

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA

ESTUDO HISTOLÓGICO DO EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA
DOENÇA ARTICULAR DEGENERATIVA EXPERIMENTAL EM GATOS

Carine Matias Diniz

Belo Horizonte – MG
2014

CARINE MATIAS DINIZ

ESTUDO HISTOLÓGICO DO EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA
DOENÇA ARTICULAR DEGENERATIVA EXPERIMENTAL EM GATOS

Dissertação apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade Federal
de Minas Gerais, como requisito
parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Área de concentração: Clínica e
Cirurgia Veterinária

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cleuza Maria
de Faria Rezende

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Natália de
Melo Ocarino

Belo Horizonte

2014

D585e Diniz, Carine Matias , 1987-
Estudo histológico do efeito do laser de baixa potência na doença articular degenerativa experimental em gatos / Carine Matias Diniz . – 2014.
28 f. il.

Orientadora: Cleuza Maria de Faria Rezende
Coorientadora: Natália de Melo Ocarino
Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária
Área de Concentração: Clínica e Cirurgia Veterinária
Bibliografias: f. 25 a 28.

1. Gato - Cirurgia - Teses - 2. Articulações - Doenças - Teses - 3. Cirurgia experimental - Teses
4. Lasers em cirurgia - Teses - 5. Laserterapia - Teses - I. Rezende, Cleuza Maria de Faria - II.
Ocarino, Natália de Melo – III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária -
IV. Título.

CDD – 636.708 97

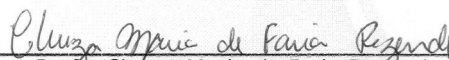
Bibliotecária responsável: Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

FOLHA DE APROVAÇÃO

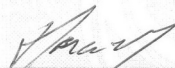
CARINE MATIAS DINIZ

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau e Mestre em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração MEDICINA E CIRURGIA VETERINÁRIAS.


Aprovada em 29 de maio de 2014, pela banca constituída pelos membros:



Profa. Cleuza Maria de Faria Rezende
Presidente - Orientador



Prof. Ernane Fagundes do Nascimento
Escola de Veterinária - UFMG



Prof. Luiz Fernando Lucas Perreira
PUC - Betim

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Maira e Edmar,
por todo incentivo e amor.

AGRADECIMENTO

À Prof^a Cleuza Maria Faria de Rezende pela dedicação, e por compreender minhas limitações. Obrigada por ter aceitado a orientação mesmo em tempos difíceis

À Prof^a Natália Melo Ocarino pela atenção, colaboração.

À Prof^a Patrícia Maria Coletto Freitas por todo o tempo que pode estar presente, pela imensa contribuição em minha vida profissional.

À Mardelene Gomes, Mel, pela imensa solidariedade e auxílio. Obrigada por dedicar seu tempo e conhecimento. Agradeço ainda as conversas ao longo das tantas horas que juntas passamos e as palavras de conforto em momentos de conflito. Muito obrigada Mel!

Ao Juneo, pela gentileza em ensinar-me a capturar e processar as imagens de luz polarizada.

Ao Prof. Ernane Fagunde do Nascimento pela disponibilidade e ajuda na leitura das lâminas.

A todos do Laboratório de Patologia, em especial a técnica Natália pela ajuda imensurável, e conforto nas horas de angústia.

Ao Ricardo Diniz, pelo apoio, carinho e principalmente pelo incentivo. Muito obrigada.

À veterinária Eliana Matias, tia querida, por apoiar em todas as fases de minha vida profissional e pessoal e tornar essa experiência mais agradável.

À Escola de Veterinária da UFMG por proporcionar-me a oportunidade de me tornar mestre.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para concretização desta etapa.

A família e amigos por compreender os momentos de ausência.

RESUMO

Neste estudo avaliou-se histologicamente o efeito do laser de baixa potência na membrana sinovial, nos ligamentos cruzados, no enxerto e nos meniscos após ruptura experimental do LCCr em gatos e substituição por autoenxerto de fásia lata, por meio de videoartroscopia. Foram utilizados fragmentos de membrana sinovial, meniscos, LCCr, LLCd e enxerto de 32 articulações femorotibiopatelares (FTP) provenientes de experimento anterior. Foram constituídos três grupos: grupo I - controle; grupo II- estabilização cirúrgica da articulação FTP; grupo III - estabilização cirúrgica da articulação FTP associada ao laser *GaAs* de 904 nm com a fluência de 4 J. A aplicação do laser foi feita imediatamente após a cirurgia e a cada 48 horas por vinte e um dias consecutivos. Os grupos foram formados por fragmentos de tecido colhidos aos 60 e 90 dias. Estes fragmentos foram fixados em solução formol neutra tamponada a 10%, desidratadas, diafanizadas e embebidas em parafina, laminadas e coradas com HE e picrossirius red. Verificou-se histologicamente, no grupo submetido ao laser de baixa potência, melhor reparação tecidual quando comparado ao grupo II, caracterizado por fibras colágenas mais organizadas, neovascularização, ausência ou discreta inflamação, levando a concluir que a irradiação de laser infravermelho na fluência de 4 J exerce efeito benéfico nos tecidos moles articulares em gatos com doença articular degenerativa secundária à ruptura experimental do ligamento cruzado cranial.

Palavras chave: gato, ligamento cruzado cranial, osteoartrose, laserterapia.

ABSTRACT

In this study we assessed histologically for the effect of low power laser in the synovial membrane, cruciate ligament, meniscus and the graft after experimental rupture LCCr in cats and substituting fascia lata graft by means of arthroscopy. Synovial membrane fragments, menisci, LCCr, LLCd and graft 32 femorotibiopatelares joints (FTP) from the previous experiment were used. Three groups were formed: Group I - control; group II surgical stabilization of FTP joint; Group III - surgical stabilization of the FTP link associated with the *GaAs* laser of 904 nm with the fluency of 4 J. The irradiation was performed immediately after surgery and every 48 hours for twenty-one consecutive days. The groups were formed by tissue fragments collected at 60 and 90 days. These fragments were fixed in neutral buffered formalin 10% solution, dehydrated, and diaphanized embebidos in paraffin, and stained with HE laminates and picrossirius red. It was found histologically in the group submitted to low-power laser, better tissue repair compared to group II, characterized by more organized collagen fibers, vessels, absence or mild inflammation, leading to the conclusion that the infrared laser irradiation fluency of 4 J exerts beneficial effect on articular soft tissue in cats with degenerative joint disease secondary to experimental rupture of the cranial cruciate ligament.

Keywords: cat, cranial cruciate ligament, osteoarthritis, laser therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura. 1 – Fluxograma da divisão dos grupos experimentais. 17

Figura. 2- Fotomicroscopia da membrana sinovial de gatos submetidos à 18 substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, sem irradiação com o laser, aos 90 dias (HE, 100X) Hiperplasia e proliferação das vilosidades (seta), perda da organização das fibras colágenas (asterisco), e neovascularização discreta (seta vermelha).

Figura. 3 - Fotomicroscopia da membrana sinovial de gatos submetidos à 19 substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, associado a laserterapia, aos 90 dias. (HE, 100X). Neovascularização moderada com vasos em diferentes fases de maturação (asterisco), fibroblastos ativos (seta).

Figura. 4- Fotomicroscopia do enxerto intra-articular de fásia lata de gatos 21 submetidos a substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, associado a laserterapia aos 90 dias. (HE, 100X). Tecido conjuntivo denso modelado entreposto por fibroblasto semelhante ao LCCr (seta) áreas com intensa fibroplasia (asterisco).

Figura. 5 - Fotomicroscopia de menisco de gatos submetidos a substituição 21 artroscópica do ligamento cruzado cranial aos 90 dias. (HE, 100X). Hiperplasia de fibrocondrócitos (seta), área com espaçamento das fibras colágenas, perda do padrão circunferencial das fibras colágenas (seta vermelha).

Figura. 6 - Fotomicroscopia de menisco de gatos submetidos a substituição 22 artroscópica do ligamento cruzado cranial, associado a laserterapia aos 90

dias. (HE, 100X) Hiperplasia de fibrocondrócitos (seta), bordas irregulares (seta vermelha).

Figura. 7 - Fotomicroscopia em luz polarizada de LCCr de gato (controle). PSR. 40x. Alternância do colágeno tipo III (verde) com o tipo I (vermelho, alaranjado) ambos com moderada birrefringência.

Figura. 8 - Fotomicroscopia em luz polarizada de autoenxerto de fásia de 24 gato sem laser (GII). PSR. 40x. Predominância do colágeno tipo III (verde) em relação ao tipo I (vermelho, alaranjado) ambos com moderada birrefringência.

Figura. 9 - Fotomicroscopia em luz polarizada de autoenxerto de gato 24 submetidos a laserterapia (GIII). PSR. 40x. Predominância do colágeno tipo III (verde) em relação ao tipo I (vermelho, alaranjado) ambos com moderada birrefringência.

