



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ALEXANDRE YUKIO SAITO

EFEITOS DO TRATAMENTO COM ETORICOXIB (ANTI-COX2), CLORIDRATO DE VANCOMICINA E LASER DE ARSENIETO DE GÁLIO (AsGa), NA ARTRITE SÉPTICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*

Londrina
2007

ALEXANDRE YUKIO SAITO

EFEITOS DO TRATAMENTO COM ETORICOXIB (ANTI-COX2), CLORIDRATO DE VANCOMICINA E LASER DE ARSENIETO DE GÁLIO (AsGa), NA ARTRITE SÉPTICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Patologia Experimental.

Orientadora: Profa. Dra. Halha Ostrensky Saridakis

Londrina
2007

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S158e Saito, Alexandre Yukio.

Efeitos do tratamento com etoricoxib (anti-COX2), cloridrato de vancomicina e laser de arsenieto de gálio (AsGA), na artrite séptica causada por *Staphylococcus aureus* / Alexandre Yukio Saito. – Londrina, 2007.
66f. : il.

Orientador : Halha Ostrensky Saridakis.

Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, 2007.

Bibliografia : f. 54-66.

1. Artrite – Tratamento – Teses. 2. *Staphylococcus aureus* – Teses. I. Saridakis, Halha Ostrensky. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental. III. Título.

CDU 616.72

ALEXANDRE YUKIO SAITO

EFEITOS DO TRATAMENTO COM ETORICOXIB (ANTI-COX2), CLORIDRATO DE VANCOMICINA E LASER DE ARSENIETO DE GÁLIO (AsGa), NA ARTRITE SÉPTICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus*

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Isaias Dichi

Prof. Dr. Rubens Cecchini

Profa. Dra. Halha Ostrensky Saridakis

Londrina, 02 de Março de 2007.

Dedico este trabalho

A meus pais, Lucinda K. Saito e Miyoshi Saito,
pelo apoio e amor incondicionais.

A Cristiane Akemi Yamamoto, namorada e
companheira de todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Prof^ª. Dr^ª. Halha O. Saridakis e ao Prof. Dr. Rubens Cecchini, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, UEL, pela imprescindível orientação neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Dirceu Estevão, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, UEL, pelo incentivo ao ingresso no curso de pós-graduação e ao apoio e ajuda durante a realização deste trabalho.

A Cristiane Akemi Iamamoto, Mestrado em Patologia Experimental, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, UEL, pela assistência durante a realização deste trabalho.

A Jesus Antonio Vargas e Pedro Sebastião Raimundo Dionízio Filho, Laboratório de Patologia, Departamento de Ciências Patológicas, Centro de Ciências Biológicas, UEL, pela assistência e ensinamentos nas técnicas laboratoriais durante a realização deste trabalho.

Ao corpo docente do Mestrado em Patologia Experimental, Prof^ª Dr^ª Eiko Nakagawa Itano, Prof. Dr. Emerson José Venâncio, Prof^ª Dr^ª Ionice Felipe, Prof^ª Dr^ª Maria Angélica Ehara Watanabe, Prof. Dr. Mario Augusto Ono, Prof. Dr. Mario Sérgio Mantovani, Prof. Dr. Phileno Pinge Filho, Prof. Dr. Rubens Cecchini, Prof. Dr. Dirceu Estevão e Prof^ª Dr^ª Halha O. Saridakis por ter contribuído para a minha formação científica.

Aos colegas de mestrado, Alexandre Augusto Sasaki, Andréia Cofani Bianchini, Celso Luiz Borges, Cristiane Akemi Iamamoto, Eliana de Vito, Fernanda Bovo, Juliana Rubira, Leila Regina Arias Rotunno, Marcos Tanita, Thiago Franco Nasser e Vera Lúcia Hideko Tatakihara, pela amizade e pelo companheirismo durante este tempo de convivência.

A CAPES, pelo apoio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.

SAITO, Alexandre Yukio Saito. **Efeitos do tratamento com etoricoxib (anti-cox2), cloridrato de vancomicina e laser de arsenieto de gálio (asga), na artrite séptica causada por *Staphylococcus aureus*.** 2007. 67f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2007.

RESUMO

Utilizando o modelo animal de artrite séptica, objetivamos neste trabalho propor alternativas terapêuticas experimentais que permitam, num futuro próximo, a utilização de terapias eficientes com doses e tempo de tratamentos quimioterápicos mais adequados. Utilizamos camundongos, Swiss, pesando $28,0 \pm 3,5$ g. Os animais inicialmente foram divididos em 2 grupos: controle que recebeu solução salina via endovenosa (v.e.) e o outro foi inoculado com 10^7 UFC *S. aureus* v. e. Durante o período de 7 dias, avaliou-se a formação de edema articular e as condições gerais dos animais. Após uma semana os animais controles foram subdivididos em 2 grupos: G1 – controle e G2 – controle tratado com laser. Os animais artríticos foram subdivididos em oito grupos: G3 – não tratado; G4 – tratados com etoricoxib 60 mg/Kg; G5 – tratados com cloridrato de vancomicina dose diária de 30 mg/Kg; G6 – tratados com laser 4 J/cm²; G7 – tratados com etoricoxib e vancomicina; G8 – tratados com etoricoxib e laser; G9 – tratados com vancomicina e laser; e G10 – tratados com etoricoxib, vancomicina e laser. Estabelecemos 3 períodos experimentais: P1- 7 dias para indução da artrite séptica; P2- 14 dias dos diferentes tratamentos; P3- 7 dias pós-tratamentos. Nossos resultados mostraram que após o período de infecção (P1) todos os grupos infectados apresentaram septicemia, destruição articular bacteriana com conseqüente proliferação do tecido sinovial com formação de pannus, lesões na cartilagem articular e erosão subcondral. No final dos tratamentos (P2) o etoricoxib foi mais eficiente em reduzir o edema em comparação com o laser. Os grupos tratados com laser e terapia convencional (antiinflamatório e laser) mostrou redução significativa na formação de pannus e lesão da cartilagem com 7 dias de tratamento. No início do período pós-tratamentos (P3) a associação entre o etoricoxib, vancomicina e a laserterapia (G10) apresentou, pela análise histológica, maior redução na formação do tecido inflamatório articular e maior eficiência no processo de reparo das lesões induzidas por *S. aureus*.

Palavras-chave: Artrite séptica. Etoricoxib. Vancomicina. Terapia laser de baixa potência.

SAITO, Alexandre Yukio Saito. **Effects of the treatment with etoricoxib (anti-cox2), vancomycin hydrochloride and laser of gallium arsenide (gaas), in septic arthritis caused by *Staphylococcus aureus***. 2007. 67f. Dissertation (Master's of Patology Experimental) – State University of Londrina, Londrina. 2007.

ABSTRACT

Using an experimental protocol for arthritis in mice, developed in our laboratory, (we aimed at in this work to propose experimental therapeutic alternatives which could allow, in a close future, the use of efficient therapies, effective in lower doses and time of treatment) male Swiss mice with an approximate weighty of $28,0 \pm 3,5g$, were used. Mice were initially divided into 2 groups: control receiving physiological saline and the other inoculated with 10^7 *S. aureus*. During a 7 days period, the mice were evaluated with regard to joint swelling and overall condition. After one week the controls were subdivided into 2 groups: G1 – control; G2 – control treated with laser. The arthritic animals were subdivided into eight groups: G3 – non treated; G4 – treated with etoricoxib 60 mg/Kg; G5 – treated with vancomycin chloride 30 mg/Kg; G6 – treated with low level laser 4 J/cm²; G7 – treated with etoricoxib and vancomycin; G8 – treated with etoricoxib and laser; G9 – treated with vancomycin and laser; and G10 – treated with etoricoxib, vancomycin and laser. Three experimental periods were defined: P1 – the 7 days necessary for arthritis induction; P2 – 14 days for the different treatments; P3 – 7 days pos-treatments. We observed that animals belonging to all groups infected, showed initially a proliferation of synovial tissue in the joint and pannus formation, ulcerative lesions on the joint cartilage and subcondral bone erosions. At the end of different treatments (P2) etoricoxib showed to be more efficient in reduce of the swelling in comparison with laser after 14 days. The groups treated with laser and conventional therapy (anti-inflammatory and antibiotic) showed a reduce pannus formation and lesion on the cartilage with seven days to treatment. The initiation P3 period showed that the association of etoricoxib and vancomycin with laser therapy (G10) resulted in better reduction of the pannus formation and higher efficiency in the repair of the lesions induced by *S. aureus*, as observed by HE.

Keywords: Arthritis. Etoricoxib. Vancomycin. Low level laser therapy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Fotografia mostra a pata traseira direita normal e a esquerda com artrite do camundongo 7 dias após infecção e.v. com *S. aureus* (10^7 UFC)..... 32
- Figura 2** – Articulação de camundongo 7 dias após inoculação de *S. aureus* (10^7 UFC) via e.v. 1000x 39
- Figura 3** – Porcentagem de animais que apresentaram as articulações colonizadas pela bactéria após infecção por via endovenosa com *S. aureus* (10^7 UFC)..... 40
- Figura 4** – Medida das espessuras das articulações dos joelhos dos camundongos tratados com diferentes terapias comparadas com as do grupo controle 41
- Figura 5** – Nível de edema articular provocado 7 dias após infecção de 10^7 UFC de *S. aureus* em camundongos SWISS machos 42
- Figura 6** – Histopatologia das articulações de camundongos inoculados com *S. aureus* (10^7 UFC): (a) sacrificado 7 dias após inoculação 44
- Figura 7** – Histopatologia das articulações de camundongos inoculados com *S. aureus* (10^7 UFC): (a) sacrificado 14 dias após infecção 46
- Figura 8** – Histopatologia das articulações de camundongos inoculados com *S. aureus* (10^7 UFC) e tratados com antiinflamatório, antimicrobiano e laser por 14 dias... 48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros percentuais de amostras de fígado, baço, rim, articulação do joelho e sangue de camundongos Swiss machos infectados com <i>S. aureus</i> (10^7 UFC) de diferentes grupos e momentos experimentais.....	38
Tabela 2 – Avaliação histológica de articulações dos camundongos com artrite induzida por <i>S. aureus</i> no 14º dia	45
Tabela 3 – Avaliação histológica de articulações dos camundongos com artrite induzida por <i>S. aureus</i> no 21º dia	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 PATOGENIA	12
1.1.1 Ação das Espécies Reativas de Oxigênio na Degradação da Cartilagem.....	13
2 MODELO EXPERIMENTAL	15
2.1 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	16
2.1.1 Fatores de Virulência.....	17
2.1.1.1 Fatores de virulência envolvidos na patogenia da artrite infecciosa	18
3 TRATAMENTOS	20
3.1 TERAPIA ANTIMICROBIANA (VANCOMICINA)	20
3.2 TERAPIA ANTIINFLAMATÓRIA (ETORICOXIB)	21
3.3 LASER DE BAIXA POTÊNCIA	23
3.3.1 Breve Histórico.....	23
3.3.2 Tipos de Laser	24
3.3.3 Freqüência de Tratamento	25
3.3.4 Efeitos do Laser nos Tecidos.....	25
3.3.5 Efeitos Sistêmicos do Laser.....	27
3.3.6 Efeito Bactericida do Laser	28
3.3.7 Efeito Angiogênico do Laser.....	28
4 OBJETIVO	29
5 MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1 ANIMAIS	30
5.2 CEPA BACATERIANA	30
5.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	30
5.3.1 Artrite induzida por <i>S. aureus</i>	30
5.3.1.1 Cepa bacteriana e cultivo.....	31
5.3.2 Avaliação clínica da artrite.....	31
5.3.3 Plano de Tratamento.....	32

5.4 TRATAMENTO	33
5.4.1 Antimicrobiano	33
5.4.2 Antiinflamatório	33
5.4.3 Laser	34
5.5 SACRIFÍCIO	34
5.6 EXAME BACTERIOLÓGICO	34
5.7 ANÁLISE MORFOMÉTRICA	35
5.7.1 Medida da espessura da articulação dos joelhos	35
5.7.2 Análise histopatológica	35
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
6 RESULTADOS	37
6.1 ANÁLISE BACTERIOLÓGICA	37
6.2 MEDIDA DAS ESPESSURAS E DO NÍVEL DE EDEMA.....	41
6.3 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	43
7 DISCUSSÃO	49
8 CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

A artrite séptica é uma infecção que provoca destruição da cartilagem articular. Esta doença está presente em todas as faixas etárias, porém, com maior prevalência entre recém nascidos e crianças entre 2 e 3 anos de idade, sendo de 2 a 3 vezes mais observada no sexo masculino. As articulações mais acometidas são: quadril, joelho e cotovelo (LESLIE et al., 1989; TACHDJIAN, 1990).

Bactérias, vírus, fungos e protozoários podem invadir as articulações, causando infecções e conseqüentemente induzindo uma resposta inflamatória com dano à cartilagem articular. No entanto, 90% das artrites sépticas são causadas por pequeno grupo de bactérias, incluindo: estafilococos, estreptococos, gonococos e enterobactérias (RYAN et al., 1997).

Os microorganismos responsáveis pela infecção articular variam de acordo com a idade do paciente. Em recém-nascidos, alguns agentes freqüentes são *Streptococcus agalactiae* e enterobactérias; em crianças com menos de quatro anos, *Haemophilus influenzae*; em jovens e adultos jovens, *Neisseria gonorrhoeae*, além de *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*. No entanto, 40-60% da artrite bacteriana não gonocócica é causado por *Staphylococcus aureus* sendo comum em recém-nascidos, crianças e adultos. O envolvimento monoarticular ocorre em 90% dos casos (SHETTY & GEDALIA, 1998). A maioria destas infecções ocorrem por via hematológica, no entanto, infecções diretas podem resultar de feridas profundas, processos cirúrgicos e infecções intra-articulares (RILEY et al., 1990).

A infecção articular por via hematogênica se origina, na maioria das vezes, de um foco séptico distante, podendo ocorrer ainda, por disseminação de um foco de osteomielite epifisária através da continuidade vascular entre a epífise óssea e a membrana sinovial (GRISTINA et al., 1991). Pneumonia, infecção do trato urinário e osteomielite de outros ossos, são exemplos de foco séptico distante (RAVAGLIA e SMITH, 1996).

1.1 PATOGENIA

Em 1743, HUNTER descreveu a destruição da cartilagem em artrite séptica, e desde então, vários estudos sobre este mecanismo têm sido realizados. PHEMISTER (1924) foi um dos primeiros investigadores que procurou elucidar o mecanismo de destruição da cartilagem articular através de atividade proteolítica demonstrando em estudos experimentais, que *S. aureus* não causava danos visíveis na cartilagem “in vitro”, a 37°C, enquanto o exsudato purulento provocava destruição da cartilagem na mesma temperatura. Concluía ainda, que a destruição se devia em parte à ação dos fatores proteolíticos presentes no exsudato articular, os quais derivariam principalmente de polimorfonucleares e em menor quantidade de bactérias lisadas.

CURTISS (1973) enfatizou que o líquido sinovial com grande celularidade e predominância de polimorfonucleares constituía-se numa fonte potente de enzimas lisossômicas que poderiam lesar a cartilagem articular.

Estudos, posteriores, demonstraram a participação das prostaglandinas e citocinas na progressão desta doença articular e que a gravidade da artrite séptica está diretamente relacionada com as infecções estafilocócicas e a resposta imunológica dependente de células T (ABDELNOUR et al., 1993; TARKOWSKI et al., 2002; GJERTSSON et al., 2004), macrófagos (VERDRENGH & TARKOWSKI, 2000) e granulócitos (VERDRENGH & TARKOWSKI, 1997).

SANO et. al. (1992) demonstraram, em modelo de artrite experimental, aumento da expressão de ciclooxigenase (COX-2) em tecido articular de ratos, após 2 a 4 dias de inoculação intraperitoneal de parede de *Streptococcus* ou inoculação intradérmica de adjuvante completo de Freund.

Condrócitos não estimulados não expressam níveis detectáveis de RNAm COX-2, mas a expressão é aumentada por mediadores inflamatórios como as interleucinas-1 β (IL-1 β), IL-17, fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e paredes bacterianas (PELLETIER et al., 1998; MILLER et al., 1998; MINO et al, 1998). Em células articulares, controles ou estimuladas com IL-1 β não apresentam níveis detectáveis de RNAm COX-1 (LYONS-GIORDANO, et al., 1993). O TNF- α é um indutor importante da expressão de COX-2 e na produção de PGE₂ em condrócitos humanos (BERENBAUM et al. 1996).

A interleucina-1 é produzida por macrófagos ativados e monócitos no sangue. Esta citocina aumenta a liberação de metalo-proteinases (proteases neutras e collagenases) e de outras enzimas degradadoras de colágeno pelas células sinoviais e pelos condrócitos, causando degradação da matriz cartilaginosa, bem como, perda e redução da síntese de proteoglicanos (NORD et al., 1995; AGARWAL et al., 2001). Também induzem a síntese de prostaglandina E₂ (PGE₂) e de outras citocinas inflamatórias (LONG et al., 2002).

1.1.1 Ação das Espécies Reativas de Oxigênio na Degradação da Cartilagem

Espécies reativas (ER) têm um papel importante no início e na progressão da remodelagem da cartilagem na articulação. Porém, estudos *in vitro* têm sugerido que as ER participam da degradação da cartilagem nas doenças articulares, com efeitos nos componentes da matriz cartilaginosa e no comportamento dos condrócitos. Altos níveis de nitrito e nitrato foram detectados em líquido sinovial, soro, e urina de pacientes com artrite reumatóide, sugerindo o envolvimento de NO na patogenia destas doenças (PELLETIER et al., 2000).

Oxido nítrico (NO) apresenta tanto efeitos benéficos, contribuindo para os efeitos citotóxicos dos macrófagos ativados e a capacidade bactericida dos neutrófilos, quanto danosos no processo inflamatório, causando lesão tecidual e modulando a proliferação de células T (HIBBS et al., 1988; MALAWISTA, et al., 1992). Entretanto, a função do NO na gravidade das doenças articulares não está bem esclarecida (McCARTNEY-FRANCIS et al., 1993; STEFANOVIC-RACIC et al., 1994, HENROTIN, et al., 2003).

