

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA  
REPARAÇÃO DE FERIDAS DE TECIDO MOLE EM RATOS**

**KATIA CRISTINA BELTRAME**

São Paulo  
2004

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA  
REPARAÇÃO DE FERIDAS DE TECIDO MOLE EM RATOS**

Dissertação apresentada ao  
Curso de Pós Graduação, nível  
Mestrado, da Faculdade de  
Odontologia da Universidade de  
Santo Amaro para obtenção do Título  
de Mestre em Odontologia, Área de  
Concentração: Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk

São Paulo  
2004

B. 20122598  
Class. U617.69  
Cutter B392a  
Patri nº 3828  
Tipo entrada D01 (CP)  
Nota Fiscal  
Data rec. 23/12/08  
Preço  
Origem

Beltrame, Katia Cristina

Avaliação da influência do uso do laser de baixa potência na reparação feridas de tecido mole em ratos. / Katia Cristina Beltrame. Orientação do P Dr. Wilson Roberto Sendyk  
São Paulo: 2004.  
p 57

Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em Implantodontia. Faculdade de Odontologia da Universidade de Santo Amaro

1. Tecido mole      2. Laser de baixa potência  
I. Título

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA  
REPARAÇÃO DE FERIDAS DE TECIDO MOLE EM RATOS

Katia Cristina Beltrame

APROVADA EM   /  /  

BANCA EXAMINADORA



---

Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk - Orientador  
Doutor em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo



---

Prof. Dr. Nelson Villa  
Livre Docente em Ciências Biomédicas pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo



---

Prof. Dr. Paulo Sérgio Perri de Carvalho  
Livre Docente em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial pela Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho - UNESP

CONCEITO FINAL: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Neori Batista Beltrame e Clélia Mentone Beltrame, que me deram esta grande oportunidade, a vida, por me passarem todos os ensinamentos da vida, e por me darem mais esta oportunidade, meu Mestrado.

Ao meu namorado, Flávio Luis Vettorazzo Biazini, que hoje é a minha vida, por todo o carinho e compreensão nesta etapa de meus estudos, assim como sua filha Beatriz Grosso Vettorazzo Biazini.

Ao meu irmão, Márcio Alberto Beltrame, por sempre ser meu modelo.

À minha cunhada Damares Cristiane Di Pietro Beltrame, pela sua amizade e carinho.

A Claudia Fernanda Dias Alves, por me apoiar sempre como uma irmã.

À minha querida tia, Rosalva Carlos Dias Alves, por fazer sempre um papel de mãe na minha caminhada.

Aos meus 19 companheiros de mais esta etapa, por todos os momentos compartilhados juntos, dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao amigo, mestre e orientador, Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk, pela atenção para a conclusão desta Dissertação.

A todos os outros professores pelos conhecimentos transmitidos, com especial menção ao Prof. Dr. Nelson Villa, modelo de pai.

À Sabrina Moraes e à Juliana de Oliveira, por estar sempre disposta a ouvir e segurar nossos momentos alegres e tristes e por sua grande amizade.

A Kai Adir Rogers Brager Áquila, técnica do laboratório de histologia, por sua imensa ajuda na confecção das lâminas.

Aos funcionários desta instituição, que nos tornaram possíveis a realização de nosso trabalho.

A todas as pessoas que indiretamente participaram da minha formação, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

### AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO USO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA REPARAÇÃO DE FERIDAS DE TECIDO MOLE EM RATOS

Os lasers terapêuticos ou lasers de baixa potência são talvez os mais estudados mundialmente, e com certeza já fazem parte da rotina de uma grande quantidade de consultórios. Alguns dos lasers utilizados na Odontologia estão situados na faixa de luz visível (Argônio e alguns lasers terapêuticos) e outros na faixa do infravermelho, portanto, invisíveis a olho nu. Em reparação de feridas de tecido mole, um dos primeiros trabalhos foi realizado por Mester e colaboradores, em 1971, na reparação de queimaduras. O propósito deste estudo foi avaliar se o uso do laser de baixa potência influencia na reparação de tecido mole, em ratos. Em caso positivo, como a aplicação do laser modifica a resposta reparativa. Nesta pesquisa foram utilizados 32 ratos, machos, adultos ( $\pm$  cinco meses), com  $\pm$  250 g cada, da raça Wistar provenientes do UNITOX da UNISA, com controle de linhagem e origem segundo padrões de experimentação. Os ratos foram divididos em dois grupos, de 16 ratos cada um. Depois os ratos foram tricotomizados em seus dorsos e sedados com éter. No grupo experimental foi realizado o corte do tecido mole com um bisturi circular de 5 mm de diâmetro (Kolplast C I LTDA., São Paulo), por 3 mm de profundidade e o tecido remanescente removido com o auxílio de uma pinça e uma lâmina de bisturi. Isto feito, o laser de baixa potência, Quasar (Dentoflex, São Paulo), foi aplicado com uma dosagem de 10 J/cm<sup>2</sup>. No outro grupo, denominado controle, o laser não foi aplicado. A antibioticoterapia não foi utilizada em nenhum dos grupos. O material foi colhido em quatro ratos de cada grupo, com três, cinco, sete e dez dias da cirurgia. Os ratos foram mantidos em gaiolas separadas até o final do estudo. Os cortes histológicos sob a coloração de HE foram avaliados com um aumento de 100X e 400X, mostrando que com o uso do laser a reparação tecidual mostrou tendência a ser mais rápida, portanto, o laser pareceu influenciar positivamente o processo reparativo de tecido mole em ratos, e que com uma dosimetria de 10 J/cm<sup>2</sup> pudemos observar como as diferenças não foram significativas em nível de observação de microscopia óptica.

**Palavras chaves:** tecido mole, laser de baixa potência.

## **ABSTRACT**

### **EVALUATION OF USE OF LOW POWER LASER INFLUENCE IN WOUNDS OF SOFT TISSUE IN RATS**

Therapeutic lasers or lasers of low power are maybe the laser most studied globally, and with certainly they are already part of the routine of a great amount of clinics. Some lasers used in Dentistry are placed in the bandwidth of visible light (Argon and some therapeutic lasers) and others in the bandwidth of infrared, therefore, invisible with bare eye. In repairing of soft tissue's wounds, one of the first works was accomplished by Mester and collaborators, in 1971, in burns repairing. The purpose of this study was to evaluate if the use of low power laser influences in soft tissue's repairing, in rats. If right, how the laser's use changes the reparative answer. In this research 32 Wistar rats were used, males, adults ( $\pm$  five months), with  $\pm$  250 g each, coming from UNITOX of UNISA, with lineage and origin control according to experiment patterns. The rats were divided in two groups, of 16 rats each. Then the rats were trichotomyed in their backs and sedated with ether. In the experimental group a 3 mm depth cut in the soft tissue was accomplished with a 5 mm diameter circular bistoury (Kolplast C I LTD., Sao Paulo), and the remaining tissue removed with the aid of tweezers and a bistoury sheet. This done, the low power laser, Quasar (Dentoflex, Sao Paulo), was applied with a dosage of 10 J/cm<sup>2</sup>. In the other group, denominated control, the laser was not applied. The therapy with antibiotic was not used in any of the groups. The material was picked in four rats of each group, with three, five, seven and ten days from surgery. The rats were kept in separate cages until the study have ended. The histological cuts under the HE coloration were appraised with an increase of 100X and 400X, showing that with the laser's use the repairing process showed tendency to be faster, therefore, the laser seemed to influence positively the reparative process of soft tissue in rats, and that with a dosimetry of 10 J/cm<sup>2</sup> could observe as the differences were not significant in level of observation of optical microscopy.

**Key words:** soft tissue, low level laser therapy.

## LISTA DE SIGLAS

ATP	-	Adenosina trifosfato
CO <sub>2</sub>	-	Dióxido de carbono
CO <sub>2</sub> /Nd:YAG	-	Dióxido de carbono/Neodímio: granada de ítrio e alumínio
Er:YAG	-	Érbio: granada de ítrio e alumínio
GaAlAs	-	Arseneto de gálio e alumínio
GaAs	-	Arseneto de gálio
HE	-	Hematoxilina eosina
HeNe	-	Hélio e neônio
Hz	-	Hertz
InGaAlP	-	Arseneto de gálio, índio e fósforo
J/cm <sup>2</sup>	-	Joule por centímetro quadrado
LILT	-	Terapia com laser de baixa intensidade
mm	-	Milímetro
mW	-	Miliwatt
N <sub>2</sub>	-	Gás nitrogênio
Nd:YAG	-	Neodímio: granada de ítrio e alumínio
nm	-	Nanômetro
P	-	Potência
PMN	-	Polimorfonucleares
UNISA	-	Universidade de Santo Amaro
UNITOX	-	Unidade de Toxicologia da Universidade de Santo Amaro
W	-	Watt

- YSGG - Granada de ítrio, escândio e gálio
- $\lambda$  - Comprimento de onda

## LISTA DE FIGURAS

p.

- Figura 1** – Apresentação de um rato, já operado, mantido em gaiola separada.....32
- Figura 2** – Tricotomia realizada no dorso do rato, estando este já sedado com éter.....33
- Figura 3** – Bisturi circular com o qual foi realizada a remoção do tecido. A. Bisturi circular empacotado, estéril, B. Bisturi circular lacrado e C. Bisturi circular aberto, pronto para uso.....34
- Figura 4** – Utilização do bisturi circular para o corte do tecido mole (nota-se que para a utilização do bisturi circular era necessário que a pele do rato fosse esticada).....34
- Figura 5** – Tecido incisado após a utilização do bisturi circular.....35
- Figura 6** – Remoção do tecido, incisado com o bisturi circular, com o auxílio de uma pinça dente de rato e uma lâmina de bisturi #12.....35
- Figura 7** – Aspecto do dorso do rato, já com o tecido removido.....36
- Figura 8** – Aplicação do laser a uma distância de 0,5 cm do dorso do rato, ou da lesão.....36
- Figura 9** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de três dias. Observam-se: TC – tecido conjuntivo; IC – inflamação crônica; e V – vasos sanguíneos.....39

- Figura 10** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo controle de três dias. Observam-se: F – fibroblasto; P – plasmócito; PMN – polimorfonucleares; e V – vasos sanguíneos...40
- Figura 11** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de cinco dias. Observam-se: PMN – polimorfonucleares; P – plasmócitos; e V – vasos sanguíneos.....40
- Figura 12** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X, do grupo controle de cinco dias. Observam-se: F – fibroblastos; PMN – polimorfonucleares; e V – vasos sanguíneos.....41
- Figura 13** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de sete dias. Observam-se: E – epitélio da borda da ferida; TC – tecido conjuntivo não recoberto; e V – vasos sanguíneos.....41
- Figura 14** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo controle de sete dias. Observa-se: CE – camadas epiteliais.....42
- Figura 15** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de dez dias. Observam-se: E – epiderme (epitélio pavimentoso estratificado queratinizado); e D – derme.....43
- Figura 16** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo controle de dez dias. Observam-se: E – epiderme (camada córnea, camada granulosa, camada espinhosa e camada basal); e D – derme.....43
- Figura 17** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de três dias. Observam-se: FC – fibras

- colágenas; e CI – células inflamatórias (PMN – polimorfonucleares, linfócitos e plasmócitos).....44
- Figura 18** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de três dias. Observam-se: FC – fibras colágenas; e F – fibroblastos.....45
- Figura 19** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de cinco dias. Observam-se: E – epitélio; D – derme; C – conjuntivo não epitelizado; FC – feixe colágeno; e A – concentração celular delimitando o colágeno do tecido epitelial..46
- Figura 20** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de cinco dias. Observam-se: F – fibroblasto; E – epiderme.....46
- Figura 21** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de sete dias. Observam-se: E – epiderme; e D – derme (áreas de concentração celular e orientação dos feixes colágenos).....47
- Figura 22** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de sete dias. Observam-se: E – epitélio; FC – feixe colágeno; e V – vasos sanguíneos.....48
- Figura 23** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de dez dias. Observam-se: E – epiderme; D – derme; e V – vasos sanguíneos.....49
- Figura 24** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de dez dias. Observam-se: GQ – grânulos de queratina; D – derme; e CF – células fibroblásticas.....49

# SUMÁRIO

p.

RESUMO

*ABSTRACT*

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 LASERS TERAPÊUTICOS.....	14
2 PROPOSIÇÃO.....	18
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
5 RESULTADOS.....	38
5.1 GRUPO CONTROLE.....	38
5.2 GRUPO EXPERIMENTAL.....	44
6 DISCUSSÃO.....	50
7 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

ANEXO

## 1 INTRODUÇÃO

Blay em 2001, relatou que em 1917, Albert Einstein determinou em sua teoria, que a emissão de luz por um átomo pode ser estimulada pela própria radiação incidente, sendo possível assim a obtenção de uma forma de amplificação da luz, denominada laser.

