

**UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA**  
**INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO**

Fabiano Lopes Chiesa

**EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA POTÊNCIA**  
**SOBRE A FASE INICIAL DO PROCESSO DE**  
**CICATRIZAÇÃO TENDINOSA EM RATOS**

São José dos Campos  
2006

**Fabiano Lopes Chiesa**

**EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA  
POTÊNCIA SOBRE A FASE INICIAL DO PROCESSO DE  
CICATRIZAÇÃO TENDINOSA EM RATOS**

**EFFECTS OF THE LOW POWER LASER RADIATION ON  
THE EARLY STAGES OF THE TENDON CICATRIZATION  
PROCESS IN RATS**

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Pesquisa e Desenvolvimento no  
Programa de Pós-Graduação em  
Bioengenharia da  
Universidade do Vale do Paraíba, como  
requisito parcial para obtenção do título  
de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Professor Doutor Egberto  
Munin.

São José dos Campos  
2006

C463e

Chiesa, Fabiano Lopes

Efeitos da radiação laser de baixa intensidade sobre a fase inicial do processo de cicatrização tendinosa em ratos/ Fabiano Lopes Chiesa. São José dos Campos: UNIVAP, 2006.

f.: il.; 30 cm.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2005.

1. Laser de baixa intensidade 2. Cicatrização 3. I. Munin. Egberto, Orient. II. Título

CDU:616-005.9

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiador ou transmissão eletrônica.

Assinatura do aluno:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Chiesa', is written over a horizontal line. The signature is enclosed within a hand-drawn oval.

São José dos Campos, 01 de março de 2006.

**“EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE A FASE INICIAL DO  
PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TENDINOSA EM RATOS”**

Fabiano Lopes Chiesa

Banca Examinadora:

Prof. Dr. **LUIS VICENTE FRANCO OLIVEIRA** (UNIVAP) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. **EGBERTO MUNIN** (UNIVAP) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. **JOSÉ BENEDICTO DE MELLO** (UNITAU) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco

Diretor do IP&D

Universidade do Vale do Paraíba

São José dos Campos, SP.

## **AGRADECIMENTOS**

Meus primeiros agradecimentos vão para minha família, em especial à minha esposa SAIONARA e minha filha MARIA CLARA que entenderam os finais de semanas abdicados por mim para realizar esse projeto e pelo incentivo constante.

Ao querido amigo e orientador Prof<sup>o</sup> Dr. Egberto Munin, pela honra concedida ao aceitar a minha tutela e principalmente pela paciência, confiança e coragem de conduzir esse trabalho.

Aos meus colegas GAÚCHOS de jornada, pelo incentivo e motivação nas horas difíceis, convívio sadio no transcorrer desses dois anos e principalmente pelos milhares de quilômetros rodados entre o Sul – São Paulo.

Ao Dra. Carla Antoniazzi e o Prof<sup>o</sup> Sérgio Porto do Biotério da Universidade de Passo Fundo – UPF pelo auxílio e presteza em toda a experimentação.

Ao patologista Dr. Osmar Damasceno Ribeiro pelo brilhantismo no preparo das lâminas e análise histopatológica.

A farmacêutica Fabiana Falkembach pelos ensinamentos na coleta do sangue e análise dos hemogramas

Ao Eng. Leandro Procópio do Laboratório de laser de alta potência do Instituto de  
Pesquisa e Desenvolvimento da UNIVAP  
pelo auxílio nos cálculos e dúvidas físicas.

Ao Coordenador do Curso de Fisioterapia a UPF pelo fornecimento e apoio do  
material envolvido na pesquisa, além do incentivo acadêmico.

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu pai NEDIR CHIESA

*(in memorian)*

Esta dissertação é dedicada ao senhor.

Nos deixou cedo, mas ensinou-me valor importante da vida de um homem, como a honestidade, fidelidade e amor.

Sei que muitos momentos de reflexão o senhor estava presente mostrando o norte da estrada.

Se os desafios foram vencidos é porque sempre contei com o teu olhar e tua retaguarda.

## RESUMO

### EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA INTENSIDADE SOBRE A FASE INICIAL DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TENDINOSA EM RATOS

A laserterapia de baixa intensidade vem sendo empregada para diminuir o processo inflamatório e promover uma aceleração na cicatrização de diferentes tecidos lesionados. Visando verificar os efeitos da radiação laser sobre a fase inicial do processo de cicatrização tendinosa de lesões parciais induzidas cirurgicamente, vinte ratos machos da raça wistar clinicamente sadios provenientes do Biotério da Universidade de Passo Fundo foram aleatoriamente divididos em dois grupos e subdivididos em 2 subgrupos contendo cinco ratos cada. Todos os animais foram submetidos a uma lesão parcial no corpo do tendão de aquiles esquerdo de dois milímetros com sutura imediata da pele e início do tratamento estabelecido. Pelo período de sete dias, as lesões tendinosas do grupo I foram submetidas a uma aplicação diária do laser fosfeto de índio e gálio com comprimento de onda de 658,4 nm na faixa do vermelho visível no modo pontual com dose de 4 joules com a caneta em contato direto com a pele do animal. A avaliação microscópica foi feita mediante acompanhamento histopatológico após biópsia tecidual efetuada em todas as lesões tendíneas ao término do 3º e 7º dias. O tecido removido foi fixado, preparado e corado com Hematoxilina-Eosina e Tricômico Masson para observar as células inflamatórias, fibroblastos, deposição de colágeno e neovascularização. Através dos resultados obtidos pode-se concluir que o laser de baixa intensidade é um método eficiente e altamente significativo no tratamento de lesões parciais tendíneas induzidas em ratos na fase inicial quando comparados com o grupo controle, por diminuir o processo inflamatório e incrementar a produção de fibroblastos, deposição de colágeno e formação de novos vasos no sítio da lesão.

*Palavras-chaves:* Laser, cicatrização, tendão.



## **ABSTRACT**

### **EFFECTS OF THE LASER RADIATION ON THE LOW INTENSITY IN THE INITIAL PHASE OF THE PROCESS OF TENDON HEALING IN RATS**

The laser therapy with low intensity has been used to reduce the inflammatory process and to promote acceleration in the healing of different damaged tissues. Seeking to check the effects of the laser radiation in the initial phase of the process of tendon healing of partial lesions induced surgically, twenty male rats of the wistar race clinically healthy coming from Bioterio of the University of Passo Fundo they were divided into two groups and subdivided into two subgroups with five rats in each one. All the animals suffered partial lesion in the body of the left Achilles tendon of 0,2 cm with immediate suture of the skin and beginning of the established treatment. During the period of seven days, the group one's tendon lesions were submitted to a daily application of the InGaP laser with wavelength of 658,4 nm in the band of visible red in the punctual method with dose of 4 joules with the pen in direct contact with animal's skin. The microscopic assessment was made with histopatologic accompaniment after tissue biopsy made in all tendon lesions at the end of the 3<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days. The removed tissue was fastened, prepared and flushed with H&E and Masson to observe the inflammatory cells, fibroblasts, collagen deposition and new vascularization. Through the obtained results it can be concluded that the laser with low intensity is an efficient method and highly significant in the treatment of partial tendon lesions induced in rats in the initial phase when it's compared with the control group, by reducing the inflammatory process and increasing the fibroblasts production, collagen deposition and formation of new vases in the sites of the lesion.

Word-key: Laser, healing, tendon.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Aparelho laser InGaP modelo Phyolux dual da marca Bioset utilizado na pesquisa .....	43
Figura 02:	Procedimento anestésico realizado nos animais da pesquisa .....	47
Figura 03:	Procedimento de tricotomia na coxa esquerda dos animais da pesquisa .....	47
Figura 04:	Procedimentos de assepsia na coxa esquerda de ambos os grupos da pesquisa .....	47
Figura 05:	Aspectos da lesão experimental induzida cirurgicamente na coxa esquerda dos animais envolvidos na pesquisa .....	48
Figura 06:	Demonstração da aplicação do laser no grupo I da pesquisa .....	49
Figura 07:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 3º dia de experimento corado por HE (10x) .....	53
Figura 08:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 3º dia de experimento corado por HE (10x) .....	54
Figura 09:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 3º dia de experimento corado por Masson (10x) .....	55
Figura 10:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 3º dia de experimento corado por Masson (10x) .....	56
Figura 11:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 7º dia de experimento corado por HE (10x) .....	58
Figura 12:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 7º dia de experimento corado por HE (10x) .....	59
Figura 13:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 7º dia de	

	experimento corado por Masson (10x) .....	60
Figura 14:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 7º dia de	
	experimento corado por Masson (10x) .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Desenho experimental .....	42
Tabela 2:	Significância das células inflamatórias no grupo laser versus controle na análise microscopia do 3° dia .....	57
Tabela 3:	Significância dos fibroblastos no grupo laser versus controle na análise microscopia do 3° dia .....	57
Tabela 4:	Significância das células inflamatórias no grupo laser versus controle na análise microscopia do 7° dia .....	62
Tabela 5:	Significância das fibroblastos no grupo laser versus controle na análise microscopia do 7° dia .....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP (Adenosina trifosfato)  
CD (Compact disc)  
cm<sup>2</sup> (centímetros quadrados)  
EPI (equipamento de proteção individual)  
gr (gramas)  
GaAs (Arseneto de gálio)  
GaAsAl (Arseneto de gálio alumínio)  
He-Ne (Hélio-neon)  
Hz (Hertz)  
HE (Hematoxilina-eosina)  
IP&D (Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento)  
InGaP (fosfeto de índio e gálio)  
mW (miliwatts)  
mm (milímetros)  
mg/Kg (miligramas por quilos)  
mW/cm<sup>2</sup> (miliwatts por centímetro quadrado)  
nm (nanômetros)  
UPF (Universidade de Passo Fundo)  
VO (Via oral)

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	16
1.1 Justificativa .....	18
1.2 Problema .....	19
1.3 Objetivos .....	19
1.3.1 Objetivo geral .....	19
1.3.2 Objetivos específicos .....	20
1.4 Delimitação .....	20
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	21
2.1 Tecido tendinoso .....	21
2.2 Bases fisiológicas da cicatrização tendinosa .....	23
2.3 Laser de baixa intensidade .....	26
2.4 Efeitos da radiação laser na cicatrização tendinosa .....	34
3 METODOLOGIA .....	41
3.1 Caracterização da pesquisa .....	41
3.2 Amostra .....	41
3.3 Descrição do desenho experimental .....	42
3.4 Tratamento das variáveis operacionais .....	42
3.4.1 Variável dependente .....	42
3.4.2 Variável independente .....	43
3.5 Instrumentos e equipamentos .....	43
3.6 Procedimentos .....	44
3.6.1 Medidas antecedentes aos procedimentos .....	46
3.6.2 Medidas pré-operatórias e procedimentos anestésicos .....	46

3.6.3	Preparação das lesões tendinosas .....	48
3.6.4	Procedimentos realizados no grupo I (laserterapia) .....	48
3.6.5	Procedimentos realizados no grupo II (controle) .....	49
3.6.6	Eutanásia e obtenção dos tecidos .....	49
3.6.7	Preparação das lâminas .....	49
3.6.8	Análise histopatológica .....	50
3.6.9	Análise estatística .....	51
4	RESULTADOS .....	52
4.1	Achados microscópicos das lesões tendinosas no 3° dia .....	53
4.2	Achados microscópicos das lesões tendinosas no 7° dia .....	57
5	DISCUSSÃO .....	63
6	CONCLUSÕES .....	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	69
	ANEXOS .....	79
	Anexo A (Protocolo de irradiação) .....	80
	Anexo B (Escores brutos) .....	81
	Anexo C (Tratamento estatístico) .....	82
	Anexo D (Parecer do comitê de ética) .....	86
	Anexo E (Laudo dos resultados pelo patologista) .....	87
	Anexo F (Laudo dos hemogramas pela farmacêutica) .....	88
	Anexo G (Tabela de pesos e dosagens de medicamentos de cada animal) .....	89
	Anexo H (Laudo de aferição do laser utilizado na pesquisa) .....	90

## INTRODUÇÃO

De acordo com Whiting & Zerniche (2001), as lesões tendinosas de origem traumática ou atraumática ocorrem com frequência na prática das medicinas humanas, e representam sem sombra de dúvidas o dia a dia de profissionais das áreas da área de saúde com especialidades em ortopedia e traumatologia, assim como na fisioterapia. Normalmente o processo cicatricial da lesão tendinosa desenvolve-se num período que pode variar de meses dependendo do local, da extensão, da gravidade e de fatores locais que podem interferir ou impedir a cicatrização.

Tendo em vista o fenômeno de cicatrização tendinosa, tem-se procurado além de remover os fatores que retardam o processo cicatricial, acelerar biologicamente seu restabelecimento funcional, diminuindo assim o tempo de inatividade, de medicações e promovendo um retorno mais breve as suas atividades laborativas. Os tendões são as estruturas responsáveis pela transferência de forças exercidas pelos músculos para os ossos, proporcionando o elo essencial no sistema musculoesquelético para que haja movimentação articular.

O tecido tendinoso é formado por feixes de fibras colágenas unidas por tecido conjuntivo tendo origem mesodérmica e sua estrutura divide-se em três partes, o corpo do tendão, a junção osteotendinosa e a junção miotendinosa, ligando os músculos aos ossos nas suas extremidades, origem e inserção. A cicatrização do tendão é um processo complexo e necessita de atividades celulares que visam restaurar a integridade do tecido lesado, ocorrendo assim, uma migração de células de origem do tecido vascular e conjuntivo até o local da lesão (KITCHEN & BAZIN, 1998).

Laser é o acrônimo de *Light amplication by stimulated emission of radiation* sendo uma forma de radiação não-ionizante, que em contato com os diferentes tecidos



biológicos, resulta de acordo com o tipo de laser, em efeitos fototérmicos, fotomecânicos, fotoelétricos e fotoquímicos (BRUGNERA & PINHEIRO, 1998; KITCHEN, 2003).

Suas principais indicações são todos os quadros patológicos onde se deseja acelerar o reparo de tecidos moles como, músculos, tendões e nervos e de tecidos duros como ossos e articulações (TRELLES & MAYAYO, 1987), além de mediar processos inflamatórios e quadros dolorosos (HILL & WALKER, 1993).

Atualmente existem vários tipos de lasers classificados de acordo com a sua atividade ou meio ativo (GENOVESE, 2000), onde encontramos os diodos semicondutores infravermelhos, como, por exemplo, o arseneto de gálio (GaAs) com comprimentos de onda que variam de 820 a 904 nm, tornando-se atualmente uma ferramenta satisfatória para obtenção de resultados nas pesquisas de cicatrização de tecidos moles (BASFORD, 1995). Outros diodos utilizados nas pesquisas experimentais em animais são os na faixa do vermelho do espectro visível como o fosfeto de índio e gálio (InGaP) com comprimento de onda de 670 nanômetros.

Os lasers de baixa intensidade visam ações terapêuticas e estão sendo usados por muitos profissionais da saúde, tais como médicos, odontólogos e fisioterapeutas (ALMEIDA-LOPES, 1999). Suas principais indicações são quase todos os quadros patológicos onde se deseja melhorar a qualidade e maior rapidez do processo reparacional (BRUGNERA & PINHEIRO, 1998). De acordo com Trelles & Mayayo (1987) tem-se atribuído ao laser a aceleração no reparo de tecidos moles, ósseos e nervosos. Do ponto de vista clínico, porém, as mais interessantes observações dos efeitos da radiação de baixa intensidade estão relacionadas com a estimulação e aceleração das cicatrizações de lesões (RIBARI, 1981; ANNEROTH et al, 1988).

Embora essa terapia já esteja implantada na maioria dos países, pesquisas pouco controladas e problemas encontrados na interpretação dos resultados, tais como o uso de diferentes tipos de lasers, tempo de exposição, quantidade de energia e tipo de tecidos estudados, reforçam a necessidade de estudos que permitam seu conhecimento e sua divulgação. Fato este que gera ainda incertezas quanto as suas reais ações e outras atribuições pertinentes à radiação laser, que é incorporada nas práticas fisioterapêuticas ainda com pouca comprovação científica e experimental.

Este trabalho procura avaliar a ação do laser fosfeto de índio e gálio (InGaP) com comprimento de onda de 658,4 nanômetros (nm) na cicatrização tendinosa após execução de lesões induzidas no tendão de Aquiles esquerdo de ratos, utilizando-se dos achados histopatológicos.

### **1.1 Justificativa**

Estudos recentes têm demonstrado que há resultados paradoxos no que diz respeito à cicatrização e regeneração de lesões de tecidos moles, como no tendão, por exemplo, pela laserterapia de baixa intensidade, podendo estes resultados estarem ligados diretamente à densidade de potência e o tempo de exposição empregada nas pesquisas de vários autores. A utilização dos lasers de baixa intensidade do tipo de arseneto de gálio (GaAs), hélio-neônio (He-Ne) e fosfeto de índio e gálio (InGaP) nas práticas de profissionais da saúde, principalmente dos fisioterapeutas, vem crescendo na mesma proporção que as pesquisas científicas, pois tem-se atribuído a este recurso uma diminuição dos processos inflamatórios, aumento na proliferação dos fibroblastos, estimulando assim a produção de colágeno e formação de uma nova rede vascular (ABERGEL et al, 1987).

As lesões tendíneas causadas por traumas diretos ou indiretos geralmente reparam-se num período que pode variar de meses, dependendo do local, sua extensão e gravidade. Em contrapartida, se a cicatrização puder ser acelerada com a aplicação do laser de baixa intensidade (InGaP) poder-se-á minimizar os efeitos deletérios temporários decorrentes desse processo, maximizando a cicatriz, além de favorecer o aparecimento de fatores locais que aceleram a cicatrização tecidual, devolvendo mais rapidamente às suas atividades diárias e laborativas os portadores deste tipo de lesão.

As pesquisas em tecidos tendinosos comprovam que a laserterapia de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio (GaAs) e fosfeto de índio e gálio (InGaP) com

dosimetria de 4 a 6 joules/cm<sup>2</sup> aceleram o processo de cicatrização e modulam a formação de tecido de granulação. Esses resultados trazem a expectativa da formação de uma cicatriz mais precoce com qualidade funcional. Por outro lado, abre-se um amplo campo de atuação profissional após confirmações por estudos histopatológicos, histomorfométricos e histoquímicos com comprovações científicas (SCHMITT et al 1993).

Ainda que os resultados deste estudo tenham sido colhidos em ratos, o processo de cicatrização tendinosa é similar em qualquer animal, podendo-se então supor a utilização do laser em humanos, respeitando suas devidas restrições.

## **1.2 Problematização**

Qual a eficácia do laser de baixa intensidade do tipo fosfeto de índio e gálio (InGaP) na cicatrização de lesão induzida no tendão de aquiles de ratos?

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Geral:**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do laser fosfeto de índio e gálio (InGaP) com comprimento de onda de 658,4 nm – vermelho visível – e com dosimetria de 4 joules no modo pontual na cicatrização tendinosa após execução de lesões induzidas no tendão de Aquiles esquerdo de ratos, utilizando-se da descrição dos achados histopatológicos no período de 7 dias.

### **1.3.2 Específicos:**

- \* Verificar se o laser de baixa intensidade do tipo InGaP interfere de maneira positiva no processo de cicatrização tendinosa quando comparados ao processo fisiológico normal;
- \* Verificar como se comportam as células inflamatórias, os fibroblastos, deposição de colágeno e formação de novos vasos quando comparados microscopicamente entre os animais do experimento.

### **1.4 Delimitação**

Este estudo limitou-se apenas a investigar os resultados microscópicos dos efeitos da laserterapia de baixa intensidade (InGaP) sobre a fase inicial do processo de cicatrização tendinosa em ratos.

# REVISÃO DE LITERATURA

## 2.1 Tecido tendinoso

O tendão é um tecido conjuntivo denso composto por fibras colágenas paralelas entre si, estas fibras foram formadas e orientadas para proporcionar o máximo de resistência às trações exercidas que normalmente atuam sobre o tecido (CARLSTEDT, 1987).

Hollensehead (1980) define tendão como sendo um tecido que liga um músculo a outras estruturas, mais comumente o osso, sendo as estruturas responsáveis pelas transferências de forças dos músculos aos ossos para que ocorram os movimentos articulares (WHITING & ZERNICHE, 2001).

Currier & Nelson (1992), afirmam que o tendão é constituído por fibroblastos e uma matriz extracelular, sendo o colágeno o maior componente desta matriz compreendendo cerca de 90% do peso do tendão. Dângelo & Fattini (2001) explicam que o tecido tendinoso tem forma de fita, ou cilíndrica, com superfícies esbranquiçadas e brilhantes, muito resistentes e inextensíveis.

Os tendões são formados por feixes de fibras colágenas unidas por tecido conjuntivo, denominado endotendíneo. Estão presentes também no tendão vasos sanguíneos e nervos. O tendão também está envolvido por outra bainha de tecido conjuntivo, chamada de epitendíneo, nas regiões de fricção ao longo de suas passagens, essas são formadas por duas camadas de células achatadas. A camada interna é associada ao epitendíneo, oferecendo uma superfície lisa para o movimento, e a camada externa

está ligada aos tecidos peritendíneos circundantes. O espaço entre as suas camadas está preenchido por um líquido lubrificante semelhante ao líquido sinovial, que irá diminuir o atrito entre os mesmos (BANKS, 1991).

A estrutura conjuntiva do tendão cria três zonas estruturais, que é o corpo do tendão (substância do tendão), as junções do tendão com o osso (junção osteotendinosa) e as conexões com o músculo (junção miotendinosa).

Existem requisitos importantes para que o processo de reparação retorne a função normal dos tendões. As propriedades tensoras dos tendões devem ser restauradas e a capacidade de deslizamento deve ser mantida (BANKS, 1991). Segundo Cormack (1991), os fibroblastos são células grandes, e seus núcleos são ovais e achatados semelhando com a forma das células. Os fibroblastos são responsáveis pela síntese de colágeno, sendo este formado por três cadeias peptídeas que estão na seqüência prolina-glicina-hidroxiprolina e lisina-glicina-hidroxililina. Encontra-se também a substância fundamental que tem aspecto gelatinoso, contém água, eletrólitos e um complexo de mucopolissacarídeos denominados de glicosaminoglicanos.

O tendão de Aquiles ou ainda denominado tendão calcâneo é a união das fibras dos músculos gastrocnêmio e sóleo, estando sua inserção situada a um centímetro distal do tubérculo posterior e superior do calcâneo estendendo-se a dois centímetros da face posterior do mesmo. A nutrição desse tendão é realizada pela artéria tibial posterior e fibulares, sendo que existe uma área de menor vascularização, situada a mais ou menos quatro centímetros da inserção do tendão (HEBERT, 2003). Sendo este tendão o maior do corpo humano, ele serve para transmitir força dos músculos gastrocnêmio e sóleo para o calcâneo. A lesão geralmente ocorre após uma súbita flexão plantar do tornozelo, geralmente após movimento brusco. Sua lesão torna-se mais propensa quando recebe graus elevados de carga de tensão (PRETINCE & VOIGHT, 2003), podendo ocorrer lesão do tipo estiramento, ruptura parcial ou total.