Em condições normais, os condrócitos sobrevivem em ambiente avascular, conseqüentemente com baixo suprimento de oxigênio. No entanto, suas funções metabólicas são dependentes de oxigênio, o qual é oriundo, principalmente, do líquido sinovial. Por tanto, os condrócitos apresentam metabolismo adaptado a essas condições anaeróbias (HENROTIN, et al., 2003).

Nas doenças articulares, a tensão de oxigênio no líquido sinovial está sujeita a variações em conseqüência do fenômeno de isquemia-reperfusão (angiogênese na inflamação), da aceleração do metabolismo tecidual e do esforço anormal sustentado pela articulação (BLAKE, et al., 1989). Em resposta a esta variação de pressão do oxigênio no líquido sinovial e à presença de mediadores inflamatórios, as células da cartilagem e do tecido

sinovial produziriam níveis anormais de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas doenças articulares (HAYASHI et al., 1997; FERMOR et al., 2001).

As principais ER produzidas pelos condrócitos são óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$) e ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) que geram radicais derivados, incluindo peroxinitrito (ONOO^{\cdot}) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (HIRAN et al., 1997; MOULTON et al., 1997). $\cdot\text{NO}$ é sintetizado pela enzima NO sintase (NOS). Das três isoformas da NOS, duas são expressas constitutivamente, NOS endotelial (eNOS, NOS3) e NOS neural (nNOS, NOS1), e uma é induzível (iNOS, NOS2). Condrócitos expressam tanto eNOS quanto iNOS. A produção de $\cdot\text{NO}$ é estimulada por interleucinas, fator de necrose tumoral ($\text{TNF-}\alpha$), interferon ($\text{IFN-}\gamma$) e lipopolissacarídeos (LPS) ou ácidos lipotecoicos, e inibido pelo fator transformador de crescimento ($\text{TGF-}\beta$), IL-4, IL-10 e IL-13 (STADLER et al., 1991; PALMER et al., 1993; HENROTIN et al., 2000; BORDERIE et al., 2002).

Quando os níveis de espécies reativas não excedem a capacidade de redução das células as ER estão fortemente envolvidas no controle das funções celulares incluindo sinalização e transdução. Contudo, em algumas doenças, quando a capacidade antioxidante celular é insuficiente para detoxificar as ER, o estresse pode favorecer a degradação não somente da membrana celular e de ácido nucléico, como de componentes extracelulares incluindo proteoglicanos e colágenos. O estresse oxidativo pode causar lise celular liberando o conteúdo intracelular para o meio extracelular. No geral, os produtos da degradação e os componentes intracelulares contêm moléculas oxidativas que podem contribuir para a exarcebação da inflamação sinovial e formar um círculo vicioso, constituído pela neoformação de ER e também dos produtos de degradação (HENROTIN et al., 2003).

PELLETIER et al. (2002) usando modelo experimental de artrite séptica em cães, demonstraram que injeções intrarticulares de *N*-iminoethyl-L-lysine (I-NIL), um inibidor seletivo de iNOS, foram capazes de reduzir a erosão da cartilagem.

2 MODELO EXPERIMENTAL

A dificuldade de realização de alguns estudos em pacientes, por razões técnicas e/ou éticas, levou à necessidade do desenvolvimento de modelos experimentais de artrites que apresentem semelhança com essas doenças, isto é, um modelo que seja fidedigno, que reproduza as diversas alterações teciduais que ocorrem na evolução do processo artrítico. Partindo desta premissa, BREMELL et al. (1991) descreveram um modelo experimental que consiste na indução da artrite em camundongos através de inoculação sistêmica de uma suspensão de *S. aureus* injetada na veia caudal.

Espécies pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, principalmente *S. aureus*, têm sido consideradas, por décadas, como patógenos responsáveis por doenças que variam desde infecções cutâneas leves até formas graves e fatais de artrite séptica, endocardite, síndrome do choque tóxico e sepse (TARKOWSKI et al., 2001).

A escolha do camundongo para o estudo da artrite séptica por *S. aureus*, bem como da sepse, demonstram as seguintes vantagens: 1- podem apresentar esta bactéria na pele e desenvolver infecção estafilocócica espontânea; 2- sistema imunológico bem conhecido apresentando várias semelhanças com o de seres humanos, 3- muitas vezes respondem bem a terapias gênicas e com drogas. O modelo assemelha-se com a doença em humanos, principalmente quando a via de inoculação é hematogênica. Foi demonstrado que com a inoculação por via intrarticular não ocorrem as etapas iniciais, potencialmente críticas nas etapas subseqüentes da patogênese, uma vez que durante essas etapas, as bactérias necessitam adaptar-se ao ambiente do hospedeiro produzindo várias enzimas hidrolíticas induzíveis, sobreviver aos componentes bactericidas do sangue, disseminar-se no tecido sinovial e penetrar através de várias estruturas, até atingir o espaço articular (TARKOWSKI et al., 2001). Uma resposta inflamatória normal é benéfica ao hospedeiro em um quadro de infecção articular, entretanto a resposta inflamatória hiperativada leva à destruição significativa da articulação acometida (MADER et al., 1999).

A virulência e o tropismo de microrganismos juntamente com a susceptibilidade da sinóvia à invasão bacteriana são os principais determinantes deste processo. *S. aureus* é um exemplo de microrganismo que apresenta grande afinidade seletiva pela sinóvia, provavelmente pela sua capacidade de aderência ao colágeno, bem como de produção de toxinas e exoenzimas como TSST-1 e colagenase (MADER et al., 1999).

BREMELL & TARKOWSKI (1995) observaram que superantígenos como TSST-1 (toxina da síndrome do choque tóxico) e enterotoxinas A-D de *S. aureus* são os principais responsáveis pela hiperativação da resposta inflamatória, aumentando assim, a taxa de mortalidade e exacerbando a liberação de citocinas e a degradação da articulação. Macrófagos ativados liberam enzimas proteolíticas levando à destruição das articulações já em três dias. Posteriormente, a articulação é lesada por enzimas lisossomais e toxinas bacterianas (MADER et al., 1999).

A destruição articular pode continuar após a erradicação da bactéria com o uso de antimicrobianos, uma vez que os antígenos bacterianos continuam a induzir a resposta inflamatória, enquanto a persistência de metalo-proteinases oriunda das bactérias e dos condrócitos promovem a degradação proteolítica da cartilagem (RIEGELS-NIELSEN et al., 1989; TARKOWSKI, 2006).

2.1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Staphylococcus são cocos Gram-positivos, imóveis, agrupados em massas irregulares ou em forma de cachos de uva. Aeróbios ou anaeróbios facultativos, produtores de catalase. Utilizam a glicose com produção de ácido, tanto em aerobiose, como em anaerobiose, diferenciando-se dos microrganismos do gênero *Micrococcus*, que só a utilizam em aerobiose. *S. aureus* difere das outras espécies deste gênero por ser produtor de coagulase, fermentar o manitol e produzir a enzima desoxiribonuclease (JONES et al., 1990; LOWY, 1998).

É um patógeno responsável por ampla variedade de infecções cutâneas, como: furúnculos, impetigo e abscessos, infecções sistêmicas, por exemplo: osteomielite, endocardites e artrites; e toxicoses, tal como: intoxicação alimentar, choque séptico, síndrome da pele escaldada e síndrome do choque tóxico (TSS). As células de *S. aureus* apresentam alguns componentes de superfícies, além de produzir várias substâncias extracelulares, que contribuem para a sua virulência. Os fatores de virulência podem ser de origem cromossômica ou plasmidial. (LOWY, 1998; NOVICK et al., 2001).

2.1.1 Fatores de Virulência

Cerca de 50% da sua parede celular é composta de peptidoglicano que consiste de subunidades de N-acetilglicosamina e ácido N-acetilmurâmico. O peptidoglicano estimula a liberação de citocinas pelos macrófagos, a agregação plaquetária ativa a via alternativa do complemento provocando uma reação inflamatória do hospedeiro. A parede celular de bactérias Gram-positivas pode desencadear um quadro de choque semelhante ao provocado pelo LPS das Gram-negativas. (ABIGAIL, 2002).

S. aureus produz inúmeras moléculas importantes na interação do microrganismo com o hospedeiro. Muitas dessas agem como fatores de virulência específicos danificando o tecido do hospedeiro. Outro grupo de fatores importantes são aqueles capazes de se ligar especificamente à superfície das células do hospedeiro, chamados de adesinas (BELKUN et al., 2002).

As adesinas estafilocócicas determinam a habilidade de *S. aureus* em colonizar os tecidos do hospedeiro, permitindo às bactérias iniciar a infecção. É evidente que cada cepa de *S. aureus* pode expressar vários tipos de adesinas alguns dos quais podem ser regulados por fatores presentes no meio em que se encontram, enquanto, outros são expressos constitutivamente. O processo de interação das bactérias com o tecido do hospedeiro é altamente dinâmico e sujeito à modulação através de mecanismos reguladores das bactérias, fatores ambientais, mecanismos de defesa do hospedeiro, como também o uso de antimicrobianos (HOOK et al., 1990).

Além da biossíntese de adesinas, *S. aureus* também sintetiza largo espectro de compostos relacionados à virulência que são secretados para o meio e são frequentemente sintetizados de forma coordenada com a síntese das moléculas de adesão (BELKUM et al., 2002).

A virulência estafilocócica depende de uma ineficiência relativa da resposta imunológica inata contra ampla variedade de toxinas e enzimas extracelulares, componentes da parede de celular, DNA bacteriano, e – no caso de muitas cepas – a expressão de uma cápsula. Foi demonstrado que a cápsula é um determinante de virulência uma vez que esta atua como barreira física, impedindo o contato entre o fator de complemento C3 e a membrana de fagócitos (GOTSCHLICH, 1993; SHEAGREN et al., 1998), inibindo a fagocitose e a lise intracelular da bactéria (NILSSON et al., 1997).

Algumas cepas de *S. aureus* podem produzir diferentes tipos de cápsula. Este polissacarídeo extracelular está presente na superfície de aproximadamente 90% de toda bactéria recém isolada. A quantidade produzida depende da fase de crescimento e a natureza do meio de crescimento circunvizinho. Além da proteção física é assumido que a produção da cápsula facilite a aderência da célula bacteriana em certas matrizes (LEE et al., 1993).

Cathelicidina LL-37 é um dos muitos peptídeos humanos com potente atividade anti-estafilocócica. Aureolisina, importante metaloproteinase de *S. aureus*, inativa a LL-37 de maneira tempo e concentração dependentes. Aureolisina cliva LL-37 na posição 19-12, 23-24 e 31-32, destruindo a atividade anti-bacteriana do LL-37 (MAYER-SCHOLL et al., 2004; SIEPRAWSKA-LUPA et al., 2004).

2.1.1.1 Fatores de virulência envolvidos na patogenia da artrite infecciosa

Existem pelo menos duas funções para as proteínas de adesão presentes na superfície de *S. aureus*. Uma é de que a bactéria possa se revestir com componentes do sangue ou do tecido do hospedeiro, evitando sua detecção pelo sistema imunológico. O segundo papel proposto é de se ligar ao tecido dando início à invasão das células do hospedeiro. Alternativamente, nesses locais de adesão, as bactérias degradariam a matriz extracelular que une as células do hospedeiro, permitindo maior locomoção da mesma entre as células do tecido. A destruição do tecido favoreceria a liberação de nutrientes para as bactérias e criaria um micro ambiente favorável à mesma (LOWY, 1998).

Na artrite causada por *S. aureus*, a proteína ligadora de colágeno foi encontrada em várias cepas isoladas de pacientes artríticos. E estudos experimentais demonstram que a proteína ligadora ao colágeno é um dos principais fatores de virulência na artrite séptica induzida por *S. aureus* (PATTI et al., 1994; VON EIFF et al., 2001)

Outra adesina estafilocócica, “clumping factor” (uma molécula que medeia a ligação fibrinogênio-dependente), foi demonstrada outro fator de virulência importante na artrite séptica causada por *S. aureus* (JOSEFSSON et al., 2001).

A proteína ligadora de fibrinogênio (Efb) é uma molécula (15,6 kDa) secretada, que foi descrita inicialmente como ligadora ao fibrinogênio. No entanto, estudos demonstram que a Efb liga-se a região C3d de C3 bloqueando a via clássica do complemento dependente de opsonização e subsequente fagocitose (LEE et al., 2004a).

S. aureus secreta grande número de enzimas e toxinas muitos dos quais foram implicadas como potentes fatores de virulência. Por exemplo, *S. aureus* produzem cinco toxinas que podem danificar membranas celulares: quatro hemolisinas (α , β , γ , δ) e leucocidina. Todas estas toxinas podem lisar os eritrócitos, mas os seus mecanismos de ação são diferentes. Tem sido demonstrado que a combinação da ação de α e γ hemolisinas de *S. aureus* resultam num fator de virulência importante na indução da artrite séptica (NILSSON et al., 1999). Leucocidina é uma toxina que possui a capacidade de desgranular os neutrófilos e macrófagos humanos e de coelhos interferindo na permeabilidade dos leucócitos aos cátions, promovendo saída de K^+ e o influxo de Ca^{++} (JONSSON et al., 1985)

Um grupo de toxinas estafilocócicas tem propriedades de superantígenos, ou seja, que tem a capacidade de estimular grande quantidade de linfócitos T. Estas toxinas incluem: enterotoxinas (A, B, CI-3, D, E e G), toxina-1 (TSST-1) síndrome de choque tóxica, e exfoliatinas A e B (SCHLIEVERT et al., 1993). Os superantígenos de *S. aureus* são importantes fatores de virulência na artrite séptica experimental (BREMELL & TARKOWSKI, 1995), uma vez que cepas de *S. aureus*, que não expressam TSST-1, mostram claramente diferenças com relação à capacidade de causar artrite. Foi observado em outro experimento, utilizando anticorpo monoclonal para receptores de células T que reconhece TSST-1 foi capaz de amenizar a severidade da artrite e a frequência de morte séptica causado por *S. aureus* (ABDELNOUR et al., 1994a e 1994b).

3 TRATAMENTOS

Os objetivos do tratamento na artrite bacteriana são o controle da sepse e a esterilização da articulação pela administração de antimicrobianos adequados; retirada de fragmentos, tecidos necrosados e produtos bacterianos associados com a infecção pela drenagem adequada da articulação (RIEGELS-NIELSEN et al., 1989); controle do processo inflamatório pela administração de anti-inflamatórios e amenização da dor com uso de substâncias específicas (LOHMANDER, 2000; FERREIRA, 2001; SHARMA, 2002).

A rapidez e a precisão do tratamento são decisivas para a evolução crucial da artrite séptica. A suspeita de artrite séptica é suficiente para iniciar o tratamento enquanto espera-se pela confirmação final do diagnóstico, pois mesmo uma demora limitada para o início do tratamento (dias) pode conduzir a destruição irreversível e taxa de morbidade aumentada. A base de tratamento para artrite séptica é inquestionavelmente a terapia antimicrobiana e é imperativo iniciar com um antimicrobiano de largo espectro para após o resultado do antibiograma utilizar a droga de escolha (TARKOWSKI, 2006).

A drenagem do líquido sinovial purulento facilita a ação do antimicrobiano na articulação; permite a remoção de mediadores inflamatórios, enzimas degradativas e de bactérias e seus produtos (GOLDENBERG, 1993). Entretanto, NORD et al. (1996) utilizando modelo experimental com cabras, observaram que a associação do tratamento com drogas antimicrobianas e técnicas invasivas (artroscopia, artroscopia com debridamento, artrotomia e aspiração) era menos eficiente do que a associação de drogas com técnicas menos invasivas.

O tratamento eficaz da dor depende de uma avaliação cuidadosa e da aplicação de técnicas adequadas para o seu controle. A conduta a ser tomada para propiciar alívio se baseia no uso de repouso e/ou exercícios e de substâncias específicas, entre as quais os analgésicos e anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (DANIEL, 1999; SHARMA, 2002).

3.1 TERAPIA ANTIMICROBIANA (VANCOMICINA)

O primeiro caso de resistência de penicilina em *S. aureus* foi publicado um ano após o uso de penicilina como tratamento contra infecções humanas. Desde então, começaram a

surgir mais casos de cepas de *S. aureus* resistentes a diversos antimicrobianos, sendo a vancomicina uma das poucas escolhas que restaram (PACE & YANG, et al., 2005)

A vancomicina é indicada no tratamento de infecções graves causadas por *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA), sulfametoxazol-trimetropina, tetraciclina e outros. A dose recomendada no tratamento clínico é de 30 mg/Kg de peso. (KIRST et al., 1998; FOWLER JR, 2004).

O cloridrato de vancomicina é um glicopeptídeo tricíclico, derivado de cepas de *Streptomyces orientalis*, age inibindo a biossíntese da maior estrutura da parede de bactérias Gram-positivas, o peptidoglicano (JORDAN & REYNOLDS, 1967; PACE & YANG, et al., 2005). O mecanismo de ação deste antimicrobiano está relacionado à habilidade de se complexar com D-alanyl-D-alanina, presente em várias fases na síntese do peptidoglicano (PERKINS & NIETO, 1974; NAGARAJAN, 1994).

3.2 TERAPIA ANTIINFLAMATÓRIA (ETORICOXIB)

Drogas antiinflamatórias não esteroidais (AINEs) são amplamente usadas no tratamento de condições inflamatórias tanto da osteoartrite quanto da artrite reumatóide. O efeito principal desta terapia antiinflamatória consiste basicamente na inibição das isoformas de ciclooxigenases (COX) (VANE, 1971). Os antiinflamatórios inibidores específicos da COX-2 ligam-se não covalentemente a esta enzima, inibindo, desta forma, a síntese de prostaglandinas (FUNG et al,1999; PAULSON et al, 2000; CRUZZOCREA et al, 2001; MAMIDI et al, 2002).

