



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA FIBROSE TECIDUAL EM DEFEITOS ÓSSEOS EM CALVÁRIA DE RATOS TRATADOS COM LASER DE BAIXA INTENSIDADE

Girlane Pereira Oliveira¹; Antonio Cesar Oliveira de Azevedo²; Dario Augusto Oliveira Miranda³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: girlaneoliveira88@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: antoniocesar@uefs.br
3. Pesquisador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: darioperiodonto@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: laser; reparo; tecido ósseo.

INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um dos mais resistentes e rígidos do corpo humano, constituído de tecido conjuntivo especializado. Quando ocorre a perda de um tecido, o organismo reage no intuito de substituí-lo de forma a assemelhar-se ao máximo com o tecido original. (OLIVEIRA, et al, 2003). O processo de neoformação decorrente dos defeitos ósseos pode apresentar dois tipos de resultados: regeneração e cicatrização. Enquanto na regeneração o reparo ocorre por um tecido idêntico ao tecido original preexistente, a cicatrização é caracterizada pelo reparo da ferida por um tipo de tecido diferente daquele originalmente perdido, no que diz respeito à morfologia e função (Carvalho et al., 2004).

Quando ocorre a cicatrização do tecido ósseo, um dos fenômenos envolvidos pode ser a fibrose tecidual, uma formação em excesso de tecido conjuntivo que pode ser temporária ou definitiva e pode levar à perda da funcionalidade do órgão, a depender da sua extensão. Sendo assim, estratégias que busquem minimizar a ocorrência de fibrose durante o processo de reparo ósseo após terapias cirúrgicas são necessárias para minimizar os efeitos deste fenômeno relacionado à cicatrização. A utilização da terapia com laser de baixa intensidade cria inúmeras condições ambientais que parecem acelerar a cicatrização de defeitos ósseos “in vivo” e “in vitro” (PINHEIRO; GERBI, 2006). Os efeitos relacionados a essa terapia incluem o aumento da vascularização, aumento da atividade osteoblástica, organização de fibras colágenas e mudanças no nível mitocondrial e intracelular de adenosina trifosfato (ATP) (BARBOSA et al., 2012; GARCIA et al., 2012)

Diante deste panorama, o presente estudo busca investigar os eventos histológicos relacionados à fibrose tecidual em defeitos ósseos feitos em calvária de ratos submetidos a terapia com laser de baixa intensidade.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA

Para este estudo foram selecionados 20 ratos *Rattus norvegicus*, machos, adultos de 04 meses de idade, da linhagem Wistar, provenientes do Biotério da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Os 20 ratos foram submetidos a um procedimento cirúrgico para a confecção de defeito ósseo na região da calvária e divididos em 02 grupos de 10 animais cada: grupo controle, que recebeu apenas a intervenção cirúrgica e grupo teste, que recebeu a terapia com laser de baixa intensidade após a confecção do defeito ósseo. Dentro de cada grupo estudado, nova divisão foi realizada onde foram destinados 05 espécimes para cada um dos períodos experimentais que foram avaliados, 30 e 60 dias respectivamente.

O grupo teste recebeu adicionalmente a aplicação de laser de baixa intensidade utilizando-se o aparelho “Quantum”. Trata-se de um laser de diodo infravermelho (GaAlAs –com 808 nm, 120 mW). A dose aplicada foi de 100 J/cm², em quatro pontos a cada 48 horas durante duas semanas (GERBI et al., 2008). Após o período de investigação, os animais foram eutanasiados para análises histológicas. A eutanásia foi realizada em dois períodos pré-determinados após a cirurgia: 30 e 60 dias, correspondendo respectivamente a quatro e oito semanas. As peças cirúrgicas obtidas do crânio com os defeitos produzidos cirurgicamente foram removidas e preparadas, incluídas em parafina, microtomizadas e coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina e do Tricrômico de Masson, para em seguida, dar origem à confecção das lâminas com cortes semi-seriados para a análise tecidual microscópica.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Na análise histológica do grupo A, não foi detectada a presença de infiltrado inflamatório significativo no leito e nas margens cirúrgicas da ferida, nem aos 30 dias (Figura 1A), nem aos 60 dias de experimento (Figura 1B). Entretanto, aos 60 dias, observou-se presença de tecido conjuntivo fibroso periosteal no leito da ferida (Figura 1B).

