

OS EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER ARSENETO DE GÁLIO (AsGa) SOBRE A REGENERAÇÃO DE TENDÕES EM CÃES*

THE EFFECTS OF LASERTHERAPY AsGa ON CANINE TENDON HEALING

Izabela SCHMITT¹; Alceu Gaspar RAISER²; Dominguita Lühers GRAÇA³; Cesar Dobler CASTAGNA⁴; Cristina GEHVER¹; Paulo MAIORKA⁴

RESUMO

Trinta cães sem raça definida foram divididos em três grupos e submetidos à tenotomia e tenorrafia do tendão calcâneo comum direito e esquerdo. No membro esquerdo foi efetuada aplicação laser AsGa (4j/cm²) para avaliar o processo cicatricial dos mesmos. Posteriormente, as articulações do tarso foram imobilizadas durante 11 dias nos animais do grupo I (sacrificados nesta data) e 21 dias naqueles do grupo II (sacrificados aos 22 dias) e III (sacrificados aos 40 dias de evolução pós-operatória). Os cães do grupo III foram submetidos a caminhadas diárias de 30 minutos nas duas semanas seguintes para estimular a mobilidade do tendão. A avaliação clínica dos efeitos da terapia laser na funcionalidade dos membros foi feita através de exames físicos. Os tendões foram avaliados à necropsia através de análise macroscópica e pelo estudo microscópico realizado em todos os segmentos aos 11 (grupo I), vinte e dois (grupo II) e quarenta dias (grupo III) de evolução pós-operatória. O desempenho funcional do membro esquerdo nos animais do grupo III, exposto à radiação laser mostrou-se melhor que no membro direito. Macroscopicamente os tendões irradiados apresentaram melhor vascularização, menos aderências e cicatrização com melhor aparência estética que os tendões testemunhos. Os estudos histológicos revelaram que o laser não interferiu significativamente na produção de fibroblastos e na síntese de fibras colágenas.

UNITERMOS: Laser, AsGa; Tendão; Cirurgia; Cães

INTRODUÇÃO

Os tendões podem sofrer solução de continuidade quando traumatizados por projéteis de arma de fogo ou por instrumento cortante, apresentando ruptura total ou parcial. Além dos ferimentos provocados por traumatismos, a anoxia tecidual é um achado freqüente. O tendão calcâneo comum juntamente com os flexores digitais são os mais atingidos por estas lesões¹⁰.

A regeneração ocorre por migração e proliferação de fibroblastos do epitendão⁹ ou do tecido conjuntivo adjacente. Estas células distribuem-se ao longo do tendão e quando recebem um suprimento sanguíneo favorável começam a sintetizar colágeno. O processo de cicatrização é lento devido à vascularização local ser deficiente.

Nos tendões sem bainha sinovial a regeneração ocorre pela invasão de fibroblastos indiferenciados e brotamentos capilares desde o paratendão (PEACOCK Van WINKLE¹¹, 1976) e tecidos adjacentes lesionados (BLOOMBERG³, 1985). Segundo estes autores isto gera aderências que são mais acentuadas onde houver pontos de sutura.

Estudos experimentais comparativos indicaram o fio de aço inoxidável monofilamento como o mais apropriado para a reparação de tendões^{15,16}. Outro fio de sutura bastante usado é

o mononílon que é um fio forte e com baixo grau de elasticidade facilitando a sua adaptação^{5,15}.

A técnica de anastomose mais empregada em pequenos animais é a término-terminal porque mantém o diâmetro e o comprimento original do tendão⁵. Os modelos de sutura mais utilizados são os de Bünell, Bünell-Mayer, Kessler e Kessler modificado^{6,16}. A técnica de Bünell tem sido usada com maior freqüência. A tenorrafia segundo a técnica modificada de Kessler é mais eficiente porque não interfere no suprimento sanguíneo e exige pouca manipulação tecidual reduzindo assim a possibilidade de formação de aderências^{2,5,8,14}.

Segundo PEACOCK e Van WINKLE¹¹ (1976), após a anastomose o processo de regeneração de tendões requer três semanas de completa imobilização do membro, seguido de três semanas de exercício controlado.