Três isoformas de COX foram identificadas, COX-1, COX-2 e COX-3 (SMITH & DEWITT, 1996; VANE et. al, 1998; CHANDRASEKHARAN, 2002). COX-1 é expressa constitutivamente em tecidos saudáveis tais como plaquetas, estômago e rins, gerando prostaglandinas que mantêm a homeostasia destes tecidos (O'NEILL & FORD-HUTCHINSON, 1993; SIMON, 1996). COX-2 é expressa em condições fisiológicas em níveis basais por determinados tecidos tais como o cérebro e os rins, entretanto, sua expressão aumentada devido a citocinas pró-inflamatórias a torna principal responsável por inflamação, dor e febre (SEIBERT et. al, 1994; KATORI & MAJIMA, 2000). COX-3 foi recentemente identificada e apresenta características catalíticas para a síntese de COX-1 e COX-2 (CHANDRASEKHARAN, et al., 2002).

A eficácia dos AINEs está primeiramente relacionada à inibição da COX-2, enquanto que a toxicidade, particularmente no sistema gastrointestinal, está relacionada à inibição da COX-1 (BROOKS et al., 1999).

Conhecidos genericamente como coxibs, estas drogas específicas COX-2 têm sido clinicamente usadas durante muitos anos no tratamento de artrites e outras condições. Experimentalmente o Celecoxib tem aproximadamente 300 vezes mais seletividade para COX-2 do que para COX-1, apresentando, portanto, menores problemas gastrointestinais (SEIBERT et al., 1994; LIPSKY. & ISAKSON, 1997).

Resultados randomizados duplo-cego confirmaram a eficácia destes compostos no tratamento de OA. A eficácia de celecoxib e rofecoxib foram similares às drogas AINEs convencionais e claramente superiores ao placebo. Entretanto, exames de endoscopia do trato gastrointestinal de pacientes que receberam celecoxib e rofecoxib apresentaram menos lesões na mucosa gastrointestinal quando comparada com outras AINEs (SIMON et al., 1999; CLEMETT & GOA, 2000; BENSEN, 2000; SCHNITZER, 2001; CANNON & BREEDUELD, 2001; SIMON, 2001).

Recentemente foram relatados eventos cardiovasculares potencialmente adversos. Logo, dois grandes experimentos randomizados, o *Viox Gastrointestinal Outcomes Research Study* (VIGOR; 8076 pacientes) (BOMBARDIER et al., 2000), o *Celecoxib Longterm Arthritis Safety Study* (CLASS; 8059 pacientes) (SILVERSTEIN et al., 2000) e dois experimentos menores (aproximadamente 1000 pacientes cada), compararam os efeitos dos inibidores seletivos, COX-2 e AINEs tradicionais, em pacientes com fatores de riscos cardiovasculares. Os resultados dos CLASS demonstraram não haver diferença significativa, entretanto o VIGOR e os dois estudos menores sugerem o possível aumento dos problemas cardiovasculares com o uso do rofecoxib (MUKHERJEE et al., 2001; MUKHERJEE, 2002).

CROFFORD et al. (2000) descreveram 4 casos de desenvolvimento de trombose em pacientes com doença do tecido conjuntivo tratados com celecoxib. O efeito pró-trombótico dos coxibs pode ser resultado da inibição da produção de vasodilatadores e prostaglandinas PGI₂ antiagregadoras, uma prostaglandina derivada da cicloxigenase-2.

Diante deste quadro, esforços contínuos da química farmacêutica desenvolveram a segunda geração de inibidores COX-2, estruturalmente diferentes dos já existentes, demonstram ser muito mais seletivos para COX-2 e mais eficaz em modelos animais (CHAURET, et al., 2001).

Etoricoxib pertence à classe de medicamentos para artrite/analgesia denominada Coxib. O etoricoxib (5-cloro-6'-metil-3-[4-(metilsulfonil)]-2,3'-bipiridina) é um

antiinflamatório não esteroídico que apresenta atividade antiinflamatória, analgésica e antipirética em modelos experimentais com animais. É um potente inibidor seletivo da cicloxigenase-2 (COX-2). O etoricoxib é metabolizado pelo sistema metabolizador de drogas hepático dependente da família citocromo P450, formando o metabólito 6'-hidroximetil (CHAURET, N. et al., 2001). A dose recomendada para tratamentos de humanos adultos com osteoartrite é em média de 60 mg uma vez ao dia.

3.3 LASER DE BAIXA POTÊNCIA

3.3.1 Breve Histórico

O fenômeno físico de emissão de energia estimulada foi proposto, inicialmente, por ALBERT EINSTEIN em 1916. GORDON et al. (1950), com base no princípio de Einstein, construíram o primeiro equipamento que utilizava amônia para emitir radiações na faixa de microondas. Com base nestes estudos, TOWES & SCHAWLOW (1958), criaram o primeiro modelo gerador de laser. MAIMAN (1960) construiu o primeiro laser com cristal de rubi. JAVAN et al. (1960) construíram o laser de hélio-neônio (He-Ne), sendo esta a primeira fonte comercial de luz coerente, recebendo este o nome de *soft laser*. Os primeiros equipamentos com diodo de arsenieto de gálio (As-Ga) e arsenieto de gálio alumínio (As-Ga-Al) surgiram no final dos anos 70 (KITCHEN & BAZIN, 1996; BAXTER, 1997; TUNÉR & HODE, 1999).

Os lasers encontraram aplicações imediata na medicina, sendo primeiramente utilizado na cirurgia oftálmica, onde foram evidenciados resultados positivos nos tratamentos de descolamento de retina em humanos. Em primeira instância foi verificado que, de maneira geral, os efeitos obtidos através da aplicação da radiação laser, tinham como base os efeitos fototérmicos e fotodestrutivos produzidos pelos equipamentos. Estes são até hoje, utilizados na indústria metalúrgica e na medicina com o objetivo de destruir tecidos. Esta modalidade recebeu o nome de terapia laser de alta potência - *HLLT (high level laser therapy)* (KARU, 1995).

As interações atérmicas do laser passaram a ser objetos de estudo a fim de evidenciar suas possíveis aplicações clínicas. A maioria das pesquisas tomaram como base os

resultados obtidos pelo grupo MESTER, em Budapeste, no final dos anos 60 e início dos 70, que verificou o potencial da radiação laser de baixa potência, aplicada diretamente sobre os tecidos, para modulação de processos biológicos. Posteriormente, na Europa Oriental e na extinta União Soviética, surgiram publicações (MESTER et al., 1985), nas quais foram descritos os efeitos fotobioestimulantes do laser sobre a cicatrização e o reparo tecidual (BASFOR, 1989). OHSHIRO & CALDERHEAD (1988) criaram o termo terapia laser de baixa potência - *LLLT (low level laser therapy)*, o qual tornou-se mundialmente aceito para descrição clínica deste tipo de aplicação (KITCHEN & PARTRIDGE, 1991; OHSHIRO, 1991). Esta modalidade terapêutica, embora necessite de uma aprovação *do FDA (Food and Drug Administration)*, vem sendo cada vez mais utilizada por pesquisadores, fisioterapeutas, dentistas e médicos, no tratamento de diversas doenças de diferentes etiologias (BAXTER, 1991).

3.3.2 Tipos de Laser

O tipo de laser é determinado pelo comprimento de onda e pelo meio ativo usado para sua produção. Inúmeras combinações de sólidos, líquidos e gases têm sido utilizadas para produção de lasers com comprimentos de ondas específicos, sendo que independente do meio utilizado para produzir o laser, o princípio básico é o mesmo (KITCHEN & PARTRIDGE, 1991).

Na terapia laser de baixa potência (LLLT) o espectro eletromagnético utilizado com maior frequência está na faixa de comprimento de onda de 630 nm a 1300 nm (KITCHEN & PARTRIDGE, 1991). Os dois meios mais utilizados nesta modalidade terapêutica são: mistura gasosa de hélio e neônio (He-Ne) semicondutores de arsenieto de gálio (As-Ga) e arsenieto de gálio e alumínio (As-Ga-Al) (KITCHEN & BAZIN, 1996).

Os lasers de As-Ga e As-Ga-Al estão na faixa de emissão infravermelha, portanto invisíveis (770 nm a 1300 nm). O primeiro emite radiações com comprimento de onda de 904 nm, operando sempre no modo pulsado atingindo a profundidade de 30 mm a 50 mm de penetração dependendo do tecido irradiado. O laser de As-Ga-Al emite ondas com 780 nm a 870 nm de comprimento, podendo ser contínuo ou pulsado, tendo uma penetração de 2 a 3 cm (LOW & REED, 2001).

3.3.3 Freqüência de Tratamento

A literatura atual não apresenta evidências sobre qual seria a freqüência ideal para a aplicação da LLLT. Alguns autores sugerem a utilização diária, outros descrevem melhores resultados com a utilização deste recurso a cada dois dias ou duas vezes por semana (KARU, 1987). SIMUNOVIC et al. (1998) sugerem que a utilização de baixas doses de laser em intervalos semanais fornecem melhores resultados, quando comparados a altas doses em curtos espaços de tempo.

3.3.4 Efeitos do Laser nos tecidos

Após absorvida, a radiação laser pode produzir uma excitação eletrônica das biomoléculas específicas, sendo capazes de sofrer reações químicas como: oxidação, redução, isomerização, quebra de ligações covalentes ou interações com outras biomoléculas. (PARRISH et al., 1985).

As radiações laser podem ou não ser ionizantes, sua ação pode ser fotoquímica como para as radiações ultravioletas de comprimentos de onda elevados ou termal como para a faixa infravermelha do espectro. A radiação visível permanece entre estes dois extremos, sendo caracterizadas pelos dois efeitos térmico e fotoquímico (KITCHEN & PARTRIDGE, 1991).

Há dúvidas se os efeitos produzidos por esta modalidade terapêutica (LLLT) são decorrentes dos efeitos diretos da radiação ou são resultados do aquecimento. Aumento de 0,4 a 0,6°C na pele irradiada por um laser de As-Ga de 850 nm e 70 nW foi referido por BOUSSIGNAC (apud KARU et al., 1990). RICEVUTI et al. (1989) confirmaram que os efeitos da radiação laser são termais e não se relacionam com as modificações da estrutura da glicoproteína de membrana que possui funções receptivas.

Em oposição, outros estudos relataram que os efeitos da LLLT são baseados em mecanismos não térmicos, não produzindo aumento significativo de temperatura nos tecidos (BAXTER, 1997; WILDEN & KARTHEIN, 1998). BRAVERMAN et al. (1989) concluíram que a temperatura subcutânea de coelhos não mudou significativamente durante ou após a irradiação de 50 minutos com uma dose de 1,65 J.cm⁻² de He-Ne, ou 8,25 J.cm⁻² de

irradiação infravermelha. Por fim, HALL et al., (1994), afirmam que os benefícios do laser devem ser atribuídos a um processo não termal resultante da interação ou absorção nos tecidos específicos, dependente do comprimento de onda e da frequência, que podem causar biomodulação estimulatória.

A energia laser, após absorvida, pode fazer com que as biomoléculas específicas alcancem um estado de excitação eletrônica, onde são capazes de sofrer reações químicas como oxidação, redução, isomerização, quebra de ligações covalentes ou interações com outras biomoléculas (PARRISH et al., 1985).

Estudos demonstram que a radiação laser nos processos inflamatórios possui efeito modulador sobre os níveis de prostaglandinas (ENWEMEKA et al., 1990). Contudo, outros estudos demonstram resultados contraditórios (HALL et al., 1994).

HONMURA et al. (1992) mostraram que o LLLT foi efetivo em reduzir o volume de exsudato atuando na permeabilidade vascular. Estes autores consideram que os efeitos antiinflamatórios do laser podem estar relacionados aos seguintes processos inibitórios: inibição dos fatores quimiotáticos nas primeiras etapas da lesão, interferência sobre os mediadores químicos ou superóxidos produzidos pela irradiação.

Os efeitos antiinflamatórios do LLLT têm sido avaliados clinicamente em lesões inflamatórias músculo-esqueléticas e na dor miofascial, sendo observados diferentes resultados. Alguns estudos demonstram analgesia de forma duradoura (SIMUNOVIC, 1996; BORGES et al., 1996), enquanto outros trabalhos afirmam não encontrar diferenças significativas entre os grupos de tratamento e o controle (GAMALEYA, 1977; BROX et al., 1993; DE BIE et al., 1998).

Observa-se que a atuação do laser sobre os processos inflamatórios ainda é controverso, sendo necessária a execução de mais estudos experimentais e clínicos controlados para confirmar os possíveis efeitos antiinflamatórios do LLLT (HONMURA et al., 1992).

O laser infravermelho (As-Ga e As-Ga-Al) produz melhores resultados no tratamento de enfermidades profundas, tais como, problemas articulares e musculares, associados com processos analgésicos e antiinflamatórios, porque estes equipamentos possuem uma maior penetração devido aos seus comprimentos de onda que são superiores aos produzidos pelos lasers de He-Ne (radiação vermelha) (RUIZ CALATRAVA et al., 1997).

HERMAN & KHOSLA (1988) ao irradiar culturas de cartilagem bovina com laser infravermelho, observaram aumento significativo na síntese de glicosaminoglicanas, de proteínas e colágeno, com dose-dependente do laser.

HONMURA et al. (1993) verificaram que a aplicação do laser sobre a cartilagem de pacientes com artrite reumatóide são de extrema importância não só pela analgesia produzida, mas também, pela atividade anti-inflamatória observada por índices inflamatórios e nos achados patológicos da membrana sinovial.

Em contraposição, HARDIE et al. (1989) não evidenciaram efeitos do LLLT sobre a cartilagem defeituosa. Concluindo, que a radiação laser não exerceu atividade sobre as mitoses dos condrócitos da cartilagem hialina irradiada.

TORRICELLI et al. (2001) demonstraram efeito positivo sobre a proliferação celular, em culturas de condrócitos humano e de coelhos, quando tratados com laser infravermelho. Os resultados clínicos e histopatológicos obtidos por RUIZ CALATRAVA et al. (1997), mostraram um efeito benéfico do LLLT na recuperação e a regeneração da cartilagem articular, ficando evidenciada a redução da atividade inflamatória. A radiação laser também exerceu influência sobre a cartilagem normal, aumentando a produção de glicosaminoglicanas e ácidos mucopolissacarídeos pelos condrócitos.

3.3.5 Efeitos Sistêmicos do Laser

Os efeitos promovidos pela radiação laser não estão restritos apenas à área de aplicação. Através de mediadores metabólicos, o efeito pode atingir áreas mais distantes do corpo, produzindo efeitos sistêmicos. É possível que este efeito encontre uma explicação no fato do tecido tratado com laser produzir substâncias que podem ser transportadas via hematogênica e/ou linfáticas (TUNER & HODE, 1999).

HALL, et al. (1994) demonstraram os efeitos do LLLT em testes laboratoriais sobre diferentes doenças. Mostraram queda na velocidade de hemossedimentação (VHS) após tratamento com laser, porém, não foram notadas alterações na hemoglobina. GAMALEYA (1997) mostrou restauração progressiva das proteínas sanguíneas. GOATS et al. (1996) demonstraram que indicadores de doenças sistêmicas como: números de plaquetas, VHS e proteína C reativa, reduziram, não sendo evidenciadas alterações nos níveis de hemoglobina. HEUSLLER et al. (1993) observaram que pacientes com artrite reumatóide tratados com laser não mostraram alterações significativas nos níveis de hemoglobina, VHS, contagem diferencial de células brancas e a proteína C reativa.

3.3.6 Efeito Bactericida do Laser

Diversos autores têm demonstrado a atividade bactericida da laserterapia de baixa intensidade. WILSON et al. (1992) estudando bactérias orais, verificaram sensibilização das mesmas pela radiação laser produzida por um equipamento de diodo HeNe de 7.3 mW . WILSON & YIANNI (1995) evidenciaram que a laserterapia de baixa intensidade pode eliminar *S. aureus* resistentes à meticilina pela sensibilização através da radiação de HeNe de 0.95 mW e de InGaAlPO₄ (índio-gálio-alumínio-fosfato) de 5 mW. DESIMONE et al. (1999) têm demonstrado que os lasers HeNe e InGaAlPO₄ possuem boa atividade bactericida através de estudos *in vitro* de culturas de *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, mostrando que o laser InGaAlPO₄ é mais eficiente em função de sua maior potência de saída. Estes autores sugerem a realização de estudos *in vivo* com intuito de se tornar aplicável na terapêutica clínica.

3.3.7 Efeito Angiogênico do Laser

Os efeitos terapêuticos do laser são descritos em vários trabalhos e incluem: antiinflamatório (ENWEMEKA et al., 1990; HONMURA et al., 1992), analgésico (SIMUNOVIC, 1996; BORGES et al.,1996), influência no metabolismo do tecido conectivo, estimula a proliferação de fibroblastos (TORRICELLI et al, 2001) e induz a reepitelização (KLOTH, 1997; WEBB, 1998) e a síntese de DNA (KARU et al., 1996; KARU, 1998).

4 OBJETIVO

Avaliar os efeitos da associação em diferentes combinações de etoricoxib, vancomicina e laser de AsGa sobre o processo inflamatório articular e de degeneração cartilaginosa que ocorre no modelo experimental de artrite séptica causada por *Staphylococcus aureus*.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos machos da linhagem *Swiss*, com idade média de 4 semanas, com peso corpóreo inicial médio de 28g ($\pm 3,5$ g). Os animais foram obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina, sendo mantidos em gaiolas de polietileno com tampa de aço inox, sob boas condições de higiene, luz e temperatura. Após uma semana de adaptação, os animais foram distribuídos aleatoriamente em gaiolas coletivas e divididos em grupos de 10 animais alimentados “*ad libitum*” até o término do experimento.

5.2 CEPA BACTERIANA

A cepa de *S. aureus* utilizada foi isolada de paciente que apresentava quadro clínico de artrite séptica do Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina sensível a vancomicina.