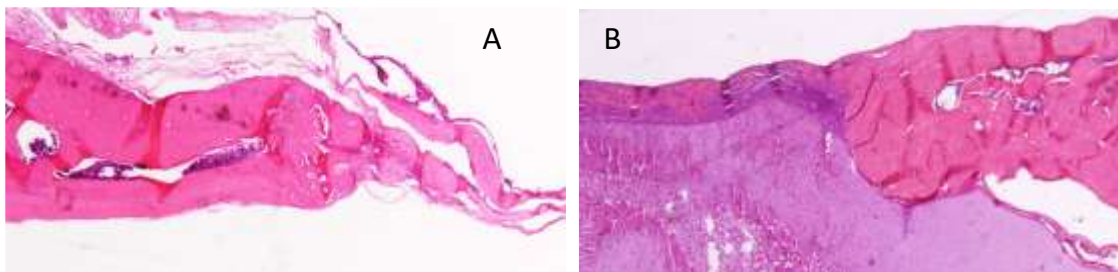


Figura 1. A: Grupo A, 30 dias: Margem do defeito cirúrgico com a presença do osso nativo e osso neoformado. Aos 30 dias, o defeito ósseo em sua maior parte está recoberto por uma faixa de tecido conjuntivo fibroso, com feixes colágenos bem constituídos e infiltração de leucócitos (Aumento de 4X, coloração H.E.). **B:** Grupo A, 60 dias: Aos 60 dias, os defeitos estavam recobertos por um tecido conjuntivo fibroso densamente colagenizado, com feixes colágenos bem definidos e uma discreta infiltração eventual de leucócitos. (Aumento de 4X, coloração H.E.)

No grupo B aos 30 dias, foi possível notar um tecido conjuntivo fibroso e fibroblastos maduros com organização periosteal sobre as feridas (Figura 2A). Aos 60

dias, os resultados são semelhantes ao do grupo controle. No leito da ferida o tecido conjuntivo fibroso periosteal está bem organizado e não há infiltrado inflamatório significativo na região (Figura 2B).

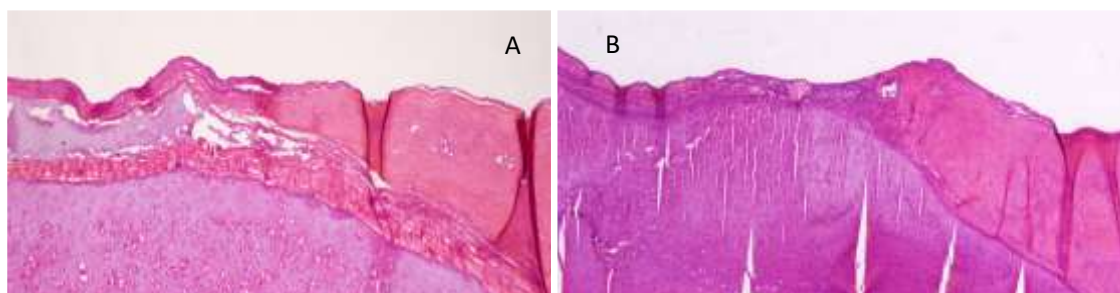


Figura 2. A: Grupo B 30 dias: Margem do defeito cirúrgico com a presença do osso nativo e osso neoformado em maior quantidade que o grupo A. O periósteo continuava com o mesmo padrão na superfície do defeito. Notou-se um pequeno infiltrado mononuclear, difusamente distribuído. Na margem do defeito a lingueta era maior que no grupo A, tanto em comprimento como em área ocupada. (Aumento de 10X, coloração H.E.). **B:** Grupo B 60 dias: O defeito cirúrgico apresentou-se preenchido e recoberto por tecido conjuntivo fibroso colagenizado, com feixes bem definidos e distribuição organizada. O periósteo continuava com o mesmo padrão na superfície do defeito. (Aumento de 4X, coloração H.E.).