Carlstedt (1987) relata ainda que muitos fatores afetam as propriedades físicas do tendão, portanto podem provocar lesões, tais como, o envelhecimento, o overuse, a imobilização, as injeções de corticóides – infiltrações – entre outros.

## 2.2 Bases fisiológicas da cicatrização tendinosa

De acordo com Arnold (1976), a cicatrização tecidual é a restauração completa da perda tecidual, com reconstituição da arquitetura original e da função desenvolvendo-se através da proliferação e diferenciação celular. O objetivo da reparação ou reparo tecidual é restaurar a intimidade entre as margens da lesão e restabelecer as características morfofuncionais do tecido lesado. O reparo tecidual, na maioria dos casos, ocorre através da associação de dois processos distintos: a regeneração e cicatrização. A regeneração é um processo de reparo que leva à substituição do tecido lesado por células parenquimais do mesmo tipo daquelas perdidas, restituindo a estrutura e a fisiologia do tecido, podendo em alguns casos não deixar qualquer seqüela da lesão inicial. A cicatrização representa, por sua vez, a substituição do tecido lesado por um tecido conjuntivo de natureza fibroblástica, podendo este reparo resolver o problema da perda de substância e restaurar a continuidade do tecido lesado envolvido no processo, porém pode haver perda de função e as células parenquimais altamente especializadas estarão irremediavelmente perdidas (SIQUEIRA & DANTAS, 2000). O reparo tecidual envolve uma série de eventos contínuos e bem coordenados, que visam restaurar a morfofisiologia de uma lesão. O controle desse processo é regulado por mediadores químicos, produtos da degradação da fibrina, matriz extracelular, fatores de crescimento e citocinas liberadas por células que participam do processo inflamatório (THOMAS, 2001).

Para Baxter (1994), a cicatrização é um processo bastante complicado que envolve atividades celulares e quimiotáticas através da liberação de mediadores químicos associados a algumas respostas vasculares, que irão culminar numa seqüência de eventos até o reparo do tecido lesado.

Banks (1991), diz que a cicatrização ocorre em diferentes estágios relacionados, que são: agressão, indução, inflamação, proliferação e remodelação. Durante o processo de agressão o tendão é acompanhado pelos danos de outros tecidos moles. A localização e a extensão da lesão é um fator importante devido ao suprimento sanguíneo dos tendões

ser segmentado, como também o líquido sinovial encontrado nas bainhas sinoviais, a sua ruptura pode complicar a reparação (DOUGLAS, 2000).

No estágio de indução a hipoxia tecidual pode ser o estímulo para indução de novas células durante a reparação dos tendões. Os fibroblastos se proliferam no interior dos tendões e novos capilares invadem o tendão a partir dos tecidos peritendinosos (BANKS, 1991).

De acordo com Baxter (1994), logo após a agressão do tendão, ou seja, a lesão, inicia-se uma resposta vascular com vasoconstrição por ação da noradrenalina e logo após vasodilatação, onde células inflamatórias são atraídas para o sítio da lesão. Além disso, a histamina tem seu papel importante por alterar a permeabilidade vascular, formando então o edema no local agredido.

O estágio da inflamação inicia no momento da lesão e tem duração de aproximadamente cinco dias (ENWEMEKA, 1989). Os sinais clássicos da inflamação se apresentam como rubor, edema, limitação da função, calor e dor. A lesão pode causar tanto a morte celular como o comprometimento dos vasos. Essa fase tem como objetivo principal livrar a área de resíduos de tecido morto e destruir antes do reparo, qualquer infecção invasora (KITCHEN & YOUNG, 2003).

Em torno de vinte e quatro horas após a agressão o local onde ocorreu a lesão começa a receber os fibroblastos e as células endoteliais, que se proliferam para formar o tecido de granulação. A partir disso, temos quatro componentes, a neovascularização, a migração e proliferação dos fibroblastos, a deposição da matriz extracelular e maturação e o remodelamento celular (GUYTON & HALL, 1995; COTRAN *et al.*, 2000).

A inflamação excessiva pode provocar formação de colágeno (fibrose) no local da reparação e a migração dos fibroblastos do epitendão e endotendão para o local da lesão, ocorrendo fagocitose de restos celulares e de colágeno, iniciando uma nova síntese de colágeno pelos fibroblastos (BANKS, 1991).

A fase inflamatória se subdivide em outras duas subfases conhecidas como fagocitose e neovascularização. Sendo que na fagocitose o objetivo é evitar a infecção do local pela contaminação dos tecidos lesados e necrosados. Já a neovascularização é a



reconstrução dos vasos lesados da ferida. A ferida recente se encontra avermelhada e muitas vezes edemaciada pela presença de capilares no local. No final da cicatrização esta se torna esbranquiçada por degeneração destes capilares (Hardy *apud* PIMENTEL, 2001).

O estágio fibroblástico ou proliferativo tem duração de 5 a 21 dias e é nesta fase que a cicatriz começa a ganhar força (WANG, 1998). É caracterizada pela proliferação de fibroblastos e secreção de procolágeno. As células do epitendíneo e do endotendíneo são responsáveis pelos eventos intrínsecos da reparação, onde nestas regiões se tornam hiperplásicas depositando grande quantidade de colágeno no local da lesão. A bainha sinovial e os tecidos peritendíneos também contribuem com as células e o colágeno, constituindo o aspecto extrínseco do processo de reparação (BANKS, 1991).

Segundo Hardy *apud* Pimentel (2001) nesta fase existem outra 3 subfases conhecidas como epitelização, contração da ferida e produção de colágeno. Na epitelização ocorre a migração das células epiteliais para o fechamento da ferida através da mitose. A borda da ferida é úmida e rica em oxigênio. Após, ocorre a contração da ferida, que é conhecido como processo de tração da ferida reduzindo o defeito. Por fim inicia-se a produção de colágeno, sendo esta a subfase mais importante da cicatrização.

O estágio de maturação ou remodelação inicia com 4 semanas após a lesão, sendo que após 6 semanas o local da lesão está preenchido por colágeno (WANG, 1998). Numerosos fatores irão influenciar no sucesso da reparação do tendão. O manejo adequado pode resultar no retorno a um estado funcional quase normal (BANKS, 1991). Esta fase é marcada por uma série de eventos como aumento e organização da matriz, diminuição do número de células, retorno da vascularização e inervação normal, aumento do diâmetro das fibras colágenas e aumento na deposição de elásticas. No final desta fase, o tendão assume aspecto normal, porém as fibras colágenas são relativamente imaturas.

Segundo Wang (1998), a força do tendão vai aumentando gradativamente, e a remodelação pode durar até 112 dias. A fase de maturação e remodelamento se subdivide em outras duas subfases, chamadas de equilíbrio síntese-lise e orientação das fibras. A primeira é a constante troca de colágeno velho por novo, e a segunda orienta as fibras colágenas. Esta subfase depende de outros fatores conhecidos como indução e tensão. Na

indução a cicatriz mimetiza as características do tecido cicatricial, e a tensão refere-se aos estresses internos e externos que afetam a área da lesão.

O reparo tendinoso é uma combinação de processos intrínsecos e extrínsecos, onde o primeiro ocorre dentro do tendão como resultado da atividade dos tenocitos e do suprimento sanguíneo intratendinoso, já o segundo ocorre por processos que se originam dentro do tendão com crescimento de fibroblastos, células inflamatórias e invasão vascular extratendinosa. O balanço entre estes processos depende da natureza da lesão, técnica de reparo e regimes de mobilização pós-operatório. (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995; WANG, 1998).

O tendão possui cicatrização lenta e muitas vezes leva a consequências como atrofia muscular, aderências tenocutâneas, rupturas e até mesmo osteoartrite (ENWEMEKA, 1992). Vários estudos foram e estão sendo realizados com o intuito de minimizar os problemas da cicatrização tendinosa, os quais destacam-se os da utilização de agentes físicos para acelerar o processo de reparação tecidual (ABERGEL *et al.*, 1984; GUN *et al.*, 1997; REDDY *et al.*, 1998 e SCHIMITT *et al.*, 1993).

A laserterapia de baixa intensidade tem sido utilizada para promover aceleração nos processos cicatriciais em estudos experimentais e também nas práticas médicas e fisioterapêuticas (SILVA *et al.*, 1998; LIANZA, 2001).

### **2.3 Laser de baixa intensidade**

A palavra LASER é um acrônimo de *Ligh Amplification by Stimulated Emission of Radiation* que significa uma amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. Teve seu princípio descrito por Albert Einstein em 1916, quando postulou o fenômeno físico de emissão estimulada de fótons, que a partir da excitação de um meio ativo, elevando o átomo a um nível superior de energia e quando esse voltar a seu estado orbital

inferior ocorrerá à emissão estimulada que liberará o excesso de energia em forma de um fóton (BRUGNERA & PINHEIRO, 1998). A partir daí, ele expôs que seria possível estimular um corpo a liberar energia em forma de radiação eletromagnética com características uniformes e coerentes (KLIDE, 1983; COTTERILL, 1984; FURLANETTO *et al.*, 1984; MARQUES, 1985; BRUGNERA & PINHEIRO, 1998). Explicando melhor, a produção do laser resulta de um elétron que sofre um salto quântico quando previamente estimulando, passando de um baixo a um alto estado de energia, emitindo ondas na mesma frequência, comprimento de onda e direção, originando o feixe laser que possui mais potência que outras radiações ópticas não modificadas ou estimuladas (KITCHEN & PARTRIDGE, 1991; ORTIZ, 2001).

Várias décadas se passaram, no entanto, antes que houvesse condições técnicas para tentar viabilizar este conceito teórico, pois questões tecnológicas não permitiam que o laser fosse concluído antes, por isso teve um período de latência nos experimentos provavelmente pelo empirismo científico da época.

Baseado no princípio citado acima, em 1950, Townes, Gordon e Zeiger constroem o maser (amplificador de microondas por emissão estimulada de radiação) possibilitando trabalhar na região visível de espectro (HERCH & TERESI, 1987; KLOTH, 1997).

Porém foi somente em 1960 que o físico norte americano Theodoro Maiman criou o primeiro laser de estado sólido utilizando como elemento o rubi. Um ano mais tarde, houve a primeira intervenção cirúrgica com laser no Hospital Presbiteriano de Nova York para a retirada de um tumor de retina. Em meados dos anos setenta, foi construído o laser HeNe por Javan, Bennett e Herriot apoiados na descoberta feita por White e Ridgen do laser vermelho visível, sendo a primeira fonte de luz coerente disponível no comércio. Este fato proporcionou estudos e no final da década de setenta surgiram os primeiros lasers infravermelhos como arseneto de gálio (GaAs) e o arseneto de gálio alumínio (HERCH & TERESI, 1987; BAXTER, 1997; KITCHEN & PARTHIDGE, 1991; TUNER & HODE, 1999; RIGAU *et al.*, 1995; GOOSSENG & ENDERBY, 1984; KLIDE, 1983; KLOTH, 1997; OSHIRO, 1991).

Em função deste invento, Einstein ganhou em 1964 o prêmio Nobel de física em conjunto com os russos Basov e Prokorov e a partir daí, os avanços tecnológicos tiveram

um crescente aumento. Em 1966, Kao & Hochman concluíram que poderia ser possível introduzir a radiação laser por finos tubos (fibras ópticas). Em 1979, é lançado o CD pela Philips que usa a luz do laser para a leitura óptica. Vinte anos mais tarde, em 1999, o químico Ahmed Zewail ganha prêmio Nobel usando o laser para mostrar como os átomos movimentam-se nas diferentes etapas de uma reação química (ZÂNGARO, 2004).

Historicamente, a maioria dos trabalhos com laser de baixa potência começaram na Europa oriental, Hungria, Áustria e na antiga União Soviética (BASFOR, 1989; BRAVERMAN *et al.* (1989). Os primeiros trabalhos da terapia laser começaram na Europa, sendo baseados nas publicações do professor Mester, de Budapeste, conhecido como o papa da bioestimulação por laser supostamente por aumentar a celularidade nos tecidos irradiados, acelerando o tempo de mitose ação que se observa principalmente na reparação cicatricial das lesões por maior vascularização e formação abundante de tecido de granulação. O laser chegou a ser uma modalidade de tratamento popular, principalmente na União Soviética e no oriente próximo, onde aconteceu um grande número de aplicações (OSHIRO, 1991; BAXTER *et al.*, 1991). Por tal popularidade, os primeiros relatos de que o laser induzia alteração na função das células e tecidos apareceram em jornais inacessíveis e, além disso, na sua tradução geravam descrenças, pois apresentavam erros metodológicos inaceitáveis.

No Brasil, alguns bons experimentos com lasers de baixa potência vêm sendo desenvolvidos na cicatrização de lesões cutâneas, musculares, tendinosas e ósseas em animais. Destes convém destacar os resultados obtidos por Silva *et al.* (1998); Brugnera & Pinherio (1998); Del Bue *et al.*, (1982); Klide (1983); Mckibbin (1984); Chiesa & Santos (2000); Chiesa *et al.*, (2004); Chiesa & Lazarotto (2005) no que tange os processos reparacionais de tecidos.

Colls (1984), afirma que somente após o ano 1965 é que o laser terapêutico teve seu reconhecimento adaptativo. De acordo com Hilário (1988), a partir de 1965 diversos cientistas de vários países iniciaram experiências com equipamentos de potências inferiores dos lasers cirúrgicos, os chamados laser terapêuticos. Desde então, a laserterapia vem sendo utilizada nas diferentes áreas da saúde, isto é, sempre que se deseja uma ação antiinflamatória, antiedematosa, analgésica ou regeneradora tissular (DEL BUE *et al.*, 1982; CRUAÑES, 1984; BASFOR, 1986). Do ponto de vista clínico,

porém, as mais interessantes observações dos efeitos da radiação laser de baixa intensidade estão relacionadas com a estimulação e aceleração das cicatrizes de lesões de tecidos moles (RIBARI, 1981; ANNEROTH *et al.*, 1988).

Richard & Boulnois (1983); Abergel *et al.*, (1984); Basford (1986); Anneroth *et al.*, (1988) relataram que os lasers infravermelhos do tipo arseneto de gálio e visível do tipo Índio gálio fósforo e Hélio-neon são mais freqüentemente usados em terapêuticas, em função de sua alta viabilidade, baixo custo e amplo retorno experimental. Estas radiações tem êxito devido a particular resposta no tecido, como a redução de edema, diminuição dos processos inflamatórios, aumento da fagocitose, da síntese colágena e de nova epitelização e vascularização.

O que faz o laser ser diferente da luz comum são suas características e as propriedades que diferenciam a luz laser de outras ondas luminosas são: a monocromaticidade, a colimação e a coerência (TRELLES, 1982). Além disso, possuem efeitos muitos específicos nos tecidos, podendo esta luz ser absorvida, refletida, transmitida e espalhada (SLINEY, 1985; BENNETT, 1989; HILLENKAMP, 1989).

A monocromaticidade indica uma posição no espectro eletromagnético e com isso uma só cor com um comprimento de onda específico. Esta característica é considerada o atributo mais importante do laser, pois determinam quais as interações fotobiológicas e os efeitos terapêuticos específicos (KITCHEN & BAZIN, 1998), ou seja, estabelece as biomoléculas que absorverão o feixe de radiação incipiente (BAXTER, 1997).

A colimação diz respeito a diretividade, ou seja, o feixe mantém ou tenta manter um paralelismo, mantendo um pequeno tamanho da saída da luz do laser numa grande distância. Esta característica pode ser responsável pelos perigos da exposição dessa fonte de luz direta nos olhos (BAXTER, 1997).

A coerência é uma das propriedades da radiação laser que difere das outras formas de luz, mostrando uma sincronia entre as ondas luminosas que viajam na mesma direção. A coerência está dividida em espacial quando os fótons estão ajustados paralelos entre si e temporais quando estes se encontram em fases (TUNER & HODE, 1999; GENOVESE, 2000).

Cada uma dessas propriedades, em separado ou em conjunto, possibilita aplicações específicas e de grande resultados nas áreas das ciências humanas (OLIVEIRA, 1999). A radiação luminosa ao atingir o tecido sofre a reflexão, fenômeno que ocorre quando a radiação atinge a superfície do tecido biológico, fazendo com parte dessa retorne na direção da fonte de excitação, sem interagir com o tecido definido pela Lei de Snell; a absorção é o principal parâmetro da interação laser – tecido biológico, pois dela depende a quantidade de energia entregue a este tecido e por sua vez somente essas radiações absorvidas têm efeito fotobiológico ou fotoquímico (BALBONY *et al.*, 1986; ZÂNGARO, 2004). Além disso, o retroespalhamento da luz traz informações das moléculas e através desse fenômeno podemos obter a biópsia óptica; a transmissão consiste na radiação que atravessa o tecido biológico sem sofrer atenuação mantendo suas características físicas e também sem sofrer processos de espalhamento; o espalhamento tem relação direta entre o comprimento de onda da radiação incidente e a dimensão da partícula espalhadora. O espalhamento pode ser elástico (ocorre quando observa-se que a luz espalhada se apresenta de cor diferente da luz incidente) e inelástico (não apresenta variação na cor da luz incidente).

Já Colls (1988), relata em seus estudos que além das três características (monocromaticidade, coerência e colimação), a radiação luminosa produz uma quarta, conhecida então de “alto brilho”, sendo esta a propriedade básica da utilização do laser como instrumento terapêutico e cirúrgico. Relata também que a grande quantidade de energia produzida será focalizada em uma superfície de área reduzida, permitindo elevada densidade de potência e intensidade.

Os parâmetros ópticos que se deve levar em consideração quando se trabalha com laser é a velocidade da luz, medida há 70 anos atrás e postulada por Einstein como a maior velocidade que existe (300.000 Km/s). O índice de refração é a relação entre a velocidade da luz no ar e no meio incidente, quanto mais denso for o meio, mais lento será a transmissão e quando a luz atravessa a interface do meio incidente ela sofre uma alteração de velocidade. Diante disso, para compreender a interação do laser com o tecido biológico é necessário conhecer as propriedades ópticas do tecido e alguns conceitos básicos da ação da luz e de seus efeitos teciduais: a frequência de onda que significa o número de cristas ou ciclos que passam por um ponto estacionário em 1s, sendo

inversamente proporcional ao seu comprimento e expressa em hertz (Hz); a amplitude é a altura da crista à concavidade da próxima onda, altas amplitudes indicam altos índices de energia e o comprimento de onda que é a distância entre duas sucessivas cristas da onda expressa no caso do laser em nanômetros (ZÂNGARO, 2004).

Para melhor compreender a interação do laser com os tecidos biológicos é necessário conhecer as propriedades do tecido, o comprimento de onda do laser e a densidade de energia e de potência para o tecido. Com estes parâmetros, todos os efeitos causados por esta radiação serão previstos em modelos físicos e matemáticos, levando em consideração o tipo de célula, a perfusão sanguínea e a condução térmica. A energia depositada pelo fóton nos tecidos biológicos pode gerar processos vibracionais, rotacionais e eletrônicos que imediatamente se transforma em outro tipo de energia ou efeito biológico que são chamados de efeitos primários da radiação que são classificadas em: efeitos bioquímicos, bioelétricos, bioenergéticos (GENOVESE, 2000).

O efeito bioquímico pode provocar dois efeitos, liberação de substâncias pré-formadas como histamina, serotonina e bradicinina e modificação das reações enzimáticas normais, tanto inibitórias quanto estimulatórias (GUIRRO & GUIRRO, 2003), além de exercer estímulos na produção de ATP no interior da célula, acelerando a mitose, aumentando a lise de fibrina e interferindo na produção de prostaglandinas. Deve-se destacar também como efeito bioquímico à ação fibrinolítica dos raios lasers (BOECHAT, 1999).

Segundo Genovese (2000) o efeito bioelétrico estimula o aumento e a quantidade da produção de ATP produzida pela célula (modo indireto) e atua sobre a mobilidade iônica, potencializando a bomba de sódio e potássio (modo direto), com isso, a diferença de potencial elétrico existente entre o interior e o exterior da célula é mantida com maior eficácia (RODRIGUES & GUIMARÃES, 1998). Além disso, esse efeito ajuda a normalizar o potencial da membrana, atuando como reequilibrante e normalizador da atividade funcional da célula.

Os efeitos bioenergéticos decorrentes da radiação laser são classificados em primários e secundários. Os primários podem ser definidos como sendo as respostas celulares decorrentes da absorção da energia e os secundários são alterações fisiológicas

que não afetam só a unidade celular, mas todo o tecido. Os efeitos secundários relacionados a reparação tecidual são: aumento do tecido de granulação, neoformação vascular, aumento do colágeno, aceleração do processo de cicatrização e aumento da atividade fagocitária dos linfócitos e macrófagos (GUIRRO & GUIRRO, 2003). O estímulo a microcirculação é proporcionado pela ação da radiação laser sobre os esfíncteres pré-capilares, sendo que estes abrem ou fecham a passagem para a rede capilar distribuindo o fluxo sanguíneo e alterando as regiões a serem irrigadas. Através da ação da histamina liberada, ocorre paralisação desses esfíncteres, aumentando o fluxo sanguíneo. Já no trofismo celular, a velocidade mitótica é aumentada com o aumento da produção de ATP, proporcionando aumento na velocidade de cicatrização e melhor trofismo dos tecidos. Isso ocorre pelo estímulo da capacidade de cicatrização do tecido conjuntivo, assim como a neoformação vascular (RODRIGUES & GUIMARÃES, 1998; COLLS, 1984; BIBIKOVA *et al.*, 1994; GONZÁLES & CRUÃNES, 1988; VEÇOSO, 1993; KARU *et al.*, 1995; HERERRO *et al.*, 1988; SILVA *et al.*, 1998).

Veçoso (1993), classifica o laser como laserterapia de alta potência e laserterapia de baixa potência, onde o primeiro apresenta potencial destrutivo e o segundo não apresenta potencial destrutivo respectivamente.

Kitchen & Bazin (1998) definem a laserterapia de baixa intensidade com as aplicações de diodos monocromáticos de intensidade baixa onde para aplicações em lesões são freqüentemente usadas potências menores de 35 mW. Esta modalidade é denominada de bioestimulação por acelerar os processos reparacionais, fatos estes descritos por Mester, porém esta denominação não está adequada, pois o laser possui capacidade de acelerar processos celulares e inibir outros. Desta forma, o termo mais correto a ser utilizado seria a biomodulação.