LISTA DE ABREVIATÓES

ATP	Trifosfato de adenosina
CETEA	Comitê de ética e experimentação animal
DAD	Doença Articular Degenerativa
FTP	Femorotibiopatelar
GaAs	Arseneto de Gálio
GaGs	Glicosaminoglicanos
J	Joules
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado

LCCr	Ligamento cruzado cranial
LCCd	Ligamento cruzado caudal
ML	Menisco lateral
MM	Menisco medial
µm	Micrômetro
N	Newtons
Nm	Nanômetro
PSR	Picrosiruis Red

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1. Doença articular degenerativa	10
3.2. Laserterapia de baixa potência	14
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6. CONCLUSÕES	25
7. REREFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos observou-se crescente expansão da população mundial de gatos domiciliares, com perspectiva de se tornarem o mais popular animal de companhia, substituindo os cães, como já ocorre nos Estados Unidos e China. Outro fator observado é o aumento da expectativa de vida destes animais (Genaro, 2010). Tais mudanças impulsionaram o crescente interesse pela medicina de felinos e pela procura por cuidados veterinários para esta espécie (Godfrey, 2005; Clark e Bennet, 2006; Lascelles e Duncan, 2010; Lascelles et al., 2012).

A maior longevidade destes animais possibilita o surgimento de doenças geriátricas como a doença articular degenerativa (DAD) que é de diagnóstico pouco frequente nos gatos enquanto é reconhecidamente um problema comum no cão. Nos últimos anos, entretanto, mais atenção tem sido dada às patologias articulares no felino, cujos estudos radiográficos mostram alta incidência desta afecção, mas sua relevância clínica ainda é subestimada (Hardie et al., 2002; Scott e McLaughlin, 2007). Maior conhecimento e desenvolvimento de técnicas de diagnóstico mais aprimoradas são requeridos para se obter um diagnóstico clínico da DAD em gatos (Langley-Hobbs, 2009).

As alterações associadas com a DAD se manifestam pela dor e redução do uso da articulação e apesar das diferentes proposições para tratamento no cão e homem, pouco se sabe sobre as terapias no gato. Dentre as possibilidades de tratamento da DAD encontra-se o laser de baixa potência, cujo efeito biomodulador já é conhecido em situações específicas (Enwemeka e Reddy, 2000; Gyeyeop e Eunjung, 2013). A laserterapia é um recurso fisioterápico capaz de produzir efeitos bioquímicos e fisiológicos nos tecidos devido à sua propriedade única de biomodulação, que propicia efeito anti-inflamatório, analgésico e estímulo celular (Karu, 1989; Baxter, 2003). Os animais acometidos com DAD submetidos a laserterapia de baixa potência, apresentam melhor resposta clínica e histológica quando comparado com os tratamentos convencionais (Calatrava et al., 1997, Enwemeka e Reddy, 2000; Mantovani 2010).

Apesar dos resultados clínicos satisfatórios, pouco ainda se conhece sobre os efeitos do laser de baixa potência nos tecidos moles articulares e no controle do processo articular degenerativo (Enwemeka e Reddy, 2000; Peavy, 2002).

2. OBJETIVO

Objetivou-se com este trabalho foi avaliar histologicamente o efeito da laserterapia de baixa potência nos tecidos moles articulares em gatos submetidos à ruptura experimental do ligamento cruzado cranial (LCCr) seguida da estabilização articular por autoenxerto de fásia lata, guiada por videoartroscopia.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. DOENÇA ARTICULAR DEGENERATIVA

Doença articular degenerativa, osteoartrose (AO) ou osteoartrite é uma alteração potencialmente debilitante, dolorosa, de difícil controle, que tem instigado contínuas pesquisas. Dentre as causas está a instabilidade articular causada pela ruptura do LCCr que é utilizada com modelo

clássico para indução do processo articular degenerativo. A utilização de modelos experimentais é de extrema importância para melhor compreensão da patogênese desta alteração, bem como para a avaliação da eficácia de terapias (Vasseur, 1993; Lipowitz et al., 1985).

A DAD é caracterizada por uma lesão crônica degenerativa, não inflamatória de articulações sinoviais. Sua patogenia é um processo complexo e não totalmente elucidado que culmina em atividades catabólicas que superam a capacidade regenerativa da cartilagem frente a uma lesão (Sanz, et al., 2006). Em medicina veterinária os quadros geralmente são secundários, sendo a instabilidade articular em decorrência da ruptura do LCCr uma das mais frequentes. Independentemente da causa, inicia-se um ciclo de degradação da cartilagem articular e dos tecidos moles adjacentes que reflete no paciente como quadros dolorosos, claudicação e incapacidade locomotora (Johnston, 1997).

A ruptura do LCCr, apesar de incomum em gatos resulta em DAD (Harasen, 2005; Scott e McLaughlin, 2007) e acredita-se que, assim como em cães e humanos, esteja correlacionada a causas multifatoriais como genética, trauma e alterações degenerativas (McLaughlin, 2002). Segundo Harasen (2005) a etiologia da ruptura do LCCr em gatos associa-se a causas traumáticas, excesso de peso, e idade. Assim como em cães, é indicada a correção cirúrgica com intuito de estabilizar a articulação, prevenir ou minimizar a DAD. Por outro lado, com os mesmos objetivos, a terapia com o laser de baixa potência também pode ser utilizada (McLaughlin, 2002, Cho et al., 2004; Calatrava et al., 2007).

A cartilagem é avascular, não innervada, constituída por condrócitos e matriz extracelular, com os condrócitos tendo como função a síntese de colágeno, proteoglicanos, e metaloproteínases que são enzimas degradativas. (Junqueira e Carneiro, 2013). Os proteoglicanos são proteínas ligadas à cadeia de glicosaminoglicanos (GaGs) que propicia rigidez e resistência à compressão e regula a quantidade de água que compõe a matriz. Os GaGs mais abundantes na cartilagem é o agrecano e o sulfato de condroitina. As principais metaloproteínases incluem a collagenase e a estromelina. A primeira atua sobre as fibrilas de colágeno para decompor a cartilagem, e a segunda desdobra tanto os proteoglicanos como o colágeno (Johnston, 1997). A matriz extracelular contém altas concentrações de proteoglicanos imobilizados dentro de uma rede densa de colágenos. Em cães e humanos, o colágeno mais abundante é o tipo II, mas observa-se também os tipos VI, IX, X e XI. Sua principal função é dar suporte estrutural para a matriz da cartilagem. Esta rede de colágeno e proteoglicanos fazem com que a cartilagem suporte as forças de compressão. Na ausência de lesão essas atividades anabólicas e catabólicas promovem, mesmo que de forma lenta a manutenção da cartilagem. Quando se perde esta homeostase inicia-se a DAD (Sanz et al., 2006).

A DAD acarreta em perda progressiva da cartilagem articular, degradação dos proteoglicanos, desorganização das fibrilas de colágeno, erosão e degeneração progressiva da cartilagem, além de alterações reativas da cápsula e dos tecidos adjacentes. Durante o curso da doença há um desequilíbrio do metabolismo celular, com supremacia do catabolismo (Melo et al., 2008).

Estudos demonstram que esta afecção é frequente em gatos assim como em cães e humanos (Godfrey, 2005; Clark e Bennet, 2006; Lascelles e Duncan, 2010). Segundo Hardie e colaboradores (2002) evidências radiográficas de DAD foram encontradas em 90% dos gatos acima de 12 anos de idade. Outro estudo recente sugere que gatos com DAD apresentam quadros dolorosos que poderiam influenciar no temperamento, tornando-os hostis e menos ativos (Lascelles *et al.*, 2012).

A DAD resulta de uma complexa interação entre fatores bioquímicos e biomecânicos e as alterações associadas com o processo degenerativo envolvem todos os tecidos incluindo a capsula articular, osso subcondral, ligamentos, meniscos e músculos resultando em dano e destruição da cartilagem. As alterações da superfície articular entretanto, são as mais bem documentadas histológica e bioquimicamente (Johnston 1997).

Os ligamentos são estruturas constituídas de tecido fibroso que unem dois ossos e atuam resistindo ao movimento articular em uma direção específica. Os ligamentos cruzados são intracapsulares e subdivididos de acordo com sua inserção na tíbia. O ligamento cruzado cranial (LCCr) origina-se no côndilo lateral do fêmur, e insere-se na face cranial da tíbia, enquanto o caudal origina-se no côndilo femoral medial e insere-se na face tibial caudal. O LCCr tem como principal função a estabilização articular, impedindo o deslocamento cranial da tíbia e limitando a hiperextensão e rotação da articulação femurotibiopatelar (FTP). Apesar de também contribuir para estabilização dessa articulação, o ligamento cruzado caudal (LCCd) possui um papel secundário e recebe menor carga mecânica e é mais espesso que o LCCr. Esses fatores contribuem para uma maior fragilidade e importância do LCCr (Fossum, 2012).

Os gatos, em particular, apresentam o LCCr mais espesso que o caudal são animais de baixa massa corporal e com grande capacidade biomecânica adaptativa, características diferentes do cão e do homem (McLaughlin, 2002; Harasen, 2005).

