – B.D[®]) de Zoletil[®] 0,8 mg, e após dez minutos de Tio-Pental[®] (Barbitúrico - CRYSTALIA[®]) 0,43 ml IV. E após cinco minutos, Cloreto de Potássio (Ariston 19,1% 2,559 mEq/ml) 0,5mL.

Constatado o óbito, a articulação fêmuro-tibial do membro posterior direito foi seccionada e retirada em bloco (1cm acima do fêmur e 1 cm abaixo da tíbia). Todas as peças, após identificação, foram imersas em solução de formalina 10% e tamponadas por 48 horas. Após a retirada dos tecidos moles, as articulações foram descalcificadas em solução EDTA por 28 dias. Após o processo completo de descalcificação, as peças estavam prontas para serem emblocadas, posteriormente cortadas e analisadas (Figura 5).



Figura 5: desarticulação da pata do animal que será utilizado no estudo

4.5 Histologia

4.5.1 Descalcificação

Faz-se necessário entender o princípio pelo qual as peças passaram pelo processo de descalcificação.

Quando os sais de cálcio insolúveis se depositam em um tecido, diz-se que houve calcificação desse tecido. Os únicos órgãos que normalmente se apresentam calcificados são os ossos e os dentes, em casos patológicos calcificação pode se instalar em qualquer órgão ou tecido. Estes tecidos apresentam consistência pétreia apresentam dificuldade para serem cortadas no micrótomo. Para serem cortados é necessário usar substâncias capazes de dissolver o cálcio que impregna as peças, processo pelo qual chamamos de descalcificação, e as substâncias são chamadas de descalcificadores; estes apresentam função ácida para poder deslocar e transformar os sais de cálcio, insolubilizados nos tecidos, em sais solúveis nos próprios descalcificadores.

Considerando que o cálcio esta intimamente ligado aos tecidos moles, é evidente que o descalcificador atuará sobre os mesmos, os ácidos produzem alterações secundárias representadas por deficiência da coloração nuclear, inchaço das fibras

colágenas e maceração dos tecidos quando expostos por longos períodos de tempo ou por doses muito fortes, sobretudo se o tecido não estiver bem fixado.

Assim sendo, o descalcificador ideal é aquele que apresenta afinidade pelos sais de cálcio, que os dissolve rapidamente em concentração mínima e que conserva a estrutura dos tecidos.

4.5.2 Técnica e preparo das Lâminas e Coloração

A primeira etapa na preparação de uma amostra de tecido para exame ao microscópio óptico é a fixação. Utiliza-se com muita frequência o fixador formalina ou formaldeído, que apresenta como função primordial insolubilizar as proteínas dos tecidos, por isso reage com grupo amino nas proteínas, preservando o citoplasma e o núcleo devido sua alta concentração protéica (ROSS; ROWRELL, 1993; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Após a fixação, o fixador é retirado através de lavagem da amostra, sendo desidratado para ser incluído na parafina para obtenção de cortes delgados. Para que ocorra a desidratação o tecido passa por uma série gradativa de soluções alcoólicas até o álcool 100%. Esta etapa remove água do tecido e permite que seja substituído por um meio não aquoso, como xilol, que é miscível em parafina derretida. O tecido embebido nestas substâncias torna-se translúcido; esta etapa é definida como clareamento ou diafanização. Mergulham-se os tecidos em parafina fundida em estufa a 60° C, devido ao calor, o xilol evapora dos espaços anteriormente ocupados, dando lugar para a entrada da parafina (ROSS; ROWRELL, 1993; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

A seguir, o tecido é infiltrado com parafina fundida, deixando que esfrie e endureça (inclusão), geralmente se fixa em forma de bloco sendo colocado sobre um instrumento de corte (micrótomo), que realiza os cortes das peças em torno de 6 a 8 µm de espessura (ROSS; ROWRELL, 1993; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Remove-se a parafina contida no corte, dissolvendo-se em xilol, e o tecido é reidratado através de sua passagem por uma série decrescente de soluções alcoólicas e, depois, novamente em água, sendo em seguida corados em hematoxilina e eosina. A maioria dos corantes usados em histologia comporta-se como ácidos ou bases e tendem a formar ligações salinas com radicais ionizáveis presentes nos tecidos. A hematoxilina comporta-se como um corante básico, ligando-se às estruturas basófilas dos tecidos; já a

eosina cora proteínas citoplasmáticas (ROSS; ROWRELL, 1993; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

Para se obter um preparado permanente, o tecido corado deve ser desidratado novamente com álcoois e, usando-se um meio de montagem não aquoso, sendo coberto por uma lamínula. Quando o meio de montagem seca, a amostra está pronta para o exame microscópico e armazenagem (ROSS; ROWRELL, 1993; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995).

5 RESULTADOS

Os ratos do grupo controle (A1) que pertenciam ao subgrupo que não teve aplicação do adjuvante de Freund (perfazendo um total de 3 ratos) foram sacrificados um com 7, outro 14 e o último com 21 dias. Estes não apresentaram alterações morfológicas e na avaliação histoquímica não foram observados sinais de potencial inflamatório (PI), nem no número de neutrófilos (N), de mononucleares (M), na congestão vascular (CV), na neoformação de vasos (NV), no granuloma epitelióide (GE), que foram os itens avaliados nas provas bioquímicas.

No outro subgrupo controle (A2), constituído de 9 ratos em que houve indução com o adjuvante Freund e que posteriormente foram sacrificados com 7, 14 e 21 dias, ocorreram alterações na avaliação histológica, conforme a Tabela (2) abaixo.