5.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

5.3.1 Artrite induzida por *S. aureus*

Conforme protocolo experimental de artrite séptica padronizada por BREMELL et.al. (1991), com algumas modificações, os animais foram inoculados com *S. aureus* pela veia caudal, com 100 μ L da suspensão bacteriana contendo 10^7 UFC. Estes animais passaram por um período de infecção durante 7 dias, onde foram avaliados

cl clinicamente. Os camundongos controles foram inoculados com 100µL de solução salina 0,9% estéril. Após essa etapa (E1) os animais foram submetidos aos diferentes tratamentos e avaliações.

5.3.1.1 Cepa bacteriana e cultivo

As bactérias foram cultivadas em caldo BHI por 24 horas e plaqueadas em Agar BHI com 5% de hemácia de carneiro por mais 24 horas. As amostras de bactérias foram isoladas e submetidas a um teste piloto para identificar a cepa que produzia maior número de casos positivos de artrite séptica em camundongos *Swiss*, inoculados via endovenosa (10^7 UFC). A amostra escolhida, então foi mantida em freezer -20°C , em caldo BHI acrescido de 20% de glicerol. Antes do início dos experimentos, a bactéria foi recuperada em caldo BHI – mantida a 36°C por 18 h; transferida para placas de Agar sangue por 24 horas; lavada duas vezes com PBS e feita contagem de unidades formadoras de colônia para alcançar a concentração desejada, ou seja 10^8 UFC em 100 µL.

5.3.2 Avaliação Clínica da Artrite

Todos os camundongos foram avaliados individualmente. As articulações dos membros foram inspecionadas visualmente por dois observadores (A.Y.S. e P.S.R.D.F.) em intervalos regulares (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21 e 28 dias após inoculação).

A artrite foi definida quando visivelmente, pelo menos uma das articulações dos joelhos, apresentava-se edemaciada e com alguma perda de função (FIGURA 01). Para efeito de padronização os camundongos que apresentaram somente alterações nos membros superiores foram descartados. Após triagem, cada animal teve o joelho artrítico definido (inferior direito ou esquerdo) até o final do experimento.



Figura 1 – Fotografia mostra a pata traseira direita normal e a esquerda com artrite do camundongo 7 dias após infecção e.v. com *S. aureus* (10^7 UFC).

5.3.3 Plano de Tratamento

O protocolo experimental constituiu-se de 3 etapas:

Na primeira etapa (E1) os animais foram infectados com *S. aureus* (10^7 UFC). Na segunda etapa (E2), 7 dias após infecção, os animais foram tratados com antimicrobiano e/ou antiinflamatório e/ou laser durante 14 dias consecutivos. Na terceira etapa (E3), 21 dias após infecção, foram avaliados os efeitos pós-tratamento, 7 dias após final de E2.

Em todas as etapas foram avaliados o peso e a espessura dos dois joelhos dos animais, nos dias 0, 7°, 14°, 21° e 28°. Foram retiradas amostras do fígado, baço, rim, articulação do joelho e sangue para análise microbiológica e histológica. Nos mesmos dias foram retirados fragmentos da cartilagem e do líquido sinovial dos joelhos dos grupos experimentais.

Os grupos controles foram divididos em:

- Grupo 1 (G1) – animais sadios sem tratamento;
- Grupo 2 (G2) – animais sadios tratados com laser;
- Grupo 3 (G3) – animais infectados sem tratamento.

Nos grupos experimentais os animais foram infectados e submetidos ao tratamento com:

- Grupo 4 (G4) – antiinflamatório;
- Grupo 5 (G5) – antimicrobiano;
- Grupo 6 (G6) – laser;
- Grupo 7 (G7) – antiinflamatório e antimicrobiano;
- Grupo 8 (G8) – antiinflamatório e laser;
- Grupo 9 (G9) – antimicrobiano e laser;
- Grupo 10 (G10) – com antiinflamatório, antimicrobiano e laser.

5.4 TRATAMENTO

5.4.1 Antimicrobiano

Os animais receberam por via intraperitoneal (i.p.) Cloridrato de Vancomicina (pó liofilizado) diluído em água para injetáveis na concentração de 30 mg/Kg peso diariamente durante 14 dias consecutivos. A dose de vancomicina acompanhou as proporcionalidades estabelecidas no tratamento clínico humano.

5.4.2 Antiinflamatório

O comprimido de Etoricoxib foi macerado em gral dissolvido em dimetilssulfóxido (DMSO) e diluído em água estéril. A concentração do DMSO na solução final não ultrapassou a concentração de 10%. Os animais receberam, diariamente, por via intraperitoneal (i.p.) a solução na concentração de 60 mg/Kg peso durante 14 dias. A dose acompanhou as proporcionalidades estabelecidas no tratamento clínico humano.

5.4.3 Laser

Foi utilizado o laser semiconductor diodo Arsenieto de Gálio (AsGa) LIV 973, produzido pela KLD Biosistemas ®, com comprimento de onda de 830 nm, potência de saída de 45 *watts* (W). A densidade de energia utilizada foi de 4 J/cm², sendo que o tempo de exposição à radiação foi microprocessado pelo equipamento. Foram determinados 4 pontos de aplicação da irradiação, sendo 2 localizados na face medial e 2 na lateral do joelho acometido do grupo artrítico e do joelho direito do grupo controle. Os animais dos grupos experimentais que receberam a radiação do laser foram tratados por 14 dias consecutivos.

5.5 SACRIFÍCIO

Os animais dos diferentes grupos experimentais foram sacrificados, por inalação de éter etílico até atingir parada cardiorrespiratória, nos diferentes dias experimentais, conforme protocolo. Foram coletadas assepticamente amostras de fígado, baço, rim, sangue e das articulações dos joelhos.

5.6 EXAME BACTERIOLÓGICO

As amostras (fígado, baço, rim, articulação e sangue) foram cultivadas em caldo BHI, por 18 a 24 horas a 36° C; em seguida semeadas em ágar sangue, para o possível isolamento da cepa de *S. aureus*. As colônias com características deste microorganismo foram submetidas à coloração de Gram e observadas em imersão no microscópio óptico OLYMPUS CH30 para caracterização da sua morfologia (cocos gram positivos em cachos). Posteriormente realizaram-se testes bioquímicos para catalase e coagulase para confirmação de sua identificação.

A presença de bactéria na articulação foi evidenciada em cortes histopatológicas corados pelo Gram.

5.7 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

5.7.1 Medida da Espessura da Articulação dos Joelhos

As espessuras das articulações dos joelhos direito do grupo controle e joelhos artríticos (definidos na avaliação clínica) dos grupos infectados com *S. aureus* foram medidas através de um paquímetro graduado a cada 0,05 mm, da marca Mitutoyo ® durante os períodos estabelecidos no protocolo experimental. O ponto de referência utilizado foi a interlinha articular dos joelhos, sendo estes mantidos em extensão durante a mensuração. Foram medidos dois pontos: a interlinha articular medial e a frontal de cada joelho, gerando no total 2 medidas em milímetros que foram somadas e avaliadas. O nível de edema foi calculado através da diferença entre as medidas da espessura das articulações do grupo sadio sem tratamento com os demais grupos.

5.7.2 Análise Histopatológica

Os animais foram sacrificados, as articulações dos joelhos removidas (1 cm acima no fêmur e 1 cm abaixo na tíbia) foram fixadas com *Bouin* por 48 horas e após este período foram mantidas imersas em solução de EDTA 5 N, com aplicação de corrente elétrica 75 mA e sob refrigeração por 15 dias para descalcificação (BEHMER, 1976). Após serem descalcificadas, foram processadas pelas técnicas tradicionais de inclusão em parafina; foram obtidos cortes histopatológicos de 5 micrômetros e corados pelo método hematoxilina-eosina (H&E).

As lâminas coradas com H&E foram analisadas em microscópio óptico OLYMPUS CH30 para avaliar semiquantitativamente a formação de pannus e destruição do tecido cartilaginoso em um escore de 0-3 realizado por três observadores, em um estudo duplo-cego. A ausência de qualquer uma dessas alterações corresponde ao grau 0 e o grau 3 correspondendo às mais severas alterações.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido do Teste de Tukey. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando os programas da GraphPad Software (1992-2003): GraphPad InStat V.3.05 e GraphPad Prism V.4.00. Os gráficos foram plotados no programa Origin Professional V.7.5 da OriginLab Corporation (1991-2003). Os resultados foram expressos pela média \pm erro padrão. Foram considerados estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

Nas amostras de fígado, baço, rim, articulação e sangue dos grupos tratados com antimicrobiano (G5, G7, G9 e G10) houve redução do número de animais que apresentaram *S. aureus* nas amostras analisadas com 7 dias de tratamento. Entretanto, no mesmo período, os animais infectados e tratados somente com laser, houve aumento do número de animais infectados. Sete dias após final do tratamento, o grupo artrite teve uma diminuição do número de animais que apresentavam bactéria nas amostras analisadas, contudo ainda havia colonização pela bactéria no fígado, baço e articulação em 33,33%, 66,67% e 50% dos animais, respectivamente (TABELA 01).

Com relação às avaliações histopatológicas que confirmaram a presença de *S. aureus* nas articulações pela coloração de Gram realizou-se uma curva da porcentagem de animais que apresentaram as articulações colonizadas pela bactéria. As curvas dos grupos tratados foram comparadas com o grupo artrítico sem tratamento e quase todos os grupos apresentaram diferenças significativas entre as curvas, demonstrando que os tratamentos foram eficazes em diminuir o número de animais que tiveram as articulações dos joelhos colonizadas pela bactéria. Entretanto, no grupo tratado exclusivamente com laser não foi observada diferença estatística (FIGURAS 02 e 03).

Tabela 1 – Parâmetros percentuais de amostras de fígado, baço, rim, articulação do joelho e sangue de camundongos Swiss machos infectados com *S. aureus* (10^7 UFC) de diferentes grupos e momentos experimentais.

GRUPOS	7º Dia de infecção					14º Dia de infecção					21º Dia de infecção					28º Dia de infecção				
	Fíg.	Baço	Rim	Art.	San.	Fíg.	Baço	Rim	Art.	San.	Fíg.	Baço	Rim	Art.	San.	Fíg.	Baço	Rim	Art.	San.
Controle	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Controle+Laser	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Artrite s/ tratamento	100%	100%	66,67%	100%	0%	100%	50%	16,67%	83,33%	0%	83,33%	83,33%	16,67%	66,67%	33,33%	33,33%	66,67%	0%	50%	0%
Artrite+Antiinf	100%	100%	16,67%	66,67%	16,67%	83,33%	100%	0%	16,67%	0%	16,67%	33,33%	0%	0%	0%	0%	50%	0%	0%	0%
Artrite+Antib	100%	100%	83,33%	100%	0%	16,67%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	16,67%	0%
Artrite+Laser	100%	100%	66,67%	100%	0%	100%	83,33%	100%	66,67%	0%	66,67%	0%	16,67%	66,67%	50%	0%	50%	16,67%	33,33%	0%
Artrite+ Antiinf+Antib	100%	100%	50%	100%	0%	0%	16,67%	0%	0%	0%	16,67%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Artrite+Antiinf+Laser	83,33%	100%	33,33%	100%	16,67%	100%	83,33%	0%	33,33%	0%	33,33%	83,33%	0%	0%	0%	0%	66,67%	0%	0%	0%
Artrite+Antib+Laser	100%	100%	83,33%	100%	0%	0%	16,67%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	16,67%	50%	50%	0%	0%	16,67%	0%
Artrite+Antiinf+Antib+Laser	100%	83,33%	0%	83,33%	0%	16,67%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	16,67%	0%	16,67%	0%	0%	0%	0%

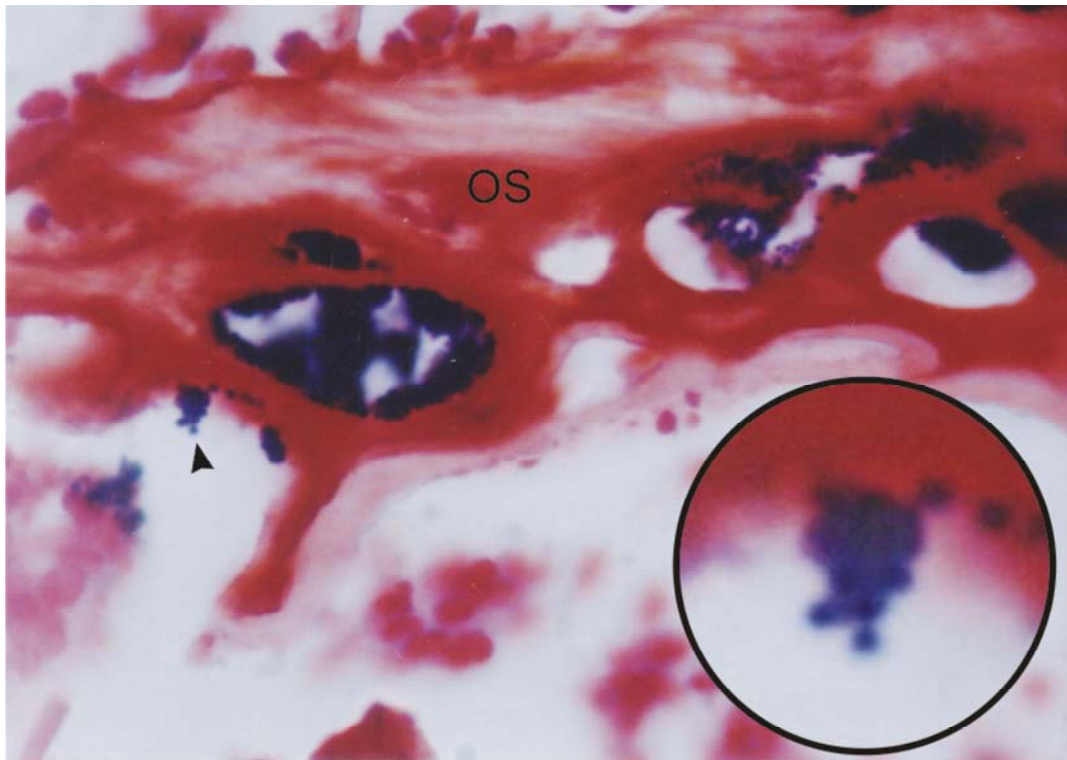


Figura 2 – Articulação de camundongo 7 dias após inoculação de *S. aureus* (10^7 UFC) via e.v. A cabeça da seta indica a região destacada onde pode-se observar cocos gram-positivos em cacho pela coloração de gram. Osso subcondral (OS). 1000x.

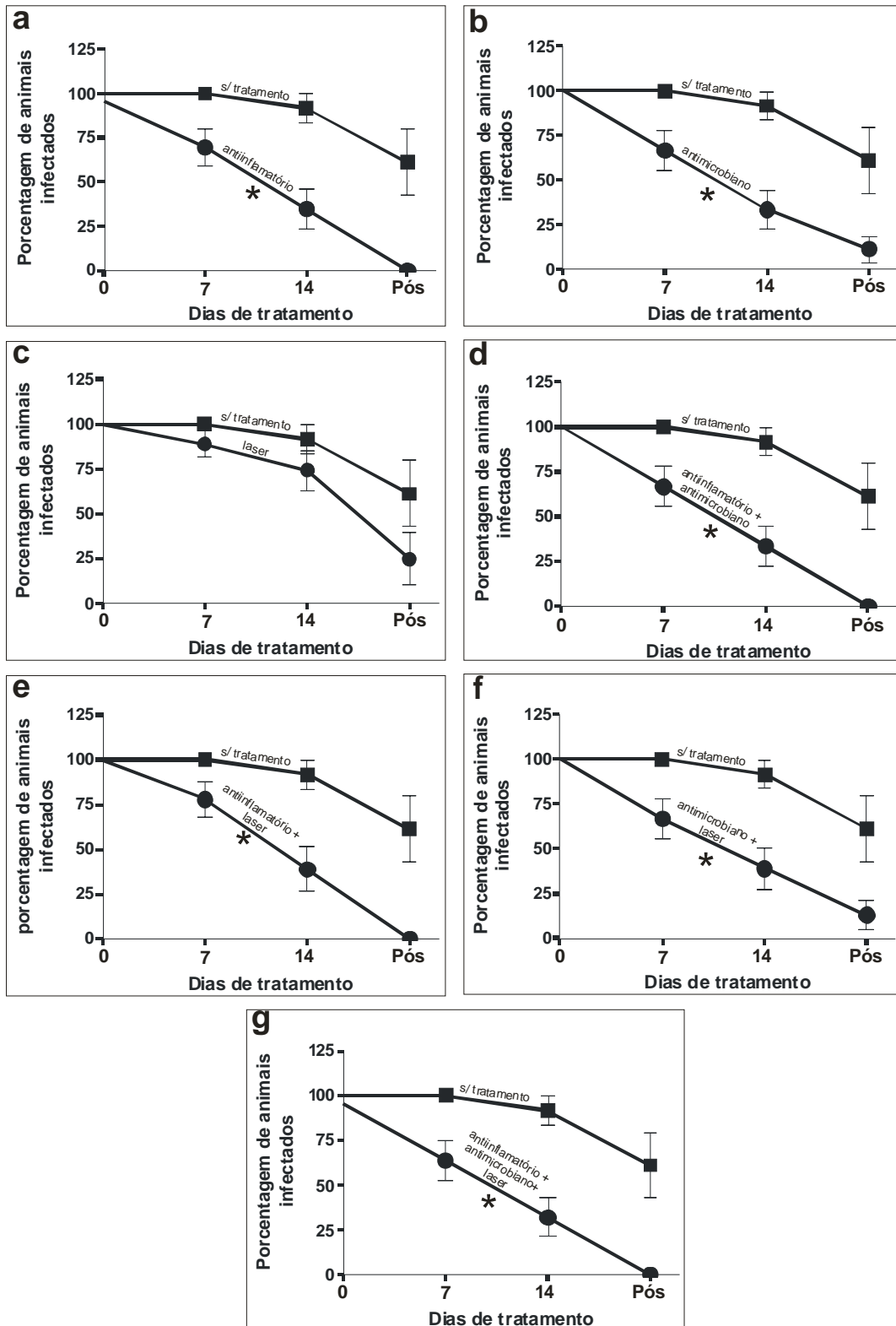


Figura 3 – Porcentagem de animais que apresentaram as articulações colonizadas pela bactéria após infecção por via endovenosa com *S. aureus* (10^7 UFC). A análise histológica confirmou a presença de *S. aureus* nas articulações pela coloração de Gram de tecido. A curva do grupo artrite (■) foi comparada com os grupos tratados (●) com (a) antiinflamatório; (b) antimicrobiano; (c) laser; (d) antiinflamatório + antimicrobiano; (e) antiinflamatório + laser; (f) antimicrobiano + laser; e (g) antiinflamatório + antimicrobiano + laser. Os animais foram sacrificados no 0, 7° e 14° dias de tratamentos e 7 dias após final do tratamento (Pós). (*) diferença estatística entre a curva dos animais tratados vs curva dos animais não tratados ($p < 0,05$).