A primeira interação do laser com o tecido biológico acontece na pele, onde cerca de 6% da radiação luminosa incidente é refletida (PARRISH & DEUTSCH, 1984). A distribuição gaussiana permite fazer um cálculo de atenuação do laser que tem um caráter exponencial, assim a profundidade na qual a intensidade do feixe é 37% da intensidade original incidente é chamada de profundidade de penetração, assim pode-se fazer um



cálculo aproximado em relação aos tecidos corporais irradiados, necessitando saber o coeficiente de absorção de cada tecido biológico (BAXTER, 1997).

Não há dúvida que a laserterapia veio beneficiar inúmeros áreas da saúde, tais como a medicina e a fisioterapia, porém ainda causa algumas polêmicas em relação a seus possíveis efeitos secundários. Estudos recentes conduzidos pelo professor Nivaldo acusaram a ocorrência de cegueira em filhotes de ratas após a irradiação sobre a região pélvica (VEÇOSO, 1993). Entretanto, a American National Standards Institute classificam os lasers em classes, onde os lasers de baixa intensidade (GaAs, InGaP, HeNe e GaAlAs) possuem poucas possibilidades de causarem efeitos deletérios.

Nos princípios físicos da radiação laser, segundo Colls (1988), a onda é um distúrbio transmitido através do vácuo ou de um meio gasoso, líquido, ou sólido. Estas ondas podem variar de acordo com o ciclo (menor porção não repetida da onda), período (tempo para efetuar um ciclo), comprimento de onda (distância percorrida pela onda em um período), frequência (numero de ciclos em um período), velocidade de propagação, energia (capacidade de realizar trabalho), potência (quantidade de energia utilizada em um espaço de tempo) e a densidade de energia (quantidade de energia utilizada em uma determinada superfície).

Para haver produção de laser é necessário que tenha bombeamento com energia de gases ou semicondutores, emitindo então um feixe de luz visível ou não visível (BAXTER, 1998).

Colls (1984) descreve um esquema para critérios de doses empregadas em cada situação clínica, onde para efeito analgésico usa-se uma dose de 2 a 4 joules; para o efeito antiinflamatório, dose de 1 a 3 joules; efeito cicatrizante, dose de 3 a 6 joules e para o efeito circulatório, doses de 1 a 3 joules.

O mesmo autor descreve ainda diferentes dosagens de acordo com o estágio da lesão, onde doses baixas de 1 a 3 joules para estágio agudo, doses médias de 3 a 4 joules para estágio subagudo e doses elevadas de 5 a 7 joules para estágios crônicos. Doses acima de 7 joules é considerado de caráter inibitório, não sendo recomendados para obtenção de efeitos terapêuticos.

Para descobrir o tempo necessário para alcançar os efeitos desejados é necessário ter conhecimentos da dose, potência média de emissão do laser e a área a ser irradiada. Para isso utiliza-se a fórmula: densidade de energia igual à potência média vezes o tempo sobre a área. Silva *et al.* (1998) relata ainda que quanto maior a potência do laser menor o tempo de exposição do tecido a sua radiação se faz necessário para obter o efeito desejado.

## **2.4 Laser na cicatrização tendinosa**

A fisioterapia por laser é uma forma de tratamento que tem crescido bastante, mas suas bases fundamentais científicas não estão ainda bem esclarecidas, requerendo estudos randomizados, controlados e com cuidados experimentais físicos e metodológicos (CHIESA & LAZAROTTO, 2005). Estudos prévios sugerem que a fotoestimulação laser aumenta a síntese de ATP, promove a produção de ácidos nucléicos e a divisão celular, além disso, estimula o processo de cicatrização por liberar fatores de crescimento dos fibroblastos (YAAKOBI *et al.*, 1996; PASSARELLA *et al.*, 1984)

Diversos estudos têm sido realizados para tentar entender os mecanismos fisiológicos pelas quais a radiação laser de baixa intensidade estimula o processo reparativo e à maioria deles relatam principalmente a proliferação de fibroblastos e retirada do processo inflamatório mais precocemente, fatos estes evidenciados nas pesquisas de ABERGEL *et al.*, 1984; BOULTON & MARSCHALL, 1986; VOGEL, 1986; VICENZI & CARVALHO, 2002.

O primeiro estudo realizado com a aplicação da laserterapia de baixa intensidade em humanos foi no tratamento de úlceras crônicas de pressão e experimentalmente apresentando resultados satisfatórios na velocidade de cicatrização. Além disso, foi avaliado o laser no tratamento de diversos tipos de lesões abertas de tecidos moles, com resultados geralmente positivos (KITCHEN & BAZIN, 1998). Estudos *in vitro*

experimentais em animais bem como estudos clínicos apóiam a teoria de regeneração tissular e cicatrização de lesões quando submetidos à radiação laser (CARRATA & BRITO, 2004).

O laser de baixa intensidade tem sido utilizado em experimentos que visam acelerar o processo de cicatrização em tecidos moles, por estar diretamente ligado ao incremento de células responsáveis pela reparação do tecido com melhor qualidade e de forma mais rápida (MESTER *et al.*, 1975). As lesões quando submetidas à radiação laser e observadas em microscopia óptica, pela análise histopatológica e histomorfométrica do tecido, promovem proliferação fibroblástica, síntese colágena aumentada, formação de novos vasos. De fato, baseado nisso, a transformação ocorrida dos fibroblastos e colágenos são as bases estruturais para uma cicatrização (MESTER & MESTER, 1985).

Inúmeros estudos têm sido realizados em vários tecidos e células que fazem parte do processo de reparação, em uma tentativa de esclarecer os efeitos biológicos pelas quais as radiações lasers de baixa intensidade podem favorecer esse processo. A grande parte dos estudos dizem respeito a proliferação fibroblástica e com ela o aumento na síntese de colágeno. Estudos realizados por Boulton & Marshall (1986), usando fibroblastos embrionários nos quais foram observados um aumento na multiplicação celular seguido da irradiação do tipo He-Ne. Resultados semelhantes foram conseguidos por Bosatra *et al.* (1984) na dose de 2 joules/cm<sup>2</sup> sobre as culturas fibroblásticas.

Mester *et al.* (1975) estudaram o processo de regeneração muscular em ratos submetidos a laserterapia. Concluíram, através de exames patológicos que o efeito do laser de baixa intensidade não só acelerou o processo de cicatrização muscular, como também promoveu um reparo tecidual qualitativamente superior ao observado no grupo controle, desde o processo inflamatório até a fase de remodelação.

Vasconcellos *et al.* (1984) *apud* Wanderer (1991), usaram o laser de baixa intensidade no tratamento de patologias osteo-articulares, cicatriciais e dermatológicos em 11 cães e 2 gatos, obtendo bons resultados terapêuticos no que diz respeito ao reparo do tecido envolvido.

Abergel *et al.* (1984), fazendo estudos *in vitro* de culturas de fibroblastos da pele humana, verificaram que o laser de baixa intensidade do tipo He-Ne, sob a mesma

densidade de energia, promove uma acentuada estimulação da síntese de colágeno, podendo ser utilizado para modular o metabolismo do tecido conjuntivo. Estes resultados, entretanto, não foram compartilhados por Hallman *et al.* (1988) que não observaram diferenças significativas entre as porções tratadas e não tratadas com o laser de baixa intensidade.

Os resultados *in vitro* obtidos por Balboni *et al.* (1986) demonstraram que as irradiações laser de baixa intensidade aumentam a produção de colágeno pelos fibroblastos, sem que haja aumento na população celular. Segundo os autores, este efeito está na dependência do tempo de exposição e da dosimetria empregada.

Vogel (1986) citou que os lasers de baixa intensidade têm sido usados efetiva e rotineiramente na Europa para reduzir edemas, inflamações e lesões de tecidos moles, como músculos e tendões, fatos estes evidenciados nas pesquisas citadas.

Lyons *et al.* (1987) aplicaram radiação laser de baixa intensidade (He-Ne) em lesões suturadas de ratos. Os autores fizeram aferições da concentração de colágeno e da forma de tensão das lesões em diferentes estágios de evolução. Os resultados encontrados justificam o aumento na tensão obtida nas lesões tratadas, pelo maior número de moléculas de colágenos ligadas e maior organização funcional das células.

De acordo com Ismailov *et al.* (1993), em um estudo experimental com 120 ratos albinos da raça wistar demonstraram que a combinação simultânea das radiações laser de baixa e alta intensidade aceleram o processo de reparação, sendo que o laser de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio demonstrou ser a melhor ferramenta para a estimulação do reparo de lesões de tecidos moles.

Burgudzhieva (1989), executou um estudo clínico em 97 incisões cirúrgicas pós-operatórias na região abdominal que envolvia pele, tecido subcutâneo e fáscia muscular. As incisões foram tratadas durante 10 a 60 dias sob medicamentos e não obtiveram cura. Após a aplicação do laser de baixa intensidade, as curas aconteceram num período de 5 a 18 dias, mostrando efetividade na reparação de tecidos moles.

Segundo Re & Viterbo (1985), o laser terapêutico ou de baixa intensidade promove um aumento do número de leucócitos e da atividade fagocitária, bem como

estímulo da proliferação fibroblástica e elevação do metabolismo celular pela formação de redes capilares ao redor da lesão.

Vicenzi & Carvalho (2002), analisaram os efeitos do laser de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio na inflamação articular induzida em ratos com uma dose de 4 joules/cm<sup>2</sup> e os resultados demonstraram histologicamente que o laser GaAs apresenta efetividade nos processos inflamatórios, edematosos e analgésico.

Para Taturanas *et al.* (1998), as doses de 1 a 5 joules/cm<sup>2</sup> são recomendadas ao laser terapêutico para conseguir aumento do número de fibroblastos e conseqüentemente de fibras colágenas, incrementando também a vascularização.

Outro estudo realizado por Gebauer & Constantinescu (2000) teve como meta observar os efeitos microscópicos do laser cirúrgico em tecidos. A investigação observou a interação do laser com o tecido biológico e para isso, foram realizadas lesões parciais no tendão flexor digital profundo em coelhos, onde foi utilizado 4 tipos de laser, onde a frequência e a intensidade de cada aplicação era variado de acordo com cada aparelho. A partir dos resultados colhidos os autores acreditam na hipótese dos efeitos do laser na retração do tecido na ferida como processo curativo.

Ozkan *et al.* (1998), realizou um estudo com o objetivo de investigar os efeitos de fotoestimulação por laser de baixa intensidade na reabilitação de 25 pacientes com 41 danos nos tendões flexores digitais comparando com grupo controle com protocolo de tratamento específico. Os resultados mostraram uma melhoria significativa no grupo tratado com laser para o parâmetro redução de edema ( $p < 0,01$ ).

Seguindo a mesma linha de pesquisa, Fretz & Zhongli *apud* Taturanas (1998), encontraram em seu estudo menor edema durante o período de reparação nas feridas irradiadas com laser do que no grupo controle.

Albertini *et al.* (2002) realizou um estudo com o propósito de investigar os efeitos da terapia com laser de baixa intensidade (AsGaAl) no processo inflamatório agudo em modelo clássico de edema induzido em patas de ratos. A radiação baseou-se em diferentes protocolos e os resultados demonstraram que a densidade de energia de 2,5 joules/cm<sup>2</sup> reduz o edema em 45,4% ( $p < 0,01$ ). Os autores concluem então que a radiação

laser com esta densidade de energia produz efeitos similares ao diclofenaco de sódio de 1mg/kg.

Goldman *et al.* (1980) em seu estudo triplo cego com 30 portadores de artrite reumatóide nas articulações das mãos, concluíram que o feixe de luz produziu melhora da função, redução de edema e dor nos casos tratados com Neodymium-YAG com comprimento de onda de 1060 nm e dose de 15-20 joules/cm<sup>2</sup> durante 13 sessões.

Outra pesquisa realizada por England *et al.* (1989), comparou diferentes tipos de tratamento para tendinite do supra-espinhoso em 30 pacientes com placebo, laserterapia de baixa intensidade (GaAs) e administração de drogas. Concluíram que o laser foi efetivo frente aos outros tratamentos.

Carvalho *et al.* (2001), verificaram através de seu estudo os efeitos do laser GaAs na regeneração da solução de continuidade muscular em ratos. Utilizaram dosimetrias de 2 e 4 joules/cm<sup>2</sup> e obtiveram resultados eficientes na aceleração do processo normal de reparo muscular após lesão nos ratos por diminuir o processo inflamatório e incrementar fibroblastos e colágenos, além de uma cicatriz com chances diminuídas de aderências.

Outro estudo realizado com laser da baixa potência para promover a cicatrização do músculo gastrocnêmio foi realizado por Buliakova & Azarova (2002), obtiveram resultados positivos comprovados na histologia quando comparados com o grupo controle. Da mesma forma, Morrone *et al.* (1998) realizou um estudo experimental in vitro e concluíram que este recurso favorece a bioestimulação nas lesões induzidas no tecido muscular de ratos.

Hala *et al.* (2002), pesquisou os efeitos da radiação laser de baixa potência do tipo GaAs em lesões de continuidade em ratos da raça Fischer, demonstrando que a irradiação com intensidade de 4 e 2 joules/cm<sup>2</sup> promovem uma aceleração no processo de cicatrização e chances diminutas de fibroses e aderências nos tecidos subjacentes, principalmente quando aplicados na dose maior.

Taturanas *et al.* (1998), aplicou a laserterapia arseneto de gálio nas doses de 2 e 4 joules/cm<sup>2</sup> nas feridas cirúrgicas de ratas domésticas submetidas a ovário histerectomia

de conveniência, em aplicação única no pós-operatório imediato e os resultados mostraram efetividade nas duas doses testadas na cicatrização de primeira intenção.

Guerino *et al.* (2000) observaram uma redução do número de células inflamatórias em seu estudo realizado em 19 cobaias com lesão de cartilagem que foram submetidos a aplicação de laser de baixa intensidade do tipo He-Ne (633 nm) e 6 mW de potência média durante 37 segundos.

Haker & Lundeberg (1990) realizaram uma pesquisa duplo cega em 49 sujeitos com o diagnóstico de epicondilite lateral e obtiveram resultados efetivos com o laser GaAs de 904 nm com potência de 12 mW, pulsado na frequência de 70 Hz, na modalidade puntual durante 30 segundos num total de 12 sessões.

Takahashi *et al.* (1992) *apud* Azevedo *et al.* (2004), relatam que a neovascularização evidenciada como efeito da radiação laser de baixa intensidade é mais acentuada na fase inicial de formação do tecido de granulação. Além disso, incluem ainda a estes efeitos a intensificação da proliferação fibroblástica e conseqüente deposição aumentada de colágeno (BISHT *et al.*, 1994).

## **METODOLOGIA**

### **3.1. Caracterização da pesquisa**

Esta pesquisa caracterizou-se por um estudo científico experimental aprovado pelo comitê de ética (Anexo D) por estar em concordância com os princípios éticos em experimentação animal.

### **3.2 Amostra**

A amostra foi composta por 20 ratos albinos – *ratus norvegicus* – adultos jovens, machos clinicamente sadios da linhagem Wistar, com idade aproximada de 90 dias e peso médio de 280 gramas, provenientes do Biotério da Universidade de Passo Fundo – RS.



### 3.3 Desenho experimental

Tabela 1: Divisão dos grupos, subdivisão dos dias de sacrificio e observações microscópicas

	Dias de tratamento	Observações microscópicas
G <sub>1</sub>	SG <sub>3</sub>	O <sub>MI</sub>
	SG <sub>7</sub>	O <sub>MI</sub>
G <sub>2</sub>	SG <sub>3</sub>	O <sub>MI</sub>
	SG <sub>7</sub>	O <sub>MI</sub>

Na qual:

G<sub>1</sub> = Grupo do laser de baixa intensidade

G<sub>2</sub> = Grupo controle

SG<sub>3</sub> = Sacrificado no 3<sup>o</sup> dia;

SG<sub>7</sub> = Sacrificado no 7<sup>o</sup> dia;

O<sub>MI</sub> = Observação microscópica

### 3.4 Tratamento operacional das variáveis

#### 3.4.1 Variável dependente

O tecido retirado pela biópsia foi processado e corado para avaliar as células inflamatórias, os fibroblastos, deposição de colágeno e nova vascularização. A observação foi feita por microscópico óptico da marca Leica® com aumento de até 40 vezes em câmara capturadora de imagens através do software Pixe View Station v5.23.

### 3.4.2 Variável independente

A aplicação da laserterapia de baixa intensidade foi iniciada imediatamente após a sutura cutânea do procedimento de indução da lesão no corpo do tendão de Aquiles esquerdo, no terço medial de cada animal. Foi utilizado um aparelho de laser clínico portátil do tipo fosfeto de índio e gálio (InGaP), modelo Physiolux dual da marca BIOSET, com comprimento de onda de 658,4 nm na faixa do vermelho visível previamente aferido (Anexo H), potência média de 18 mW, dosimetria de 4 joules e tempo de exposição de 222 segundos, ou seja, 3 minutos e 42 segundos, no modo puntual, durante 7 dias.



Figura 01: Aparelho de laser Physiolux dual

### 3.5 Instrumentos, equipamentos e soluções

- \* Laser clínico portátil da marca Bioset modelo Physiolux dual;
- \* Gaiola de plástico polipropileno medindo 40x33x17 cm;

- \* Luvas cirúrgicas de látex<sup>1</sup>;
- \* Instrumentação cirúrgica;
- \* Lâminas de bisturi aço-inox<sup>2</sup>;
- \* Fio de sutura nylon monofilamentoso preto estéril<sup>3</sup>;
- \* Toalhas de papel<sup>4</sup>;
- \* Álcool iodado<sup>5</sup>;
- \* Xilasina;
- \* Tiopental;
- \* Hematoxilina-eosina
- \* Tricômico de Masson
- \* Solução isotônica de cloreto de sódio<sup>6</sup>;
- \* Álcool etílico hidratado<sup>7</sup>;
- \* Seringa de insulina estéril<sup>8</sup>;
- \* Tricótomo elétrico;
- \* Gase estéril<sup>9</sup>;
- \* Balança de precisão da marca filisona
- \* Ração (complemento para camundongos e ratos)<sup>10</sup>;

### 3.6 Procedimentos

Foram utilizados 20 ratos machos, clinicamente sadios, da linhagem wistar, com idade média de 90 dias e peso médio de 280 gramas, provenientes do Biotério da

---

<sup>1</sup> da marca Volk do Brasil® tamanho grande

<sup>2</sup> da marca Wiltex® de aço carbono estéril

<sup>3</sup> Med Suture Nylon com agulha AT com corpo triangular estéril

<sup>4</sup> Melhoramentos® inodoro e picotado

<sup>5</sup> da marca Multilab® 0,1%

<sup>6</sup> 0,9% estéril fabricado pela indústria farmacêutica Basa Ltda

<sup>7</sup> 92,8° fabricado pela Alfa Química Ltda

<sup>8</sup> da marca B-D® plastipak de 1ml

<sup>9</sup> da marca Cremer®

<sup>10</sup> CR-1 da marca Nuvilab

Universidade de Passo Fundo. Todos os animais foram identificados e numerados na cauda proximal com numerais, além de adaptados às condições de manejo por um período de sete dias e aleatoriamente distribuídos em dois grupos:

Grupo I: 10 ratos foram submetidos a uma lesão tendínea induzida no tendão de Aquiles esquerdo de 2 mm sob anestesia, com sutura imediata somente da pele. Após o procedimento inicial foi aplicado a laserterapia do tipo fosfeto de índio e gálio com uma dose de 4 joules no modo puntual na porção média da lesão. O processo terapêutico foi repetido diariamente no mesmo horário durante os sete dias subseqüentes à lesão.

Grupo II: 10 ratos foram submetidos a uma lesão tendínea induzida no tendão de Aquiles esquerdo de 2 mm sob anestesia, com sutura imediata somente da pele, sem aplicação da laserterapia de baixa intensidade – controle.

Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos contendo 5 ratos cada que ficaram na mesma gaiola pelo período estabelecido, sendo que estes foram sacrificados para a remoção do tecido (biópsia) e análise histopatológico nos dias pré-estabelecidos no desenho experimental.

O experimento foi realizado na sala de experimentação do Biotério da Universidade de Passo Fundo (UPF) com controle de umidade relativa e temperatura por climatizador. A manipulação, alimentação e limpeza foram realizadas pelo pesquisador e sua equipe diariamente a fim de diminuir os riscos de contaminação e infecção. Não foi administrado qualquer medicamento a base de antiinflamatório ou antibiótico no pré-operatório e pós-operatório, objetivando não interferir nos efeitos do laser, porém foi administrado um analgésico<sup>11</sup> por via oral (VO) para minimizar o processo doloroso causado pela intervenção cirúrgica. Além disso, foram tomados uma medida de higiene com soro fisiológico diariamente na área da lesão em ambos os grupos.

---

<sup>11</sup> Dipirona sódica da linha genérica EMS® solução oral

### **3.6.1 Medidas antecedentes aos procedimentos anestésicos e cirúrgicos**

Uma semana antes das intervenções cirúrgicas, foi tomada uma medida para comprovar a higidez do grupo experimental. Foi realizado um hemograma com coleta de sangue da artéria caudal de cada animal. Após a retirada, o sangue foi colocado em solução anticoagulante e levado para análise no laboratório de análises clínicas (Anexo F).

### **3.6.2 Medidas pré-anestésicas e cirúrgicas**

As cirurgias foram realizadas utilizando-se instrumental padronizado para os dois grupos, esterilizado em estufa por calor seco, assim como equipamentos de proteção individual (EPI).

Durante as 2 horas antecedentes às intervenções cirúrgicas, os animais foram privados de alimentação e água. A medicação anestésica utilizada foi Xilasina<sup>12</sup> na dose de 2 mg/Kg por via intra-muscular e Tiopental<sup>13</sup> na dose de 30 mg/Kg, por via intra-peritoneal (Anexo G). Em seguida, foi realizada tricotomia na região pré-estabelecida. Após este procedimento, os animais foram posicionados na mesa cirúrgica onde foi realizada assepsia com álcool iodado 1%.

---

<sup>12</sup> da marca Virbaxyl 2%

<sup>13</sup> do laboratório Korig



Figura 02: Procedimento anestésico



Figura 03: Tricotomia da coxa esquerda



Figura 04: Assepsia da região cirúrgica

### 3.6.3 Preparação da lesão tendinosa

Foram realizadas incisões verticais de aproximadamente 5mm de comprimento envolvendo pele e tecido subcutâneo sobreposto ao tendão de Aquiles, que foi submetido a um lesão parcial horizontal de 2mm controlada por paquímetro. Em todos os animais dos dois grupos foram realizadas suturas na pele em padrão isolado simples com fio de nylon preto monofilamentoso (4-0), perfazendo um ponto.



Figura 05: Área da lesão tendínea

### 3.6.4 Laserterapia fosfeto de índio e gálio nas lesões tendinosas dos animais do grupo I

Nos diferentes períodos pré-estabelecidos os animais do grupo I (laser) foram submetidos a aplicações diárias do laser fosfeto de índio e gálio (Anexo A). Essas aplicações foram realizadas perpendiculares à lesão no modo pontual, sendo que durante o experimento foi utilizado pelo pesquisador óculos com lentes especiais para filtração da radiação com atenuação de 98,6% para emissão direta perpendicular às lentes. Além

disso, não foi utilizado nenhum tipo de sedação para os animais no momento das aplicações.