Tabela 2: Avaliação histoquímica do grupo controle que foi submetida avaliação com adjuvante de Freund e posteriormente sacrificados com 7, 14 e 21 dias

Período (dias)	PI	N	M	CV	NV	GE
7	++	++++	+++	++++	0	0
	++	+++	+++	+++	0	0
	+	+++	++	+++	0	0
14	++	++++	+++	++++	0	0
	++	+++	+++	+++	0	0
	+	+++	++	+++	0	0
21	+++	++	+++	+++	0	++++
	+++	++	++++	+++	0	++++
	+++	++	+++	++++	0	++++

Potencial inflamatório (PI), Neutrófilos (N), mononucleases (M), Congestão Vascular (CV), Neoformação de Vasos (NV), Granuloma Epitelióide (GE).

0 Ausente; + Leve; ++ Discreto, +++ Moderado; ++++ Severo.

Este grupo controle apresentou processo inflamatório discreto com 7 dias que evoluiu para um processo moderado ao final de 21 dias. Presença significativa de microabcessos advindo da extensão de neutrófilos, a quantidade de mononuclease, o nível de congestão vascular e o granuloma epitelióide aumentaram, apresentando-se com índices moderados e severos que permaneceram estáveis até no grupo de ratos sacrificados com 21 dias. Neste período não foi observada uma nova formação de vasos sanguíneos (figura 6).

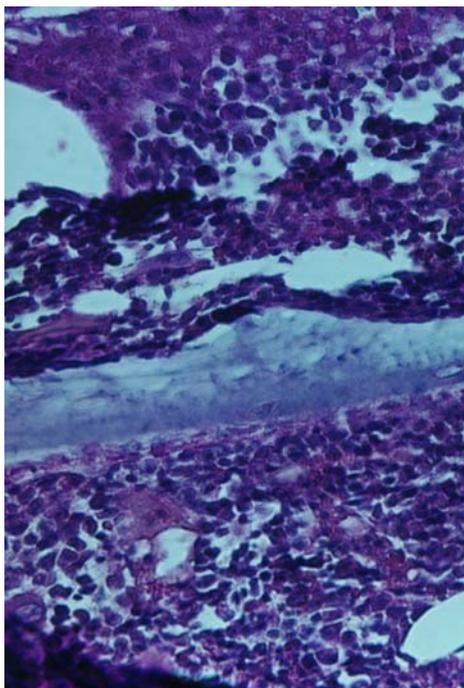


Figura 6. Presença de neutrófilos e mononucleares caracterizando um processo inflamatório em ratos

Os grupos B e C, de ratos submetidos a tratamento com laser de GaAs 830nm e laser GaAs 904nm respectivamente, foram submetidos à avaliação histológica e os dados referentes aos valores da média e do desvio padrão foram tabulados e encontram-se na Tabela (3) abaixo.

Tabela 3: Valores da média e do desvio padrão para os grupos de ratos tratados com laser GaAs 830nm (grupo B) e para os ratos tratados com laser GaAs 904nm (grupo C)

Grupos	PI	N	M	CV	NV	GE
B1	3,25±0,45	1,83±0,83	2,67±1,07	0,00	1,67±0,49	3,50±0,52
B2	2,50±0,52	2,08±0,51	2,25±0,45	0,00	2,50±0,52	2,33±0,49
B3	1,42±0,51	1,67±0,49	1,58±0,51	0,00	3,25±0,62	0,92±0,79
C1	3,42±0,67	1,50±0,52	2,83±1,03	0,00	2,42±0,51	3,67±0,49
C2	2,75±0,04	1,33±0,65	2,33±0,49	0,00	2,33±0,49	2,33±0,78
C3	1,75±0,62	1,25±0,75	1,50±0,52	0,00	2,58±0,51	1,33±0,65

Potencial inflamatório (PI), Neutrófilos (N), mononucleases (M), Congestão Vascular (CV), Neoformação de Vasos (NV), Granuloma Epitelióide (GE). B1 e C1 sacrificados com 7 dias, B2 e C2 com 14 dias e B3 e C3 com 21 dias.

Os grupos de ratos (B e C) tratados com laser apresentaram após 7 dias um moderado potencial inflamatório, entretanto sem diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre

um grupo e o outro. A incidência deste potencial inflamatório foi diminuindo, em ambos os grupos tratados, e após 21 dias os níveis estavam em leve e discreto.

Na Tabela 4 foram feitas as análises comparando-se o grupo controle, induzido com adjuvante de Freund (A2), e os grupos tratados com laser de GaAs 830nm (B) e laser GaAs 904nm (C), todos com datas de sacrifício dos animais correspondentes ao mesmo período.

Tabela 4: Análise estatística utilizando o Teste de Wilcoxon para os ratos do grupo controle (A2) e os ratos tratados com laser de GaAs 830nm (B) e laser GaAs 904nm (C).

Grupos	PI	N	M	CV	NV	GE
B1	0,002*	0,005*	0,753	0,002*	0,002*	0,002*
B2	0,007*	0,005*	0,186	0,002*	0,002*	0,002*
B3	0,002*	0,067	0,002*	N/A	0,002*	0,002*
C1	0,002*	0,045*	0,624	0,002*	0,002*	0,002*
C2	0,002*	0,002*	0,140	0,002*	0,019*	0,002*
C3	0,003*	0,027*	0,002*	N/A	0,002*	0,002*

Potencial inflamatório (PI), Neutrófilos (N), mononucleares (M), Congestão Vasculare (CV), Neoformação de Vasos (NV), Granuloma Epitelióide (GE). B1 e C1 sacrificados com 7 dias, B2 e C2 com 14 dias e B3 e C3 com 21 dias.

