

Comparação dos efeitos da fototerapia de baixa intensidade (laser/led) no processo de reparo ósseo experimentalmente induzido em ratos

Comparison of the effects of low intensity phototherapy (laser/led) in the process of experimentally induced bone repair in rats

Comparación de los efectos de la fototerapia de baja intensidad (láser/led) sobre el proceso de reparación ósea experimentalmente inducido en ratas

Milka Kellen Maciel Leite^{1*}, Amanda da Costa Silva¹, Eduardo Kellyton de Oliveira Costa¹, Francisca Taysa de Abreu Silva¹, Anderson Maciel dos Anjos Lopes², Seânia Santos Leal¹.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a efetividade do laser/LED no reparo ósseo em ratos induzidos a fratura. **Métodos:** Configura-se como uma pesquisa experimental com abordagem quantitativa. A amostra foi composta por 45 ratos machos da linhagem Wistar distribuídos em grupos distintos (Controle, LASER e LED), os quais foram submetidos ao protocolo de injúria induzida no terço médio do fêmur direito e tratados em protocolos de 7, 14 e 21 dias. **Resultados:** O protocolo de 7 dias, verificou processo inflamatório agudo, com hemácias em proliferação e atividade osteoblástica no grupo Laser e no grupo LED, tendo nesses grupos diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle. No protocolo de 14 dias, o grupo controle apresentou, acúmulo de células inflamatórias e organização tecidual. No grupo Laser, notou-se, processo inflamatório moderado e maior atividade osteoblástica quando comparado ao grupo controle e grupo LED. No protocolo de 21 dias, observou-se que, o grupo controle, apresentou exacerbação de células inflamatórias crônicas, e discreta formação de trabéculas ósseas, enquanto no grupo Laser detectou-se trabéculas ósseas, células osteogênicas e moderada inflamação. No grupo LED identifica-se tecido ósseo neoformado e redução acentuada do processo inflamatório crônico. **Conclusão:** Observa-se que, ambos os recursos utilizados foram capazes de acelerar o processo de reparo ósseo em ratos.

Palavras-chave: Efeitos, Fotobiomodulação, Reparo ósseo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effectiveness of laser/LED in bone repair in fracture-induced rats. **Methods:** It is configured as an experimental research with a quantitative approach. The sample consisted of 45 male Wistar rats distributed in different groups (Control, LASER and LED), which were submitted to the protocol of induced injury in the middle third of the right femur and treated in protocols of 7, 14 and 21 days. **Results:** The 7-day protocol verified an acute inflammatory process, with proliferating red blood cells and osteoblastic activity in the Laser group and in the LED group, with a significant difference in these groups ($p < 0.05$) when compared to the control group. In the 14-day protocol, the control group showed accumulation of inflammatory cells and tissue organization. In the Laser group, it was noted a moderate inflammatory process and greater osteoblastic activity when compared to the control group and LED group. bone, while in the Laser group, bone trabeculae, osteogenic cells and moderate inflammation were detected. In the LED group, neoformed bone tissue and a marked reduction in the chronic inflammatory process were identified. **Conclusion:** It is observed that both resources used were capable of accelerating the bone repair process in rats.

Keywords: Effects, Photobiomodulation, Bone repair.

¹ Centro Universitário Santo Agostinho (UNIFSA), Teresina - PI. *E-mail: milkakellen@gmail.com

² Associação de Ensino Superior do Piauí (AESPI), Teresina - PI.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la efectividad del láser/LED en la reparación ósea en ratas con fractura inducida. **Métodos:** Se configura como una investigación experimental con enfoque cuantitativo. La muestra estuvo constituida por 45 ratas Wistar macho distribuidas en diferentes grupos (Control, LASER y LED), las cuales fueron sometidas al protocolo de lesión inducida en el tercio medio del fémur derecho y tratadas en protocolos de 7, 14 y 21 días. **Resultados:** El protocolo de 7 días verificó un proceso inflamatorio agudo, con proliferación de glóbulos rojos y actividad osteoblástica en el grupo Láser y en el grupo LED, con diferencia significativa en estos grupos ($p < 0,05$) en comparación con el grupo control. En el protocolo de 14 días, el grupo de control mostró acumulación de células inflamatorias y organización de tejidos. En el grupo Láser se observó un proceso inflamatorio moderado y mayor actividad osteoblástica en comparación con el grupo control y el grupo LED hueso, mientras que en el grupo Láser se detectaron trabéculas óseas, células osteogénicas e inflamación moderada. En el grupo LED se identificó tejido óseo neoformado y una marcada reducción del proceso inflamatorio crónico. **Conclusión:** Se observa que ambos recursos utilizados fueron capaces de acelerar el proceso de reparación ósea en ratas.

Palabras clave: Efectos, Fotobiomodulación, Reparación ósea.

INTRODUÇÃO

O osso é um órgão que proporciona funções fundamentais no corpo, como, sustentação, locomoção, proteção de tecidos moles e o armazenamento de substâncias, como, cálcio e fosfato (DALLEY AF e MOORE KL., 2016). O tecido ósseo é formado principalmente por tecido conjuntivo mineralizado, composto essencialmente por matriz orgânica e matriz inorgânica (FLORENCIO-SILVA R, et al., 2015).

