

UNIVERSIDADE DE MARÍLIA – UNIMAR
Faculdade de Ciências Odontológicas

MARCOS ALCÂNTARA DE LIMA

**REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS RETARDADAS,
SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM LASER EM BAIXA
INTENSIDADE, ASSOCIADO OU NÃO À DROGA
FOTOSENSIBILIZADORA -**

Estudo histológico em ratos

**MARÍLIA-SP
2004**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE MARÍLIA – UNIMAR
Faculdade de Ciências Odontológicas

MARCOS ALCÂNTARA DE LIMA

**REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS RETARDADAS,
SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM LASER EM BAIXA
INTENSIDADE, ASSOCIADO OU NÃO À DROGA
FOTOSSENSIBILIZADORA -
*Estudo histológico em ratos***

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Ciências Odontológicas de Marília – UNIMAR, para obtenção do grau de MESTRE em Clínica Odontológica.

Área de Concentração: CIRURGIA BUCO MAXILO FACIAL

Orientador: Prof. Titular Valdir Gouveia Garcia
Co-Orientador: Prof. Titular Tetuo Okamoto

**MARÍLIA-SP
2004**

UNIVERSIDADE DE MARÍLIA – UNIMAR
Faculdade de Ciências Odontológicas

Dr Márcio Mesquita Serva

Reitor

Prof. Dr Sosígenes Victor Benfatti

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação

Prof. Dr Valdir Gouveia Garcia

Faculdade de Ciências Odontológicas de Marília
Diretor

Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica

Área de Concentração Cirurgia Buco Maxilo Facial

Prof. Dr Valdir Gouveia Garcia

Orientador

Notas da Banca Examinadora da Defesa de Mestrado:

DATA; ____ / ____ / 2004

BANCA EXAMINADORA

1º Examinador: Prof. Dr.Letícia Helena Theodoro

Julgamento: _____ Assinatura _____

2º Examinador: Prof. Dr. Luiz Alberto Milanezi

Julgamento: _____ Assinatura _____

3º Examinador: Prof. Dr.Valdir Gouveia Garcia (Orientador)

Julgamento: _____ Assinatura _____

Avaliação Final: _____

*À minha esposa Marlene, por apoiar
minhas decisões.*

*Às minhas filhas Camila e Veronica,
que foram minha base estrutural e
emocional para que eu pudesse
vencer os momentos difíceis e pelas
horas de ausência.*

Que Deus as proteja sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Prof. Dr. Valdir Gouveia Garcia pelo auxílio em traçar e formular diretrizes e idéias para esta pesquisa.

Ao co-orientador Prof. Tetuo Okamoto por sua inestimável colaboração na interpretação da análise histológica (UNESP-Araçatuba) e pelas fotomicrografias.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Milanezi, que sempre estendeu a mão na hora certa.

À minha mãe Tereza e ao meu pai Lazaro (*in memorian*).

A meus irmãos Maria Inêz e Silvio, por acreditarem e me incentivarem sempre.

À minha amiga Dra. Liliane R. M. Introvini pelo apoio na busca de informações para a pesquisa.

À minha amiga Dra. Viviane R. Mendes pelo incansável auxílio nas correções e traduções dos artigos e na elaboração de slides.

Aos meus amigos de mestrado pelo privilégio da amizade.

A Sra. Andréia secretária do Programa de Pós-Graduação da Unimar, por sua dedicação.

À minha secretária Srta. Ana Paula, pela dedicação na minha ausência.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

As Ga: Laser de Arsênico-Gálio

As Ga Al: Laser de Arsênico-Gálio-Alumínio

ATO : Azul de Toluidina-O

cm²: Centímetro quadrado

CO₂: Laser de Dióxido de Carbono

C.O.: Comprimento de Onda dos Lasers

D.P.: Densidade de Potência dos Lasers

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

H.E.: Hematoxilina e Eosina

He-Ne: Laser de Hélio e Neônio

Hz (Hertz): Unidade de medida de frequência, expressa a frequência de ciclo por segundo: um ciclo por segundo

Joule: Unidade de Medida de Energia

LLLT: Laser terapêutico de baixo nível de energia

LASER: Amplificação da luz por emissão estimulada de radiação

mcg/ml: microgramas por milímetro

M.E.C.: Matriz extra celular

mm²: Milímetro ao quadrado

mW: Miliwatts, magnitude que indica a quantidade de energia por unidade de tempo

Nd:YAG: Neodímio, Ítrio-Alumínio-Garnete

nm: Nanômetro, bilionésima parte do metro, utilizado para medir comprimento de onda

PAF: Fator de ativação das plaquetas

PDGF: Fator de crescimento derivado das plaquetas

RNA: Ácido Ribonucléico

Watts (W): Unidade de medida de potência. 1 Watt é igual a 1 joule por segundo

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – GRUPO I (CONTROLE). 3 DIAS. BORDAS DA FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO A CROSTA E AUSÊNCIA DE PROLIFERAÇÃO EPITELIAL . HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	33
FIGURA 2 – GRUPO I (CONTROLE) 3 DIAS. ÁREA SUBJACENTES À CROSTA EVIDENCIANDO RAROS FIBROBLASTOS AO LADO DE ALGUNS MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	34
FIGURA 3 – GRUPO I (CONTROLE) 3 DIAS. ÁREA SITUADA NO CENTRO DA FERIDA MOSTRANDO ESPESSA CAMADA DE CROSTA E POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	34
FIGURA 4 – GRUPO I (CONTROLE) 3 DIAS. MOSTRANDO AUSÊNCIA DE FIBRAS COLÁGENAS TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X...	35
FIGURA 5 – GRUPO I (CONTROLE) 3 DIAS. ESPÉCIME COM PEQUENOS FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS ISOLADAS. TRICRÔMICO DE MASSON. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	35
FIGURA 6 – GRUPO II (QUEIMADURA). 3 DIAS. BORDAS DA FERIDA COM ESPESSA CAMADA DE CROSTA E COÁGULO SANGUÍNEO. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	36
FIGURA 7 – GRUPO II (QUEIMADURA) 3 DIAS. CENTRO DA FERIDA MOSTRANDO ABAIXO DA CROSTA, NUMEROSOS POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	37
FIGURA 8 – GRUPO II (QUEIMADURA). 3DIAS. JUNTO ÀS BORDAS DA FERIDA MOSTRANDO AUSÊNCIA DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	37
FIGURA 9 – GRUPO II (QUEIMADURA). 3 DIAS. ÁREA DO CENTRO DA FERIDA MOSTRANDO AUSÊNCIA DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	38
FIGURA 10 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 3DIAS. EVIDENCIANDO ESPESSA CAMADA DE CROSTA E AUSÊNCIA DE PROLIFERAÇÃO, EPITELIAL. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	39
FIGURA 11 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 3 DIAS. ÁREA SITUADA MAIS DISTANTE DA CROSTA MOSTRANDO ALGUNS FIBROBLASTOS, LINFÓCITOS E	

MACRÓFAGOS AO LADO DE CAPILARES NEOFORMADOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	40
FIGURA 12 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 3 DIAS. CENTRO DA FERIDA MOSTRANDO ABAIXO DA CROSTA ESPESSA FAIXA OCUPADA POR POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS MUITOS DOS QUAIS EM DEGENERAÇÃO. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	40
FIGURA 13 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 3 DIAS. MOSTRANDO AUSÊNCIA DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	41
FIGURA 14 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 3 DIAS. EPITÉLIO RECOBRINDO PARCIALMENTE A FERIDA CIRÚRGICA JUNTO ÀS BORDAS DA FERIDA. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	42
FIGURA 15 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 3 DIAS. ÁREA SITUADA ABAIXO DA CROSTA COM ALGUNS FIBROBLASTOS E CAPILARES NEOFORMADOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.	43
FIGURA 16 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 3 DIAS. CENTRO DA FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO MAIOR NÚMERO DE FIBROBLASTOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS AO LADO DE CAPILARES NEOFORMADOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	43
FIGURA 17 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 3 DIAS. EVIDENCIANDO FINOS FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS ABAIXO DA DROGA. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	44
FIGURA 18 – GRUPO I (CONTROLE). 7 DIAS. BORDAS DA FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO MODERADA PROLIFERAÇÃO EPITELIAL. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	45
FIGURA 19 – GRUPO I (CONTROLE). 7 DIAS. REGIÃO PRÓXIMA AO CENTRO DA FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO ESTREITA FAIXA JUNTO À CROSTA COM NEUTRÓFILOS DEGENERADOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	46
FIGURA 20 – GRUPO I (CONTROLE). 7 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA ABAIXO DA CROSTA COM PEQUENA QUANTIDADE DE FIBRAS COLÁGENAS ISOLADAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	46
FIGURA 21 – GRUPO II (QUEIMADURA). 7 DIAS. ESPESSA CAMADA DE CROSTA MOSTRANDO EM SUA PORÇÃO INTERNA	

POLIMORFONUCLEARES EM DEGENERAÇÃO. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.	47
FIGURA 22 – GRUPO II (QUEIMADURA). 7 DIAS. ÁREA CENTRAL DA FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO JUNTO À CROSTA, POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	48
FIGURA 23 – GRUPO II (QUEIMADURA). 7 DIAS. PORÇÃO CENTRAL DA FERIDA CIRÚRGICA COM GRANDE QUANTIDADE DE POLIMORFONUCLEARES NEUTRÓFILOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	48
FIGURA 24 – GRUPO II (QUEIMADURA). 7 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO AUSÊNCIA DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	49
FIGURA 25 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 7 DIAS. MOSTRANDO DISCRETA PROLIFERAÇÃO DO EPITÉLIO JUNTO ÀS BORDAS DA FERIDA CIRÚRGICA. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	50
FIGURA 26 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 7 DIAS. EVIDENCIANDO TECIDO CONJUNTIVO POUCO ORGANIZADO MODERADO NÚMERO DE FIBROBLASTOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	51
FIGURA 27 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 7 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO PEQUENA QUANTIDADE DE FIBRAS COLAGENS POUCO ORGANIZADAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X.	51
FIGURA 28 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 7 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO FIBRAS COLÁGENAS POUCO ORGANIZADAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	52
FIGURA 29 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 7 DIAS. MODERADA PROLIFERAÇÃO DO EPITÉLIO JUNTO ÀS BORDAS DA FERIDA CIRÚRGICA. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	53
FIGURA 30 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 7 DIAS. TECIDO CONJUNTIVO SUBJACENTE COM MODERADO NÚMERO DE FIBROBLASTOS AO LADO DE ALGUNS MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	54

FIGURA 31 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 7 DIAS. ÁREA SITUADA NO CENTRO DA FERIDA COM NUMEROSOS MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	54
FIGURA 32 – GRUPO IV (QUEIMADO). 7 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA EVIDENCIANDO ALGUNS FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS SEM ORGANIZAÇÃO. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	55
FIGURA 33 – GRUPO I (CONTROLE). 14 DIAS. EPITÉLIO RECOBRINDO A FERIDA CIRÚRGICA. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	56
FIGURA 34 – GRUPO I (CONTROLE). 14 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA EVIDENCIANDO GRANDE QUANTIDADE DE FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	57
FIGURA 35 – GRUPO II (CONTROLE). 14 DIAS. EPITÉLIO RECOBRINDO PARCIALMENTE A FERIDA CIRÚRGICA. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	58
FIGURA 36 – GRUPO II (QUEIMADURA). 14 DIAS. ESPÉCIME EVIDENCIANDO DISCRETO NÚMERO DE FIBROBLASTOS, MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS E NUMEROSOS CAPILARES NEOFORMADOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X..	59
FIGURA 37 – GRUPO II (QUEIMADURA). 14 DIAS. FERIDA CIRÚRGICA MOSTRANDO FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	59
FIGURA 38 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 14 DIAS. ESPÉCIME COM O EPITÉLIO RECOBRINDO A FERIDA CIRÚRGICA. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.	60
FIGURA 39 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 14 DIAS. TECIDO CONJUNTIVO SUBJACENTE COM MODERADO NÚMERO DE FIBROBLASTOS E ALGUNS MACRÓFAGOS E LINFÓCITOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	61
FIGURA 40 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 14 DIAS. TECIDO CONJUNTIVO COM NUMEROSOS FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	61
FIGURA 41 – GRUPO III (QUEIMADURA+LASER). 14 DIAS. EVIDENCIANDO NUMEROSOS FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	62
FIGURA 42 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 14 DIAS. EPITÉLIO RECOBRINDO A FERIDA CIRÚRGICA. HE. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	63

FIGURA 43 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 14 DIAS. TECIDO CONJUNTIVO SUBJACENTE BEM DESENVOLVIDO COM DISCRETO NÚMERO DE FIBROBLASTOS. HE. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	64
FIGURA 44 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 14 DIAS. TECIDO CONJUNTIVO SUBJACENTE COM NUMEROSOS FEIXES DE FIBRAS COLAGENS. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 63X.....	64
FIGURA 45 – GRUPO IV (QUEIMADURA+DROGA+LASER). 14 DIAS. EVIDENCIANDO FEIXES DE FIBRAS COLÁGENAS DISPOSTAS PARALELAMENTE À SUPERFÍCIE DO EPITÉLIO. TRICRÔMICO DE MASSON. AUMENTO ORIGINAL 160X.....	65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Tecido Conjuntivo.....	15
2.1.1 As células do tecido conjuntivo.....	15
2.2 Cicatrização.....	16
2.2.1 Cicatrização por Primeira Intenção.....	17
2.2.2 A Cicatrização por Segunda Intenção.....	17
2.2.3 Cicatrização Retardada.....	17
2.2.3.1 Fase exsudativa.....	18
2.2.3.2 Fase proliferativa.....	19
2.2.3.3 Fase de maturação.....	20
2.3 Laser.....	22
2.3.1 Aspectos teóricos dos lasers.....	23
2.3.1.1 Conceito de Foto Ativador.....	23
2.3.1.2 Densidade de Potência (DP).....	23
2.3.1.3 Comprimento de Onda (CO)	23
2.3.2 Tipos de aparelhos de laser quanto ao meio ativador.....	24
2.3.3 Laser quanto à finalidade.....	24
2.4 Droga Fotossensibilizadora (Azul de toluidina).....	25
3 PROPOSIÇÃO.....	29
4 MATERIAL E MÉTODO.....	30
4.1 Material.....	30
4.2 Método.....	31
5 RESULTADOS.....	33
6 DISCUSSÃO.....	66
7 CONCLUSÃO.....	69
RESUMO.....	70
ABSTRACT.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

Quando por acidente ou com finalidade cirúrgica provocamos a dilaceração dos tecidos, ocorre uma seqüência previsível e ordenada de eventos biológicos (POLLACK, 1979; PEACOCK e WINKLE, 1987).

Classicamente, a inflamação é dividida em três fases: a fase da inflamação, fase de formação de tecido de granulação com depósito de matriz extracelular e a fase de remodelação (CLARCK, 1993).

O grande cenário para reparação combina três eventos: eustasia (porque os vasos foram rompidos), inflamação (ocorreu uma injúria) e a reparação propriamente dita, isso porque com a injúria as estruturas foram lesadas ou destruídas, e com isso deverá ocorrer à reposição de tecidos por regeneração ou por cicatrização (McKNNEY, 1989).

A característica básica da inflamação de um modo geral é sempre a mesma, preencher espaço e selá-lo com uma cicatriz. Para MANJNO e JORIS (1996), a forma como ocorrerá a cicatrização vai depender da presença de bactérias, do grau de suprimento sangüíneo, da natureza da ferida (aberta ou fechada), da quantidade de tecido morto para ser eliminado, do tipo de tecido lesado e de outros fatores.

A situação mais favorável para uma cicatrização é quando a ferida está fechada, suturada e não infectada, conhecida como ferida incisional, em oposição à ferida excisional, da qual um pedaço de tecido é removido.

A cicatrização por primeira intenção é uma ferida fechada não infectada, como uma ferida cirúrgica incisional, em que as margens estão próximas e o processo de cicatrização evolui diretamente à produção de uma cicatriz.

A cicatrização por segunda intenção numa ferida aberta não infectada, aquela em que a ferida é, primeiramente preenchida por tecido de granulação que se contrai e torna-se uma cicatriz.

A cicatrização retardada depende do aspecto da ferida (aberta ou fechada), da presença de bactéria e de fatores locais e sistêmicos que iriam influenciar no tempo da cicatrização.

Com o avanço da tecnologia nas áreas médicas e odontológicas, surgiu o primeiro Raio Laser na Califórnia (USA) criado por Theodore Maiman em 1960, tendo como meio ativador o rubi, operado em 694,3 nm, e com isso uma nova

expectativa no tratamento de prevenções terapêuticas e tratamentos cirúrgicos. A partir dessa conquista, surgiram os primeiros relatos e publicações sobre as aplicações do Raio Laser utilizado para fotocoagulação em cirurgia de retina (ZARET *et al.*, 1963; KAPANY *et al.*, 1963).

A palavra LASER é um acrônimo com origem na língua inglesa, *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Radiação). O Laser emite uma radiação eletromagnética não ionizante, tratando-se de um tipo de fonte luminosa bastante distinta das demais fontes luminosas como uma luz fluorescente ou lâmpadas comuns. A radiação emitida pelo Laser é monocromática, ou seja, radiação com um único comprimento de onda. Por se tratar de um único comprimento de onda sua direcionalidade e a obtenção de alta densidade de energia encontram-se concentradas em pequenos pontos. A radiação do Laser pode ainda ser polarizada com o auxílio de dispositivos ópticos. As características especiais dessa luz fazem com que ela tenha propriedades terapêuticas importantes (Laser Terapêutico ou de Baixa Potência), tais como ser utilizado em cirurgia, com vantagens superiores ao uso do bisturi convencional como por exemplo, fazendo com que ocorra hemostasia durante o procedimento cirúrgico (Laser Cirúrgico ou de Alta Potência). O Laser de Baixa e de Alta potências possuem suas radiações ópticas com as mesmas características, porém com finalidades específicas.

O azul de toluidina é um corante catiônico metacromático, da família do grupo das tiazinas que cora seletivamente grupos ácidos de componentes teciduais, tais como ácidos fosfóricos, sulfúricos e carboxílicos. Apresenta afinidade pelo DNA dos núcleos celulares e pelo RNA presente no citoplasma, que fixam o corante e coram-se profundamente (WEISSMAN *et al.*, 1952; RICHART, 1963).

O azul de toluidina como agente terapêutico foi usado pela primeira vez em 1949, no tratamento de distúrbios hemorrágicos. RICHART (1963) foi o primeiro autor a propor o teste do azul de toluidina para evidênciação e delimitação de alterações displásicas e neoplásicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tecido Conjuntivo

Os tecidos são constituídos de células e matriz extracelular. A matriz também chamada de interstício é quase que inexistente em alguns tecidos e abundantes em outros. Contém estruturas e moléculas importantes do ponto de vista estrutural e funcional. (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

O tecido conjuntivo apresenta grande quantidade de material extracelular sintetizado pelos diversos tipos celulares que o compõem. Microestruturalmente o tecido conjuntivo é composto por fibras, células e substância fundamental amorfa banhado por líquido intersticial.

As principais fibras que compõem o tecido conjuntivo são constituídas por proteínas que se polimerizam formando estruturas alongadas representadas por três tipos principais: fibras colágenas, reticulares e elásticas. Os diferentes tipos de fibras encontram-se desigualmente distribuídos pelos vários tipos de tecidos conjuntivos. As fibras predominantes são responsáveis por propriedades do tecido, como acontece no tecido elástico, uma variedade do tecido conjuntivo dotado de grande elasticidade. As fibras colágenas e as reticulares são constituídas por proteínas da família dos colágenos. Existem na realidade dois sistemas de fibras: o sistema colágeno e o sistema elástico. O colágeno é a proteína mais abundante no organismo, pois, sendo produzido por diversos tipos celulares, se distingue pela composição bioquímica, pelas características morfológicas, pela distribuição e função fisiológica. (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

2.1.1 As células do tecido conjuntivo

Algumas células do tecido conjuntivo se originam localmente, enquanto outras, como os leucócitos, vêm de outros locais e são habitantes temporários desse tecido. As células do tecido conjuntivo são as seguintes: Fibroblastos, Macrófagos, Plasmócito, Células Adiposas e Leucócitos.

Os fibroblastos sintetizam as fibras colágenas, reticulares e elásticas, bem como as glicoproteínas e proteoglicanas da matriz extracelular. Há dois tipos de fibroblastos, separados por tipos intermediários. A célula em intensa

atividade sintética tem morfologia diferente do fibroblasto que já sintetizou muito e que se situa entre as fibras por ele fabricadas. Geralmente as células mais ativas são denominadas de fibroblasto e as células inativas de fibrócitos

Havendo um estímulo adequado, como nos processos de reparo tecidual, os fibrócitos podem voltar a sintetizar fibras, reassumindo a estrutura de célula metabolicamente ativa. Na cicatrização dos ferimentos aparece uma célula chamada miofibroblasto, com características intermediárias entre o fibroblasto e a célula muscular lisa. Esta célula tem morfologia de fibroblasto, mas contém a maior quantidade de actina (microfilamentos) e miosina. Os miofibroblastos participam do fechamento dos ferimentos pela contração da cicatriz formada. No tecido conjuntivo adulto, o fibroblasto não se divide com frequência, entrando em mitose apenas quando ocorre uma solicitação, como por exemplo, nas lesões deste tecido (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

2.2 Cicatrização

Classicamente a inflamação é dividida em três fases: a fase da inflamação, fase de formação de tecido de granulação com depósito de matriz extracelular e a fase de remodelação (CLARCK, 1993).

O grande cenário para reparação combina três eventos: hemostasia (porque os vasos foram rompidos), inflamação (ocorreu uma injúria) e a reparação propriamente dita. Com a injúria as estruturas foram lesadas ou destruídas, devendo ocorrer à reposição de tecidos por regeneração ou por cicatrização (McKNNEY e CUNNINGHAN, 1989).

A característica básica da inflamação de um modo geral é sempre a mesma. Para MAJNO e JORIS (1996), a forma como ocorrerá a cicatrização vai depender da presença de bactérias, do grau de suprimento sanguíneo, da natureza da ferida (aberta ou fechada), da quantidade de tecido morto para ser eliminado e do tipo de tecido lesado.

A situação mais favorável para uma cicatrização é quando a ferida está fechada, suturada e não infectada, conhecida como ferida incisional, em oposição à ferida excisional, da qual um pedaço de tecido é removido.

2.2.1 Cicatrização por Primeira Intenção

Uma cicatrização por primeira intenção é quando uma ferida esta fechada não infectada, como uma ferida cirúrgica incisional, cujas margens estão próximas e o processo de cicatrização evolui diretamente à produção de uma cicatriz.

2.2.2 A Cicatrização por Segunda Intenção

Uma cicatrização por segunda intenção em uma ferida aberta, não infectada, a lesão é primeiramente preenchida por tecido de granulação levando a uma contração e se torna uma cicatriz.

2.2.3 Cicatrização Retardada

Causa:

- Formação deficiente de cicatriz
- Deiscência do ferimento e hérnias incisionais
- Formação excessiva de cicatriz
- Quelóide (coberto por epitélio)
- Contração excessiva
- Cicatriz de queimadura de 3º grau

Fatores que influenciam a cicatrização:

1. Locais

- . Tipo, dimensão e localização do ferimento
- . Vascularização
- . Infecção (retarda a cicatrização)
- . Mobilização

2. Sistêmicos

- . Idade
- . Nutrição-jejum (menor síntese de colágeno)
- Vitamina C (maior síntese de colágeno)
- Zinco (estimula a cicatrização)
- . Distúrbios hematológicos

- . Diabetes e aterosclerose

- . Hormônios – corticóides e cortisona (sintético): anti-inflamatório que dificulta a cicatrização. (A ação dos glicocorticoides é essencial para inibir a regeneração de tecido conjuntivo. O uso atrasa o tecido de granulação e a proliferação fibroblástica).

Diabetes (maior dificuldade de cicatrização).

Maior concentração de glicose no sangue dificulta a chegada dos fatores de coagulação, ao local, dificultando o exercício de suas funções.

Microangiopatia diabética: arteríolas comprometidas

Escaras decúbito: demoram a cicatrizar. Fragilidade gerada pela compressão que leva:

- . menor aporte sanguíneo arterial
- . menor retorno venoso

Efeitos da cicatrização retardada

1. Benéficos

- . Continuidade anatômica

2. Maléficos

- . Perda de parênquima funcionante
- . Interferência mecânica direta
- Sinéquias de queimados (perda de movimento)
- Febre reumática: (lesões nas válvulas que cicatrizam), reduzem volume promovendo perda da capacidade passagem de sangue
- . Interferência mecânica indireta

2.2.3.1 Fase exsudativa

O rompimento de pequenos vasos sanguíneos provocam no ferimento extravasamento de sangue e também de fluidos teciduais que coagulam na superfície da ferida, trazendo com ele não somente os elementos celulares como também várias proteínas, das quais o fibrinogênio é muito importante. Na superfície da lesão, uma rede de fibrina é formada juntamente com os fluidos teciduais. Tal fato é acompanhado de vasodilatação, seguido da saída de líquido do interior dos vasos,

levando substâncias e nutrientes que mais tarde serão necessários para o processo de cicatrização (VILJANTO,1984).

São os mediadores que podem ser vasoativos, causando vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular; e quimiotáticos para células inflamatórias, atraindo-as para o local da lesão tecidual. Os mediadores químicos podem ter duas origens: resposta inflamatória de origem intravascular (plasmática), sendo ativada logo após a lesão do vaso; e os mediadores de origem plasmática que incluem o sistema das cininas, o sistema complemento e o sistema fibrinolítico e de coagulação.

Segundo FONTANA (1996), poderá haver liberação de vários mediadores químicos tais como: fator de ativação das plaquetas (PAF), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), adrenalina, tromboxano, serotonina e fatores complementares. Haverá aumento das células inflamatórias aonde os leucócitos polimorfonucleares chegam dentro de seis horas após a injúria, além das desintegrações das células injuriadas e de restos de tecidos.

POLLACK (1979) mostra que em poucas horas a superfície da ferida tornar-se-á seca devido à coagulação sangüínea e a evaporação da umidade. Esta termina após a remoção de todo material necrótico da ferida (VILJANTO, 1964).

2.2.3.2 Fase proliferativa

Na fase proliferativa as células do tecido conjuntivo, assim como os fibroblastos e seus progenitores mesenquimais, se dividem e invadem a cavidade da ferida (VILJANTO, 1964; RUDOLPH et al.; 1977; LIPPER et al.; 1980). Dilatação e aumento da permeabilidade de pequenos vasos sangüíneos podem ser vistos ao lado do tecido injuriado (RYAN e MAJNO, 1977; ROBBINS et al., 1984). O número de capilares aumenta e são mais numerosos entre 32 horas até o 8º dia após a execução da ferida (VILJANTO 1964; ROSS 1968; GABBIANI e MONTANDON, 1977; ROBBINS et al., 1984). A quantidade de vasos linfáticos também aumenta simultaneamente e o tecido de granulação preenche a ferida gradualmente. Esta fase se desenvolve 24 horas após a injúria e no máximo até o 14º dia (FONTANA, 1996).

