

EFEITO DO LASER ARSENIÓ DE GÁLIUM EM FERIDAS CÉLULAS

GARCIA, Cintia Silveira¹; MAAGH, Francine Bastos²; GONÇALVES, Reggiani Vilela³

¹ Centro de Desenvolvimento tecnológico (Biotecnologia) - Universidade Federal de Pelotas
cintia.s.garcia@hotmail.com

² Centro de Desenvolvimento tecnológico (Biotecnologia) - Universidade Federal de Pelotas
franbmaagh@hotmail.com

³ Departamento de Morfologia – Instituto de Biologia - Universidade Federal de Pelotas
reggvilela@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas é um processo altamente que tem como objetivo restaurar a estrutura e o processo há uma complexa interação entre células sanguíneas, células e (Manwaring, 2004). Os fibroblastos são as células mais comuns do tecido conjuntivo, e são de colágeno e sílica (Badyalack, 2002). Inicialmente no reparo de feridas forma-se o tecido de granulação, medida que o processo evolui ocorre a substituição do colágeno tipo I, mas resistem a tração (Gonçalves *et al.*, 2010).

Estima-se que aproximadamente 4% da população portadoras de feridas na pele (Blanes *et al.*, 2004). Desta forma, faz-se necessária o desenvolvimento de novas terapias que promovam a cura livre de infecções, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. Neste contexto destaca-se a terapia a laser, que tem sido muito utilizada para promover o reparo tecidual. Pesquisas recentes mostram que a terapia laser traz grandes benefícios para a cicatrização de feridas, e principalmente os fibroblastos a sintetizar matriz e secretar fatores de crescimento que são o processo cicatricial (Maiya *et al.*, 2005). O laser Arsenito de Gálio (com comprimento de onda 830 nm), nas densidades entre 1-20 J/cm² é capaz de estimular a cicatrização de feridas em humanos e animais de laboratório (Rugliese *et al.*, 2003). Desta forma, o presente estudo teve como objetivo analisar o efeito cicatrizante do laser GaAsAl em feridas produzidas em ratos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dezesseis ratos Wistar machos pesando aproximadamente 325,38 ± 27,92 g, provenientes do Centro de Experimentação da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram alojados em gaiolas individuais, diariamente higienizadas, com condições ambientais de temperatura (22°C), ração comercial e água oferecidas *ad libitum*. Todos os procedimentos envolvidos no protocolo experimental foram realizados de acordo com o cuidado do uso de animais de laboratório da Universidade de Viçosa (UFV) registro 005/2008). Os animais foram anestesiados com Ketamina e Xylazina (60 mg/Kg de peso corporal) via injeção intraperitônea.

tridimensional na dorsal de todos os animais. Em seguida foi feita a anestesia de segunda intenção com o comprimento de 12 mm até a exposição da fáscia muscular utilizando tesoura e bisturi. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos com 8 animais cada. Controle: os animais tiveram a ferida feita com o comprimento de 0,9%; Grupo L30: as feridas receberam aplicação de laser GaAsAl 30 J/cm² (λ 830nm). O laser usado foi (Quasar, Dentoflex, São Paulo) com potência de saída de 9 mW. O ajuste de duração da aplicação foi feito automaticamente pelo aparelho. Todos os tratamentos se repetiram durante 21 dias consecutivos de experimento. Para análise histológica, fragmentos de pele foram coletados de feridas diferentes a cada sete dias. Tecidos foram coletados a partir da primeira ferida no 7º dia, da segunda ferida no 14º dia e da terceira ferida no 21º dia.

Os fragmentos de tecido foram fixados em Karnovsky, desidratados em etanol, diafanizados em xilol e embebidos em parafina. Cortes semi-seriados de 4 μ m foram obtidos utilizando um microtomo rotatório (Leica® Multicorte 2045, Reichert-Jung Products, Alemanha). Os cortes foram então montados em lâminas histológicas e corados com hematoxilina e eosina (H&E) para análise dos fibroblastos (Coraza *et al.*, 2010). Para cada corte foram obtidas, de forma randomizada quinze imagens com resolução de 2048 x 1536 pixels e 8 bits de profundidade de 20x. A partir das imagens digitalizadas, foi realizada a contagem de fibroblastos como uso de uma grade de 216 interceptações das seções das imagens Image Pro-plus 4.5 (Media Cybernetics®, Silver Spring, USA).

A análise estatística foi realizada por meio dos métodos estatísticos (t-teste, ANOVA, teste de Mann-Whitney, teste de Kruskal-Wallis). Em todas as análises estatísticas, o nível de significância foi considerado um nível de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise histológica realizada a partir da coleta dos tecidos encontrados na ferida, verificou-se diferença significativa no número de fibroblastos (dia 0) dos animais dos diferentes grupos de tratamento (Fig. 1). No 7º dia as feridas do grupo L30 apresentaram maior quantidade de fibroblastos quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). No 14º dia o grupo L30 novamente apresentou maior quantidade de fibroblastos quando comparado ao grupo controle. No 21º dia a quantidade de células foi significativamente maior quando comparado ao controle (Fig. 1). Estes achados são semelhantes aos observados por Coraza *et al.*, (2007) e Gonçalves *et al.* (2010) que observaram efeitos positivos da radiação laser na cicatrização das feridas crônicas quando usadas densidades de energia entre 20 e 60 J/cm². No entanto, estes dados são opostos aos encontrados por estudos prévios que mostram que a laser promove a mitose celular está no uso de dosagens de baixa densidade principalmente entre 1 e 4 J/cm² (Medrado *et al.*, 2003; Reddy, 2004).