Figura 06: Aplicação da laserterapia de baixa intensidade

### **3.6.5 Procedimentos realizados no grupo II**

No período de 7 (sete) dias, os animais com lesões tendíneas do grupo II foram submetidos aos mesmos manuseios e cuidados de higiene tomados no grupo I.

### **3.6.6 Eutanásia e obtenção do tecido**

Para a obtenção das amostras dos tecidos, os animais foram sacrificados nos dias pré-estabelecidos, utilizando-se de doses elevadas de anestésicos (100 mg/Kg por via peritonial), até a parada cardiorrespiratória, conforme procedimento adotado pelo



Biotério da Universidade de Passo Fundo. Após a constatação da letalidade foi realizada a dissecação cuidadosa da área lesionada por desinserção osteotendinosa e miotendinosa nas duas extremidades, sendo imediatamente mergulhada em solução tampão para posterior fixação e preparação das lâminas. Os animais envolvidos na pesquisa foram coletados por empresa especializada e depositados em vala séptica.

### **3.6.7 Preparação das lâminas**

Após a coleta do material, as peças permaneceram por 24 horas para fixação em álcool 70%, com um volume 10 vezes superior ao da peça. Esse material foi transportado até o Serviço de Patologia da Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo – RS, para preparação das lâminas.

As lâminas do tecido tendinoso foram preparadas seguindo a ordem de: (a) descrição, (b) desidratação, (c) difusão em xilol, (d) parafinização, (e) inclusão e (f) microtomia.

### **3.6.8 Avaliação histopatológica**

Os segmentos obtidos foram acondicionados, processados e corados por Hematoxilina de Harris/Eosina-floxina (HE) e Tricrômico de Masson para avaliar a evolução do quadro cicatricial. As lâminas foram observadas em microscopia óptica conectada ao sistema de análise digital das imagens que captura e transmite as imagens para um computador onde foi feita a digitalização utilizando o programa específico para otimizar a contagem das células e da área cicatricial com aumento de até 40x (Anexo E).

Para as células inflamatórias e fibroblastos foi utilizado um contador de células e para a deposição de colágeno e neovascularização foi realizada uma análise subjetiva encontrando um escore numérico (Anexo B), estando o patologista cego para as lâminas.

### **3.6.9 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada através de médias e desvio padrão. O teste *t de Student* foi realizado ao nível de significância  $p \leq 0,05$  no programa *Excel for Windows* para as células inflamatórias e fibroblastos (Anexo C), sendo os dados classificados de três maneiras:

$p \leq$  entre 0,05 a 0,01 (valores significativos)

$p \leq 0,01$  até 0,001 (valores muito significativos)

$p \leq 0,001$  (valores altamente significativos)

## RESULTADOS

Nos pós-operatórios foram observados os aspectos microscópicos da cicatrização tendinosa na fase inicial, ou seja, durante os sete dias de experimento. Todos os animais adaptaram-se bem as condições de manejo e procedimentos.

Os cortes histológicos foram primeiramente analisados quanto ao número de fibroblastos e células inflamatórias existentes em três campos de grande aumento (40x), sendo feito à média aritmética destes campos (cada campo corresponde a 0,196 mm<sup>2</sup> utilizando-se uma objetiva n° 18). A avaliação da vascularização da amostra assim como a quantidade da deposição de colágeno foi subjetiva, sendo estabelecido um escore utilizando número de cruces que variam de 0/++++ a 4/++++ para deposição de colágeno e de 1/+++ a 3/+++ para o critério de vascularização. Em relação à deposição de colágeno o escore 0 (zero) refere-se a ausência de deposição enquanto o 4 refere-se a quantidade de colágeno normalmente encontrada no tendão sem lesão e os valores intermediários referem-se a leve (1), moderado (2) e acentuado (3) com o uso de ½ para valores intermediários entre estes escores. Para a avaliação da quantidade de vascularização foram utilizados apenas os escores leve (1), moderado (2) e acentuado (3) também com o uso de ½ para valores intermediários entre estes escores. Os valores individuais de cada animal encontram-se na tabela (Anexo 2).

#### 4.1 Achados microscópicos das lesões tendinosas no 3º dia

Nas análises microscópicas das lesões tendíneas obtidas através da biópsia no 3º dia os cortes corados por HE mostraram que o grupo controle apresentava proliferação de células inflamatórias, discreta quantidade de fibroblastos e nos cortes corados com Masson apresentavam uma discreta deposição de colágeno, além de uma leve formação de novos vasos. Em contrapartida, na avaliação microscópica do grupo tratado com laser na coloração HE foi observado baixo número de células inflamatórias e importante proliferação fibroblástica, na coloração Masson observou-se moderada deposição de colágeno e leve a moderada neovascularização.

Comparando de forma estatística os resultados obtidos entre as médias dos grupos controle e grupo laser pode-se observar uma diferença altamente significativa quanto à presença de células inflamatórias e proliferação fibroblástica ( $p < 0,001$ ).

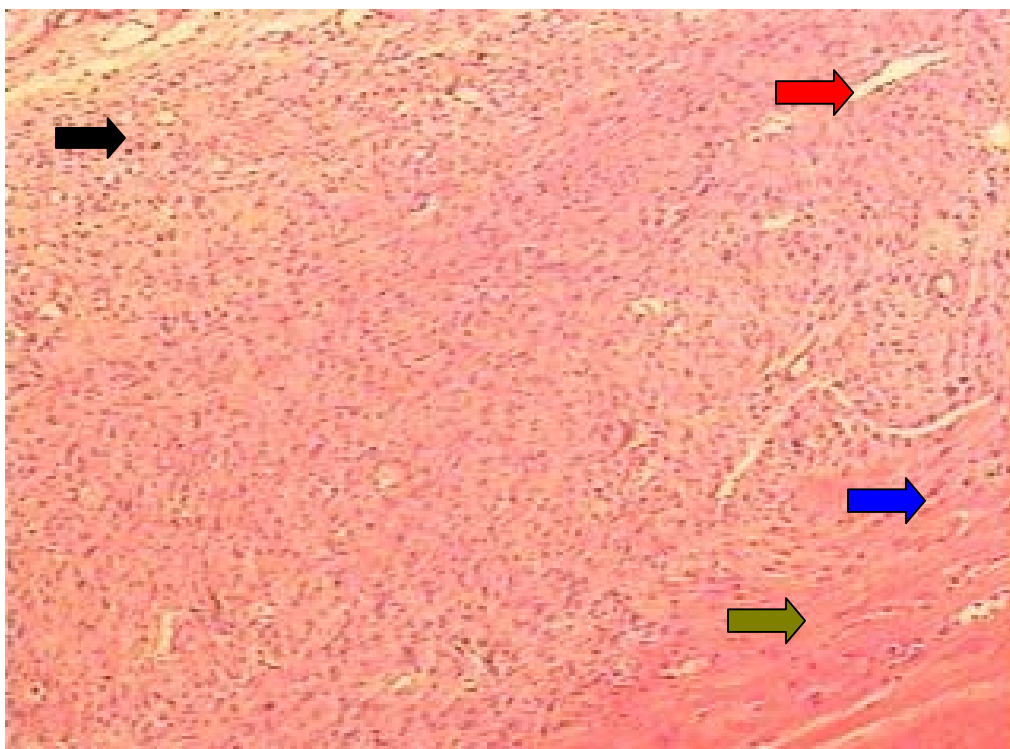


Figura 7: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Laser sacrificados no 3º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal evidenciando um baixo número de células inflamatórias e grande quantidade de fibroblastos. Aumento de 10x.

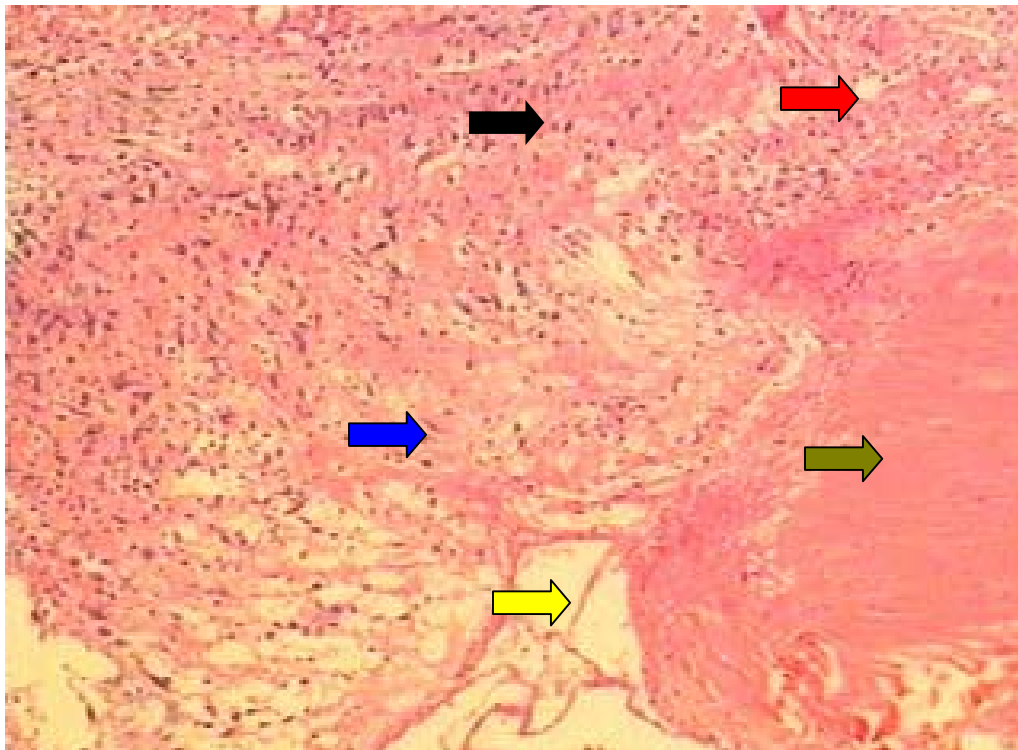
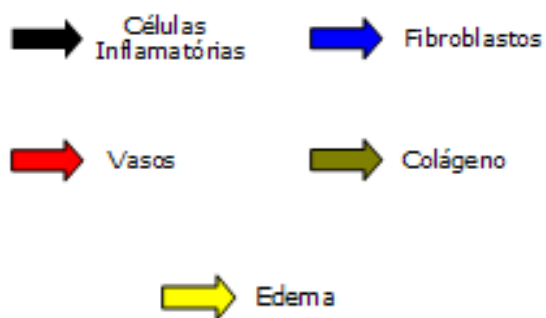


Figura 8: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle sacrificado no 3º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal, mostrando intenso edema, proliferação de células inflamatórias e poucos fibroblastos. Aumento de 10x.

### Legenda:



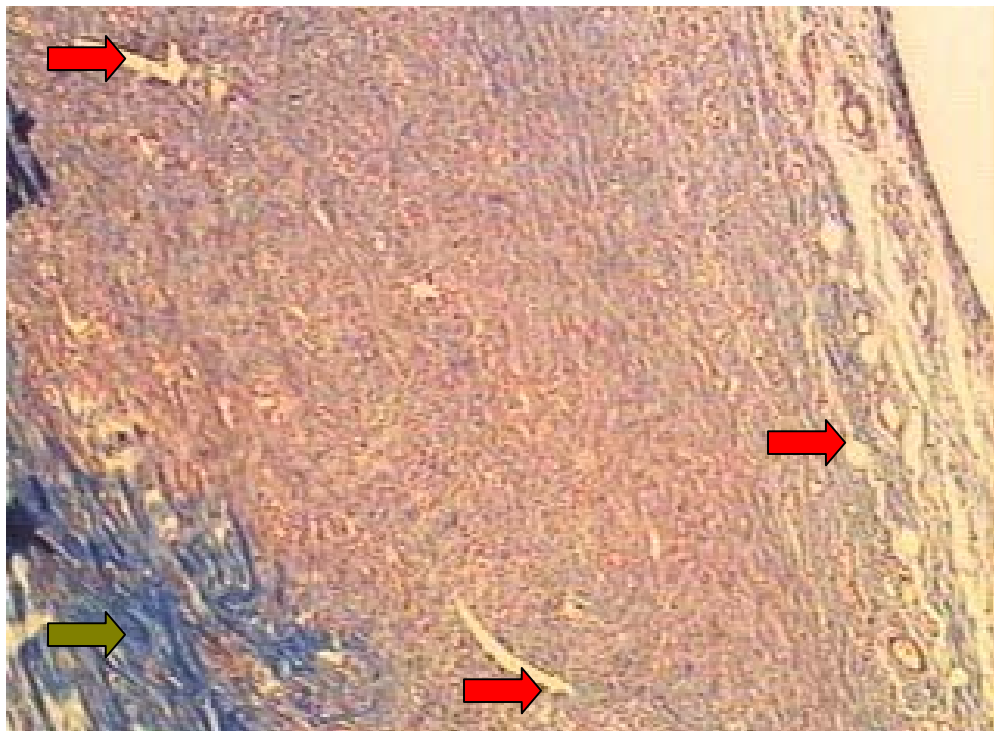



Figura 9: Microscopia do tendão do Grupo Laser no 3º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal apresenta moderada deposição de fibras colágenas e de leve a moderada formação de novos vasos. Aumento de 10x.

**Legenda:**

 Vasos

 Colágeno

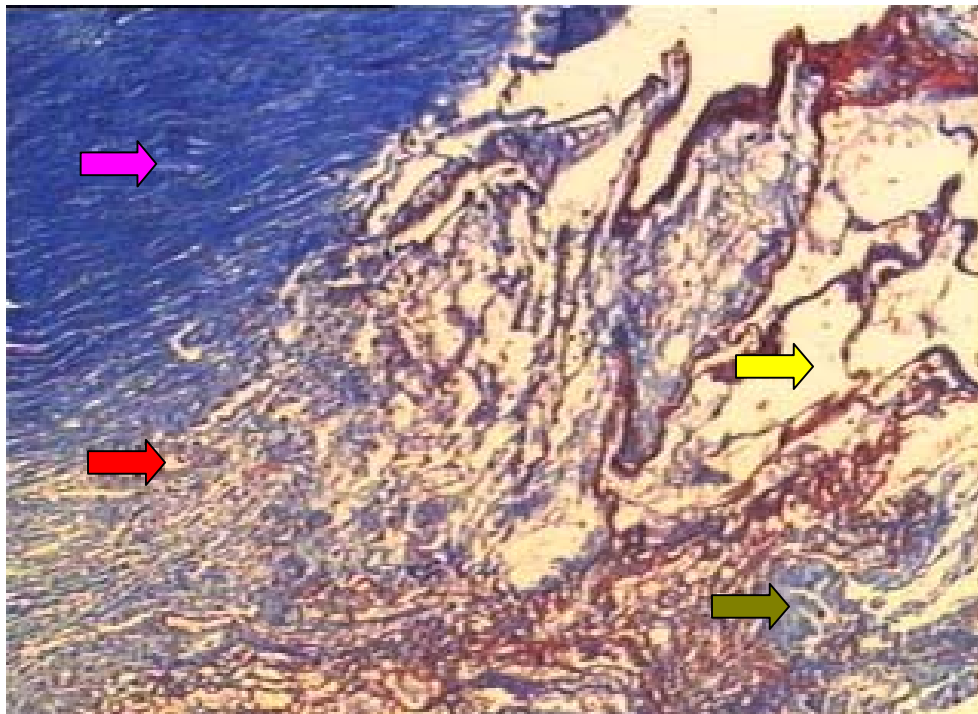


Figura 10: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle no 3º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal demonstrando discreta deposição de fibras colágenas e leve formação de novos vasos. Aumento de 10x.

**Legenda:**

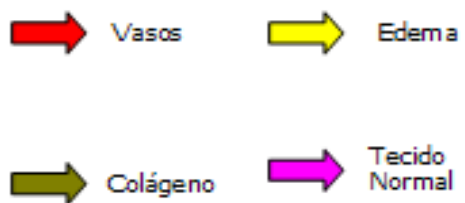


Tabela 2: demonstra a significância das células inflamatórias no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 3° dia.

<b>Grupos</b>	N	X ( <i>média</i> )	Dp ( <i>Desvio padrão</i> )	T	'p'
<b>Laser</b>	5	12,2	1,92	2,01	0,00000063
<b>Controle</b>	5	88,6	5,98		

Tabela 3: demonstra a significância dos fibroblastos no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 3° dia.

<b>Grupos</b>	N	X ( <i>média</i> )	Dp ( <i>Desvio padrão</i> )	T	'p'
<b>Laser</b>	5	355	44,73	2,13	0,00058
<b>Controle</b>	5	52,8	7,19		

#### 4.2 Achados microscópicos das lesões tendinosas no 7° dia

Nos aspectos microscópicos da lesão tendínea obtidas no 7° dia, segunda biópsia, os cortes corados por HE mostravam no grupo controle uma diminuição do processo inflamatório, porém ainda presente e um aumento na produção de fibroblastos. Nos cortes corados por Masson observou-se um quadro leve a moderado na deposição de colágeno e na neovascularização. Já no grupo tratado com laser na coloração HE foi evidenciado uma pequena quantidade de células inflamatórias e maior presença de fibroblastos no sítio da lesão. Na coloração Masson pode-se observar uma moderada deposição de colágeno e formação de novos vasos ao redor da lesão.

Comparando estatisticamente os resultados obtidos entre as médias dos grupos controle e tratados com laser pode-se observar uma diferença altamente significativa quanto à presença de células inflamatórias e proliferação de fibroblastos ( $p < 0,001$ ).



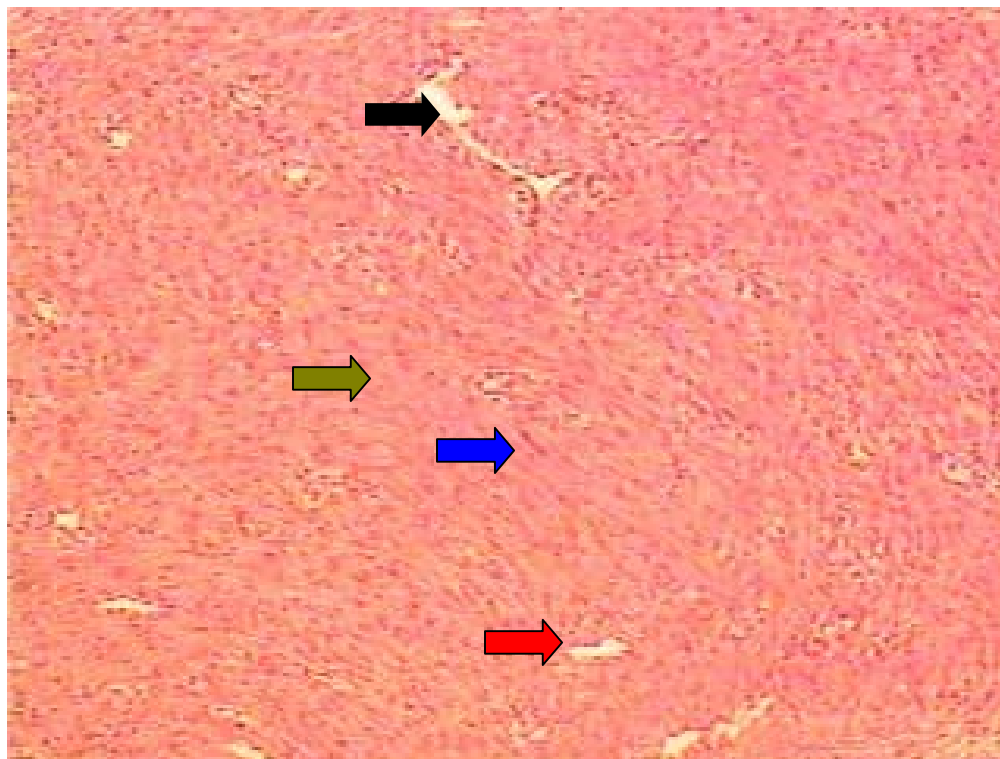


Figura 11: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Laser sacrificado no 7º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal, mostrando importante quantidade de fibroblastos e pouco número de células inflamatórias. Aumento de 10x.

**Legenda:**



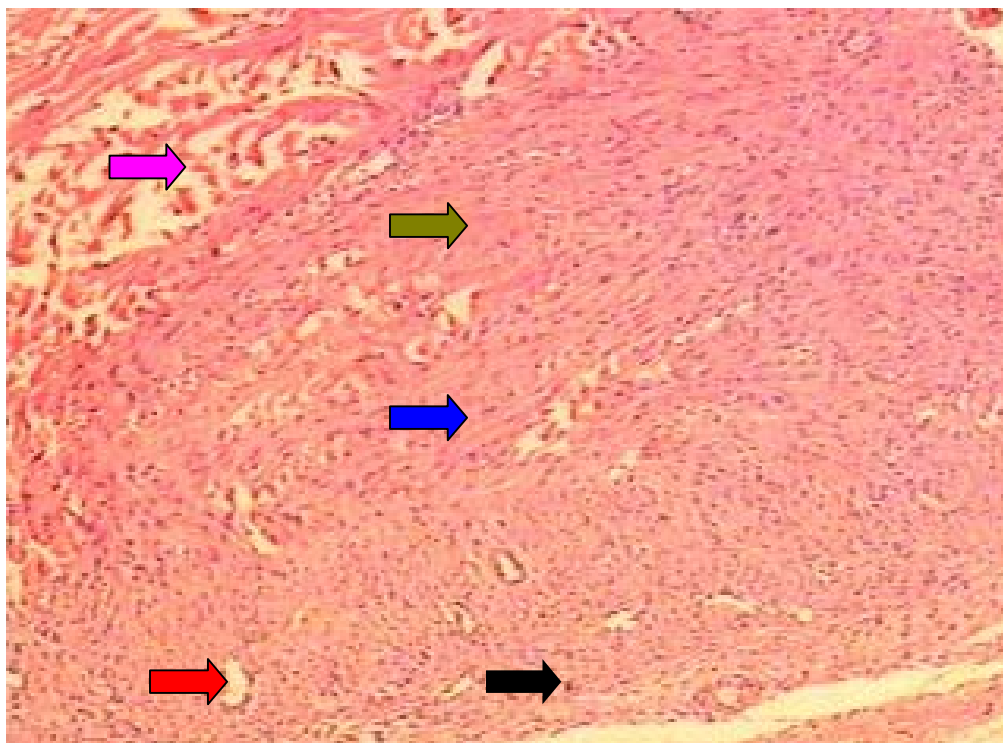


Figura 12: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle sacrificado no 7º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal, mostrando proliferação fibroblástica na área da lesão em menor quantidade quando comparada com o grupo irradiado e ainda persiste o quadro inflamatório em menor proporção. Aumento de 10x.