Histologicamente o ligamento cruzado é composto por tecido conjuntivo denso modelado, formado por feixes paralelos de fibras colágenas entrepostas por fileiras de células. Estas podem apresentar baixa atividade de síntese ou serem metabolicamente ativas, sendo denominadas fibrócitos e fibroblastos respectivamente. Fibroblastos são responsáveis pela síntese da matriz extracelular, a qual é composta por proteínas colagênicas, elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas, proteoglicanas e glicoproteínas multiadesivas (Silva, 2007). No cão o principal constituinte da matriz é o colágeno, representando aproximadamente 75%, sendo 90% de colágeno tipo I, e 10% de colágeno tipo III (Vasseur, 1993).

Silva (2007) avaliou as alterações degenerativas associadas ao ligamento cruzado cranial rompido em cães e observou diminuição da área ocupada por fibras colágenas e desorganização das mesmas em relação ao ligamento íntegro, com hiperplasia e hipertrofia celular e neovascularização da membrana sinovial que recobre o ligamento.

A cápsula articular, estrutura que reveste a articulação sinovial, é uma membrana conjuntiva composta por uma camada externa denominada membrana fibrosa e por um revestimento interno, denominado membrana sinovial (Melo et al., 2008).

A estrutura histológica da membrana sinovial caracteriza-se pela distribuição de células do tecido conjuntivo dispostas em duas ou três camadas. Não se observa lâmina basal entre o revestimento e o tecido subjacente, também chamado de camada subsinovial ou subíntima (Galloway e Lester, 1995; Junqueira e Carneiro, 2013).

A íntima é composta por sinoviócitos dispostos em duas ou três camadas que podem se apresentar morfológicamente semelhantes a fibroblastos ou a macrófagos, com função secretora e de defesa, respectivamente. As células secretoras são responsáveis pela ultra filtração do plasma com conseqüente síntese do líquido sinovial, de colágeno e do ácido hialurônico (Lipowitz, 1985; Junqueira e Carneiro, 2013).

A região subsinovial caracteriza-se por tecido conjuntivo areolar, ricamente vascularizado e associado a células adiposas distribuídas de modo multifocal e em quantidade variável. A vascularização é essencial para a produção de líquido sinovial e, ao mesmo tempo, facilita as trocas de nutrientes, a eliminação dos produtos de catabolismo e é fonte nutricional para a cartilagem (Sanz et al., 2006). Sua matriz é característica do tecido conjuntivo frouxo, apresentando consistência delicada, flexível e pouco resistente à tração e não há predominância de nenhum dos componentes. As células mais frequentemente observadas são os fibroblastos e macrófagos associadas às fibras colágenas e elásticas (Junqueira e Carneiro, 2013).

Embora pouco estudada, a membrana sinovial desempenha importante papel na indução, evolução e perpetuação da DAD e pode ser um importante marcador desta patologia, uma vez que a sinovite pode se apresentar precocemente à osteoartrose (Sanz et al., 2006).

Em casos da ruptura do LCCr as alterações iniciais são observadas após uma semana e incluem aumento de celularidade da camada sinovial e infiltração de células mononucleares na subsinóvia (Lipowitz et al, 1985; Johnston, 1997). Em casos crônicos, a membrana sinovial torna-se hipertrófica e hiperplásica, com projeção de suas vilosidades para a cavidade articular e, às vezes aderindo-se à cartilagem. Pode-se observar presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, neovascularização e fibrose subsinovial (Galloway e Lester, 1995; Muzzi, 2003; Melo et al., 2008).

Os meniscos são estruturas em forma de meia lua, com uma margem interna côncava e delgada e outra externa, convexa e espessa. Embora sejam estruturas móveis, apresentam-se inseridos ao platô tibial pelos ligamentos meniscotibial cranial e caudal. O menisco medial (MM) é firmemente aderido à cápsula articular e este fato contribui para que as lesões ocorram com maior frequência neste menisco comparativamente ao lateral (Cury et al., 2002).

A constituição do menisco no cão é de fibrocartilagem, esbranquiçada, brilhante composta de água (70%), por tecido conjuntivo e células envoltas em abundante matriz extracelular. As células típicas, os fibrocondrócitos, são as responsáveis pela síntese dessa matriz que é composta por colágeno tipo I, que representa cerca de 80% do conteúdo total, além de fibras colágenas tipos II, III, V e VI. Outros constituintes importantes são os glicosaminoglicanos, glicoproteínas, proteoglicanas e pequena quantidade de fibras elásticas. As fibras colágenas orientam-se predominantemente de modo circunferencial, porém são entremeadas por outras orientadas radialmente a partir da superfície que se direcionam para as regiões mais profundas (Vilela et al., 2010). Após a maturação esquelética a irrigação atinge 10 a 30% da largura do menisco medial e 10 a 25% do lateral. Os vasos sanguíneos originados das artérias geniculares medial e lateral e de seus respectivos ramos, superior e inferior, formam o plexo capilar perimeniscal que é circunferencial com ramos radiais, de orientação centrípeta e irrigam o terço externo do menisco. Os dois terços centrais são compostos de tecido avascular e não inervado, portanto, o líquido sinovial é essencial para sua nutrição (Cury et al., 2002; Junqueira e Carneiro, 2013).

O padrão de organização supracitado contribui para a manutenção das propriedades mecânicas como força tênsil e rigidez e influenciam no desempenho de suas funções. Os meniscos apresentam importante papel na estabilização da FTP, pois atuam na transmissão de carga e absorção de choque mecânico, mantém a congruência articular, distribuição do líquido sinovial e desempenham papel fundamental na prevenção da DAD devido às suas funções na biomecânica (Vasseur, 1993) . Em cães e gatos, as lesões de menisco estão associadas com a

ruptura do LCCr, sendo rara a ocorrência de lesões isoladas (Fossum, 2012). Nesses casos, os meniscos perdem a capacidade de dissipar as forças exercidas, o que desencadeia e perpetua a DAD. Dessa forma, quando lesionados, toda a articulação está comprometida (Vasseur, 1993).

3.2. LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA

O Laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) é amplamente utilizado em diversas áreas da saúde devido as suas propriedades benéficas no controle do processo inflamatório, na reparação tecidual, na modulação da dor e na maturação neural após lesão (Karu, 1989; Enwemeka e Reddy, 2000; Levine et al., 2005). Os tipos de laser que têm aplicação em medicina veterinária são classificados de acordo com sua potência em laser terapêutico e laser cirúrgico. O laser de baixa potência ou terapêutico tem efeito biomodulador, não-térmico e as reações fotoquímicas geradas atuam no metabolismo celular. Suas principais indicações são cicatrização de feridas, tratamento de áreas com inflamação ou edema, alívio da dor, tratamento de lesões osteoarticulares e lesão de nervo periférico (Levine et al, 2005).

O laser é uma luz artificial que produz energia eletromagnética transmitida através de fótons. Possuem comprimentos de onda discretos e têm origem em um meio emissor onde os átomos são excitados para um meio mais rico em energia. À medida que retornam a seu estado mais estável, os átomos excitados liberam energia na forma de fótons, processo conhecido como emissão estimulada. Estes fótons ressoam entre as extremidades espelhadas da câmara de laser, excitando mais átomos no meio emissor. Quando adquirem energia suficiente, os fótons passam através de um espelho parcialmente reflexivo em uma extremidade da câmara de laser como um feixe de luz altamente concentrado. Diferentemente da luz de uma lâmpada incandescente, a luz do laser apresenta características especiais que a torna única e capaz de promover a biomodulação. É uma luz monocromática, possui um único comprimento de onda, é colimada, com baixo grau de divergência, é coerente e possui ondas de luz paralelas (Karu, 1989; Peavy, 2002).

A emissão da radiação é possível, pois cada aparelho possui uma característica radioativa que pode se apresentar em forma de cristais sólidos, gases e diodos semicondutores (Baxter, 2003). A substância presente determinará o comprimento de onda, sua ação nos tecidos e o nome comercial do produto (Levine et al., 2005). O comprimento de onda varia de 600 a 1.000 nanômetro (nm) e é proporcional a sua capacidade de penetração nos tecidos, quanto maior o comprimento de onda, maior sua capacidade de penetração. O laser de GaAs (904 nm) é amplamente utilizado quando se deseja a irradiação em tecidos mais profundos (Karu, 1999; Arruda et al., 2007).

Quando irradiado, o tecido absorve a energia e sofre alterações biológicas de biomodulação, inibindo ou estimulando as células. A absorção é possível devido aos fotorreceptores primários e secundários. São exemplos de receptores primários os cromóforos naturais como o pigmento heme da hemoglobina, mioglobina, bilirrubina, o pigmento citocromo da cadeia respiratória na mitocôndria e o pigmento melanina. Os secundários seriam as estruturas que absorvem a energia por intermédio dos campos eletromagnéticos, causando uma ressonância desses campos com as biomoléculas e alterando cargas específicas na membrana e nas proteínas da superfície. Tal fenômeno provocaria modificações moleculares ou espaciais dessa substância, provocando diferentes respostas (Karu, 1989; Karu 1999; Mikail e Pedro, 2006). O laser de GaAs penetra e produz efeitos diretos em uma extensão de até 2 cm de profundidade e indiretos até 5 cm (Baxter, 2003).