A radiação softlaser tem sido utilizada para acelerar processos regenerativos, sendo-lhe imputado aumento no fluxo sanguíneo, ação antiflogística, antiedematosa, analgésica e estimulante do metabolismo celular^{4,7,12} e da proliferação do fibroblasto responsável pela produção de fibra colágena^{3,12}.

RUPP¹³ (1990) testou a eficácia da terapia laser AsGa na re-

1 - Médico Veterinário - Universidade Federal de Santa Maria - Rio Grande do Sul

2 - Professor Adjunto - Universidade Federal de de Santa Maria - Rio Grande do Sul

3 - Professor Titular - Universidade Federal de Santa Maria - Rio Grande do Sul

4 - Acadêmico - Curso de Graduação em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Santa Maria - Rio Grande do Sul

* Este trabalho é parte da dissertação de mestrado apresentada pelo primeiro autor ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Cirurgia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). 97119-900 - Santa Maria, RS.

paração de lesões tendinosas em eqüinos utilizando uma dosimetria de 1,5 j/cm² durante 10, 20 e 50 dias após a cirurgia corretiva. As análises clínica e histológica não demonstraram variações significativas entre o tendão tratado e o controle.

Considerando que a dosimetria recomendada para estimular processos regenerativos é de 2 a 4 j/cm² (CRUÑES⁷, 1984) é objetivo deste trabalho avaliar o processo cicatricial do tendão calcâneo comum de cães submetidos à radiação laser AsGa numa dosimetria de 4 j/cm² pontual e 1 j/cm² em varredura.

MATERIAL E MÉTODO

Trinta cães sem raça definida, clinicamente saudáveis, machos ou fêmeas, com idade variando entre 1 e 4 anos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria foram divididos em grupos de 10 animais conforme o tempo de observação pós-operatória. Grupo I, 11 dias; grupo II, 22 dias e grupo III, 40 dias.

Uma semana antes do início do experimento os cães foram desverminados com Disofenol a 3,75% (7,5 mg/kg, SC) e cinco dias após foi determinado o hemograma e novo exame copro-parasitológico. No pré-operatório cada animal sofreu tricotomia ao longo da região compreendida entre os terços proximais da tíbia e metatarso. A medicação pré-anestésica constou de Maleato de Acepromazina (1 mg/kg, IV). Passados 20 minutos foi induzida e mantida anestesia geral com Tiopental sódico 3%.

Durante o trans-operatório os animais foram submetidos à administração de solução poliônica (Ringer Lactato) em gotejamento venoso de 10 ml/kg/h.

Após antissepsia do campo operatório pelo esquema álcool-iodo-álcool e delimitação com panos de campo esterilizados foi efetuada incisão longitudinal de aproximadamente 3 cm para abordar o tendão de Aquiles, na região média entre as porções teno-muscular e teno-óssea. A diérese, tenotomia e tenorrafia seguiram técnica atraumática. Cada tendão foi submetido à anastomose término-terminal com síntese de Bünell (15 cães) ou de Kessler modificada (15 cães) sendo utilizado fio mononáilon 3-0 agulhado. Os demais planos como paratendão, tecido subcutâneo e pele foram suturados com mononáilon 4-0 agulhado. Durante a cirurgia as estruturas incididas foram banhadas frequentemente com solução isotônica de cloreto de sódio para evitar o ressecamento. Após a sutura cutânea, as articulações do tarso foram imobilizadas através de transfixação caudo-craneal da tíbia e calcâneo com um pino de Steinmann. Este método mais a adaptação de bandagem foram mantidos por 21 dias, período em que os cães foram confinados em canis metálicos com restrição de exercício. Nas duas semanas seguintes foram submetidos a caminhadas para estimular a mobilidade do tendão.