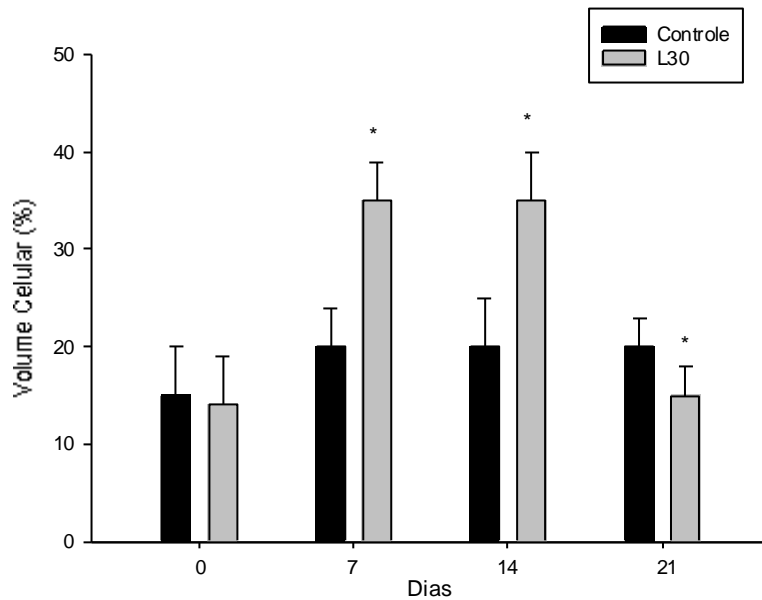


Figura 1: Efeito do laser (GaAsAl 30j/cm²) na quantidade de fibroblastos em feridas cutâneas em ratos Wistar coletados a cada 7 dias, durante 21 dias de tratamento. Controle: solução salina; L30: laser 30 J/cm². Dia 0 representa o tecido sem ferimentos. Os dados são apresentados como média ± SEM. * diferença estatística entre os grupos (p < 0,05).

4 CONCLUSÃO

O presente estudo procurou contribuir para o conhecimento da interação da laserterapia sobre a proliferação de fibroblastos nessa modalidade terapêutica, interagindo de maneira eficiente com diferentes elementos do tecido cicatricial. Os resultados encontrados demonstraram que o laser 30J/cm² é eficaz para estimular a proliferação celular desta forma, promover um reparo tecidual rápido e definitivo. Portanto, estudos adicionais são necessários para investigar outras modalidades de laser desenvolvendo desta forma, uma estratégia terapêutica mais eficaz de feridas cutâneas.

5 REFERÊNCIAS

BADYLACK, F.S. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. **Cell Dev Biol.** v.13, p.377-383, 2002.

BLANES, L.; DUARTE, I.S.; CALIL, J.A.; FERREIRA, L.M. Avaliação clínica e epidemiológica das úlceras por pressão em pacientes hospitalizados em São Paulo. **Rev Assoc Med Bras.** v.50, p.182-187, 2004.

CORAZZA, A.V.; JORGE, J.; KURACHI, C.; BAGNATO, V.S. Photobiomodulation on the Angiogenesis of Skin Wounds in Rats Using Different Light Sources. **Photomed. Laser Surg.** v.25, p.102-106, 2007.

MAIYA, G.A.; KUMAR, P.; RAO, L. Effect of low helium-neon (He-Ne) laser irradiation on diabetic wound healing dynamics. **Photomed Laser Surg.** v.23, p.187-190, 2005.

GONÇALVES, L.V.R.; MEZINHO, J.M.S.; BENEVIDES, G.P.; MATTA, S.L.P.; NEVES, C.A.; SARANDY, M.M.; VILELA, E.F. Effect of gallium-arsenide laser, gallium-aluminum-arsenide laser and healing ointment on cutaneous wound healing in Wistar rats. **Braz J Med Biol Res** v.43, p.350-355, 2010.

MANWARING, M.E. Contact guidance induced organization of extracellular matrix. **J. Invest. Dermatol.** v.25, p.3631-3638, 2004

MEDRADO, A.P.; PUGLIESE, L.S.; REIS, S.R.A.; ANDRADE, Z.A. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. **Lasers Surg Med.** v.32, p.239-244, 2003.

PUGLIESE, L.S.; Medrado, A.P.; Reis, S.R.A.; Andrade, Z.A. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. **Pesqui. Odontol. Bras.** v.17, p.307-313, 2003.

REDDY, G.K. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. **J Clin Photomed Laser Surg.** v.23, p. 289-294, 2004