Os mesmos podem estar susceptíveis a fraturas quando sua resistência sofre colapso frente a uma grande força externa. Após uma lesão inicia-se nos tecidos o processo de reparo. A cicatrização das fraturas é o principal exemplo de reparo e dura cerca de 8 semanas, com exceção, a constituição de algum fator capaz de comprometer a renovação do tecido como a presença de neoplasias (MARCUS F, et al., 2013; SICCO C e TASSO R, 2017). O reparo ósseo é composto de um processo multifatorial e complexo, formado por uma série de fenômenos hormonais, celulares e moleculares (EINHORN TA e GERSTENFELD LC, 2014).

A regeneração é caracterizada por duas fases bem distintas: a cicatrização primária e a reparação secundária (GÓMEZ-BARRENA E, 2015). A cicatrização primária constitui-se a fase que não há produção de calo ósseo. Ocorre a morte das células osteogênicas e endoteliais dos capilares nas regiões adjacentes a área lesada em consequência da cessação do fluxo sanguíneo. Subsequentemente na segunda fase ocorre à morte dos osteócitos que cercam uma série de tubos estreitos dentro dos ossos por onde passam vasos sanguíneos e células nervosas, chamados de canais de Havers. Nas regiões dos canais, que possuem células vivas, ocorre a proliferação celular, crescimento celular e neovascularização (LANDE RG, et al., 2012).

Diferentes métodos têm sido investigados no intuito de acelerar o processo de cicatrização óssea. A fotobiomodulação (Laser e LED) tem sido amplamente estudada em pesquisas experimentais, visando acelerar o processo de reparo, a partir da interação dos recursos com os tecidos biológicos (ALMEIDA ALPF, et al., 2014).

A Terapia a Laser de Baixa Intensidade (TLBI) tem como principal finalidade promover uma interação entre os tecidos biológicos, associada as suas características ópticas, como a reflexão, transmissão, espalhamento e absorção (PESSOA DR, et al., 2017). A TLBI é caracterizada como um recurso não invasivo emissor de radiação que visa estimular a osteogênese, sendo indicada como uma alternativa eficaz para acelerar o metabolismo ósseo, favorecendo o processo de reparação óssea (OLIVEIRA P, et al., 2017; ALVES AMM, et al., 2018).

Possui como principal finalidade atuar sobre os níveis celulares, incrementando efeitos fotobiomoduladores que estão associados ao processo de reparação tecidual, sendo que entre os efeitos almejados por este recurso, destaca-se a proliferação celular, incentivo à produção de colágeno e proteínas, reparação tecidual, indução da atividade mitótica das células epiteliais e dos fibroblastos, caracterização de osteoblastos e condrócitos (COSTA DR, et al., 2017).

Além de benefícios quanto a remodelação óssea, regeneração do tecido nervoso, redução da inflamação e edema e o controle da dor devido a inibição secretória de alguns mediadores químicos, além do estímulo a microcirculação (COELHO RCP, et al., 2013).

Os efeitos da terapia por LED são semelhantes ao do Laser, sendo que ambas as modalidades visam promover uma interação entre a luz e um fotorreceptor, o qual promoverá a produção de oxigênio celular, assim como desencadeia uma série de eventos celulares que promovem a modulação da função celular, reparo de células comprometidas e proliferação celular (DENIZ E, et al., 2015).

Diante disso, o objetivo proposto foi comparar os efeitos da fototerapia de baixa intensidade (Laser/LED) sob o processo de reparo ósseo em fraturas experimentalmente induzidas em ratos.

MÉTODOS

Este estudo delineou-se como uma pesquisa do tipo experimental, com abordagem quantitativa, realizada em modelo *in vivo* (modelo animal), aprovado pela Comissão de ética no uso de animais (CEUA) protocolo nº 9435/18 do Centro universitário Santo Agostinho. Para execução do estudo, acatou-se todas as premissas éticas da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008.

A amostra da pesquisa foi determinada como uma amostra probabilística, aleatória, constituída de 45 ratos machos, (provenientes do Biotério do UNIFSA) da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) com massa corporal de 235 ± 8 g e idade entre 30 e 60 dias. Os animais foram divididos em grupos (Controle, LASER, LED), contendo 5 ratos em cada grupo e submetidos a protocolos de 7, 14 e 21 dias. Os animais foram mantidos ao longo do estudo em gaiolas padrão de polietileno, devidamente etiquetadas, com 05 animais por gaiola ($n=5$), em temperatura ambiente controlada de 24 ± 1 °C e umidade do ar de 60%, fotoperíodo de 12 h claro/escuro, recebendo água e alimentação padrão (Presence Ratos e Camundongos, In vivo Nutrição e Saúde Animal Ltda. Paulínia, SP, Brasil) ad libitum.

Os ratos foram pesados na balança digital e posteriormente anestesiados com ketamina (0,9mL/Kg), e xilazina (0,5 mL/Kg), por via intraperitoneal e em seguida os animais foram colocados em decúbito dorsal, com ambos os membros em rotação externa de quadril e tríplex flexão (quadril/joelho/tornozelo). Em seguida, foi realizado a tricotomia do terço médio do fêmur direito dos animais, logo após, realizado uma incisão cirúrgica com subsequente afastamento dos músculos, e confecção de uma cavidade óssea de 5,4mm (fratura fechada), com o auxílio de uma broca trefina de 2,7mm, em uma cavidade adjacente $2,7 \times 2 = 5,4$ mm.