**Legenda:**



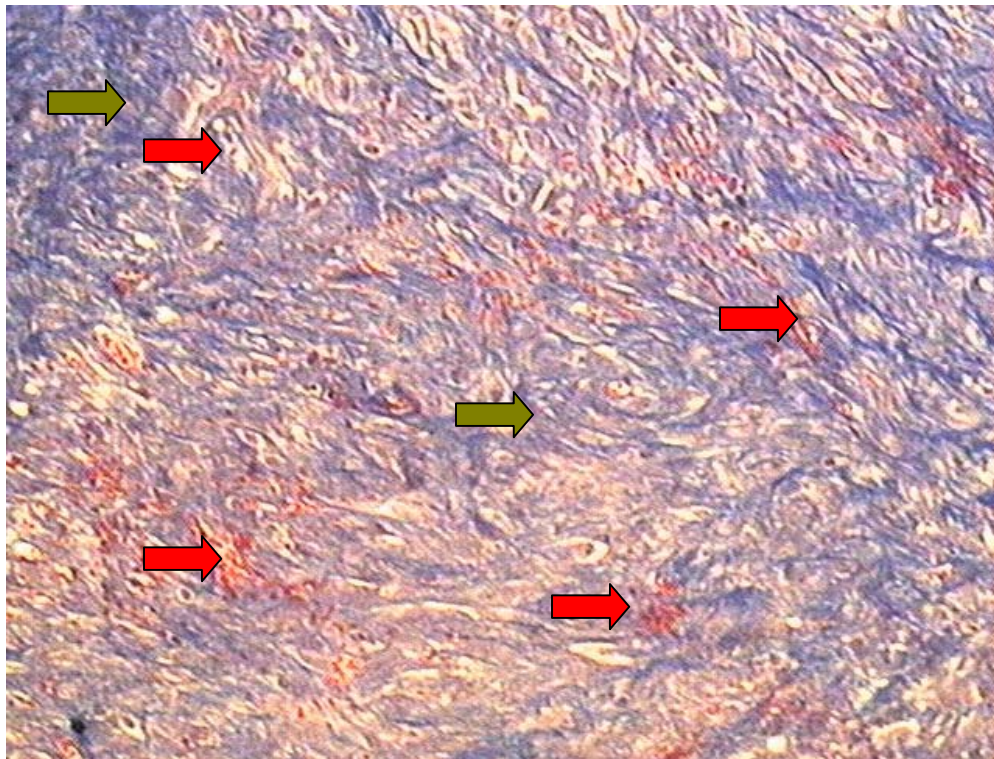



Figura 13: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Laser no 7º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal demonstrando moderada deposição de fibras colágenas. Aumento de 10x.

**Legenda:**

 Vasos

 Colágeno

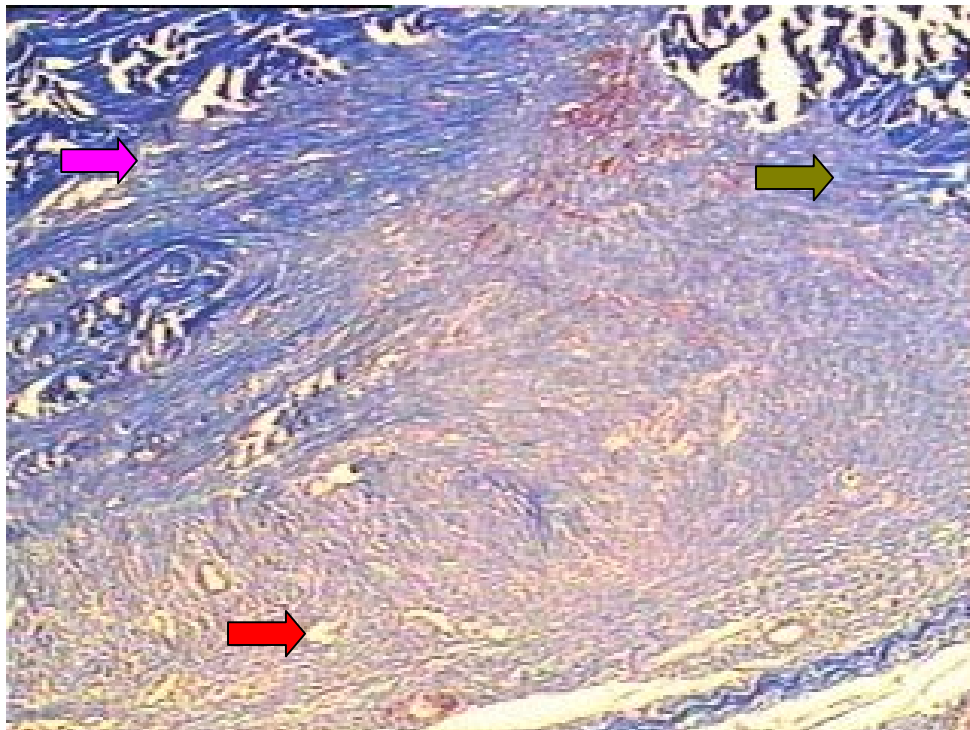


Figura 14: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle no 7º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal demonstrando deposição de colágeno de leve a moderada. Aumento de 10x.

### Legenda:




-  Vasos
-  Colágeno
-  Tecido Muscular

Tabela 4: demonstra a significância das células inflamatórias no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 7º dia.

<b>Grupos</b>	N	X ( <i>média</i> )	Dp ( <i>Desvio padrão</i> )	T	'p'
<b>Laser</b>	5	8,2	1,92	1,85	0,000000026
<b>Controle</b>	5	29,4	1,51		

Tabela 5: demonstra a significância dos fibroblastos no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 7º dia.

<b>Grupos</b>	N	X ( <i>média</i> )	Dp ( <i>Desvio padrão</i> )	T	'p'
<b>Laser</b>	5	454,8	59,43	2,13	0,000086
<b>Controle</b>	5	91,4	8,44		

## DISCUSSÃO

É importante elucidar que a intenção deste estudo é a observação das respostas fisiológicas no processo inflamatório do tecido tendinoso lesionado quando submetidos a laserterapia de baixa intensidade.

O rato foi o animal escolhido por favorecer o manuseio, tanto na lesão quanto na aplicação do laser, para tal, foram selecionados ratos adultos com peso médio de 280 gramas e idade adulta. Utilizamos uma dieta irrestrita e água.

A laserterapia de baixa intensidade na lesão tendinosa foi estudada por diversos autores que obtiveram resultados satisfatórios (ENWEMEKA, 1991; ENWEMEKA, 1992; GUM *et al.*, 1997; MURREL *et al.*, 1994) entre outros. Todavia, a maioria concluiu a necessidade de mais estudos para se obter resultados conclusivos mais fidedignos.

Os efeitos da laserterapia de baixa intensidade são dependentes da densidade de energia e tempo de exposição, além do comprimento de onda, a duração e frequência do pulso e até mesmo do tipo de laser pulsado ou contínuo (SCHLAGER *et al.* 2000).

O laser fosfeto de índio e gálio (InGaP) foi escolhido por possuir uma potência média de 18 mW maior que o infravermelho GaAs 8,5 mW e ser contínuo, o que diminui o tempo de exposição que foi achado através do cálculo matemático da densidade de energia em relação ao tempo. O tamanho reduzido do laser clínico facilitou o manuseio e aplicação. Estes dados foram medidos no laboratório de alta potência do IP&D - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba.

A dose utilizado foi de 4 joules por estar na faixa terapêutica sugerida por Rodrigues & Guimarães (1998) para efeito cicatrizante. Além disso, outros estudos foram realizados utilizando doses na faixa de 3 a 6 joules/cm<sup>2</sup> (KANA *et al.* 1981; TATURANAS *et al.*, 1998).

A caneta do laser foi posicionada em contato direto com a pele do animal num ângulo de 90° em relação ao tecido tendíneo a fim de diminuir a dispersão e aproveitar e energia emitida.

A aplicação da radiação laser foi iniciado no grupo experimental imediatamente após a sutura cutânea para maximizar os efeitos na fase inicial de cicatrização e manteve-se por mais sete dias consecutivamente na dose e tempo exposição estabelecida.

A utilização de óculos com lentes especiais para filtragem da radiação, além de proteger os olhos dos aplicadores dos possíveis efeitos danosos à retina não produzem desconforto e nem reduzem a acuidade visual (BENNETT, 1989; HANKE, 1990).

De acordo com Brugnera & Pinheiro (1998) os trabalhos com laser devem-se adequar as regulações brasileiras, aplicado-o em local isolado, identificado com caracteres e simbologia internacional para área em uso ou presença de radiação e acima de tudo, observando os critérios de segurança recomendados para o tratamento com o laser, tanto de baixa quanto alta intensidade. Evidências estas que foram contempladas em nosso experimento.

Os sacrifícios e retirada da amostra tendínea foram realizados após a aplicação do laser no 3° e 7° dias de pós-operatório para analisar a fase inicial, pois temos a intenção de prosseguir com o experimento nas fases proliferativas e de remodelação na conclusão do doutorado.

Pode-se observar que o laser de baixa intensidade do tipo InGaP é um método eficiente o tratamento de processos inflamatórios induzidos por lesões tendinosas parciais no tendão de Aquiles esquerdo de ratos.

Na comparação entre o grupo irradiado por laser e controle houve uma diferença estatística altamente significativa na fase inicial do processo de cicatrização prevalecendo uma diminuição das células inflamatórias e proliferação fibroblástica com maior deposição de colágeno e formação de novos vasos no grupo tratado com laser do que no controle. Estes resultados vão de encontro aos achados por Hallman *et al.* (1988) atestaram em sua pesquisa que o laser He-Ne na dose de 24,7 mW/cm<sup>2</sup> não se mostra efetivo na proliferação de células fibroblásticas. Outro estudo na mesma linha foi realizado por Bosatra *et al.* (1984) e encontrou resultados semelhantes aos achados em nossa pesquisa, registrando que há um aumento na proliferação de células,

principalmente fibroblastos, nos tecidos lesionados com a aplicação do laser de baixa intensidade.

Os maiores êxitos da laserterapia de baixa intensidade devem-se as respostas do tecido frente à irradiação, como redução de edema, diminuição dos processos inflamatórios, aumento na produção de fibroblastos e em consequência aumento da síntese colágena e reepitelização (BAXTER, 1994; GOGIA, 1995).

Taturanas *et al.* (1998), encontraram em sua pesquisa uma menor quantidade de inflamação após a aplicação do laser. Na mesma linha de pesquisa outros autores relataram o efeito antiinflamatório do laser na fase inicial de reparo (COLLS, 1984; SILVA *et al.* 1998).

Através das análises histológicas realizadas em cada sacrifício dos animais, pode-se observar que o laser induz notável diferença no processo inflamatório de cicatrização em tendão nos diferentes dias de tratamento, quando comparadas com o grupo controle. Evidências estas também vistas no trabalho de Carvalho *et al.* (2001) que relatou em seu estudo uma diminuição do processo inflamatório e aceleração na cicatrização muscular quando submetidos a laserterapia.

Ozkan *et al.* (1998) investigou o efeito da laserterapia de baixa intensidade em tendões flexores digitais em humanos, demonstrando ser um método eficiente na redução do edema. Estas evidências também foram observadas em nossa pesquisa, principalmente nos primeiros dias de experimento, mostrando que a laserterapia de baixa intensidade tem efeito antiedematoso, quando comparados com grupo controle que evidenciou na primeira biópsia presença de líquido no meio extracelular, caracterizando edema. Evidências estas que concordam com os achados histopatológicos de nosso experimento e discordam dos achados de Samar *et al.* (1995), De Bie *et al.* (1998) por concluírem que o laser não interfere de maneira positiva na redução de edema, resultados estes que podem estar relacionados à falha na eleição dos parâmetros adotados para o experimento.

O presente estudo apresenta uma diminuição do processo inflamatório quando comparados com o grupo controle nas duas coletas, resultados estes que estão em concordância com os achados de Romanos *et al.* (1995) e Guerino *et al.* (2000) e discordam dos achados por Vecchio *et al.* (1993) e Basford *et al.* (1998) que não evidenciam diminuição do processo inflamatório pela utilização do laser de baixa



intensidade os quais aplicaram laser arseneto de gálio alumínio de 830 nm na dose de 1 joule/cm<sup>2</sup> em duas aplicações semanais durante 8 semanas no tratamento de tendinite do manguito rotador de 16 pacientes e AsGaAl de 830 nm com potência de 33 mW durante 33 segundos, 3 vezes por semana durante 4 semanas no tratamento de fascite plantar de 32 sujeitos respectivamente.

Outro estudo que concorda com os achados em nossa pesquisa em relação à diminuição do processo inflamatório foi o de Haker *et al.* (1990) que obtiveram resultados efetivos com aplicação do laser GaAs de 904 nm e potência média de 12 mW, pulsado, de 2 a 3 vezes por semana num total de 12 sessões em 49 portadores de epicondilite lateral.

Na comparação entre as médias do grupo laser e controle no que diz respeito as células inflamatórias prevalecendo uma menor quantidade em números absolutos, porém houve uma diferença altamente significativa evidenciada no teste *t de Student*.

Diversos autores como Currier & Nelson (1992) relatam em seus estudos uma maior presença de fibroblastos na fase inicial do processo de reparo quando submetidos à aplicação da radiação laser em tecidos lesionados. Fato este evidenciado em nosso experimento e comprovado estatisticamente, havendo uma sobreposição do grupo irradiado sobre o controle também em números absolutos.

Pode-se observar na presente pesquisa um aumento crescente na deposição de colágeno durante a fase inicial de cicatrização, fatos estes também encontrados no estudo realizado por Tavares (2002), onde a terapia por laser proporcionou uma aceleração cicatricial na tenotomia calcânea em ratos, pelo aumento da deposição de colágeno, tanto na fase inicial como tardia do tratamento e no estudo Castro *et al.* (1983) que afirma ser a radiação laser do tipo He-Ne um estimulador da produção de colágeno pelos fibroblastos em até quatro vezes.

Outro estudo realizado por Reddy *et al.* (1998) mostrou que a fotoestimulação promovida pelo laser em tendões de Aquiles lesados em coelhos durante 14 dias foi eficiente por incrementar a produção de colágeno, resultados estes que entram em concordância com os achados da presente pesquisa.

Baxter (1988) relatou em seu estudo que o laser de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio estimula a proliferação fibroblástica e em consequência produção de

novas fibras colágenas. Outro estudo na mesma linha de experimento realizado por Anneroth *et al.* (1988) demonstrou os mesmos achados. Os resultados obtidos na presente pesquisa vão ao encontro dos resultados acima citados por mais que se usou outro comprimento de onda, porém discordam dos alcançados por Schmitt *et al.* (1993) que realizou uma análise histológica nas lesões tendinosas em cães e não identificou produção de fibroblastos e síntese de fibras colágenas, fato este que pode estar relacionado à densidade de energia e o tempo de exposição da radiação laser sobre o tecido lesado.

Na comparação subjetiva da análise da deposição de colágeno na lesão tendínea induzida em ratos de nosso experimento, o grupo irradiado por laser mostrou haver uma maior quantidade do que o grupo controle nos campos analisados.

Bibikova *et al.* (1994) em seu estudo demonstraram que a laserterapia de baixa intensidade promove uma neovascularização no sítio da lesão, fatos este também evidenciados nos estudos de Herrero (1988), Roig *et al.* (1990) e Schindl *et al.* (2002). Compararam-se subjetivamente os grupos com relação à formação de novos vasos, onde se observou uma maior prevalência no grupo tratado com laser do que no grupo controle.

Gigante *et al.* (2003) relataram um aumento da neovascularização, principalmente na fase inicial da lesão, evidências estas que concordam com os achados da presente pesquisa por notar histologicamente um aumento na rede vascular nos primeiros sete dias de tratamento.

De acordo com a literatura analisada e os resultados evidenciados em nossa pesquisa, somos favoráveis à utilização do laser desde fase inicial das lesões tendinosas por promover uma série de eventos favoráveis a uma cicatrização mais eficiente e rápida.

Faz-se necessário ainda pesquisas com diferentes comprimentos de onda, tipos de laser, dosagens e tempos diferentes para analisar as distintas respostas e conhecermos a interação do laser de baixa intensidade.

## CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos na presente pesquisa experimental pode-se concluir que:

1. A laserterapia de baixa intensidade do tipo índio gálio fósforo interfere de maneira positiva na cicatrização tendinosa de lesões induzidas em ratos por incrementar a atividade fibroblástica, deposição de colágeno e formação de novos vasos principalmente na fase inicial da lesão.
2. O grupo irradiado pelo laser obteve uma redução no número de células inflamatórias e aumento número de fibroblastos altamente significativo quando comparados com o grupo controle, contribuindo dessa forma para diminuir a inflamação e acelerar a cicatrização na fase inicial de lesão.
3. A análise subjetiva realizada na avaliação microscópica quanto à deposição de colágeno e formação de novos vasos quando comparados com o controle mostraram uma tendência positiva em relação à média no grupo irradiado por laser.
4. A dosimetria empregada na pesquisa não provocou nenhum dano tecidual observado pela microscopia óptica.
5. Sugere-se, para outros trabalhos que tenham interesse em aprofundar as pesquisas na área de laserterapia de baixa intensidade em tendões, que se realize com uma amostragem maior ou animais da mesma origem genética para facilitar a análise microscópica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERGEL, R. P; MEEKER, C; LAM, T; DWYER, R. M; LYONS, R. F; CASTEL, J. C. Control of connective tissue metabolism by laser. Recent developments and future prospects. **Dermat Surg Oncol**, v.11, p. 1142-1150, 1984.

ABERGEL, R; LYONS, R; DWYER, R; CASTEL, J; UITTO, J. Bioestimulation of wound healing by lasers: Experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. **J. Dermatol**, v.13. n. 2, p. 127-133, 1987.

ALBERTINI, R; CORREA, F; RIBEIRO, W; COGO, J. C; ANTUNES, E; TEIXEIRA, S; DE NUCCI, G; FARIA NETO, H. C; ZÂNGARO, R. A; MARTINS, R. A. Análise do efeito do laser de baixa intensidade (AsGaAl) no modelo de inflamação de edema de pata de ratos. **Fisioterapia Brasil**, v.2, n.1, p. 05-09, 2002.

ALMEIDA LOPES, L. **Análise in vitro da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa intensidade. 1999.** 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Universidade do Vale do Paraíba, 1999.

ANNEROOTH, G; HALL, G; RYDEN, H; ZETTERQVIST, L. The effect of low energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **British Journal of oral and Maxillofacial surgery**, v. 26, n.1, p. 12-17, 1988.

ARNOLD, E. **Medicina Esportiva.** Londres : Butterworths: 1976.

BALBONI, G; ZONEFRATI, R; BRANDI, M; REPICE, F. Effects of HeNe-Infrared laser radiation on who lines of normal human fibroblasts in vitro. **Arch. Ital. Anat. Embriol**, v.91, n.3, p. 179-188, 1986.

BANKS, William J. **Histologia Veterinária Aplicada.** 2.ed. Sao Paulo: Manole, 1991.

BASFORD, J. R. Low-energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope on hokum. **Mayo Clinic Proceedings.** v. 61, n.8, p. 671-675, 1986.

BASFORD, J. R; MALANGA, G. A; KRAUSE, D. A; HARMSEN, W. S. Randomized controlled evaluation of low intensity laser therapy: Plantar fasciitis. **Arch Phys Med Rehabil**, v.79, p. 249-254, 1998.

BASFORD, J. Low-energy laser therapy. **Lasers in Surgery Medicine**, v.09, n., p. 1-5, 1989.

BASFORD, J. Low intensity Laser Therapy: Still not a established clinical toll. **Lasers in surgery and medicine**; v.16, 1995.

BAXTER, G. M. Wound healing and delayed wound closure in the lower limb of the horse. **Equine Pract.**, v.10, p. 23-31, 1988.

- BAXTER, G. D. **Therapeutic laser**. New York: Churchill Livingstone, 1997. p. 1-9.
- BAXTER, G. L; BELL, A. J; ALLEN, J. M; RAVEY, J. Low level laser therapy. Current clinical practice in Northern Ireland. **Physiotherapy**, v. 77, p. 171-178, 1991.
- BAXTER, G. D. **Therapeutic laser: theory and practice**. New York: Churchill Livingstone, 1994.
- BAXTER, G. D. Laserterapia de baixa intensidade. In: KITCHEN, Scheila; BAZIN, Sarah. **Eletroterapia de Clayton**. São Paulo: Manole, 1998.
- BENNETT, G. L. Laser use in foot surgery. **Foot & ankle**, v. 10, n.2, p. 110-111, 1989.
- BIBIKOVA, A; BELKIN, V; ORON, U. Enhancement of angiogenesis in regenerating gastrocnemius muscle of the toad by low-energy laser irradiation. **Anatomy and embryology**; v. 190, p. 597-602, 1994.
- BISHT, D. et al. Effect of low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Indian J. Med. Res**, v. 12, n.4, p. 89-93, 1994.
- BOECHAT, A. Princípios básicos dos lasers. **Revista de cosmiatria e estética**, n.37, jan/mar, 1999.
- BOSATRA, M; JUCCI, A; OLLIARO, D; SACCHI, S. In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser radiation at low energy. **Dermatologica**, n.168, p. 157-162, 1984.
- BOULTON, M ; MARSCHALL, J. He-Ne laser stimulation of human fibroblast proliferation and attachment in vitro. **Lasers in Life Sci**, v.1, p. 125-134, 1986.
- BRAVERMAN, B; MCCATHY, R. J; IVANKOVICH, A, D. Effect of helium-Neon and infrared laser irradiation o wound healing in rabbits. **Laser in Surgery and Medicine**, v.09, p. 50-58, 1989.
- BRUGNERA JR, A; PINHEIRO, A L. **Lasers na odontologia**. . São Paulo: Pancast, 1998.
- BULIAKOVA, N. ; AZAROVA, U. **Regeneration of gastrocnemius muscle and state of immune system in radiation rats under the influence of HeNe laser**. Moscou: Severtsov Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Sciences, 2002.
- BURGDZHEVA, T. The laser therapy of regenerative tissue processes in long term nonhealing postoperative wound dehiscence. **Khirurgiia Sofia**, v. 42, n. 6, p. 28-32, 1989.
- CASTRO, D. J; ABERGEL, P; MEEKER, C; DWYER, R; JONHSTON, K. Effects of Nd-YAG laser on DNA syntesis and collagen prodution in human skin fibroblast cultures. **Annals Plast Surg**, n.3, p. 214-222, 1983.
- CARRATA, A; BRITTO, M. **O uso do laser de 905nm na reparação de feridas abertas**. 2004. 54f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) – Faculdades Adamantinenses Integradas – FAI, São Paulo, 2004.

CARLSTEDT, C.A. Mechanical and chemical factors in tendon healing: Effects of indomethacin and surgery in the rabbit. **Acta Orthopaedica Scandinavica**; v. 58, n. 224, p. 1-75, 1987.