* Valores estatisticamente significantes para $p < 0,05$

No período de 7 dias, o grupo de ratos não tratado e induzido (A2) apresentou um processo inflamatório significativamente maior ($p < 0,05$) que os índices dos grupos tratados B1 e C1. Esta diferença estatística manteve-se para os animais sacrificados após 14 e 21 dias. O número de neutrófilos foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo controle (A2) que nos grupos tratados (B e C); entretanto, no grupo B com 21 dias (B3), esta diferença não foi observada. Para a mononuclease, houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo A e o grupo B no período de 21 dias, embora nos outros períodos não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$).

Na verificação da congestão vascular, observou-se que esta foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo controle que nos animais tratados, embora

nestes grupos tratados com 21 dias (B3 e C3), este item não tenha sido avaliado. A formação de novos vasos e formação de granuloma epitelióide foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos grupos tratados que no grupo controle, considerando o mesmo período.

Os ratos que foram tratados com laser GaAs 830nm (B) apresentaram uma evolução na análise histológica descrita na Tabela (5) abaixo no período de 7 (B1), 14 (B2) e 21 (B3) dias.

Tabela 5: Valores correspondentes à avaliação entre os subgrupos de ratos tratados com laser GaAs 830nm utilizando o Teste de Wilcoxon.

Grupos	PI	N	M	CV	NV	GE
B1 x B2	0,017*	0,401	0,247	N/A	0,007*	0,008*
B2 x B3	0,002*	0,113	0,017*	N/A	0,028*	0,003*
B1 x B3	0,002*	0,554	0,029*	N/A	0,002*	0,002*

Potencial inflamatório (PI), Neutrófilos (N), mononucleares (M), Congestão Vascular (CV), Neoformação de Vasos (NV), Granuloma Epitelióide (GE). B1 sacrificados com 7 dias, B2 com 14 dias e B3 com 21 dias.

* Valores estatisticamente significantes para um $p < 0,05$

Em geral, foi observado que houve uma melhora significativa ($p < 0,05$) do quadro inflamatório com a utilização do laser na evolução da fase aguda (7 dias) para a fase crônica (21 dias). Pode-se constatar que houve uma redução do potencial inflamatório (PI), da mononucleose (M), do granuloma epitelióide (GE) e um aumento da neovascularização.

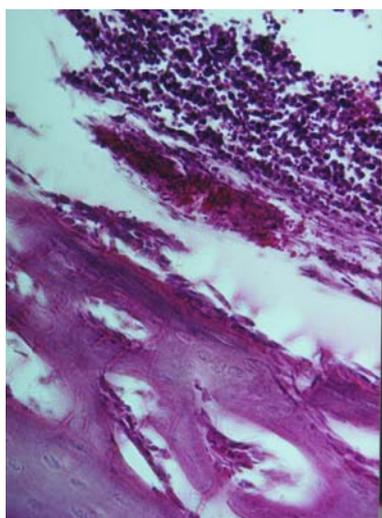


Figura 7: Caracterização de uma congestão vascular na articulação de ratos com osteoartrite induzida pelo Adjuvante de Freund

Os animais que foram tratados com laser GaAs 904nm (C) apresentaram uma evolução observada pela análise histoquímica, descrita na Tabela (6) abaixo no período de 7 (C1), 14 (C2) e 21 (C3) dias.

Tabela 6: Valores de p correspondentes à avaliação entre os subgrupos de ratos tratados com laser GaAs 904nm utilizando o Teste de Wilcoxon

Grupos	PI	N	M	CV	NV	GE
C1 x C2	0,017*	0,500	0,213	N/A	0,685	0,005*
C2 x C3	0,005*	0,790	0,011*	N/A	0,224	0,011*
C1 x C3	0,003*	0,340	0,010*	N/A	0,460	0,002*

Potencial inflamatório (PI), Neutrófilos (N), mononucleares (M), Congestão Vascular (CV), Neoformação de Vasos (NV) e Granuloma Epitelióide (GE). C1 sacrificados com 7 dias, C2 com 14 dias e C3 com 21 dias.

* Valores estatisticamente significantes para $p < 0,05$

Com o decorrer da aplicação de laser de GaAs 904nm houve uma diminuição significativamente importante ($p < 0,05$) do potencial inflamatório (PI), índice de mononucleares e granuloma epitelióide. Este granuloma, quando presente, pode gerar fibrose cicatricial (Figura 8).

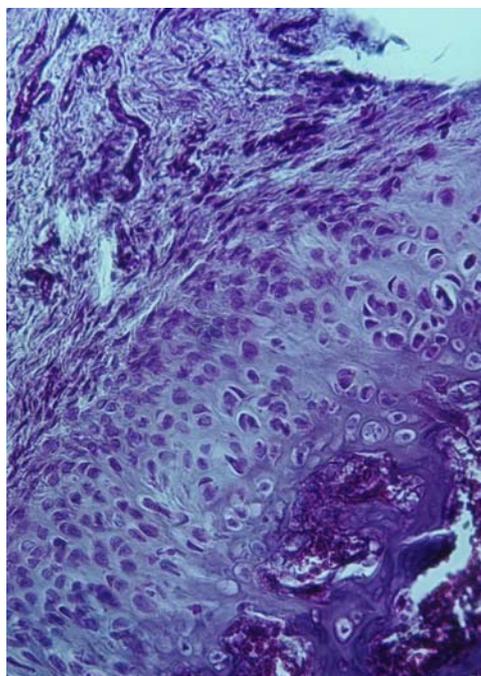


Figura 8: Fibrose cicatricial observada em articulações de ratos com osteoartrite induzida pelo Adjuvante de Freund.