2.2.3.3 Fase de maturação

A produção de um novo tecido conjuntivo é de grande importância. A vascularização e a celularização do tecido injuriado diminuem enquanto a quantidade de fibras colágenas é aumentada. Uma intensa proliferação fibroblástica e subsequente deposição de colágeno intercelular resultam em uma maturação das fibras de colágenos e, assim, a formação de uma cicatriz de tecido conjuntiva é iniciada (VILJANTO, 1964; ROBBINS et al., 1984).

Imediatamente após a injúria de um tecido, cria-se uma ferida, o sangue migra e penetra no ferimento, e conseqüentemente uma rede de fibrina é formada. Inicialmente esta é capaz de unir fracamente os bordos da ferida, e mais tarde desenvolver importante papel na epitelização e migração fibroblástica. Poucas horas após a realização da ferida, o arranjo normal e ordenado das células epiteliais é rompido, ocorrendo mudanças na morfologia e função das células epiteliais. Elas não mais realizam a sua função de formação de queratina e passam a processar diferentes funções de multiplicação e migração celular. As células epiteliais se orientam em sua migração pela rede de fibrina que funciona como uma proteção sobre a qual as células migram sobre o ferimento (BULLOUGH e LAWRENCE, 1964). No caso das feridas estarem muito desidratadas as células epiteliais migram para a parte mais profunda da derme, para obter uma maior sustentação biológica.

A forma de epitelização das feridas vai depender da largura e profundidade das mesmas. No caso das feridas profundas e largas, a epitelização se desenvolverá a partir da periferia, nas margens da ferida. Nas feridas superficiais e rasas a epitelização ocorre a partir dos apêndices epidermais (folículos pilosos e glândulas sudoríparas). Dessa forma, o processo de migração das células epiteliais, continua até entrarem em contato com outras massas de células epiteliais do lado oposto, formando rapidamente desmossomos, onde, começam a ter a sua forma e função normal, passando a secretar queratina, enquanto o tecido conjuntivo continua o processo de maturação e de contração.

Toda a ferida cirúrgica sofre uma contração no seu tamanho de forma centrípeta, guiada pelos seus bordos (MONTANDON et al., 1977; GABBIANI et al., 1972), embora sua forma possa influenciar o tamanho da contração, as feridas redondas não se contraem tão rapidamente quanto as retangulares, estelares ou retilíneas (POLLACK, 1979).

Com o aparecimento dos miofibroblastos que é uma forma especializada de fibroblasto com capacidade contrátil, vai fornecer uma contração na ferida (GABBIANI e RYAN, 1971; POLLACK, 1977). As bases dos miofibroblastos são bandas bem desenvolvidas de microfilamentos contrateis compostos por actínia e proteínas actínicas associadas, presentes no citoplasma celular. Os miofibroblastos enquanto possuírem a função secretora de fibrinogénios da elastina e do colágeno que são responsáveis pela contração da ferida. (GABBIANI e RYAN 1974; GABBIANI, 1977; LIPPER et al., 1980).

Dessa forma, os miofibroblastos têm numerosas junções com os miofibroblastos vizinhos, ou com a lâmina basal subjacente que lhe permite transmitir contrações aos outros miofibroblastos, a fim de que todo o tecido conjuntivo seja afetado quando as células se contraírem (LIPPER et. al., 1980; ALBERTS et al., 1983).

Caracteriza-se a completa reparação do tecido injuriado quando os finos microfilamentos de actina e miosina gradualmente desaparecem do citoplasma dos miofibroblastos e nenhuma junção é observada entre os fibroblastos (GABBIANI, 1979; RUNGGER-BRANDLER e GABBIANI, 1983).

Ao longo dos anos pesquisadores buscam em constantes estudos esclarecer os diferentes aspectos dos tecidos de granulação de epitelização e na neoformação tecidual, e também os possíveis efeitos de medicamentos sistêmicos ou tópicos capazes de interferir no processo de reparação do tecido injuriado.

STOCKHAUSEN e FELBIER (1972) relataram que no processo de reparo poderia acontecer casos de infecção e casos de perdas de proteínas, estas importantes para produção de novos tecidos. Por outro lado, NEUNHOEFER (1947) lembra que o tratamento de feridas requer a formação de tecidos ricos em glicina e para isto deve-se aplicar topicamente este aminoácido.

Há vários trabalhos que procuram abordar a aceleração da reparação por segunda intenção à aplicação tópica de medicamentos sobre as feridas, como glicina ou com produtos que associam antibióticos e aminoácidos, e drogas antibacterianas, Nebacetin e Gengilone, ou até o uso de irrigação com própolis a 10% (STOCKHAUSEN e FELBIER, 1972; CARVALHO e OKAMOTO, 1977; MAGRO-FILHO, 1988; CARVALHO e OLIVEIRA, 1990).

2.3 Laser

A palavra “Laser” é um acrônimo com origem na língua inglesa, *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (Amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Radiação). Com o avanço da tecnologia nas áreas médicas e odontológicas, surgiu o primeiro emissor Laser na Califórnia (USA) criado por Theodore Maiman (1960), tendo como meio ativador o rubi, operado em 694,3 nm, e com isso surge uma nova expectativa nas prevenções de tratamentos terapêuticos e cirúrgicos. A partir desta conquista, surgiram os primeiros relatos e publicações sobre as aplicações do Laser utilizado para fotocoagulação em cirurgia de retina (ZARET et al., 1963; KAPANY et al., 1963).

O Laser emite uma radiação eletromagnética não ionizante, pois trata-se de um tipo de fonte luminosa bastante distinta das demais fontes luminosas, como uma luz fluorescente ou lâmpadas comuns. A radiação emitida pelo Laser é monocromática, ou seja, radiação com um único comprimento de onda. Por se tratar de um único comprimento de onda, sua direcionalidade e a obtenção de alta densidade de energia concentra-se em pequenos pontos. A radiação do Laser pode ainda ser polarizada com o auxílio de dispositivos ópticos. A característica especial dessa luz faz com que ela tenha propriedades terapêuticas importantes (Laser Terapêutico ou de Baixa Potência), assim como ser utilizado em cirurgia com vantagens superiores ao uso do bisturi convencional. Por exemplo, fazendo com que ocorra hemostasia durante o procedimento cirúrgico (Laser Cirúrgico ou de Alta Potência). O Laser de Baixa e de Alta potência possuem suas radiações ópticas com as mesmas características, porém com finalidades específicas.

Quando oferece as células de um determinado tecido uma baixa intensidade de energia, esta será utilizada para estimular suas membranas ou mitocôndrias. Dessa forma, estar-se-á induzindo a biomodulação celular, buscando um estado de normalização da região afetada, o que se denomina Terapia com Laser. Seu uso é indicado para quadros patológicos, para melhor qualidade e maior rapidez no processo reparacional, quadros de edema ou nos quadros de dores crônicas e agudas.

Quando é oferecida uma densidade alta de energia a ponto dessa energia se transformar em dano térmico e ultrapassar o limiar de resistência dessa

célula, estar-se-á utilizando o laser com finalidade cirúrgica. A interação entre laser e tecido se dá pelo comprimento de onda utilizado.

Segundo RIVERA (1985), com base nos avanços tecnológicos os pesquisadores começaram a desenvolver lasers com diferentes meio de ativação, potência, frequência e comprimento de ondas variáveis.

2.3.1 Aspectos teóricos dos lasers

2.3.1.1 Conceito de Foto Ativador

Segundo MESTER (1969), um Laser operado em baixa potência foi considerado um bioestimulador, por isso utilizou-se esse sinônimo para definir esse tipo de Laser. Não se conhecia bem seu mecanismo de ação nessa época, mas observou-se excelente resultado nos tratamentos de úlceras abertas. MESTER (1969) utilizou esta terminologia porque a terapia com Laser acelerava o processo de cicatrização.

2.3.1.2 Densidade de Potência (DP)

Define-se como sendo a saída óptica do Laser medida em *watts*. É por meio dessa DP, que se define quando se trata do uso do Laser Cirúrgico, se o procedimento será para cortar, coagular ou evaporar o tecido. Quando se trata de ativação com luz, no caso de Laser de Baixa Potência a DP deverá ser ajustada.

2.3.1.3 Comprimento de Onda (CO)

A profundidade de penetração do Laser nos tecidos é definida pelo comprimento de onda que é extremamente importante (BOURGELAISE,1983; FULLER, 1983). Para o mesmo tecido, diferentes comprimentos de onda apresentam diferentes coeficientes de absorção.

2.3.2 Tipos de aparelhos de laser quanto ao meio ativador

Laser a gás

Os mais utilizados são: Dióxido de Carbono (CO₂)

Argônio

Hélio-Neônio (He:Ne)

Laser de estado sólido

O primeiro Laser que é o: Rubi

Nd-YAG (neodímio associado ao ítrio-alumínio-garnet)

Laser de estado líquido

Laser químico – ambos com pouca utilização nas áreas médicas e odontológicas.

Laser de diodo ou semicondutores

Os mais utilizados são: Arsênio e Gálio (AsGa)

Arsênio-Gálio-Alumínio (AsGaAl), como elementos condutores.

2.3.3 Laser quanto à finalidade

1. Laser Cruento, Laser de Alta Potência ou Laser Cirúrgico.

Laser de Argônio: possui feixe de luz visível de cor verde azulada, com comprimento de onda entre 500 e 550 nanômetros e é absorvido pelos tecidos pigmentados.

Laser de Nd-YAG (neodímio-Ítrio, Alumina e Garnete) que emitem feixe de luz infravermelho e comprimento de onda de 1.060 nanômetros.

Laser de Dióxido de Carbono (CO₂): emite feixe de luz infravermelho com potência de pico entre 10 a 100Watts, com comprimento de onda de aproximadamente 10.600 nanômetros.

2 Laser Terapêutico (Laser de Baixa Potência)

O Laser de baixa potência é também denominado de “bioestimulação dérmica”. Laser de média potência, ou mid-laser ou de bioestimulação em profundidade. Os Lasers de baixa e média potência possuem efeitos a níveis celulares idênticos, porém o de média potência abrange um volume tecidual maior podendo a partir da superfície da pele alcançar de 3 a 5 cm de profundidade (RIVERA, 1985).

Dentre os Lasers de Bioestimulação encontram-se:

- a. Laser de Helio e Neônio (He-Ne) de emissão contínua, potencia entre 1 a 50 mW, sendo que na área médica e odontológica a potencia média utilizada é de 10 mW. Com comprimento de onda de 632,8 nm, que o torna visível e com luz de cor vermelha e não possui dissipação calórica.
- b. Laser Diodico ou Semicondutores, constituem a forma mais revolucionária, são pequenos e eficientes podendo atingir superioridade de 50% em relação ao Laser terapêutico a gás ou sólidos e possuem uma capacidade de penetração nos tecidos de 3 a 5 cm contra 1 a 1,5 do He-Ne. Têm características de não provocar efeito térmico. Por estas razões são denominados de Mid-Laser ou Laser de Bioestimulação de Média Potência, trabalham com duração de pulso de 200 nanômetros e comprimento de onda de 904nm, além de elevada densidade fotômica, que lhe permite maior concentração por superfície (mm^2 e cm^2), o que lhe confere maior eficiência em cada pulso.

2.4 Droga Fotossensibilizadora (Azul de toluidina)

Em pesquisa na literatura no que se refere ao uso da droga o Azul de Toluidina-O como agente terapêutico, observamos sua utilização basicamente em duas frentes de pesquisa. Estomatologia no auxilio de diagnóstico Terapia fotodinâmica letal, ou seja, sua aplicação na viabilidade bacteriana.

RICHART (1963), descreve a primeira utilização do Azul de Toluidina-O 1% para demarcar alterações neoplásicas em 200 pacientes e obteve 95% de eficácia. NIEBEL et al. (1964) utilizaram a mesma técnica em 11 pacientes

com lesões suspeitas de malignidade sendo a coloração positiva em todos os casos. No histopatológico revelou seis displasias epiteliais, três carcinomas “in situ” e dois carcinomas invasivos.

MASHBERG (1980) foi um dos grandes pesquisadores da técnica com o uso do Azul de Toluidina-O na evidenciação de lesões bucais assintomáticas. Fez um estudo com 178 pacientes, que apresentavam 235 lesões bucais para avaliar a eficácia do azul de toluidina na detecção de carcinomas bucais incipientes obtendo resultados positivos. SILVERMAN et al. (1984) estudaram 132 pacientes com lesões bucais cancerizáveis ou clinicamente suspeita de malignidade comparando a coloração do azul de toluidina-O a 1% com os resultados da biopsia, obtiveram 70% de sucesso.

BRUNERA e PINHEIRO (1998), afirmam que a seletividade tumoral em reter grandes quantidades de hematoporfirinas (substância originada do sangue), é maior que a dos tecidos normais adjacentes e foi reconhecida em 1942. Quando a droga foi injetada em tumores e estes submetidos à ação da luz, apresentaram a formação de grandes áreas de necrose tumoral. Foi representado como os primeiros estudos a respeito de porfirina em terapia fotodinâmica. Já se sabia que as hematoporfirinas eram altamente tóxicas para os seres humanos desde a década de 50. Sabe-se atualmente que as hematoporfirinas resultam em composto denominados de derivados de hematoporfirias, porfirina acética e porfirina sulfúrica que possuem maior afinidade por células tumorais. Foram utilizadas em tumores recidivante de mama na década de 60.

A terapia fotodinâmica nos dias de hoje já se estendeu seu uso para outras áreas, na inativação de adenovirus, As viroses, algumas são suscetíveis a terapia fotodinâmica, podemos incluir, herpes simples tipo I e II, citomegalovirus, vírus de sarampo, vírus simius e HIV-1. É muito importante saber que a fotoinativação viral ocorre por meio de oxidação de componentes lipídicos e proteínas da parede viral.

As lâmpadas convencionais incandescentes como as de tungstênio, xenônio e mercúrio, com a evolução da terapia fotodinâmica, foram substituídas por fontes de luz mais potentes, especificamente a luz do laser que pelo fato de que podem levar uma grande densidade de energia (fluência) aos tecidos (j/cm) através de fibras ópticas e com comprimento de onda específico. Lembrando sempre que o

conhecimento da tecnologia do laser é necessário para o entendimento da dinâmica TPD com fotossensibilização letal.

ROCHA (1996) em um estudo com 70 pacientes apresentando 75 lesões bucais cancerizáveis com mais de 14 dias demonstrou eficácia do método de coloração com ATO a 1% em todas as lesões com obtenção do diagnóstico das biopsias do histopatológico em 74,67%.

ROCHA (1999) na estomatologia o Azul de Toluidina-O 1%, vem sendo usado há mais de três décadas para evidênciação clínica de neoplasias malignas epiteliais. É um corante monocromático da família das tiasinas que apresenta grande afinidade pelo DNA dos núcleos celulares e pelo RNA citoplasmáticos. O Azul de Toluidina-O 1% exerce um papel importante na orientação das áreas mais significativas para realizações de biopsias em lesões cancerizáveis e/ou ulceradas da mucosa bucal. A penetração e retenção do ATO, nas células displásicas e anaplásicas é explicada principalmente em virtude de sua afinidade pelo DNA nuclear que é significativamente maior nessas células do que nas normais.

Segundo CHANG et al. (1999) em estudos com solução fotossensibilizadora o Azul de Toluidina-O 1%, foi observado que a solução se impregna nos tecidos e fluoresce sob o efeito da luz e que na presença destes agentes fotossensibilizadores os tecidos ficam mais vulneráveis à absorção pelos fotorreceptores teciduais. Estes resultados abrem novas perspectivas do emprego de laser de bioestimulação e reforçam a possibilidade de terapia fotodinâmica se empregada para se obter fotobioestimulação de injúrias teciduais.

ESPINOSA (1999) fez um estudo com 60 animais que foram divididos em 5 grupos de 12 animais cada, para observar o comportamento de feridas cutâneas com laser ou com solução fotossensibilizadora, os animais receberam o seguinte tratamento: No grupo I, também denominado de grupo controle, as feridas não receberam nenhum tratamento; no Grupo II, as feridas foram submetidas ao tratamento com laser de 635 nanômetros de comprimento de onda; no Grupo III, as feridas foram submetidas ao tratamento com laser de 904 nanômetros de comprimento de onda; no Grupo IV, as feridas foram submetidas ao tratamento com solução de Azul de Metileno seguido de tratamento com laser de 635 nanômetros e, no Grupo V, as feridas foram submetidas ao tratamento com solução de Azul de Metileno seguido de tratamento com laser de 904 nanômetros.

Quanto aos resultados encontrados, o autor conclui que: 1) as feridas tratadas com laser (Grupo II e III) e as tratadas com solução fotossensibilizadora e laser (Grupo IV e V) evidenciaram o processo de reparação mais diferenciado, quando comparadas com as feridas do Grupo controle (Grupo I). 2) As feridas do Grupo II mostraram o processo de reparação bem mais evoluídos que as feridas do Grupo III, nos períodos de 7 e 14 dias. 3) Comparando-se as feridas do Grupo IV e V demonstraram um processo de reparo bem mais diferenciados que as feridas tratadas somente com laser (Grupo II e III). 4) As feridas do Grupo IV foram as que demonstraram ao pesquisador maior diferenciação e evolução, quando comparadas aos outros grupos, em todos os períodos de observação. 5) Os eventos biológicos observados por ESPINOSA (1999), nas feridas tratadas (Grupo II, III, IV e V) mostraram-se evidentes a partir do período de 3 dias, permanecendo mais favoráveis nos períodos de 7 e 14 dias, quando comparadas com as feridas do Grupo I (controle).

3 PROPOSIÇÃO

Constitui propósito do presente trabalho analisar, do ponto de vista histológico, o processo de reparo em feridas cutâneas retardadas, provocadas na região dorsal de ratos, submetidas ao tratamento com laser de baixa intensidade associado ou não à aplicação da droga fotossensibilizadora.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Material

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Odontológicas da UNIMAR.

Os materiais utilizados foram:

- Ratos (96 animais) para o desenvolvimento do trabalho
- Gaiolas
- Ração granulada (Anderson e Clayton S/A e água “*ad libitum*”)
- Anestésico geral Telazol (*Fot Dodger Animal Health*, Campinas-SP, Brasil)
- Seringa de Insulina
- Punch (cilíndrico com 8mm de diâmetro)
- Lâmpada a álcool
- Aparelho para medir temperatura (Marca Raitek)
- Cera utilidade
- Alfinetes
- Parafina
- Hematoxilina/eosina
- Tricomico de Masson
- Máquina Fotográfica
- Microscópio a Luz
- LASER – diodo de Arsênio, Gálio e alumínio 685nmomêtro de comprimento de onda, visível e infra-vermelho, emissão contínua ou interrompido, diâmetro de *spot* de 2mm² com potência de saída de 50mW (Laser *Beam* IR 500, Rio de Janeiro, Brasil)
- Azul de Toluidina-O (Vico-Farma, São Paulo, Brasil)
- Conta gotas
- Formalina 10%

4.2 Método

Para o desenvolvimento do presente estudo foram utilizados 96 ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*) machos com peso corporal variando entre 160 e 220 gramas. Todos estes animais procederam do biotério da Faculdade de Ciências Odontológicas de Marília – UNIMAR, mostravam-se sadios e em condições sistêmicas satisfatórias para serem submetidos aos procedimentos operatórios.

Os animais mantidos em gaiolas individuais, foram tratados com alimentação balanceada comercial (Ração ativada “Produtor” - Anderson Clayton S/A) e água “*ad libitum*” antes e durante todo o período experimental.

Após a anestesia geral por injeção intramuscular de TELAZOL (Fort Dodger Animal Health, Campinas, SP, Brasil) na dosagem de 0,2 ml/100 gramas de peso corporal do animal, todos os espécimes foram submetidos à depilação da região dorsal. Para a realização das feridas, utilizamos um “PUNCH”, de aproximadamente 8mm de diâmetro que permitiu a remoção de uma área circular de pele, tendo como localização a porção média do plano sagital mediano.

Os 96 animais foram divididos em 4 grupos de 24 animais e receberam o seguinte tratamento:

- nos animais do Grupo I, também chamados de “Grupo Controle” as feridas foram realizadas sem o aquecimento do “PUNCH” e não foram submetidas à nenhum tipo de tratamento, tanto local quanto sistêmico.

- nos animais do Grupo II, as feridas foram realizadas com o “PUNCH” aquecido em aproximadamente 80°C e não receberam nenhum tipo de tratamento local e ou sistêmico;

- nos animais do Grupo III, as feridas foram realizadas nas mesmas condições do Grupo II sendo as mesmas submetidas ao tratamento com Laser em baixa intensidade;

- nos animais do Grupo IV, as feridas foram realizadas nas mesmas condições do Grupo II, sendo tratadas com aplicação tópica de droga fotossensibilizadora, foi aguardado aproximadamente cinco minutos para aplicação do Laser de baixa intensidade.

A droga fotossensibilizadora utilizada foi o Azul de Toluidina O (Vico-Farma, SP., Brasil), na proporção de 100 micrograma/ml, sendo a mesma aplicada

por intermédio de um conta-gotas, em toda a extensão da borda e na porção central da ferida.

O Laser utilizado no presente trabalho apresenta as seguintes características: Laser (Laser Beam IR 500, Rio de Janeiro, Brasil), diodo de 685 nanômetros de comprimento de ondas, visível e infravermelho, emissão contínua, diâmetro do spot 2mm², com potência de saída de 50mw.

As feridas dos Grupos III e IV foram tratadas com Laser aplicado de forma contato/pontual, perpendicularmente à ferida em oito localizações distintas e em toda a margem da ferida, e em 1 ponto, na porção central da ferida em forma de "varredura", totalizando 90 segundos de exposição, conforme descrito por GARCIA (1992). A radiação foi utilizada da seguinte forma: 50mW de modo contínuo e de forma contato/pontual, energia de 4,5 joules e fluência de 2,5 J/cm² por ponto, tempo de exposição de 10s. por ponto.

Decorridos 3, 7 e 14 dias do ato cirúrgico e tratamento das feridas, os animais foram sacrificados em números de 8 animais de cada grupo, através de inalação excessiva de éter sulfúrico. A seguir, por intermédio de tesoura, as peças envolvendo toda a extensão e parte do tecido sadio, adjacente às bordas da ferida, foram removidas, tomando-se o cuidado de remover todo o conjuntivo que envolve a reação inflamatória ao redor e em profundidade de toda ferida.

As peças obtidas foram fixadas em formol a 10% por um período mínimo de 24 horas. A seguir, as biopsias sofreram os processos laboratoriais para posterior inclusão em parafina, sendo orientadas de forma a permitir cortes transversais, semi-seriados com 06 micrômetros de espessura. Os cortes foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina e pela técnica do tricrômico de Masson para análise histológica.

5 RESULTADOS

a) Período 3 dias

Grupo I – (Controle). Junto às bordas da ferida cirúrgica nota-se a presença de camada de crosta e ausência de proliferação epitelial (Fig. 1). Na área subjacente à crosta, podem ser observados raros fibroblastos ao lado de alguns macrófagos e linfócitos (Fig. 2). Mais em direção ao centro da ferida, observa-se também, espessa camada de crosta e presença de polimorfonucleares neutrófilos (Fig. 3). Nas áreas mais profundas, nota-se alguns macrófagos e linfócitos. Em alguns espécimes observa-se ausência total de fibras colágenas (Fig.4). Em outros evidencia-se pequenos feixes de fibras colágenas (Fig. 5).

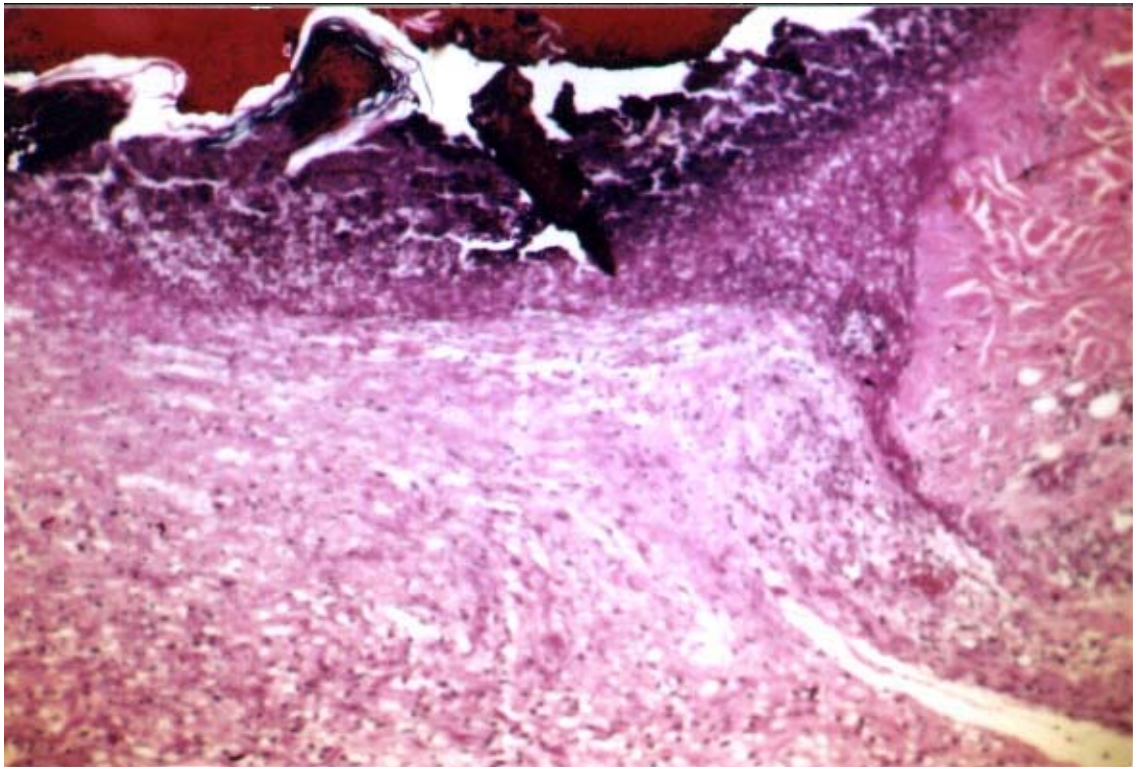


Figura 1 – Grupo I (controle). 3 dias. Bordas da ferida cirúrgica mostrando a crosta e ausência de proliferação epitelial . HE. Aumento original 63x.