Para confecção desta cavidade, estipulou-se um torque constante de 45N, velocidade de 45.000 rpm e irrigação abundante (70% - regulação do motor elétrico) com soro fisiológico para viabilidade de regeneração óssea. Finalizando, o tecido muscular foi reposicionado e a pele suturada com fio de seda montado em agulha (Johnson & Johnson®), com suturas interrompidas simples.

Com a intenção de estimular o reparo ósseo, utilizou-se dois equipamentos, sendo 1 aparelho de TLBI e 1 aparelho de luz LED, emitindo ambos no espectro eletromagnético do infravermelho próximo 830 nm (Laser) e 858 +/- 20 nm (Led).

Os Parâmetros da TLBI que foram empregados no presente estudo foram: Potencia (W) 50 mW-0,05 w; Área do feixe (cm²) 0,5; Diodo semicondutor AsGaAl, Comprimento de onda (nm) 830 nm; Energia (J) 4j; Densidade de energia (J/cm²) 12 (J/CM²); Densidade de Potência (W/cm²); Tempo de Irradiação (s) 120 s; Número de pontos 01.

Semelhante a estes parâmetros, os empregados na terapia LED foram: Potencia (W) 50 mW-0,05 w; Área do feixe (cm²) 0,5; Diodo semicondutor AsGaAl, Comprimento de onda (nm) 858 nm; Energia (J) 4j; Densidade de energia (J/cm²) 12 (J/CM²); Densidade de Potência (W/cm²); Tempo de Irradiação (s) 120 s; Número de pontos 01.

Nos períodos entre 7^o, 14^o e 21^o dias após o procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia através de deslocamento cervical. Logo após a eutanásia foi realizado o preparo das lâminas histológicas que seguiu a rotina do Laboratório de Histologia da Universidade Estadual do Piauí

(UESPI). As amostras foram descalcificadas em solução de ácido fórmico 5% por um período de 48 horas e, em seguida incluídas em parafina, realizados cortes histológicos de 5 micrótomos com espessura e coradas com hematoxilina-eosina (HE).

Após a confecção das lâminas realizou-se a captura de imagens que foram destinadas a análise. Realizou-se a análise histológica em microscopia campo claro, observando grau de inflamação, a neoformação vascular, o reparo tecidual e, a atividade osteoblástica na margem e no centro da ferida cirúrgica. Para a análise histomorfométrica foi empregado o reconhecimento morfológico das células, diferenciando-as dos outros tipos celulares presentes nos cortes a partir do programa Image J®, em seguida todos os dados foram normalizados e realizou-se a análise estatística através do auxílio do programa GraphPad Prism V.05 empregando-se os testes de One-way ANOVA e Tukey, considerando-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

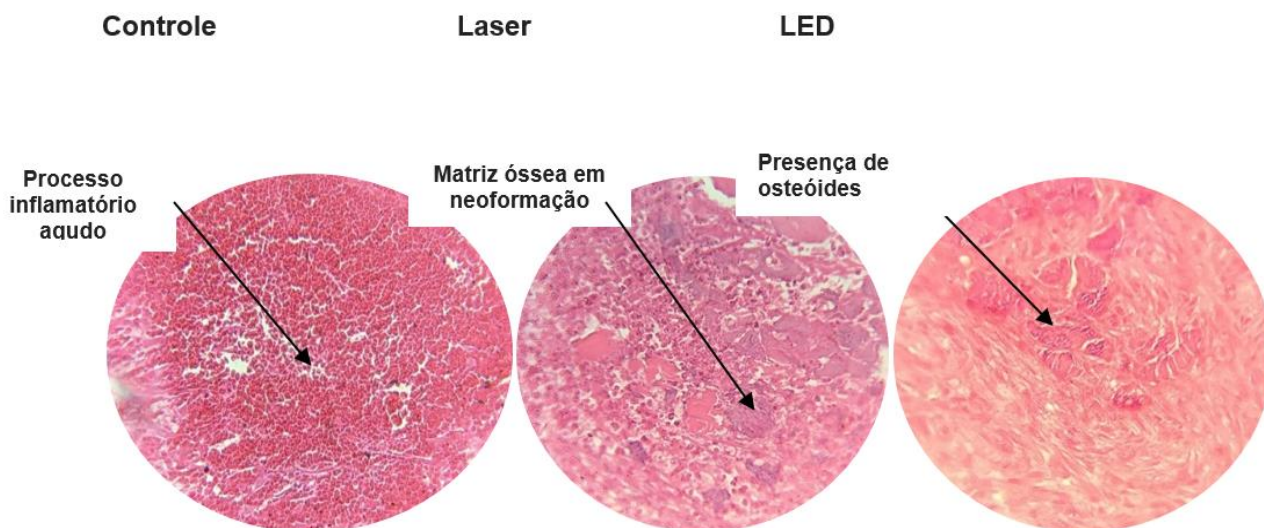
RESULTADOS

Análise Histológica

Ao analisar neoformação do tecido ósseo dos fêmures dos ratos osteotomizados após 7, 14 e 21 dias de tratamento, foram encontradas, diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais quando comparados aos grupos controle.

A **Figura 1**, apresenta lâminas em coloração HE, correspondente ao protocolo de 7 dias de defeito ósseo no grupo controle e de tratamento nos grupos experimentais. O grupo controle neste protocolo verificou-se a presença de processo inflamatório agudo, com hemácias em proliferação. Nos grupos Laser e LED nota-se também a presença de células inflamatórias, no entanto é possível de observar-se o processo de neoformação óssea nesses grupos, sendo mais organizado no grupo Laser.