O efeito biomodulador é compatível com a intensidade de radiação aplicada sobre o tecido. A bioestimulação é conseguida quando se aplica baixas doses, consideradas até 10 J, enquanto o acréscimo de radiação provoca um efeito contrário, diminuindo a resposta tecidual e promovendo bioinibição (Enwemeka e Reddy, 2000).

Embora os mecanismos precisos de ação permaneçam pouco elucidados, sabe-se que a fotoestimulação promove alterações biológicas nos tecidos. Os principais efeitos biológicos no local da aplicação são o aumento do metabolismo celular, da circulação sanguínea, estímulo à formação de novos capilares, aumento da atividade do sistema linfático, da síntese de DNA e RNA, dos níveis de endorfina, da liberação de histamina e serotonina, e da quantidade de fibroblastos, estímulo da produção de colágeno pelos fibroblastos, estímulo de produção de osteoblastos, da fagocitose, aumento dos níveis de ATP (trifosfato de adenosina), liberação de fatores de crescimento, diminuição da velocidade de condução sensorial, redução do grau de excitabilidade dos receptores da dor e manutenção do potencial de membrana (Karu, 1989; Karu, 1999; Pinheiro et al., 2000; Mikail e Pedro, 2006).

A laserterapia de baixa potência é empregada em casos de DAD com o intuito de promover bioestimulação, atuando como analgésico e anti-inflamatório além de promover a reparação tecidual (Enwemeka e Reddy, 2000; Peavy, 2002).

Em estudos histológicos realizados em humanos, cães, eqüinos e cobaias foram observados recuperação da cartilagem articular, dos tecidos moles adjacentes, menor reação inflamatória, fibras colágenas com melhor arranjo, aumento da síntese de colágeno, modulação e maturação de colágeno recém formado, indução da neovascularização e tecidos com menor grau de degeneração (Calatrava et al., 1997; Enwmwka e Reddy, 2000; Cho et al., 2004; Arruda et al., 2007; Gyeyeop e Eunjung, 2013).

Gyeyeop e Eunjung (2013) avaliaram os efeitos anti-inflamatório e condroprotetor da laserterapia de baixa potência com comprimento de onda de 850 mn e 3,6 J/cm², em osteoartrite induzida. Segundo os autores, os animais submetidos a laserterapia apresentavam menores níveis séricos de mediadores inflamatórios do que o grupo controle e histologicamente melhor recuperação articular. Além do efeito antiinflamatório, o laser pode ter também ação condroportetora, uma vez que com a redução de mediadores inflamatórios tem-se uma efetiva redução da degradação da cartilagem articular. Os autores consideram ainda que o laser pode ser uma terapia eficaz na abordagem do tratamento da dor articular associada a DAD.

Arruda e colaboradores (2007) compararam pela histologia a recuperação tendínea de ratos submetidos a laserterapia de baixa potência com comprimento de onda de 670mn (laser vermelho) e 904mn (laser infravermelho) na fluência de 3 J/cm². Os autores concluíram que independente do comprimento de onda irradiado obteve-se, quando comparado ao controle, uma melhor organização das fibras colágenas, evidenciando melhor qualidade no reparo tendíneo.

Geralmente os animais quando submetidos à laserterapia apresentam uma maior amplitude de movimento articular, menor escore de claudicação, menor sinal de dor e retorno precoce às funções habituais (Calatrava et al., 1997; Mikail e Pedro, 2006; Mantovani, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 32 articulações femorotibiopatelares (FTP) de gatos provenientes de experimento prévio (Mantovani, 2010), aprovado pelo CETEA/UFMG, sob o protocolo número 283/2008, no qual foram utilizados 16 gatos adultos jovens, oito machos e oito fêmeas, sem raça definida, de massa corporal entre 2,7 e 4,9 kg. Os gatos foram submetidos à ruptura experimental do LCCr do membro posterior direito, guiado por vídeoartroscopia, seguindo-se a substituição do mesmo por autoenxerto de fásia lata, segundo técnica descrita por Schawalder (1987) e adaptada por Muzzi (2003). Todos os procedimentos foram realizados pelo mesmo cirurgião. Os animais foram igualmente divididos em grupo controle (I) e grupo tratado (II).

Os animais do grupo II foram submetidos ao tratamento pós-operatório com laserterapia de baixa potência, utilizando aparelho de laser GaAs de 904 nm de comprimento de onda, infravermelho, com a fluência de 4,0 J/cm², com tempo automatizado (50 segundos), aplicados em quatro pontos, denominados lateral-cranial, lateral-caudal, medial-cranial e medial-caudal na articulação FTP. A irradiação do laser foi feita em intervalos de 48 horas por 21 dias com início imediato após a cirurgia. Os animais do grupo I foram submetidos à contenção física semelhante à do grupo II, mas sem a aplicação de laser. Quatro animais, escolhido de forma aleatória, de cada grupo foram submetidos à eutanásia por sobredose anestésica aos 60 e 90 dias após a cirurgia. Fragmentos de tecidos moles das articulações FTP dos membros tratados e contralaterais, foram coletados e fixados em solução formol neutra tamponada a 10%.

Neste projeto, avaliou-se histologicamente as amostras de membrana sinovial, LCCr, LCCd, menisco e do enxerto. Foram analisadas amostras de 32 articulações, divididas em três grupos (Fig. 1): controle (grupo I), estabilização cirúrgica da articulação FTP (grupo II) e estabilização cirúrgica da articulação FTP associada ao laser pós-operatório (grupo III), em dois diferentes tempos:

- **Grupo I (controle):** formado por 16 articulações FTP esquerda, sendo oito amostras de 60 dias de pós-operatório (Grupo Ia) e as demais de 90 dias (Grupo Ib).
- **Grupo II (estabilização cirúrgica da articulação FTP):** constituído por oito articulações FTP direita, sendo quatro de 60 dias de pós-operatório (Grupo IIa) e as demais de 90 (Grupo IIb).
- **Grupo III (estabilização cirúrgica da articulação FTP associada ao laser):** constituídas por oito articulações FTP direita, sendo quatro de 60 dias de pós-operatório (Grupo IIIa) e as demais de 90 (Grupo IIIb).

A figura 1 ilustra o esquema da distribuição dos grupos experimentais supracitados e suas respectivas denominações.

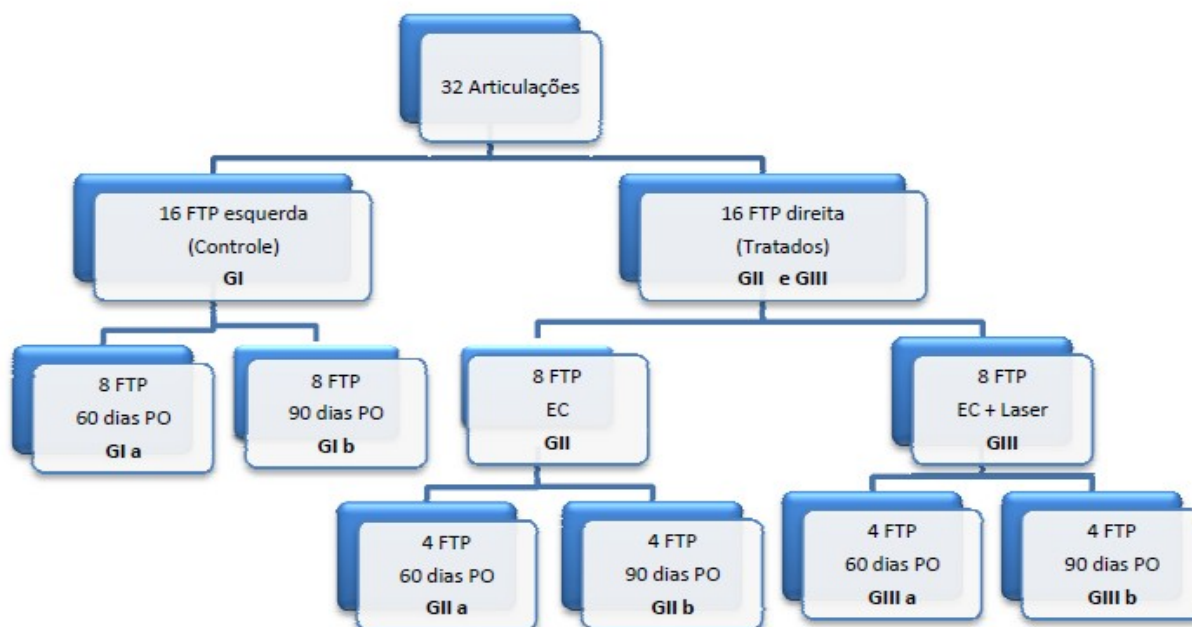


Figura. 1 – Fluxograma da divisão dos grupos experimentais.
FTP - femorotibiopatelar; PO – pós-operatório; EC – estabilização cirúrgica.