CARVALHO, F; COELHO, A; ROSA, J; FERREIRA, M. Os efeitos do laser arseneto de gálio na regeneração de solução de continuidade em ratos. In: FÓRUM CLÍNICO E CIENTÍFICO DE FISIOTERAPIA. **Anais...** p. 17-18, 2002. aconteceu onde o evento? como posso localizar esta informação?

CHIESA, F; SANTOS, L. **Estudo comparativo dos efeitos do laser e do ultra-som no processo de cicatrização cutânea em ratos**. 2000. 45f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) – Universidade de Cruz Alta, 2000.

CHIESA F; CECCHETTI, A; CHAGAS, A. **Estudo comparativo dos efeitos do laser e do ultra-som na cicatrização muscular em ratos**. 2004. 52f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) - Universidade de Passo Fundo, 2004.

CHIESA, F; LAZAROTTO, S. **Efeitos das radiações laser GaAs sobre o processo de cicatrização tendinosa em ratos**. 2005. 65f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) - Universidade de Passo Fundo, 2005.

COLLS, J. **La terapia Laser hoy**. Barcelona: Centro documentacion Laser de Meditec, 1984.

COLLS, J. Enfoque conceptual de las radiaciones eletromagnéticas. **Boletim do Centro de Documentación Láser fr Meditec**, n. 15-16, 1988.

CORMAK, D. H. **Ham Histologia**; 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

COTRAN, R. S; KUMAR, V; ROBBINS, S. L. **Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. cap.3.

COTTERILL, J. A. **The use of lasers in dermatology**. The practitioner, v. 228, n. 1397, p. 1033-1038, 1984.

CRUAÑES, J. C. **La terapia láser, Hoy**. Barcelona, Centro Documentación Láser de Meditec, 1984.

CURRIER, D.; NELSON, R.M. Dynamics of Human Biologic Tissue. In: ENWEMEKA, C.S; SPIELHOLZ, N.I. **Modulation of Tendon Growth and Regeneration by Electrical Fields and Currents**. Philadelphia: F.A. Davis Company: 1992. cap. 3, p. 231-254.

DANGELO, J. G; FATTINI, C. A. **Anatomia Humana Básica**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 4.

DEL BUE, M et al. Laserterapia in medicina veterinaria. **Practice veterinary modern**. n. 36, p. 258-260, 1982.

De BIE, R. A. et al. Low level laser therapy in ankle sprain. A randomized clinical trial. **Arch. Phys Med Rehabil**, n. 79, p. 1415-1420, 1998.

- DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicado à ciência da saúde**. 4. ed. São Paulo: Robe, 2000.
- ENGLAND, S. et al. Lower power laser therapy of shoulder tendinitis. **Scand. Journal Rheumatology**. n. 18, p. 427-431, 1989.
- ENWEMEKA, C.S. Inflammation, cellularity, and fibrillogenesis in regenerating tendon: implications for tendon rehabilitation. **Physical Therapy**; v.69, n.10, p.12-24, 1989.
- ENWEMEKA, C.S. Functional loading augments the initial tensile strength and energy absorption capacity of regenerating rabbit Achilles tendons. **Am. J. Phys. Med. Rehabil**; v. 71, p.31-37, 1992.
- ENWEMEKA, C. S. Membrane-bound intracellular collagen fibrils in fibroblast and myofibroblast of regenerating rabbit calcaneal tendons. **Tissue and Cells**; v.2, n.23, p.173-190, 1991.
- FURLANETTO, B. H; PUIG, L. B; MACRUZ, R; ARMELIN, E; FRANÇA, L; MNINTENTAG, J; VERGINELLI, G; LOPES, E. A; JATENE, A. D. Estudo experimental da ação do raio laser sobre as cordas tendíneas da válvula mitral. **Arq. Brás. Cardiol**, v. 43, n. 2, p. 93-96, 1984.
- GENOVESE, J. W. **Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Lovise, 2000.
- GEBAUER, D; CONSTANTINESCU, M. A. Efeito of laser on tissue collagen. **J. Med. Vet**. v.1, n. 36, p. 258-260, 1982.
- GIGANTE et al. Effect elastin in Achilles tendon: The experimental study. **Mater Med**. p. 37, Aug, 2003.
- GONZALEZ, M. V. & CRUAÑAS, J. C. Comportamiento de luz en la interacción con los tejidos, en especial el laser de baja potencia. **Boletim do Centro de Documentación Laser de Meitec.**, n. 15-16, p. 6-21, 1988.
- GOGIA, P. P. **Laser Treatment. Clinical Wound Management**. Nova York: Slack Incorporated, 1995.p. 177-178.
- GOOSSENS, A; ENDERBY, C. Fundamentals of medical lasers. **Gastrointestinal endoscopy**, v. 30, n. 30, p. 70-76, 1984.
- GOLDMAN, J. A; CHIAPELLA, J; CASEY, H; BASS, N. Laser therapy of rheumatoid arthritis. **Lasers in surgery and Medicine**, n. 1, p. 93-101, 1980.
- GUIRRO, E; GUIRRO, R. **Fisioterapia em estética: Fundamentos, recursos e patologias**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003.
- GUYTON, A; HALL, J. **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
- GUM, S.L. et al. Combined ultrasound, electrical stimulation and laser promote

collagen synthesis moderate changes in tendon biomechanics. **Am. J. Med. Rehabil**; v.76, p.288, 296, 1997.

GUERINO, M. R; BARANAUSKAS, V; GUERINO, A. C; PARIZOTTO, N. A. Laser treatment of experimentally induced chronic arthritis. **Applied Surface Science**, v. 154, n. 155, p. 561-564, 2000.

HERERRO, C; COLLS, J; VELEZ, M. Las dosimetrias en equipos da baja potencia. **Boletim do Centro de documentos de Laser de Meditec**, n. 15-16, p. 31-36, 1988.

HALA, A. Z. Os efeitos do laser GaAs na regeneração de solução de continuidade em ratos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA, São Paulo, SP. **Anais...** 2002. São Paulo: [s.n.], 2002. p. 20-23.

HALLMAN, H; BASFORD, J; O'BRIEN, J; CUMMINS, L. Does low-energy helium neon laser irradiation alter in vitro replication of human fibroblasts. **Lasers in Surgery and Medicine**, n. 8, p. 125-129, 1988.

HEBERT, Sizinio. **Ortopedia e Traumatologia: princípios e prática**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

HANKE, C.W. Lasers in dermatology. **Indiana Medicine**, v. 83, v. 6, p. 394-402, 1990.

HAKER, E. H. K. ; LUNDEBERG, T. C. M. Laser treatment applied to acupuncture points in lateral humeral epicondylalgia. A double blind study. **Pain**, n. 43,p. 243-247, 1990.

HERCH, J. ; TERESI, D. **El rayo laser**. Barcelona: Salvat Editores 1987.

HILÁRIO, M. Softlaser: Um novo recurso terapêutico. **Ciência Hoje**, v.7, n. 8, p. 8, 1988.

HILLENKAMP, F. Laser radiation tissue interaction. **Health Physics**, v. 56, n. 5, p. 613-616, 1989.

HOLLENSHEAD, W. H. **Livro texto de Anatomia Humana**. São Paulo: Harbra – Harper & Row do Brasil.1980. cap. 3.

ISMAILOV, D; KHOROSHAEV, V; SHISHKIN, M; BAIBEKOV, I. Combined use of various radiations in thoracic surgery in experimental studies. **Grud. Serdechno sosudistaia Khir**, n. 4, p. 42-45, 1993.

JUNQUEIRA, L; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1995. 249p.

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. 11-23, 1981.

KARU, T. et al. **The Science of Low power laser therapy**. Melbourne: Gordon and Breach Science Publishers, 1995.



KITCHEN, S; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10. ed. São Paulo: Manole, 1998. 321p.

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

KITCHEN, S; YOUNG, S. Reparo dos tecidos. In: KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia: pratica baseada em evidencias**. 2.ed. São Paulo: Manole, 2003.

KITCHEN, S. **Eletroterapia: prática baseada em evidências**. 11.ed. São Paulo: Manole, 2003.

KLIDE, A. M. The use of non-surgical lasers in equine practice: equipment and concepts. In :ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINESPRACTITIONERS, New York, 1983.**Anais...** . New York: AAEP, 1983. n. 89, p. 225-232.

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

LIANZA, S. **Medicina de Reabilitação**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

LYONS, R. F; ABERGEL, R. P; WHITE, R. A; DWYER, R. M; CASTEL, J; UITTO, J. Biostimulation of wound healing in vivo by a He-Ne laser. **Annals of Plastic Surgery**, v. 18, n. 1, p. 47-50, 1987.

MARQUES, A. B. V. Raios Laser: sua história, noções de física e aplicações médicas. **Revista Portuguesa de Estomatologia e cirurgia maxilo-facial**, v. 26, n. 2, p. 151-167, 1985.

MURREL, G. A. C. et al. Effects of immobilization on Achilles tendon healing in a rat model. **Journal of orthopaedic Research**, v.12, n.4, 1994.

MCKIBBIN, L. S. Use of laser light to treat certain lesions in standardbreads. **Modern Veterinary Practice**, v.1, n.3,p. 210-213, 1984.

MESTER, E; MESTER, A. F; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Laser Surg Med**, v.5, n. 1, p. 31-39, 1985.

MESTER, E; BOTH, A; SPIRY, T; TISZA, S. The effects of radiation laser in the regeneration of muscle fiber. **Z. Exper. Chirurg**, v. 8, n. 4, p. 258-262, 1975.

MORRONE, G; GUZZARDELLA, G; ORIENTI, L; GIAVARESI, G; FINI, M; ROCCA, M; TORRICELLI, P; MARTINI, L; GIARDINO, R. Muscular trauma treaded with a GaAlAs diode laser: In vitro experimental study. **Lasers in medical science**, v. 13, n. 4, p. 293-298, 1998.

OLIVEIRA, N. L; PARIZZOTTO, N. A; SALVANI, T. F. GaAs (904nm) laser radiation does not affect muscle regeneration in mouse skeletal muscle. **Laser in surgery and medicine**, v. 25, n2., p. 13-21, 1999.

ORTIZ, M. C; CARRINHO, P. M; SANTOS, A. S; GONÇALVES, R. C; PARIZOTTO, N. A. Laser de baixa intensidade: Princípios e generalidades - *parte I e II*. **Fisioterapia Brasil**: v. 2, n. 4-6, p. 221-240, 337-352, 2001.

OSHIRO T. **Low reactive-level laser therapy practical application**. Chichester: Jonh Wiley & Sons. 1991.

OZKAN, N. Investigation of the additional effect of GaAs laser therapic in the rehabilitation of tendons human digital flexors. **Archives of veterinary Science**. v. 4, n. 1, p. 27-33, 1998.

PARRISH J; DEUTSCH, T. Laser photomedicine. **IEEE Journal of Quantum eletronics**, n.12, p, 1386-1396, 1984.

PASSARELLA S; CASAMASSIMA, E; MOLINARI, S; PASTORE, E; QUAGLIANIELLO, E; CATALANO, I. M; CINGOLANI, A. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rats tendon. In: CONGRESS WORLD ASSOCIATION OF LASER THERAPY, 2., Kansas,(TX), 1984. **Proceedings...**, 1984.

PIMENTEL, G. L. **Utilização de biomaterial bovino em falhas tendíneas**. 2001. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Movimento Humano) – Centro de Educação Física, Fisioterapia e Desportos da Universidade do Estado de Santa Catarina, 2001.

PRETINCE, W. E; VOIGHT, M. L. **Técnicas em reabilitação músculoesquelética**. Porto Alegre: Artmed, 2003.

RE, F. ; VITERBO, S. Anilisi deger effetti biologic dei soflaser. **Minerva Stomatologica**, v.. 34, n. 2, p. 357-359, 1985.

REDDY, G.K.; STEHNO-BITTEL, L.;ENWEMEKA, C.S. **Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achiles tendons; Physical Therapy and Rehabilitation Science**,v.22, p. 281-287, 1998.

REDDY, G. K. et al. Biochemistry and biomechanics of healing tendon: part II effects of combined laser therapy and electrical stimulation. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.30, n.6, p. 794-800, 1998.

RIBARI, O. The stimulating effect of laser rays: experimental examinations in otorhinolaryngology. **Revue de Laryngologie**, v.102, n 11-12, p. 531-533, 1981.

RICHAND, P. ; BOULNOIS, J. L. La radiazioni laser nella terapia medica. **Minerva Medica**, v. 74, n. 27, p. 1675-1682, 1983.

RIGAU, J; TRELLES, M. A; BERNS, M. W. Effects of the 633nm. Laser on the behavior and morfology of primary fibroblast culture. Effects of low power lighth on biological systems, **Proceedings SPIE** , n.2630, p. 38-42, 1995.

RODRIGUES, E. M. ; GUIMARÃES, C. S. **Manual de Recursos Terapêuticos**. Revinter: Rio de Janeiro, 1998.

- ROIG, J. L.G et al. Tratamiento de las úlceras por Presion en el Lesionado Medular com Laser de Baja Potencia y Cirurgia. *Apresentation de um caso. Rev. Cuba Ortop. Traumatologia.* v.4, n.2, 1990.
- ROMANOS, G; PELEKANOS, S; STRUB, J. A comparative histological study of wound healing following Nd: YAG laser with different energy parameters and conventional surgical incision I rat skin. **Journal of clinical laser Medicine & surgery.** v.14, n.2, p.27-34, 1995.
- SAMAR, M. E; AVILA, R. E; JURI, H. O; PLIVELIC, T; FABRO, S. P. Histopathological alterations induced by He-Ne in the salivary glands of the posthatched chicken. **Journal of clinical laser Medicine & surgery,** n. 4, p. 267-272, 1995.
- SCHINDL, A; HEINZE, G; SCHINDL, M. Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetis micriangiopathy. **Microvascular Research,** n 64, p. 240-262, 2002.
- SCHIMITT, I. *et al.* Os efeitos da radiação laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.,** v.30, n.2, p. 145-149, 1993.
- SCHLAGER et al. Laser light in the healing of burns: A comparison between two different wavelengths (635 nm and 690 nm) and placeb group. **Laser Surg. Med.,** v.277, n. 22, p. 3942, 2000.
- SILVA, E. C; FILHO, A. H; MUSSKOPF, D. E. *Radiação Laser.* In: RODRIGUES, E. M. **Manual de Recursos Terapêuticos.** Rio de Janeiro: Revinter.1998. cap.3.
- SIQUEIRA, E; DANTAS, A. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação.** Rio de Janeiro: Medsi, 2000.
- SLINEY, D. H. Laser tissue interactions. **Clinics in chest Medicine,** v. 6, n. 2, p. 203, 208, 1985.
- TATURANAS A. C; MATERA, J. M; DAGLI, Z. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização no gato doméstico pela utilização do laser de baixa intensidade (904nm). **Acta Cirúrgica Brasileira,** v. 13, n.2, p.236-239, 1998.
- THOMAS, D. R. Age-Related changes in wound healing. **Drugs & Aging:** v.18, n.8, 2001.
- TRELLES, M. A. **Softlaser – Terapia Manual de empleo terapêutico de los laser de baja intensidad.** Madrid: Enar, 1982.
- TRELLES, M. A; MAYAYAO, E. Bone fracture consolidates faster with low power laser. **Lasers in Surgery and medicine,** v1, n. 7, 36-45, 1987.
- TUNER, J; HODE, L. **Low level laser therapy.** Clinical practice and scientific background. Estocolm - Sweden: Prima Books, 1999.
- VECCHIO, P; CAVE, M; KING, V; ADEBAJO, A. O; SMITH, M; HAZLEMAN, B. L. A

doublé blind study of the effectiveness of low laser treatment of rotator cuff tendinitis. **British Journal of Rheumatology**; v. 32, n.3, p.05-08, 1993.

VEÇOSO, M. C. **Laser na fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993.

VICENZI, C; WANG, E. D. Tendon Repair. J Hand Ther. **Biomecânica da lesão músculo-esquelética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998.

WHITING, W; ZERNICHE, R. **Biomecânica da lesão músculoesquelética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

WANDERER, C. **Avaliação clínica, macro e microscópica dos efeitos das radiações laser sobre o processo de cicatrização cutânea em cães**. 1991. Dissertação ( Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária de Santa Maria, Universidade de Santa Maria, 1991.

YAAKOBI, T; MALTZ, L; ORON, U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser irradiation. **Calcified Tissue International**, n. 59 p.297-300, 1996.

ZÂNGARO, R. **Interação laser tecido biológico**. Produção científica do Mestrado de Bioengenharia da Universidade do Vale do Paraíba, 2004. [Polígrafo]

## ANEXO A - Protocolo de irradiação

### PROTOCOLO DE IRRADIAÇÃO

Autor: Fabiano Chiesa

Orientador: Egberto Munin

Título: Efeitos da radiação laser de baixa intensidade sobre a fase inicial da cicatrização de lesão tendínea em ratos

Tipo do Laser: Fosfeto de índio e gálio

Potência média: 18 mW

Modo do Operação: contínuo

Dose: 4 joules

Área do feixe: 1 mm<sup>2</sup>

Distância de aplicação: em contato perpendicular

Modelo do Laser: Phisyolux Dual da marca BIOSET

Comprimento de onda: 658,4 nm

Área tratada: tendão de Aquiles esquerdo (2mm)

Tempo de aplicação: 222 segundos (3'42'')

Nº de aplicações: variadas conforme o desenho experimental

Nº de cobaias: 20 ratos wistar machos

Intervalo entre aplicações: 24 horas

**ANEXO B – Escores brutos**

**RESULTADOS 3º DIA DE EXPERIMENTOS**

	Ratos	Células inflamatórias	Fibroblastos	Deposição de colágeno	Neovascularização
G1SG1		11	301	2/++++	1½ /+++
		10	354	2/++++	1½ /+++
		15	407	2/++++	1½ /+++
		13	391	2/++++	1½ /+++
		12	322	2/++++	1½ /+++
MÉDIA		<b>12,2</b>	<b>355</b>		
DESV PAD		<b>1,923538406</b>	<b>44,73812692</b>		
G2SG1		80	44	½ /++++	1/+++
		88	51	½ /++++	1/+++
		96	62	½ /++++	1/+++
		92	58	½ /++++	1/+++
		87	49	½ /++++	1/+++
MÉDIA		<b>88,6</b>	<b>52,8</b>		
DESV PAD		<b>5,983310121</b>	<b>7,190271205</b>		

**RESULTADOS 7º DIA DE EXPERIMENTOS**

	Ratos	Células inflamatórias	Fibroblastos	Deposição de colágeno	Neovascularização
G1SG2		6	392	2/++++	1/+++
		11	504	2/++++	2/+++
		7	388	2/++++	2/+++
		8	489	2/++++	1/+++
		9	501	2/++++	2/+++
MÉDIA		<b>8,2</b>	<b>454,8</b>		
DESV PAD		<b>1,923538406</b>	<b>59,43652076</b>		
G2SG2		29	81	1½ /++++	1½ /+++
		31	92	1½ /++++	1½ /+++
		30	85	1½ /++++	2/+++
		27	98	1½ /++++	1½ /+++
		30	101	1½ /++++	1½ /+++
MÉDIA		<b>29,4</b>	<b>91,4</b>		
DESV PAD		<b>1,516575089</b>	<b>8,443932733</b>		

ANEXO C – Tratamento estatístico

**EXCEL FOR WINDOWS**

(Variável 1: **Laser** e Variável 2: **Controle**)

Resultados Células inflamatórias 3º dia

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	12,2	88,6
Variância	3,7	35,8
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	5	
Stat t	27,18190016	
P(T<=t) uni-caudal	6,30373E-07	
t crítico uni-caudal	2,015049176	
P(T<=t) bi-caudal	1,26075E-06	
t crítico bi-caudal	2,570577635	

**Corrigido**

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	<b>12,2</b>	<b>88,6</b>
Variância	<b>3,7</b>	<b>35,8</b>
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	5	
Stat t	27,18190016	
P(T<=t) uni-caudal	<b>0,00000063</b>	
t crítico uni-caudal	<b>2,015049176</b>	
P(T<=t) bi-caudal	0,00000126	
t crítico bi-caudal	2,570577635	

ANEXO C – Tratamento estatístico (continuação)

**EXCEL FOR WINDOWS**

(Variável 1: **Laser** e Variável 2: **Controle**)

Resultados Células inflamatórias 7º dia

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	8,2	29,4
Variância	3,7	2,3
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	8	
Stat t	19,3528637	
P(T<=t) uni-caudal	2,6374E-08	
t crítico uni-caudal	1,85954832	
P(T<=t) bi-caudal	5,27481E-08	
t crítico bi-caudal	2,306005626	

**Corrigido**

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	<b>8,2</b>	<b>29,4</b>
Variância	<b>3,7</b>	<b>2,3</b>
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	8	
Stat t	19,3528637	
P(T<=t) uni-caudal	<b>0,000000026</b>	
t crítico uni-caudal	<b>1,85954832</b>	
P(T<=t) bi-caudal	0,000000052	
t crítico bi-caudal	2,306005626	



ANEXO C – Tratamento estatístico (continuação)

**EXCEL FOR WINDOWS**

(Variável 1: **Laser** e Variável 2: **Controle**)

Resultados Fibroblastos 3° dia

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	355	52,8
Variância	2001,5	51,7
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	4	
Stat t	14,91295936	
P(T<=t) uni-caudal	5,88787E-05	
t crítico uni-caudal	2,131846486	
P(T<=t) bi-caudal	0,000117757	
t crítico bi-caudal	2,776450856	

**Corrigido**

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	<b>355</b>	<b>52,8</b>
Variância	2001,5	51,7
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	4	
Stat t	14,91295936	
P(T<=t) uni-caudal	<b>0,000058878</b>	
t crítico uni-caudal	<b>2,131846486</b>	
P(T<=t) bi-caudal	0,000117757	
t crítico bi-caudal	2,776450856	

ANEXO C – Tratamento estatístico (continuação)

**EXCEL FOR WINDOWS**

(Variável 1: **Laser** e Variável 2: **Controle**)

Resultados Fibroblastos 7º dia

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes		
	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	454,8	91,4
Variância	3532,7	71,3
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	4	
Stat t	13,53560069	
P(T<=t) uni-caudal	8,62127E-05	
t crítico uni-caudal	2,131846486	
P(T<=t) bi-caudal	0,000172425	
t crítico bi-caudal	2,776450856	

Corrigido

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes		
	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	<b>454,8</b>	<b>91,4</b>
Variância	3532,7	71,3
Observações	5	5
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	4	
Stat t	13,53560069	
P(T<=t) uni-caudal	<b>0,000086212</b>	
t crítico uni-caudal	<b>2,131846486</b>	
P(T<=t) bi-caudal	0,000172425	
t crítico bi-caudal	2,776450856	

## ANEXO D – Parecer do Comitê de Ética



### PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA

O Comitê de Ética em Pesquisa – UPF em reunião no dia 27/04/05 apreciou o projeto de pesquisa “**Efeitos da radiação laser sobre a fase inicial do processo de cicatrização tendinosa em ratos**” registro no CEP 583/2005 do pesquisador **Fabiano Lopes Chiesa**. O projeto foi considerado relevante e meritório. Após esclarecimentos de pendências pelo pesquisador, o Comitê houve por bem **APROVAR** o protocolo apresentado por estar o pesquisador comprometido com a observância de princípios éticos no uso de animais em experimentação.