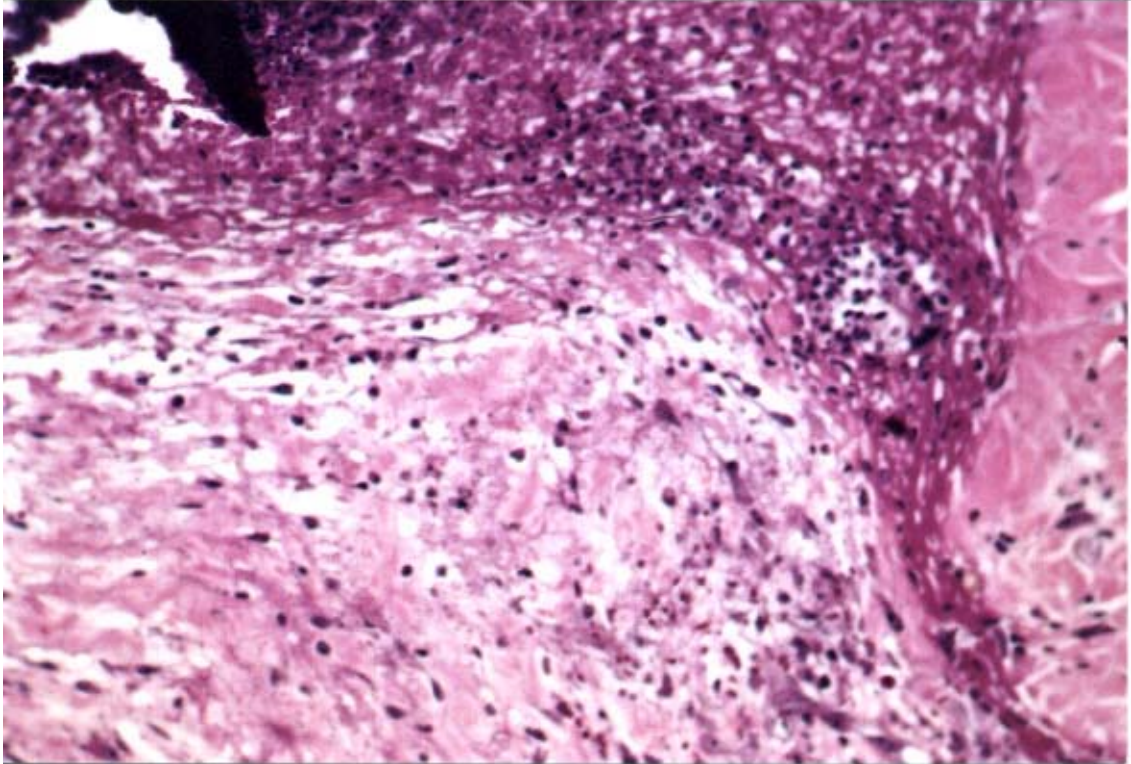


Figura 2 – Grupo I (controle) 3 dias. Área subjacentes à crosta evidenciando raros fibroblastos ao lado de alguns macrófagos e linfócitos. HE. Aumento original 160x.

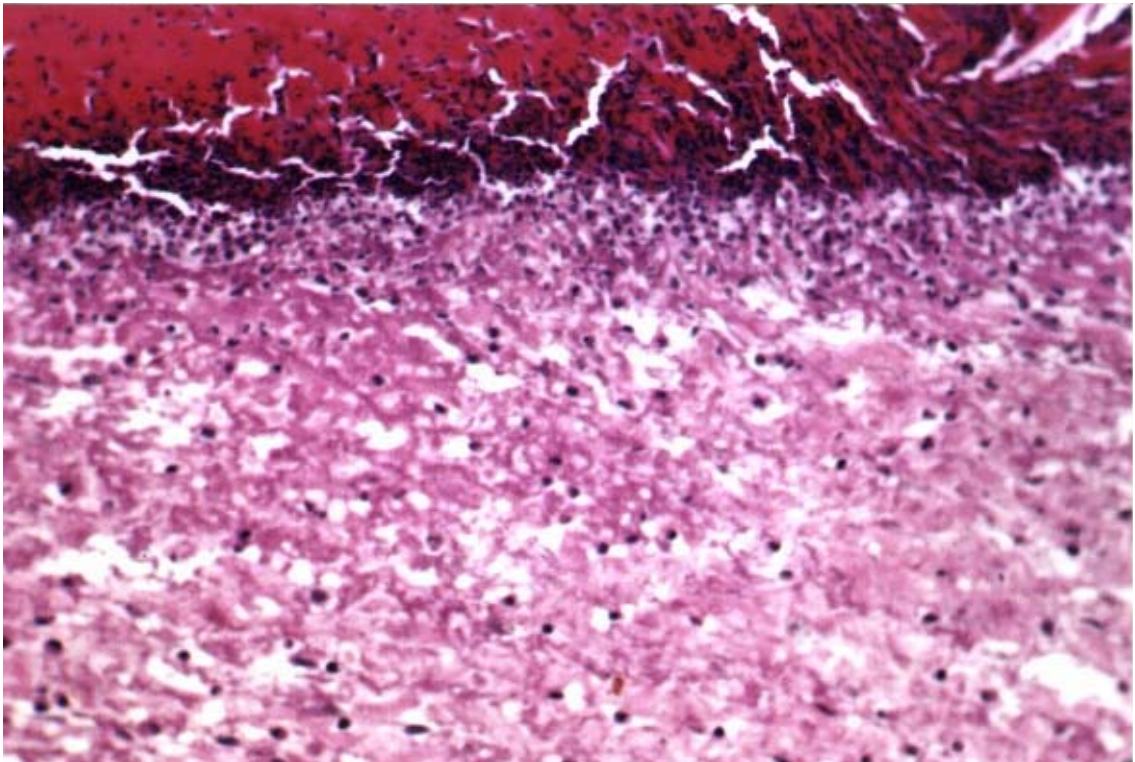


Figura 3 – Grupo I (controle) 3 dias. Área situada no centro da ferida mostrando espessa camada de crosta e polimorfonucleares neutrófilos. HE. Aumento original 160x.

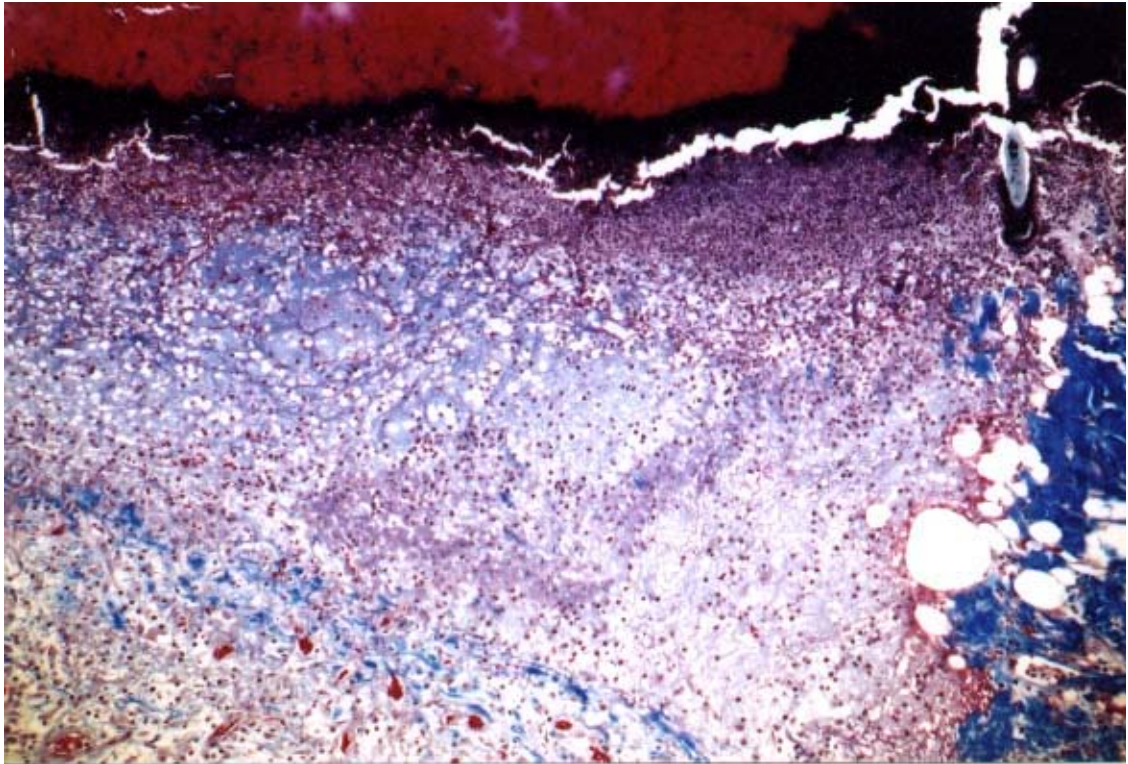


Figura 4 – Grupo I (controle) 3 dias. Mostrando ausência de fibras colágenas Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

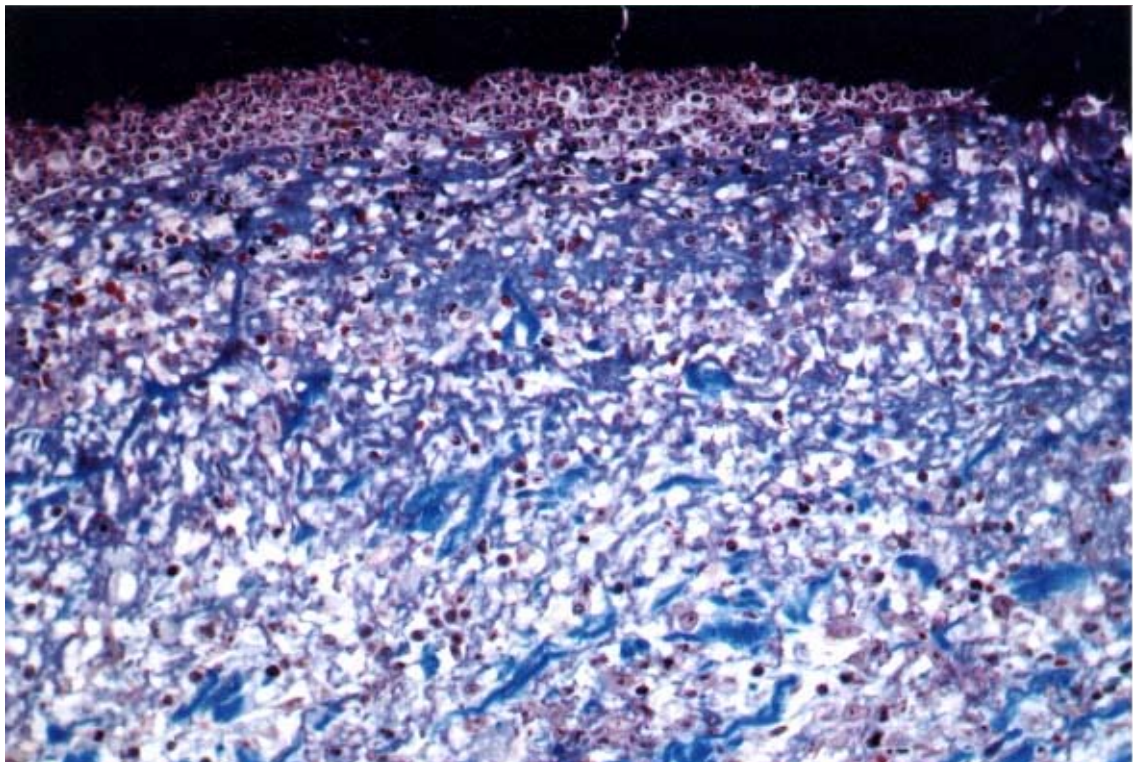


Figura 5 – Grupo I (controle) 3 dias. Espécime com pequenos feixes de fibras colágenas isoladas. Tricrômico de Masson. HE. Aumento original 160x.

Grupo II – (Queimadura). Nas proximidades das bordas da ferida cirúrgica, nota-se espessa camada de crosta, sendo que a área mais profunda encontra-se ocupada por coágulo sangüíneo (Fig. 6). Mais em direção ao centro da ferida evidencia-se abaixo da crosta, espessa faixa ocupada por numerosos polimorfonucleares neutrófilos alguns em degeneração (Fig 7). Em todos os espécimes observa-se junto às bordas da ferida, ausência de neoformação de fibras colágenas (Fig. 8). Mais em direção ao centro da ferida, as características são semelhantes (Fig. 9).

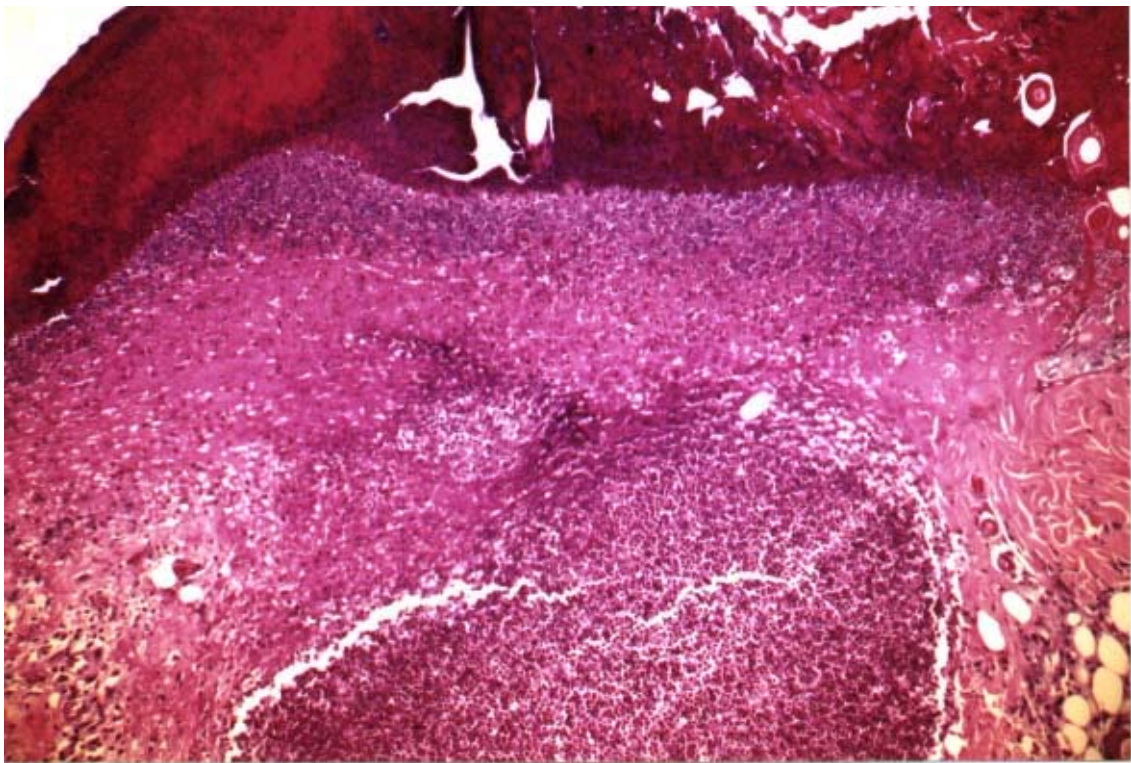


Figura 6 – Grupo II (queimadura). 3 dias. Bordas da ferida com espessa camada de crosta e coágulo sangüíneo. HE. Aumento original 63x.

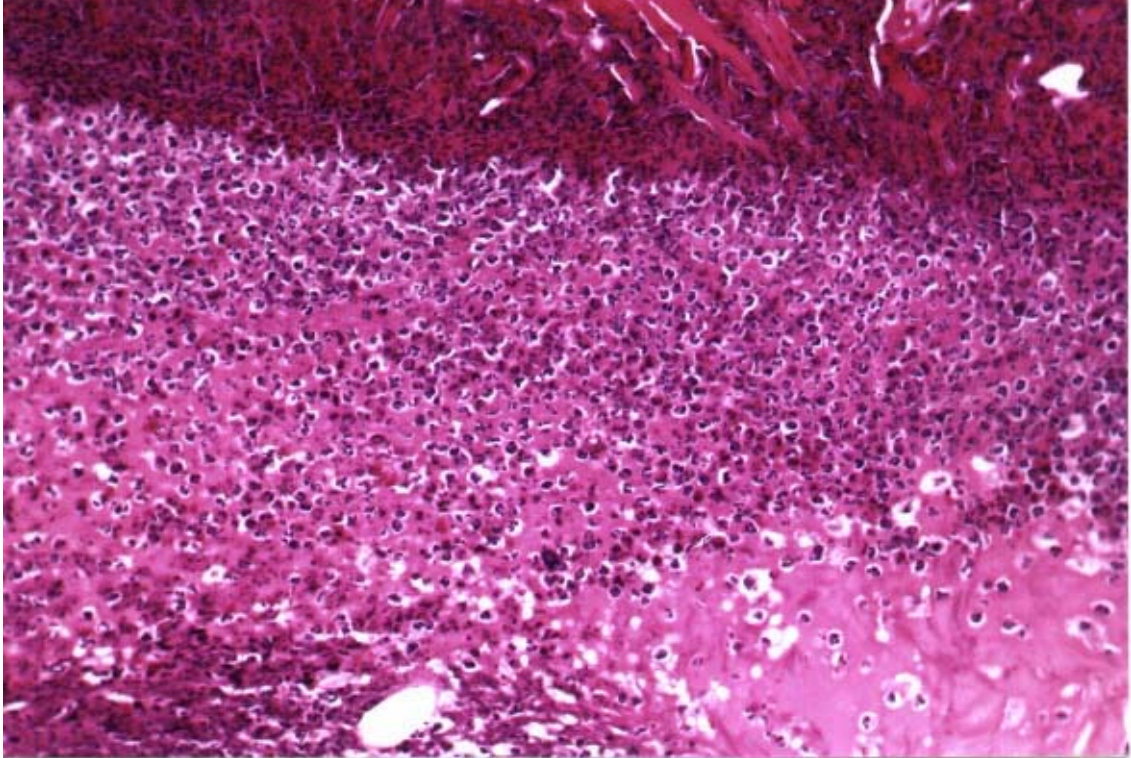


Figura 7 – Grupo II (queimadura) 3 dias. Centro da ferida mostrando abaixo da crosta, numerosos polimorfonucleares neutrófilos. HE. Aumento original 160x.

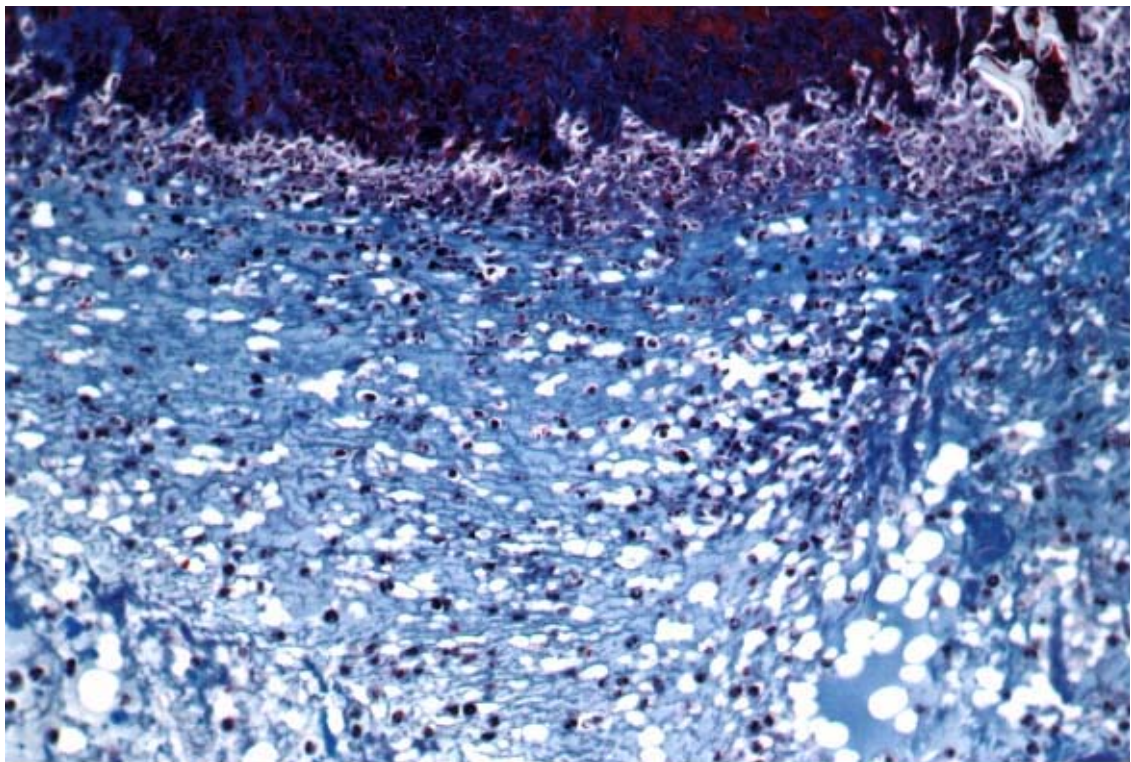


Figura 8 – Grupo II (queimadura). 3dias. Junto às bordas da ferida mostrando ausência de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. HE. Aumento original 160x.

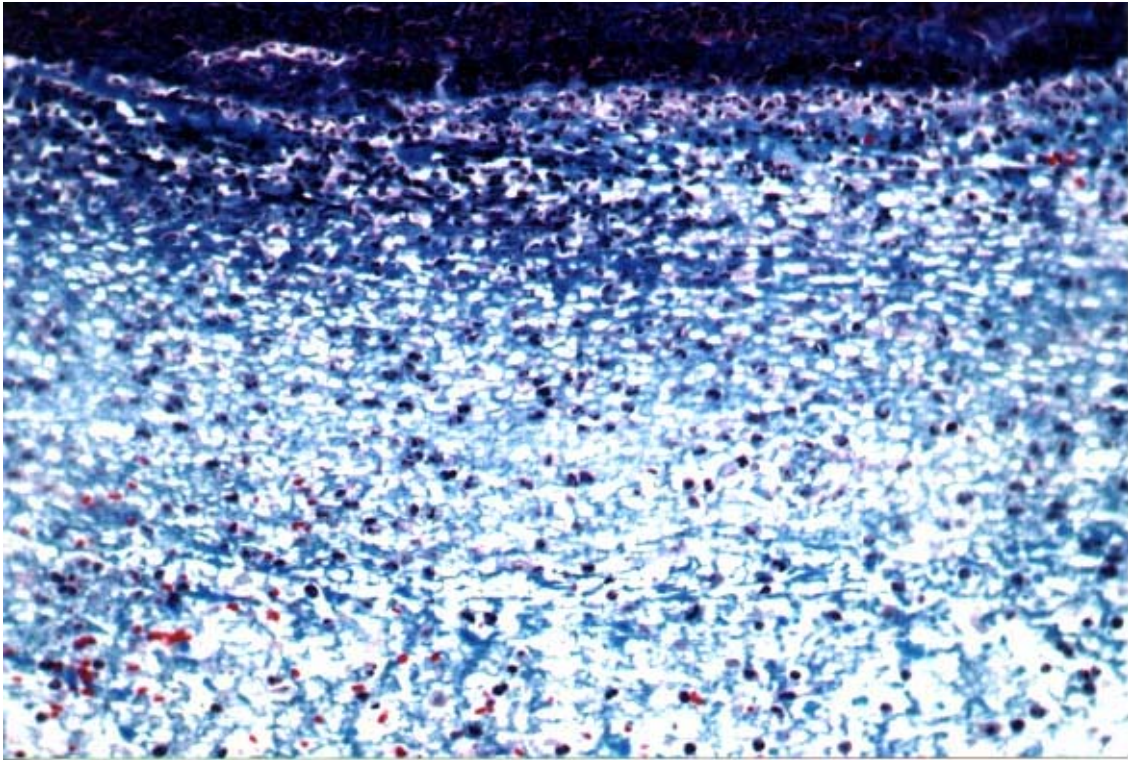


Figura 9 – Grupo II (queimadura). 3 dias. Área do centro da ferida mostrando ausência de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

Grupo III – (Queimadura + Laser). Junto as bordas da ferida observa-se a ausência de proliferação epiteliais em todos os espécimes e espessa camada de crostas (Fig. 10). Nas áreas mais próximas à crosta, nota-se a presença de alguns linfócitos e macrófagos. Na região mais profunda, podem ser evidenciados alguns fibroblastos e capilares neoformados ao lado de linfócitos e macrófagos (Fig. 11). Mais em direção ao centro da ferida, observa-se abaixo da crosta, espessa faixa ocupada por polimorfonucleares neutrófilos, muitos dos quais em degeneração (Fig. 12). Logo abaixo pode ser evidenciada a presença de linfócitos e macrófagos, bem como alguns capilares neoformados. Em todos os espécimes, observa-se a ausência de fibras colágenas (Fig. 13).

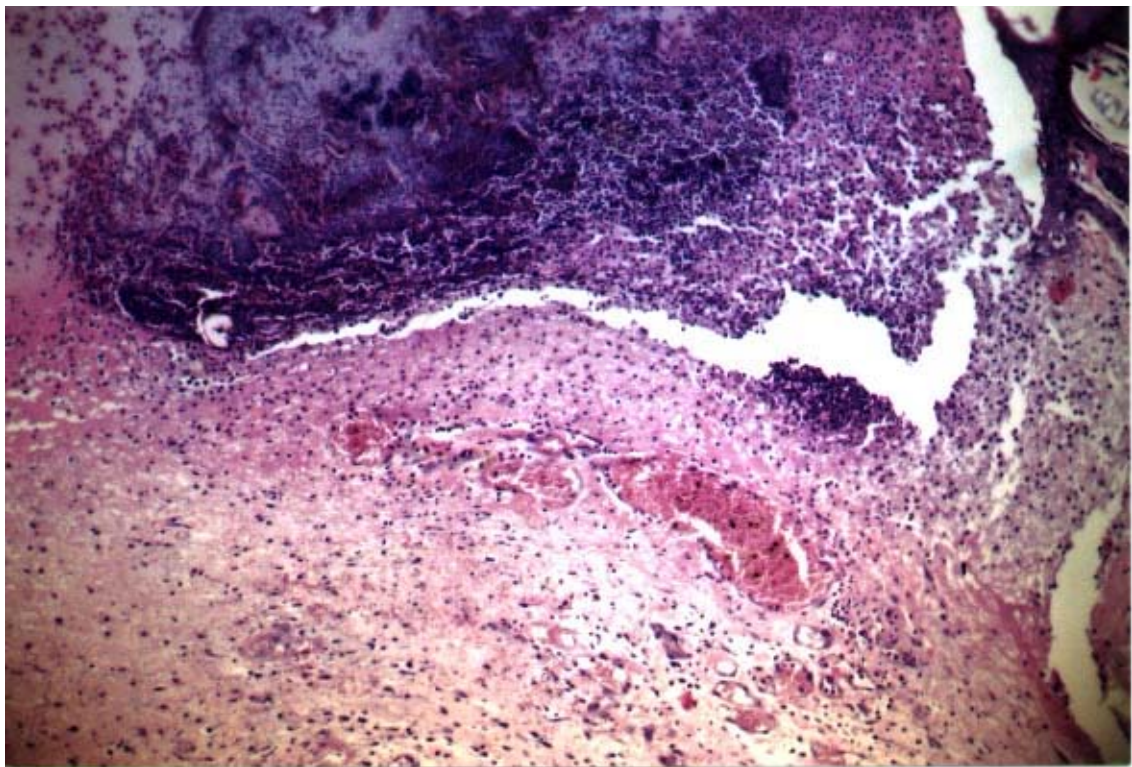


Figura 10 – Grupo III (queimadura+laser). 3dias. Evidenciando espessa camada de crosta e ausência de proliferação, epitelial. HE. Aumento original 63x.