Após a fixação em formol a 10% neutro e tamponado, por período mínimo de 96 horas, os fragmentos de membrana sinovial, dos ligamentos cruzados cranial e caudal, do enxerto e do menisco medial foram processados pela técnica rotineira de inclusão em parafina e os cortes histológicos foram feitos em plano longitudinal com espessura de 4 μ m. As secções foram coradas pela técnica de Hematoxilina e Eosina para avaliação morfológica. A microscopia foi analisada em duplo cego de forma descritiva, para comparação nos diferentes grupos.

Lâminas de secções do LCCr e do enxerto foram incubadas com solução de *Picosirusred* (PSR) durante uma hora, diferenciadas em ácido clorídrico 0,01 N por cinco minutos e contra coradas por hematoxilina de Harris por um minuto. Em seguida as lâminas foram lavadas em água corrente 15 minutos, desidratadas em soluções crescentes álcool etílico, diafanizadas em xilol e montadas em bálsamo. Posteriormente, foram examinadas sob luz polarizada. Três campos dos cortes histológicos foram capturados com aumento de 40X utilizando-se uma câmera de vídeo (Leica ® DFC 500) acoplada a um microscópio de luz polarizada (Leica ® DM 4000 B) instalado em um microcomputador.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os relatos sobre estudos histológicos de tecidos moles articulares em gatos são escassos, mas a técnica utilizada permitiu avaliar a membrana sinovial, os ligamentos cruzados, o menisco e o enxerto de fâscia lata como proposto.

A membrana sinovial do grupo controle apresentou-se histologicamente normal com sinoviócitos dispostos em duas ou três camadas apoiadas sobre tecido conjuntivo, ricamente vascularizado associado a células adiposas, sendo este o padrão de normalidade como já mencionado por Sanz (2003). O grupo que não recebeu o laser (Grupo II) apresentava, aos 60 dias, discreta hiperplasia de sinoviócitos, sendo os mesmo dispostos em até cinco camadas. Observaram-se também infiltrado inflamatório perivascular discreto composto por linfócitos e raros plasmócitos, áreas multifocais de desorganização de fibras colágenas. Aos 90 dias a membrana sinovial mostrou discreta hiperplasia de sinoviócitos, sendo os mesmo dispostos em até cinco camadas, áreas focais de hemorragia e desorganização mais acentuada das fibras colágenas (Fig. 2). Essas alterações histológicas, observadas na membrana sinovial aos 60 e 90 dias de gatos que não receberam o laser (Grupo II) caracterizam uma sinovite linfopasmocitária associada ao processo degenerativo. Os achados deste estudo são semelhantes aos de Lipowitz e colaboradores (1985), Galloway e Lester (1995), Muzzi (2003) e Melo e colaboradores, (2008) que ao avaliarem a membrana sinovial de cães em modelo experimental semelhante também observaram hiperplasia da membrana sinovial e presença de infiltrado inflamatório.

Na membrana sinovial dos animais tratados com laser de baixa potência (Grupo III) observou-se aos 60 dias sinoviócitos dispostos em até quatro camadas, fibras colágenas mais organizadas quando comparado aos animais que não foram submetidos ao laser, áreas focais de infiltrado inflamatório linfopasmocitário discreto e presença de angiogênese discreta. Aos 90 dias, os sinoviócitos mostrava-se dispostos em até quatro camadas, fibras colágenas mais organizadas quando comparado aos animais do grupo II com fibroblastos mais ativos (núcleo maior, mais basofílico e cromatina frouxa), áreas focais de infiltrado inflamatório discreto e angiogênese mais intensa que aos 60 dias, com endotélio bem definido (Fig. 3).

As alterações da membrana sinovial observadas no presente estudo indicam que houve um processo degenerativo de maior intensidade nos animais que não receberam o tratamento com laser. Disso, pode-se inferir que a laserterapia tem ação benéfica sobre a reação inflamatória da membrana sinovial, estimula o desenvolvimento de fibroblastos e induz a produção de colágeno para reparação tecidual, induz a angiogênese e a resposta celular, contribuindo assim para o retardo no desenvolvimento da DAD.

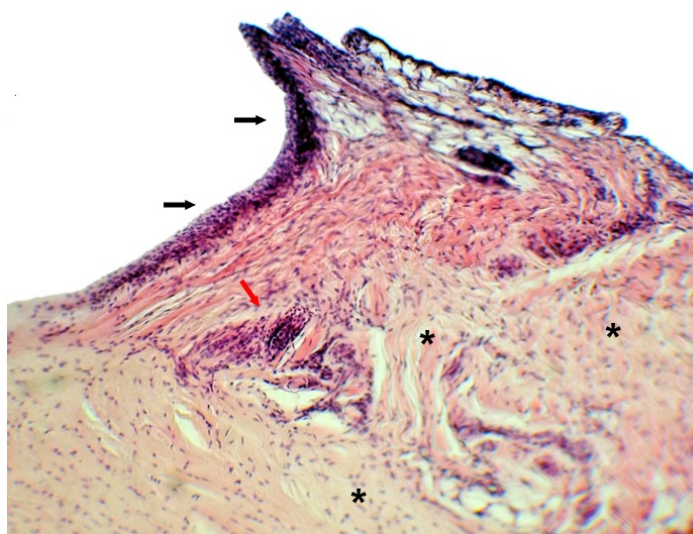


Figura. 2- Fotomicroscopia da membrana sinovial de gatos submetidos à substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, sem irradiação com o laser, aos 90 dias (HE, 100X) Hiperplasia e proliferação das vilosidades (seta), perda da organização das fibras colágenas (asterisco), e neovascularização discreta (seta vermelha).

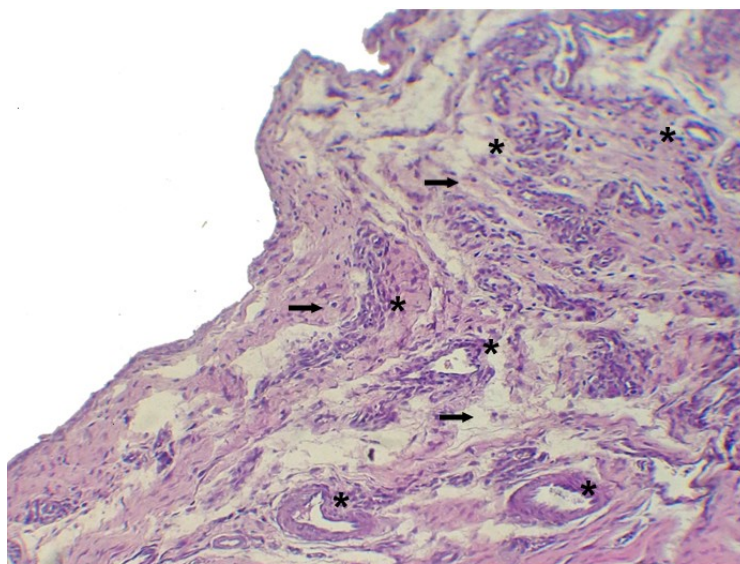


Figura. 3 - Fotomicroscopia da membrana sinovial de gatos submetidos à substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, associado a laserterapia, aos 90 dias. (HE, 100X. Neovascularização moderada com vasos em diferentes fases de maturação (asterisco), fibroblastos ativos (seta).

Os ligamentos cruzados do grupo controle (Grupo I) mostraram-se sem alterações histológicas, formado por tecido conjuntivo propriamente dito, denso modelado, formado por feixes de fibras colágenas organizadas paralelamente, entrepostas por fibroblastos dispostos em fileiras com citoplasma escasso e núcleos alongados. Este padrão de normalidade é semelhante ao descrito por Junqueira e Carneiro (2013) no homem. O grupo II, não submetido à terapia com laser, apresentou áreas multifocais de discreta degeneração evidenciada principalmente por perda da organização paralela dos feixes de colágeno. Notou-se ainda neovascularização discreta nas extremidades dos segmentos avaliados e camada interna espessa com aumento da celularidade. Aos 90 dias as alterações foram semelhantes, porém mais acentuadas, com degeneração moderada das fibras colágenas, associadas a infiltrado inflamatório com raros linfócitos e áreas multifocais de discreta hemorragia, predominantemente perivascular, evidenciando sinais de evolução do processo degenerativo. Em algumas regiões as fibras colágenas apresentavam-se separadas, sugerindo edema e eram desprovidas de fibrócitos e fibroblastos, ou estas células apresentavam núcleo picnótico como já relatado por Silva (2007) ao avaliar LCCr de cães, onde foram observados sinais de alterações degenerativas no ligamento rompido evidenciados por fibras colágenas fragmentadas e com perda do padrão de organização estrutural e alterações na morfologia dos fibroblastos.