O nome “laser” expressa exatamente como a luz laser é produzida. Esta palavra é constituída pelas primeiras letras da expressão “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation”, que significa “Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação”. O emissor laser é um dispositivo, composto por substâncias (gás, pedras preciosas), que geram luz quando excitadas por uma fonte de energia. Alguns dos aparelhos de laser utilizados na Odontologia estão situados na faixa de luz visível (Argônio e alguns aparelhos de Laser Terapêuticos) e outros na faixa do infravermelho, portanto, invisíveis a olho nu (ALMEIDA-LOPEZ; BRUGNERA, 1998).

Segundo os mesmos autores os tipos de aparelhos de laser que estão sendo usados na Odontologia são os seguintes:

### 1.1 Aparelhos de Laser Terapêuticos

O aparelho de Laser Terapêutico ou aparelho de laser de baixa potência são talvez os mais estudados mundialmente, e com certeza já fazem parte da rotina de uma grande quantidade de consultórios em países como Espanha e Japão. As razões da popularidade deste tipo de laser está relacionada ao baixo custo do

equipamento, e à objetividade e simplicidade dos procedimentos clínicos terapêuticos a que se destina.

Os primeiros aparelhos de Laser Terapêuticos estudados foram os que apresentaram como meio ativo era uma mistura gasosa de Hélio e Neônio (HeNe), com potência variando entre 5 e 30 mW, e comprimento de onda de 632,8 nm, o que está situado dentro da faixa de luz visível do espectro de luz, mais precisamente na região da cor vermelha.

Consistiam de um reservatório (tubo) de vidro preenchido com os referidos gases, que eram acionados por uma fonte de alimentação elétrica geradora de alta tensão. A condução da luz até o ponto de aplicação se dava através de cabo de fibra óptica flexível, o que conferia um baixo rendimento óptico ao sistema, isto é, pouca luz chegava a ponto de aplicação.

Aliado à característica de baixo rendimento óptico, há ainda o fato de que este comprimento de onda é altamente absorvido pelo tecido mole, o que compromete muito a penetrabilidade da luz.

Estas limitações técnicas impuseram a necessidade de se buscar aparelhos de laser de baixo custo, com níveis de potência superiores e com comprimentos de onda que pudessem atravessar o tecido mole, sem, contudo, comprometer a integridade destes tecidos. Isso foi possível com o surgimento dos aparelhos de laser de diodo, que são dispositivos eletrônicos relativamente simples e de baixo custo.

Os aparelhos de laser de diodo mais utilizados na Odontologia, têm como meio ativo o composto de GaAlAs, com comprimento de onda variando entre 790 e 850 nm (o mais utilizado é o de 830 nm), que está situado fora da faixa visível do

espectro de luz, mais precisamente na faixa do infravermelho, com potência variando entre 20 e 100 mW.

Outro tipo de meio ativo utilizado é o composto de InGaAlP, que produz luz com comprimento de onda variando entre 635 e 690 nm, que está situado dentro da faixa visível do espectro de luz, mais precisamente na região da cor vermelha, com potência variando entre 1 e 50 mW. A luz gerada por este tipo de emissor, tem as mesmas características descritas para o emissor de gás HeNe, e, portanto, as mesmas limitações em termos de penetrabilidade.

Uma das variáveis mais relevantes para o processo da laserterapia é a dosimetria ou fluência, que nada mais é do que a quantidade de energia (expressa em Joules), aplicada sobre uma determinada área (expressa em centímetros quadrados). Apesar destes parâmetros servirem como base de referência, caberá ao clínico definir a dosimetria para cada paciente levando-se em consideração o tipo de lesão, sua profundidade, seu tempo de duração (crônica ou aguda), o tipo de tecido, a idade do paciente e sua condição sistêmica, entre outros itens analisados na anamnese (ALMEIDA-LOPEZ; BRUGNERA, 1998).

As indicações gerais do laser terapêutico, já que este estimula a microcirculação, bem como o trofismo celular local, podem ser: alívio da dor (efeito antiálgico), reparação tecidual (efeito bioestimulador do trofismo celular) e redução de edema e de hiperemia (efeito antiinflamatório, antiedematoso e normalizador circulatório) (ALMEIDA-LOPEZ; BRUGNERA, 1998).

Os aparelhos de laser de baixa intensidade têm sido amplamente utilizados em Odontologia e Medicina. Os mecanismos envolvidos nos efeitos observados com este tipo de laser preconizam a *Low Intensity Laser Therapy (LILT)* – terapia com lasers de baixa intensidade, no entanto, esta terapia não é recente, já que na

Rússia existem relatos que indicam, pelo menos, trinta anos de experiência, seguidos pelo Japão e Europa (BLAY, 2001).

Os aparelhos de laser mais usados na Odontologia são os que apresentam meio ativo o Hélio-Neônio, o Argônio, o Arseneto de Gálio-Alumínio (BLAY, 2001).

Em reparação de feridas de tecido mole, um dos primeiros trabalhos foi realizado por Mester e *et al.*, em 1971, no tratamento de queimaduras.

As lesões dos tecidos moles podem ser causadas por agressões físicas ou químicas. Em outras, o epitélio lesado tem uma capacidade regenerativa que permite restabelecer a integridade tecidual através da migração celular. A reparação se dá por estágios: estágio inflamatório – inicia-se no momento que a lesão ocorre e dura de 3 a 5 dias e possui os sinais cardinais da inflamação (rubor, edema, calor e dor); estágio fibroblástico – caracterizada pela formação da rede de fibrina, dura normalmente 2 a 3 semanas; e estágio de remodelação – quando ocorre a contração da ferida, sendo restaurado o epitélio (PETERSON *et al.*, 1996).

Considerando que a laserterapia é uma opção que pode ser oferecida na clínica, procurou-se avaliar a influência da aplicação do laser de baixa intensidade na reparação de feridas de tecido mole.

## 2 PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi avaliar histologicamente a influência do laser de baixa potência com meio ativo de Ascórbio/Gálio/Alumínio na reparação de tecido mole, em ratos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

Mester et al. (1971), realizaram um dos primeiros trabalhos em reparação de queimaduras. Nesse trabalho, foi investigado o efeito de um laser de rubi ( $\lambda = 694,3$  nm), com intervalos de doses de  $0,5 \text{ J/cm}^2$  a  $10 \text{ J/cm}^2$ . Foram criadas duas queimaduras de terceiro grau, de aproximadamente 5 mm de diâmetro, no dorso de camundongos, em ambos os lados da coluna vertebral. As queimaduras do lado esquerdo foram irradiadas e as do lado direito, usadas como controle, foram sem irradiação. Os resultados obtidos mostraram que a exposição à radiação laser estimulou a reparação de queimaduras de terceiro grau, mais pronunciadamente na dose de  $1 \text{ J/cm}^2$ , com 3 irradiações nos dias 3, 7 e 12 do pós-operatório. Os autores sugeriram que a reparação de feridas, estimulada pela radiação laser, envolveu um aumento na taxa de crescimento epitelial, o que pode, eventualmente, ser o ponto de partida para o crescimento neoplásico.

Herrero, em 1986, afirmou ser mais confiável, em termos de dosimetria, fazer o uso de aplicações pontuais, do que pela técnica de varredura. Acrescentou também que há variações na dosimetria a ser aplicada, de acordo com cada situação ou área e que não é aconselhável ultrapassar a densidade de  $15 \text{ J/cm}^2$  sobre um ponto, em uma única aplicação.

Foi publicada, em 1986, uma experiência em ratos mutantes, com aplasia de timo, causando uma ferida cirúrgica no dorso dos animais, por Mayayo e Trelles. Foi aplicado laser de HeNe com fluência de 2 a  $4 \text{ J/cm}^2$  e resultou que todos os ratos que não receberam o laser desenvolveram septicemia, enquanto que os outros ratos sobreviveram. Os autores chegaram a conclusão que o laser estimula a presença de células fagocitárias e que aumentam a resistência local.

Chomette et al., em 1987, publicaram o efeito do laser de baixa intensidade na gengiva biopsiada de 14 pacientes, sendo que após a biópsia inicial, foram realizadas novas biópsias na gengiva dos mesmos pacientes não irradiados. Os autores concluíram que na ausência de inflamação, a reparação foi similar nos tecidos irradiados e no grupo controle, mas também observaram que a aplicação de laser induziu uma reparação precoce, em 14 dias, enquanto no grupo controle foi 21 dias.

O efeito da cirurgia a laser nos tecidos periodontais foi estudado histologicamente em cães, em 1988, por Goultchin et al., e não demonstrou nenhuma vantagem substancial na gengivectomia com laser sobre a convencional.

Trelles et al. (1988), utilizaram um laser de emissão vermelha, emitido em  $\lambda = 632,8$  nm, variando potências de 4 mW ou 50 mW, com fluência de  $2,4 \text{ J/cm}^2$ , para irradiar ratos. Eles chegaram a conclusão de que para  $P = 4$  mW, o aumento de histamina foi de 100%, enquanto que, com potência de 50 mW, o aumento foi de 30%. Os efeitos antiinflamatório e antiedematoso dependem da aceleração de neoformação capilar, originando alterações na pressão hidrostática dos capilares e reabsorção do edema, bem como a eliminação de metabólitos intermediários, como o ácido pirúvico e lático.

Os mesmos autores, em 1989, mostraram que o laser acelera a reprodução de células epiteliais e sua maturação, por meio do aumento da atividade da fosfatase ácida, estearase, desidrogenase lática e succinildesidrogenase. Essas conclusões demonstraram que as células filhas apresentaram características morfológicas e funcionais idênticas às antecessoras, sem apresentar sinais de atipia.

Karu (1989) publicou um artigo no qual foi feita uma revisão da fotofobia associada aos efeitos do laser de baixa intensidade. Após vários estudos

quantitativos, para determinar a ação da luz monocromática visível de baixa intensidade sobre várias células, bem como para determinar as condições ideais de irradiação (comprimento de onda, dose e intensidade), que conduzem à estimulação da atividade vital, ela concluiu que o processo de bioestimulação a laser é um fenômeno fotobiológico. A radiação a laser é desencadeadora para a regulação do metabolismo celular, por esse motivo é que são necessárias apenas baixas doses de energia. O efeito sobre a célula vai depender do estado fisiológico que esta se encontra.

O laser de dióxido de carbono foi avaliado por Pogrel, em 1989, em 27 pacientes que necessitavam de cirurgia pré-protética, incluindo frenectomia, redução de tuberosidade, remoção de hiperplasia e aprofundamento de sulco. A contração cicatricial no grupo do laser ocorreu menos do que no grupo controle. O laser de dióxido de carbono pareceu ter vantagens nas cirurgias pré-protéticas.

Rigau et al., em 1991, estudaram as mudanças metabólicas, a proliferação e a viabilidade de fibroblastos da pele de um humano sadio, depois da irradiação *in vitro* com um aparelho de laser de HeNe, operando em regime contínuo, de 10 mW de potência. A análise estatística dos dados mostrou que não houve aumento no número de fibroblastos após a exposição, mas revelou mudanças significantes nas taxas metabólicas, quando comparadas ao controle não irradiado. Nesse estudo, os autores não especificaram a densidade de energia utilizada, mas declararam que o resultado da avaliação dessas mudanças metabólicas sugere que uma modalidade eficiente para o aumento ou modulação da atividade celular poderia ser determinada e, portanto, ser utilizada para propósitos terapêuticos, desde que as densidades de energia e potência apropriadas fossem estabelecidas.

White; Goodie e Rose, em 1991, compararam, em cirurgia odontológica de tecido mole, a influência do uso de laser de neodímio: ítrio-alumínio-granada e a cirurgia convencional. A técnica cirúrgica foi avaliada quanto à profundidade da bolsa periodontal, grau de dor, sangramento, inflamação e tempo do procedimento, e as análises foram feitas 1 semana e 1 mês após a cirurgia. Nenhuma diferença foi observada entre a cirurgia com o uso do laser e a convencional quanto à redução da profundidade da bolsa, dor pós-operatória, inflamação pós-operatória e tempo de tratamento, no entanto, o sangramento trans e pós-operatório foi significativamente menor quando se aplicou a radiação laser.