Figura 1 - Fotografia dos Grupo Controle (GC), Laser (GLA), e LED (GLED) utilizando aumento 10x.

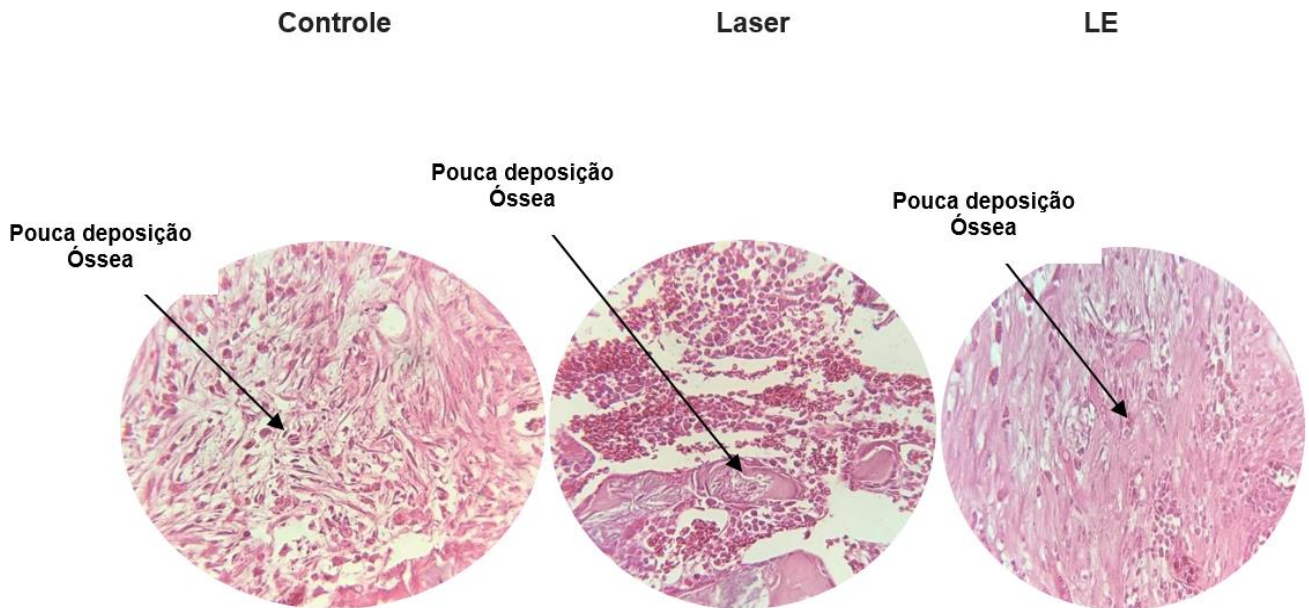


Nota: Observa-se a presença de processo inflamatório agudo no GC, presença de matriz óssea em neoformação e processo inflamatório no grupo GLA, presença de osteóides no metacentro e processo inflamatório no GLED. (7 dias – HE).

Fonte: Leite MM, et al., 2022.

Na **Figura 2**, observa-se a coloração das lâminas em HE, correspondente aos grupos controle e experimentais do protocolo de 14 dias. Neste protocolo nota-se, no grupo controle, o acúmulo de células inflamatórias no local da lesão e organização tecidual no intuito de iniciar-se a neoformação óssea. No grupo Laser, nota-se, processo inflamatório moderado e matriz óssea recém-formada (imatura). O grupo LED neste protocolo, apresenta-se com a presença de tecido em formação, e, proliferação de hemácia em uma pequena área.

Figura 2 - Fotografia dos Grupo Controle (GC), Laser (GLA), e LED (GLED), utilizando aumento 10x.