O pesquisador deverá apresentar relatório final ao CEP até o dia 15/12/05.

Passo Fundo, 02 de agosto de 2005.

Prof. Sérgio Machado Porto  
Coordenador Comitê de Ética em Pesquisa  
VRPPG - UPF

**ANEXO E – Laudo histopatológico**

**RESULTADOS DA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DA PESQUISA**

(Efeitos da radiação sobre a fase inicial da cicatrização tendinosa em ratos)

Requisitante: Professor Fabiano Chiesa

Material analisado: amostra de tecido tendinoso de ratos obtidos após lesões induzidas cirurgicamente com posterior realização de tratamento com laser de baixa intensidade dentro a dissertação de mestrado.

Período de análise: agosto de 2005.

Método utilizado: as amostras de tecidos foram emblocados em parafina para posterior seccionamento e montagem das lâminas. O material foi corado com Hematoxilina-Eosina e Tricômico de Masson e visualizado através da microscopia óptica em até 40x.

Descrição microscópica: as amostras referentes aos grupos envolvidos no experimento na fase inicial de cicatrização foram analisados pelo contador de células para as células inflamatórias e fibroblastos e de forma subjetiva para a deposição de colágeno e neovascularização. Os achados obtidos estão em concordância com os descritos nos resultados dessa dissertação.

Passo Fundo, 17 de setembro de 2005.

*Dr. Osmar Damasceno Ribeiro*  
*Médico Patologista*

**ANEXO F – Laudo farmacêutico**

**ANÁLISE DO SANGUE DOS ANIMAIS DO EXPERIMENTO**

(Hemograma)

Declaro para os devidos fins e a pedido do pesquisador **Fabiano Lopes Chiesa** que todos os animais (20 ratos machos da raça Wistar) envolvidos no experimento da Dissertação de Mestrado foram submetidos a um hemograma antes do início da pesquisa conforme descrito na metodologia. As análises foram realizadas em laboratório especializado e na interpretação dos resultados todos os animais apresentaram quadro hematológico normal.

Passo Fundo, 10 de agosto de 2005.

*Dra. Fabiana Falkembach*  
*Farmacêutica Bioquímica*

**ANEXO G – Tabela de pesos e dosagens de medicamentos de cada animal**

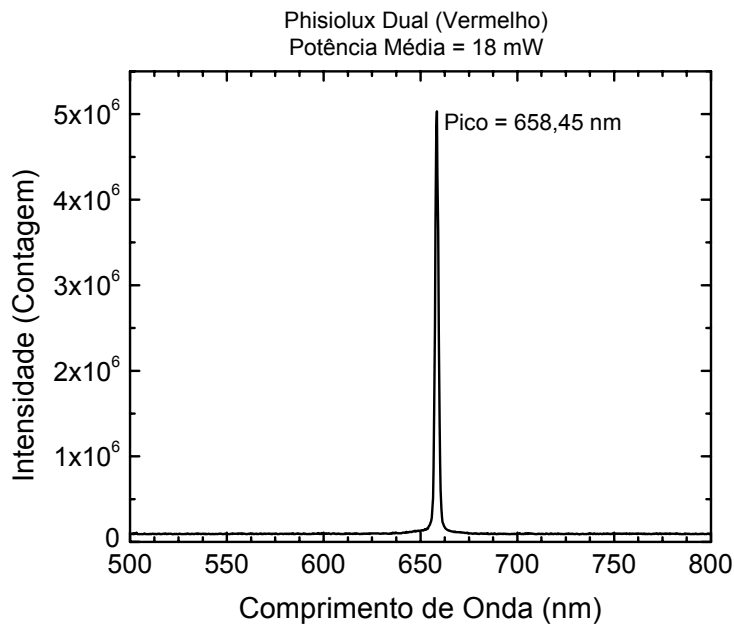
Número do rato	Peso (gramas)	Xilasina (2mg/Kg)	Tiopental (30mg/Kg)
01	298	0,030	0,36
02	270	0,027	0,32
03	289	0,029	0,34
04	262	0,026	0,31
05	285	0,029	0,34
06	278	0,028	0,33
07	279	0,028	0,33
08	291	0,029	0,34
09	286	0,029	0,34
10	293	0,029	0,34
11	285	0,029	0,34
12	299	0,030	0,36
13	291	0,029	0,34
14	278	0,028	0,33
15	260	0,026	0,31
16	276	0,028	0,33
17	262	0,027	0,31
18	240	0,024	0,28
19	268	0,027	0,32
20	279	0,028	0,33

## ANEXO H – Laudo aferição

### LAUDO DE AFERIÇÃO DO EQUIPAMENTO UTILIZADO NO EXPERIMENTO

(Laboratório de Laser de Alta Potência do IP&D)

O seguinte equipamento: Physiolum Dual da marca Bioset vermelho visível foi aferido no Laboratório de Laseres de Alta Potência do IP&D (Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento) no dia 18 de março de 2005. Foi aferida a potência do equipamento utilizando um medidor de potência da marca Melles Griot, modelo 13PEM001, resultando no valor de potência média de 18 mW para o vermelho. O comprimento de onda foi aferido utilizando um espectrômetro da marca Oriel Instruments, com resolução de 300 l/mm. O laudo de aferição foi coordenado pelo Professor Doutor Egberto Munin.



EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA  
INTENSIDADE SOBRE A FASE INICIAL DO PROCESSO DE  
CICATRIZAÇÃO TENDINOSA EM RATOS

Fabiano Lopes Chiesa

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Luis Vicente Franco Oliveira – UNIVAP

---

Prof. Dr. Egberto Munin – UNIVAP

---

Prof. Dr. José Benedicto de Mello – UNITAU

Prof.Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco  
Diretor do IP&D  
Universidade do Vale do Paraíba  
São José dos Campos, SP.



## **AGRADECIMENTOS**

Meus primeiros agradecimentos vão para minha família, em especial à minha esposa SAIONARA e minha filha MARIA CLARA que entenderam os finais de semanas abdicados por mim para realizar esse projeto e pelo incentivo constante.

Ao querido amigo e orientador Prof<sup>o</sup> Dr. Egberto Munin, pela honra concedida ao aceitar a minha tutela e principalmente pela paciência, confiança e coragem de conduzir esse trabalho.

Aos meus colegas GAÚCHOS de jornada, pelo incentivo e motivação nas horas difíceis, convívio sadio no transcorrer desses dois anos e principalmente pelos milhares de quilômetros rodados entre o Sul – São Paulo.

Ao Dra. Carla Antoniazzi e o Prof<sup>o</sup> Sérgio Porto do Biotério da Universidade de Passo Fundo – UPF pelo auxílio e presteza em toda a experimentação.

Ao patologista Dr. Osmar Damasceno Ribeiro pelo brilhantismo no preparo das lâminas e análise histopatológica.

A farmacêutica Fabiana Falkembach pelos ensinamentos na coleta do sangue e análise dos hemogramas

Ao estagiário bolsista Leandro Procópio do Laboratório de laser de alta potência do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da UNIVAP pelo auxílio nos cálculos e dúvidas físicas.

Ao Coordenador do Curso de Fisioterapia a UPF pelo fornecimento e apoio do material envolvido na pesquisa, além do incentivo acadêmico.

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu pai NEDIR CHIESA

*(in memoriam)*

Esta dissertação é dedicada ao senhor.

Nos deixou cedo, mas ensinou-me valor importante da vida de um homem, como a honestidade, fidelidade e amor.

Sei que muitos momentos de reflexão o senhor estava presente mostrando o norte da estrada.

Se os desafios foram vencidos é porque sempre contei com o teu olhar e tua retaguarda.

## RESUMO

### EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE BAIXA INTENSIDADE SOBRE A FASE INICIAL DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TENDINOSA EM RATOS

A laserterapia de baixa intensidade vem sendo empregada para diminuir o processo inflamatório e promover uma aceleração na cicatrização de diferentes tecidos lesionados. Visando verificar os efeitos da radiação laser sobre a fase inicial do processo de cicatrização tendinosa de lesões parciais induzidas cirurgicamente, vinte ratos machos da raça wistar clinicamente sadios provenientes do Biotério da Universidade de Passo Fundo foram aleatoriamente divididos em dois grupos e subdivididos em 2 subgrupos contendo cinco ratos cada. Todos os animais foram submetidos a uma lesão parcial no corpo do tendão de aquiles esquerdo de dois milímetros com sutura imediata da pele e início do tratamento estabelecido. Pelo período de sete dias, as lesões tendinosas do grupo I foram submetidas a uma aplicação diária do laser fosfato de índio e gálio com comprimento de onda de 658,4 nm na faixa do vermelho visível no modo pontual com dose de 4 joules com a caneta em contato direto com a pele do animal. A avaliação microscópica foi feita mediante acompanhamento histopatológico após biópsia tecidual efetuada em todas as lesões tendíneas ao término do 3º e 7º dias. O tecido removido foi fixado, preparado e corado com Hematoxilina-Eosina e Tricômico Masson para observar as células inflamatórias, fibroblastos, deposição de colágeno e neovascularização. Através dos resultados obtidos pode-se concluir que o laser de baixa intensidade é um método eficiente e altamente significativo no tratamento de lesões parciais tendíneas induzidas em ratos na fase inicial quando comparados com o grupo controle, por diminuir o processo inflamatório e incrementar a produção de fibroblastos, deposição de colágeno e formação de novos vasos no sítio da lesão.

*Palavras-chaves: Laser, cicatrização, tendão.*

## **ABSTRACT**

### **EFFECTS OF THE LASER RADIATION ON THE LOW INTENSITY IN THE INITIAL PHASE OF THE PROCESS OF TENDON HEALING IN RATS**

The laser therapy with low intensity has been used to reduce the inflammatory process and to promote an acceleration in the healing of different damaged tissues. Seeking to check the effects of the laser radiation in the initial phase of the process of tendon healing of partial lesions induced surgically, twenty male rats of the wistar race clinically healthy coming from Bioterio of the University of Passo Fundo they were divided into two groups and subdivided into two subgroups with five rats in each one. All the animals suffered partial lesion in the body of the left Achilles tendon of 0,2 cm with immediate suture of the skin and beginning of the established treatment. During the period of seven days, the group one's tendon lesions were submitted to a daily application of the InGaP laser with wavelength of 658,4 nm in the band of visible red in the punctual method with dose of 4 joules with the pen in direct contact with animal's skin. The microscopic assessment was made with histopatologic accompaniment after tissue biopsy made in all tendon lesions at the end of the 3<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days. The removed tissue was fastened, prepared and flushed with H&E and Masson to observe the inflammatory cells, fibroblasts, collagen deposition and new vascularization. Through the obtained results it can be concluded that the laser with low intensity is an efficient method and highly significant in the treatment of partial tendon lesions induced in rats in the initial phase when it's compared with the control group, by reducing the inflammatory process and increasing the fibroblasts production, collagen deposition and formation of new vases in the sites of the lesion.

Word-key: Laser, healing, tendon.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Aparelho laser InGaP modelo Phyolux dual da marca Bioset utilizado na pesquisa .....	48
Figura 02:	Procedimento anestésico realizado nos animais da pesquisa .....	52
Figura 03:	Procedimento de tricotomia na coxa esquerda dos animais da pesquisa .....	52
Figura 04:	Procedimentos de assepsia na coxa esquerda de ambos os grupos da pesquisa .....	53
Figura 05:	Aspectos da lesão experimental induzida cirurgicamente na coxa esquerda dos animais envolvidos na pesquisa .....	54
Figura 06:	Demonstração da aplicação do laser no grupo I da pesquisa .....	55
Figura 07:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 3º dia de experimento corado por HE (10x) .....	59
Figura 08:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 3º dia de experimento corado por HE (10x) .....	59
Figura 09:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 3º dia de experimento corado por Masson (10x) .....	61
Figura 10:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 3º dia de experimento corado por Masson (10x) .....	62
Figura 11:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 7º dia de experimento corado por HE (10x) .....	64
Figura 12:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 7º dia de experimento corado por HE (10x) .....	65
Figura 13:	Aspecto microscópico do tendão do grupo irradiado no 7º dia de experimento corado por Masson (10x) .....	66
Figura 14:	Aspecto microscópico do tendão do grupo controle no 7º dia de experimento corado por Masson (10x) .....	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Desenho experimental .....	47
Tabela 2:	Significância das células inflamatórias no grupo laser versus controle na análise microscopia do 3° dia .....	62
Tabela 3:	Significância dos fibroblastos no grupo laser versus controle na análise microscopia do 3° dia .....	63
Tabela 4:	Significância das células inflamatórias no grupo laser versus controle na análise microscopia do 7° dia .....	67
Tabela 5:	Significância das fibroblastos no grupo laser versus controle na análise microscopia do 7° dia .....	68

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP (Adenosina trifosfato)  
CD (Compact disc)  
cm<sup>2</sup> (centímetros quadrados)  
EPI (equipamento de proteção individual)  
gr (gramas)  
GaAs (Arseneto de gálio)  
GaAsAl (Arseneto de gálio alumínio)  
He-Ne (Hélio-neon)  
Hz (Hertz)  
HE (Hematoxilina-eosina)  
IP&D (Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento)  
InGaP (fosfeto de índio e gálio)  
mW (miliwatts)  
mm (milímetros)  
mg/Kg (miligramas por quilos)  
mW/cm<sup>2</sup> (miliwatts por centímetro quadrado)  
nm (nanômetros)  
UPF (Universidade de Passo Fundo)  
VO (Via oral)

## Sumário

1. Introdução	16
1.1 Justificativa	18
1.2 Problema	20
1.3 Objetivos	20
1.3.1 Objetivo geral	20
1.3.2 objetivos específicos	20
1.4 Delimitação	21
2. Revisão de literatura	22
2.1 Tecido tendinoso	22
2.2 Bases fisiológicas da cicatrização tendinosa	24
2.3 Laser de baixa intensidade	29
2.4 Efeitos da radiação laser na cicatrização tendinosa	39
3. Metodologia	46
3.1 Caracterização da pesquisa	46
3.2 Amostra	46
3.3 Descrição do desenho experimental	46
3.4 Tratamento das variáveis operacionais	47
3.4.1 Variável dependente	47
3.4.2 Variável independente	47
3.5 Instrumentos e equipamentos	48
3.6 Procedimentos	50
3.6.1 Medidas antecedentes aos procedimentos	51
3.6.2 Medidas pré-operatórias e procedimentos anestésicos	51
3.6.3 Preparação das lesões tendinosas	53
3.6.4 Procedimentos realizados no grupo I (laserterapia)	54
3.6.5 Procedimentos realizados no grupo II (controle)	55
3.6.6 Eutanásia e obtenção dos tecidos	55
3.6.7 Preparação das lâminas	56



3.6.8 Análise histopatológica	56
3.6.9 Análise estatística	57
4. Resultados	58
4.1 Achados microscópicos das lesões tendinosas no 3º dia	58
4.2 Achados microscópicos das lesões tendinosas no 7º dia	63
5. Discussão	69
6. Conclusão	76
Referências	78
Anexo A	88
Anexo B	89
Anexo C	90
Anexo D	91
Anexo E	92
Anexo F	93
Anexo G	94
Anexo H	95

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com Whiting e Zerniche (2001), as lesões tendinosas de origem traumática ou atraumática ocorrem com frequência na prática das medicinais humanas, e representam sem sombra de dúvidas o dia a dia de profissionais das áreas da área de saúde com especialidades em ortopedia e traumatologia, assim como na fisioterapia. Normalmente o processo cicatricial da lesão tendinosa desenvolve-se num período que pode variar de meses dependendo do local, da extensão, da gravidade e de fatores locais que podem interferir ou impedir a cicatrização.

Tendo em vista o fenômeno de cicatrização tendinosa, tem-se procurado além de remover os fatores que retardam o processo cicatricial, acelerar biologicamente seu restabelecimento funcional, diminuindo assim o tempo de inatividade, de medicações e promovendo um retorno mais breve as suas atividades laborativas. Os tendões são as estruturas responsáveis pela transferência de forças exercidas pelos músculos para os ossos, proporcionando o elo essencial no sistema musculoesquelético para que haja movimentação articular.

O tecido tendinoso é formado por feixes de fibras colágenas unidas por tecido conjuntivo tendo origem mesodérmica e sua estrutura divide-se em três partes, o corpo do tendão, a junção osteotendinosa e a junção miotendinosa, ligando os músculos aos ossos nas suas extremidades, origem e inserção. A cicatrização do tendão é um processo complexo e necessita de atividades celulares que visam restaurar a integridade do tecido lesado, ocorrendo assim, uma migração de células de origem do tecido vascular e conjuntivo até o local da lesão (KITCHEN e BAZIN, 1998).

Laser é o acrônimo de *Light amplification by stimulated emission of radiation* sendo uma forma de radiação não-ionizante, que em contato com os diferentes tecidos biológicos, resulta de acordo com o tipo de laser, em efeitos fototérmicos, fotomecânicos, fotoelétricos e fotoquímicos (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998; KITCHEN, 2003).

Suas principais indicações são todos os quadros patológicos onde se deseja acelerar o reparo de tecidos moles como, músculos, tendões e nervos e de tecidos duros como ossos e articulações (TRELLES ; MAYAYO, 1987), além de mediar processos inflamatórios e quadros dolorosos (HILL ; WALKER, 1993).

Atualmente existem vários tipos de lasers classificados de acordo com a sua atividade ou meio ativo (GENOVESE, 2000), onde encontramos os diodos semicondutores infravermelhos, como, por exemplo, o arseneto de gálio (GaAs) com comprimentos de onda que variam de 820 a 904 nm, tornando-se atualmente uma ferramenta satisfatória para obtenção de resultados nas pesquisas de cicatrização de tecidos moles (BASFOR, 1995). Outros diodos utilizados nas pesquisas experimentais em animais são os na faixa do vermelho do espectro visível como o fosfeto de índio e gálio (InGaP) com comprimento de onda de 670 nanômetros.

Os lasers de baixa intensidade visam ações terapêuticas e estão sendo usados por muitos profissionais da saúde, tais como médicos, odontólogos e fisioterapeutas (ALMEIDA-LOPES, 1999). Suas principais indicações são quase todos os quadros patológicos onde se deseja melhorar a qualidade e maior rapidez do processo reparacional (BRUGNERA ; PINHEIRO, 1998). De acordo com Trelles e Mayayo (1987) tem-se atribuído ao laser a aceleração no reparo de tecidos moles, ósseos e nervosos. Do ponto de vista clínico, porém, as mais interessantes observações dos efeitos da radiação de

baixa intensidade estão relacionadas com a estimulação e aceleração das cicatrizações de lesões (RIBARI, 1981; ANNEROTH et al., 1988).

Embora essa terapia já esteja implantada na maioria dos países, pesquisas pouco controladas e problemas encontrados na interpretação dos resultados, tais como o uso de diferentes tipos de lasers, tempo de exposição, quantidade de energia e tipo de tecidos estudados, reforçam a necessidade de estudos que permitam seu conhecimento e sua divulgação. Fato este que gera ainda incertezas quanto as suas reais ações e outras atribuições pertinentes à radiação laser, que é incorporada nas práticas fisioterapêuticas ainda com pouca comprovação científica e experimental.

Este trabalho procura avaliar a ação do laser fosfeto de índio e gálio (InGaP) com comprimento de onda de 658,4 nanômetros (nm) na cicatrização tendinosa após execução de lesões induzidas no tendão de Aquiles esquerdo de ratos, utilizando-se dos achados histopatológicos.

### 1.1 Justificativa

Estudos recentes têm demonstrado que há resultados paradoxos no que diz respeito à cicatrização e regeneração de lesões de tecidos moles, como no tendão, por exemplo, pela laserterapia de baixa intensidade, podendo estes resultados estarem ligados diretamente à densidade de potência e o tempo de exposição empregada nas pesquisas de vários autores. A utilização dos lasers de baixa intensidade do tipo de arseneto de gálio (GaAs), hélio-neônio (He-Ne) e fosfeto de índio e gálio (InGaP) nas

práticas de profissionais da saúde, principalmente dos fisioterapeutas, vem crescendo na mesma proporção que as pesquisas científicas, pois tem-se atribuído a este recurso uma diminuição dos processos inflamatórios, aumento na proliferação dos fibroblastos, estimulando assim a produção de colágeno e formação de uma nova rede vascular (ABERGEL et al., 1987).

As lesões tendíneas causadas por traumas diretos ou indiretos geralmente reparam-se num período que pode variar de meses, dependendo do local, sua extensão e gravidade. Em contrapartida, se a cicatrização puder ser acelerada com a aplicação do laser de baixa intensidade (InGaP) poder-se-á minimizar os efeitos deletérios temporários decorrentes desse processo, maximizando a cicatriz, além de favorecer o aparecimento de fatores locais que aceleram a cicatrização tecidual, devolvendo mais rapidamente às suas atividades diárias e laborativas os portadores deste tipo de lesão.

As pesquisas em tecidos tendinosos comprovam que a laserterapia de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio (GaAs) e fosfeto de índio e gálio (InGaP) com dosimetria de 4 a 6 joules/cm<sup>2</sup> aceleram o processo de cicatrização e modulam a formação de tecido de granulação. Esses resultados trazem a expectativa da formação de uma cicatriz mais precoce com qualidade funcional. Por outro lado, abre-se um amplo campo de atuação profissional após confirmações por estudos histopatológicos, histomorfométricos e histoquímicos com comprovações científicas (SCHMITT et al., 1993).

Ainda que os resultados deste estudo tenham sido colhidos em ratos, o processo de cicatrização tendinosa é similar em qualquer animal, podendo-se então supor a utilização do laser em humanos, respeitando suas devidas restrições.

## 1.2 Problematização

Qual a eficácia do laser de baixa intensidade do tipo fosfeto de índio e gálio (InGaP) na cicatrização de lesão induzida no tendão de aquiles de ratos?

## 1.3 Objetivos

### 1.3.1 Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do laser fosfeto de índio e gálio (InGaP) com comprimento de onda de 658,4 nm – vermelho visível – e com dosimetria de 4 joules no modo pontual na cicatrização tendinosa após execução de lesões induzidas no tendão de Aquiles esquerdo de ratos, utilizando-se da descrição dos achados histopatológicos no período de 7 dias.