O estudo de Arcoria et al. (1992), avaliou o laser de CO<sub>2</sub>/Nd:YAG usado durante cirurgia periodontal em cachorros, com o propósito de remover porções ósseas das superfícies radiculares para aumentar a reinserção de tecido mole. Os defeitos periodontais foram produzidos com artefatos ortodônticos. A hemi-arcada inferior esquerda foi irradiada com laser a 424,63 J/cm<sup>2</sup>, a hemi-arcada superior esquerda foi irradiada com 849,3 J/cm<sup>2</sup>. Na hemi-arcada inferior direita foi tratada com cirurgia convencional e a hemi-arcada superior direita serviu como controle. Quatorze dias depois do tratamento, a gengiva inserida foi sondada para avaliar a aderência de tecido mole ao osso. Como resultado, os autores, relataram que a irradiação a laser de baixa intensidade não melhorou a inserção de tecido mole quando comparado com o tratamento convencional e a irradiação a laser de alta intensidade produziu significativamente menos inserção e aumentou a necrose tecidual.

Lubart et al. (1992), com a finalidade de examinar o efeito de vários comprimentos de onda em diferentes doses de energia, decidiram irradiar fibroblastos, com fonte de luz emitindo em 360 nm, 632 nm e 780 nm, tendo sido

verificado que em uma determinada dose de energia ( $D = 15 \text{ J/cm}^2$  para  $\lambda = 632 \text{ nm}$ ,  $D = 7 \text{ J/cm}^2$  para  $\lambda = 780 \text{ nm}$  e  $D = 0,6 \text{ J/cm}^2$  para  $\lambda = 360 \text{ nm}$ ), ocorre a aceleração da mitose celular. O maior grau de mitose celular foi alcançado com o grupo irradiado com o laser de HeNe, aplicado com uma densidade de energia de  $15 \text{ J/cm}^2$ . Em doses de energia mais altas, as células foram destruídas.

Os efeitos da irradiação com três tipos de laser de baixa intensidade foram estudados por Nara et al. (1992), um de HeNe ( $\lambda = 632,8 \text{ nm}$  e  $P = 5 \text{ mW}$ ) e dois de semicondutor ( $\lambda = 790 \text{ nm}$  e  $830 \text{ nm}$ ,  $P = 34 \text{ mW}$  e  $14 \text{ mW}$ , respectivamente) na proliferação de fibroblastos humanos, tendo sido os resultados comparados *in vitro*. Os fibroblastos da polpa dentária humana foram obtidos de subculturas, sendo estas, incubadas por 48 horas antes da irradiação a laser. Cada tipo de radiação laser foi usada no modo de emissão contínua e a irradiação foi realizada quatro vezes. Depois da incubação, as células foram fixadas e coradas em lâminas e o número de núcleos foi contado. O laser de HeNe mostrou a capacidade de acelerar a proliferação de fibroblastos da polpa em uma baixa dose de irradiação. Por outro lado, os aparelhos de laser de semicondutor falharam na produção de qualquer efeito estimulativo sobre estes fibroblastos.

Lee e Kim, em 1993, investigaram a influência da terapia com laser de baixa intensidade no processo de reparação de feridas da pele infectadas por bactérias com um aparelho de laser de GaAs ( $\lambda = 904 \text{ nm}$ ), já que os estudos foram, até esta época em tecidos moles em condições normais. O laser foi utilizado no modo de emissão pulsado, com pico de potência de  $27 \text{ W}$ . A frequência do pulso foi  $1000 \text{ Hz}$ , resultando numa potência média de  $2 \text{ mW}$ , sendo a densidade de energia utilizada de  $76,4 \text{ J/cm}^2$ , a área total irradiada correspondeu a um círculo de  $2 \text{ cm}$  de diâmetro. As feridas abertas, de aproximadamente  $6 \text{ mm}$  de diâmetro, foram criadas nas

regiões glúteas de sete ratos. Colônias de *Staphylococcus aureus* foram semeadas em todas as feridas. Uma ferida em cada rato foi irradiada com laser nos dias 1, 2, 3 e 4, e a ferida não irradiada foi deixada para controle. As áreas dos ferimentos foram medidas, fotografando a lesão de uma distância constante, usando a mesma lente objetiva, no 1º, 3º, 5º e 7º dia pós-operatório e, então, os grupos controle e experimental foram comparados de acordo com o intervalo de tempo. Os resultados mostraram que a incidência de edema foi menor que a taxa de reparação da ferida foi significativamente aumentada no grupo experimental, devido a um efeito positivo sobre a microcirculação local. Os autores sugeriram que a aceleração da reparação da lesão infeccionada, após a irradiação com o laser, indicou que a atividade celular, devido ao efeito bioestimulante da terapia com laser de baixa intensidade, predomina no tecido normal circunvizinho.

Leukauf et al., em 1993, estudaram as características da ablação de tecido de dois lasers infravermelho, com comprimentos de onda diferentes, de  $\lambda = 2120$  nm e  $\lambda = 308$  nm, num modelo animal. As incisões com o laser foram realizadas na região sublingual e na gengiva de ratos brancos. Como resultados tiveram que ambos os lasers permitiram um excelente controle da ablação do tecido, e a reparação da ferida analisada dez dias após as incisões mostrou o fechamento completo pela re-epitelização.

Uma variedade de sistemas de lasers está sob investigação como potenciais ferramentas na Odontologia, segundo Eversole e Rizoju (1995). A maioria destes sistemas tem mostrado serem eficazes para cirurgia de tecido mole de membranas mucosas; no entanto, cortar osso e tecidos dentais tem sido possível recentemente. Neste artigo da Universidade da Califórnia na Escola de Odontologia de Los Angeles, uma revisão das aplicações do laser na odontologia foi discutida. A

utilidade de um novo sistema de laser usando um meio de érbio YSGG com spray de água para cortar tecidos moles, osso, esmalte e dentina está sob investigação e os achados preliminares da pesquisa foram apresentados, tendo como resultado mínima hemorragia.

Eduardo, Cecchini e Cecchini, em 1996, apresentaram cinco estudos clínicos sobre os benefícios do laser de baixa intensidade na reparação de tecido mole oral. Lesões na cavidade oral, como herpes e úlceras aftosas, foram irradiadas com laser de GaAIs ( $\lambda = 790 \text{ nm}$ ), em doses que dependem da área de irradiação. A terapia com laser de baixa intensidade diminuiu a sintomatologia dolorosa imediatamente e acelerou o processo de reparação destas lesões. Também uma associação de lasers de Nd:YAG ( $\lambda = 1064 \text{ nm}$ ) e GaAIs provou ser eficaz nesse tipo de lesão. Os autores sugeriram que essa associação de lasers de alta e baixa intensidade pode ser um complemento para terapias convencionais.

Peterson et al., em 1996, relataram o processo de reparação de tecido mole.

Watanabe et al., em 1996, avaliaram a utilidade clínica do laser de érbio:YAG em cirurgia de tecido mole e raspagem periodontal. Trinta e um pacientes com feridas de tecido mole e 60 pacientes com cálculos gengivais foram tratados com o laser. A cirurgia com o uso do laser causou menos hemorragia e resultou numa melhor reparação quando comparado com os métodos convencionais e foi mais fácil remover o cálculo dentário em 95% dos casos, portanto, este estudo sugeriu que o laser de Er:YAG é útil para cirurgia de tecido mole e raspagem periodontal.

Centty et al., em 1997, estudaram comparativamente a cirurgia periodontal convencional combinada com o laser de dióxido de carbono e somente a cirurgia periodontal convencional, com respeito a eliminação de epitélio e ao grau de necrose dos retalhos mucoperiostais. O laser pareceu ser mais efetivo na remoção

do epitélio no momento da cirurgia e nas áreas de necrose se apresentavam cobertas com fibrina e sangue coagulado.

Walsh, em 1997, sintetizou dados sobre a situação da aplicação de laser de baixa intensidade, em tecidos moles. O autor cita a explosão das pesquisas envolvendo a aplicação da tecnologia laser na prática odontológica nos últimos dez anos, relatando que os aparelhos de laser de alta intensidade são de grande aplicabilidade clínica. Deve-se, porém, considerar ainda o elevado custo e também que seu emprego indiscriminado pode levar a injúrias teciduais causadas pelo aumento excessivo da temperatura, o que ainda limita de certa maneira sua aplicação em larga escala. Paralelamente, existem os aparelhos de laser de baixa intensidade, que se encontram em outra região do espectro eletromagnético, como os aparelhos de laser semicondutores, que são compactos, de baixo custo e com grande eficiência óptica e elétrica. Em Medicina e Odontologia, os aparelhos de laser de diodo têm sido utilizados em situações que visam efeitos bioestimulantes. O autor também comenta que a utilização do laser na Odontologia não é recente, sendo que no Japão e na Europa, há mais de uma década, essa tecnologia tem sido utilizada em grande escala e na Rússia esse tipo de terapia era utilizada há mais de 30 anos. Neste artigo são citadas as várias utilizações para esse tipo de terapia: aceleração dos processos de reparação, aceleração da remodelação e reparo ósseo, restabelecimento da função neural após injúria, normalização da função hormonal, estimulação da liberação de endorfina e regulação do sistema imunológico. Uma vez que a penetração da energia laser usada na terapia de baixa intensidade pode penetrar nos tecidos a uma profundidade de 5 a 10 mm, quando as estruturas superficiais e profundas podem ser atingidas. Contudo, ao penetrar no tecido, a energia sofre uma múltipla dispersão ou espalhamento pelos eritrócitos e

microvasos e, conseqüentemente, o fluxo sanguíneo e a distribuição dos microcapilares irão demonstrar influência marcante na distribuição da energia laser.

Reddy, Stehno-Bittel e Enwemeka (1998), avaliaram a influência da fotoestimulação laser na produção de colágeno em tendões de Aquiles de coelhos, tenotomizados e reparados. Após a tenotomia e o reparo, os membros traseiros dos coelhos foram imobilizados com talas de poliuretano adaptadas. Os animais do grupo experimental foram tratados com aplicação de laser de HeNe diariamente, com doses de  $1 \text{ J/cm}^2$ , durante 14 dias. Os animais do grupo controle foram irradiados com  $0 \text{ J/cm}^2$ . No quinto dia pós-operatório, as talas foram removidas. Os animais foram sacrificados quinze dias após o procedimento cirúrgico e os tendões foram extirpados, processados e analisados. A análise bioquímica dos tendões revelou um aumento de 26% na concentração de colágeno no grupo tratado, indicando reparação mais rápida, quando comparado ao grupo controle. Os resultados sugeriram que a taxa de *turnover* do colágeno nos tendões irradiados foi mais alta, quando comparado ao grupo controle.

Bradley, Groth e Rajab, mostraram, em 1998 que o tratamento por meio da terapia com laser de baixa potência emprega, na maior parte das vezes, o laser de arseneto de gálio e alumínio, com comprimento de onda de 830 nm. Experimentos mostraram que a irradiação a laser na faixa do infravermelho pode penetrar no osso e no dente, produzindo efeitos terapêuticos quando da aplicação da correta densidade de potência, postulando que existe um grande potencial nesta terapia, quando utilizada sobre estes tecidos. Baseando-se nos estudos de penetração da radiação, os autores apresentaram uma série de relatos clínicos sobre a utilização com eficácia do laser de baixa potência sobre processos álgicos como: pulpites

dentárias agudas, sinusopatia aguda, fraturas mandibulares dolorosas, dores ósseas provocadas por metástase de carcinoma oral.

Friesen et al., em 1999, avaliaram e compararam a reparação óssea histológica, em osteotomias em tíbias de coelhos criadas com broca e com laser. Uma reparação progressiva foi observada até o vigésimo primeiro dia pós-tratamento em todos os grupos, no entanto, o grupo tratado com o laser exibiu um atraso na reparação, que pareceu estar relacionado com a queimadura provocada durante o uso do laser, mas a remodelação óssea pareceu se alterar pela irradiação com laser.

Romanos e Nentwig, em 1999, avaliaram a aplicação do laser de diodo na reparação de cirurgia oral de tecido mole, sendo os tipos de cirurgias: excisão de tumores de tecido mole, frenectomias, excisão de hiperplasia gengival, vestibuloplastias, remoção de hemangioma e cirurgia de periimplantite. O laser foi usado no modo contínuo e pulsátil, com e sem contato com o tecido mole. Como resultados, observaram que as propriedades da coagulação, associados com o uso do laser de diodo, foram particularmente benéficos durante a remoção de lesões vasculares. As vantagens pós-operatórias, como: controle de edema, sangramento e dor; formação de cicatriz; e uma boa reparação foram observadas em todas as aplicações clínicas e eram dependentes somente dos parâmetros físicos do laser usado. Sendo assim, concluíram que a aplicação do laser de diodo em procedimentos cirúrgicos orais e maxilofaciais parece ser de efeito benéfico para a prática diária.