A partir do primeiro dia de pós-operatório foi feita aplicação laser diodo Arseneto de Gálio durante 10 dias da fase de imobilização em todos os animais e durante 10 dias da fase de exercício naqueles do grupo III. A dose energética total foi

dividida em aplicações de 4 j/cm² pontual e 1 j/cm² em varredura, ao longo da região operada. Estas aplicações foram efetuadas com a extremidade da ampola em contato com a pele dos animais em incidência perpendicular à zona afetada. As aplicações laser foram feitas na área operatória do membro esquerdo em todos os animais. Para as aplicações foi utilizado um aparelho de 45W de potência e comprimento de onda de 904 nanômetros**.

Após remoção do agente de imobilização, cada animal do grupo III foi avaliado quanto à postura e deambulação em três graus (A, B, C). Foram enquadrados no grau A os animais que apoiaram o membro com firmeza no solo, sem sinal de claudicação ou dor. Aqueles que apoiavam com discreta claudicação, mas sem dor, foram enquadrados no grau B. Foram considerados grau C animais cujo membro operado apresentava claudicação moderada ao apoio, permanecendo em semiflexão quando submetido a exercício passivo.

Os animais do grupo I foram sacrificados e necropsiados aos 11, os do grupo II aos 22 e os do grupo III aos 40 dias de pós-operatório. Os tendões irradiados e controle foram examinados macroscopicamente, à necropsia, para avaliar sua espessura, grau de aderência e vascularização na linha de sutura.

Os cortes histológicos foram corados pela técnica de Hematoxilina & Eosina para observação da evolução do processo de regeneração do tendão. Foi utilizada a técnica de Masson para avaliação da maturação das fibras colágenas e a técnica de Von Kossa para demonstrar a presença de cálcio no paratendão.

Com auxílio de uma grátula NE 35,21 mm foram realizados estudos morfométricos de contagem de fibroblastos e fibras colágenas por unidade de área, em cinco localizações, dos polos e do centro dos cortes de tecido. Foram avaliados parâmetros como infiltrado inflamatório intersticial e associado a vasos, presença de tecido de granulação, ou crescimento desordenado de células e vasos, presença de cálcio e atividade celular nos envoltórios. A gradação variou de discreto, leve, moderado a marcante.

A contagem morfométrica de fibroblastos e da deposição de fibras colágenas, na área de anastomose, foram submetidas à análise da variância e foram utilizados os testes de F e Tukey para interpretação dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de tenorrafia término-terminal envolveu apenas um segmento de tendão, equivalente a 0,5-1,0 cm de cada coto permitindo aproximação sem tensão. Nos tendões suturados pela técnica de Kessler modificada foram confirmadas as características de não interferir com o suprimento sanguíneo, exigir pouca manipulação e induzir menor resistência, conforme observaram ARON² (1981); KLEINERT et al.⁸ (1981); SERADGE¹⁴ (1983) e BLOOMBERG⁵ (1985). Este modelo de sutura compromete menos o suprimento vascular que o de Bünell, pois apresenta apenas dois pontos de estrangulamento

** LIV 877: KLD Biosistemas Equipamentos Eletrônicos Ltda. Rua Comendador Guimarães, 25 - 13900-000 Amparo, SP.

em cada segmento a ser reconstituído, além de proporcionar maior resistência na linha de sutura.

Além de ser um fio forte e com baixo grau de elasticidade, como citaram BLOOMBERG⁵ (1985) e STRICKLAND¹⁵ (1989) o fio de mononáilon facilitou a síntese por deslizar facilmente entre as fibras do tendão permitindo ajuste adequado dos segmentos suturados. Requereu, no entanto, mais cuidado com os nós.

A imobilização da articulação tíbio-tarsiana com pino de Steinmann ofereceu estabilidade para os tendões cicatrizarem sem tensão nas três primeiras semanas, neutralizando as forças de dispersão que, segundo VAUGHAN¹⁶ (1987) atuam sobre a linha de sutura. O implante associado à bandagem externa preveniu movimentação excessiva dos animais, permitindo o desenvolvimento de uma firme união entre os segmentos, procedimento fundamental para evitar deiscência da teno-anastomose. O tempo de imobilização e de exercícios controlados foi o mesmo recomendado para seres humanos por PEACOCK e Van WINKLE¹¹ (1976).