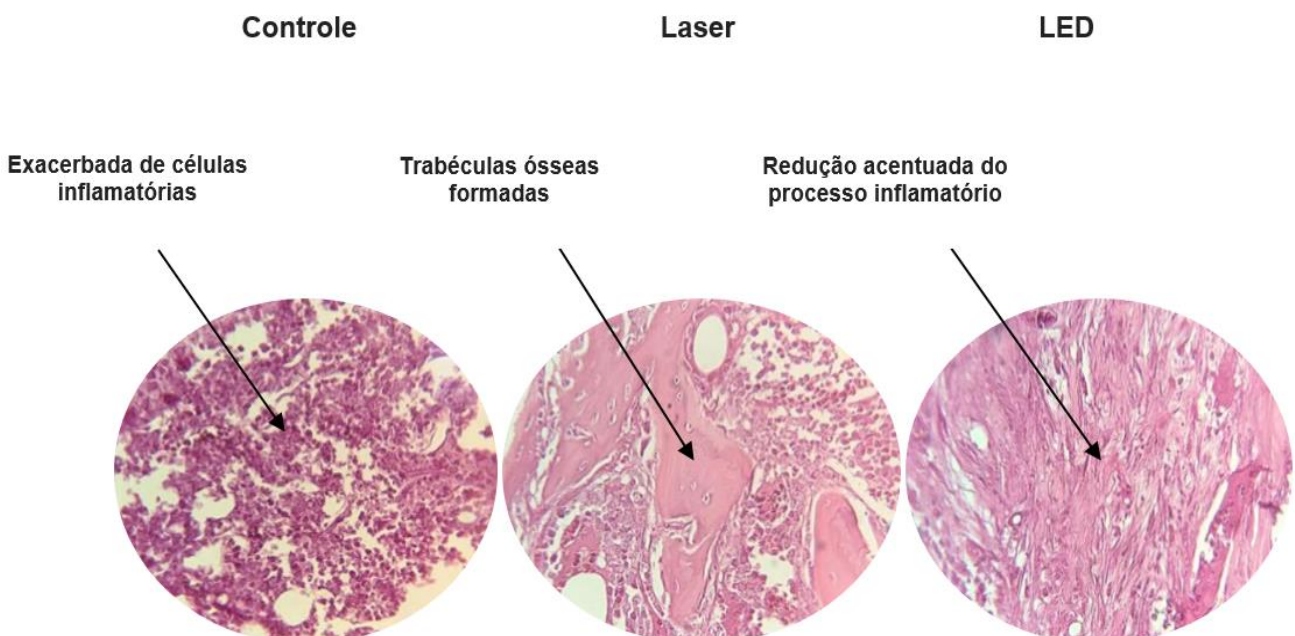


Nota: Observa-se pouca deposição óssea e processo inflamatório no local da lesão no GC, processo inflamatório moderado e formação de matriz óssea imatura no grupo GLA, presença de tecido em formação e proliferação de hemácia no GLED. (14 dias – HE).

Fonte: Leite MM, et al., 2022.

A **Figura 3**, corresponde as lamina protocolo de 21 dias. Observou-se, neste protocolo que, o grupo controle, apresentou-se com exacerbação de células inflamatórias crônicas, e discreta formação de trabéculas óssea, enquanto no grupo Laser detectou-se trabéculas ósseas formadas, células osteogênicas em torno da lesão, tendo, a área da lesão, moderada inflamação crônica. No grupo LED identifica-se tecido ósseo neoformado e redução acentuada do processo inflamatório crônico.

Figura 3 - Fotografiados Grupo Controle (GC), Laser (GLA), e LED (GLED), utilizando aumento 10x.



Nota: Observa-se presença exacerbada de células inflamatórias crônica no GC, Trabéculas ósseas formadas no grupo GLA e redução considerável do processo inflamatório e presença de tecido ósseo neoformado e redução acentuada do processo inflamatório no GLED. (21 dias – HE).

Fonte: Leite MM, et al., 2022.

Analise histomorfometrica

Ao analisar a atividade osteoblástica do tecido ósseo dos fêmures dos ratos osteotomizados após 7, 14 e 21 dias de tratamento, foram encontradas, diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os grupos experimentais quando comparados aos grupos controle

Na **Figura 4a**, observa-se os gráficos correspondentes ao protocolo de 7 dias. Os dados obtidos sugerem que houve dentre os grupos estudados, maior atividade osteoblástica no grupo Laser e no grupo LED, tendo nesses grupos diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle. O grupo Laser se destaca com a maior produção de osteoblastos em relação ao grupo LED, no entanto não houve diferença significativa quando comparados os grupos.

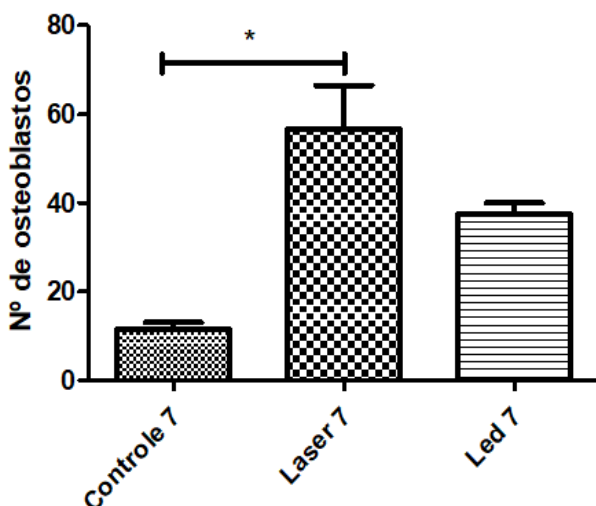
A **Figura 4b**, apresenta os gráficos concernentes ao protocolo de 14 dias. Neste protocolo, o grupo Laser se destaca com maior atividade osteoblástica quando comparado ao grupo controle e grupo LED, obtendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos estudados.

Na **Figura 4c**, nota-se os gráficos estatísticos que compreende o protocolo de 21 dias. Identifica-se, a partir dos gráficos, maior número de osteoblastos nos grupos Laser e LED obtendo diferença significativa quando comparados ao grupo controle, que obteve número de células inferior a 20. Apesar das diferenças gráficas considerando o nível de significância inferior a 5% não se observa diferença estatística entre os grupos Laser e LED neste protocolo.

A **Figura 4d**, apresenta, os gráficos que correspondem ao número de osteócitos presentes no tecido urante os protocolos de 7, 14 e 21 dias e a correlação das terapias. Nota-se que o LED se equipara ao Laser no protocolo de 14 dias, no entanto, o Laser se destaca sendo capaz de induzir a maior produção de osteócitos nos demais protocolos, obtendo, no protocolo de 21 dias, diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo LED.