Na Tabela 7 são apresentados os valores da análise histoquímica comparando os grupos tratados com os diferentes tipos de laser, o grupo B com o laser de GaAs 830nm e o grupo C com o laser GaAs 904nm.

Tabela 7: Valores de p referentes à avaliação do laser de GaAs 830nm (B) e do laser GaAs 904nm (C) nos diferentes períodos.

Grupos	PI	N	M	CV	NV	GE
B1 x C1	0,528	0,293	0,575	N/A	0,008*	0,463
B2 x C2	0,109	0,017*	0,592	N/A	0,361	0,990
B3 x C3	0,236	0,202	0,592	N/A	0,042*	0,163

Potencial inflamatório (PI), Neutrófilos (N), mononucleares (M), Congestão Vascular (CV), Neoformação de Vasos (NV) e Granuloma Epitelióide (GE). B1 e C1 sacrificados com 7 dias, B2 e C2 com 14 dias e B3 e C3 com 21 dias.

* Valores estatisticamente significantes para um $p < 0,05$

De forma geral, os diferentes tipos de laser utilizados neste estudo apresentaram resultados semelhantes. Entretanto, na análise histoquímica dos ratos sacrificados no período de 7 dias, foi observado que o laser GaAs 904nm (subgrupo C1) apresentou um índice significativamente maior ($p < 0,05$) de formação de novos vasos sanguíneos que o laser de GaAs 830nm (subgrupo B1). A análise das lâminas dos ratos sacrificados com 14 dias apresentou quadro semelhante ao anterior e apenas o número de neutrófilos foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos ratos que foram tratados com laser do tipo GaAs 830nm (subgrupo B2). Finalmente, a avaliação das lâminas após 21 dias permite constatar que a formação de novos vasos foi significativamente maior ($p < 0,05$) nos ratos submetidos a tratamento com laser GaAs 830nm que nos animais tratados com o laser GaAs 904nm; entretanto, não houve alterações significativas em relação às outras variáveis.

6 DISCUSSÃO

Para este estudo foram escolhidos os ratos da linhagem *Wistar* devido à facilidade da manutenção, manuseio e padronização das amostras quando se deseja animais genético e fisiologicamente semelhante, quando submetidos ao processo inflamatório. Amado e Jacar (1986), afirmam que diferentes linhagens de ratos apresentam padrões variáveis de inflamação, e experimentalmente comprovaram que a linhagem *Wistar* gera artrite severa, quando induzida com Adjuvante de Freund.

Os resultados observados neste estudo, em uma análise semiquantitativa, dos parâmetros relacionados aos processos inflamatórios (PI), número de neutrófilos (N), taxa de mononucleares (M), a congestão vascular (CV), a neoformação de vasos (NV), os testes, inicialmente aplicados, de Fisher e de Mann-Whitney não mostraram resultados significantes, devido à disparidade apresentada. Por estes motivos, optamos pela escolha dos testes de postos de Wilcoxon e de sinais, por serem testes não paramétricos em que se utiliza às hipóteses afirmativas ou nulas.

Para este experimento, o grupo controle foi dividido em 2 subgrupos, em que um foi induzido com o adjuvante de Freund (A2) e o outro grupo controle (A1) os ratos não sofreram indução com esta substância. Os grupos de ratos tratados com laser também foram induzidos com este presente adjuvante.

Para Kapil e Sharma (1995) e Ulugöl *et al.* (1997) o adjuvante de Freund pode provocar uma reação inflamatória aguda, monoartrite e, portanto, esta substância é um pré-requisito para o desenvolvimento da doença. A sua composição apresenta uma concentração de *Mycobacterium*; segundo Montenegro e Franco (1999), este microrganismo associado a um material inanimado não degradável, como as partículas de sílica, que são irritantes químicos e/ou mecânicos e até auto-ímmunes, a longo prazo podem gerar uma artrite reumatóide em cobaia experimental.

Os efeitos do Adjuvante de Freund sobre o processo inflamatório são propostos por Kapil e Sharma (1995) que descreveram que a agudização do processo inflamatório deve-se à ação dos receptores do sistema complemento que aderem às superfícies do endotélio vascular, gerando vasodilatação, e como consequência aumento da inflamação local.

McDougaul, Karimian e Ferrell (1995) comprovaram que a injeção de adjuvante de Freund apresentou, histologicamente, uma proliferação e hiperplasia de células

inflamatórias e infiltradas mononucleares na sinóvia com abundância de polimorfonucleares e mononucleares como as células T e uma grande quantidade de agregados de macrófagos que pode ou não se estender a tecidos moles adjacentes a sinóvia, e que em longo prazo pode gerar erosão da cartilagem articular óssea.

Neste estudo, tanto no grupo controle induzido (subgrupo A2) quanto nos grupos tratados (B e C) foi observada uma inflamação do tipo granulomatosa que para Neto (1997) e Montenegro e Franco (1999), é um processo caracterizado por um agregado de macrófagos modificados e designado como células epitelióides, que são circundadas por leucócitos mononucleares, monócitos, linfócitos e associadas a microorganismos e outros agentes capazes de induzir a sensibilização dos linfócitos T, podendo gerar um granuloma epitelióide.