Ribeiro, em 2000, investigou o efeito da luz laser de HeNe, de baixa intensidade, linearmente polarizada no processo de reparação tissular de lesões de pele de animais de experimentação. A polarização linear do laser foi alinhada

paralela e perpendicularmente à uma direção referencial no animal, tal como o eixo da coluna vertebral. As lesões consistiam de queimaduras com N<sub>2</sub> líquido, criadas na parte inferior do dorso dos animais. Foram feitas quatro irradiações, nos dias 3, 7, 10 e 14 após a criação da ferida, na dose de 1 J/cm<sup>2</sup>. As lesões controle não foram irradiadas. Verificou-se que a polarização linear é mantida nas camadas superficiais da pele e que ela pode ser melhor preservada na pele lesada, quando comparada à pele sadia. A análise do processo de reparação foi realizada por microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão e pela técnica radioautográfica. Os resultados obtidos indicaram que o processo de reparação de lesões de pele irradiadas com luz laser HeNe é influenciado pela direção da polarização. Experimentalmente, verificou-se que, nas condições utilizadas neste estudo, a luz polarizada pode ser preservada nas primeiras camadas da pele. Além disso, o grau de polarização linear foi mais preservado nas amostras patológicas quando comparado às amostras de pele sadia, portanto a direção de polarização da radiação laser de HeNe pode acelerar a resposta biológica durante a reparação de queimaduras, na pele de ratos e camundongos, nas condições experimentais utilizadas neste estudo.

Blay, em 2001, estudou os efeitos da radiação laser de baixa intensidade no mecanismo de osseointegração de implantes, mostrando que seu uso acelera a osseointegração.

Silveira, em 2001, selecionou 20 pacientes com enfermidade periodontal, necessitando de tratamento periodontal cirúrgico do tipo ressectivo, pela técnica de gengivectomia, que consiste em remover todo o excesso de tecido gengival com finalidade de restabelecer a anatomia e também a parte funcional. O tecido gengival foi irradiado com diferentes tipos de feixe de laser para avaliação de possíveis

alterações histológicas que pudessem ocorrer, principalmente quando se refere ao comportamento dos mastócitos, responsável entre outras alterações, pela dilatação dos vasos. Durante a intervenção cirúrgica, irradiação de laser de baixa intensidade de emissão infravermelha ( $\lambda = 785 \text{ nm}$ ) e vermelha ( $\lambda = 688 \text{ nm}$ ) foram usados, ambos com 50 mW de potência e fluência de  $8 \text{ J/cm}^2$ , como também fragmentos que não receberam nenhum tipo de irradiação. Todos os fragmentos foram fixados em formol, cortados e corados, pelas técnicas de hematoxilina-eosina e azul de toluidina, para análise histológica. Por meio da análise dos resultados, o autor concluiu que: 1. dos mastócitos presentes, a proporção de degranulação foi significativamente maior nas regiões submetidas a aplicações de laser, independentemente dos dois comprimentos de onda utilizados; 2. não houve diferença significativa da ação do laser entre os diferentes comprimentos de onda ( $\lambda = 785 \text{ nm}$ ) e ( $\lambda = 688 \text{ nm}$ ), ambos com 50 mW de potência e fluência de  $8 \text{ J/cm}^2$  sobre a degranulação de mastócitos, pois ambos resultaram num índice de degranulação similar; 3. com relação às medidas de comprimento e largura de vasos, escolhidos aleatoriamente nos campos de mensuração, não houve diferenças estatisticamente significantes.

Bornstein et al., em 2003, relataram que desde o início dos anos 60, o laser de  $\text{CO}_2$ , tem sido rapidamente introduzido em pesquisas médicas e em quase todas as especialidades cirúrgicas da Medicina e da Odontologia. Em cirurgias dentais ele é principalmente usado para aplicações em tecido mole, e em lesões estomatológicas tem sido um método de escolha, enquanto que para outras lesões a evidência para seu uso ainda não é suficiente. Na primeira parte deste estudo é discutido os aspectos típicos da reparação da ferida, seguido da aplicação do laser de  $\text{CO}_2$ , comparando com biópsias convencionais.

Dyson, em 2004, relatou que a terapia com laser de baixa intensidade pode estimular a reparação tecidual e o alívio da dor e não produz um aquecimento fisiológico significativo. Cita seus efeitos na cicatrização da ferida, como: aceleração da resolução da inflamação aguda, aumento da liberação de fatores de crescimento, síntese de ATP aumentada, aumento dos mastócitos e da degranulação dos tecidos injuriados, aumento na proliferação de queratinócitos, fibroblastos e endoteliócitos, aumento da angiogênese, aumento da síntese de colágeno e aumento da atividade fibroblástica, resultando numa contração cicatricial mais rápida. E seus efeitos no alívio da dor, como: alteração do limiar de dor, alteração neuroquímica no sistema nervoso periférico e central. Mas há a necessidade de mais pesquisas clínicas para avaliar a efetividade dos comprimentos de onda e a densidade da radiação laser.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

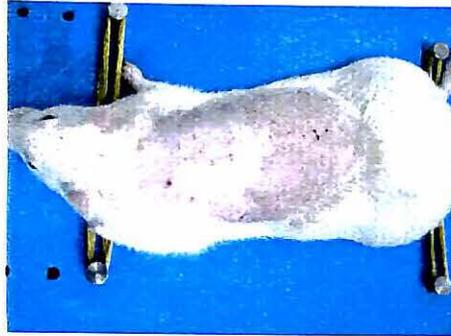
Nesta pesquisa foram utilizados 32 ratos, machos, adultos ( $\pm 5$  meses), com  $\pm 250$  g cada, da raça Wistar provenientes do UNITOX da UNISA, com controle de linhagem e origem segundo padrões de experimentação. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da UNISA (Anexo I).

Os ratos foram mantidos em gaiolas separadas até o final do estudo (Figura 1), sob supervisão veterinária e receberam dieta de acordo com a fase da pesquisa e água “ad libitum”.



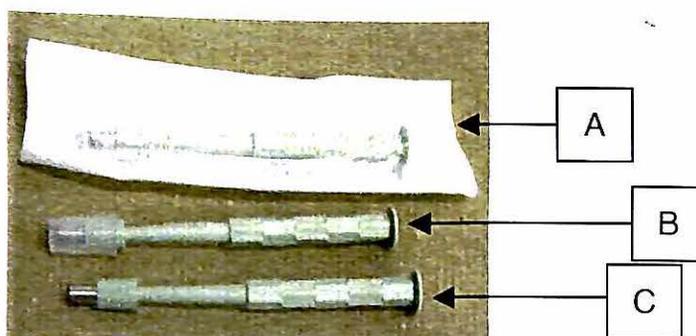
**Figura 1** – Apresentação de um rato, já operado, mantido em gaiola separada.

Os ratos foram divididos em dois grupos, de 16 ratos cada um. Depois os ratos foram tricotomizados em seus dorsos (tricotomia com aproximadamente 5 cm de diâmetro) e sedados com éter (Figura 2).



**Figura 2** – Tricotomia realizada no dorso do rato, estando este já sedado com éter.

No primeiro grupo, denominado experimental, foi realizado o corte do tecido mole com um bisturi circular de 5 mm de diâmetro (Kolplast C I LTDA., São Paulo), por 3 mm de profundidade, no dorso do rato (Figura 3, 4 e 5). Após a utilização do bisturi circular, o tecido foi removido com o auxílio de uma pinça dente de rato e uma lâmina de bisturi #12 (Figura 6 e 7). Neste grupo, utilizamos o laser de baixa potência de Ascórbio/Gálio/Alumínio, Quasar (Dentoflex, São Paulo), com uma dosagem de 10 joules/cm<sup>2</sup> em uma única aplicação no pós-operatório imediato, a uma distância de 0,5 cm do dorso do rato (Figura 8). No segundo grupo, denominado controle, o procedimento cirúrgico foi o mesmo, todavia, o laser não foi aplicado.



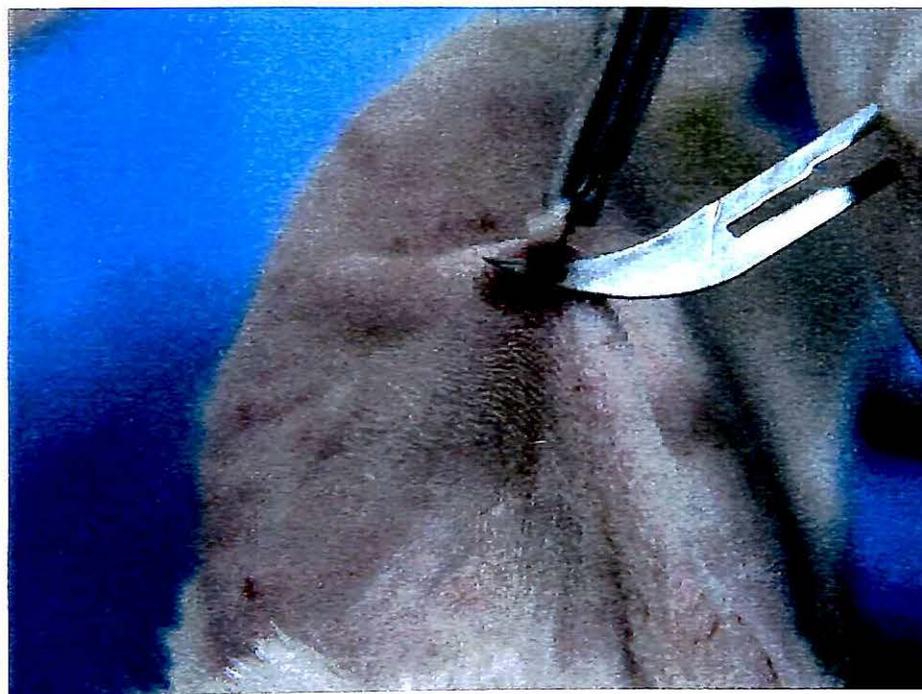
**Figura 3** – Bisturi circular com o qual foi realizada a remoção do tecido. A. Bisturi circular empacotado, estéril, B. Bisturi circular lacrado e C. Bisturi circular aberto, pronto para uso.



**Figura 4** – Utilização do bisturi circular para o corte do tecido mole (nota-se que para a utilização do bisturi circular era necessário que a pele do rato fosse esticada).



**Figura 5** – Tecido incisado após a utilização do bisturi circular.



**Figura 6** – Remoção do tecido, incisado com o bisturi circular, com o auxílio de uma pinça dente de rato e uma lâmina de bisturi #12.



**Figura 7** – Aspecto do dorso do rato, já com o tecido removido.



**Figura 8** – Aplicação do laser a uma distância de 0,5 cm do dorso do rato, ou da lesão.

Os ratos foram mantidos em gaiolas separadas, com alimentação determinada pelo UNITOX e sem antibioticoterapia.

O material foi colhido em quatro ratos de cada grupo, com três, cinco, sete e dez dias da cirurgia, colocado em uma solução fixadora (Formol a 10%), os cortes seguiram a rotina da técnica histológica, sendo incluídos em parafina, corados com o método de coloração da hematoxilina-eosina (HE), fotografados com lentes ocular de dez vezes de aumento e objetivas de dez e quarenta vezes de aumento e as imagens capturadas por um computador, pelo programa Image Pro Lite (Media Cybernetics, USA), e em seguida foram avaliados quanto a presença de infiltrado linfoplasmocitário, plasmócitos, fibroblastos, neutrófilos polimorfonucleares ou outras células que indicam a inflamação, assim como, em todas as feridas foi averiguado o grau de epitelização e quantas camadas haviam nas diversas épocas das feridas.

## 5 RESULTADOS

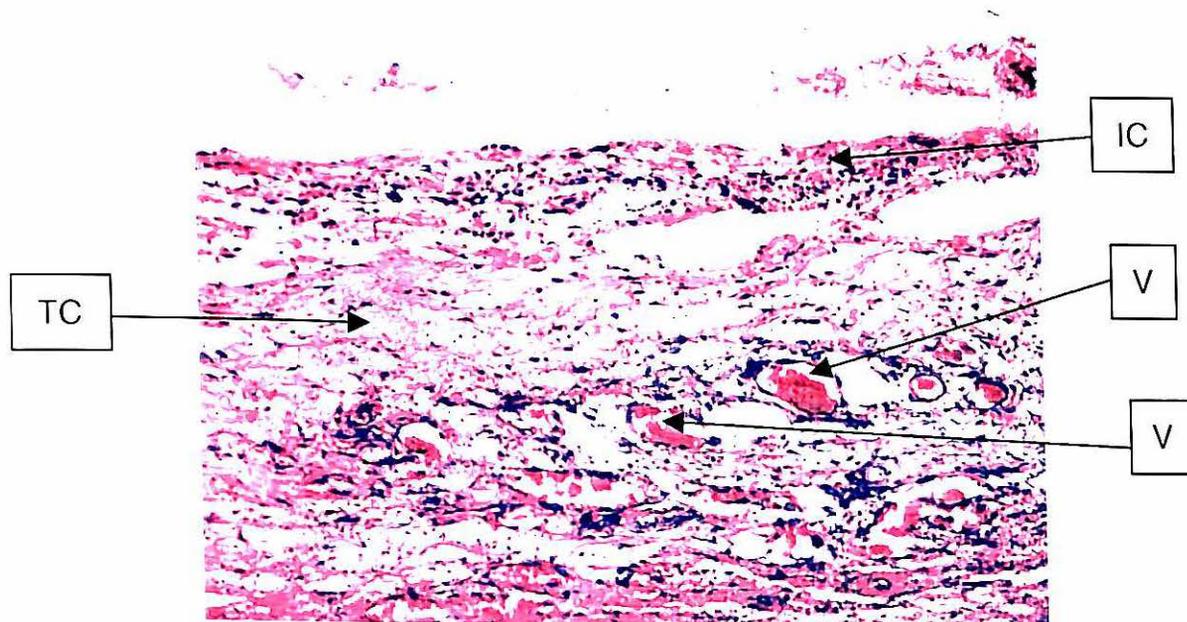
Para uma melhor compreensão, passaremos a descrever nossos resultados separadamente, isto é, resultados do grupo controle e do grupo experimental.