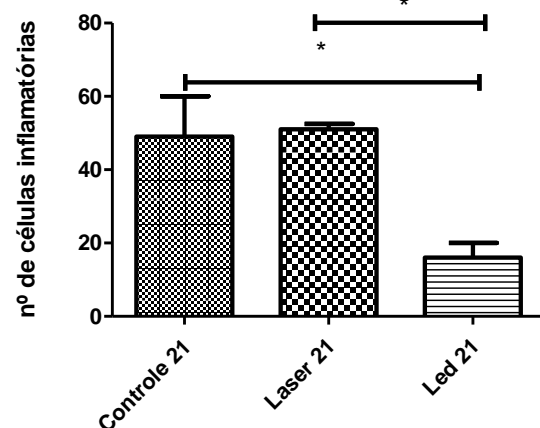
Figura 4 - Análise estatística da atividade osteoblástica dos ratos tratados.

A: Análise estatística da atividade osteoblástica dos ratos tratados e controle em um protocolo de 7 dias.



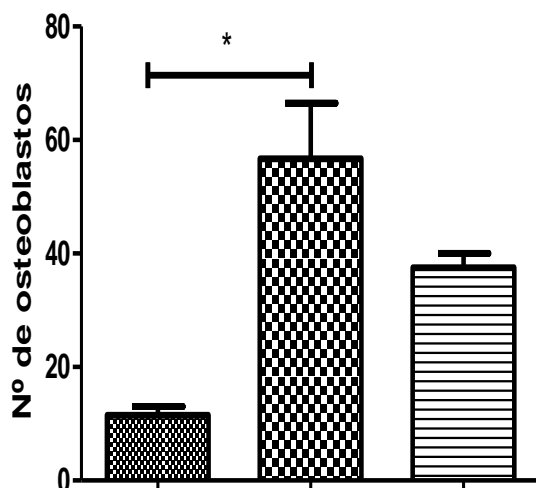
Nota: Número de células inflamatórias no tecido ósseo do grupo controle. Não há diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos estudados.

B: Análise estatística da atividade osteoblástica dos ratos tratados e controle em um protocolo de 14 dias.



Nota: Número de células inflamatórias nos tecidos estudados. Os dados mostram que houve uma diminuição de células inflamatórias de forma significativa ($p < 0,05$) no grupo tratado com Led quando comparado aos grupos controle e Laser. Não havendo diferença entre os grupos controle e Laser.

C: Análise estatística da atividade osteoblástica dos ratos tratados e controle em um protocolo de 21 dias.



Nota: Número de osteoblastos nos tecidos em regeneração. Observa-se que a produção de osteoblastos ocorreu em maior proporção no grupo tratado com Laser, apresentando uma diferença significativa ($p < 0,05$) quando em comparação com o grupo controle. Não há diferença significativa entre os grupos Laser e Led, embora seja percebido uma maior produção de osteoblastos no grupo Laser.

Fonte: Leite MM, et al., 2022.

DISCUSSÃO

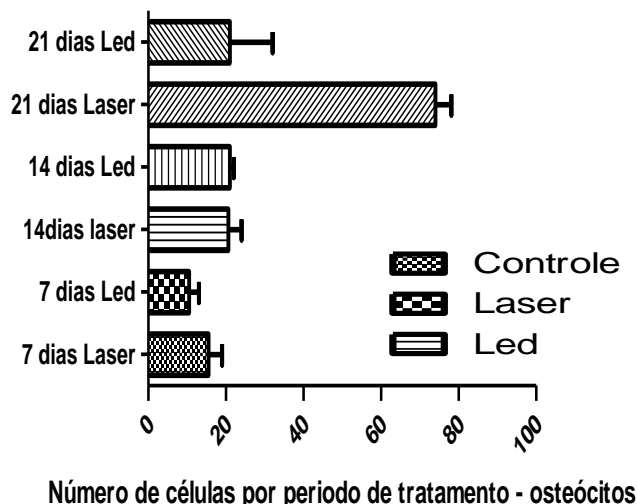
O reparo tecidual trata-se de um processo complexo, fisiológico e regenerativo, que ocorre a partir de eventos celulares e moleculares e se inicia logo após uma lesão. Por ser um processo complexo, qualquer intercorrência ocorrida em alguma etapa, altera a sequência fisiológica, e pode resultar na deficiência do reparo, por conseguinte, atraso da consolidação óssea e até mesmo na união dos fragmentos (DENIZ E, et al., 2015).

O presente estudo foi realizado em ratos machos e adultos da linhagem Wistar, com o objetivo de evitar interferências relacionadas a idade e climatério, uma vez que, as respostas presentes no organismo desses roedores, são similares as respostas encontradas em humanos (BAYA TM, et al., 2019; PRIANTI BM, et al., 2018).

Um efeito deletério foi comprovado por estudo realizado para investigar a ação do laser com comprimento de onda de 940 nm com diversas intensidades de energia na cicatrização óssea. Nesse estudo foram utilizadas as densidades de energia de 5, 10 e 20J/cm² com um tempo de irradiação de 10 segundos, porém com potências de 1,5 W, 3 W, e 6 W respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas, no processo cicatricial no que se refere a produção/ inibição de osteócitos, osteoclastos e osteoblastos podendo estar relacionado a alta potência utilizada (ATASOY KT, et al., 2017).

O comprimento de onda de 658 nm mostrou-se eficaz em estudo que tinha como objetivo analisar os efeitos da fotobiomodulação com comprimento de onda de 658, 830 e 904 nm no reparo de lesões cutâneas em modelo animal. Apresentou um aumento na celularidade, da neovascularização e nas fibras de colágeno tipo III em comparação com outros grupos. Os grupos com comprimento de onda maiores, apresentaram resultados semelhantes ao grupo controle que não havia recebido a FBM (BARBOSA LS, et al., 2020).