Na análise histomorfométrica, não houve diferença estatisticamente significativa na formação de tecido fibroso entre os grupos A e B aos 30 dias e 60 dias pós operatório. Foi possível observar apenas que o grupo B mostrou valores médios ligeiramente menores que o grupo A tanto aos 30 ($2,14 \pm 0,34 \mu\text{m}^2$ X $2,61 \pm 0,19 \mu\text{m}^2$), quanto aos 60 dias ($1,87 \pm 0,24 \mu\text{m}^2$ X $2,49 \pm 0,61 \mu\text{m}^2$), como pode ser observado na Tabela 1, porém sem significância estatística.

Tabela 1 - Médias e desvios-padrão da formação de tecido fibroso e área remanescente, aos 30 e 60 dias.

Grupos	30 dias		60 dias	p
	Tecido (μm^2)	Fibroso	Tecido Fibroso (μm^2)	
A	$2,62 \pm 0,19$		$2,49 \pm 0,61$	> 0,05
B	$2,14 \pm 0,34$		$1,87 \pm 0,24$	> 0,05

Neste estudo, foi demonstrado que o laser de baixa potência não alterou a formação de tecido fibroso nos defeitos ósseos. Entretanto, isso não significa que este recurso não tenha sido efetivo no reparo ósseo. Os efeitos biomodulatórios do laser de baixa intensidade dependem do comprimento de onda utilizado, já que componentes tissulares podem influenciar na dispersão da luz. A luz vermelha (632,8nm) penetra 0,5-1,0mm antes de perder 37% de sua intensidade, enquanto os comprimentos de onda infravermelhos penetram 2,0 milímetros antes de perder o mesmo percentual de energia (BASFOR, 1995; PINHEIRO; GERBI, 2006; WEBER et al.,2006; BARBOSA, et al, 2012). A eficácia de ambos os comprimentos de onda sobre o

processo de reparo ósseo pode ter relação com a capacidade de estimular as células osteoprogenitoras, osteoblastos e osteoclastos, contribuindo para o processo de reparação do osso e o aumento do DNA e RNA síntese, indicado efeitos sobre o crescimento celular e a síntese de proteínas (BARBOSA et al., 2012).

Sendo assim, são necessários estudos adicionais para a investigação de células envolvidas mais especificamente na neoformação óssea.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do laser de baixa potência não alterou a formação de tecido fibroso nos defeitos ósseos realizados em calvária de ratos.

REFERÊNCIAS

- OLIVEIRA, R.C. et al. A valiação histológica e bioquímica da resposta celular ao enxerto de osso cortical bovino previamente submetido a altas temperaturas. Efeito da temperatura no preparo de enxerto xenógeno. **Acta Ortopédica Brasileira**, v.38, n.9, p.551-560, 2003.
- CARVALHO, P.T.C.; SILVA, I.S.; REIS, F.A.; BELCHIOR, A.C.G.; FACCO, G.G.; GUIMARÃES, R.N.; FERNANDES, G.H.C.; DENADAI, A.S. Effect of 650nm Low-Power Laser on Bone Morphogenetic Protein in Bone Defects Induced in Rat Femors. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, sup. 4, p. 63-68, 2004.
- PINHEIRO AL, GERBI ME. Photoengineering of Bone Repair Processes. **Photomedicine and laser surgery**, Larchmont, v. 24, n. 2, p.169-178, 2006.
- BIGUETTI CC. et al. Effect of Low-Level Laser Therapy on Intramembranous and Endochondral Autogenous Bone Grafts Healing. **Microscopy research and technique**, v.75, n .9, p.1237-1244. 2012.
- BARBOSA D, DE SOUZA RA, XAVIER M, DA SILVA FF, ARISAWA EA, VILLAVERDE AG. Effects of Low-Level Laser Therapy (Lllt) on Bone Repair in Rats:Optical Densitometry Analysis. **Lasers in medical science**, 2012.
- GARCIA VG. et al. Effects of Lllt in Combination with Bisphosphonate on Bone Healing in Critical Size Defects: A Histological and Histometric Study in Rat Calvaria. **Lasers in medical science**, 2012.
- DA SILVA RV, CAMILLI JA. Repair of Bone Defects Treated with Autogenous Bone Graft and Low-Power Laser. **The Journal of craniofacial surgery**, v. 17, n.2, p. 297-301, 2006.