Nos animais submetidos ao laser (GIII) notou-se aos 60 dias, fibras colágenas mais organizadas quando comparado ao GII e dispostas paralelamente, entrepostas por fibroblastos e fibrócitos.

Observou-se áreas multifocais de proliferação de fibroblastos associados à matriz recém-formada e neovascularização moderada com diferentes fases de maturação do endotélio vascular. Alguns vasos com angioblastos agrupados em ninhos de células e outros com padrão de organização vascular mais evidente e lúmen de diâmetro variável e presença de hemácias. Resultados semelhantes foram observados aos 90 dias, destacando-se a intensa neovascularização. As alterações do ligamento cruzado observadas no presente estudo indicam que de forma semelhante aos achados da membrana sinovial desenvolvendo, independente do tratamento, um processo degenerativo, porém menos intenso nos animais que receberam o laser. Portanto, pode-se inferir que a laserterapia tem ação benéfica sobre a articulação, reduzindo os efeitos da degeneração tecidual.

O enxerto de fásia lata do grupo não submetido à laserterapia (Grupo II) apresentou aos 60 dias, fibras colágenas com degeneração moderada a intensa com perda da arquitetura tecidual em áreas multifocais, expressa por moderada basofilia da matriz e fibras colágenas rompidas, presença de infiltrado inflamatório discreto com macrófagos e linfócitos, e áreas de hemorragia discreta. Notou-se focos de morte celular evidenciada por fibroblastos com núcleo picnóticos, sugerindo necrose devido a ligamentização do enxerto (Fig.4). Aos 90 dias observou-se presença de raras células gigantes e metaplasia cartilaginosa, caracterizada por grupos exógenos de condrócitos com núcleo redondo, vesiculoso, com cromatina frouxa associado a matriz discretamente basofílica, semelhante ao observado em cães por Muzzi (2003).

O grupo tratado com laserterapia (Grupo III) apresentou aos 60 dias áreas de degeneração discreta a moderada com fibras colágenas com perda da organização paralela, alternando com focos de área tecidual semelhante ao LCCr, formado por tecido conjuntivo denso modelado, entreposto por fibroblasto. Foram observadas também áreas multifocais de morte celular intercalando com áreas de reparo tecidual com fibroblasto em intensa atividade celular e vasos com endotélio bem definido. Aos 90 dias, havia degeneração moderada a intensa alternando com focos de área tecidual semelhante ao LCCr, com colágeno mais organizado e maturo que aos 60 dias. Estas mudanças histológicas iniciadas aos 60 dias e melhor definidas aos 90 dias, se devem ao processo de ligamentização do enxerto, que é caracterizada por uma série de mudanças biológicas no qual o tecido sofre um processo de necrose avascular, proliferação celular, revascularização, deposição e remodelamento do colágeno e maturação, conforme citado por Silva (2007). Estas modificações permitem que o enxerto adquira uma estrutura semelhante ao ligamento. Mais uma vez, baseado nos resultados deste estudo, o grupo tratado com o laser de baixa potência apresentou melhor padrão de caracterização histológica, indicando que essa terapia tem efeito benéfico na ligamentização do enxerto e na reparação dos tecidos moles articulares, estimulando o metabolismo celular, a quantidade de fibroblasto e a regeneração tecidual de forma semelhante aos achados de Enwmwka e Reddy (2000).

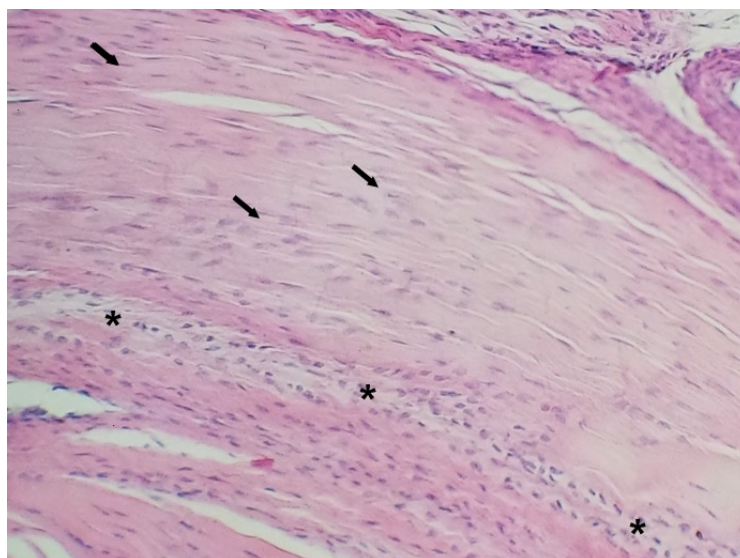


Figura. 4- Fotomicroscopia do enxerto intra-articular de fásia lata de gatos submetidos a substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, associado a laserterapia aos 90 dias. (HE, 100X). Tecido conjuntivo denso modelado entreposto por fibroblasto semelhante ao LCCr (seta) áreas com intensa fibroplasia (asterisco).

Os meniscos do grupo controle mostraram-se com morfologia habitual com fibras colágenas orientando-se predominantemente de modo circunferencial, entrepostas por fibrocondrócitos como já relatado em coelhos, cães e humanos (Cury, 2002; Leiane, 2010; Junqueira e Carneiro, 2013). No grupo II observaram-se fibras colágenas com perda do padrão de orientação circunferencial, entrepostas por fibrocondrócitos e áreas multifocais com hiper celularidade e discreta vascularização, aos 60 dias. Aos 90, a desorganização da matriz e neovascularização eram mais evidentes. Observou-se ainda presença de fissuras, superfície irregular e acelular entrepostas por outras, com intensa atividade caracterizada por nucléolos evidentes e núcleo grande e arredondados (Fig. 5). No grupo que recebeu o laser as alterações foram mais discretas mostrando melhor organização das fibras colágenas e neovascularização exuberante (Fig. 6).

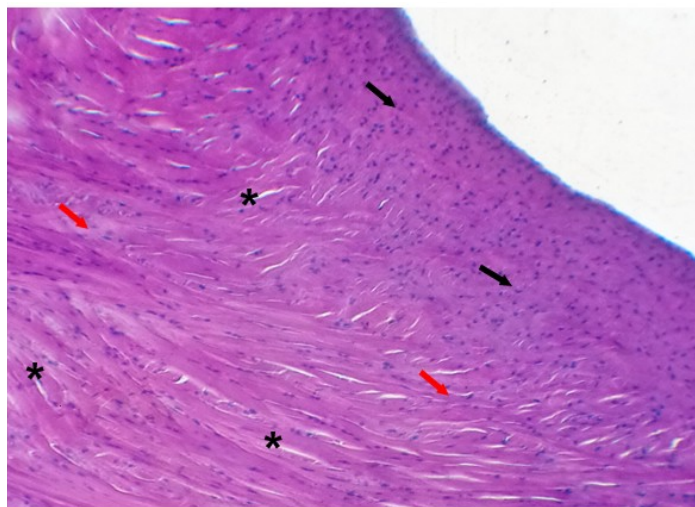


Figura. 5 - Fotomicroscopia de menisco de gatos submetidos a substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial aos 90 dias. (HE, 100X). Hiperplasia de fibrocondrócitos (seta), área com espaçamento das fibras colágenas, sugerindo edema (asterisco), perda do padrão circunferencial das fibras colágenas (seta vermelha).

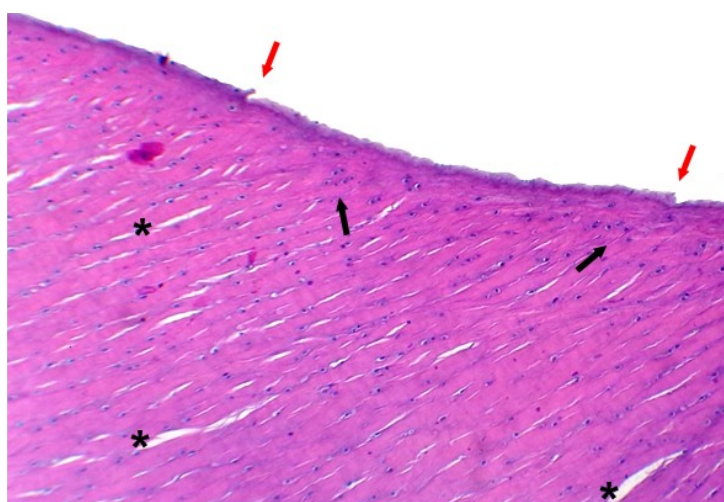


Figura. 6 - Fotomicroscopia de menisco de gatos submetidos a substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial, associado a laserterapia aos 90 dias. (HE, 100X) Hiperplasia de fibrocondrócitos (seta), área com espaçamento das fibras colágenas sugerindo edema (asterisco) bordas irregulares (seta vermelha).