Os animais participantes deste estudo foram divididos em 3 grupos, sendo um grupo controle (A) e dois grupos experimentais (B e C). Os ratos do grupo experimental foram submetidos a tratamento com 2 tipos diferentes de laser, um de GaAs 830nm (B) e o outro de GaAs 904nm (C). Todos os grupos (A, B e C) foram subdivididos em 3 subgrupos de acordo com o período de sacrifício, 7, 14 e 21 dias. Esta subdivisão teve como objetivo o acompanhamento dos principais eventos da inflamação, que pode ocorrer em uma fase aguda e caracterizada pela duração de alguns minutos a 72 horas (KUMAR; COTRAN; ROBBINS, 1994; COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1996; MONTENEGRO ; FRANCO, 1999). Os animais que foram sacrificados após 7 dias de indução encontravam-se em fase aguda que pode ser verificada pelas alterações celulares como migração e proliferação de células, o infiltrado sinovial, e polimorfonucleares, leucócitos, neutrófilos, eosinófilos e tecido de granulação com crescimento desordenado de células e vasos.

De acordo com Brosseau *et al.*, (2000), o período de 14 dias corresponde a uma fase subaguda e um período de transição entre a fase aguda e crônica. Nesta fase ocorre proliferação de capilares e células endoteliais para áreas adjacentes à lesão.

O estudo de Yoshino e Yoshino (1994), mostra que as células de defesa da cartilagem articular dos ratos que foram induzidos pelo adjuvante de Freund apresentaram índices de inflamação severa, aos 21 dias após a indução. Os autores observaram também a presença de um grande número de leucócitos envolvendo toda a superfície articular o que poderia indicar um estado crônico da inflamação. Nesse

estágio, a presença de muitos leucócitos também pode indicar que o organismo esteja no auge da produção de células de defesa, para tentar controlar o agente agressor desencadeado pelo processo inflamatório.

O laser foi escolhido para estudo porque segundo o trabalho de Schmitt *et al.*, (1993), seu uso promovia uma reorganização do processo inflamatório, tanto em células como em vasos sanguíneos. Anneroth, Hall e Zetterqvist (1988), citam que as células endoteliais são transformadas em capilares devido ao efeito neoformador do laser. O laser atua sobre o processo inflamatório modulando a neovascularização, que como consequência diminui a perda da função, apresenta efeito modulador, incrementa a oxigenação tecidual, aumenta a microcirculação regional e estimula diversas reações durante o processo de reparação tecidual (ANNEROTH; HALL; ZETTERQVIST, 1988; SCHMITT *et al.*, 1993; BROSSEAU *et al.*, 1999).

Atualmente, têm sido amplamente estudados os mecanismos de interação do laser no processo de reparo tecidual, visando estimular por exemplo a produção de colágeno, efeitos antiinflamatórios, aumento da microcirculação local e alívio da dor (REDDY, STEHNO-BITTEL; ENWEMEKA, 1998). Experiências sobre os efeitos da terapia de laser He-Ne (dose 4 J/cm² e comprimento de onda de 632,8 nm) e laser infravermelho de GaAs (dose de 4 J/cm² e comprimento de onda de 904 nm) na inflamação articular em coelhos e ratos demonstraram ação antiinflamatória na cartilagem hialina e na fibrocartilagem, com aceleração do processo de regeneração articular (CALATRAVA *et al.*, 1997). Os efeitos produzidos pela radiação laser parecem estar diretamente relacionados ao comprimento de onda, dose de exposição e espessura da cartilagem irradiada (SOBOL *et al.*, 1999).

De acordo com os dados estatísticos, comparando-se o grupo controle e os grupos tratados com laser nas variáveis relacionadas ao potencial inflamatório (PI), o número de neutrófilos (N), a taxa de mononucleares (M), a congestão vascular (CV), a neoformação de vasos (NV) e o granuloma epitelióide (GE), observa-se que, no período de 7 dias, após a indução com adjuvante, houve um aumento significativo ($p < 0,05$) do potencial inflamatório (PI) nos animais que se submeteram a tratamento com alguns dos tipos de Laser (B1 e C1) propostos no estudo, em relação ao grupo controle. Isto pode ser explicado porque o Laser de baixa potência, utilizado na membrana sinovial em articulações com artrite reumatóide, após 6 dias, gerou uma maior mobilidade das

células inflamatórias, para o local inflamado (AMANO *et al.* 1994). Podemos concluir que os diferentes tipos de laser de GaAs apresentaram resultados semelhantes e ambos diminuíram o processo inflamatório, com 7 dias de indução, em relação ao grupo controle induzido (A2).

Os grupos tratados com laser (B1 e C1) no período de 7 dias, apresentaram índices significativamente maiores ($p < 0,05$) de formação de novos vasos sanguíneos e de granuloma epitelióide que os encontrados no grupo controle A2. Este aspecto sugere que o laser, neste período de fase aguda, melhorou a vascularização e a formação de tecido cicatricial em relação aos encontrados em animais que não foram submetidos ao tratamento proposto.

Ainda na fase aguda, os ratos do grupo controle e induzidos (A2) apresentaram taxas significativamente maiores ($p < 0,05$) de neutrófilos e congestão vascular que poderia estimular a produção de agentes inflamatórios e dificultar o acesso de células responsáveis pelo processo de reparação tecidual.