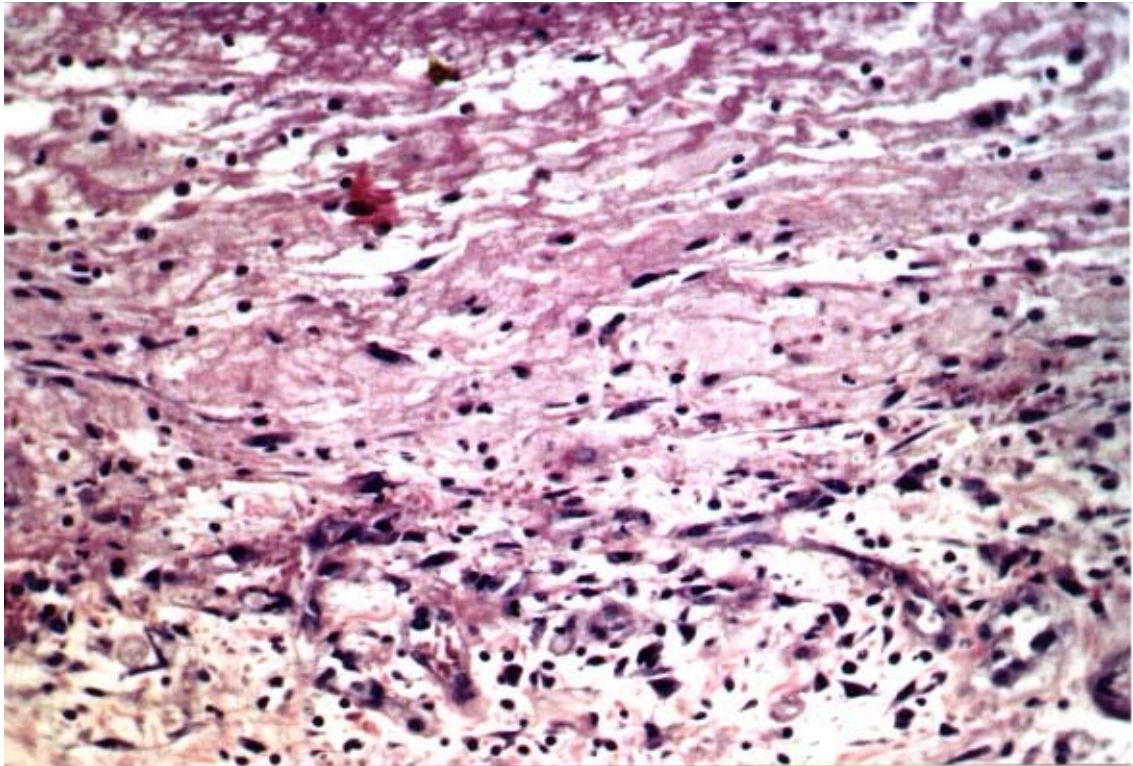


Figura 11 – Grupo III (queimadura+laser). 3 dias. Área situada mais distante da crosta mostrando alguns fibroblastos, linfócitos e macrófagos ao lado de capilares neoformados. HE. Aumento original 160x.

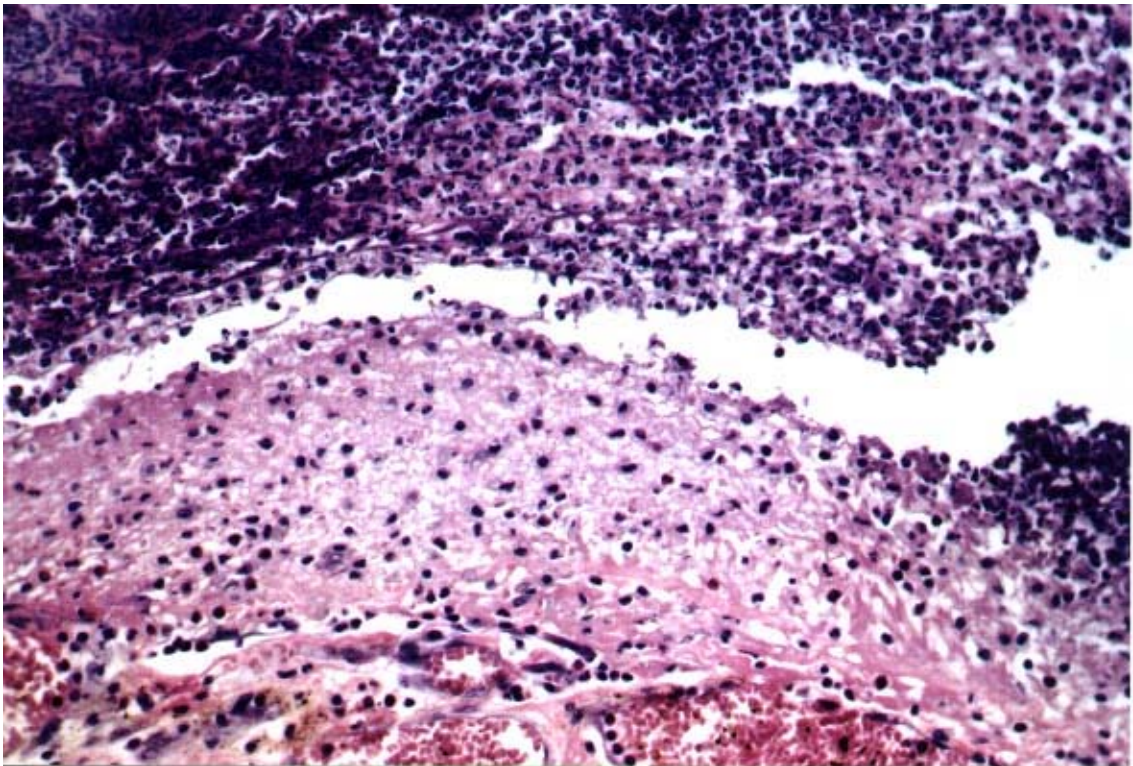


Figura 12 – Grupo III (queimadura+laser). 3 dias. Centro da ferida mostrando abaixo da crosta espessa faixa ocupada por polimorfonucleares neutrófilos muitos dos quais em degeneração. HE. Aumento original 160x.

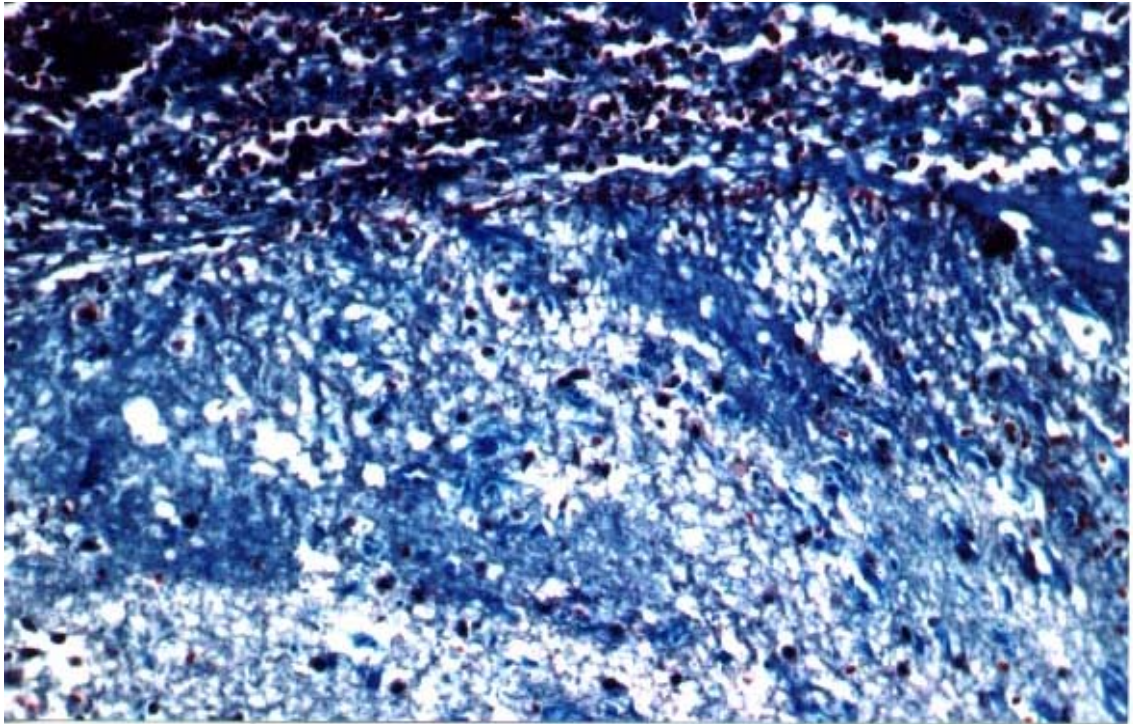


Figura 13 – Grupo III (queimadura+laser). 3 dias. Mostrando ausência de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

Grupo IV – (Queimadura + Droga + Laser). O epitélio recobre parcialmente a ferida cirúrgica junto às bordas da ferida (Fig. 14). Na área situada abaixo da crosta, observa-se alguns fibroblastos e capilares neoformados (Fig. 15). Mais para o centro da ferida cirúrgica, nota-se maior numero de fibroblastos ao lado de macrófagos, linfócitos e capilares neoformados (Fig. 16). Podem ser evidenciados também finos feixes de fibras colágenos abaixo da crosta (Fig./ 17)

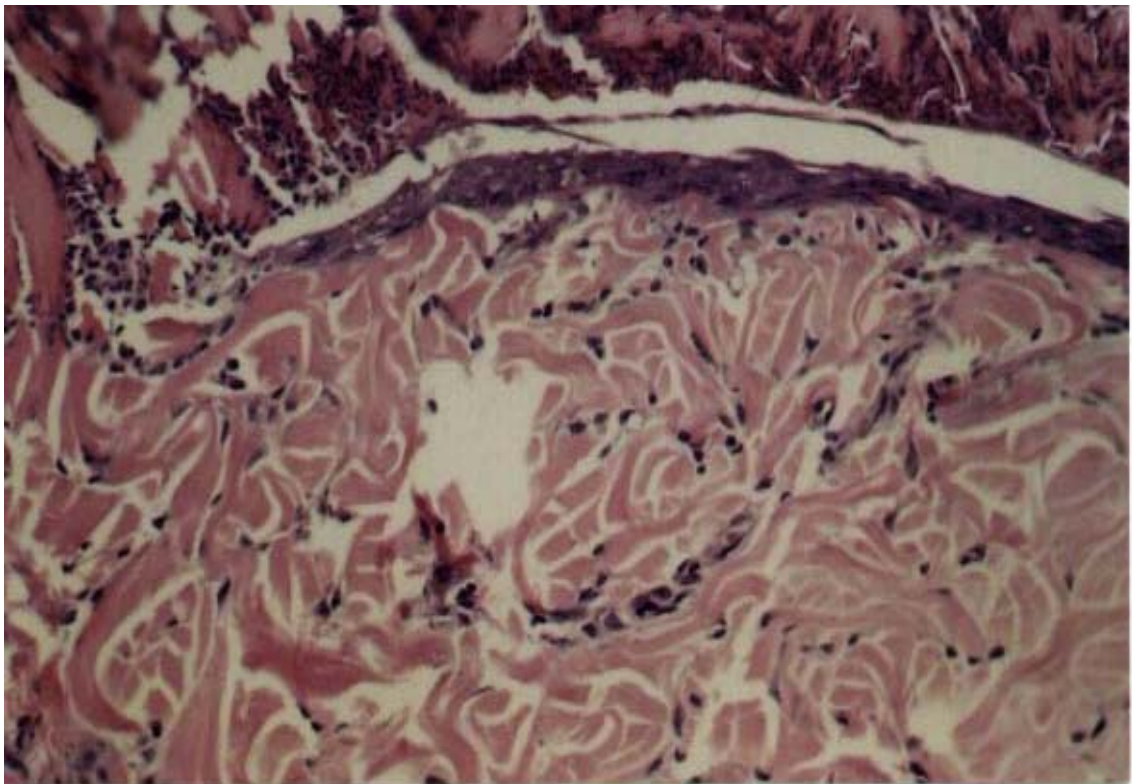


Figura 14 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 3 dias. Epitélio recobrindo parcialmente a ferida cirúrgica junto às bordas da ferida. HE. Aumento original 160x.

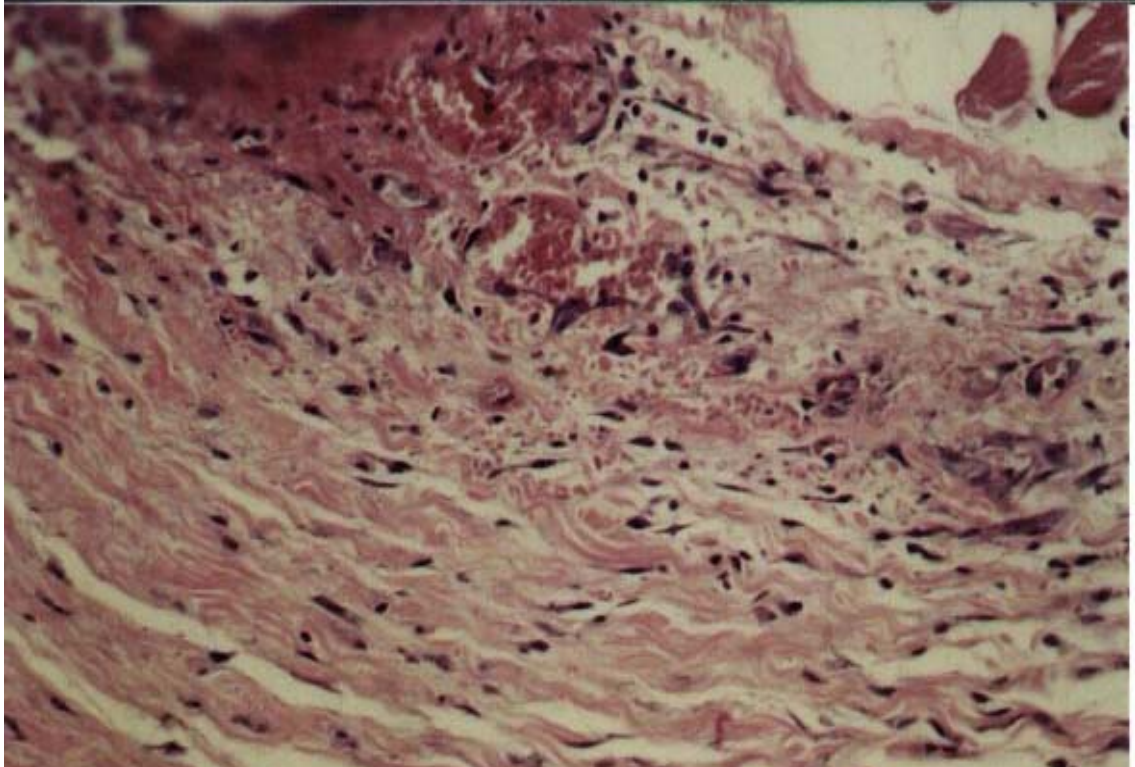


Figura 15 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 3 dias. Área situada abaixo da crosta com alguns fibroblastos e capilares neoformados. HE. Aumento original 160x.

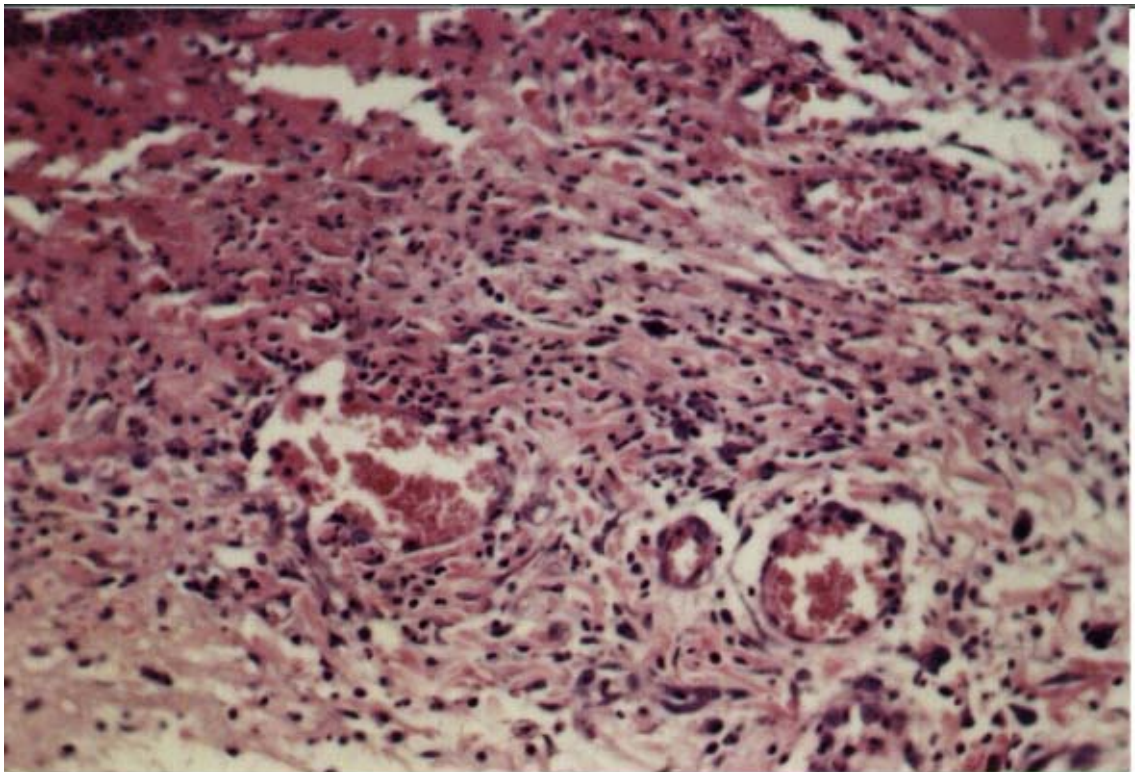


Figura 16 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 3 dias. Centro da ferida cirúrgica mostrando maior número de fibroblastos, macrófagos e linfócitos ao lado de capilares neoformados. HE. Aumento original 160x.

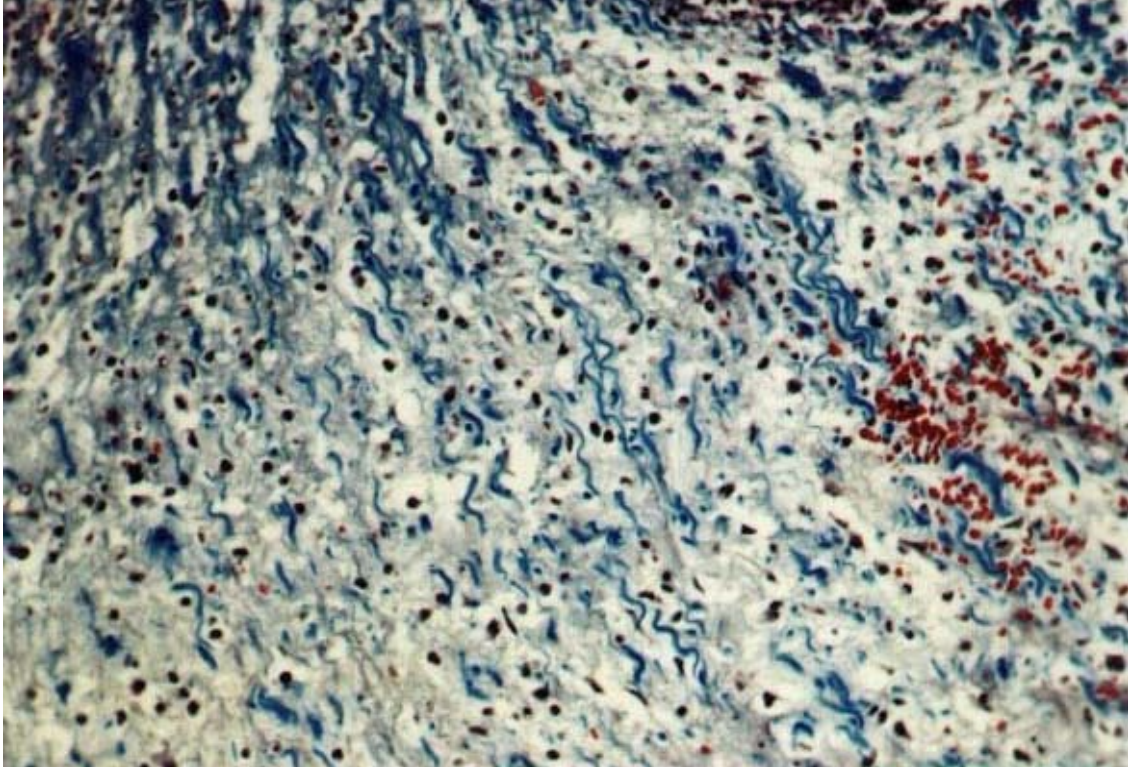


Figura 17 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 3 dias. Evidenciando finos feixes de fibras colágenas abaixo da droga. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

b) Período 7 dias

Grupo I – (Controle). Junto às bordas da ferida, observa-se moderada proliferação epitelial que recobre parcialmente a ferida cirúrgica (Fig. 18). O tecido conjuntivo subjacente apresenta elevado número de fibroblastos ao lado de capilares neoformados, macrófagos e linfócitos. Nota-se também uma camada de crosta nas áreas não cobertas pelo epitélio neoformado. Nas regiões mais afastadas das bordas da ferida, nota-se estreita faixa ocupada por neutrófilos degenerados (Fig. 19). O tecido conjuntivo abaixo da crosta mostra moderado número de fibroblasto e capilares neoformados. Nota-se ainda, pequena quantidade de fibras colágenas isoladas (Fig. 20).

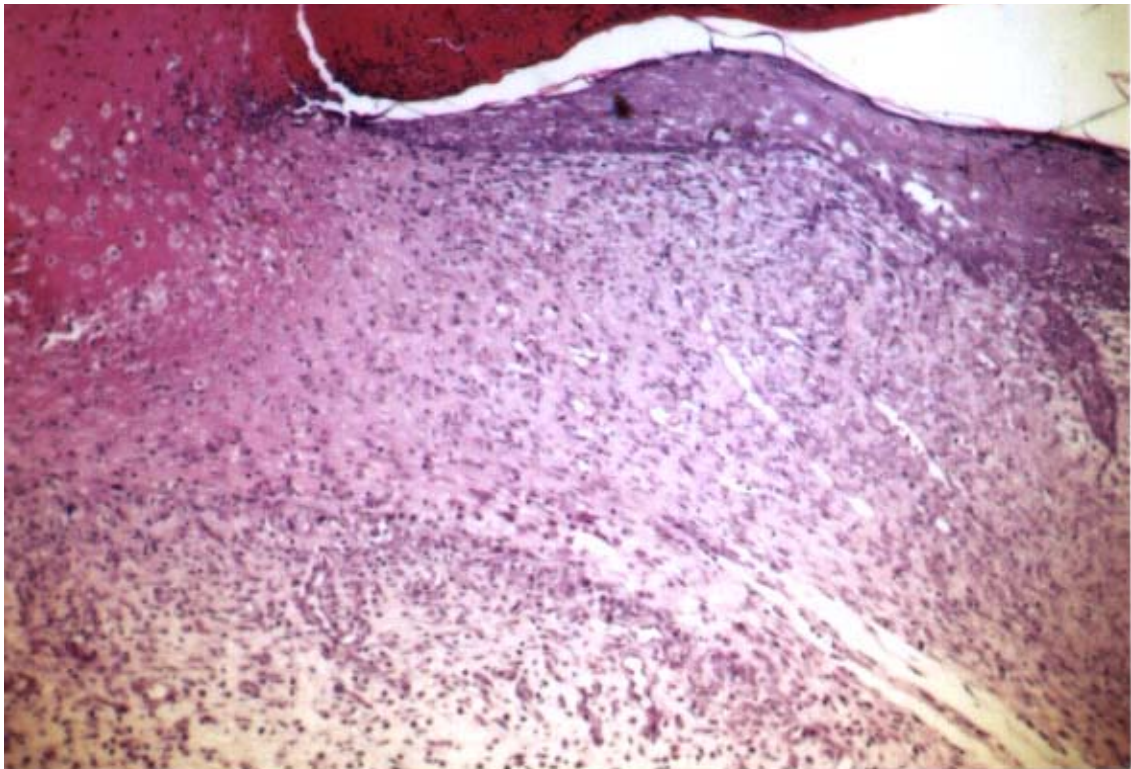


Figura 18 – Grupo I (Controle). 7 dias. Bordas da ferida cirúrgica mostrando moderada proliferação epitelial. HE. Aumento original 63x.

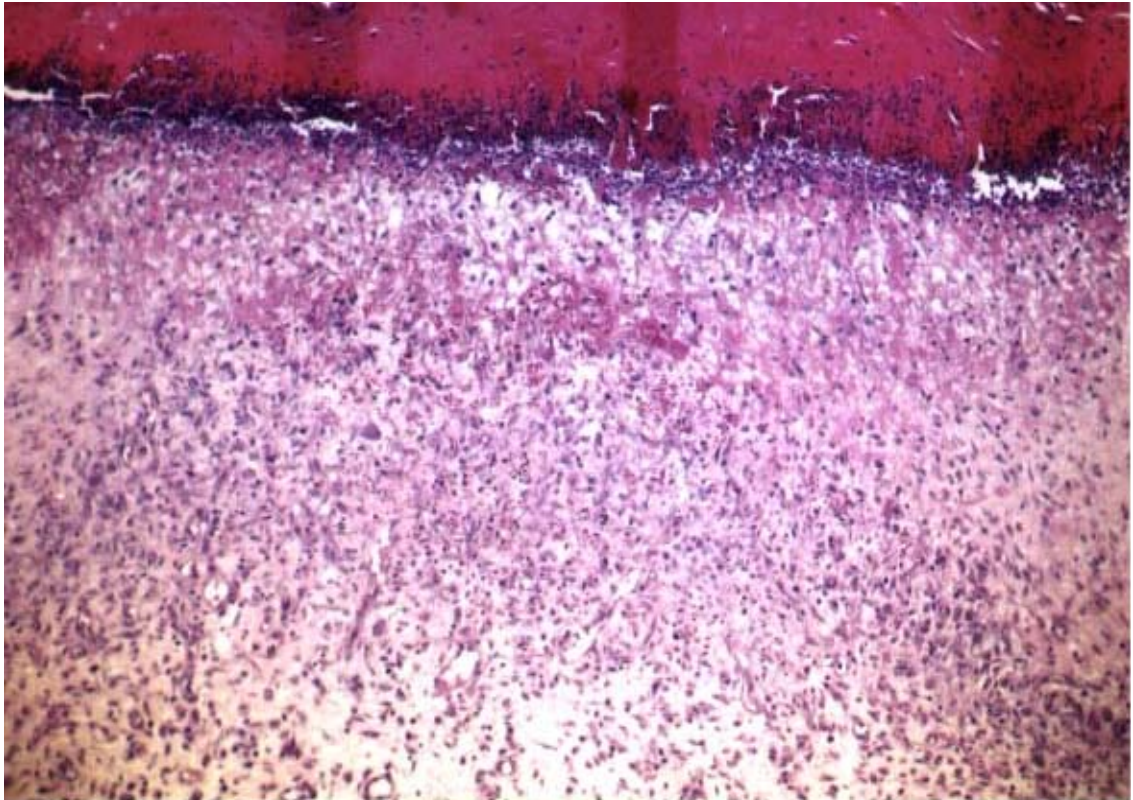


Figura 19 – Grupo I (Controle). 7 dias. Região próxima ao centro da ferida cirúrgica mostrando estreita faixa junto à crosta com neutrófilos degenerados. HE. Aumento original 63x.