Todos os grupos irradiados com o laser infravermelho apresentaram melhor recuperação tecidual, mostrando-se de qualidade superior aqueles que não receberam a irradiação. (Grupo II). Histologicamente notou-se fibras colágenas dispostas de forma mais organizadas, neovascularização evidente, ausência ou discreto infiltrado inflamatório e proliferação celular. Estes achados sugerem que o laser exerce efeitos benéficos nos tecidos moles articulares em gatos. Esses achados corroboram a teoria da fotobioestimulação, mostrando que o laser promove alterações biológicas favoráveis à recuperação tecidual e pode favorecer portanto, o

controle da DAD (Karu, 1989; Pinheiro et al., 2000; Peavy, 2002; Baxter 2003). Segundo Levine e colaboradores (2005) o uso do laser estimula o desenvolvimento de fibroblastos e induz a produção de colágeno para reparação tecidual, induz a angiogênese, acelera a taxa metabólica dos tecidos e a resposta celular, como evidenciados nos achados deste estudo.

Existe na literatura um grande número de estudos investigando os efeitos da laserterapia de baixa potência e a biomodulação em diversos tecidos (Karu, 1989; Calatrava *et al*, 1997; Karu, 1999; Enwmwka e Reddy, 2000; Peavy, 2002; Baxter, 2003; Cho et al, 2004; Arruda et al , 2007; Gyeyeop e Eunjung, 2013). No entanto, evidências clínica e científica sobre a eficácia desta modalidade é muitas vezes contraditória. Não há uma padronização dos trabalhos, diferentes espécies são usadas, com variações no comprimento de onda, dose e tempo do tratamento empregados (Levine et al., 2005; Arruda et al., 2005; Mikail e Pedro, 2006). Entretanto, apesar das diferenças metodológicas, há um consenso de que a terapia com laser de baixa potencia proporciona melhora clínica e histológica, como observado neste trabalho (Calatrava *et al*, 1997; Enwmwka e Reddy, 2000; Cho et al, 2004; Arruda et al , 2007; Mantovani, 2010; Gyeyeop e Eunjung, 2013).

A utilização do laser infravermelho com comprimento de onda de 904 nm no presente estudo se deveu a sua capacidade de penetração nos tecidos e com vista a bioestimulação e ação anti-inflamatória, regeneração tecidual empregou-se a fluência de 4 J/cm². A aplicação em quatro pontos da articulação que permitiu a irradiação de toda a articulação femurotibioptelar, com efeito em todas as estruturas analisadas.

Quanto à análise e qualificação dos tipos de colágeno, o processamento utilizado permitiu avaliar pela coloração PSR e observação em microscópio de luz polarizada as amostras de LCCr e do enxerto intra-articular. Esta coloração permitiu identificar os colágenos I, e III. Quando submetido à microscopia de luz polarizada, cada colágeno reflete uma cor, sendo o colágeno tipo I vermelho ou laranja e o tipo III, verde. As fibras tipo I são mais grossas e exibem fortemente birrefringência, enquanto as do tipo III são mais finas e com menor birrefringência (Junqueira e Carneiro, 2013).

No grupo controle evidenciou-se nas amostras de ligamento cruzado cranial aos 60 e aos 90 dias, fibras colágenas dispostas de forma paralela, exibindo birrefringência moderada e uma alternância de colágeno tipo I com colágeno tipo III (Fig. 07). Este resultado, entretanto difere daqueles da literatura consultada onde os autores trabalharam com outras espécies (Muzzi, 2003; Silva 2007; Arruda, 2007; Junqueira e Carneiro, 2013). Os diferentes estudos avaliando ligamentos de cães, humanos e cobaias relatam que o ligamento possui uma predominância do colágeno tipo I diferente do observado neste estudo com gatos. Na literatura consultada não foram encontrados trabalhos que caracterizem o padrão de distribuição de fibras colágenas de ligamento em gatos.

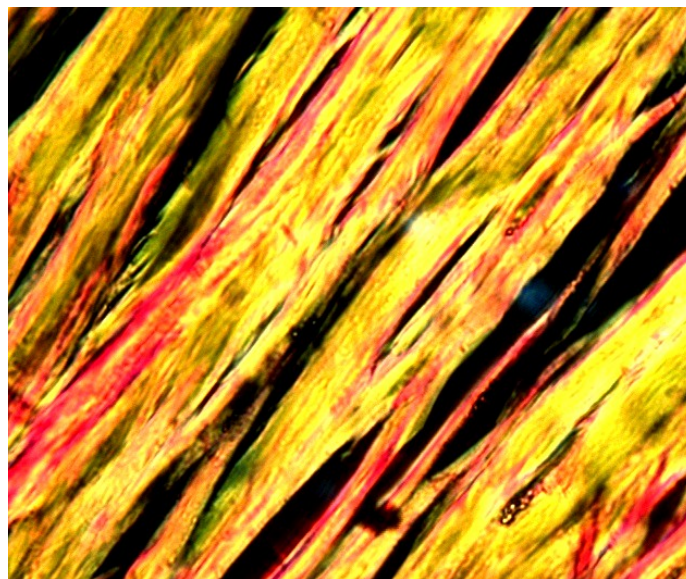


Figura. 7 - Fotomicroscopia em luz polarizada de LCCr de gato (controle). PSR. 40x. Alternância do colágeno tipo III (verde) com o tipo I (vermelho, alaranjado) ambos com moderada birrefringência.

Nos grupos submetidos a cirurgia com e sem laser (GII, GIII), observou-se predominância de colágeno tipo III considerado imaturo. O colágeno tipo I mostrava-se distribuído aleatoriamente com áreas irregulares sem birrefringência e fibras desorganizadas. Os resultados são similares aos 60 (Fig. 8) e 90 dias (Fig. 9).

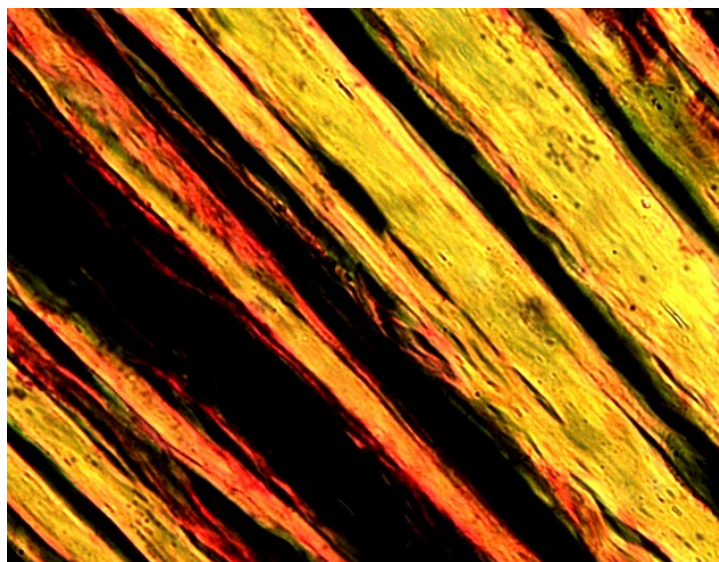


Figura. 8 - Fotomicroscopia em luz polarizada de autoenxerto de fásia de gato sem laser (GII). PSR. 40x. Colágeno tipo III (verde), colégeno tipo I (vermelho, alaranjado) ambos com moderada birrefringência.

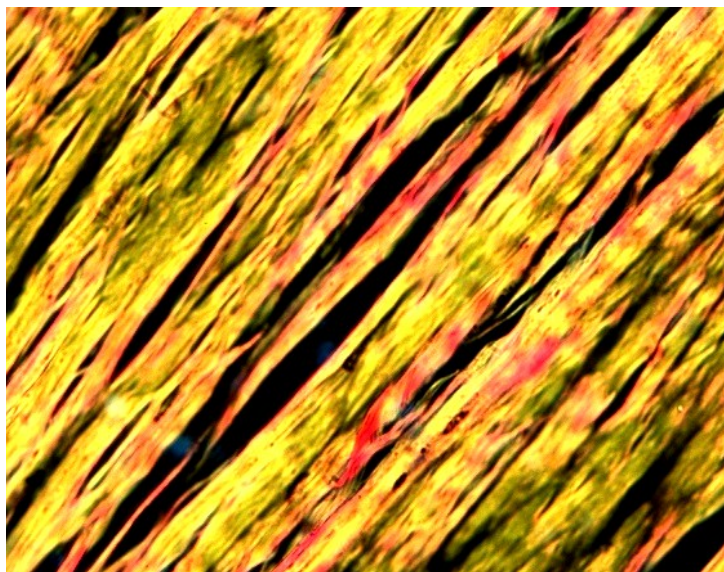


Figura. 9 - Fotomicroscopia em luz polarizada de autoenxerto de gato submetidos a laserterapia (GIII). PSR. 40x. Predominância do colágeno tipo III (verde) em relação ao tipo I (vermelho, alaranjado) ambos com moderada birrefringência.