Os cães do grupo III adaptaram-se precocemente aos exercícios de flexão e extensão forçados o que favoreceu um rápido retorno da função normal do membro. O desempenho funcional do membro esquerdo exposto à radiação laser, nos animais deste grupo, mostrou ser melhor que o membro direito. Este desempenho pode estar relacionado ao aumento no grau de percepção das terminações nervosas, induzido pela radiação laser, determinando analgesia⁴.

Pela avaliação macroscópica à necropsia dos animais sacrificados no 11º dia de pós-operatório foi observada intensa vascularização e hemorragia no local de anastomose e tecidos adjacentes, que no tendão irradiado eram mais discretas e localizadas. No 22º dia foi verificado espessamento na área de anastomose do tendão irradiado, menos acentuado, com aderências aos tecidos adjacentes mais discretas e consideradas frágeis se comparadas ao testemunho. Ao 40º dia após a cirurgia os tendões submetidos a terapia laser apresentavam área de anastomose homogênea com o restante do tendão enquanto no contra-lateral era mais estreita e irregular (Fig. 1). O testemunho apresentava aderências mais exuberantes aos tecidos adjacentes, denotando menor capacidade deslizante ao movimento da articulação tíbio-tarsiana que o tendão irradiado onde as aderências eram pouco evidentes e rompiam facilmente ao debridamento. Estes achados sugerem que o laser atua sobre o processo inflamatório modulando a neovascularização e proliferação fibrosa que, segundo PEACOCK; Van WINKLE¹¹ (1976) e BLOOMBERG⁵ (1985) são as causas das aderências do tendão aos tecidos adjacentes. Pode-se presumir, então, que além do efeito modulador o laser incrementa a nutrição e oxigenação tecidual^{4, 7, 12} com menor grau de neovascularização induzindo reparação a partir das células do próprio tendão, possivelmente epitendão⁹, com escassas aderências.

Os principais achados histológicos nos tendões dos animais dos grupos I e II consistiram de migração e proliferação de células, infiltrado polimorfonuclear neutrofílico, tecido de granulação, crescimento desordenado de células e vasos, granuloma de sutura e presença de cálcio no interstício e

envoltórios. Estes achados apresentaram intensidade de grau variável desde não observado até marcante, sem definir, no entanto, diferença entre os tendões irradiados e os testemunhos. Nos animais do grupo III os fibroblastos, vasos sanguíneos e fibras colágenas estavam reorganizados na área cicatricial, perpendicularmente ao eixo longitudinal do tendão sem variação de um membro para o outro.

A contagem morfométrica de fibroblastos foi efetuada apenas nos segmentos tendíneos dos cães dos grupos II e III, pois a intensa desorganização local dificultou sua visualização naqueles do grupo I. Não houve aumento estatisticamente significativo do número de fibroblastos em relação aos testemunhos, nem entre os grupos. Os envoltórios e as porções proximal e distal à anastomose mostraram intensa proliferação de fibras colágenas novas (coradas em vermelho pelo tricrômico de Masson - Fig. 2) para o interior da ferida, substituindo as fibras velhas, em todos os animais. A produção de fibras colágenas foi mais acentuada nos envoltórios do tendão irradiado com uma organização aparentemente mais precoce. A análise estatística revelou, no entanto, que a colagenização não foi maior quando comparada aos testemunhos. Entre os grupos III e II a diferença foi altamente significativa ($F = 0,0021$, $p > 0,01$). A concentração de fibras no centro da lesão também não foi alterada com a irradiação laser, entretanto houve diferença significativa entre os grupos III e II ($F = 0,0021$, $p > 0,01$) o que era esperado, pois a deposição de fibras colágenas é maior aos 40 que aos 22 dias de pós-operatório.