### 5.1 Grupo Controle

Aos três dias do experimento observa-se a presença de um tecido conjuntivo do tipo frouxo, com a tendência para um tecido conjuntivo fibroso, onde pode-se notar fibras colágenas orientadas em várias direções, caracterizando um tecido conjuntivo denso não modelado. Observa-se, nas porções laterais da ferida a concentração de células que caracterizam um infiltrado do tipo plasmolinfocitário (caracterizando uma inflamação crônica). No local da reparação da ferida nota-se a presença de um processo inflamatório devido a uma reação traumática do tecido e também a presença de uma vascularização intensa (vasos congestionados) (Figura 9).

Com maiores detalhes nota-se a orientação das fibras colágenas em várias direções e uma concentração de células do tipo fibroblasto, plasmócitos, neutrófilos (PMN) e a presença de capilares congestionados (Figura 10).

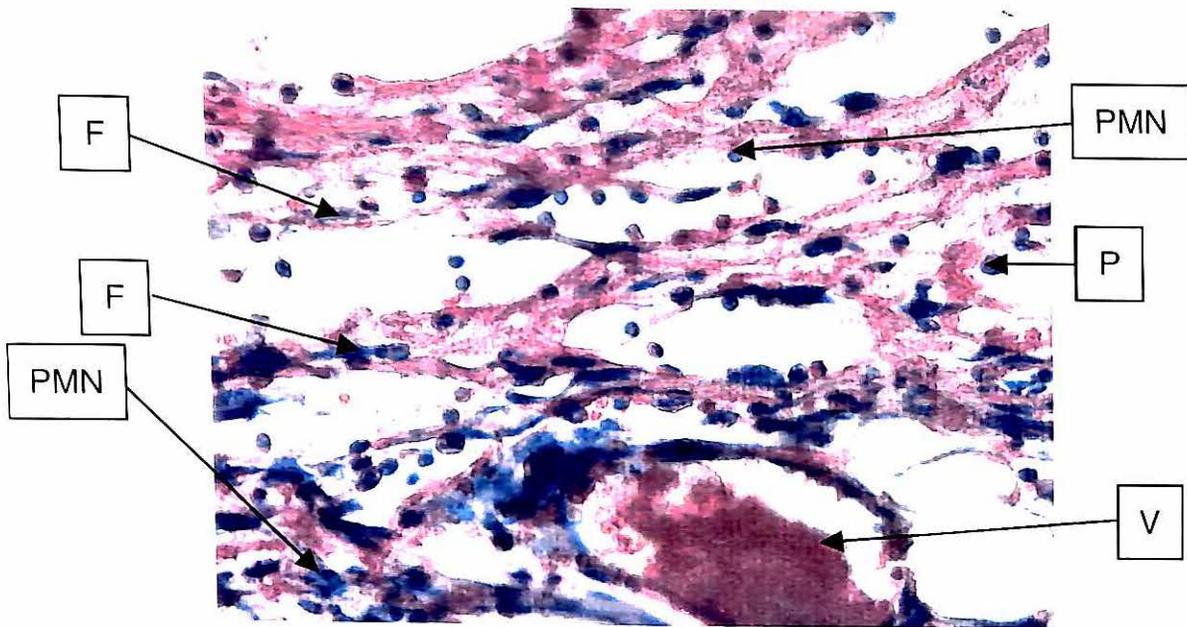
No grupo controle de cinco dias, observa-se a presença de um tecido conjuntivo denso com fibras colágenas orientadas em várias direções e a presença de vários tipos celulares, tais como: fibroblastos, plasmócitos e polimorfonucleares (PMN). Observa-se ainda a presença de uma vascularização intensa, com a presença de capilares congestionados e a presença da migração epitelial das bordas para o centro da ferida, ainda não epitelizado (Figura 11).



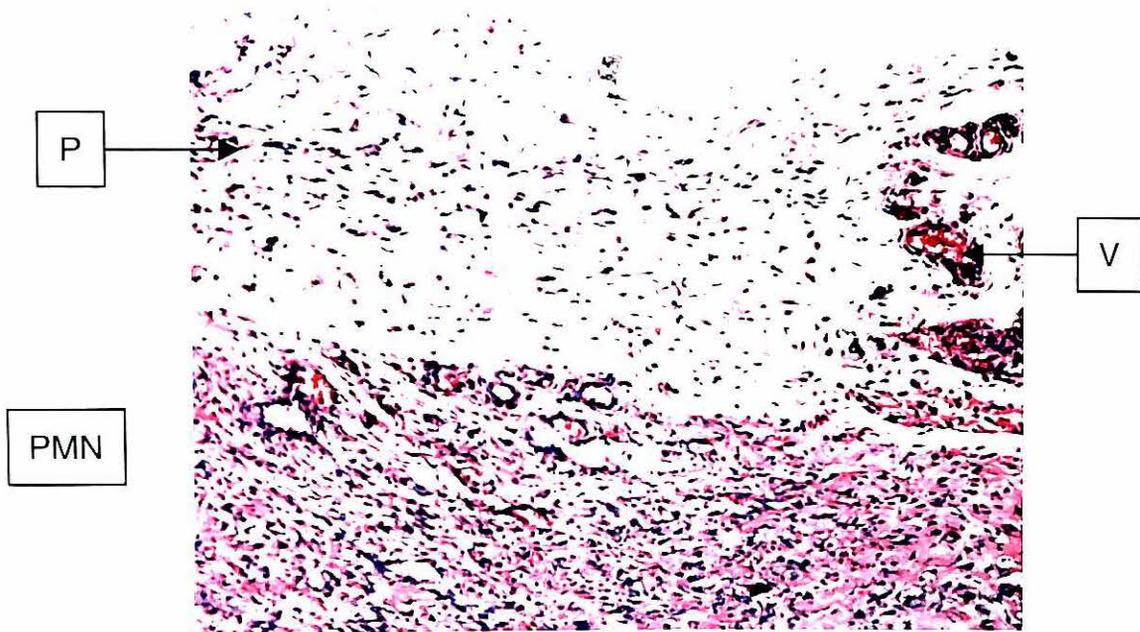
**Figura 9** – Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de três dias. Observam-se: TC – tecido conjuntivo; IC – inflamação crônica; e V – vasos sanguíneos.

Nas observações com maiores detalhes da reparação, nota-se, com certa predominância, a presença de fibroblastos com intensa atividade secretora, onde as fibras colágenas apresentam-se com vários graus de polimerização e uma vascularização intensa (Figura 12).

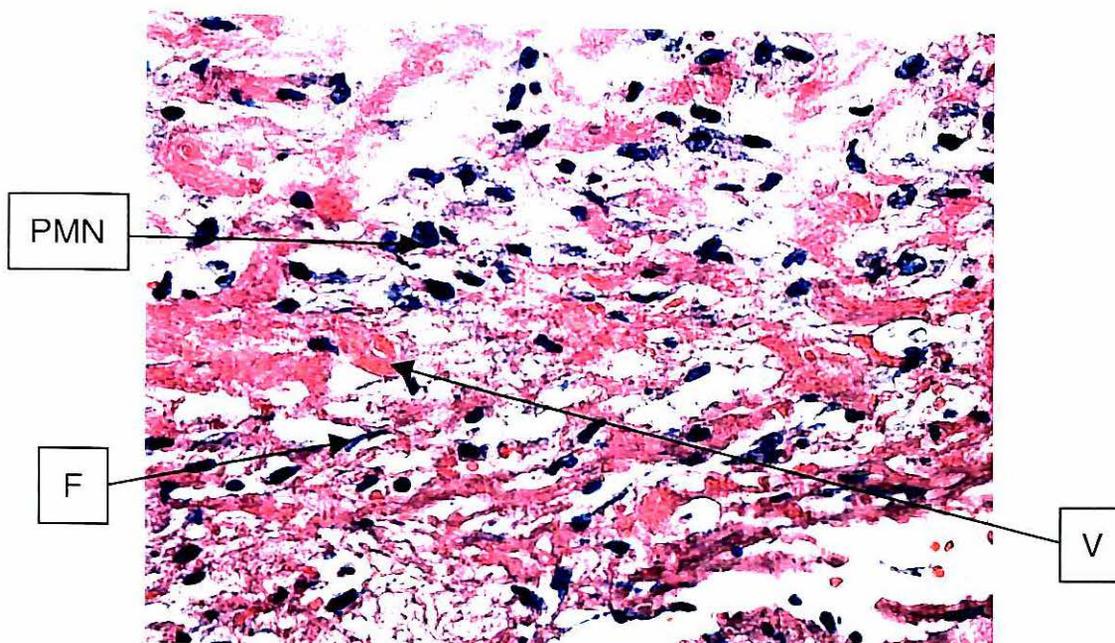
Aos sete dias do experimento, no tecido conjuntivo da ferida em reparação, nota-se a presença de fibras colágenas com vários graus de polimerização, fibroblastos e a presença de vasos. Em relação ao tecido epitelial, observa-se que as porções periféricas do tecido se apresentam com características de reparação, tentando uma projeção para fechar a parte central da ferida, esta se formou com uma espessura maior, determinando as camadas do epitélio, com ausência da camada granulosa (Figura 13).



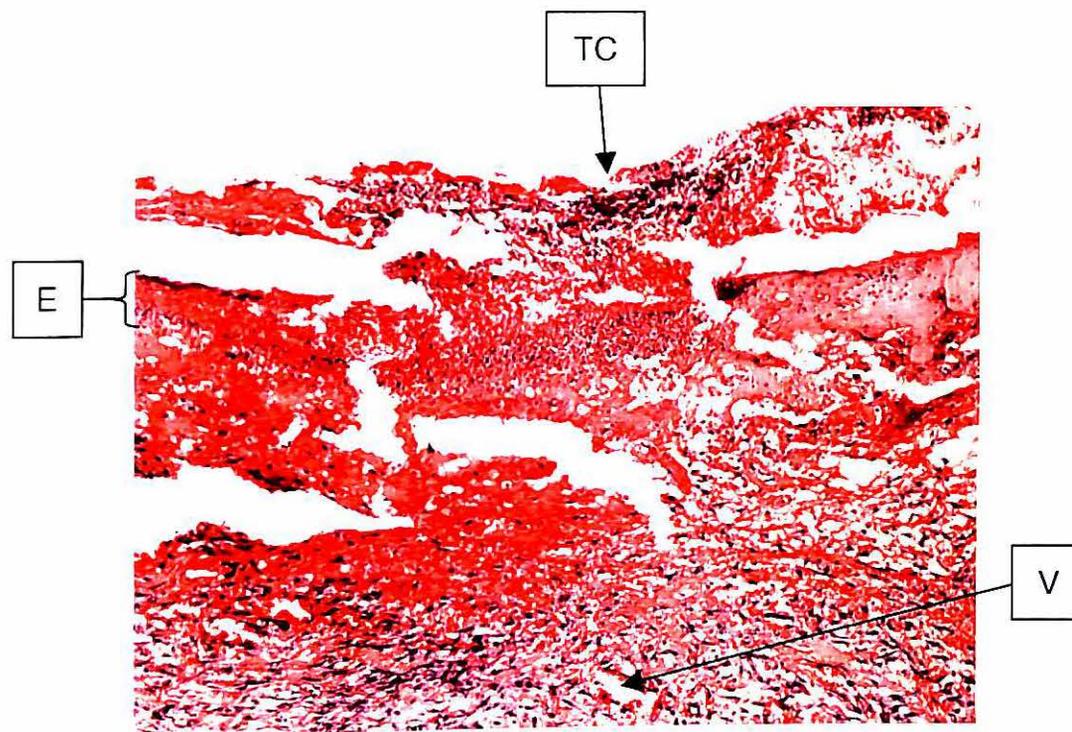
**Figura 10** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo controle de três dias. Observam-se: F – fibroblasto; P – plasmócito; PMN – polimorfonucleares; e V – vasos sanguíneos.