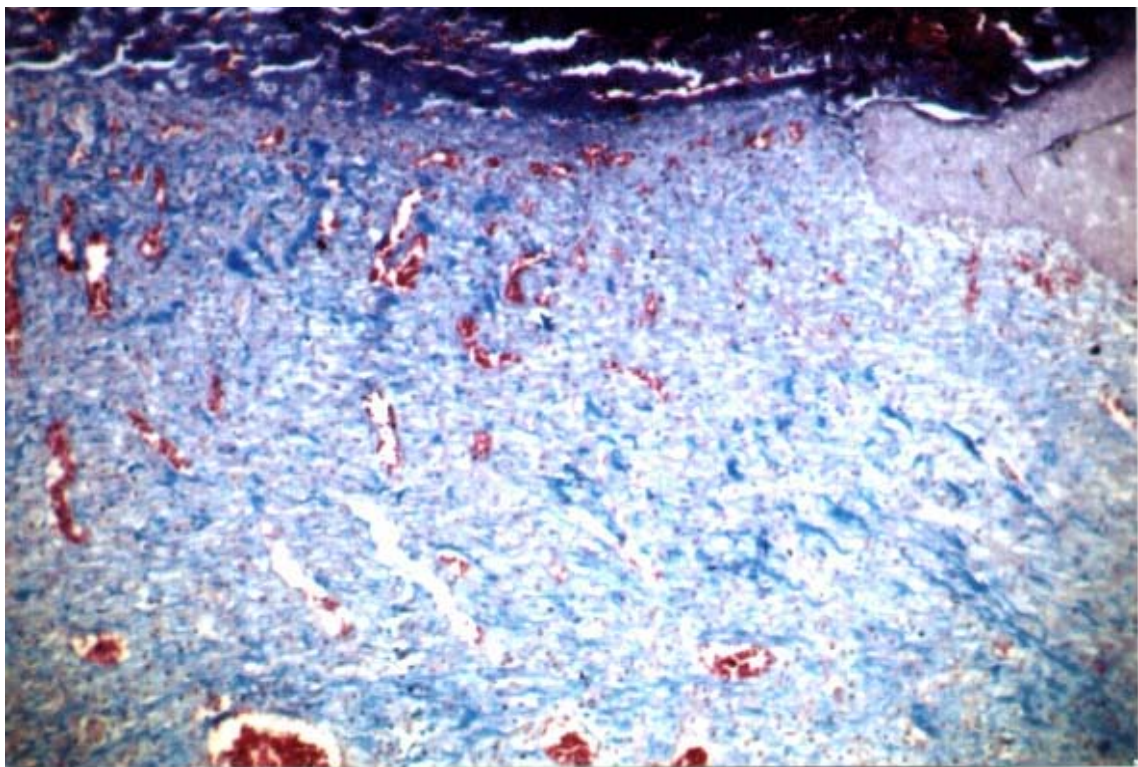


Figura 20 – Grupo I (Controle). 7 dias. Ferida cirúrgica abaixo da crosta com pequena quantidade de fibras colágenas isoladas. Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

Grupo II – (Queimadura). Em todos os espécimes observa-se a ausência de proliferação epitelial. Nota-se espessa camada de crosta em toda a extensão da ferida cirúrgica mostrando na sua porção inferior, polimorfonucleares neutrófilos em degeneração (Fig. 21). Nas áreas mais internas, observa-se restos de coágulos sangüíneos exibindo moderado número de macrófagos e linfócitos. Nas regiões mais afastadas das bordas da ferida, as características morfológicas são comparáveis àquelas observadas nas proximidades das bordas da ferida (Fig. 22). Em alguns casos, no entanto, observa-se junto à porção central da ferida, grande quantidade de polimorfonucleares neutrófilos, alguns dos quais em degeneração (Fig. 23). Por outro lado, em toda extensão da ferida cirúrgica nota-se a ausência de fibras colágenas (Fig. 24).

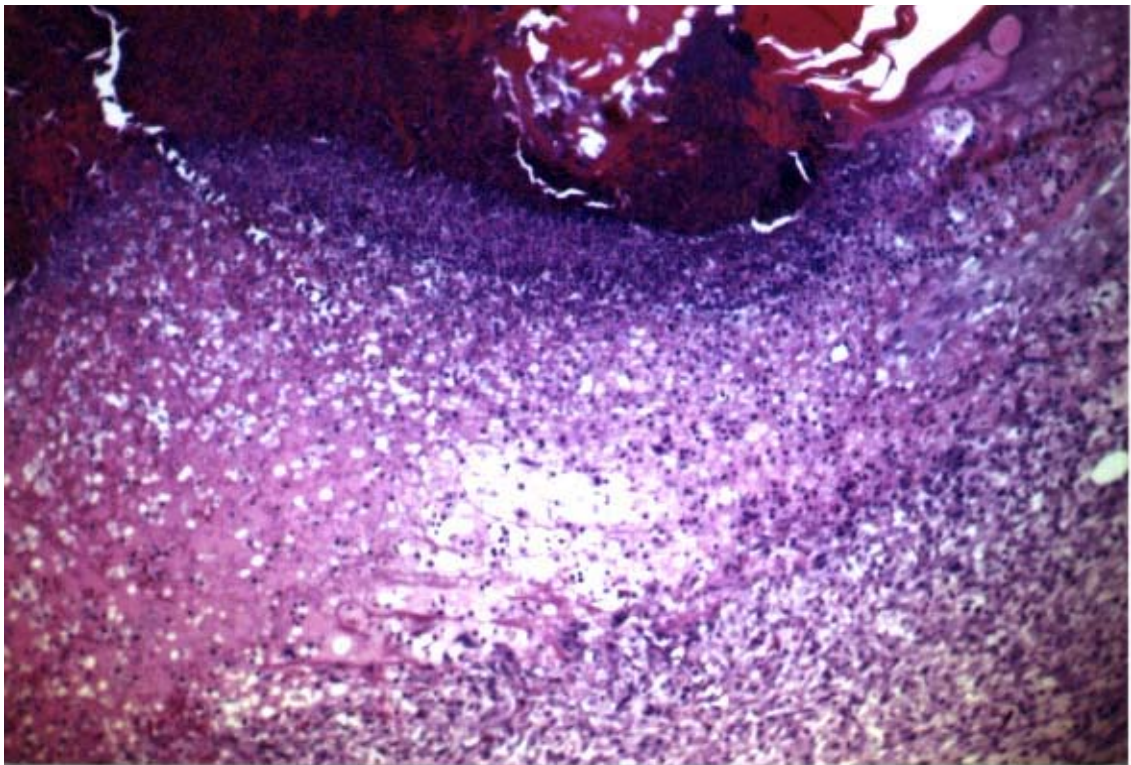


Figura 21 – Grupo II (Queimadura). 7 dias. Espessa camada de crosta mostrando em sua porção interna polimorfonucleares em degeneração. HE. Aumento original 63x.

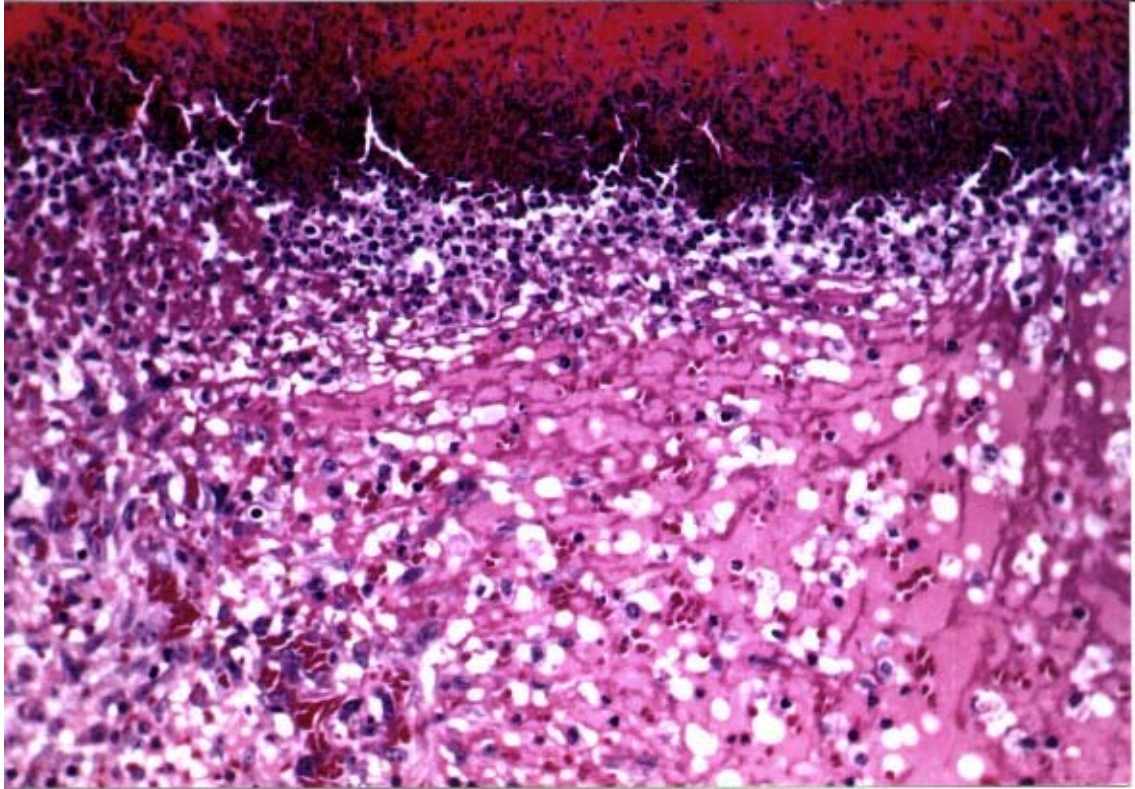


Figura 22 – Grupo II (Queimadura). 7 dias. Área central da ferida cirúrgica mostrando junto à crosta, polimorfonucleares neutrófilos. HE. Aumento original 160x.

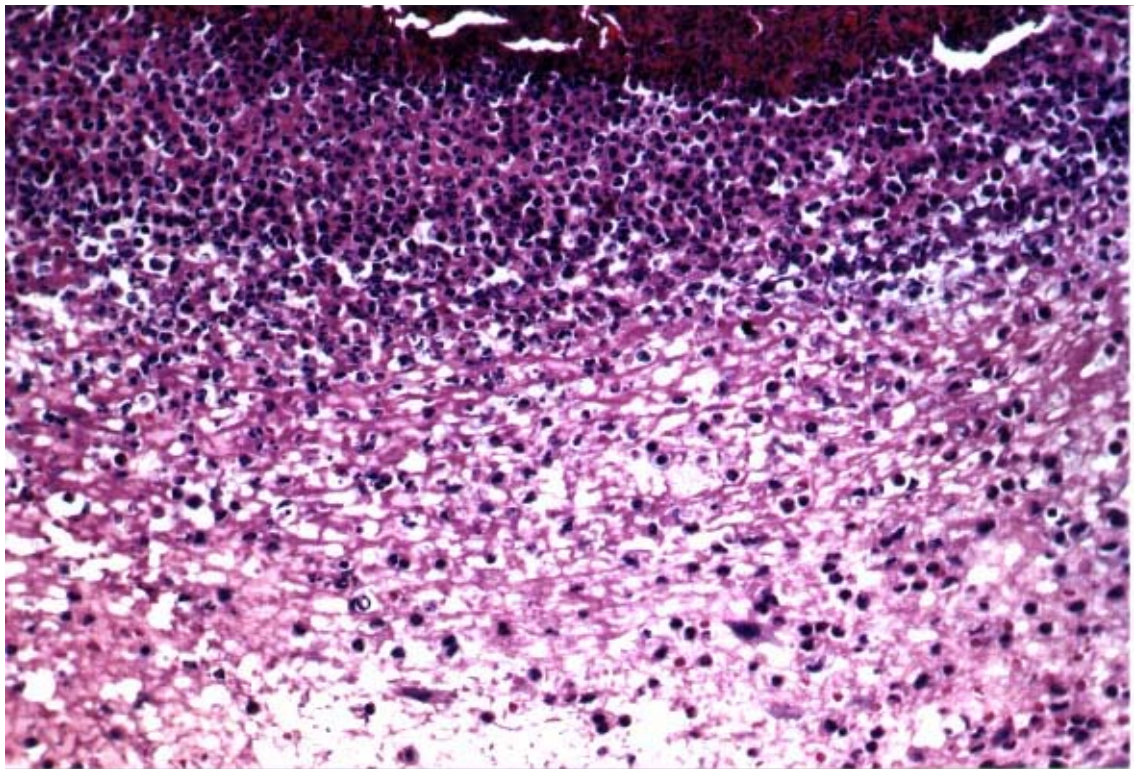


Figura 23 – Grupo II (Queimadura). 7 dias. Porção central da ferida cirúrgica com grande quantidade de polimorfonucleares neutrófilos. HE. Aumento original 160x.

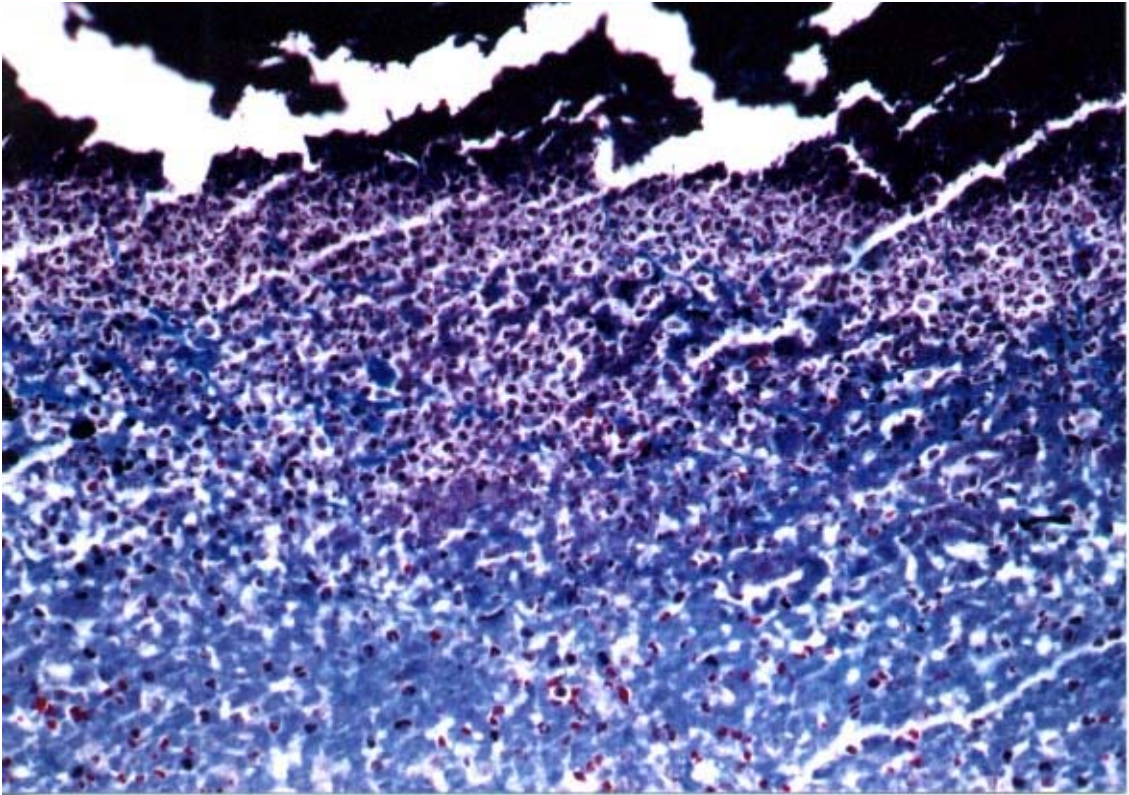


Figura 24 – Grupo II (Queimadura). 7 dias. Ferida cirúrgica mostrando ausência de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

Grupo III – (Queimadura + Laser). Em todos os espécimes nota-se discreta proliferação do epitélio abaixo de espessa camada de crosta (Fig. 25). O tecido conjuntivo subjacente pouco organizado, apresenta moderado número de fibroblastos ao lado de macrófagos e linfócitos (Fig. 26). Nas áreas mais centrais da ferida, nota-se menor número de fibroblastos e quantidade mais pronunciada de macrófagos e linfócitos. A ferida cirúrgica mostra em toda extensão, pequena quantidade de fibras colágenas pouco organizadas (Fig. 27 e 28).

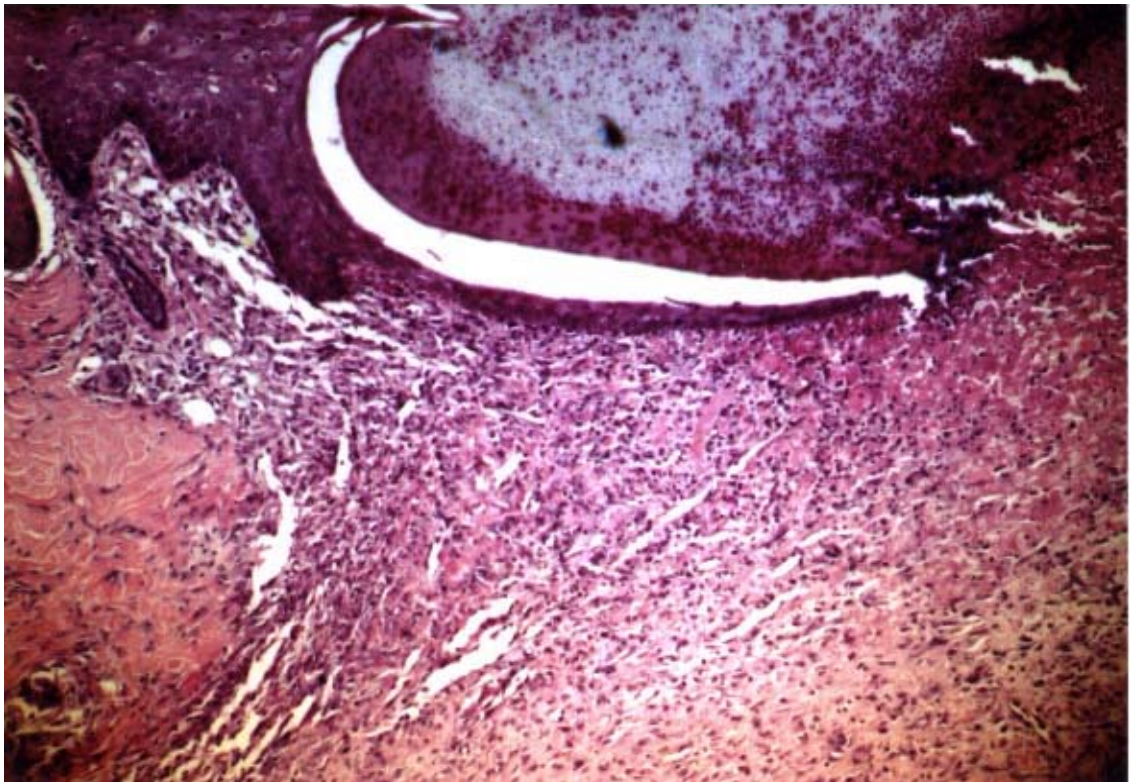


Figura 25 – Grupo III (queimadura+laser). 7 dias. Mostrando discreta proliferação do epitélio junto às bordas da ferida cirúrgica. HE. Aumento original 63x.

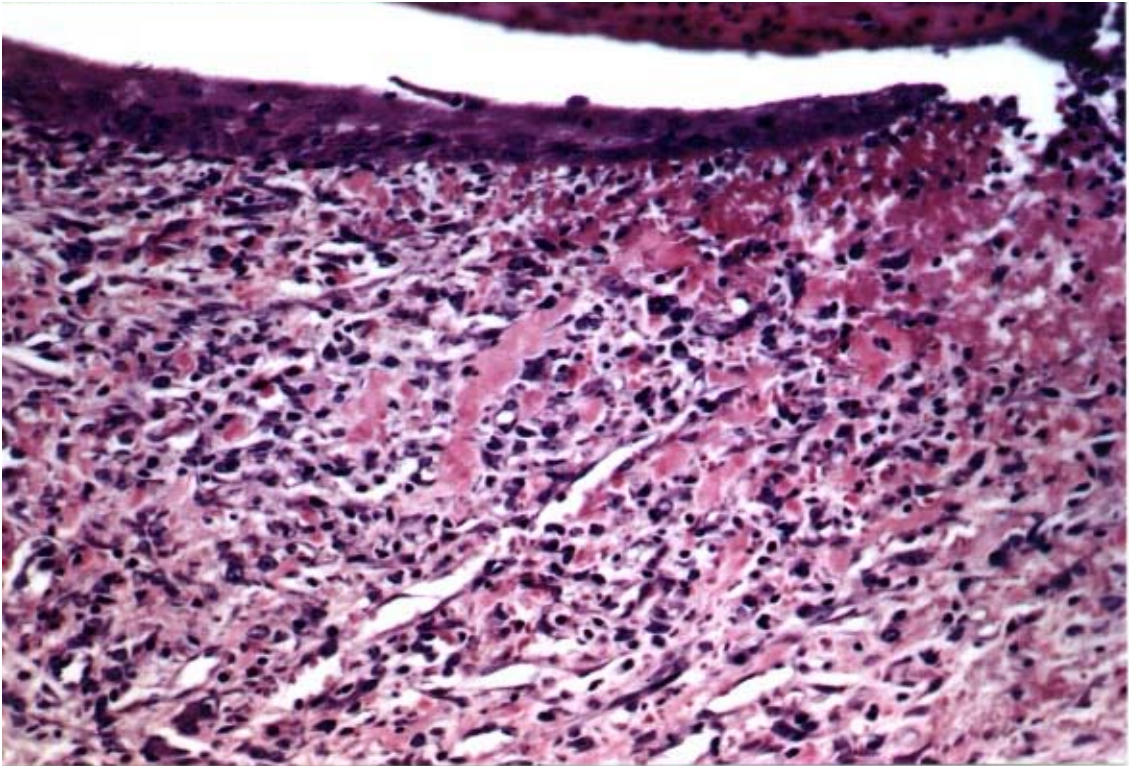


Figura 26 – Grupo III (queimadura+laser). 7 dias. Evidenciando tecido conjuntivo pouco organizado moderado número de fibroblastos, macrófagos e linfócitos. HE. Aumento original 160x.

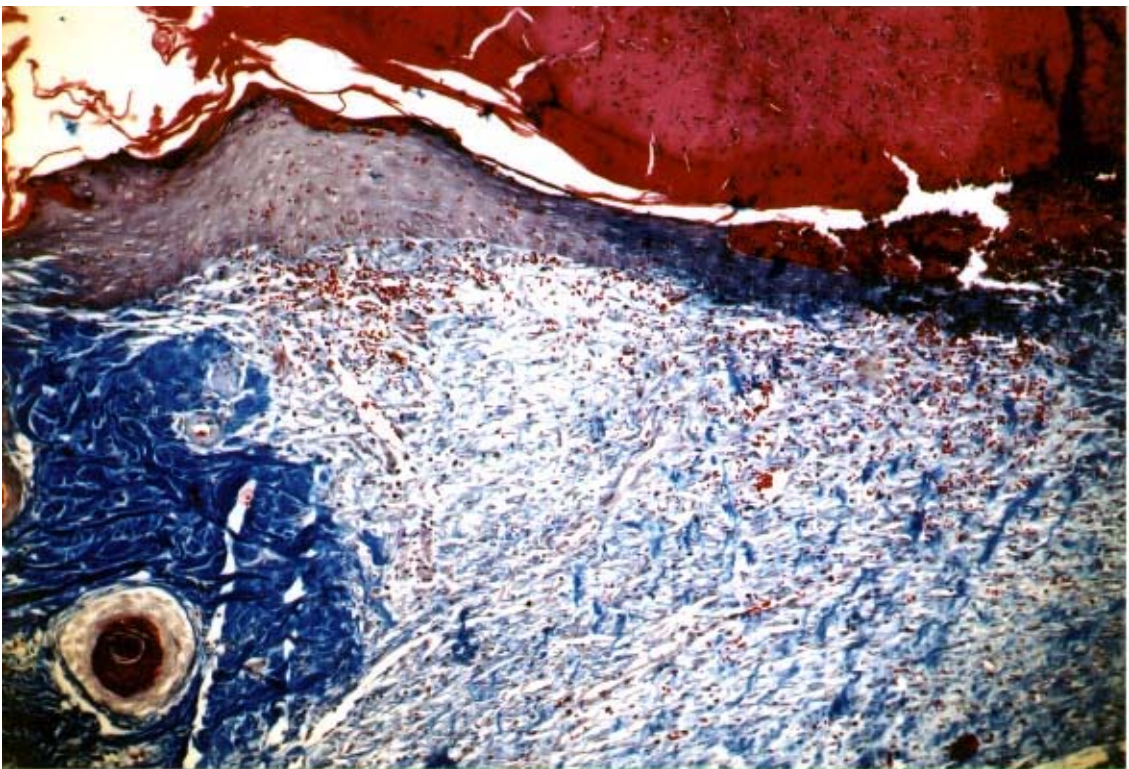


Figura 27 – Grupo III (queimadura+laser). 7 dias. Ferida cirúrgica mostrando pequena quantidade de fibras colagens pouco organizadas. Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

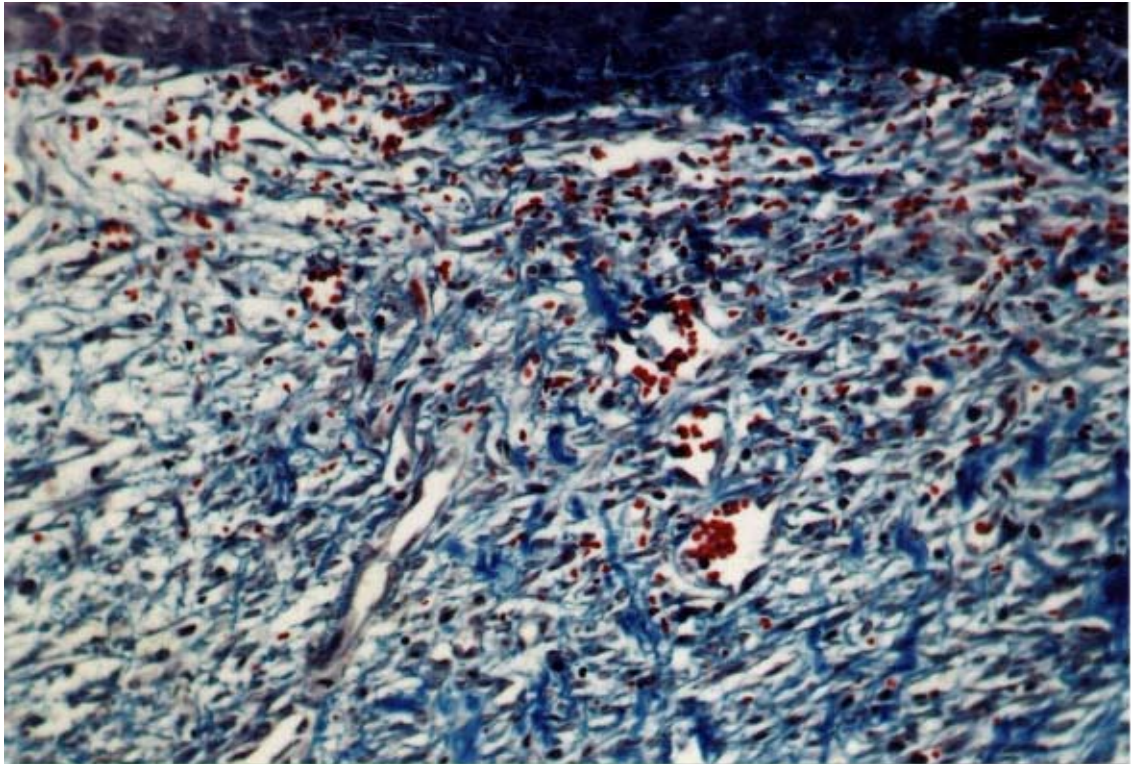


Figura 28 – Grupo III (queimadura+laser). 7 dias. Ferida cirúrgica mostrando fibras colágenas pouco organizadas. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

Grupo IV – (Queimadura + Droga + Laser). Em todos os espécimes observa-se moderada proliferação do epitélio abaixo de espessa camada de crosta (Fig. 29). O tecido conjuntivo subjacente apresenta moderado número de fibroblasto e capilares ao lado de discreta quantidade de macrófagos e linfócitos (Fig. 30). Nas áreas situadas mais distantes da borda da ferida, observa-se maior número de macrófago e linfócitos (Fig. 31). A ferida cirúrgica mostra ao longo de toda extensão, alguns feixes de fibras colagens com pouca organização (Fig. 32).