6.2 MEDIDA DAS ESPESSURAS E DO NÍVEL DE EDEMA

A Figura 04 representa as medidas das articulações dos joelhos dos animais dos diversos grupos experimentais nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 após inoculação com *S. aureus*. Em todos os grupos artríticos houve aumento das medidas das articulações 7 dias após infecção ($p < 0,05$ vs controle). O grupo controle sem tratamento e o tratado com laser não apresentaram aumento significativo nas aferições das articulações durante os tempos avaliados pelo experimento. O grupo artrítico não tratado e o grupo artrítico tratado com laser mantiveram medidas elevadas durante os 28 dias de experimento.

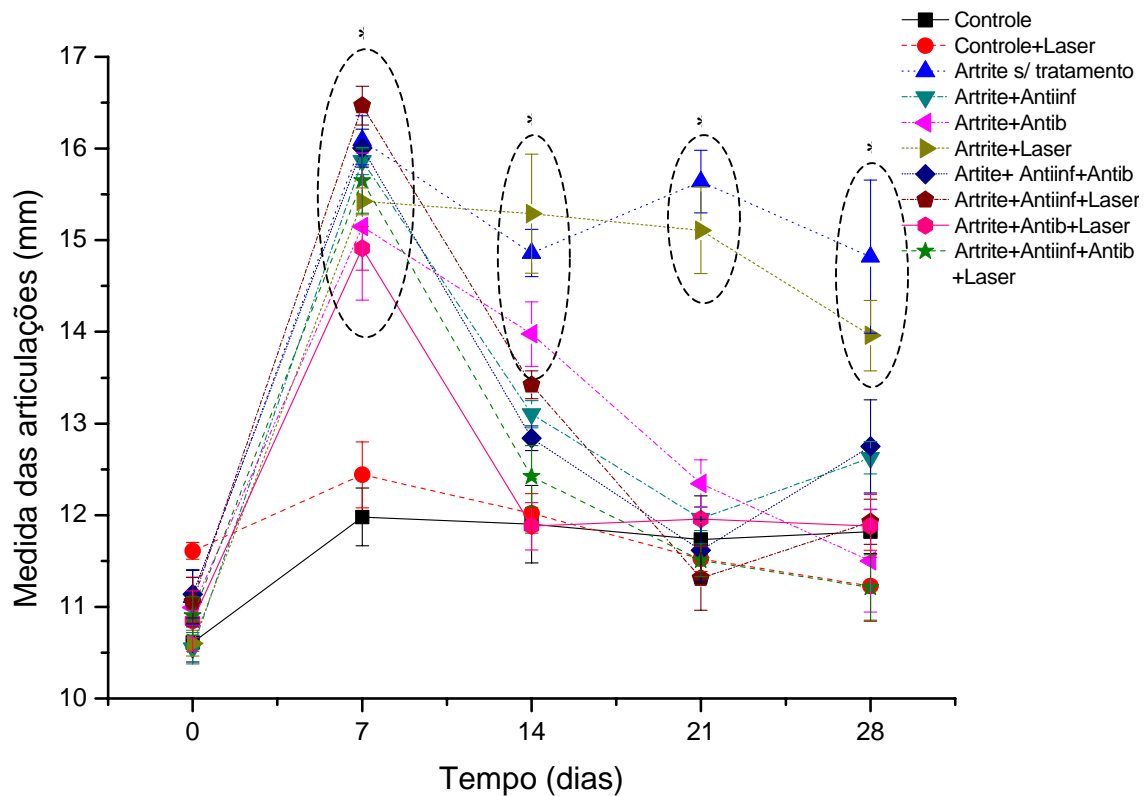


Figura 4 – Medida das espessuras das articulações dos joelhos dos camundongos tratados com diferentes terapias comparadas com as do grupo controle (■). As medidas foram tomadas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 após inoculação por via endovenosa de *S. aureus* (10^7 UFC) e salina estéril (controle). Os resultados estão expressos pela média mais \pm erro padrão. Média seguida por asterisco difere-se significativamente em relação ao controle em nível de $p < 0,05$ (teste de TUKEY).

A figura 05 mostra o edema articular provocado 7 dias após infecção de 10^7 UFC de *S. aureus* em camundongos SWISS machos. No gráfico a nos animais infectados não receberam nenhum tipo de tratamento.

Na figura 5b, onde os animais foram tratados durante 7 dias, os grupos tratados com a associação de duas ou mais terapias tiveram uma redução significativa no nível de edema. Entretanto, os grupos tratados exclusivamente com uma única terapia, somente o grupo tratado com etoricoxib foi eficiente em diminuir o edema.

Na figura 5c, após 14 dias de tratamento todos os grupos tiveram uma redução significativa do nível de edema. Entretanto, o grupo tratado apenas laser não foi eficiente em reduzir o edema no mesmo período.

Sete dias após o final do tratamento (figura 5d) nenhum dos grupos artríticos tratados apresentou o nível de edema aumento significativamente.

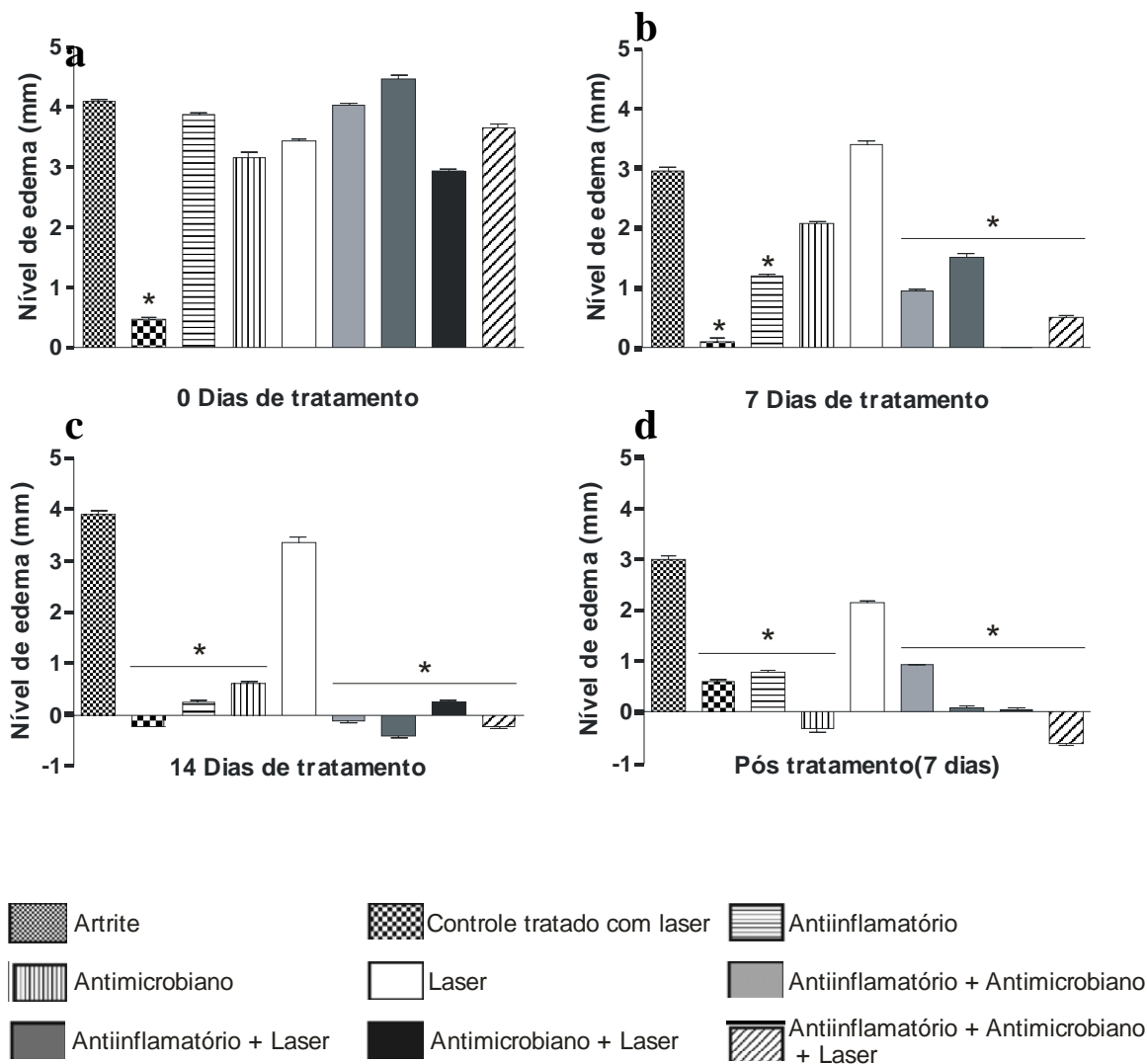


Figura 5 – Nível de edema articular provocado 7 dias após infecção de 10^7 UFC de *S. aureus* em camundongos SWISS machos. Os diferentes grupos experimentais foram comparados com o grupo artrite nos períodos: início do tratamento (gráfico a), com 7 e 14 dias de tratamento (gráfico b e c, respectivamente) e 7 dias após o final do tratamento (gráfico d). O nível de edema foi obtido através da diferença entre as medidas das articulações dos grupos experimentais e com as medidas do grupo sadio. Os resultados estão expressos pela média mais \pm erro padrão. Média seguida por asterisco difere-se significativamente em relação ao controle (artrite) em nível de $p < 0,05$ (teste de TUKEY).

6.3 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

A visualização das lâminas histológicas dos joelhos com edema sem tratamento mostra alterações difusas no tecido cartilaginoso, hipertrofia do tecido sinovial com consequente formação de pannus nos dias 7, 14, 21 e 28 após infecção. Nos camundongos infectados a 21 e 28 dias, é possível observar o processo inflamatório estendendo-se através da cartilagem e epífise óssea em direção à medula óssea adjacente em alguns camundongos o espaço articular é preenchido completamente pelo tecido inflamatório formado com alterações extensas na morfologia da articulação (FIGURA 06).

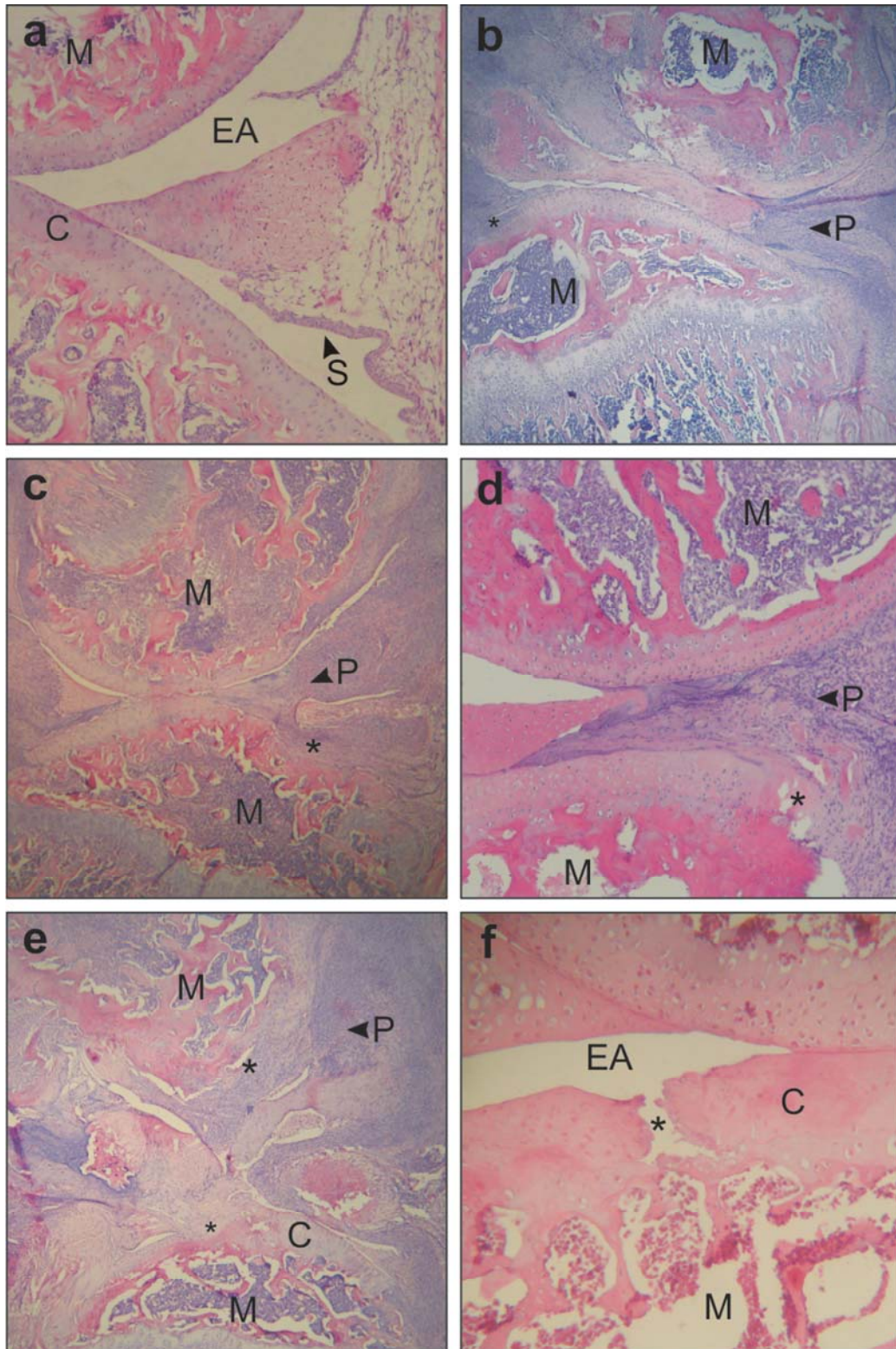


Figura 6 – Histopatologia das articulações de camundongos inoculados com *S. aureus* (10^7 UFC): (a) sacrificado 7 dias após inoculação com salina estéril. 100x. Nota-se a cartilagem intacta (C) camada delgada de tecido sinovial (S) e o espaço articular (EA). Nos grupos artrítico sem tratamento (b) 7 dias após infecção, 40x, (c) 14 dias após infecção, 40x e (d) 21 dias após infecção, 100x pode se observar desenvolvimento de pannus (P), em certas áreas, erosão da cartilagem (*). (e) animais sacrificados 28 dias após infecção com *S. aureus*. 40x. Ocorre a presença de alterações extensas na morfologia da articulação. (f) aumento de 400x do grupo 7 dias sem tratamento indica erosão da cartilagem com progressão para a região da osso subcondral (*). Medula (M), Espaço articular (EA). Coloração com H&E.

A análise histológica das articulações coletadas dos animais com 7 dias de tratamento está sumarizada na tabela 02. Com relação à eficiência do tratamento em reduzir o processo inflamatório (formação de pannus) e degradação da cartilagem dos camundongos artríticos: o grupo G10, apresentou melhora significativa na formação de pannus em relação ao grupo artrítico sem tratamento. Embora, não confirmada estatisticamente, houve uma tendência em reparar a degradação da cartilagem no grupo tratado com as 3 terapias (FIGURA 07).

Tabela 2 – Avaliação histológica de articulações dos camundongos com artrite induzida por *S. aureus* no 14º dia

Parâmetros histopatológicos	ANIMAIS							
	Não trata do (n=5) G3	Tratados com Antinflamatório (n=5) G4	Tratados com Antimicrobiano (n=5) G5	Tratados com Laser (n=5) G6	Tratados com Antinflamatório Antimicrobiano (n=5) G7	Tratados com Antinflamatório Laser (n=5) G8	Tratados com Antimicrobiano Laser (n=5) G9	Tratados com Antinflamatório Antimicrobiano Laser (n=5) G10
Formação de Pannus	2,90 ± 0,08	2,03 ± 0,18	2,55 ± 0,24	2,82 ± 0,36	2,11 ± 0,25	1,92 ± 0,14	2,42 ± 0,31	1,80 ± 0,20*
Degradação da Cartilagem	2,84 ± 0,12	2,10 ± 0,30	2,90 ± 0,27	2,82 ± 0,19	2,65 ± 0,21	2,12 ± 0,42	2,53 ± 0,30	2,05 ± 0,13

Os animais foram tratados por 7 dias e sacrificados 14 dias após inoculação por via endovenosa de *S. aureus* (10^7 UFC). A formação de pannus e destruição do tecido cartilaginoso foram avaliadas em um escore de 0-3. A ausência de qualquer uma dessas alterações e às mais severas corresponde ao grau 0 e 3, respectivamente. Os resultados estão expressos pela média mais ± erro padrão. Média seguida por asterisco difere-se significativamente em relação ao grupo não tratado em nível de $p < 0,05$ (teste de TUKEY).