**Figura 11** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de cinco dias. Observam-se: PMN – polimorfonucleares; P – plasmócitos; e V – vasos sanguíneos.

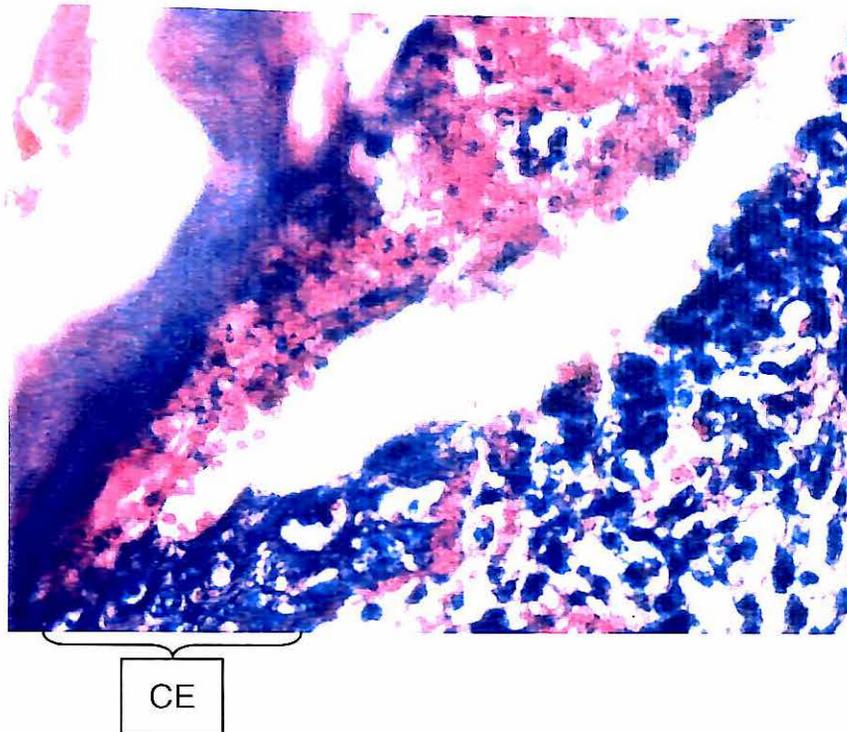


**Figura 12** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X, do grupo controle de cinco dias. Observam-se: F – fibroblastos; PMN – polimorfonucleares; e V – vasos sanguíneos.



**Figura 13** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de sete dias. Observam-se: E – epitélio da borda da ferida; TC – tecido conjuntivo não recoberto; e V – vasos sanguíneos.

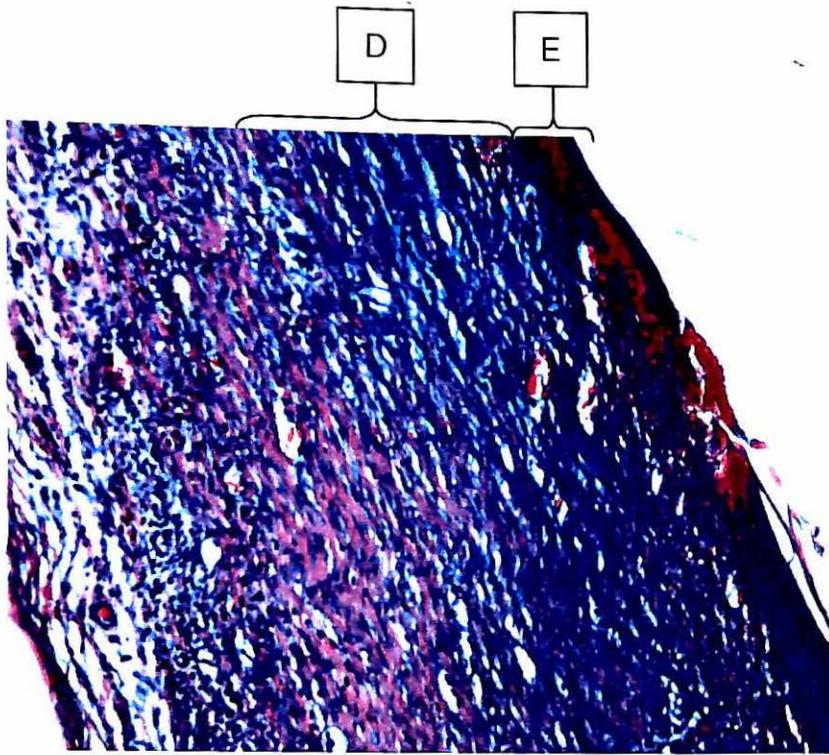
Com mais detalhe nota-se a presença das camadas epiteliais em evidência (camada basal e espinhosa, com vários estratos celulares) (Figura 14).



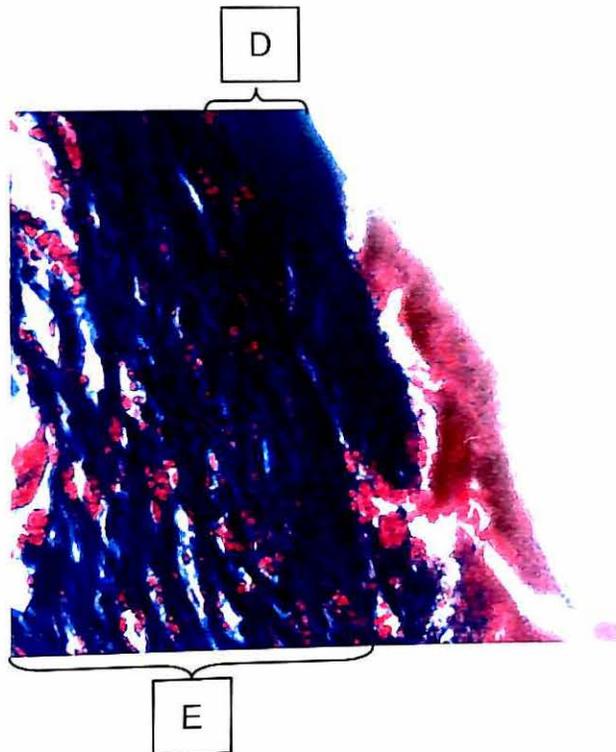
**Figura 14** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo controle de sete dias. Observa-se: CE – camadas epiteliais.

Com dez dias da fase experimental, a epiderme, ou seja, o tecido epitelial, apresenta suas camadas definidas, formando um epitélio pavimentoso estratificado queratinizado. O tecido conjuntivo se apresenta totalmente diferenciado, formado por feixes colágenos e fibras colágenas em várias direções e a presença de fibroblastos e uma vascularização menos intensa que os estágios anteriores (Figura 15).

Com mais detalhe, a epiderme se apresenta com o epitélio com as respectivas camadas: camada córnea, camada granulosa, camada espinhosa e camada basal) e o tecido conjuntivo totalmente diferenciado, como descrito acima (Figura 16).



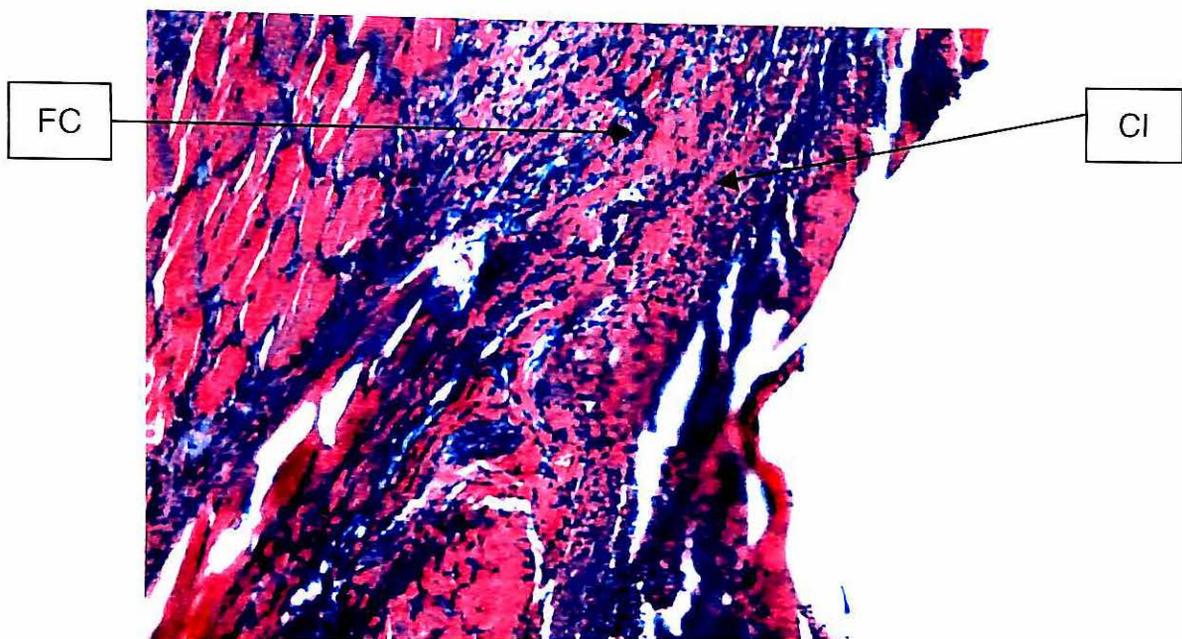
**Figura 15** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo controle de dez dias. Observam-se: E – epiderme (epitélio pavimentoso estratificado queratinizado); e D – derme.



**Figura 16** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo controle de dez dias. Observam-se: E – epiderme (camada córnea, camada granulosa, camada espinhosa e camada basal); e D – derme.

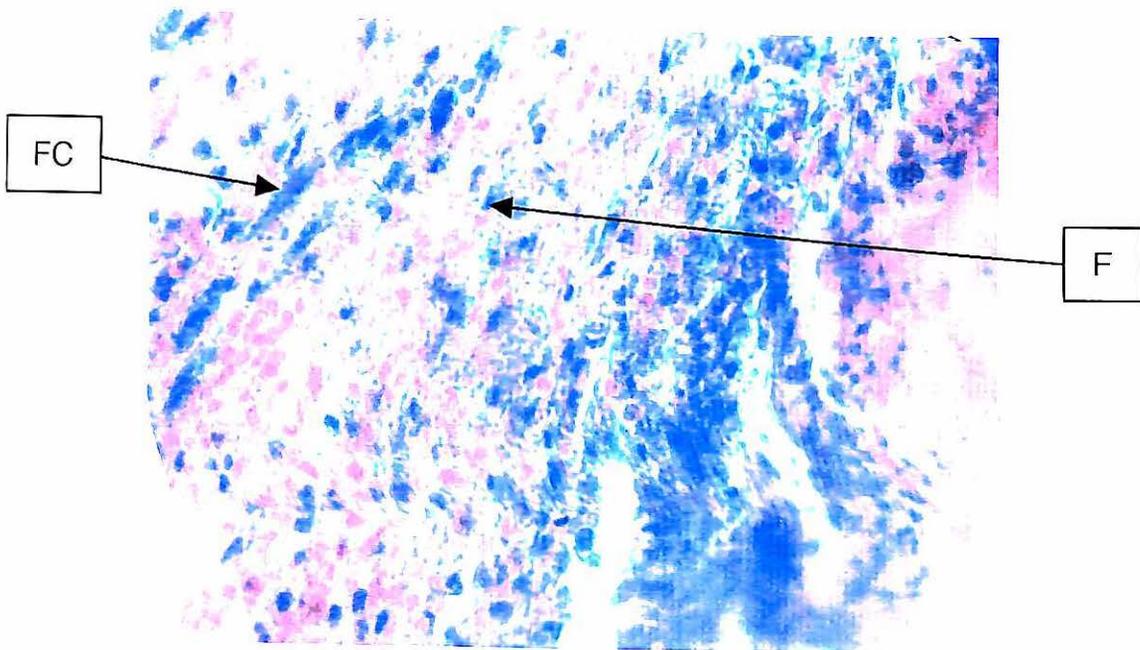
## 5.2 Grupo Experimental

Aos três dias da fase experimental observa-se que houve uma orientação das fibras colágenas, provocando uma concentração maior das mesmas, com a presença de fibroblastos e de células tipo linfócitos e plasmócitos que caracterizam um processo de inflamação crônica (Figura 17).