D: Análise estatística comparativa entre o número de osteócitos dos ratos tratados com terapia a Laser e a LED.



Número de células por período de tratamento - osteócitos

Nota: Número de osteócitos por período de tratamento e forma de tratamento. O Laser estimulou uma maior produção de células ósseas maduras presentes na matriz. Havendo um maior desempenho aos 21 dias, porém sempre com número que o Led ($p < 0,05$).

Para atestar a veracidade da terapia a escolha do comprimento de onda é um fator crucial, sendo responsável pelos efeitos da terapia. Dentre os comprimentos de onda existentes na variação entre 700 a 904 nm, observa-se maior capacidade de absorção de energia na membrana celular, possibilitando modificações no potencial da membrana. As fontes de laser e LEDs são similares do ponto de vista da luz emitida ou ambos produzem uma faixa espectral relativamente estreita (PINHEIRO ALB, et al., 2012).

No estudo realizado, o grupo controle foi essencial no intuito de promover amplas comparações e permitir que os animais tratados fossem comparados em um mesmo nível biológico de animais não tratados, reduzindo assim, interferências e resultados sem precisão (BARBOSA D, et al., 2014).

Para a emissão da fototerapia, a caneta LED e Laser foram posicionadas em 90°. A obtenção do posicionamento adequado da caneta em relação ao osso é essencial para evitar perdas por reflexão e permitir que o animal absorva a radiação, sendo, dentre os componentes teciduais, as proteínas, as moléculas mais relevantes no processo de absorção da energia emitida pelos feixes tanto de luz vermelha como infravermelha (JONASSON TH, et al., 2017).

Para a obtenção da análise histológica e a histofometria, determinou-se períodos experimentais de 7, 14 e 21 dias, uma vez que o processo de reparo ósseo fisiológico, ocorre normalmente em duas etapas, sendo a primeira etapa marcada por aumento da atividade celular, preenchimento do defeito ósseo por coágulo sanguíneo e proliferação de células inflamatórias no local da lesão na fase seguinte ocorre o aumento da deposição de colágeno que formará as fibras que são cruciais para o processo de mineralização. Este processo de mineralização e a consequente neoformação tecidual é mais acentuado até 30 dias após o início do reparo, sendo responsável por devolver ao osso a sua função e morfologia (JONASSON TH, et al., 2017; PARKER MJ e PALMER CR, 2011).

Nas análises do presente estudo, tanto quantitativa como qualitativa os principais achados, foram o aumento da atividade osteoblástica, a presença de osteócitos nos grupos tratados em qualquer protocolo quando comparados ao grupo controle. Esses efeitos são decorrentes da capacidade da fotobiomodulação auxiliar no processo de consolidação óssea através da ativação dos fatores osteogênicos, estimulando assim, a angiogênese, além de induzir a proliferação celular (KARU T, et al., 2010; PINHEIRO ALB e GERBI MEMM, 2010).

Apesar de não receber intervenção, o grupo controle apresentou uma discreta atividade osteoblástica, isso acontece devido a capacidade do organismo de se auto reparar logo após uma lesão. Este processo, é fisiológico, e todos os organismos experimentam logo após uma lesão, tendo, a partir da fotobiomodulação estímulos moleculares e celulares para acelerar-se (ALVES AMM, et al., 2018).

Os grupos tratados com protocolo de 21 dias obtiveram melhor deposição de osteoblastos e osteócitos em relação aos grupos tratados com protocolos de 7 e 14 dias, este pico está relacionado com a quantidade de osteoblastos depositado ao decorrer do reparo, e que se prolifera ainda mais quando o osso se encontra maduro e, cuja matriz estaria mais organizada. Apesar dos protocolos serem padronizados, nem todos animais obtiveram os resultados esperados, isso acontece por não existirem padronização da recuperação dos tecidos de forma equitativa, uma vez que, fatores como a presença de instabilidade mecânica existente, deficiência no suprimento sanguíneo, ou competição com tecidos com alta capacidade de proliferação são capazes de influenciar neste processo (BUENO J e CRISTOFOLINI GMAF, 2014).

Os grupos tratados com Laser apresentaram melhor neoformação óssea em comparação aos grupos controle e LED, os resultados esperados. Segundo Alves AMM, et al. (2018), isso acontece devido a finalidade primordial do laser atuar sobre os níveis celulares e ser capaz de incrementar os efeitos fotobiomoduladores que se relacionam ao processo de reparo. Dentre os efeitos almejados por este recurso, destaca-se a proliferação celular, indução a ativação de proteínas, estímulo a atividade mitótica das células epiteliais e dos fibroblastos, caracterização de condrócitos e osteoblastos.

Apesar dos efeitos do Laser na neoformação óssea apresentarem melhores escores que o LED, no presente estudo, a terapia a LED foi mais efetiva no protocolo de 21 dias na redução do processo inflamatório após lesão em todos os protocolos, quando comparada a Terapia a Laser e ao grupo controle. O LED atua na membrana celular a partir da interação da luz com o tecido biológico, causando uma transferência de

elétrons, que não modifica as ligações químicas, mas promove alterações fotobiomoduladoras nas células, proporcionando a ocorrência da liberação de substâncias químicas que resultarão em reações fisiológicas como a estimulação de enzimas proteicas através da fotoestimulação dos cromóforos, reduzindo as reações inflamatórias (COSTA DR, et al., 2017).