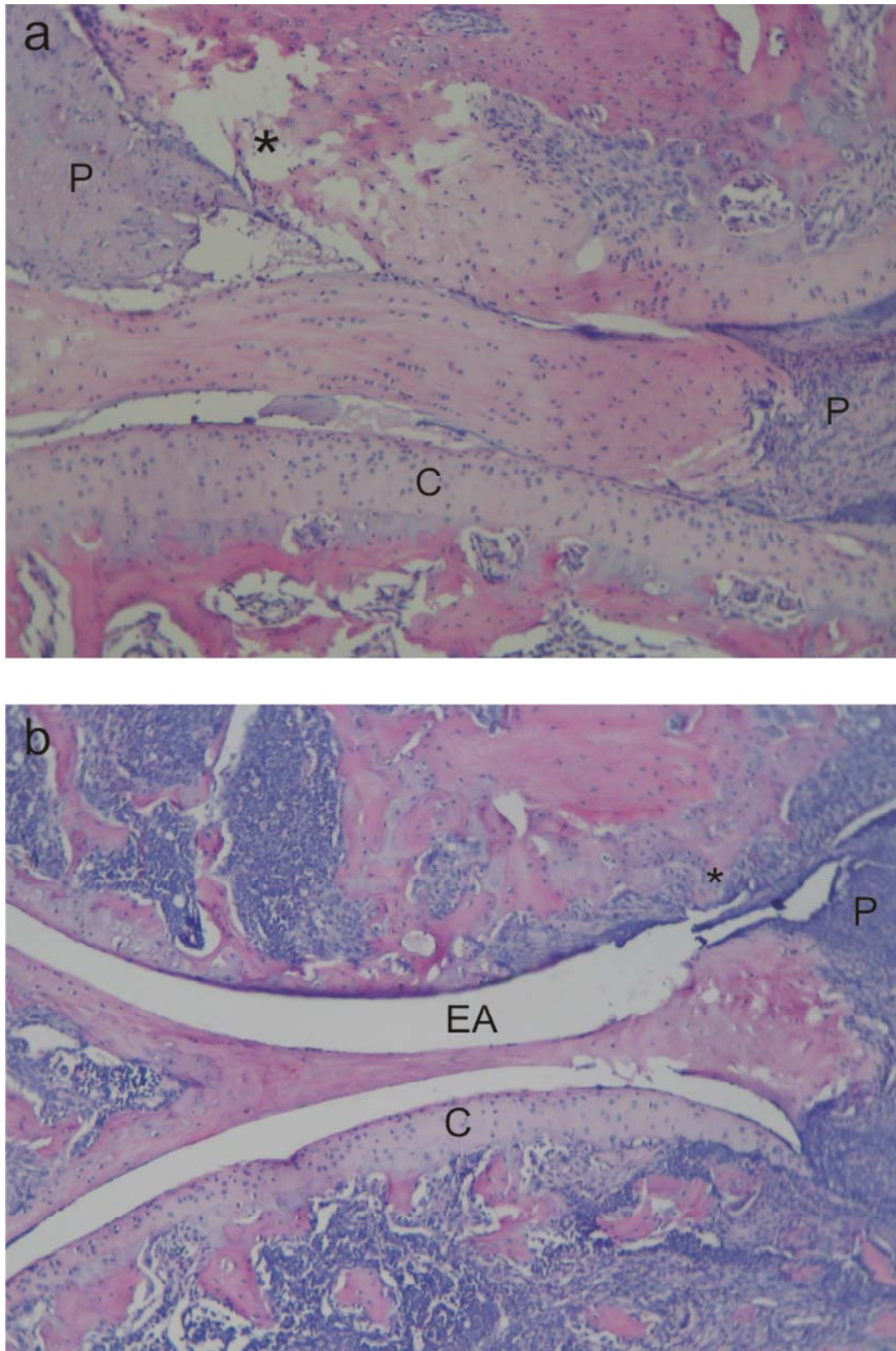


Figura 7 – Histopatologia das articulações de camundongos inoculados com *S. aureus* (10^7 UFC): (a) sacrificado 14 dias após infecção, 100x. Nota-se o preenchimento do espaço articular (EA) pelo tecido inflamatório formado (pannus) (P) e erosão da cartilagem (*). Nos grupos artríticos tratados com antiinflamatório, antimicrobiano e laser (b) durante 7 dias, 100x, pode se observar uma menor região com desenvolvimento de pannus (P), pequenas áreas com erosão da cartilagem (*) e manutenção do espaço articular (EA). Coloração com H&E.

A tabela 03 mostra os resultados das articulações dos camundongos tratados durante 14 dias. Observamos que os grupos G5 e G6 tiveram as mesmas alterações na formação de pannus e na degradação da cartilagem do que o grupo artrítico não tratado. Nos grupos G8 e G9 ocorreu a formação de pannus, contudo houve uma recuperação do tecido cartilagenoso. Adicionalmente, na mesma tabela, os dois parâmetros avaliados foram significativamente atenuados nos grupos G4, G7 e G10 em relação ao grupo artrítico não tratado. A análise histológica do grupo G10 mostra diminuição do processo inflamatório e aumentou o reparo da cartilagem articular (FIGURA 08).

Tabela 3 – Avaliação histológica de articulações dos camundongos com artrite induzida por *S. aureus* no 21º dia

Parâmetros histopatológicos	ANIMAIS							
	Não tratado (n=5) G3	Tratados com Antinflamatório (n=5) G4	Tratados com Antimicrobiano (n=5) G5	Tratados com Laser (n=5) G6	Tratados com Antinflamatório Antimicrobiano (n=5) G7	Tratados com Antinflamatório Laser (n=5) G8	Tratados com Antimicrobiano Laser (n=5) G9	Tratados com Antinflamatório Antimicrobiano Laser (n=5) G10
Formação de Pannus	2,92 ± 0,17	1,05 ± 0,09*	2,26 ± 0,23	1,92 ± 0,14	1,67 ± 0,39*	2,12 ± 0,17	2,47 ± 0,16	1,01 ± 0,30*
Degradação da Cartilagem	2,40 ± 0,07	1,27 ± 0,12*	2,01 ± 0,19	1,92 ± 0,09	1,60 ± 0,17*	1,02 ± 0,22*	1,46 ± 0,08*	1,52 ± 0,06*

Os animais foram tratados por 14 dias e sacrificados 21 dias após inoculação por via endovenosa de *S. aureus* (10^7 UFC). A formação de pannus e destruição do tecido cartilagenoso foram avaliadas em um escore de 0-3. A ausência de qualquer uma dessas alterações e às mais severas corresponde ao grau 0 e 3, respectivamente. Os resultados estão expressos pela média mais \pm erro padrão. Média seguida por asterisco difere-se significativamente em relação ao grupo não tratado em nível de $p < 0,05$ (teste de TUKEY).

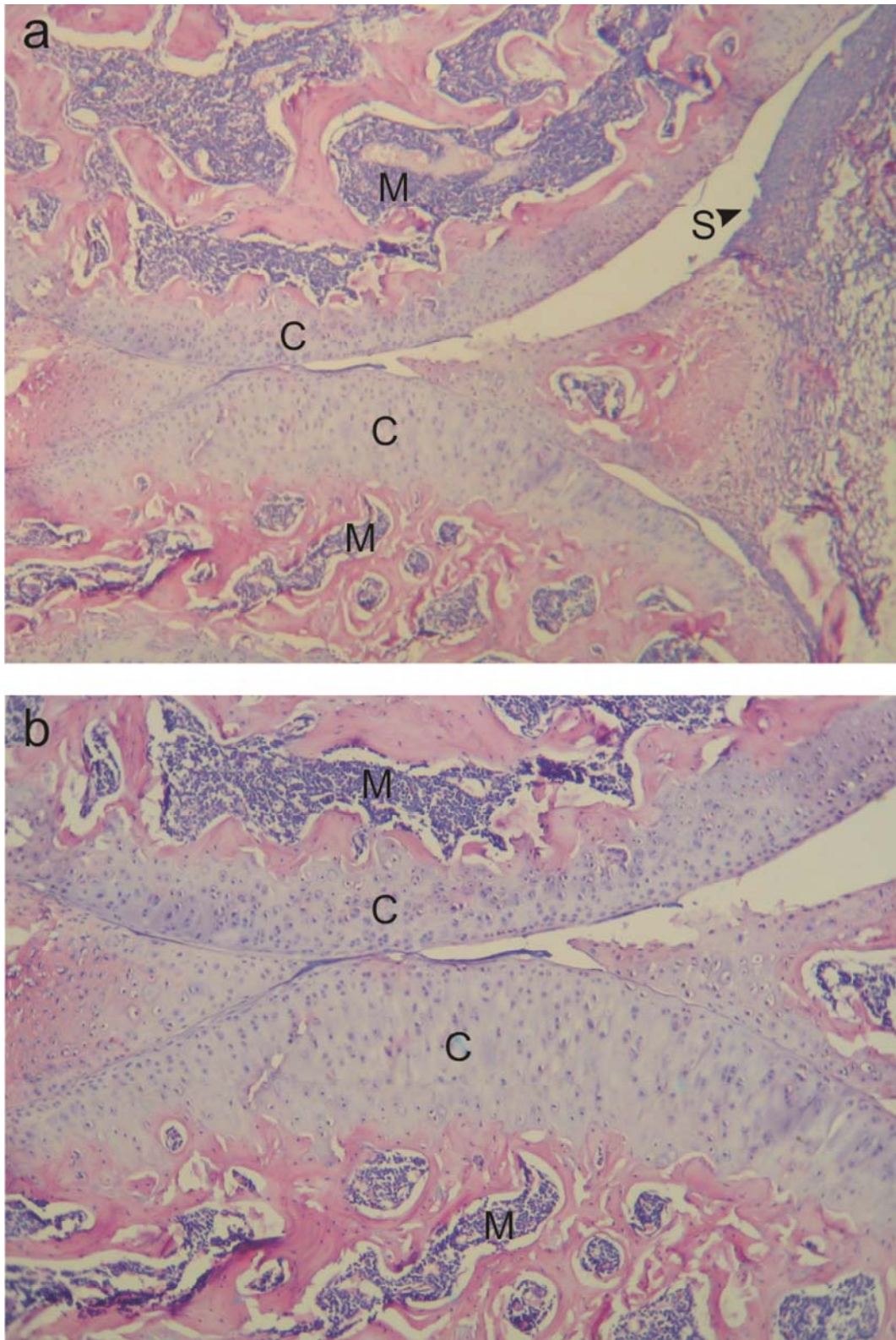


Figura 8 – Histopatologia das articulações de camundongos inoculados com *S. aureus* (10^7 UFC) e tratados com antiinflamatório, antimicrobiano e laser por 14 dias. Nota-se uma pequena hiperplasia do tecido sinovial (S) sem formação de pannus e manutenção do espaço articular (EA). (a) e (b) aumento de 40x e 100x, respectivamente. Medula (M). Coloração com H&E.

7 DISCUSSÃO

Doenças articulares, como a artrite séptica, são doenças graves associadas, principalmente, a dor, logo as terapias empregadas no tratamento têm como objetivo melhorar o mais rápido possível esta condição. Entretanto, estas doenças a médio e curto prazo levariam a alterações nas articulações com perda de função significativa. Nestes casos não existe uma estratégia terapêutica que seja eficiente (tempo de tratamento menores) com todos os pacientes e de forma permanente, o que pode levá-los a procurar terapias não convencionais, por exemplo, a laser terapia.

As propriedades curativas da radiação laser, aliadas à segurança do tratamento fizeram com que a aplicação da laser terapia apresentasse um crescimento significativo como tecnologia terapêutica na área de fisioterapia. Justificando, o aumento do interesse dos pesquisadores da área biomédica, na investigação dos mecanismos de ação dos efeitos terapêuticos dos lasers de baixa potência.

Os efeitos do laser de baixa potência (LLLT) são baseados nos mecanismos não térmicos, ou seja, a partir da interação da luz com o tecido, influenciando funções celulares, tais como, estimulação ou inibição de atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas, e promovendo efeitos de biomodulação (BASFORD JR, 1995; KITCHEN & BAZIN, 1996).

Diversos autores vêm destacando a atividade bactericida da laserterapia de baixa intensidade. DESIMONE et al (1999) comprovaram que os lasers HeNe e InGaAlPO₄ (índio-gálio-alumínio-fosfato) possuem boa atividade bactericida, em estudos realizados *in vitro*, sobre culturas de *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo mais eficaz o laser InGaAlPO₄ devido a sua maior potência de saída. Nossos resultados comprovam que o laser de Arsenieto de Gálio utilizado nas nossas condições (830 nm, potência de saída de 45 *watts* (W) e 4 J/cm²) não teve efeito bactericida, sendo incapaz de eliminar *S. aureus* nas articulações dos animais infectados.

Com relação aos efeitos dos lasers de baixa potência na regeneração do tecido cartilaginoso os trabalhos realizados *in vivo* e *in vitro* apresentam resultados controversos (HARDIE et al., 1989; HONMURA et al., 1993). A evidência de regeneração cartilaginosa foi descrita por vários autores, em contra partida, outros trabalhos não mostraram diferenças significantes nos tecidos cartilaginoso e ósseo entre os grupos tratado e controle, e também altas doses de laser podem acelerar o processo de destruição articular (HARDIE et al., 1989).

Estudos demonstram a influência da LLLT no aumento das glicosaminoglicanas na cartilagem bovina e também aumento na síntese de colágeno (HERMAN & KHOSLA, 1988). Em pacientes com artrite reumatóide, a utilização da LLLT mostrou-se eficaz no tratamento desta doença, resultando numa diminuição do infiltrado celular inflamatório, promovendo alívio dos sintomas e recuperação da articulação (BROSSEAU et al., 2000).

No nosso trabalho, o grupo tratado sete dias com antimicrobiano e antiinflamatório e laser mostrou ser mais eficiente em diminuir o processo inflamatório articular (formação de pannus) e reparar a degradação da cartilagem do que o grupo tratado convencionalmente (antimicrobiano e antiinflamatório) durante o mesmo período.

A respeito do mecanismo de ação do LLLT na redução do edema, alguns autores sugerem que os componentes celulares (fotoreceptores) podem absorver fótons fornecidos através da energia do laser e acelerar a produção de ATP, fornecendo energia para célula, que por sua vez pode modular a resposta inflamatória (WILDEN & KAETHEIN, 1998).

O presente trabalho mostra que o uso de antimicrobiano nos animais artríticos não foi eficiente em diminuir o edema articular com 7 dias de tratamento, contudo o uso da radiação com LLLT de As-Ga (830 nm) associado à terapia antimicrobiana foi capaz de reduzir significativamente o edema de articulação em camundongos decorrente da artrite induzida por *S. aureaus* no mesmo tempo de tratamento. Entretanto, usado como única terapia não apresentou efeito terapêutico no edema articular. Ainda neste contexto, os grupos G4, G7, G8 e G10 tratados com 7 dias de tratamento com etoricoxib (dose diária de 60 mg/Kg de peso corpóreo) mostraram ser eficiente na redução do edema.

O tratamento com laser não provocou alterações na cartilagem de camundongos com artrite séptica. Índices morfométricos (medida das articulações e análise histológica) não foram diferentes dos verificados no grupo controle sem nenhum tratamento.

A evolução do processo artrítico começa com a fase aguda que dura os três primeiros dias e é caracterizada por aumento da permeabilidade vascular seguida por migração de células polimorfonucleares para o líquido sinovial já nas primeiras 6 horas (ROCHA et al., 2003). A partir do sétimo dia após a indução, o lavado sinovial é caracterizado por influxo de células mononucleares o que caracteriza a fase subaguda. A seguir, ocorre uma persistente proliferação de células da íntima sinovial e infiltração de linfócitos e macrófagos, além da formação de pannus (ROCHA et al., 2003), progredindo com acentuada fibrose ao 14º dia (BEZERRA et al., 2004), culminando ao 28º dia com a formação de fendas extensas e fragmentação estrutural. (RAMOS et al., 2001). Nossos estudos histopatológicos corroboram com os estudos de RAMOS et al., 2001, ROCHA et al., 2003 e BEZERRA et al., 2004, pois nos animais infectados 7 dias após com *S. aureaus* e não tratados apresentaram articulações

com formação de pannus e conseqüentemente degradação da cartilagem. No grupo 28 dias pós-infecção as alterações do espaço articular são extensas e com alterações na morfologia da articulação.

Embora, o presente estudo não elucide qual(is) o(s) mecanismo(s) de ação da laser terapia de baixa intensidade, os resultados demonstram que o laser de Arsenieto de Gálio possui efeito benéficos sobre a artrite séptica, diminuindo a resposta inflamatória, induzindo o reparo tecidual da cartilagem. Sua utilização pode constituir uma alternativa útil para o tratamento do processo inflamatório e degradativo como adjuvante sinérgico ou seqüencial de terapias tradicionais, principalmente para pacientes que compreendem o grupo de risco às reações e interações que as drogas apresentam.

8 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, o trabalho mostra certo grau de efetividade do tratamento com laser de baixa potência de As-Ga como adjuvante na terapia de doenças articulares degenerativas, quando associada às terapias convencionais.

Apresentou efeito antiinflamatório quando associado a outras terapias reduzindo a formação de pannus na cavidade articular nos animais infectados e tratados por 7 dias. Neste mesmo intervalo o tratamento com antimicrobiano e laser mostrou ser mais eficiente em reduzir o edema se comparando com o grupo tratado com antimicrobiano. Com quatorze dias de tratamentos, apesar do nível de edema igualar-se nos diferentes grupos tratados, a recuperação articular observada pela análise histológica foi mais evidente no grupo G10, quando utilizamos à associação do tratamento convencional a laser terapia de baixa intensidade. Mostrando que a associação das duas terapias, além de reduzir o nível de edema, reduziu o processo inflamatório e aumentou o reparo da cartilagem articular.