**Figura 17** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de três dias. Observam-se: FC – fibras colágenas; e CI – células inflamatórias (PMN – polimorfonucleares, linfócitos e plasmócitos).

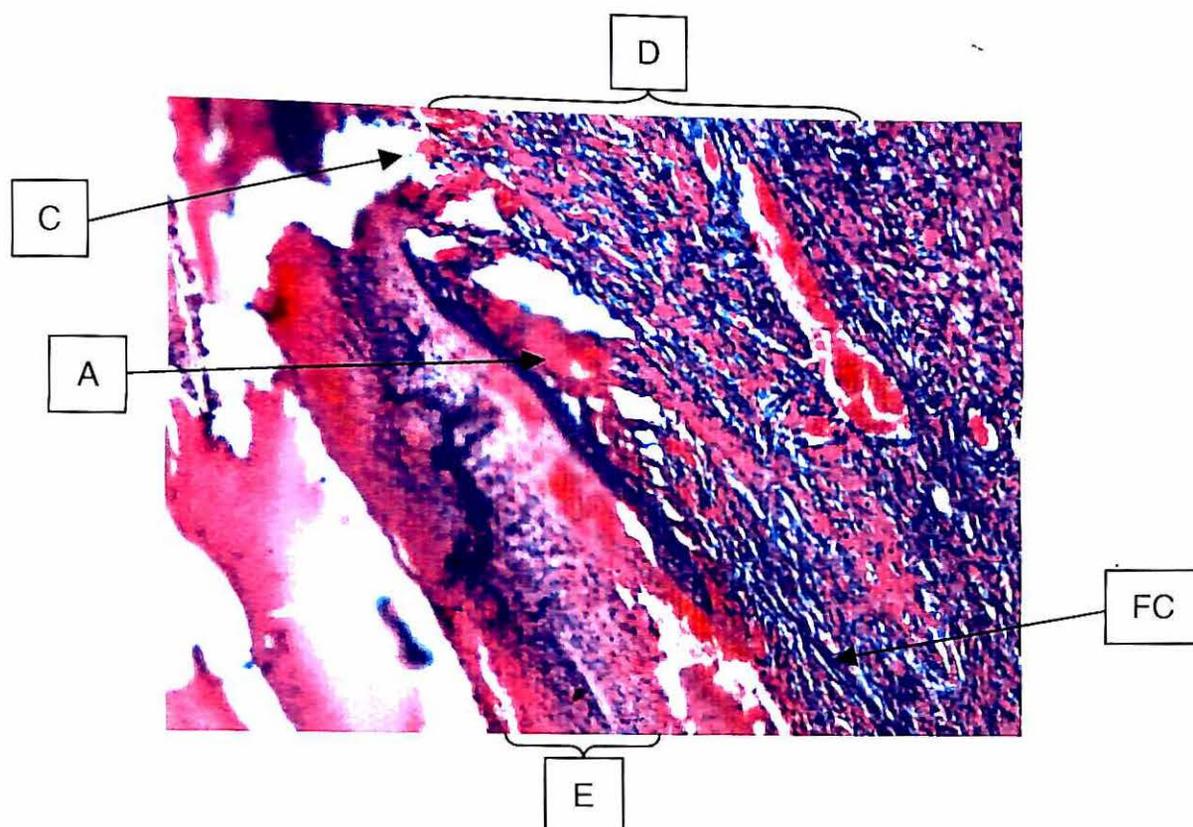
Numa maior ampliação, observa-se uma orientação das fibras colágenas com uma melhor organização, provocando uma melhor concentração no tecido, e há a presença de fibroblastos no interior do tecido em reparação (Figura 18).



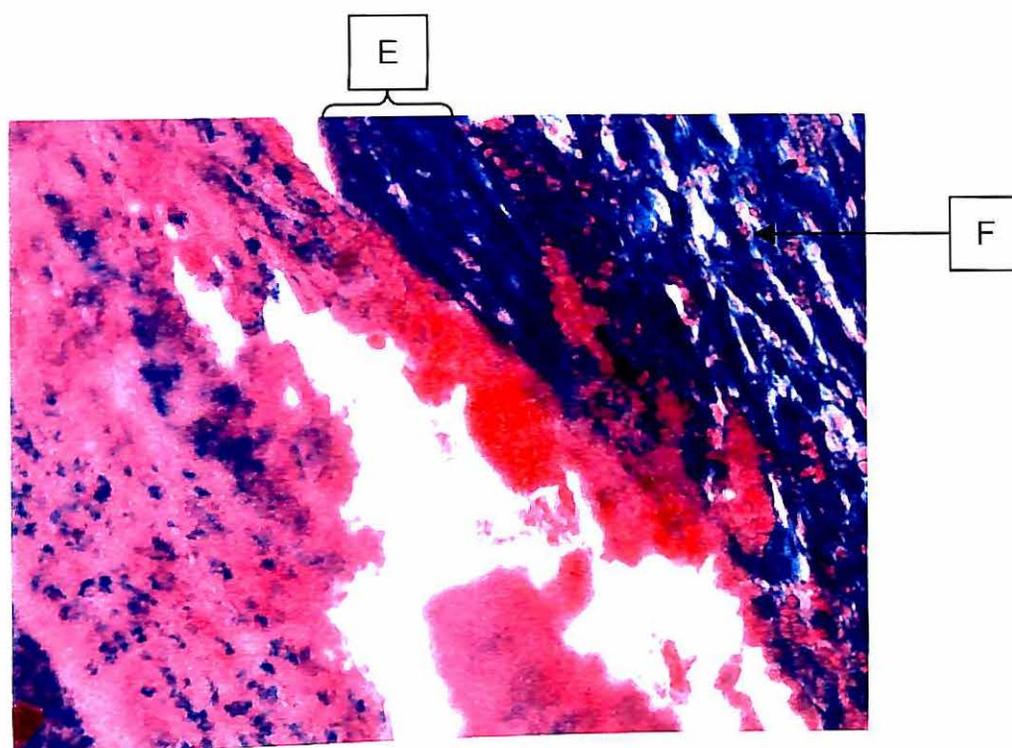
**Figura 18** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de três dias. Observam-se: FC – fibras colágenas; e F – fibroblastos.

Aos cinco dias, o tecido epitelial apresenta-se com uma projeção maior que no grupo controle. A epitelização apresenta-se quase completa, com ínfima porção central do tecido conjuntivo exposto. A membrana conjuntiva (derme) apresenta-se constituída por feixes colágenos em vários graus de epitelização, onde as fibras estão em várias direções, e no seu interior observa-se a presença de células como fibroblastos (Figura 19).

Com maiores detalhes, a célula predominante é do tipo fibroblástica com característica de atividade secretora (apresentando os núcleos de cromatina frouxos e uma basofilia citoplasmática). O tecido epitelial em formação é constituído por várias camadas, porém, não se observa a definição das respectivas, com ausência de queratina. A junção entre epitélio e conjuntivo é formada por uma estrutura celular de característica acidófila, possibilitando a integração entre o epitélio e o conjuntivo (Figura 20).

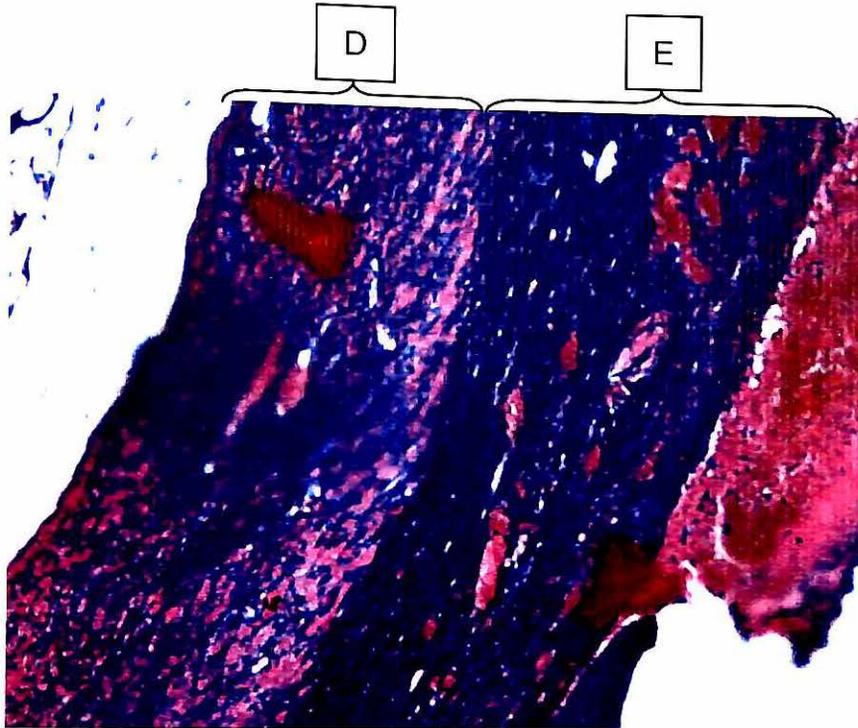


**Figura 19** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de cinco dias. Observam-se: E – epitélio; D – derme; C – conjuntivo não epitelizado; FC – feixe colágeno; e A – concentração celular delimitando o colágeno do tecido epitelial.



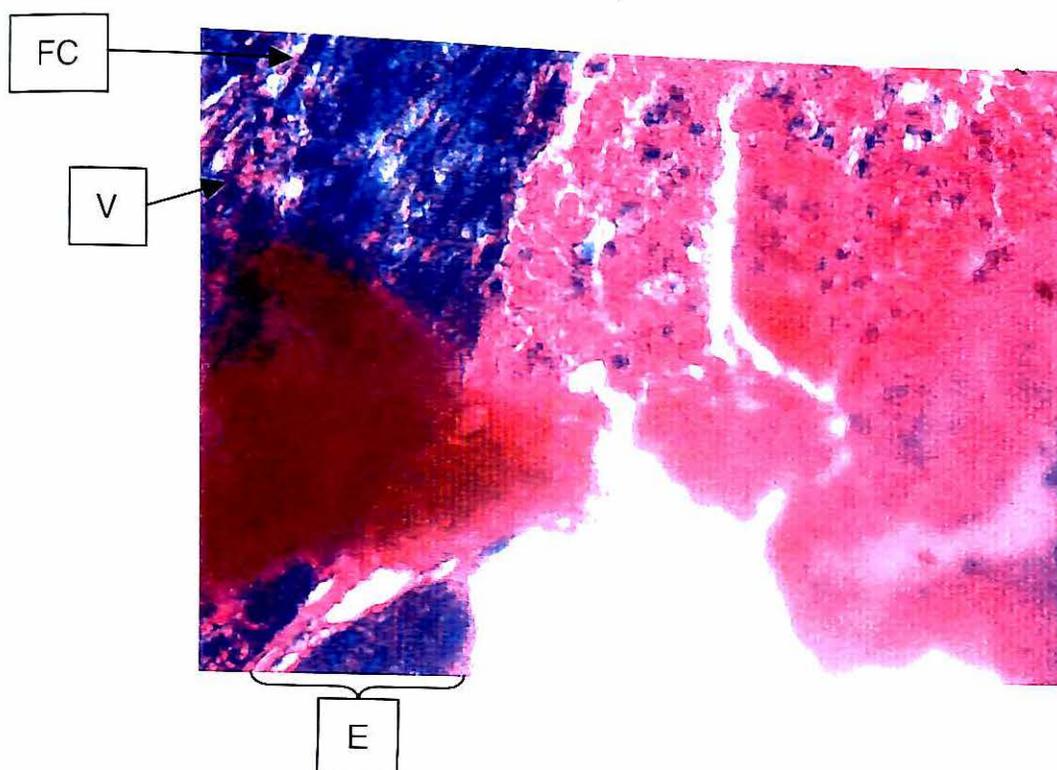
**Figura 20** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de cinco dias. Observam-se: F – fibroblasto; E – epiderme.

Com sete dias do experimento, o epitélio já se encontra totalmente formado, ainda no sentido de fechar a ferida. E o tecido conjuntivo mais compacto, com áreas de concentração celular e orientação dos feixes colágenos (Figura 21).



**Figura 21** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de sete dias. Observam-se: E – epiderme; e D – derme (áreas de concentração celular e orientação dos feixes colágenos).