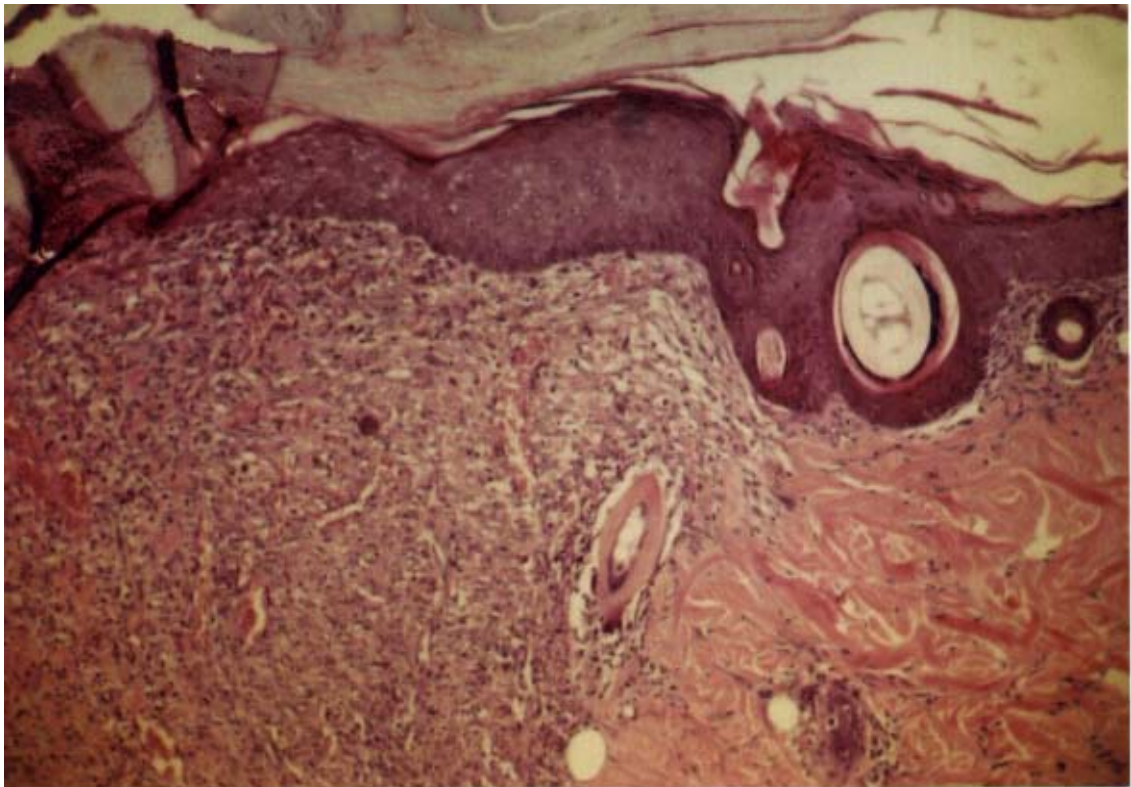


Figura 29 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 7 dias. Moderada proliferação do epitélio junto às bordas da ferida cirúrgica. HE. Aumento original 63x.

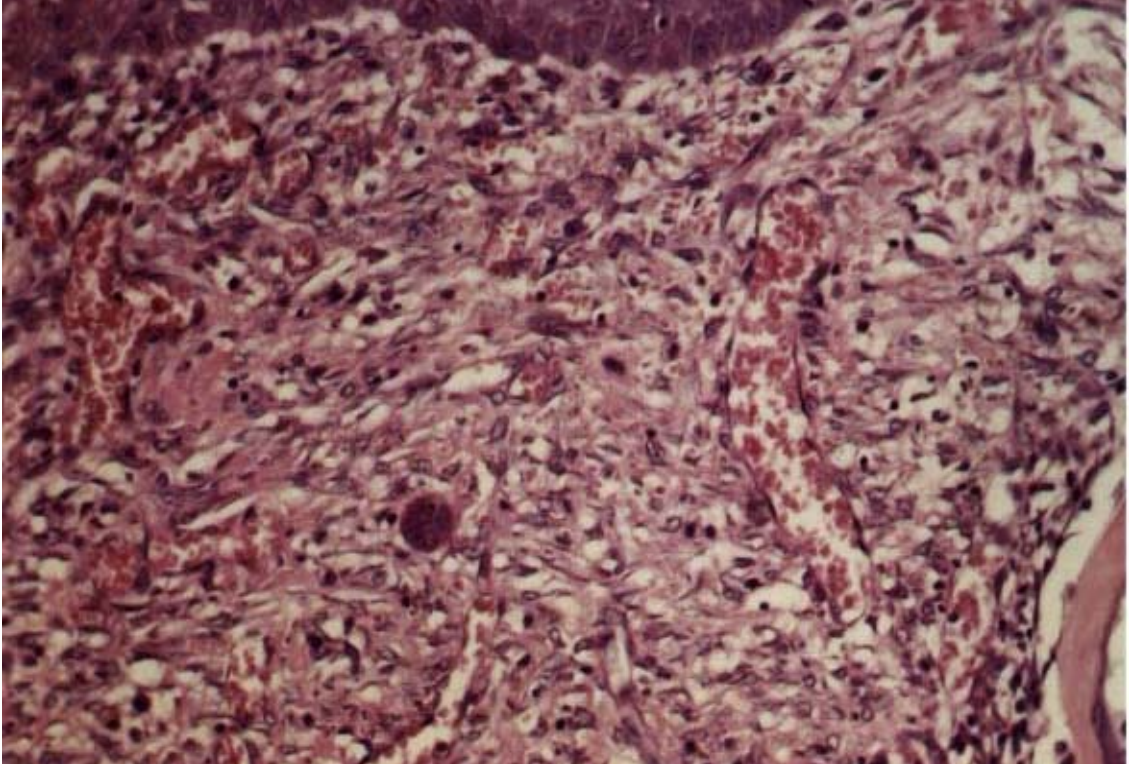


Figura 30 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 7 dias. Tecido conjuntivo subjacente com moderado número de fibroblastos ao lado de alguns macrófagos e linfócitos. HE. Aumento original 160x.

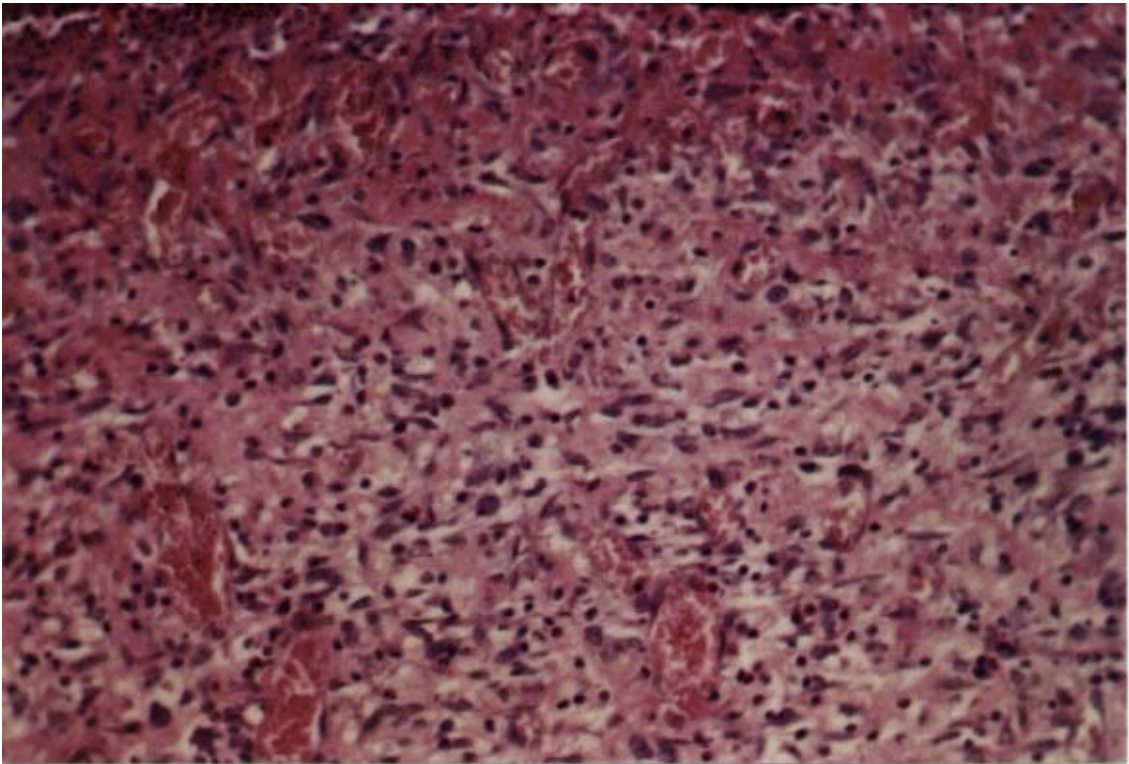


Figura 31 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 7 dias. Área situada no centro da ferida com numerosos macrófagos e linfócitos. HE. Aumento original 160x.

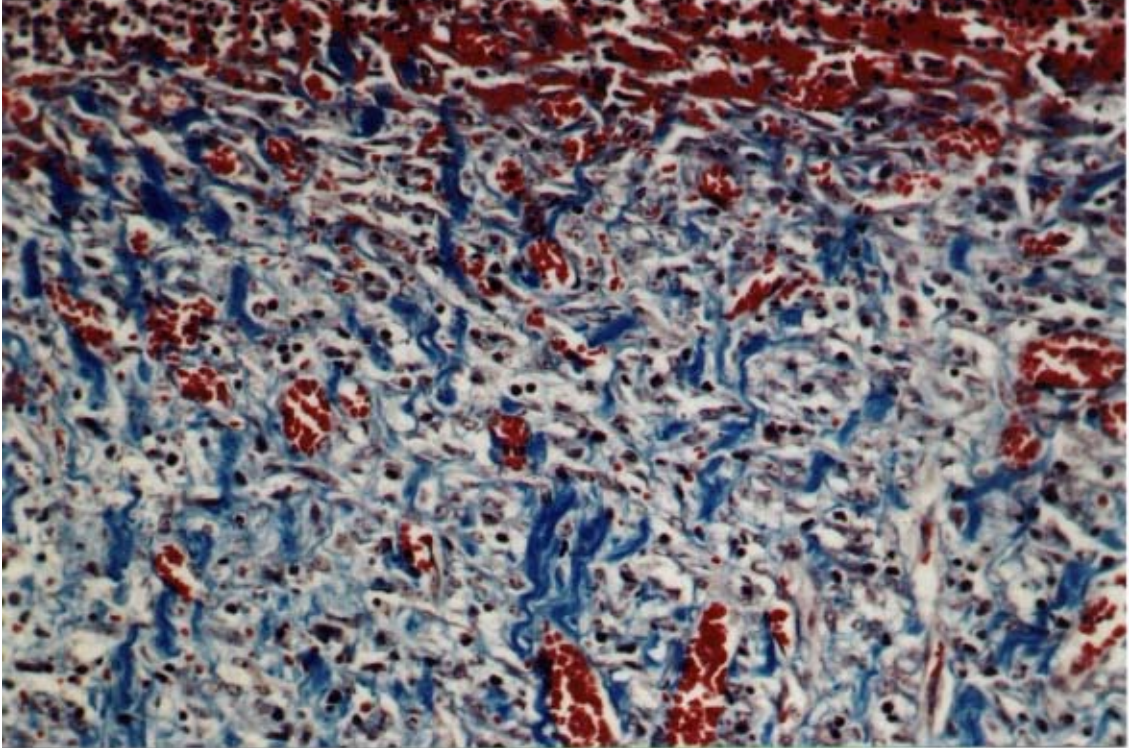


Figura 32 – Grupo IV (queimado). 7 dias. Ferida cirúrgica evidenciando alguns feixes de fibras colágenas sem organização. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

c) Período 14 dias

Grupo I – (Controle). O epitélio recobre a ferida cirúrgica em sua totalidade, mostrando em alguns pontos pouca diferenciação (Fig 33). O tecido conjuntivo subjacente, em alguns casos, mostra moderado número de fibroblastos e vasos sangüíneos. Em outros o tecido é mais desenvolvido exibindo poucos fibroblastos que estão orientados paralelamente à superfície do epitélio. Nota-se ainda discreto número de vasos sangüíneos. Por outro lado, em todos os espécimes observa-se grande quantidade de feixes de fibras colágenas que se encontram orientadas paralelamente à superfície do epitélio (Fig. 34).

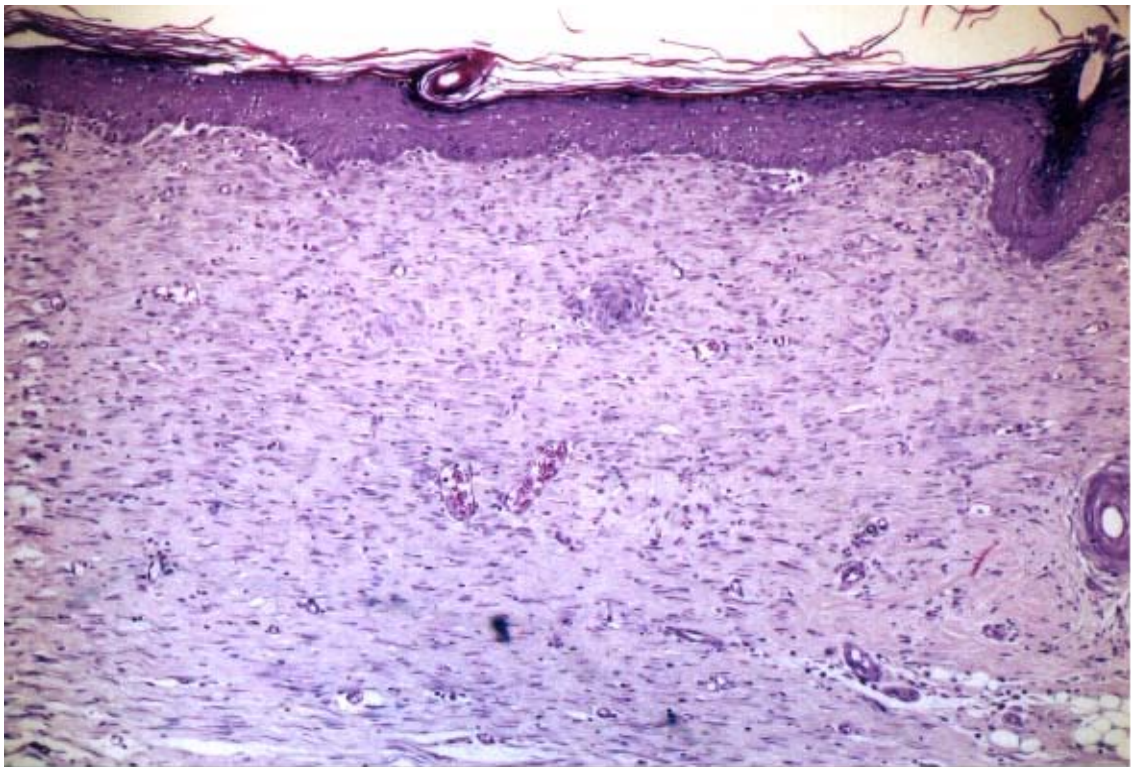


Figura 33 – Grupo I (Controle). 14 dias. Epitélio recobrimdo a ferida cirúrgica. HE. Aumento original 63x.

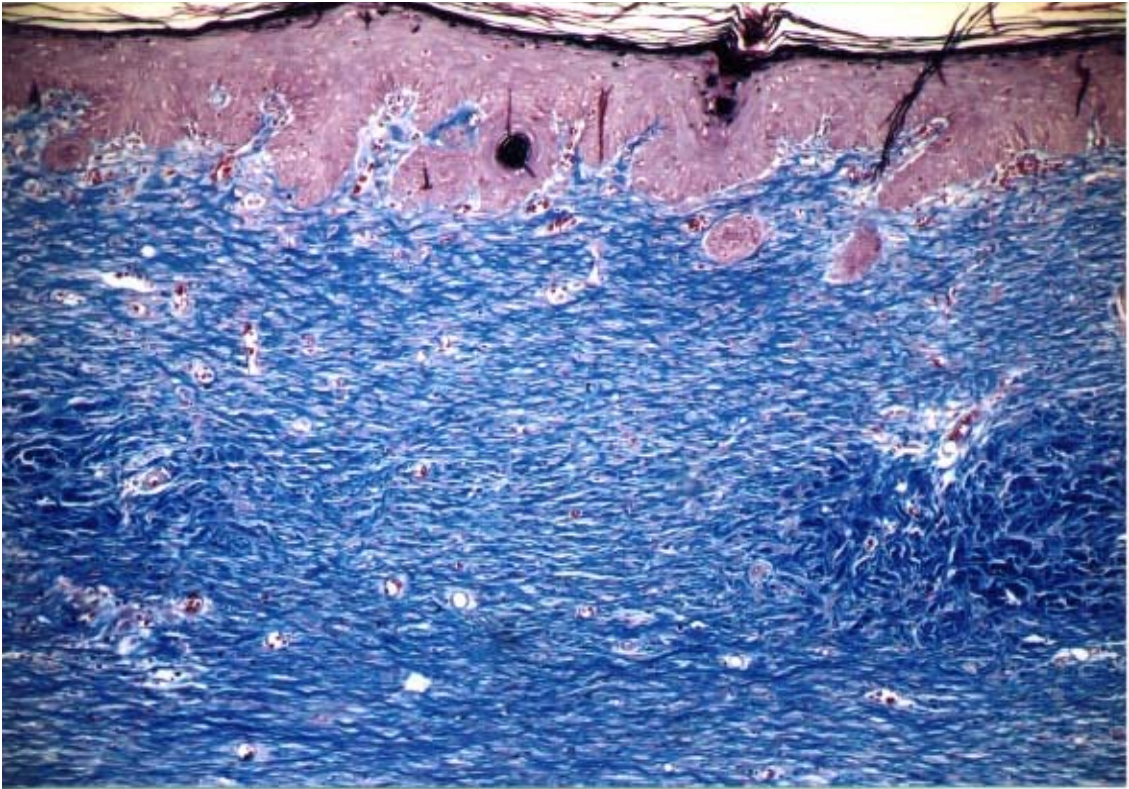


Figura 34 – Grupo I (Controle). 14 dias. Ferida cirúrgica evidenciando grande quantidade de feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

Grupo II – (Queimadura). Em todos os espécimes o epitélio recobre parcialmente a ferida cirúrgica. Em alguns casos, nota-se estreita faixa de tecido conjuntivo neoformado com moderado número de fibroblastos ao lado de macrófagos e linfócitos. Em outros, evidencia-se espessa camada de tecido conjuntivo mostrando as mesmas características acima descritas (Fig. 35). Em alguns espécimes, junto à porção central da ferida cirúrgica observa-se discreto número de fibroblastos, macrófagos e linfócitos ao lado de numerosos capilares neoformados (Fig. 36). Ao longo de toda extensão de ferida cirúrgica, observa-se feixes de fibras colágenas (Fig. 37).

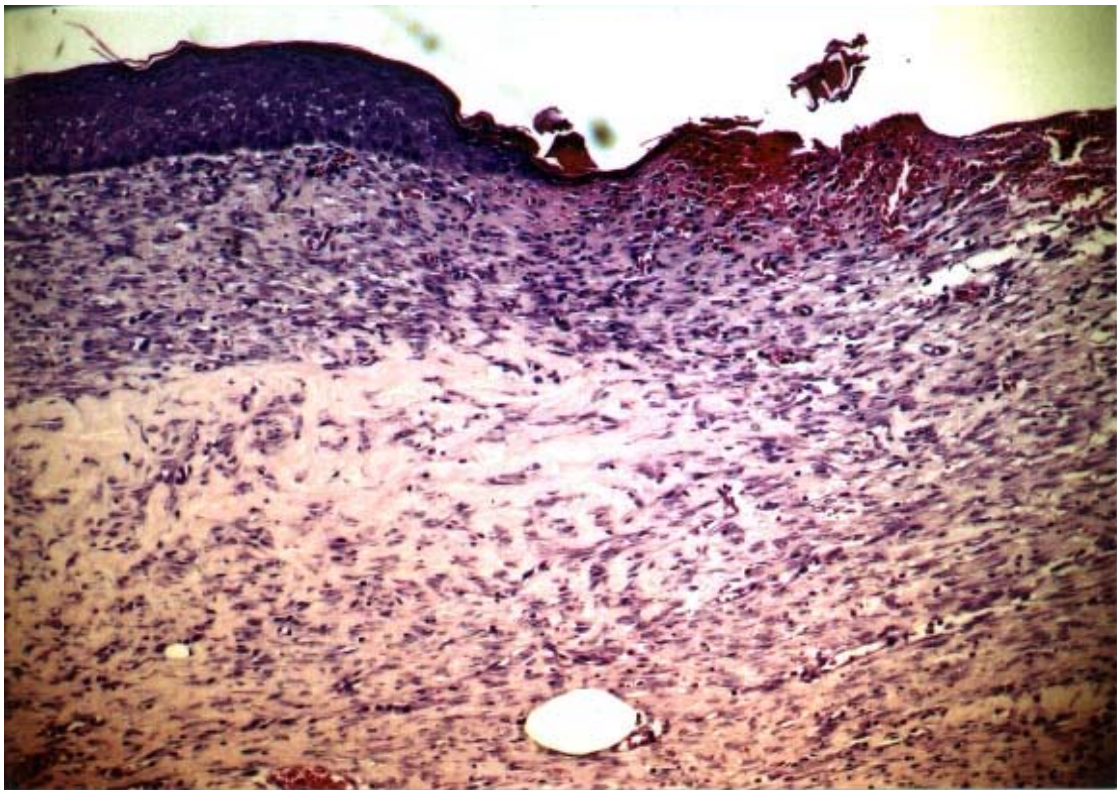


Figura 35 – Grupo II (Controle). 14 dias. Epitélio recobrindo parcialmente a ferida cirúrgica. HE. Aumento original 63x.

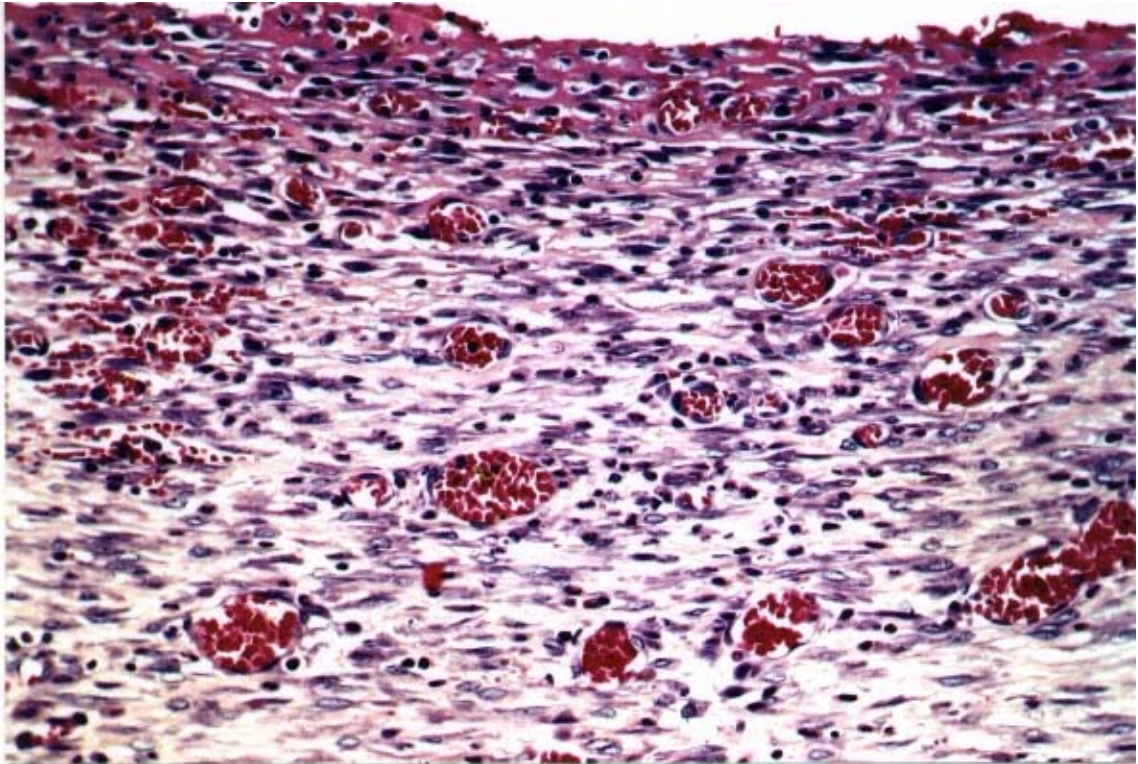


Figura 36 – Grupo II (Queimadura). 14 dias. Espécime evidenciando discreto número de fibroblastos, macrófagos e linfócitos e numerosos capilares neoformados. HE. Aumento original 160x.