REFERÊNCIAS

- ABDELNOUR, A., ARVIDSON, S., BREMELL, T., RYDEN, C., TARKOWSKI, A., The accessory gene regulator (*agr*) controls *Staphylococcus aureus* virulence in a murine arthritis model. **Infect. Immun.**, V. 61, p. 3879–3885, 1993.
- ABDELNOUR A, BREMELL T & TARKOWSKI A. Toxic shock syndrome toxin-1 contributes to the arthritogenicity of *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Infectious Diseases**; v. 170, p 84-89, 1994.
- AGARWAL S, LONG P, GASSNER R, et al. Cyclic tensile strain suppresses catabolic effects of interleukin-1beta in fibrochondrocytes from the temporomandibular joint. **Arthritis Rheum**; v. 44, n.3, p. 608–17, 2001.
- AMIN AR, ATTUR MG, PATEL RN, THAKKER GD, MARSHALL PJ, REDISKE J, et al. Superinduction of cyclooxygenase-2 activity in human osteoarthritis-affected cartilage: Influence of nitric oxide. **J. Clin. Invest.** V. 99 p. 1231-7. 1997.
- ANDERSON, G.D., HAUSER, S.D., MCGARITY, K.L., BREMER, M.E., ISAKSON, P.C., GREGORY, S.A. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. **J. Clin. Invest.**, V. 97, p. 2672– 2679, 1996.
- BASFORD JR., Low intensity laser therapy – still not na established clinical tool. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 16, n. 4, p. 331-42, 1995.
- BASFORD, J. Low-energy Laser Therapy. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 9, p. 1-5, 1989.
- BAXTER, G.D. Therapeutic Laser. USA: **Ed. Churchill Livingstone**. p. 1-19, 1997.
- BAXTER, G.D; BELL, A. J; ALLEN, J.M; RAVEY, J. Low level laser therapy: current clinical practice in Northern Ireland. **Physiotherapy**, v.77, p. 171-178, 1991.
- BEACHY, E.H., DALE, J.B., SIMPSON,W.A. Erythrocyte binding properties of streptococcal lipoteichoic acids. **Infect. Immun.**, V. 23, p. 618– 625, 1979.
- BEHMER, O.A; TOLOSA, E.M.C; FREITAS NETO, A.G.I. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica. **EDART, Ed. Da Universidade de São Paulo**. 1976.

BELHORN, L; HESS, E. An update of osteoarthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, V. 33, n. 5, p. 181-185, 1993.

BELKUM A. V., KOOLS-SIJMONS, M., VERBRUGH H. Attachment of *Staphylococcus aureus* to eukaryotic cells and experimental pitfalls in staphylococcal adherence assays: a critical appraisal, **Journal of Microbiological Methods**, V. 48, p. 19–42, 2002.

BENSEN WG. Antiinflammatory and analgesic efficacy of COX-2 specific inhibition from investigational trials to clinical experience. **J Rheumatol Suppl.**, V. 60, p. 17-24, 2000.

BERENBAUM F, JACQUES C, THOMAS G, CORVOL MT, BEREZIAT G, MASLIAH J. Synergistic effect of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha on PGE2 production by articular chondrocytes does not involve PLA2 stimulation. **Exp Cell Res.**, V. 222, p. 379-84, 1996.

BEZERRA MM, BRAIN SD, GREENACRE S, JERONIMO SM, DE MELO LB, KEEBLE J, DA ROCHA FA. Reactive nitrogen species scavenging, rather than nitric oxide inhibition, protects from articular cartilage damage in rã tzymosan-induced arthritis. **Br J Pharmacol.**, V. 141, n. 1, p. 172-82, 2004.

BLAKE DR, MERRY P, UNSWORTH J, KIDD BL, OUTHWAITE JM, BALLAR R, et al. Hypoxic-reperfusion injury in the inflamed joint. **Lancet**, V. 1, p. 289–93, 1989.

BOMBARDIER C, LAINE L, REICIN A, SHAPIRO D, BURGOS-VARGAS R, DAVIS B, et al. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR Study Group. **N Engl J Med.**, V. 343, n. 21, p. 1520–8, [2 p following 1528], 2000.

BORDERIE D, HILLIQUIN P, HERNVANN A, LAMARECHAL H, KAHAN A, MENKES CJ, *et al.* Inhibition of inducible NO synthase by TH2 cytokines and TGF beta in rheumatoid arthritic synoviocytes: effects on nitrosothiol production. **Nitric Oxide**, V. 6, p.271–82, 2002.

BORGES, D.S. MORETTI, J.A. PARIZOTTO, N.A. CHAGAS, E.F. Influência do laser arsenieto de gálio (AsGa) sobre a dor no modelo experimental de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, V.1, p. 1-7, 1996.

BRAVERMAN, B. McCARTHY, R.J. IVANKOVICH, A.D. FORDE. D. Effect of Helium-Neon and infrared Laser Irradiation on Wound Healing in Rabbits. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 9, p. 50-58, 1989.

BREMELL, S. LANGE, A. YACOUB, C. RYDEN, A. TARKOWSKI. Experimental *Staphylococcus aureus* arthritis in mice. **Infect. Immun.**, V. 59, p. 2615–2623, 1991.

BREMELL, T; TARKOWSKI, A. Preferential induction of septic arthritis and mortality by superantigen-producing staphylococci. **Infection and immunity**, V.63, p. 4185-4187, 1995.

BROOKS P, EMERY P, EVANS JF et al. Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. **Rheumatology**, V. 31, p. 779-788, 1999.

BROSSEAU, L; WELCH, V; WELLS, G; Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metaanalysis. **The Journal of Rheumatology**, V. 27, p. 1961-1969, 2000.

BROX, J.I. STAFF, P.H. LJUNGGREN, A.E. Arthroscopic surgery compared with supervised exercises in patients with rotator cuff disease (stage II impingement syndrome). **British Medical Journal**, V.307, p.899-902, 1993.

Cannon GW, Breedveld FC. Efficacy of cyclooxygenase-2 – specific inhibitors. **Am J Med.**, V. 110 (suppl 3A), p. 6-12, 2001.

CARRUTHERS, M.M., KABAT, W.J.. Mediation of staphylococcal adherence to mucosal cells by lipoteichoic acid. **Infect. Immun.**, V. 40, p. 444– 446, 1983.

CHANDRASEKHARAN NV, DAI H, ROOS KL, EVANSON NK, TOMSIK J, ELTON TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, V. 99, p.13926-31, 2002.

CHAURET, N. et al. In Vitro Metabolism Considerations, Including Activity Testing of Metabolites, in the Discovery and Selection of the COX-2 Inhibitor Etoricoxib (MK-0663), **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, V. 11, p. 1059–1062, 2001.

CLEMETT D & GOA KL. Celecoxib: a review of its use in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and acute pain. **Drugs**, V. 59, p. 957-980, 2000.

CROFFORD LJ, OATES JC, MCCUNE WJ, GUPTA S, KAPLAN MJ, CATELLA-LAWSON F, et al. Thrombosis in patients with connective tissue diseases treated with specific cyclooxygenase 2 inhibitors: A report of four cases. **Arthritis Rheum.**, V. 43, p. 1891-6, 2000.

CRUZZOCREA, S; MAZZON, E; SERRAINA, I. et al. Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor reduces the severity of experimental colitis induced by dinitrobenzene sulfonic acid in rats. **European Journal of Pharmacology**, V. 9, n. 431 (1), p. 91-102, 2001.

CURTISS, P. H. The pathophysiology of Joint Infection. **Clinical Orthopedic.**, V. 96, p. 129-135, 1973.

DE BIE, R.A. DE VET, H. LENSSEN, T.F. WILDENBERG, F. KOOTSTRA, G. Low-level laser therapy in ankle sprains: a randomized clinical trial. **Arch Phys Med Rehabil.**, V.79, p. 1415-1420, 1998.

DESIMONE, N.A; CHRISTIANSEN, C; DORE, D. Bactericidal Effect of 0.95-mW Helium-Neon and 5-mW Indium-Gallium-Aluminium-Phosphate Laser Irradiation at Exposure Times of 30, 60, and 120 Seconds on Photosensitized *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro. **Physical Therapy**, V. 79, n. 9, p. 839-846, 1999.

EASMON, C.S.F. & ADLAM, C. Staphylococci and staphylococcal infections. **Academic Press**, 1983.

ENWEMEKA, C. RODRIGUEZ, O. GALL, N. WALSH, N. Morphometricis of collagen fibril populations in He:Ne laser photostimulated tendons. **Journal of Clinical Medicine & Surgery**, p. 47-52, 1990.

ESPERSEN, F., CLEMMENSEN, I. Isolation of a fibronectin-binding protein from *Staphylococcus aureus*. **Infect. Immun.**, V. 37, p. 526–531, 1982.

FAHMI H, PELLETIER JP, MINEAU F, MARTEL-PELLETIER J. 15d-PGJ(2) is acting as a “dual agent” on the regulation of COX-2 expression in human osteoarthritic chondrocytes. **Osteoarthritis Cartilage**, V. 10, p. 845-8, 2002.

FERMOR B, WEINBERG JB, PISETSKY DS, MISUKONIS MA, BANES AJ, GUILAK F. The effects of static and intermittent compression on nitric oxide production in articular cartilage explants. **J. Orthop. Res.**, V.19, p. 729–37, 2001.

FERNANDES, J.C; MARTEL-PELLETIER, J; PELLETIER, J.P. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. **Biorheology**, V. 39, n.1-2, p. 237-246, 2002.

FERREIRA PEMS. Dor crônica: avaliação e tratamento psicológico. In: **Andrade Filho ACC. Dor: diagnóstico e tratamento.** p. 43-52. 2001.

FOWLER JR VG. Current and future antibiotics for treatment of resistant Gram-positive infections. **Clin Updates Infect. Dis.** v. 7 p. 1–4, 2004.

FUNG, H.B.; KIRSCHENBAUM, H.L. Selective cyclooxygenase-2 Inhibitors for the Treatment of Arthritis. **Clinical Therapeutics**, V. 21, n. 7, p. 1131-1157, 1999.

GAMALEYA, N.F. Laser biomedical research in the URSS. **Laser Applications in Medicine and Biology**, p. 15-149, 1997.

GJERTSSON, I.; NITSCHKE, L.; TARKOWSKI, A. The role of B cell CD22 expression in *Staphylococcus aureus* arthritis and sepsis. **Microbes and Infection**, V. 6, p. 377–382, 2004.
GOATS, G.C. FLETT, E. HUNTER, J.A. STIRLING, A. A Low intensity laser and phototherapy for rheumatoid arthritis. **Physiotherapy**, V.82, n. 5, p. 311-320, 1996.

GOLDENBERG DL Bacterial arthritis. In **Kelley WN, Harris ED, Ruddy S & Sledge CB (eds). Textbook of Rheumatology**. ed. 4 p. 1449–1460. 1993.

GOTSCHLICH EC. Immunity to extracellular bacteria. In Paul WE (ed.). **Fundamental immunology**. 3rd edn. p. 1287-1308. New York: Raven Press, 1993.

GRISTINA, A.G; NAYLOR, P.T; MYRVIK, Q.N. Mechanisms of musculoskeletal sepsis. **Orthopedic clinics of North America**. v. 22, p. 363-371. 1991.

HALL, J. CLARKE, A.K. ELVINS, D.M. RING, F.J. Low level laser therapy is ineffective in the management of rheumatoid arthritis finger joints. **British Journal of Rheumatology**, V. 33, p. 142-147, 1994.

HARDIE, E.M. CARLSON, C.S. RICHARDSON, D.C. Effect of Nd:YAG laser energy on articular cartilage healing in the dog. **Laser in Surgery and Medicine**, V. 9, p. 595-601, 1989.

HAYASHI T, ABE E, YAMATE T, TAGUCHI Y, JASIN HE. Nitric oxide production by superficial and deep articular chondrocytes. **Arthritis Rheum.**, V. 40, p.261–9, 1997.

HENROTIN Y, ZHENG SX, LABASSE AH, DEBY GP, CRIELAARD JM, REGINSTER JY. Modulation of human chondrocyte metabolism by recombinant interferon. **Osteoarthritis Cartilage**, V. 8, p.474–82, 2000.

HENROTIN, Y. E.; BRUCKNER, P.; PUJOL, J. P. L. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**, V. 11, n. 10, p. 747-755, 2003.

HERMAN, H.J. KHOSLA, R.C. In vitro Effects of Nd:YAG Laser Radiation on Cartilage Metabolism. **The Journal of Theumatology**, V. 15, n. 12, p. 1818-1826, 1988.

HEUSLLER, J.K. HINKEY, G. MARGIOTTA, E. QUINN, R. BUTLER, P. MARTIN, J. STURGES, A.D. A double blind randomised trial of low power laser treatment in rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, V. 52, p. 703-706, 1993.

HIBBS, J. B., TAINTOR, R. R., VAVRIN, Z. et. al. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage molecule. **Biochem Biophys Res Commun.**, V. 157, p. 87-94, 1998.

HILAL G, MARTEL-PELLETIER J, PELLETIER J-P, RANGER P, LAJEUNESSE D. Osteoblast-like cells from human subchondral osteoarthritic bone demonstrate an altered phenotype in vitro: possible role in subchondral bone sclerosis. **Arthritis Rheum.**, V. 41, p. 891–99, 1998.

HIRAN, T.S., MOULTON, P.J., HANCOCK, J.T. Detection of superoxide and NADPH oxidase in porcine articular chondrocytes. **Free Radic Biol Med**, V. 23, p.736–43, 1997.

HONMURA, A. ISHII, A. YANASE, M. OBATA, J. HARUKI, E. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin- induce inflammation. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 13, p. 463-469, 1993.

HONMURA, A. YANASE, M. OBATA, J. HARUKI, E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 12, p. 441-449, 1992.

HOOK, M., MC GAVIN, M.J., SWITALSKI, L.M. et al. Interaction of bacteria with extracellular matrix proteins. **Cell Differentiation and Development**; V.32, p. 433-438, 1990.

JIN, T. et al. *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. **J. Immunol.**, V. 172, p. 1169-1176, 2004.

JONES, D., BOARD, R.G., SUSSMAN, M. Staphylococci. **Journal Applied of Bacteriology**, 1990.

JONES, G.W., ISAACSON, R.E., 1983. Proteinaceous bacterial adhesions and their receptors. **Crit. Rev. Microbiol.**, V. 10, p. 260– 299, 1983.

JONSSON, P., LINDBERG, M., HARALDSSON, I., WADSTROM, T. Virulence of *Staphylococcus aureus* in a mouse mastitis model: studies of alpha hemolysin, coagulase and protein A as possible virulence determinants with protoplast fusion and gene cloning. **Infect. Immun.**, V. 49, p. 765– 769, 1985.

JOSEFSSON E, HARTFORD O, O'BRIEN L et al. Protection against experimental *Staphylococcus aureus* arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. **The Journal of Infectious Diseases**; V. 184, p.1572-1580, 2001.

KARU, T. The Science of Low-Power Laser Therapy. **Australia: Gordon and Breach Science Publishers**; 1998.

KARU, T. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. **IEEE Journal of Quantum Electronics**, V. QE-23, n. 10, p. 1703-1717, 1987.

KARU, T. PYATIBRAT, L. KALENDO, G. Irradiation with He:Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, V. 27, p. 219-223, 1995.

KARU, T. TIPHLOVA, O. SAMOKHINA, M. DIAMANTOPOULOS, C. Effect of near-infrared laser and superluminescent diode irradiation on escherichia coli division rate. **IEEE Journal of Quantum Electronics**, V. 26, p. 2162-2165, 1990.

KARU, T.; PYATIBRAT, L.; KALENDO, G.; ESENALIEV, R. Effects of monochromatic low-intensity light and laser irradiation on adhesion of HeLa cells in vitro. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 18, p. 171-177, 1996.

KATORI, M., MAJIMA, M. Cyclooxygenase-2: its rich diversity of roles and possible application of its selective inhibitors. **Inflamm. Res.**, V. 49, p. 367– 392, 2000.

KIRST, H.A., THOMPSON, D.G., NICAS, T.I. Historical yearly usage of vancomycin. **Antimicrob. Agents Chemother.**, V. 42, p. 1303–4, 1998.

KITCHEN, S.S., BAZIN, S. Eletroterapia de Clayton. **Ed. Manole Ltda.** p. 191-210. 1996.

KITCHEN, S.S. PARTRIDGE, C.J. A review of Low level laser therapy. Part I: Background, physiological effects and hazards. **Physiotherapy**, V. 77, p. 161-163, 1991.

KLOOS, W.E. & LAMBE JR., D.W. Staphylococcus. In: **Balows, A. et al. (ed.). Manual of clinical microbiology.** 5th ed., American Society for Microbiology, Washington, DC. p.222-237. 1991.

KLOTH, L. Wound Healing: alternatives in management. **USA: Churchill Livingstone.** p. 347-364. 1997.

LAVIGNE, P., BENDERDOUR, M., LAJEUNESSE, D., REBOUL, P., SHI, Q., PELLETIER, J.P., MARTEL-PELLETIER, J., FERNANDES, J.C. Subchondral and trabecular bone metabolism regulation in canine experimental knee osteoarthritis. **Osteoarthritis Cartilage**, V. 13, n. 4, p. 310-7, 2005.

LEE, J.C., TAKEDA, S., LIVOLSI, P.J., PAOLETTI, L.C. Effects of in vitro and in vivo growth conditions on expression of type 8 capsular polysaccharide by *Staphylococcus aureus*. **Infect. Immun.**, V. 61, p.1853– 1858, 1993.

LEE, L. Y. et al. Identification and characterization of the C3 binding domain of the *Staphylococcus aureus* extracellular fibrinogen-binding protein (Efb). **J. Biol. Chem.**, V. 279, p. 50710-50716, 2004b.

LEE, L. Y. et al. Inhibition of complement activation by a secreted *Staphylococcus aureus* protein. **J. Infect. Dis.**, V. 190, p. 571-579, 2004a.

LESLIE, B.M., HARRIS, J.M.D., DRISCOLL, D. Septic arthritis of the shoulder in adults. **Journal of Bone and Joint Surgery**, V. 71A, p. 1516–1522, 1989.

LICHTMAN, S.N. et al; Reaction of Arthritis Induced by Small Bowel Bacterial Overgrowth in Rats: Role of Cytokines, Bacteria, and Bacterial Polimers. **Infection and Immunity**, V. 63, n. 6, p. 2295-2301, 1995.

LIPSKY, P.E., ISAKSON, P.C. Outcome of specific COX-2 inhibition in rheumatoid arthritis. **J Rheumatol.**, V. 24 (suppl 49), p. 9-14, 1997.

LOHMANDER, L.S. What can we do about osteoarthritis? **Arthritis Res**, V.2, p.95–100, 2000.