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados deste estudo, conclui-se que a terapia laser/Led de baixa intensidade mostra-se positiva na aceleração do processo de reparo ósseo em fraturas induzidas, por ser capaz de promover o incremento mais satisfatório de osteoblastos e osteócitos na área lesada e redução do processo inflamatório, quando comparado a recuperação das fraturas pelo processo fisiológico sem o uso desta terapia. Portanto, é importante se considerar que, os resultados deste estudo indicam que a fototerapia com laser e LED melhoraram o reparo ósseo em um modelo animal com defeito ósseo induzido. Devido a dificuldade em encontrar artigos relacionado a temática em questão, existe uma necessidade de novos estudos com finalidade de melhor o entendimento e estabelecimento de protocolos.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA ALPF, et al. The effect flow-level laser on bone healing in critical size defect treat ed with or with out autogenous bone graft: an experimental study in rat calvaria. *Clinical implants research*, 2014; 25(10): 1131-1136.
2. ALVES AMM, et al. Evaluation of bone repair after application of a norbixin membrane scaffold with and without laser photobiomodulation (λ 780 nm). *Lasers Medical in Science*, 2018; 1-12.
3. ATASOY K T, et al. The efficacy of low-level 940 nm laser therapy with different energy intensities on bone healing. *Brazilian oral research*, 2017; 31: e7.
4. BARBOSA D, et al. Laser therapy in bone repair in rats: analysis of bone optical density. *Acta ortopedica brasileira*, 2014; 22: 71-74.
5. BARBOSA LS, et al. The photobiomodulation (658, 830 and 904nm) on wound healing in histomorphometric analysis. *Fisioter mov.*, 2020; 33: e003318.
6. BAYATM, et al. The effect so flow-level laser therapy on bone in diabetic and non diabetic rats. *Photomedicine and laser surgery*, 2019. 27(5): 703-708.
7. BUENO J, CRISTOFOLINI GMAF. LED terapia na faixa do vermelho ao infravermelho: uma nova abordagem sob a visão quântica para a saúde. *Revista Saúde Quântica*, 2014; 3(3): 102-110.
8. COSTA DR, et al. Effect of LED therapy on temporomandibular disorder: a case study. *Scientia Medica*, 2017; 27(2): 25872.
9. COELHO RCP, et al. Systemic effects of LLLT on bone repair around PLLA–PGA screws in the rabbit tibia. *Lasers In Medical Science*, 2013; 29(2): 703-708.
10. DENIZ E, et al. Evaluation of light-emitting diode photobiomodulation on bone healing of rat calvarial defects. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2015; 29(4): 758-765. DALLEY AF, MOORE KL. *Anatomia orientada para a clínica*. Rio de Janeiro. 5ed. Guanabara Koogan, 2016.
11. EINHORN TA, GERSTENFELD LC. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nature. Review Rheumatology*, 2014; 11(1): 45–54
12. FLORENCIO-SILVA R, et al. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed research international*, 2015; 421746.
13. GÓMEZ-BARRENA E. Bone fracture healing: cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*, 2015; 70(1): 93–101.
14. JONASSON TH, et al. Effects of low-level laser therapy and platelet concentrate on bone repair: histological, histomorphometric, immunohistochemical, and radiographic study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 2017; 45(11): 1846-1853.
15. KARU T, et al. Mitochondrial Mechanisms of Photobiomodulation in Context of New Data About Multiple Roles of ATP. *Photomedicine and laser surgery*, 2010; 28(2): 159–60.
16. LANDE RG, et al. Comparison between a novel bovine xenograft and autogenous cancellous bonegraft in tibial tuberosity advancement. *Veterinary Surgery*, 2012; 41(5): 559-567.
17. MARCU F, et al. The histopathologic al study of osteoporosis. *Romanian. Journal of Morphology and Embryology*, 2013; 52(1): 321-5.
18. OLIVEIRA P, et al. Comparação dos efeitos do laser de baixa potência e do ultrassom de baixa intensidade associado ao biossilicato® no processo de reparo ósseo em tíbias de ratos. *Revista Brasileira de Ortopedia*, 2012; 47(1): 102-107.
19. PARKER MJ, PALMER CR. Prediction of rehabilitation after hip fracture. *Age Ageing*, 2011; 24(2): 60-7.
20. OLIVEIRA P, et al. Comparação dos efeitos do laser de baixa potência e do ultrassom de baixa intensidade no processo de reparo ósseo em tíbia de rato. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, 2011; 15(3).
21. PINHEIRO ALB, GERBI MEMM. Photo engineering of bone repair processes. *Photo medicine and Laser Therapy*, 2010; 24(2): 169-178.
22. PESSOA DR, et al. Effects of low-level laser therapy in an experimental model of tendinopathy in rats: literature review. *Revista Univap*, 2017; 23(43): 102-112.

23. PRIANTI BM, et al. Evaluation of the therapeutic effects of led ($\lambda 627\pm 10$ nm) on the initial phase of ankle sprain treatment: a randomised placebo-controlled clinical trial. *Lasers in medical science*, 2018; 33(5): 1031-1038.
24. PINHEIRO ALB, et al. Effects of LED phototherapy on bone defects grafted with MTA, bone morphogenetic proteins and guided bone regeneration: a Raman spectroscopic study. *Lasers in medical science*, 2012; 27(5): 903-916.
25. SICCO C, TASSO R. Harnessing Endogenous Cellular Mechanisms for Bone Repair. *Frontiers in Bio engineering and Biotechnology*, 2017; 5: 52.