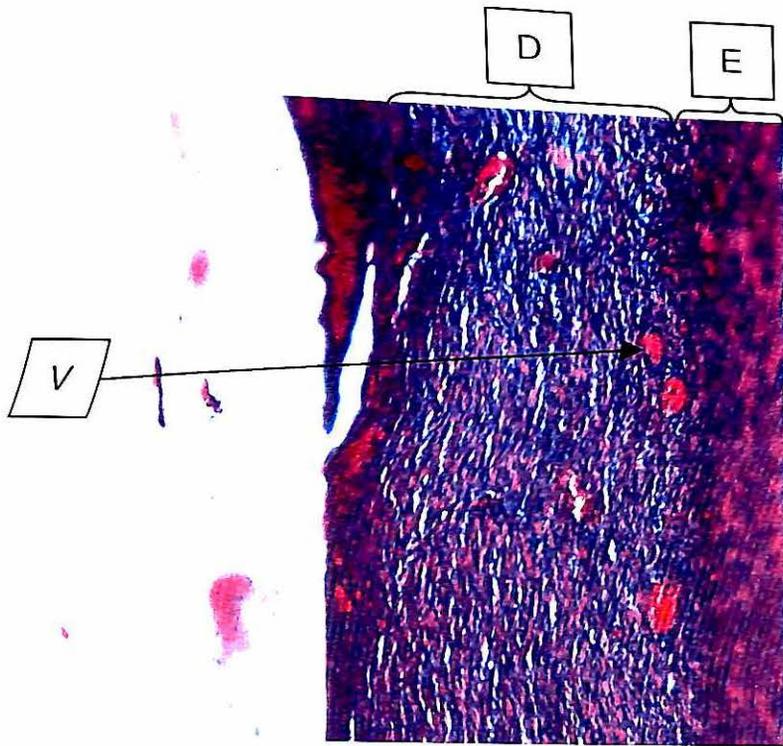
Em maiores detalhes, observa-se, a epiderme com tecido epitelial totalmente formado, com células totalmente diferenciadas, apresentando grânulos citoplasmáticos (querato-hialina). A camada espinhosa já se apresenta formando pequenas papilas para o interior da derme (conjuntivo). A derme já se apresenta formada por feixes de colágeno orientados em várias direções, caracterizando um tecido conjuntivo denso, não modelado e uma vascularização intensa (Figura 22).



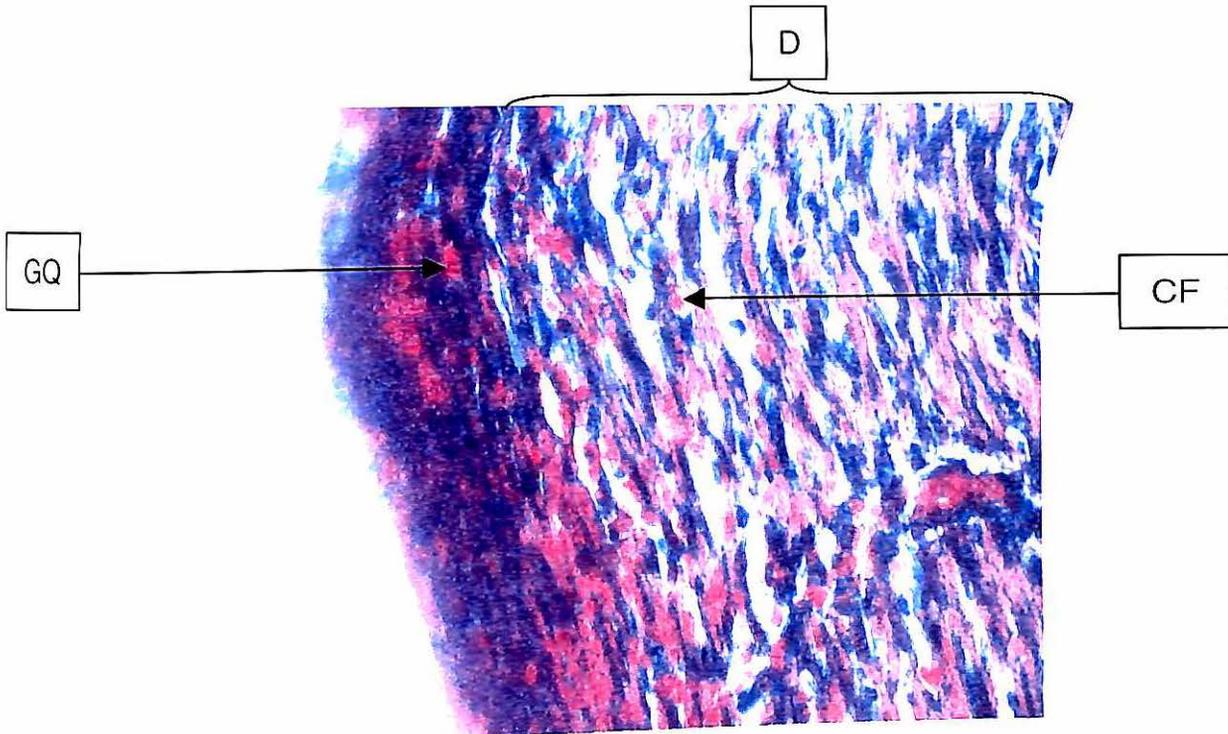
**Figura 22** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de sete dias. Observam-se: E – epitélio; FC – feixe colágeno; e V – vasos sanguíneos.

Aos dez dias do experimento, a queratina se apresenta filamentososa, caracterizando a queratina da pele. A epiderme se apresenta com todas as camadas diferenciadas, isto é, camada basal, camada espinhosa, camada granulosa e camada córnea. A derme, uma membrana constituída por tecido conjuntivo denso, não modelado e com a presença de vasos congestos (Figura 23).

Com um maior aumento, o epitélio já está em processo acentuado de secreção de grânulos de queratina. A derme já se apresenta mais densa predominantemente com células fibroblásticas (Figura 24).



**Figura 23** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 100X de aumento, do grupo experimental de dez dias. Observam-se: E – epiderme; D – derme; e V – vasos sanguíneos.



**Figura 24** - Corte de pele de rato, corado pela técnica da HE, com 400X de aumento, do grupo experimental de dez dias. Observam-se: GQ – grânulos de queratina; D – derme; e CF – células fibroblásticas.

## 6 DISCUSSÃO

Analisando os resultados desta pesquisa, comparando os resultados entre os grupos controle e experimental, com os dados da literatura obtivemos o que se segue.

Aos três dias da fase experimental, quando do uso do laser, houve uma melhor orientação das fibras colágenas, provocando uma maior concentração destas, no tecido conjuntivo, com a presença de fibroblastos, no interior do tecido em reparação, e de células que caracterizam um processo inflamatório, como linfócitos e plasmócitos. Isto mostra pouca diferença em relação ao grupo controle, onde a situação difere apenas numa menor orientação das fibras colágenas, isto é, estando estas orientadas em várias direções.

Aos cinco dias do experimento, notou-se que no grupo experimental, a projeção do tecido epitelial das bordas para o centro da ferida foi maior do que no grupo controle, mas este epitélio ainda não se apresentou com suas camadas definidas, com apenas uma porção central do tecido conjuntivo exposto. Estes resultados estão coerentes com Mester et al. (1971), que relataram que o laser estimulou o crescimento epitelial e com Trelles et al. (1989), que mostraram que o laser acelera a reprodução e a maturação das células epiteliais. O tecido conjuntivo em ambos os grupos apresentou-se constituído por feixes colágenos em vários graus de epitelização, e a célula predominante é a do tipo fibroblástica, com característica de atividade secretora, como observaram Reddy, Stehno-Bittel e Enweneka (1998) e Dyson (2004).

Já com sete dias da fase experimental, o epitélio já se encontra totalmente formado, mas ainda no sentido de fechar a ferida. O que o diferencia do grupo

controle, pois as células epiteliais estão totalmente diferenciadas, com a presença de grânulos citoplasmáticos, dando assim, início para a formação de queratina, nota-se também, que no grupo experimental há uma invaginação da camada espinhosa para o interior do tecido conjuntivo, o que não ocorre no grupo controle. No grupo controle notou-se a ausência da camada granulosa e da camada córnea, presentes no grupo experimental. A derme, ou tecido conjuntivo, no grupo experimental, é mais compacta, caracterizando um tecido conjuntivo denso, não modelado.

Com dez dias do experimento, o tecido epitelial apresenta suas camadas definidas, formando um epitélio pavimentoso estratificada queratinizado, isto é, com todas as suas camadas: camada córnea, camada granulosa, camada espinhosa e camada basal. Sendo que no grupo controle, a queratina, ou a camada córnea é uma massa e no grupo experimental esta é filamentosa, caracterizando a queratina da pele. O tecido conjuntivo também é totalmente diferenciado, formado por feixes colágenos. As maiores diferenças são que no grupo experimental o epitélio está num processo acentuado de secreção de grânulos de queratina e a derme se apresenta mais densa, com a predominância de células fibroblásticas.

Sendo assim, como descrito acima, tendo o tecido conjuntivo se organizado melhor e o epitélio ficado com suas camadas mais definidas, isto pode ser uma característica extremamente benéfica para a reparação da ferida. Pois, com a organização mais rápida do tecido conjuntivo e a maior migração do tecido epitelial para o centro da ferida, com a intenção de fechá-la, se torna de grande ajuda em situações onde precisamos do isolamento mais rápido possível do meio interno para o externo. Estas situações podem ser encontradas em: cirurgias muco-gengivais, e maturação de mucosa de revestimento quando se realiza implantes, técnica reconstrutivas de osso e levantamento de seio. Nestas situações estas onde se

demorar para ocorrer o selamento do epitélio, podemos nos deparar com infecções da parte interna da ferida, tornando-as mais difíceis de se reparar e comprometendo o resultado do procedimento cirúrgico.

Os resultados encontrados nesta pesquisa, indicam uma tendência de reparação mais rápida no grupo experimental com laser.

De acordo com o trabalho de Herrero (1986), poderíamos aumentar a dose até  $15 \text{ J/cm}^2$ , para ver se existe um efeito mais notável na reparação tecidual do que com  $10 \text{ J/cm}^2$ , já que este autor diz que a dosimetria não deve ultrapassar estes  $15 \text{ J/cm}^2$ . Nesta pesquisa não se utilizou os  $15 \text{ J/cm}^2$ , e sim os  $10 \text{ J/cm}^2$ , pois, Mester et al. (1971), disseram ser suficiente.

Vale a pena ressaltar, que se outra pesquisa fosse realizada, poderia ser aumentado o número de aplicações do laser, conforme o relatado por Mester et al. (1971), que aplicaram o laser com três, sete e dez dias de pós-operatório, e Ribeiro (2000), que usou o laser com três, sete, dez e catorze dias depois da criação da ferida.

De toda forma, é digno de nota, que segundo as observações por nós obtidas nesta pesquisa, a partir do décimo dia, os resultados tendem a ser mais homogêneos, mostrando que em ratos, após os dez dias, os efeitos reparativos observados no grupo controle e no grupo experimental se equiparam.

O desafio para os pesquisadores que lerem este trabalho e continuarem nesta linha de pesquisa, é determinar em cada animal a relação ideal entre a potência por  $\text{cm}^2$  e a frequência da aplicação do laser. Desta maneira, esta pesquisa abre a possibilidade de que outras investigações venham a ser realizadas para esclarecer o papel efetivo da aplicação da radiação laser na reparação dos tecidos biológicos.

## CONCLUSÕES

Os resultados observados neste trabalho permitem concluir que:

A reparação tecidual quando do uso do laser de baixa potência de Ascórbio/Gálio/Alumínio influenciou positivamente o processo reparativo de tecido mole em ratos.

## ANEXO

# PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA UNISA



MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP



UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
Comitê de Ética em Pesquisas  
Registro CONEP n.º 308  
Aprovado em 16/05/2000

## PARECER N.º 136/2004

PROTOCOLO N.º 095/04 – Apresentado em 17/02/2004

**Projeto de Pesquisa:** "Avaliação da aplicação do laser de baixa potência em ferida de tecido mole".

**Pesquisadores Responsáveis:** Mestranda: Kátia Cristina Beltrane  
Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk

**Área Temática Especial**                      Odontologia / Implantodontia

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, cabe a seguinte consideração:

As informações apresentadas atendem aos aspectos fundamentais das Resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas da UNISA, de acordo com as atribuições da Resolução 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto em referencia, a ser desenvolvido na disciplina de Implantodontia do Curso de Mestrado em Implantodontia da Universidade de Santo Amaro – São Paulo, sob orientação do Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk.

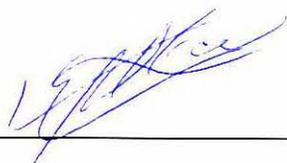
**Situação: Aprovado em 17/02/2004**

São Paulo, 18 de Fevereiro de 2004

**PROF. DR. LIBERATO JOHN ALPHONSE DI DIO**  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisas  
UNISA - Universidade de Santo Amaro

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO

Eu Katia Cristina Beltrame, autorizo a cópia parcial e/ou integral deste trabalho.



---