Os resultados obtidos pela análise histológica demonstram que o laser AsGa não interferiu no processo cicatricial, particularmente na proliferação fibroblástica e deposição de fibras colágenas, mesmo sendo utilizada dosimetria significativamente maior que aquela aplicada por RUPP¹³ (1990) em equinos. Assim, este experimento não oferece subsídios para concordar com as afirmações de ANNEROTH et al.¹ (1988) e BAXTER³ (1988) de que o laser AsGa estimula a proliferação de fibroblastos e em consequência a produção de novas fibras colágenas. Possivelmente isto se deva ao fato de os fibroblastos ocorrerem mais nas primeiras 72h e os animais deste experimento sacrificados mais precocemente o foram aos 11 dias. Pode-se afirmar, no entanto, que o laser AsGa induz cicatrização de qualidade estética melhor, permitindo regeneração tendinosa com menor grau de aderências.

SUMMARY

In order to evaluate the influence of lasertherapy on the healing process. Thirty crossbred dogs were divided into three groups (group I, II and III: dogs were sacrificed respective at day 10th, 21st and 40th after starting the experiment) and submitted to tenotomy and tenorrhaphy of the calcanean common tendon of both limbs. Tarsal joints were fixed for eleven days in those dogs of group I and for twenty-one days on group II and III. All dogs from group III were submitted to daily 30 minutes walks for two weeks in order to stimulate the tendon mobility. AsGa laser was applied daily (4j/cm²) during ten days on the left limb of all dogs during the first postoperative days and the first ten days of the exercises period for group III. Clinical evaluation of lasertherapy on limb functionality was made by physical examination. Involved tendons were evaluated at

necropsy and by optic microscopy at eleventh post-operative day (group I), twentieth-first day (group II) and fortieth day (group III). Functional performance of the left hind limbs, exposed to the laser beam was better than that of the right limb. Grossly irradiated tendons showed better vascularization, less adherence and better repair than the non-irradiated one. Histological studies showed that laser therapy did not interfere significantly on fibroblast production and collagen synthesis.

UNITERMS: Laser, AsGa; Tendon; Surgery; Dogs

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ANNERTH, G.; HALL, G.; RYDEN, H.; ZETTERQVIST, L. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *Brit. J. Oral Maxil. Surg.*, v. 26, p. 12-7, 1988.
- 02-ARON, D.N. A "new" tendon stitch. *J. Amer. Anim. Hosp. Ass.*, v. 17, p. 587-91, 1981.
- 03-BAXTER, G.M. Wound healing and delayed wound closure in the lower limb of the horse. *Equine Pract.*, v. 10, p. 23-31, 1988.
- 04-BENEDICENTE, A.; GOLA, G.; CIGANO, L. Neuralgia do trigêmio. Avaliação radioimunológica do nível de beta endorfina no líquido céfalo-raquideo antes e depois da irradiação com luz laser 904 nm. *Laser Ter. Clr.*, Ano 0, p. 3-9, 1987.
- 05-BLOOMBERG, M.S. Muscle and tendons. In: SLATTER, D.H. *Textbook of small animal surgery*. Philadelphia, W.B. Saunders, 1985. v.2, Cap.166. p. 2331-58.
- 06-CHICK, L.R.; WALTON, R.L. A history of tendon operations. *Surg. Gynecol. Obstet.*, v. 168, p. 183-8, 1989.
- 07-CRUÃNES, J.C. *La terapia laser hoy*. Barcelona, Centro de Documentacion Laser de Meditec, 1984.
- 08-KLEINERT, H.E.; SCHEPEL, S.; GILL, T. Flexor tendon injuries. *Surg. Clin. North Amer.*, v. 61, p. 267-86, 1981.
- 09-MANSKE, H.E.; GELBERMAN, R.H.; VANDERBERG, J.S. Intrinsic flexor-tendon repair: a morphological study in vitro. *J. Bone Jt. Surg.*, v. 66-A, p. 385-96, 1984.
- 10-NIEBERLE, K.; COHRS, P. *Anatomia patológica especial dos animais domésticos*. 5.ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbelkian, 1970. v.2.
- 11-PEACOCK, E.E.; Van WINKLE, W. *Surgery and biology of wound repair*. Philadelphia, W.B. Saunders, 1976.
- 12-RE, F.; VITERBO, S. Analisi degli effetti biologici dei softlaser. *Minerva Hist.*, v. 34, p. 357-9, 1985.
- 13-RUPP, S. *Experimentelle untersuchungen zur wirkung der Ga-As laser-strahlung (904nm) auf Sehnenverletzungen beim pferd*. Bern, 1990. Inaugural dissertation (Dokortiels der Veterinaeredizinischen) - Veterinaeredizinischen Fakultæt der Universitaet Bern.
- 14-SERADGE, H. Elongation of the repair configuration following flexor tendon repair. *J. Hand Surg.*, v. 8, p.182-5, 1983.
- 15-STRICKLAND, J.W. Flexor tendon surgery. *J. Hand Surg.*, v. 14-B, p. 261-72, 1989.
- 16-VAUGHAN, L.C. Tendon injury in the dog. *Vet. Annual*, v. 27, p. 324-8, 1987.