No período considerado como fase subaguda, 14 dias após a indução, observou-se um quadro semelhante ao encontrado na fase aguda. Pode-se constatar que a neovascularização (NV) apresentou índices significativamente maiores ($p < 0,05$) nos animais dos grupos tratados (B2 e C2) que no grupo controle e induzido (A2). Este grupo (A2) ainda apresentou taxas significativamente maiores ($p < 0,05$) de potencial inflamatório (PI), granuloma epitelióide (GE), neutrófilos (N) e congestão vascular (CV) que os observados nos grupos tratados.

Na fase crônica, 21 dias após a indução com o adjuvante, o grupo de animais pertencente ao subgrupo de animais controle e induzidos (A2) apresentou índices significativamente maiores ($p < 0,05$) de potencial inflamatório (PI), neutrófilos (N), de mononucleares e granuloma epitelióide que os encontrados nos grupos tratados (B3 e C3). Por outro lado, os animais dos grupos tratados apresentaram uma melhora significativa ($p < 0,05$) na formação de novos vasos em relação ao subgrupo controle A2. Estes achados sugerem que os animais que não foram tratados com laser, na evolução para a fase crônica, apresentaram um quadro inflamatório importante e com altas taxas de granuloma epitelióide, que são células responsáveis pela formação de fibrose tecidual, sendo, portanto, uma forma desorganizada de tecido cicatricial.

Comparando-se as análises histológicas dos animais submetidos a tratamento, percebemos que de forma geral o laser promoveu uma melhora do quadro inflamatório. No grupo de ratos tratados com GaAs 830nm (B), comparando-se a fase aguda com a fase crônica, pode-se constatar que na fase aguda, (7 dias, B1), houve índices significativamente maiores ($p < 0,05$) de potencial inflamatório (PI), de mononucleares (M) e granuloma epitelióide (GE). Na fase crônica, (21 dias, B3), a formação de novos vasos foi significativamente maior ($p < 0,05$) que na fase aguda.

Os animais tratados com laser GaAs 904nm (C) apresentaram resultados semelhantes aos tratados com o outro laser 830nm. Houve uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no potencial inflamatório (PI), taxas de mononucleares (M) e granuloma epitelióide (GE). Estes dados permitem observar que o uso de laser promoveu uma redução significativa do quadro inflamatório ao longo do período; entretanto, apenas nos animais tratados com Laser GaAs 830nm houve uma melhora na vascularização na fase crônica.

Quando se compara às análises histológicas, dos animais tratados com cada tipo de laser, pode-se constatar que os dois grupos (B e C) apresentam resultados semelhantes na evolução das variáveis analisadas. Na fase aguda, (7 dias), o grupo de ratos tratados com o laser de GaAs 904nm (C1) apresentou uma taxa significativamente maior ($p < 0,05$) de formação de novos vasos sanguíneos que os animais tratados com o outro laser 830nm. Na fase subaguda, (14 dias), houve uma redução significativa ($p < 0,05$) no número de neutrófilos nos ratos tratados com o laser de GaAs 904nm (C2). Finalmente, na fase crônica, (21 dias), houve um aumento significativo ($p < 0,05$) da formação de novos vasos sanguíneos nos animais tratados com o laser de GaAs 830nm no mesmo período. Estes dados podem indicar que o laser 904nm apresentou melhores resultados em ratos na fase aguda e subaguda e na fase crônica o laser de GaAs 830nm apresentou um melhor desempenho.

Normalmente os resultados experimentais da terapia com laser, reportados na literatura referem-se aos sintomas de alívio de dor, aos efeitos antiinflamatórios e de cicatrização, que aceleram o processo de reparo. Entretanto, os estudos clínicos e de modelos experimentais da terapia laser ainda são escassos, principalmente no que se refere aos prováveis mecanismos de ação do laser na recuperação da artrite degenerativa, em cartilagens articulares (KLEBANOV, et al, 1998).

7. CONCLUSÃO

Os resultados histopatológicos do presente estudo demonstraram que os diferentes tipos de comprimento de onda do laser GaAs utilizado nesse trabalho apresentaram efetividade durante o tratamento, pois propiciaram redução do processo inflamatório comparado com o grupo controle induzido e não tratado, onde encontrou-se um aumento na neoformação de vasos dos grupos tratados denotando processo de recuperação do quadro clínico.

De acordo com as informações obtidas durante a pesquisa, pôde-se diferenciar os dois tipos de comprimento de onda da seguinte forma: ambos os comprimentos de onda apresentaram muita efetividade no controle do processo inflamatório, antiedematoso e analgésico. Porém tem-se diferenciações quanto às fases evolutivas da patologia, ou seja, a utilização adequada para cada estágio de acometimento da osteoartrite.

E em fases iniciais, o laser de 830nm e o de 904nm apresentaram os mesmos efeitos fisiológicos para o controle evolutivo do quadro inflamatório. Porém, na fase crônica da patologia o laser mais adequado é o de comprimento de onda de 830nm, porque oferece melhor vascularização dos vasos, favorecendo um melhor processo de reparo.

Consideramos que, cada etapa vencida no decorrer desta pesquisa é um estímulo para a sua continuidade. Há muito ainda a ser feito, e este trabalho abre novos caminhos de estudo principalmente no sentido de comparar doses mais altas de tratamento, doses acima de 10J e, também buscando formas de análises mais específicas da cartilagem articular para analisar as neoformações de vasos.