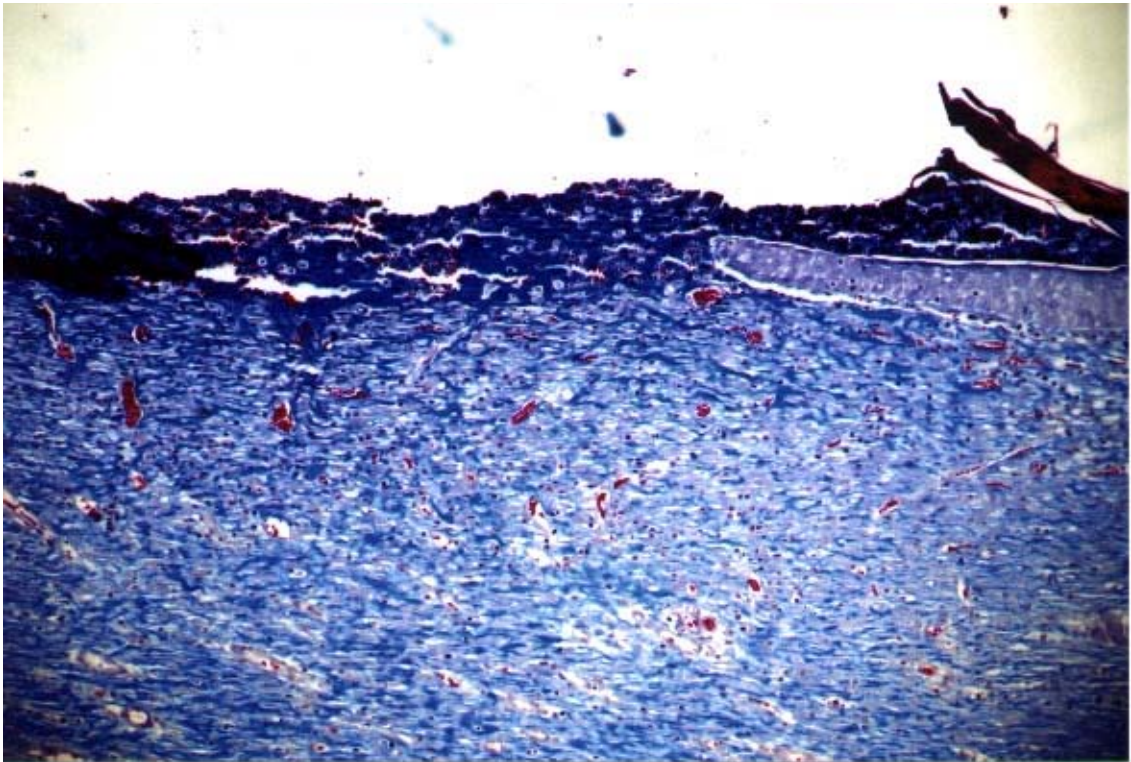


Figura 37 – Grupo II (Queimadura). 14 dias. Ferida cirúrgica mostrando feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

Grupo III – (Queimadura + Laser). Em alguns espécimes o epitélio recobre parcialmente a ferida cirúrgica mostrando o tecido conjuntivo subjacente com moderado número de fibroblastos ao lado de alguns macrófagos e linfócitos. Em outros, o epitélio pouco diferenciado recobre a totalidade da ferida cirúrgica (Fig. 38). O tecido conjuntivo subjacente é pouco desenvolvido com moderado número de fibroblastos ao lado de alguns macrófagos e linfócitos (Fig. 39). Evidencia-se também capilares neoformados ao longo de todo o tecido subjacente. Ainda no tecido conjuntivo subcutâneo, nota-se numerosos feixes de fibras colagens dispostos paralelamente à superfície do epitélio (Fig. 40 e 41).

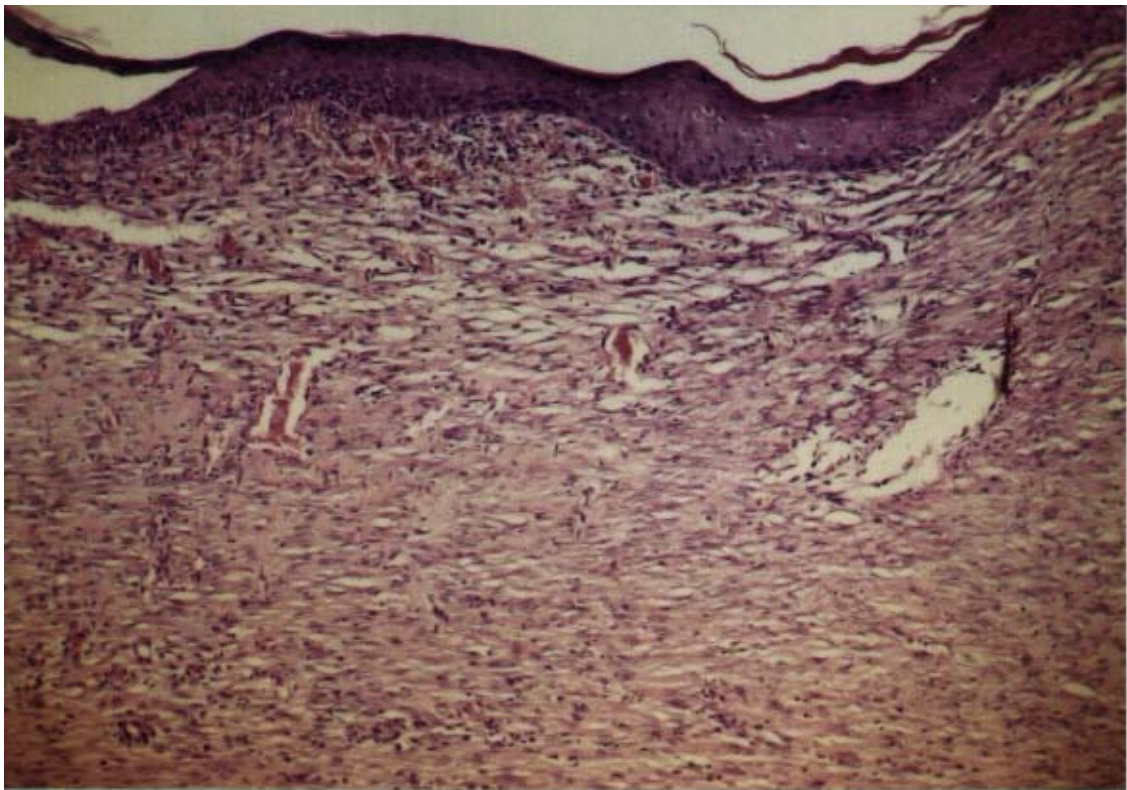


Figura 38 – Grupo III (queimadura+laser). 14 dias. Espécime com o epitélio recobrindo a ferida cirúrgica. HE. Aumento original 63x.

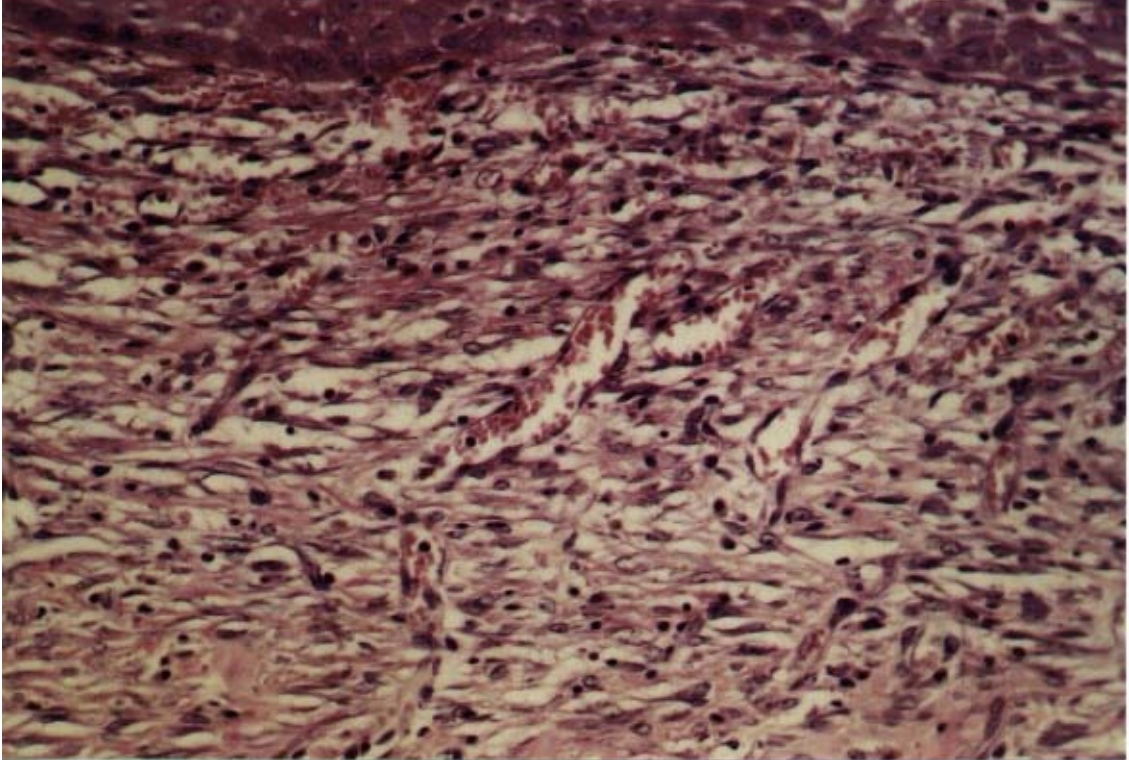


Figura 39 – Grupo III (queimadura+laser). 14 dias. Tecido conjuntivo subjacente com moderado número de fibroblastos e alguns macrófagos e linfócitos. HE. Aumento original 160x.

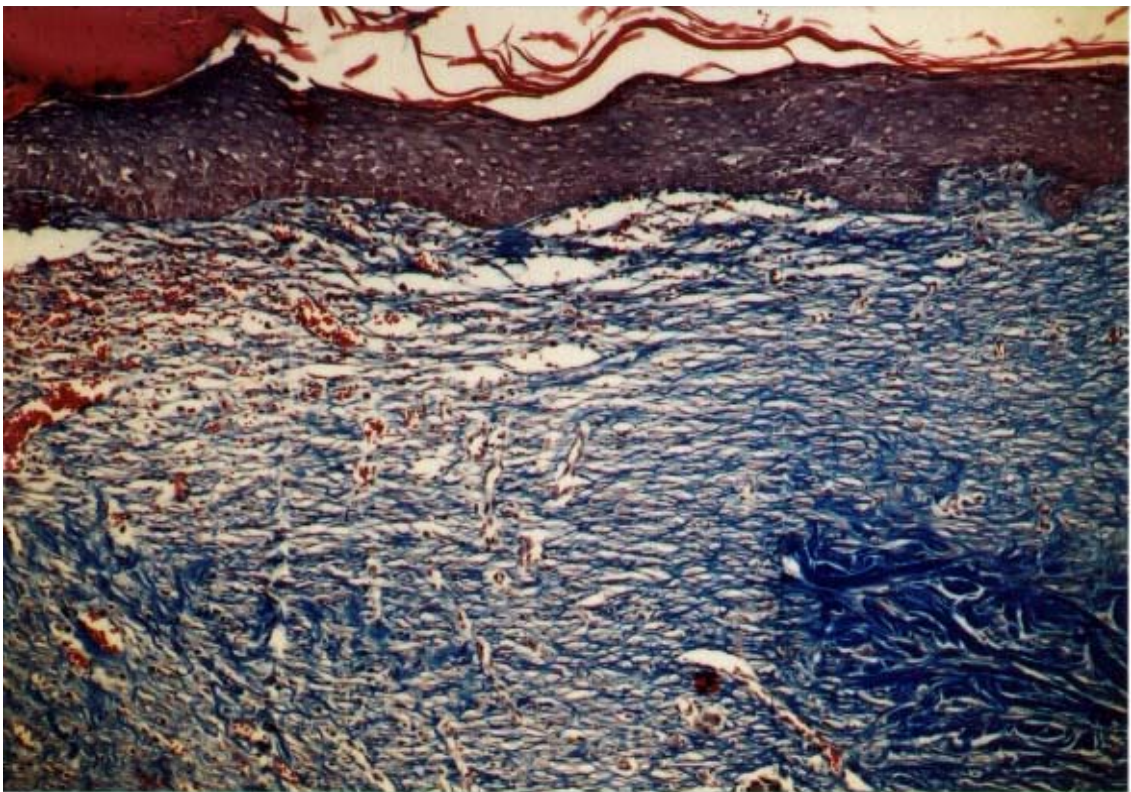


Figura 40 – Grupo III (queimadura+laser). 14 dias. Tecido conjuntivo com numerosos feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

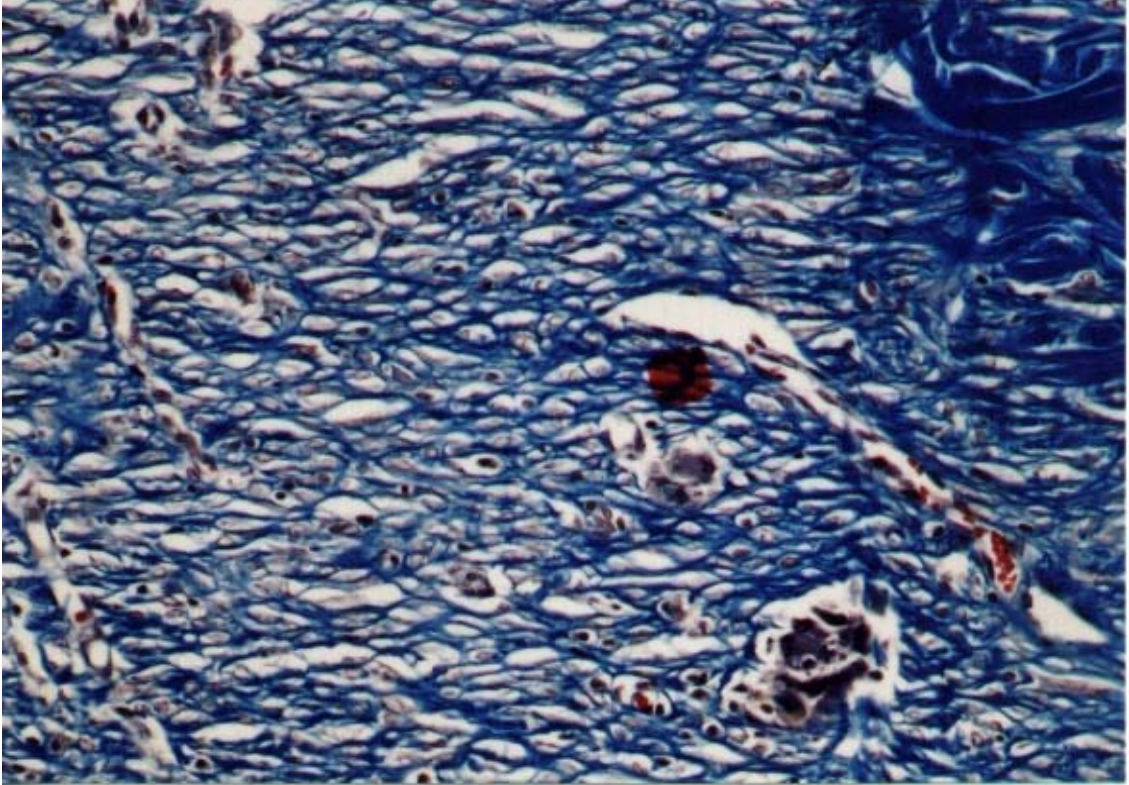


Figura 41 – Grupo III (queimadura+laser). 14 dias. Evidenciando numerosos feixes de fibras colágenas. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

Grupo IV (Queimadura + Droga + Laser). Em todos os espécimes observa-se o epitélio recobrindo a totalidade da ferida cirúrgica (Fig. 42). O tecido conjuntivo subjacente geralmente mostra-se desenvolvido com discreto numero de fibroblastos (Fig. 43). Observa-se também, numerosos feixes de fibras colágenas que se encontram dispostos paralelamente à superfície do epitélio (Fig. 44 e 45).

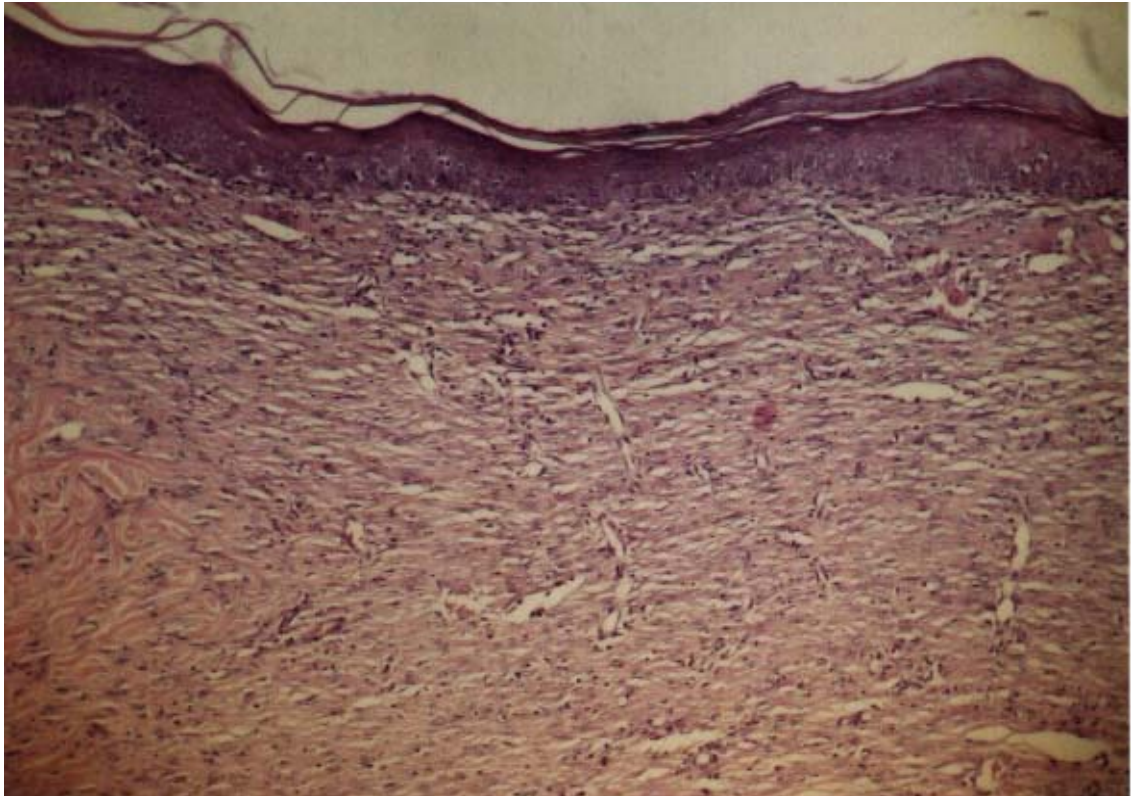


Figura 42 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 14 dias. Epitélio recobrindo a ferida cirúrgica. HE. Aumento original 63x.

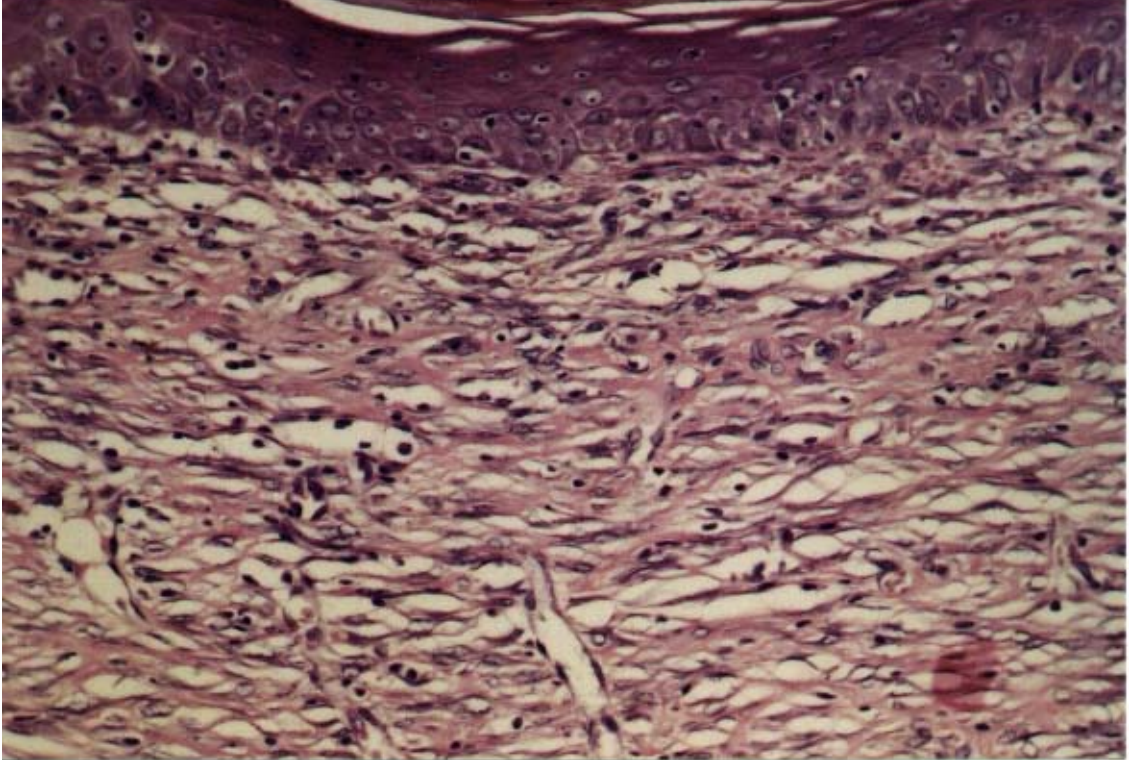


Figura 43 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 14 dias. Tecido conjuntivo subjacente bem desenvolvido com discreto número de fibroblastos. HE. Aumento original 160x.

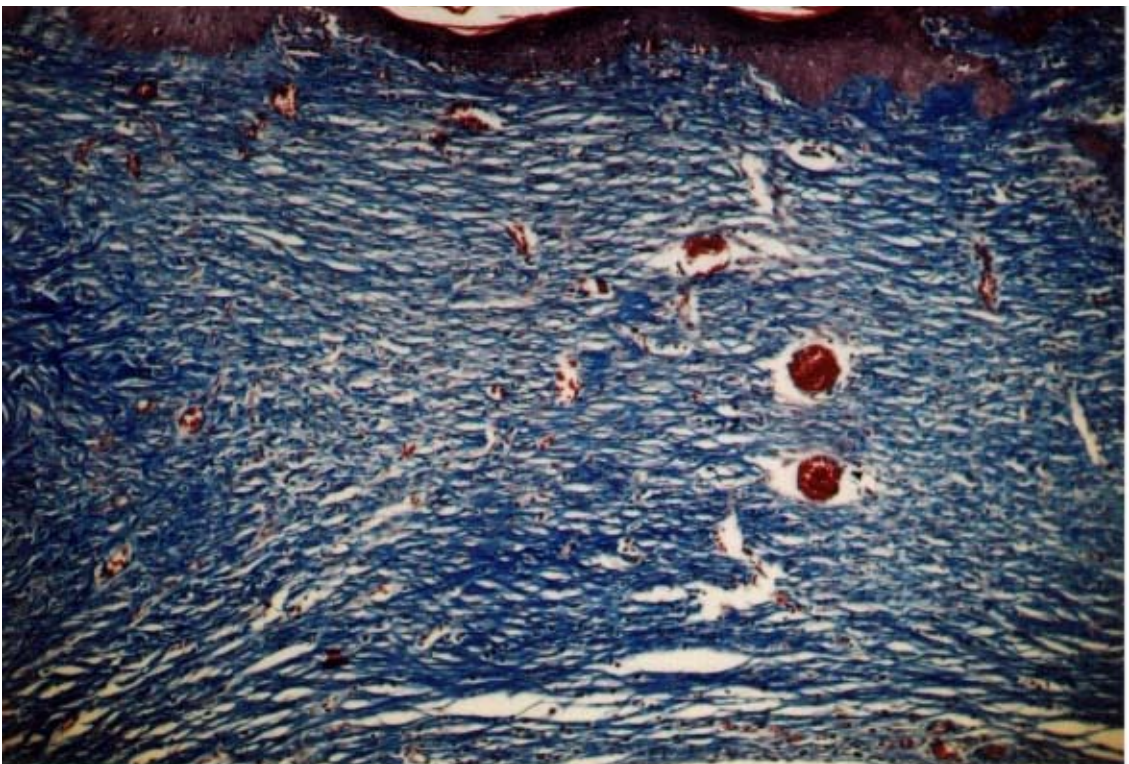


Figura 44 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 14 dias. Tecido conjuntivo subjacente com numerosos feixes de fibras colagens. Tricrômico de Masson. Aumento original 63x.

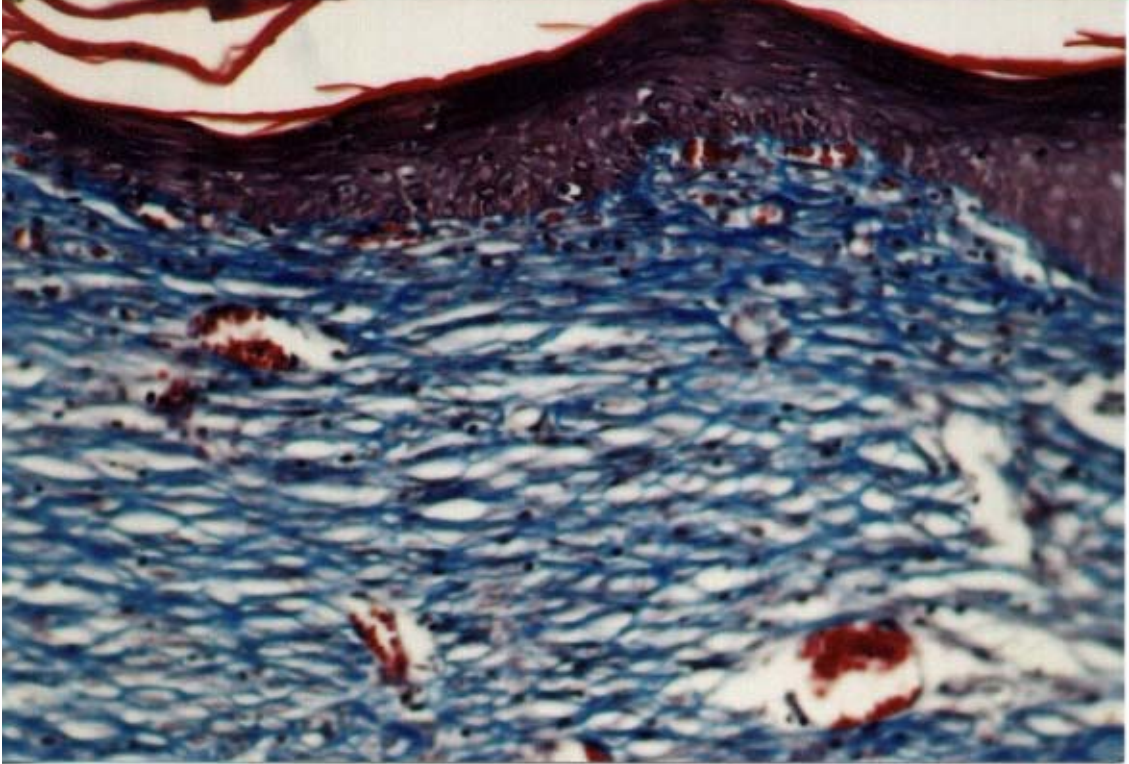


Figura 45 – Grupo IV (queimadura+droga+laser). 14 dias. Evidenciando feixes de fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície do epitélio. Tricrômico de Masson. Aumento original 160x.