Recebido para publicação em 29/06/92
Aprovado para publicação em 10/03/93

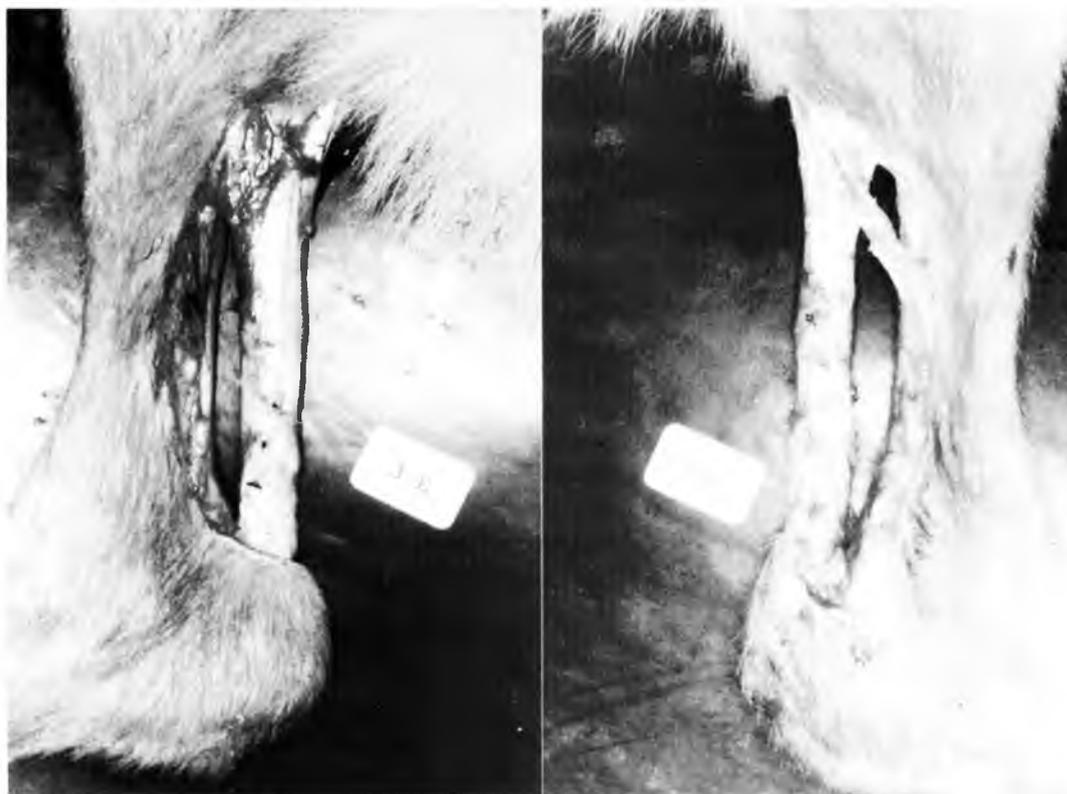


FIGURA 1

Terapia laser AsGa em tendões. Aspecto macroscópico do processo cicatricial do tendão submetido à terapia laser AsGa (3E) e do testemunha (D 3) em um cão do grupo III.



FIGURA 2

A terapia laser AsGa na regeneração de tendões em cães. Fibras colágenas novas (coloração avermelhada) no tendão irradiado de um cão do grupo III. Masson - 6,3 X.