Em todos os grupos observou-se grande variação no percentual de colágeno tipo I, com tendência de predominância do colágeno tipo III, mais evidente nos grupos submetidos a cirurgia com ou sem laser. Este resultado difere da literatura consultada onde é relatado que o ligamento cruzado é constituído por 75% de sua massa seca por colágenos, sendo 90% tipo I, e 10% de colágeno tipo III. Entretanto, estas informações referem-se à espécie humana, cão e cobaias (Vasseur, 1993; Muzzi, 2003; Silva, 2007; Fossum, 2012; Junqueira e Carneiro, 2013). Estudos semelhantes na espécie felina não foram encontrados. É possível que o gato tenha uma constituição diferente.

É sabido que o colágeno tipo III confere ao tecido menor resistência e maior flexibilidade (Junqueira e Carneiro, 2013), o que poderia explicar a diferença como uma particularidade da espécie. Assim, pode-se inferir que talvez, o padrão histológico supracitado possa ser justificado pelas diferenças biomecânicas desta espécie quando comparado aos cães. Contudo, são necessários mais estudos nesta espécie.

Os estudos envolvendo gatos datam de pouco mais de duas décadas, o que pode ter atrasado o avanço da medicina nesta espécie (Hardie et al., 2002; Godfrey, 2005; Clark e Bennet, 2006; Langley-Hobbs, 2009; Genaro, 2010; Lascelles e Duncan, 2010; Lascelles et al., 2012) que não pode ser confundido com um cão de pequeno porte. Segundo Scott e McLaughlin (2007) apesar de algumas similaridades com o cão, existem também alguns aspectos únicos para o paciente felino. Como exemplo, pode-se citar a própria morfologia do ligamento cruzado cranial que ao contrário dos cães e humanos, apresenta-se mais espesso que o ligamento cruzado caudal. Além disso, são animais de pequena massa corporal e com grande capacidade biomecânica adaptativa (McLaughlin, 2002; Harasen, 2005). Assim, estudos mais profundos devem ser realizados nesta espécie para caracterizar suas particularidades.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

A irradiação com o laser de baixa potência com comprimento de onda de 904nm infravermelhos, na fluência de 4 J/cm² tem efeito benéfico na reparação dos tecidos articulares, atenuando a intensidade das lesões e favorecendo a recuperação podendo, ser indicado como terapia coadjuvante na doença articular degenerativa em gatos.

Novos estudos são necessários para caracterizar as particularidades histológicas dos tecidos articulares nesta espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA, E, R. B. Influência de diferentes comprimentos de onda da laserterapia de baixa intensidade na regeneração tendínea do rato após tenotomia. *Rev. Bras. Fisioter.* V. 11, n.4, p. 283-288, 2007.

BAXTER, D. Laserterapia de baixa intensidade. In: KITCHEN, S. Eletroterapia: Prática baseada em evidências. 11. ed. São Paulo: Manole, 2003.

CALATRAVA, I. R.; SAMTISTEBAN, J. M.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, R. J. et al. A. Histological and clinical responses of articular cartilage to low-level laser therapy: Experimental study. *Lasers Med Sci.* v. 12. p. 117-121, 1997.

CHO, H.; LIN, S.; KIM, S. et al. Effect of low-level laser therapy on osteoarthropathy in rabbit. *In vivo.* v. 18. p. 585-592, 2004.

CLARK, S. P.; BENNET, D. Feline Osteoarthristis: a prospective study of 28 cases. *J. Small. Anim. Pract.*, v. 47, p. 439-445, 2006.

CURY, R. P. L.; CARMARGO, O. P. A.; PROSPERO, J. D. et al. Transplante homologo de menisco: estudo experimental em coelho. *Rer. Bras. Ortop.* v.37, p. 341-349, 2002.

ENWEMEKA, C. S.; REDDY, G. K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective tissue repair processes. *Laser Therapy.*, v. 12, p. 22-30, 2000.

FOSSUM, T. W. *Small Animal Surgery.* 4ed. Mosby - Elsevier, 2012. 1640p.

GALLOWAY, R. H.; LESTER, S. J. Histopathological evaluation of canine stifle joint synovial membrane collected at the time of repair of cranial cruciate ligament rupture. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v. 31, n.4, p.289-294, 1995.

GENARO, G. Gato doméstico: Futuro e desafio para controle da Raiva em áreas urbanas? *Pesqui. Vet. Bras.* , v.30, suplemento 2, p. 186-189, 2010.

GODFREY, D. R. Osteoarthristis in cats: a retrospective radiological study. *J. Small. Anim. Pract.* , v. 46, p. 425-429, 2005.

- GYEYEOP, K.; EUNJUNG, K. Anti-Inflammation Effects of Low Intensity Laser Therapy on Monosodium Iodoacetate-induced Osteoarthritis in Rats. *J. Phys. Ther. Sci.* v. 25, p. 173–175, 2013
- HARASEN, G. L. G. Feline cranial cruciate rupture. 17 cases and a review of the literature. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* v. 5, p. 254-257, 2005.
- HARDIE, E.; ROE, S.; MARTIN, F. Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats (1994-1997). *JAVMA*, v.220, p. 628-632, 2002.
- JONHSTON, S. A. Osteoarthritis: Articular anatomy, physiology and pathology. *Vet. Clin. North Am. – Small Anim. Pract.*, v. 27, n.4, p.699-723, 1997.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 12 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2013. 556p.
- KARU, T. I. Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys.* v. 56, n.5, p.691-704, 1989.
- KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible-to-near IR radiation on cells. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, n.49, v.1, p.1-17, 1999.
- LANGLEY-HOBBS, S. J. *Feline orthopedic surgery and musculoskeletal disease*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2009, cap. 9, p. 111-116.
- LASCELLES, X.; DUNCAN, B. Feline Degenerative Joint Disease. *Vet. Surg.* v. 39. p. 2-13, 2010.
- LASCELLES, X.; DONG, Y.; LITTLE-ARCELLIN, D. *et al.* Relationship of orthopedic examination, goniometric measurements, and radiographic signs of degenerative joint disease in cats. *BMC Vet. Res.* v.8. p. 1-8, 2012.
- LEVINE, D.; MILLIS, D. L.; MARCELLIN-LITTLE, D. J. *et al.* Small Animal Practice. Rehabilitation na Physical Therapy. *Vet. Clin. North Amn - Small Animal Pract.* v.35, 2005.
- LIPOWITZ, A. J. WONG, P. L.; STEVENS, J.B. *et al.* Synovial membrane changes after experimental transection of the cranial cruciate ligament in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, p.1166, 1985.
- MANTOVANI, P. F. *Laserterapia de baixa potência no tratamento da ruptura do ligamento cruzado cranial de gatos (Felis Catus)*. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MCLAUGHLIN, R. M. Surgical diseases of the feline stifle joint. *Vet. Clin. Small. Anim.* v. 32, p. 963-982, 2002.
- MELO, E. G.; NUNES, V. A.; REZENDE, C. M. F. *et al.* Sulfato de condroitina e hialuronato de sódio no tratamento da doença articular degenerativa experimental em cães: Estudo

histológico da cartilagem articular e da membrana sinovial. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.83-92, 2008

MIKAIL, S.; PEDRO, C. R. *Laser Terapêutico*. In: *Fisioterapia Veterinária*. 2 ed. São Paulo: Editora Manole, 2006. cap. 11. p. 81-95.

MUZZI, L. A. L. *Fisioterapia e imobilização temporária na substituição artroscópica do ligamento cruzado cranial em cães: estudo experimental*. 2003. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PINHEIRO, A. L.; OLIVEIRA, M. G.; MARTINS, P. et al. Biomodulatory effects of LLLT on bone regeneration. *J. Laser Ther.*, v.13. p.73-79, 2000.

PEAVY., G. M. Laser and laser – tissue interaction. *Vet. Clin. Small. Anim.* v. 32, p. 517-534, 2002.

SANZ, C. S.; BRUGES-ARMAS, J.; HARRERO-BEAUMONT, G. et al. Importância do osso subcondral e da membrana sinovial na patogenia e no tratamento da osteoartrose. *Acta. Reum. Port.* v.31. p. 205-213. 2006.

SCHAWALDER, P.; GITTERLE, E. Eigene methoden zur operativen rekonstruktion bei rupturen des vorderen und hinteren kreuzbandes. *Kleintierpraxis.* v.7. p.323-330, 1987.

SCOTT, H. W.; MCLAUGHLIN R. *Feline Orthopedics*. London: Manson Publ, 2007.

SILVA, R. M. G. Estudo morfométrico, ultra-estrutural e imuno-histoquímico do ligamento cruzado cranial com ruptura em cães. 2007. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

VASSEUR, P. B. Stifle joint. In: SLATTER, D. *Textbook of small animal surgery*. 2 ed. Philadelphia. 1993, v.2. cap. 137, p. 1817-1865.4

VILELA, L. M.; DEL CARLI, R. J.; SILVA, J. C. et al. Structure and cellularity of the fresh menisci (*Oryctolagus cuniculus*) of rabbits and the menisci preserved in glycerin. *Pesqui. vet. bras.* V. 30, n.4, p.295-300, abr. 2010.