6 DISCUSSÃO

Estudos sobre o processo de reparação tecidual com o uso de laser em baixa intensidade, têm despertado nos últimos anos interesse de muitos pesquisadores que utilizaram diferentes condições experimentais, inclusive em feridas retardadas, como ocorre em casos de queimadura (ROCHKIND et al., 1989; SCHLAGER et al., 2000; AL-WATBAN et al., 2004; MENDEZ et al., 2004; RIBEIRO et al., 2004).

Na análise comparativa entre as feridas do grupo II (queimadura), as do grupo III (queimadura + Laser), e as do grupo I (controle), observamos que Laser, nos parâmetros utilizados no presente estudo, possibilitou resposta biológica mais diferenciada do tecido injuriado, promovendo uma diminuição coadjuvante dos efeitos deletérios teciduais provocados pelo calor excessivo aplicado de 80°C.

Tal fato reafirma os resultados relatados na grande quantidade de publicações que atestam a efetividade do Laser em baixa intensidade de potência sobre os eventos da reparação tecidual (GOOLDMAN et al., 1963; MESTER et al., 1969; ESCOLA et al., 1985; DYSON e YOUNG, 1986; GARCIA, 1992; HALL et al., 1994; GARCIA et al., 1995; AL-WATBAN e ZANG, 1996; GARCIA et al., 1996; OLIVEIRA et al., 1997; BISHT et al., 1999; KREISLER et al., 2002; LOCCY JR., 2002; PESSOA et al., 2004; SILVA et al., 2004).

Embora a metodologia utilizada não permita concluir sobre o mecanismo pelo qual tal fato ocorreu, uma vez que tal mecanismo de ação é ainda motivo de controvérsias, não em feridas cutâneas normais ou em queimadura KANA et al. (1981) sugeriram tratar-se de um mecanismo de imunossupressão, porém não há evidências diretas e concretas sobre tal fato (ROCHKIND et al., 1989). Outros pesquisadores apresentam a possibilidade do Laser aumentar a capacidade fagocitária dos leucócitos (MESTER et al., 1985).

Estes resultados são fortalecidos também pelos achados de LOCCY JR. (2002), que observou em feridas cutâneas de ratos que a associação de comprimentos de ondas variados de 685 e 780 nanômetros aplicados nas mesmas, promoveram aceleração do processo cicatricial, quando comparado com feridas que receberam apenas um comprimento de onda (685nm). Tal fato, provavelmente demonstra que as células ao absorverem a luz Laser em um comprimento de onda, suas moléculas ao estarem em seu elevado estágio vibracional podem com o uso de

um outro comprimento de onda sofrerem um impulso de um fóton adicional de energia e conseqüentemente promover aceleração maior dos eventos biológicos.

Por outro lado, os resultados obtidos nas feridas tratadas com Laser emitindo da faixa do visível vermelho de 687nm (Grupo III) contradiz os achados de WEBB et al., (1998) que atestaram que o Laser de diodo, emitindo na faixa do visível vermelho de 660nm de comprimento de onda, com 17 mW, densidade energética de 2,4J/cm² e 4J/cm², mostrou-se inapropriado para o tratamento de feridas provocadas por queimadura, enquanto que corrobora os achados de SILVA et al. (2004) que atestam a efetividade do Laser de diodo de 685nm de comprimento de onda sobre a reparação de feridas cutâneas.

Na análise dos resultados obtidos no presente estudo, observou-se que as feridas do grupo III (queimadura + Laser) e as do grupo IV (queimadura + droga + Laser) provocadas por "PUNCH" aquecido demonstraram processo de reparação mais diferenciado com eventos biológicos mais precoces que as do grupo II, as quais foram realizadas também com "PUNCH" aquecido, porém não foram submetidas a nenhum tratamento local e ou sistêmico. Observou-se ainda que estes eventos biológicos mostraram-se mais favoráveis nas feridas do grupo IV tratado com azul de toluidina-O e Laser, e em todos os períodos experimentais. Tal fato demonstra que o uso de um agente fotossensibilizador contribuiu para a resposta biológica mais diferenciada, corroborando os achados de AL-WATBAN et al. (2004) que observaram resultados satisfatórios com o uso do LED em feridas cutâneas provocadas por queimadura em ratos diabéticos, maior que em ratos não diabéticos. Reafirma também, os resultados de SILVA NETO (2004), os quais demonstraram a efetividade do Laser em baixa intensidade associado ao azul de toluidina-O sobre os eventos da reparação em feridas cutâneas provocadas em ratos diabéticos.

Ressalta-se ainda que tal observação corrobora achados de pesquisas anteriores como a de ESPINOSA (1999) que também observou resultados satisfatórios com a terapia fotodinâmica em reparo de feridas cutâneas, empregando o Laser de diodo 635nm e 904nm associado ao azul de metileno aplicado topicamente nas feridas. Achados mais recentes de LIMA et al., (2004) reafirmam tais resultados, ao observarem em feridas retardadas por queimadura, que o uso tópico de azul de toluidina-O e Laser de Arseneto de Gálio e Alumínio de 685nm, demonstrou processo de reparo mais diferenciado quando comparado com

feridas queimadas não tratadas, e as queimadas e tratadas com Laser isoladamente.

Por outro lado, os resultados evidenciados nas feridas do grupo IV (uso local da droga fotossensibilizadora + Laser) é atestado também por LOPES JR. (2000) em feridas alveolares infectadas (alveolites). Ao observar que o uso de azul de metileno utilizado como irrigação do alvéolo e Laser em baixa intensidade de 904nm, promoveram reparação alveolar mais acelerada e diferenciada que o uso do laser isoladamente. Resultados semelhantes foram obtidos por SILVA et al. (2004) ao irradiarem Laser de diodo 685nm associado a fitalocianina cloro-alumínio, em feridas cutâneas de ratos normais.

Na análise comparativa entre os tempos pós-operatórios, das feridas do grupo IV (queimadura + droga + laser), estas demonstraram processo de reparo muito mais diferenciado e evoluído que os demais grupos e em todos os períodos experimentais, principalmente nos períodos iniciais de 3 e 7 dias, o que corrobora os trabalhos que atestam a maior efetividade do Laser em baixa intensidade sobre os eventos da reparação tecidual, ser maior na fase proliferativa da resposta inflamatória cicatricial (GARCIA, 1992).

Acredita-se que com a metodologia utilizada não foi possível avaliar toda a extensão dos mecanismos envolvidos na reparação tecidual e para isso, torna-se necessário à realização de novas pesquisas com metodologias variadas, capazes de elucidar os intrínsecos mecanismos que envolvem a terapia fotodinâmica e a reparação tecidual.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, permite-se concluir que:

- 1) As feridas do Grupo II mostraram maior atraso no processo de reparo, em todos os períodos analisados, quando comparadas as dos grupos I (controle), III e IV (experimentais).
- 2) As feridas tratadas com laser (grupo III) e as tratadas com solução fotossensibilizadora e laser (grupo IV) evidenciaram processo de reparação mais diferenciados, quando comparadas às feridas do grupo controle (grupo I).
- 3) As feridas do Grupo IV foram as que demonstraram resultados mais diferenciados e evoluídos, quando comparadas com as dos grupos II e III, com resultados evidentes em todos os períodos de observação.
- 4) O Laser de baixa potência associada ao ATO minimizou o efeito térmico do reparo no grupo IV.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar histologicamente o efeito da terapia com LASER de baixa potência (LLLT) associado à droga fotossensibilizadora, no reparo em feridas cutâneas no dorso de ratos provocados por punch aquecido. Noventa e seis ratos foram divididos em 4 grupos: Grupo I (controle) punch a frio; Grupo II (controle positivo) punch aquecido; Grupo III (LLLT) punch aquecido e tratado com LASER; Grupo IV (Azul de Toluidina-O + LLLT) punch aquecido seguido de ATO e LLLT. Nos grupos III e IV, o LASER (685nm – laser GaAlAs) foi aplicado de modo contínuo com 50mw, em 9 pontos durante 10 seg, com um total de 90 seg (4,5 J/cm²) em contato. Os resultados mostraram que o grupo II apresentou um retardo na cicatrização tecidual enquanto que nos grupos tratados com LASER (G:III) e LASER e droga (G:IV) o processo de cicatrização foi diferenciado. O LLLT associado ao ATO promoveu diminuição do infiltrado inflamatório, grande diferenciação epitelial, maior deposição de colágeno e diminuição do tempo de cicatrização das feridas. Conclui-se que o LLLT e terapia fotodinâmica atuam como agentes bioestimuladores coadjuvantes, balanceando os efeitos indesejáveis do processo de cicatrização de feridas.

ABSTRACT

The aim of this study was to histologically assess the effect of low level laser therapy (LLLT) associated with photosensitizing drug on the repair of skin wounds performed on rats dorsum with heat scalpel (HS). Ninety-six rats divided into 4 groups were used: Group 1 (control) – cold scalpel, Group 2 (positive control) – HS; Group 3 (LLLT) – HS followed LLLT; Group 4 (Toluidine-O blue + LLLT) – HS followed Toluidine-O blue and LLLT. In Groups 3 and 4, the laser (685 nm – GaAlAs laser) was applied in continuous mode with 50 mW, in 9 points during 10s, with a total of 90s (4.5 J/cm^2) in contact mode. The results showed that wounds in group 2 presented a delay on the tissue healing while the ones treated with the LLLT or toluidine-O blue and LLLT, the wound tissue healing process was differentiated. The LLLT with toluidine-O blue application promoted more decrease of the inflammatory infiltrated, bigger epithelial differentiation, bigger collagen depositon and decrease of the delay of the wound tissue process. It is concluded the LLLT and photodynamic therapy acted as a biostimulative coadjuvant agents balancing the undesirable effects on the wound tissue healing process.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, R.P. *et al.* **Cell-cell adhesion and extracellular matrix**. In: ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D.; (eds.). *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Publ., 1983. p. 673-715.

AL-WATBAN, F.A.H.; ZHANG, X.Y. **Comparison of the effects of laser therapy on wound healing using different laser wavelengths**. *Laser Therapy*. v. 8, p. 127-135, 1996.

AVERBAKH, M.M. *et al.* **Effect of helium-neon laser on the healing of aseptic experimental wounds**. *Eksp Khir Anaesteziol*. V. 3, p. 56, 1976.

BASFORD, J.R. **Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool**. *Lasers Surg Med.*, v. 16, p. 331-342, 1995.

BAXTER, G.D. *et al.* **Low level laser therapy: current clinical practice in Northern Ireland**. *Physiotherapy*, v. 77, p. 171-178, 1991.

_____. **Therapeutic Lasers: theory and practice**. London: Churchill Livingstone, 1994. p. 89-138.

BISHT, D. *et al.* **Effect of low intensity laser radiation on healing of open skinwounds in rats**. *Indian J. Med Res.*, v. 100, p. 43-46, 1994.

BOURGELAISE, D. B. C. **The physics of lasers**. In: ARNDT, K. A. *Cutaneous laser therapy*. New York: John Wiley & Sons, 1983. p. 13.

BRAVERMAN, B.; MCCARTHY, R.J.; IVANKOVICH, A.D. **Effect of helium neon and infra-red laser irradiation on wound healing in rabbits**. *Lasers in Surg. Med.*, v. 9, p. 50-58, 1989.

BRONNER, H.; FARGEL, H. **Local therapy with aminoacetic acid**. *Munch med. Wschr*, v. 93, p. 602, 1951.

BRUNERA JR., A.; PINHEIRO, A.L.B. **Lasers na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, p. 249-264, 1998

BULLOUGH, W.S.; LAWRENCE, E.B. **Mitotic control by internal secretion: the role of the chalone-adrenalin complex**. *Exp. Cell Res.*, v. 33, p. 176-194, 1964.

BURNS, T.; WILSON, M.; PEARSON, G.J. **Killing of cariogenic bacteria by light from a gallium aluminium arsenide diode laser**. *J. Dent.*, v. 22, p. 273-278, 1994.

CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. **Cicatrização cutânea após aplicação tópica da associação antibióticos-aminoácidos. Estudo clínico e histológico em ratos**. *Ars Cvr. Odont.*, v. 4, p. 27-33, 1977.

CARVALHO, P.S.P.; OLIVEIRA, G.M. **Cicatrização cutânea após aplicação tópica de nebacetin e gingilone em feridas infectadas. Estudo clínico e histológico em ratos.** Rev. Odont. UNESP, v. 19, p. 75-84, 1990.

CHANG, C.J. et al. **In vitro and vivo photosensitizing capabilities of 5-ALA versus Photofrin in vascular endothelial cells.** Lasers Surg and Med., v. 24, p. 178-186, 1999.

CLARK, R.A.F. **Biology of dermal wound repair dermatological clinics.** J. Invest Dermatol, v. 11, n. 4, p. 647-661, Oct. 1993.

COLLS, J. **La terapia laser atual** Barcelona: Centro de Documentación Laser de Meditec, 1984.

CONLAN, M.J.; RAPLEY, J.W.; COBB, C.M. **Biostimulation of wound healing by low energy laser irradiation: A review** J. Clin Periodontol., v. 23, p. 492-496, 1996.

DEVOR, M. **What's in a laser beam for pain therapy?** Pain. v. 43, p. 139, 1990.

DOBSON, J.; WILSON, M. **Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser.** Archs oral Biol. v. 37, n. 11, p. 883-887, 1992.

EBERGEL, R.P.; et al. **Biostimulation of wound healing by laser; experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures.** J. dermat. surg oncol., v.13, p. 127-133, 1987

ESPINOSA, C.R. **Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com laser ou com solução fotossensibilizadora associada ao laser de bioestimulação: estudo histológico em ratos.** 1999, 96 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas) – Faculdade de Ciências Odontológicas da Universidade de Marília.

FINE, S. et al. **In vivo effects of laser radiation on the skin of the Syrian hamster.** J. invest. Derm., v. 40, p. 123-124, 1963.

FONTANA, C. **Fisiologia da cicatrização de feridas.** Cicatrização v. 1, n. 1, p. 3-22, 1996.

FULLER, A. T. Fundamentals of lasers in surgery and medicine. In: DIXON, J. A. (Ed). Surgical applications of lasers. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1983. p.11.

GABBIANI, G. et al. **Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function.** J. exp. Med., v. 135, p. 719-734, 1972.

GABBIANI, G. **The role of contractile proteins in wound healing and fibrocontractive diseases.** Meth. Achiev. Exp. Path., v. 9, p. 187-206, 1979.

GABBIANI, G.; MONTANDON, D. **Reparative process in mammalian wound healing. The role of contractile phenomena.** Int. Rev. Cytol., v. 48, p. 187-219, 1977

GABBIANI, G.; RYAN, G.B.; MAJNO, G. **Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction.** *Experientia* (Basel), v. 27, p. 549-551, 1971.

GARCIA, V.G.; KINA, J.R.; MILANEZI, L.A. **Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com Raio Laser. Estudo clínico em ratos.** *Rev. Fac. Odontol. Lins*, v. 8, n. 1, p. 9-15, 1995.

GARCIA, V.G.; OKAMOTO, T.; KINA, J.R. **Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com Raio Laser. Estudo histológico em ratos.** *Rev. Odontol. UNESP, SP*, v. 25, n. 1, p. 37-48, 1996.

GARCIA, V.G.; TEODORO, L.H.; OKAMOTO, T. **Reparação de feridas de extração dental submetidas ao tratamento com solução fotossensibilizadora associada ou não ao laser de bioestimulação. Estudo histológico em ratos.** 1998 (prelo).

GOLDMAN, L. **Effect of the laser beam on the skin.** *J. Invest. Derm.*, v. 40, p. 121, 1963.

_____. **Laser action at the cellular level.** *J. Am. Med. Ass.*, v. 198, p. 641-644, 1966.

GREGUS, P. **Low-level laser therapy – reality or myth.** *Optics Laser Tech.*, v. 16, p. 81-85, 1984.

HAJINA, D.; BRUNNER, R.; LANDTHALER, M. **Animal experiments in light induced wound healing.** *Laser in Basic Biom. Res.*, v. 22, p. 1, 1981.

HALL, G. ET AL. **Effect of low level energy laser irradiation on wound healing. An experimental study in rats.** *Swed Dent J.*, v. 18, p. 29-34, 1994.

JONGSMA, F.H.M.; BOGAARD, A.E.J.M.; GEMERT, M.J.C. **Is closure of open skin wounds in rats accelerated by argon laser exposures?** *Lasers Surg. Med.*, v. 3, p. 75, 1983.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

KAMEYA, T. *Et al.* **Effect of different wavelengths of low level laser therapy on wound healing in mice.** *Laser Therapy*, v. 7, p. 33-36, 1995.

KANA, J.S. *et al.* **Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats.** *Arch. Surg.*, v. 116, p. 293, 1981.

KAPANY, N.S., PEPPERS, N.A., ZWEMY, H.C., FLOCKS, M. **Retinal photocoagulation by laser.** *Nature*, v.199, p.146, 1963.

KOLÓROVÁ, H.; DITRICHOVÁ, D.; WAGNER, J. **Penetration of the laser light into the skin in vitro.** *Lasers Surg. And Med.*, v. 24, p. 231-235, 1999.

KUMAR, Robbins. **Patologia Estrutural e Funcional** 2 ed. Cotran, 2000.

LEE, P.; KIN, K.; KIM, K. **Effects of low incident energy levels of infrared laser radiation on healing of infected open skin wounds in rats.** Laser Therapy, v. 5, p. 59-64, 1993.

LIPPER, S.; KAHN, L.B.; REDDICK, R.L. **The myofibroblast.** Path. Ann., v. 15, p. 409-449, 1980.

LOWE, A.S. *et al.* **Effect of low intensity monochromatic light therapy (890nm) on a radiation-impaired wound-healing model in murine skin.** Lasers in Surg and Med., v. 23, p. 291-298, 1998.

LYONS, R.F. *et al.* **Biostimulation of wound healing in vivo by a Helium-Neon Laser.** Ann. plast. Surg., v. 18, n. 1, p. 47-50, 1987.

MAGRO-FILHO, O. **Reparação de alvéolo dental e de ferida cutânea após irrigação com solução de própolis. Estudo histológico em ratos.** Araçatuba: UNESP, 1988. Dissertação/ Mestrado/ Faculdade de Odontologia, 1988.

MAIMAN, T.H. **Stimulated optical radiation in ruby.** Nature, v. 187, p. 493-494, 1960.

MAJNO, G; JORIS, I. **Cells, tissues and disease. Principles of general pathology.** EUA: Blackwell Science, p. 465-482, 1996.

MASHBERG, A. **Reevaluation of Toluidine Blue Applications as a Diagnostic Adjunct in the Detection of Asymptomatic Oral Squamous Carcinoma: A Continuing Prospective Study of Oral Cancer III.** Cancer. Philadelphia, 46 (4): 758-763, Aug.1980

MASHIKO, S.; SHIMAMOTO, M.; INABA, H. **Effect of near infra-red light irradiation on wound healing using high power light emitting diodes.** J. Japan Soc. Laser Med., v. 4, p. 187-192, 1983.

MATERA, J.M. *et al.* **Efeitos da radiação soft-laser (diodo) sobre o processo de cicatrização cutânea em felinos.** Braz. J. vet. res., v. 31, n. 1, p. 43-48, 1994.

McCAUGHAN, J.S.; BETHEL, B.K.H.; JOHNSTON, T. **Effect of low-dose argon irradiation on rate of wound closure.** Lasers in Surg Med., v. 5, p. 607-617, 1985.

McKNNEY, P.; CUNNINGHAM, B.L. **Wound healing.** Handbook of plastic surgery, 1989. p. 55-70.

MESTER, E. *et al.* **Effect of Laser rays on wound healing.** Am. J. Surg., v. 122, p. 532-535, 1971.

_____. **The stimulating effect of low power laser rays on biological systems.** Laser Rev., v. 1, p. 3, 1968.

_____. **Laser stimulation of wound healing.** Acta Chir. Acad. Sci. Hung., v. 17, p. 49, 1976.

MESTER, E. **Stimulation of wound healing by means of laser rays III – Investigation of the effect on immune competent cells.** Acta Chir. Acad. Sci. Hung., v. 19, p. 163-170, 1978.

_____. **Experimentation on the interaction between infrared laser and wound healing.** Exper Chirurg, v.2, p.94, 1969.

_____. **Stimulation of wound healing by means of laser rays. Clinical and electron microscopical study.** Acta Chir. Acad. Sci. Hung., v. 14, p. 347-354, 1973.

MESTER, E.; JASZSAGI-NAGI, E. **The effect of laser radiation on wound healing and collagen biosynthesis.** Stud. Biophys., v. 35, p. 227-230, 1973.

MESTER, E.; MESTER, A.F.; MESTER, A. **The biomedical effects of laser application.** Lasers Surg. Med., v. 5, p. 31-39, 1985.

MISERENDINO, A. L.J.; PICK, R.M. **Laser in Dentistry.** Chicago. Quintessence. 1995. p. 247.

MONTANDON, D.; D'ANDIRAN, G.; GABBIANI, G. **The mechanism of wound contraction and epithelialisation.** Clin. Plast. Surg., v. 4, p. 325-346, 1977.

NEUNHOEFER, O. **Influence of glycol on wound healing.** Dtsch Gesund – was, v. 2, p. 311, 1947.

NIEBEL, H. H. et al **In Vivo Staining Test for delineation of Oral Intraepithelial Neoplastic Change: Preliminary Report.** Journal of the American Dental Association. Chicago, 68: 801-806, Jun. 1964.

OLIVEIRA, J.A.G.P. *et al.* **Ação da irradiação laser (Arsênico-Gálio) sobre a cronologia do processo de reparo em feridas cutâneas. Estudo histológico em ratos.** ROBRAC, v. 6, n. 21, p. 28-31, 1997.

PARRICH, J.A. **Laser photomedicine: Selective laser-tissue interaction.** In: DIXON, J.A. Surgical Application of Lasers. 2nd. Ed. Chicago. Year Book Medical Pubs., 1987.

PEACOCK, E.E.; VAN WINKLE, W. **Wound repairs.** Philadelphia: W.B. Saunders, 1976.

POLLACK, S.V. **Wound healing: A review I – The biology of wound healing.** J. DERMAT. SURG. ONCOL., V. 5, N. 5, P. 389-393, 1979.

RAFAEL, A. **Emprego tópico dos antibióticos em dermatologia.** In: LACAZ, C.A. Antibióticos. São Paulo: Editorial Prociencx, 1965.

RICHART, R.M. **A clinical Staining Test for the in Vivo Delineation of Dysplasia and Carcinoma in situ.** American Journal of Obstetrics and Gynecology. St. Louis, 86(6), p. 703-712, jul., 1963.

RICHART, R.M. **A Clinical Staining Test for the in Vivo Delineation of Dysplasia and Carcinoma in situ.** American Journal of Obstetrics and Gynecology. St. Louis, 86 (6): 703-712, Jul. 1963.

RIVERA, L.C. **Curso básico de laserterapia**. Espanha: Instituto de Investigaciones Laser (Fundação UEDA-SPACE), 1985.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. **Pathologic basis of diseases**. 3rd. Philadelphia: W.B. Saunders, 1984. p. 40-84.

ROCHA, W. C. et al. **Uso do azul de Toluidina como Método Auxiliar Na Detecção de Displasias Epiteliais e Carcinomas da Mucosa Bucal**. Revista Odonto Ciência. Porto Alegre, 21: 27-48, 1996.

ROCHA, W. C. et al. **Uso do Azul de Toluidina como Método Auxiliar Na Detecção de Displasias Epiteliais e Carcinomas da Mucosa Bucal**. Revista Odonto Ciência. Porto Alegre, 21: 27-48, 1996.

ROSS, R. **The fibroblast and wound repair**. Biol. Rev., v. 43, p. 51-96, 1968.

RUDOLPH, R.; GUBER, T.; SUZUKI, M.; WOODWARD, M. **The life cycle of the myofibroblast**. Surg. Gynecol. Obstet., n. 145, p. 389-194, 1977.

RUNGGRE-BRANDLE, E.; GABBIANI, G. **The role of cytoskeletal and cytocontractile elements in pathologic processes**. Am. J. Path., v. 110, p. 361-392, 1983.

RYAN, G.B.; MAJNO, G. **Acute inflammation: A review**. Am. J. Path., v. 86, p. 185-276, 1977

SILVERMAN, JR. **Toluidine Blue Staining in the Detection of Oral Precancerous and Malignant Lesions**. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. St. Louis, 57 (4):379-382, Apr. 1984.

SOARES, J.H. **Aspectos morfológicos e histométricos da reparação tecidual das feridas cutâneas de ratos após irradiação com o laser de hélio-neônio**. Acta. Cir. Bras., v. 4, n. 2, p. 56-60, 1989.

STOCKHAUSEN, G.; FELBIER, R. **Local treatment of external lesion with aminoacids and antibiotics**. Medschr. Mschr. Ltuttg., v. 26, p. 225, 1972.

STRANG, R.; MOSELEY, H.; CARMICHAEL, A. **Soft-lasers – have they a place in dentistry?** Brit. Dent. J., v. 24, p. 221-225, 1988.

SURINCHAK, J.S. et al. **Effects of low-level energy lasers on the healing of full-thickness skin defects**. Laser Surg. Med., v. 2, p. 267-274, 1983.

VILJANTO, J. **Biochemical basis of tensile strength in wound healing. An experimental study with viscose cellulose sponges on rats**. Acta Chir. Scand., v. 333, p. 1-101, 1964.

WILSON, M. **Bactericidal effect of laser light and its potential use in the treatment of plaque-related diseases**. Int Dent J., v. 44, p. 181-189, 1994.

WILSON, M. et al. **Bacteria in supragingival plaque samples can be killed by low-power laser light in the presence of a photosensitizer.** J. App Bacteriol., v. 78, p. 569-574, 1995.

WILSON, M.; DOBSON, J.; HARVEY, W. **Sensitization of periodontal pathogenic bacteria to killing from a low-power laser.** Oral Microbiol Immunol., v. 8, p. 182-187, 1993.

YOUNG, S.R. et al. **Macrophage responsiveness to a light therapy.** Lasers Surg Med. v. 9, p. 497-505, 1988.

ZARET, M.M.; RIPPS, H.; SIEGEL, I.M. BREININ, G.M. **Laser photocoagulation of eye.** Arch. Ophth., v. 69, p. 97, 1963.

ZARKOVIC, N. et al. **The effect of gallium arsenide laser irradiation and partial hepatectomy on murine skin wound healing and lipoprotein composition.** Periodicum Biologorum. v. 93, p. 359-361, 1991.

ZARKOVIC, N. et al. **The effect of gallium arsenide laser irradiation and partial hepatectomy on murine skin wound healing and lipoprotein composition.** Periodicum Biologorum. v. 93, p. 359-361, 1991.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)