LONG, P., LIU, F., PIESCO, N.P. et al. Signaling by mechanical strain involves transcriptional regulation of proinflammatory genes in human periodontal ligament cells in vitro. **Boné**, V. 30, n. 4, p. 547–52, 2002.

LOW, L., REED, A. Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática. 3ª ed. **Manole** ed. 3 p. 289-409. 2001.

LOWY, F.D. Medical Progress: *Staphylococcus aureus* Infection. **The New England Journal of Medicine**, V.339 (8), p. 1-12, 1998.

LYONS-GIORDANO, B., PRATTA, M.A., GALBRAITH, W., DAVIS, G.L., ARNER, E.C. Interleukin-1 differentially modulates chondrocyte expression of cyclooxygenase-2 and phospholipase A2. **Exp Cell Res**, V. 206, p. 58-62, 1993.

MADER, J.T., SHIRTLIFF, M., CALHOUN, J.H. The host and the skeletal infection: classification and pathogenesis of acute bacterial bone and joint sepsis. **Baillière's Clinical Rheumatology**, V.13, p. 1-20, 1999.

MALAWISTA, S. E., MONTGOMERY, R. R., BLARICOM G. V. Evidence of reactive nitrogen intermediates in killing of staphylococci by human neutrophil cytotblasts: a new microbicidal pathway for human polymorphonuclear leukocytes. **J. Clin Invest.**, V. 90, p. 631-6, 1992.

MAMIDI, R.N.V.S., MULLANGI, R., KOTA, J., BHAMIDIPATI, R., KHAN, A.A., KATNENI, K., DATLA, S., SINGH, S.K., RAO, Y.K., SESHAGIRI RAO, C., SRINIVAS, N.R., RAJAGOPALAN, R. Pharmacological and pharmacokinetic evaluation of celecoxib prodrugs in rats. **Biopharmaceutics and Drug Disposition**, V.23, p. 273–282, 2002.

MAYER-SCHOLL, A. et al. How do neutrophils and pathogens interact? **Curr. Opin. Microbiol.**, V. 7, p.62-66, 2004.

McCARTNEY-FRANCIS, N., ALLEN, J. B., MIZEL, D. E. et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. **J. Exp Med**; V. 178, p. 749-54, 1993.

MESTER, E., MESTER, A.F., MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 5, p. 31-39, 1985.

MILLER, C., ZHANG, M., HE, Y., ZHAO, J., PELLETIER, J.P., MARTEL-PELLETIE et al. Transcriptional induction of cyclooxygenase-2 gene by okadaic acid inhibition of phosphatase activity in human chondrocytes: co-stimulation of AP-1 and CRE nuclear binding proteins. **J Cell Biochem.**, V. 69, p. 392-413, 1998.

MINO, T., YUASA, U., NAKAMURA, F., NAKA, M., TANAKA, T. Two distinct actin-binding sites of smooth muscle calponin. **Eur. J. Biochem.**, V. 251, p. 262– 268, 1998.

MOULTON, P.J., HIRAN, T.S., GOLDRING, M.B., HANCOCK, J.T. Detection of protein and mRNA of various components of the NADPH oxidase complex in an immortalized human chondrocyte line. **Br J Rheumatol**, V. 36, p. 522–9, 1997.

MUKHERJEE, D., NISSEN, S.E., TOPOL, E.J. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. **JAMA**, V. 286, p. 954-9, 2001.

MUKHERJEE, D. Selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors and potential risk of cardiovascular events. **Biochem Pharmacol**, V. 63, p. 817-21, 2002.

NAGARAJAN, R. Glycopeptide antibiotics. **New York: Marcel Dekker**; 1994.

NATHAN, P. W., STRANG, W. W. The joint cartilage in its relation to joint pathology. **J. Bone Joint Surg. Am.**, V.2, n.7, p. 85-93, 1909.

NILSSON, I-M, LEE, J.C., BREMELL, T. et al. The role of polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis. **Infection and Immunity**, V.65, p. 4216-4221, 1997.

NILSSON, I-M, HARTFORD, O., FOSTER, T., TARKOWSKI, A. Alpha and gamma toxins jointly promote *S. aureus* virulence in septic arthritis. **Infection and Immunity**, V. 67, p.1045-1049, 1999.

NOGUCHI, K. et al. Down-regulation of interleukin-1 α -induced matrix metalloproteinase-13 expression via EP₁ receptors by prostaglandin E₂ in human periodontal ligament cells. **Oral Microbiology and Immunology**, V. 20, n. 1, p. 56, 2005.

NORD, K.D. *et al.* Evaluation of Treatment Modalities for Septic Arthritis with Histological Grading and Analysis of Levels of Uronic Acid, Neutral Protease, and Interleukin-1. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, V. 77A, n. 2, p.258-265. 1995.

NOVICK, R. P., SCHLIEVERT, P., RUZIN, A. Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. **Microbes and Infection**, V. 3, p. 585–594, 2001.

ODIO, C.M., RAMIREZ, T., PHARMD, G.A. et al. Double blind, randomized, placebo-controlled study of dexamethasone therapy for hematogenous septic arthritis in children. **The Pediatric Infectious Disease Journal**; V. 22, p. 883-888, 2003.

O'NEILL, G.P., FORD-HUTCHINSON, A.W. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. **FEBS Lett.**, V. 330, p.156– 160, 1993.

OHSHIRO, T. **Low reactive-level laser therapy practical application**. Chichester: Ed. Jhon Wiley & Sons. P. 3-10. 1991.

PACE, J. L., YANG, G. Glycopeptides: Update on an old successful antibiotic class. **Biochemical Pharmacology**, V. 71, p. 968–980, 2006.

PALMER, R.M., HICKERRY, M.S., CHARLES, I.G., MONCADA, S., BAYLISS, M.T. Induction of nitric oxide synthase in human chondrocytes. **Biochem Biophys Res Commun.**, V. 193, p. 398–405, 1993.

PARRISH, J.A, ROSEN, C.F., GANGE, W. Therapeutic uses of light. **Annals of New York Academy of Sciences**, p. 354-364, 1985.

PATTI, J.M., BREMELL, T., KRAJEWSKA-PIETRASIK, D. et al. The *Staphylococcus aureus* collagen adhesin is a virulence determinant in experimental septic arthritis. **Infection and Immunity**, V. 62, p.152-161, 1994.

PAULSON, S.K., ZHANG, J.Y., BREAU, A.P. *et al.* Pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of celecoxib in rats. **Drug Metab Dispos.**, V. 28, n. 5, p. 514-521, 2000.

PELLETIER, J.P., MINEAU, F., FERNANDES, J.C., DUVAL, N., MARTEL- PELLETIER, J. Diacerhein and rhein reduce the interleukin 1 beta stimulated inducible nitric oxide synthesis level and activity while stimulating cyclooxygenase-2 synthesis in human osteoarthritic chondrocytes. **J Rheumatol.**, V. 25, p. 2417-24, 1998.

PELLETIER, J.P., JOVANOVIC, D., LASCAU-COMAN, V., FERNANDES, J.C., MANNING, P.T., CONNOR, J.R. et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis *in vivo*. **Arthritis Rheum**; V. 43, p.1290–9, 2000.

PHERMISTER, D. B. The causes of and changes in loose bodies arising from the articular surface of the joint. **J Bone Joint Surg Am.**, V. 6, p. 278-315, 1924.

PHERMISTER, D. B. The effects of pressure on Articular Surface in Pyogenic and Tuberculous Arthrides and its bearing on treatment. **Ann Surg.**, V. 80, p. 481-500, 1924.

PORTANOVA, J.P., ZHANG, Y., ANDERSON, G.D., HAUSER, S.D., MASFERRER, J.L., SEIBERT, K. et al. Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia, and interleukin 6 production in vivo. **J Exp Med**, V. 184, p.883-91, 1996.

RAMOS, A.M.O., SOARES, M.L.M., ROCHA, L.R.M., JERÔNIMO, S.M.B., ROCHA, F.A.C., PATRÍCIO, F.R.S. Artrite induzida por zymosan em ratos: estudo histopatológico, histoquímico e bioquímico dos glicoconjugados da cartilagem articular. **Ver Brás Reum.**, V. 41, n. 4, p.205-12, 2001.

RAVAGLIA, F.A., SMITH, E.J. Artrite Séptica Subclínica do Quadril no Paciente Idoso: Um Achado Cirúrgico Inesperado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, V. 31, n. 6, p. 518-520, 1996.

RICEVUTI, G., MAZZONE, A., MONAIA, C., FRATINO, P. In vivo and in vitro HeNe laser effects on phagocyte functions. **Inflammation**, V. 13, p. 507-527, 1989.

RIEGELS-NIELSEN, P., FRIMODT-MOLLER, N., SORENSEN, M., JENSEN, J.S. Antibiotic treatment insufficient for established septic arthritis. *Staphylococcus aureus* experiments in rabbits. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, V. 60, p. 113–115, 1989.

RIEGELS-NIELSEN, P. et al. Antibiotic Treatment Insufficient for Established Septic Arthritis. **Acta Orthopedic Scandinavian**, V. 60, n.1, p. 113-115, 1989.

RILEY, J.W., SMITH, L.R., SCHURMAN, D.J. Septic Arthritis - Staphylococcal Induction of Chondrocyte Proteolytic Activity. **Arthritis and Rheumatism**, V. 33, n. 4, p. 533-541, 1990.

ROCHA, F.A.C., ROCHA, J.C.S., PEIXOTO, M.E.B., JANCAR. S., CUNHA, F.Q., RIBEIRO, R.A. Efeito de inibidores da sintase de oxido nítrico na dor inflamatória articular e influxo celular da artrite induzida por zymosan em ratos. **Rev Brás Reum.**, V. 43, n. 4, p. 206-17, 2003.

RUIZ CALATRAVA, I., SANTISTEBAN VALENZUELA, J.M., GÓMEZ-VILLAMANDOS, R.J., REDONDO, J.I., GÓMEZ-VILLAMANDOS, J.C., AVILA JURADO, I. Histological and clinical responses of articular cartilage to low-level laser therapy: experimental study. **Lasers in Medical Science**, V. 12, p. 117-121, 1997.

RYAN, M.J., KAVANAGH, R., WALL, P.G., HAZLEMAN, B.L. Bacterial joint infections in England and Wales: analysis of bacterial isolates over a four year period. **British Journal of Rheumatology**, V. 36, p. 370-373, 1997.

SAKINIENE, E., BREMELL, T., TARKOWSKI, A. Corticosteroids ameliorate the course of experimental, superantigen-triggered Staphylococcus aureus arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, V. 39, p.1596-1605, 1996.

SANO, H., HLA, T., MAIER, J.A., CROFFORD, L.J., CASE, J.P., MACIAG, T. et al. In vivo cyclooxygenase expression in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis and rats with adjuvant and streptococcal cell wall arthritis. **J Clin. Invest.**, V. 89, p. 97-108, 1992.

SCHLIEVERT, P.M. Role of superantigens in human disease. **The Journal of Infectious Diseases**; V. 167, p. 997-1002, 1993.

SCHNITZER, T.J. Osteoarthritis management: the role of cyclooxygenase-2–selective inhibitors. **Clin Ther**, V. 23, p. 313-26, 2001.

SEIBERT, K., ZHANG, Y., LEAHY, K., HAUSER, S., MASFERRER, J., PERKINS, W. et al. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, V. 91, p. 12013-7, 1994.

SHARMA, L. Nonpharmacologic management of osteoarthritis. **Curr Opin Rheumatol.**, V. 14, n. 5, p. 603-7, 2002.

SHARMA, L. Nonpharmacologic management of osteoarthritis. **Curr.**, V. 14, n. 5, p. 603-7, 2002.

SHEAGREN, J.N. Inflammation induced by Staphylococcus aureus. In Gallin JI, Goldstein IM & Snyderman R (eds.). **Inflammation: Basic principles and clinical correlates**. p. 829-840. New York: Raven Press, 1998.

SHETTY, A.K; GEDALIA, A. Septic arthritis in children. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 24, p. 287-304. 1998.

SIEGLE, I., KLEIN, T., BACKMAN, J.T., SAAL, J.G., NUSING, R.M., FRITZ, P. Expression of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in human synovial tissue: Differential elevation of cyclooxygenase 2 in inflammatory joint diseases. **Arthritis Rheum**, V. 41, p. 122-9, 1998.

SIEPRAWSKA-LUPA, M. et al. Degradation of human antimicrobial peptide LL-37 by *Staphylococcus aureus*-derived proteinases. **Antimicrob. Agents Chemother.**, V. 48, p. 4673-4679, 2004.

SILVERSTEIN, F.E., FAICH, G., GOLDSTEIN, J.L. et al. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal antiinflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized controlled trial. Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. **Journal of the American Medical Association**, V. 284, p.1247-1255, 2000.

SIMON, L.S., WEAVER, A.L., GRAHAM, D.Y., KIVITZ, A.J., LIPSKY, P.E., HUBBARD, R.C. et al. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial. **JAMA**, V. 282, p. 1921-8, 1999.

SIMON LS. COX-2 inhibitors: Are they nonsteroidal anti-inflammatory drugs with a better safety profile? **Gastroenterol Clin North Am** v. 30 p. 1011-25, viii. 2001.

SIMON, L.S. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and their effects: the importance of COX selectivity. **J. Clin. Rheumatol.**, V. 2, p.135– 140, 1996.

SIMUNOVIC, Z. Low level laser therapy with trigger points technique: a clinical study on 243 patients. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, V. 14, p. 163-167, 1996.

SMITH, W.L., DEWITT, D.L., Prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. **Adv. Immunol.**, V. 62, p. 167– 215, 1996.

STADLER, J., STEFANOVIC-RACIC, M., BILLAR, T.R. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. **J Immunol**, V. 147, p. 3915–20, 1991.

STEFANOVIC-RACIC, M., MEYERS, K., MESCHTER, C., COFFEY, J.W., HOFFMAN, R.A., EVANS, C.H. *N*-monomethyl arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, suppresses the development of adjuvant arthritis in rats. **Arthritis Rheum**, V. 37, p. 1062–9, 1994.

TACHDJIAN, M. O. Acute Suppurative Arthritis (Septic Joint). **Pediatric Orthopedics**, V. 2, p. 1415-1427, 1990.

TARKOWSKI, A., BOKAREWA, M., COLLINS, L.V., GJERTSSON, I., HULTGREN, O.H., JIN, T. et al. Current status of pathogenetic mechanisms in staphylococcal arthritis. **FEMS Microbiol Lett**, V. 217, p. 125–32, 2002.

TARKOWSKI, A., COLLINS, L.V., GJERTSSON, I., HULTGREN, °H., JONSSON, I., SAKIENE, E., VERDRENGH, M. Model systems: Modeling human staphylococcal arthritis and sepsis in the mouse. **TREND´S in microbiology**, V.9, p. 321-326, 2001.

TARKOWSKI, A. Infectious arthritis. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, V. 20, n. 6, p.1029-1044, 2006.

TUNER, J., HODE, L. Low level laser therapy. **Clinical Practice and Scientific Background**, 1999.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**, V. 231, 232-235, 1971.

VANE, J.R., BAKHLE, Y.S., BOTTING, R.M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, V. 38, p. 97–120, 1998.

VAUDAUX, P., PITTET, D., HAEBERLI, A., LERCH, P.G., MORGENTHALER, J.J., PROCTOR, R.A., WALDVOGEL, F.A., LEW, D.P. Fibronectin is more active than fibrin or fibrinogen in promoting *Staphylococcus aureus* adherence to inserted intravascular catheters. **J. Infect. Dis.**, V. 167, p. 633–641, 1993.

VERBA, V., SAKINIENE, E., TARKOWSKI, A. Beneficial effects of glucocorticosteroids on the course of the hematogenously acquired *Staphylococcus aureus* nephritis. **Scandinavian Journal of Immunology**, V. 45, p.282-286, 1997.

VERDRENGH, M., CARLSTEN, H., OHLSSON, C., TARKOWSKI, A. Addition of bisphosphonate to antibiotic and anti-inflammatory treatment reduces bone resorption in experimental *Staphylococcus aureus*-induced arthritis. **Journal of Orthopaedic Research** [in press]. 2006.

VERDRENGH, M., TARKOWSKI, A. Role of macrophages in *Staphylococcus aureus*-induced arthritis and sepsis. **Arthritis Rheum.**, V. 43, p. 2276–2282, 2000.

VERDRENGH, M., TARKOWSKI, A. Role of neutrophils in experimental septicemia and septic arthritis induced by *Staphylococcus aureus*. **Infect. Immun.**, V. 65, p. 2517–2521, 1997.

VERHOEF, J. et al. Staphylococci and other micrococci. **In Infectious Disease (Cohen, J. and Powderly, W. G., eds)** p. 2119-2132.

VINCENSI, C., CARVALHO, P.T.C. Efeitos do laser Arsenieto de Gálio (AsGa) na inflamação articular aguda induzida em ratos *wistar* através do adjuvante completo de Freund. **Fisioterapia Brasil**, V. 3, n. 4, p. 223-230, 2002.

VON EIFF, C., BECKER, K., METZE, D., LUBRITZ, G., HOCKMANN, J., SCHWARZ, T., PETERS, G. Intracellular persistence of *Staphylococcus aureus* small-colony variants within keratinocytes: a cause for antibiotic treatment failure in a patient with Darier's disease. **Clin. Infect. Dis.**, V. 32, p.1643– 1647, 2001.

WEBB, C., DYSON, M., LEWIS, W.H.P. Stimulatory effect of 660 nm of low level laser energy on hypertrophic scar - derived fibroblasts: possible mechanisms for increase in cell counts. **Lasers in Surgery and Medicine**, V. 22, p. 294-301, 1998.

WILDEN, L., KARTHEIN, R. Import radiation phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, V. 16, p. 159-165, 1998.

WILSON, M., YIANNI, C. Killing of methacillin-resistant *Staphylococcus aureus* by low-power laser light. **Journal of Medical Microbiology**, V. 42, p. 62-66, 1995.