REFERÊNCIAS

- ABERGEL, R.P. et. al. Control of connective tissue metabolism by lasers: recent developments and future projects. **Journal of the American Academy Dermatology**. v.11, n.6 p. 1142-1149, dec. 1984.
- ADAMS, J.C; HAMBLEN, D.V. **Manual de Ortopedia**. 11. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1994. 714 p.
- AIRES, M.M. **Fisiologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 125-150, 1999.
- ALORA, M.B.; ANDERSON, R.R. Recent developments in cutaneous lasers. **Lasers in Surgery and Medicine**. v. 26, n.2, p. 108-118, Apr.2000.
- AMADO, B.; JANCAR, S. Resposta inflamatória ao adjuvant de Freund. **Arquivo de Biologia e Tecnologia**. v.29, n. 4, p. 611-639, out. 1986.
- ANNEROTH, G.; HALL, G.; ZETTERQVIST, L. The effect of low-energy infrared radiation on wound healing in rats. **British Journal of Oral Maxillofacial Surgery**. v.26, p.12-17, jun. 1988.
- ARCHER, C.W; MORRISON, H.; PITSILLIDES, A. Cellular aspects of the development of diarthrodial joints and articular cartilage. **Journal of Anatomy**, v.184, p.447-456, 1994.
- BAXTER, G.D. **Therapeutic laser**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1977.
- BORGES, D.S. et al. Influência do laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a dor no modelo experimental de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**. v.1, n.1, p. 17, dez. 1996.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo: Patologia Geral**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 22-50.
- BROSSEAU, L. et al. Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metaanalysis. **The Journal of Rheumatology**. v.27, p. 1961-1969, Jan. 2000.
- BRUGNERA, J.R.A.; PINHEIRO, A.L.B. **Laser na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.
- CALATRAVA, I.R. et. al. Histological and clinical responses of articular cartilage to low-level laser therapy: experimental study. **Laser in Medicine Science**, v.12, n.2, p.117-121, 1997.

CARVALHO, P.T.C. et. al. Os efeitos do laser de baixa intensidade em feridas cutâneas induzidas em ratos diabéticos. **Fisioterapia Brasil**. v.2, n. 4, p. 241-245, jul-ago. 2001.

CHANDRASSOMA, P.; TAYLOR, C. **Patologia Básica**. São Paulo: Pretince Hall do Brasil. 1993. 670p.

COLE, B.J; HARNER, C.D. Degenerative Arthritis of the Knee in Active Patients: Evalution and Management. **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v.7, n.6, p. 389-402, Nov./Dec., 1999.

CORREA, W.M.; CORREA, C.N.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p. 14-57.

CREMER, M.A et. al. Immunity to type IX collagen in roedents: a study of type IX collagen for autoimmunne and arthritogenic activities. **Clinical and Experimental Immunology**, v.112, n.3, p. 375-382, 1998.

DIEPPE, P. Knee replacement surgery for osteoarthritis: effectiveness, pratice variations, indications and possible determinants of utilization. **Rheumatology**, v.38, p. 73-83, 1999.

ENWEMEKA, C.S. Morphometrics of collagen fibril populations in He:Ne laser photostimulated tendons. **Journal of Clinical laser Medicine & Surgery**, v.6, p. 47-52, 1990.

FISHKIN, Z. et al. Changes in human knee ligaments stiffnes secondary to osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**. v.20, p. 204-207, 2002.

FRONTERA, W. R., DAUSON, D. M., SLOVICK, D. M. **Exercício Físico na Reabilitação**. Porto Alegre: Artmed, 2001. 850 p.

GENOVESE, W.J. Revisão laser. São Paulo: Pancast, 2000.

GOLDING, D.N. **Reumatologia em Medicina de Reabilitação**. São Paulo: Atheneu, 2001. 630 p.

GOLDMANN, I.; BENNETT, C.J. **Cecil – Tratado de Medicina Interna**. 21 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 1490 p. v.2.

GREVE, J.M.D.; AMATUZZI, M.M. **Medicina Aplicada à Ortopedia e Traumatologia**. São Paulo: Roca, 1999. 514 p.

GUERINO, M. Efeitos da Fotoestimulação com laser no processo inflamatório crônico da cartilagem articular. **Universidade Estadual de Campinas**, 2001.

GUIDUGLI-NETO, J. **Elementos da Patologia Geral**. 2 ed. São Paulo: Santos, 1997, p. 63-69.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 401-413.

HEBERT, S. et al. **Ortopedia e Traumatologia: Princípios e Prática**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. 1631p.

HENZGEN, S. et. al. Degradation of articular cartilage during the progression of antigen-induced arthritis in mice: a scanning and transmission electron microscopic study. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.48, p. 255-263, 1996.

JONES, T.C.; DUNCAN, R.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6 ed. São Paulo: Manole, 2000. p.1415.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 1-6.

KAPIL, A.; SHARMA, S. Effect of oleanolic acid on complement in adjuvant-and-carrageenan-induced inflammation in rats. **Clinical Experimental Immunological**. V. 96, p. 281-284, Jan. 1995.

KARU, T.I. Photobiological fundamental of low power laser therapy IEEE. **J. Quant Elet**, n. 23, 1987.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10 ed. São Paulo: Manole, 1998. 320p.

KLEBANOV, G.I. et. al. Low-power laser irradiation induces leukocyte priming. **General Physiology and Biophysics**, v.17, n.4, p. 365-376, 1998.

KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. **Patologia Básica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p. 21-50.

LAROCCA, T.S. **Reumatologia: Princípios e Prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 478p.

LIANZA, S.A. **Medicina de Reabilitação**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 720 p.

LOW, J.; RED, A. **Eletroterapia Explicada: princípios e prática**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2001. p. 390-409.

MATERA, J.M.; DAGLI, M.L.Z.; PEREIRA, D.B. Efeitos da radiação soft-laser (diodo) sobre o processo de cicatrização cutânea em felinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**. v. 31, n.1, p. 43-48, mar. 1994.

McCARTHY, J.B.; VACHHANI, B.; LIDA, J. Cell adhesion to collagenous matrices. **Biopolymers**, v.40, p. 371-381, 1996.

McDOUGALL, J.J., KARIMIAN, S.M., FERREL, W.R., Prolonged alteration of vasoconstrictor and vasodilator responses in rat knee joint by adjuvant monoarthritis. **Experimental Physiology**, v.80, p.349-357, 1995.

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

MESTRINER, L.A; LAREDO FILHO, J. Artroplastia total do joelho em osteoartrose. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.28, n.1, p. 79-83, jan./fev., 1993.

MOLLER, K.O. et. al. Studies on an immunologically induced synovitis model in pigs and sheep. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.361, p. 228-236, 1999.

MONTENEGRO, M.R.; FRANCO, M. **Patologia: Processos Gerais**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 109-133.

MOW, V.C; RATCLIFFE, A.; POOLE, A.R Cartilage and diarthrodial joint as paradigms for hierarchical material and structures. **Biomaterials**, v.13, n.2, p.67-69, 1992.

NEUMANN, D.A. Biomechanical Analysis of Select Principles of Hip Joints Protection. **Arthritis Care Res**, v.2, p.146-155, 1989.

OSHIRO T.; CALDRHEAD, R.G. The development of low reactive-level therapy (LLLT) and its present status. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**. V.9, n.4, p.267-275, 1991.

ORTIZ, M.C. et al. Laser de baixa intensidade: princípios e generalidades – parte 1. **Fisioterapia Brasil**. v. 2, n. 4, p. 221-240, jul/ago. 2001.

PETERSEN, S.L. et. al. The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses. **Equine Veterinary Journal**. v.31, n.3, p. 228-231, mar. 1999.

REDDY, G.K., STEHNO-BITTEL, L., ENWEMEKA, C.S. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. **Lasers Surgery Medicine**, v.9, p.497-503, 1989.

ROBBINS, S et al. **Patologia Estrutural e Funcional**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. 1260 p.

ROSS, M.H.; ROWRELL, L.J. **Histologia: Texto e Atlas**. 2 ed. São Paulo: Panamericana, 1993, p. 01-02.

SANDELL, L.J; AIGNER, T. Articular cartilage and changes in Arthritis: Cell biology of osteoarthritis. **Arthritis Res**, v.3, n.2, p.107-113, Jan., 2001.

SATO, M.I., KOSHINO, T., TAKAGI, T. Expression on chondrocytes in knees of DBA/1 mice with type II collagen-induced arthritis. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v.17, n.2, p.185-190, 1999.

SCHIMITT, I. et al. Os efeitos da radiação laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**. v. 30, n. 2. p. 145-149, mar. 1993.

SNIDER, MD. **Tratamento de Doenças do Sistema Músculo-Esquelético**. São Paulo: Manole, 2000. 730 p.

SOBOL, E.M. et. al. Heating and structural alterations in cartilage under laser radiation, **IEEE Journal of Quantum Electronics**, v.34, n.4, p.532-539, 1999.

STAIKI, D.R.; RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L. A radiação laser arseneto de gálio (AsGa) na regeneração do nervo radial submetido a reparação cirúrgica secundária. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**. v. 35, n.1, mar. 1998.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Patologia**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1998. p. 55-81.

TANG, J. Laser medicine tissue in situ by collagen 380 nm fluorescence imaging. **Lasers in surgery and Medicine**, v. 27, p. 158-164, Mar. 2000.

TARUNAS, A.C.; MATERA, J.M.D.; ZAIDAN, M.L. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico: utilização do laser de baixa potência GaAs (904 nm). **Acta Cirurgia Brasileira**. v.132, n. 2, abr. 1998.

TEMBOKUN, A.M.C. et al. Somatostatin receptor subtype expression in cells of the rat immune system during adjuvant arthritis. **Journal of Endocrinology**, v. 161, n.1, p. 167-175, 1999.

THRELKELD, JA; CURRIER, DP. Effects on synovial joint tissues. **Physical Therapy**, v.68 , n.3, p. 364-370, 1998.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**. 5 ed. São Paulo: Roca, 1988. p. 45-57.

ULUGÖL, A.; ÜNALAN, H.; DÖKMECI, I.; KOKINO, S. Comparison of the effects of tenoxicam and mid-laser irradiation on chronic adjuvant arthritis in rats. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v.15, p.83-87, 1997.

VEÇOSO, M.C. **Laser em Fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993. p. 137.

WALSH, M. et al. Physical Impairments and Functional Limitations: A Comparison of Individuals One Year After Total Knee Arthroplasty With Control Subjects. **Physical Therapy**, v.78, n.3, Mar., 1998.

WEST, S.G. **Segredos em Reumatologia**. Porto alegre: Artes Médicas, 2000. p.545

YOSHINO, S.; YOSHINO, J. Recruitment of pathogenic T-cells to synovial tissues of rats injected intraarticularly with nospecific agents. **Cellular Immunology**, v.158, n.2, p.305-313, 1994.

ANEXO A



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º L035/2004/CEP, intitulado “Efeitos do laser de baixa potência (AsGa 830 e 904nm) em osteoartrite induzida por adjuvante de Freund em ratos Wistar”, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Paulo Roxo Barja, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA/Junho de 1991) e segue as Normas Para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de Animais (Lei 6638 de 08/05/1979) sendo, portanto, **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 03 de junho de 2004.

PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)