### 1.3.2 Específicos

\* Verificar se o laser de baixa intensidade do tipo InGaP interfere de maneira positiva no processo de cicatrização tendinosa quando comparados ao processo fisiológico normal;

\* Verificar como se comportam as células inflamatórias, os fibroblastos, deposição de colágeno e formação de novos vasos quando comparados microscopicamente entre os animais do experimento.

#### 1.4 Delimitação

Este estudo limitou-se apenas a investigar os resultados microscópicos dos efeitos da laserterapia de baixa intensidade (InGaP) sobre a fase inicial do processo de cicatrização tendinosa em ratos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Tecido tendinoso

O tendão é um tecido conjuntivo denso composto por fibras colágenas paralelas entre si, estas fibras foram formadas e orientadas para proporcionar o máximo de resistência às trações exercidas que normalmente atuam sobre o tecido (CARLSTEDT, 1987).

Hollensehead (1980) define tendão como sendo um tecido que liga um músculo a outras estruturas, mais comumente o osso, sendo as estruturas responsáveis pelas transferências de forças dos músculos aos ossos para que ocorram os movimentos articulares (WHITING ; ZERNICHE, 2001).

Currier e Nelson (1992), afirmam que o tendão é constituído por fibroblastos e uma matriz extracelular, sendo o colágeno o maior componente desta matriz compreendendo cerca de 90% do peso do tendão. Dângelo e Fattini (2001) explicam que o tecido tendinoso tem forma de fita, ou cilíndrica, com superfícies esbranquiçadas e brilhantes, muito resistentes e inextensíveis.

Os tendões são formados por feixes de fibras colágenas unidas por tecido conjuntivo, denominado endotendíneo. Estão presentes também no tendão vasos sanguíneos e nervos. O tendão também está envolvido por outra bainha de tecido conjuntivo, chamada de epitendíneo, nas regiões de fricção ao longo de suas passagens, essas são formadas por duas camadas de células achatadas. A camada interna é associada



ao epitendíneo, oferecendo uma superfície lisa para o movimento, e a camada externa está ligada aos tecidos peritendíneos circundantes. O espaço entre as suas camadas está preenchido por um líquido lubrificante semelhante ao líquido sinovial, que irá diminuir o atrito entre os mesmos (BANKS, 1991).

A estrutura conjuntiva do tendão cria três zonas estruturais, que é o corpo do tendão (substância do tendão), as junções do tendão com o osso (junção osteotendinosa) e as conexões com o músculo (junção miotendinosa).

Existem requisitos importantes para que o processo de reparação retorne a função normal dos tendões. As propriedades tensoras dos tendões devem ser restauradas e a capacidade de deslizamento deve ser mantida (BANKS, 1991). Segundo Cormack (1991), os fibroblastos são células grandes, e seus núcleos são ovais e achatados semelhando com a forma das células. Os fibroblastos são responsáveis pela síntese de colágeno, sendo este formado por três cadeias peptídeas que estão na seqüência prolina-glicina-hidroxiprolina e lisina-glicina-hidroxilisina. Encontra-se também a substância fundamental que tem aspecto gelatinoso, contém água, eletrólitos e um complexo de mucopolissacarídeos denominados de glicosaminoglicanos.

O tendão de Aquiles ou ainda denominado tendão calcâneo é a união das fibras dos músculos gastrocnêmio e sóleo, estando sua inserção situada a um centímetro distal do tubérculo posterior e superior do calcâneo estendendo-se a dois centímetros da face posterior do mesmo. A nutrição desse tendão é realizada pela artéria tibial posterior e fibulares, sendo que existe uma área de menor vascularização, situada a mais ou menos quatro centímetros da inserção do tendão (HEBERT, 2003). Sendo este tendão o maior do corpo humano, ele serve para transmitir força dos músculos gastrocnêmio e sóleo para

o calcâneo. A lesão geralmente ocorre após uma súbita flexão plantar do tornozelo, geralmente após movimento brusco. Sua lesão torna-se mais propensa quando recebe graus elevados de carga de tensão (PRETINCE ; VOIGHT, 2003), podendo ocorrer lesão do tipo estiramento, ruptura parcial ou total.

Carlstedt (1987) relata ainda que muitos fatores afetam as propriedades físicas do tendão, portanto podem provocar lesões, tais como, o envelhecimento, o overuse, a imobilização, as injeções de corticóides – infiltrações – entre outros.

## 2.2 Bases fisiológicas da cicatrização tendinosa

De acordo com Arnold (1976), a cicatrização tecidual é a restauração completa da perda tecidual, com reconstituição da arquitetura original e da função desenvolvendo-se através da proliferação e diferenciação celular. O objetivo da reparação ou reparo tecidual é restaurar a intimidade entre as margens da lesão e restabelecer as características morfofuncionais do tecido lesado. O reparo tecidual, na maioria dos casos, ocorre através da associação de dois processos distintos: a regeneração e cicatrização. A regeneração é um processo de reparo que leva à substituição do tecido lesado por células parenquimais do mesmo tipo daquelas perdidas, restituindo a estrutura e a fisiologia do tecido, podendo em alguns casos não deixar qualquer seqüela da lesão inicial. A cicatrização representa, por sua vez, a substituição do tecido lesado por um tecido conjuntivo de natureza fibroblástica, podendo este reparo resolver o problema da perda de substância e restaurar

a continuidade do tecido lesado envolvido no processo, porém pode haver perda de função e as células parenquimais altamente especializadas estarão irremediavelmente perdidas (SIQUEIRA ; DANTAS, 2000). O reparo tecidual envolve uma série de eventos contínuos e bem coordenados, que visam restaurar a morfofisiologia de uma lesão. O controle desse processo é regulado por mediadores químicos, produtos da degradação da fibrina, matriz extracelular, fatores de crescimento e citocinas liberadas por células que participam do processo inflamatório (THOMAS, 2001).

Para Baxter (1994), a cicatrização é um processo bastante complicado que envolve atividades celulares e quimiotáticas através da liberação de mediadores químicos associados a algumas respostas vasculares, que irão culminar numa seqüência de eventos até o reparo do tecido lesado.

Banks (1991), diz que a cicatrização ocorre em diferentes estágios relacionados, que são: agressão, indução, inflamação, proliferação e remodelação. Durante o processo de agressão o tendão é acompanhado pelos danos de outros tecidos moles. A localização e a extensão da lesão é um fator importante devido ao suprimento sanguíneo dos tendões ser segmentado, como também o líquido sinovial encontrado nas bainhas sinoviais, a sua ruptura pode complicar a reparação (DOUGLAS, 2000).

No estágio de indução a hipoxia tecidual pode ser o estímulo para indução de novas células durante a reparação dos tendões. Os fibroblastos se proliferam no interior dos tendões e novos capilares invadem o tendão a partir dos tecidos peritendinosos (BANKS, 1991).

De acordo com Baxter (1994), logo após a agressão do tendão, ou seja, a lesão, inicia-se uma resposta vascular com vasoconstrição por ação da noradrenalina e logo após

vasodilatação, onde células inflamatórias são atraídas para o sítio da lesão. Além disso, a histamina tem seu papel importante por alterar a permeabilidade vascular, formando então o edema no local agredido.

O estágio da inflamação inicia no momento da lesão e tem duração de aproximadamente cinco dias (ENWEMEKA, 1989). Os sinais clássicos da inflamação se apresentam como rubor, edema, limitação da função, calor e dor. A lesão pode causar tanto a morte celular como o comprometimento dos vasos. Essa fase tem como objetivo principal livrar a área de resíduos de tecido morto e destruir antes do reparo, qualquer infecção invasora (KITCHEN ; YOUNG, 2003).

Em torno de vinte e quatro horas após a agressão o local onde ocorreu a lesão começa a receber os fibroblastos e as células endoteliais, que se proliferam para formar o tecido de granulação. A partir disso, temos quatro componentes, a neovascularização, a migração e proliferação dos fibroblastos, a deposição da matriz extracelular e maturação e o remodelamento celular (GUYTON ; HALL, 1995; COTRAN et al., 2000).

A inflamação excessiva pode provocar formação de colágeno (fibrose) no local da reparação e a migração dos fibroblastos do epitélio e endotélio para o local da lesão, ocorrendo fagocitose de restos celulares e de colágeno, iniciando uma nova síntese de colágeno pelos fibroblastos (BANKS, 1991).

A fase inflamatória se subdivide em outras duas subfases conhecidas como fagocitose e neovascularização. Sendo que na fagocitose o objetivo é evitar a infecção do local pela contaminação dos tecidos lesados e necrosados. Já a neovascularização é a reconstrução dos vasos lesados da ferida. A ferida recente se encontra avermelhada e muitas vezes edemaciada pela presença de capilares no local. No final da cicatrização

esta se torna esbranquiçada por degeneração destes capilares (HARDY apud PIMENTEL, 2001).

O estágio fibroblástico ou proliferativo tem duração de 5 a 21 dias e é nesta fase que a cicatriz começa a ganhar força (WANG, 1998). É caracterizada pela proliferação de fibroblastos e secreção de procolágeno. As células do epitendíneo e do endotendíneo são responsáveis pelos eventos intrínsecos da reparação, onde nestas regiões se tornam hiperplásicas depositando grande quantidade de colágeno no local da lesão. A bainha sinovial e os tecidos peritendíneos também contribuem com as células e o colágeno, constituindo o aspecto extrínseco do processo de reparação (BANKS, 1991).

Segundo Hardy apud Pimentel (2001) nesta fase existem outra 3 subfases conhecidas como epitelização, contração da ferida e produção de colágeno. Na epitelização ocorre a migração das células epiteliais para o fechamento da ferida através da mitose. A borda da ferida é úmida e rica em oxigênio. Após, ocorre a contração da ferida, que é conhecido como processo de tração da ferida reduzindo o defeito. Por fim inicia-se a produção de colágeno, sendo esta a subfase mais importante da cicatrização.

O estágio de maturação ou remodelação inicia com 4 semanas após a lesão, sendo que após 6 semanas o local da lesão está preenchido por colágeno (WANG, 1998). Numerosos fatores irão influenciar no sucesso da reparação do tendão. O manejo adequado pode resultar no retorno a um estado funcional quase normal (BANKS, 1991). Esta fase é marcada por uma série de eventos como aumento e organização da matriz, diminuição do número de células, retorno da vascularização e inervação normal, aumento do diâmetro das fibras colágenas e aumento na deposição de elásticas. No final desta fase, o tendão assume aspecto normal, porém as fibras colágenas são relativamente imaturas.

Segundo Wang (1998), a força do tendão vai aumentando gradativamente, e a remodelação pode durar até 112 dias. A fase de maturação e remodelamento se subdivide em outras duas subfases, chamadas de equilíbrio síntese-lise e orientação das fibras. A primeira é a constante troca de colágeno velho por novo, e a segunda orienta as fibras colágenas. Esta subfase depende de outros fatores conhecidos como indução e tensão. Na indução a cicatriz mimetiza as características do tecido cicatricial, e a tensão refere-se aos estresses internos e externos que afetam a área da lesão.

O reparo tendinoso é uma combinação de processos intrínsecos e extrínsecos, onde o primeiro ocorre dentro do tendão como resultado da atividade dos tenocitos e do suprimento sanguíneo intratendinoso, já o segundo ocorre por processos que se originam dentro do tendão com crescimento de fibroblastos, células inflamatórias e invasão vascular extratendinosa. O balanço entre estes processos depende da natureza da lesão, técnica de reparo e regimes de mobilização pós-operatório. (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995; WANG, 1998).

O tendão possui cicatrização lenta e muitas vezes leva a consequências como atrofia muscular, aderências tenocutâneas, rupturas e até mesmo osteoartrite (ENWEMEKA, 1992). Vários estudos foram e estão sendo realizados com o intuito de minimizar os problemas da cicatrização tendinosa, os quais destacam-se os da utilização de agentes físicos para acelerar o processo de reparação tecidual (ABERGEL et al., 1984; GUN et al., 1997; REDDY et al., 1998 e SCHIMITT et al., 1993).

A laserterapia de baixa intensidade tem sido utilizada para promover aceleração nos processos cicatriciais em estudos experimentais e também nas práticas médicas e fisioterapêuticas (SILVA et al., 1998; LIANZA, 2001).

### 2.3 Laser de baixa intensidade

A palavra LASER é um acrônimo de *Ligh Amplification by Stimulated Emission of Radiation* que significa uma amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. Teve seu princípio descrito por Albert Einstein em 1916, quando postulou o fenômeno físico de emissão estimulada de fótons, que a partir da excitação de um meio ativo, elevando o átomo a um nível superior de energia e quando esse voltar a seu estado orbital inferior ocorrerá à emissão estimulada que liberará o excesso de energia em forma de um fóton (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998). A partir daí, ele expôs que seria possível estimular um corpo a liberar energia em forma de radiação eletromagnética com características uniformes e coerentes (KLIDE, 1983; COTTERILL, 1984; FURLANETTO et al., 1984; MARQUES, 1985; BRUGNERA ; PINHEIRO, 1998). Explicando melhor, a produção do laser resulta de um elétron que sofre um salto quântico quando previamente estimulando, passando de um baixo a um alto estado de energia, emitindo ondas na mesma frequência, comprimento de onda e direção, originando o feixe laser que possui mais potência que outras radiações ópticas não modificadas ou estimuladas (KITCHEN ; PARTRIDGE, 1991; ORTIZ, 2001).

Várias décadas se passaram, no entanto, antes que houvesse condições técnicas para tentar viabilizar este conceito teórico, pois questões tecnológicas não permitiam que o laser fosse concluído antes, por isso teve um período de latência nos experimentos provavelmente pelo empirismo científico da época.

Baseado no princípio citado acima, em 1950, Townes, Gordon e Zeiger constroem o maser (amplificador de microondas por emissão estimulada de radiação) possibilitando trabalhar na região visível de espectro (HERCH ; TERESI, 1987; KLOTH, 1997).

Porém foi somente em 1960 que o físico norte americano Theodoro Maiman criou o primeiro laser de estado sólido utilizando como elemento o rubi. Um ano mais tarde, houve a primeira intervenção cirúrgica com laser no Hospital Presbiteriano de Nova York para a retirada de um tumor de retina. Em meados dos anos setenta, foi construído o laser HeNe por Javan, Bennett e Herriot apoiados na descoberta feita por White e Ridgen do laser vermelho visível, sendo a primeira fonte de luz coerente disponível no comércio. Este fato proporcionou estudos e no final da década de setenta surgiram os primeiros lasers infravermelhos como arseneto de gálio (GaAs) e o arseneto de gálio alumínio (HERCH ; TERESI, 1987; BAXTER, 1997; KITCHEN ; PARTHIDGE, 1991; TUNER ; HODE, 1999; RIGAU et al., 1995; GOOSSENG ; ENDERBY, 1984; KLIDE, 1983; KLOTH, 1997; OSHIRO, 1991).

Em função deste invento, Einstein ganhou em 1964 o prêmio Nobel de física em conjunto com os russos Basov e Prokorov e a partir daí, os avanços tecnológicos tiveram um crescente aumento. Em 1966, Kao e Hochman concluíram que poderia ser possível introduzir a radiação laser por finos tubos (fibras ópticas). Em 1979, é lançado o CD pela Philips que usa a luz do laser para a leitura óptica. Vinte anos mais tarde, em 1999, o



químico Ahmed Zewail ganha prêmio Nobel usando o laser para mostrar como os átomos movimentam-se nas diferentes etapas de uma reação química (ZÂNGARO, 2004).

Historicamente, a maioria dos trabalhos com laser de baixa potência começaram na Europa oriental, Hungria, Áustria e na antiga União Soviética (BASFOR, 1989; BRAVERMAN et al. (1989). Os primeiros trabalhos da terapia laser começaram na Europa, sendo baseados nas publicações do professor Mester, de Budapeste, conhecido como o papa da bioestimulação por laser supostamente por aumentar a celularidade nos tecidos irradiados, acelerando o tempo de mitose ação que se observa principalmente na reparação cicatricial das lesões por maior vascularização e formação abundante de tecido de granulação. O laser chegou a ser uma modalidade de tratamento popular, principalmente na União Soviética e no oriente próximo, onde aconteceu um grande número de aplicações (OSHIRO, 1991; BAXTER et al., 1991). Por tal popularidade, os primeiros relatos de que o laser induzia alteração na função das células e tecidos apareceram em jornais inacessíveis e, além disso, na sua tradução geravam descrenças, pois apresentavam erros metodológicos inaceitáveis.

No Brasil, alguns bons experimentos com lasers de baixa potência vêm sendo desenvolvidos na cicatrização de lesões cutâneas, musculares, tendinosas e ósseas em animais. Destes convém destacar os resultados obtidos por Silva et al. (1998), Brugnera e Pinherio (1998), Del Bue et al. (1982), Klide (1983), Mckibbin (1984), Chiesa e Santos (2000), Chiesa et al. (2004), Chiesa e Lazarotto (2005) no que tange os processos reparacionais de tecidos.

Colls (1984), afirma que somente após o ano 1965 é que o laser terapêutico teve seu reconhecimento adaptativo. De acordo com Hilário (1988), a partir de 1965 diversos

cientistas de vários países iniciaram experiências com equipamentos de potências inferiores dos lasers cirúrgicos, os chamados laser terapêuticos. Desde então, a laserterapia vem sendo utilizada nas diferentes áreas da saúde, isto é, sempre que se deseja uma ação antiinflamatória, antiedematosa, analgésica ou regeneradora tissular (DEL BUE et al., 1982; CRUAÑES, 1984; BASFORD, 1986). Do ponto de vista clínico, porém, as mais interessantes observações dos efeitos da radiação laser de baixa intensidade estão relacionadas com a estimulação e aceleração das cicatrizes de lesões de tecidos moles (RIBARI, 1981; ANNEROTH et al., 1988).

Richand e Boulnois (1983), Abergel et al. (1984), Basford (1986), Anneroth et al. (1988) relataram que os lasers infravermelhos do tipo arseneto de gálio e visível do tipo Índio gálio fósforo e Hélio-neon são mais frequentemente usados em terapêuticas, em função de sua alta viabilidade, baixo custo e amplo retorno experimental. Estas radiações tem êxito devido a particular resposta no tecido, como a redução de edema, diminuição dos processos inflamatórios, aumento da fagocitose, da síntese colágena e de nova epitelização e vascularização.

O que faz o laser ser diferente da luz comum são suas características e as propriedades que diferenciam a luz laser de outras ondas luminosas são: a monocromaticidade, a colimação e a coerência (TRELLES, 1982). Além disso, possuem efeitos muitos específicos nos tecidos, podendo esta luz ser absorvida, refletida, transmitida e espalhada (SLINEY, 1985; BENNETT, 1989; HILLENKAMP, 1989).

A monocromaticidade indica uma posição no espectro eletromagnético e com isso uma só cor com um comprimento de onda específico. Esta característica é considerada o atributo mais importante do laser, pois determinam quais as interações fotobiológicas e os

efeitos terapêuticos específicos (KITCHEN e BAZIN, 1998), ou seja, estabelece as biomoléculas que absorverão o feixe de radiação incipiente (BAXTER, 1997).

A colimação diz respeito a diretividade, ou seja, o feixe mantém ou tenta manter um paralelismo, mantendo um pequeno tamanho da saída da luz do laser numa grande distância. Esta característica pode ser responsável pelos perigos da exposição dessa fonte de luz direta nos olhos (BAXTER, 1997).

A coerência é uma das propriedades da radiação laser que difere das outras formas de luz, mostrando uma sincronia entre as ondas luminosas que viajam na mesma direção. A coerência está dividida em espacial quando os fótons estão ajustados paralelos entre si e temporais quando estes se encontram em fases (TUNER ; HODE, 1999; GENOVESE, 2000).

Cada uma dessas propriedades, em separado ou em conjunto, possibilita aplicações específicas e de grande resultados nas áreas das ciências humanas (OLIVEIRA, 1999). A radiação luminosa ao atingir o tecido sofre a reflexão, fenômeno que ocorre quando a radiação atinge a superfície do tecido biológico, fazendo com parte dessa retorne na direção da fonte de excitação, sem interagir com o tecido definido pela Lei de Snell; a absorção é o principal parâmetro da interação laser – tecido biológico, pois dela depende a quantidade de energia entregue a este tecido e por sua vez somente essas radiações absorvidas têm efeito fotobiológico ou fotoquímico (BALBONY et al., 1986; ZÂNGARO, 2004). Além disso, o retroespalhamento da luz traz informações das moléculas e através desse fenômeno podemos obter a biópsia óptica; a transmissão consiste na radiação que atravessa o tecido biológico sem sofrer atenuação mantendo suas características físicas e também sem sofrer processos de espalhamento; o espalhamento

tem relação direta entre o comprimento de onda da radiação incidente e a dimensão da partícula espalhadora. O espalhamento pode ser elástico (ocorre quando observa-se que a luz espalhada se apresenta de cor diferente da luz incidente) e inelástico (não apresenta variação na cor da luz incidente).

Já Colls (1988), relata em seus estudos que além das três características (monocromaticidade, coerência e colimação), a radiação luminosa produz uma quarta, conhecida então de “alto brilho”, sendo esta a propriedade básica da utilização do laser como instrumento terapêutico e cirúrgico. Relata também que a grande quantidade de energia produzida será focalizada em uma superfície de área reduzida, permitindo elevada densidade de potência e intensidade.

Os parâmetros ópticos que se deve levar em consideração quando se trabalha com laser é a velocidade da luz, medida há 70 anos atrás e postulada por Einstein como a maior velocidade que existe (300.000 Km/s). O índice de refração é a relação entre a velocidade da luz no ar e no meio incidente, quanto mais denso for o meio, mais lento será a transmissão e quando a luz atravessa a interface do meio incidente ela sofre uma alteração de velocidade. Diante disso, para compreender a interação do laser com o tecido biológico é necessário conhecer as propriedades ópticas do tecido e alguns conceitos básicos da ação da luz e de seus efeitos teciduais: a frequência de onda que significa o número de cristas ou ciclos que passam por um ponto estacionário em 1s, sendo inversamente proporcional ao seu comprimento e expressa em hertz (Hz); a amplitude é a altura da crista à concavidade da próxima onda, altas amplitudes indicam altos índices de energia e o comprimento de onda que é a distância entre duas sucessivas cristas da onda expressa no caso do laser em nanômetros (ZÂNGARO, 2004).

Para melhor compreender a interação do laser com os tecidos biológicos é necessário conhecer as propriedades do tecido, o comprimento de onda do laser e a densidade de energia e de potência para o tecido. Com estes parâmetros, todos os efeitos causados por esta radiação serão previstos em modelos físicos e matemáticos, levando em consideração o tipo de célula, a perfusão sanguínea e a condução térmica. A energia depositada pelo fóton nos tecidos biológicos pode gerar processos vibracionais, rotacionais e eletrônicos que imediatamente se transforma em outro tipo de energia ou efeito biológico que são chamados de efeitos primários da radiação que são classificadas em: efeitos bioquímicos, bioelétricos, bioenergéticos (GENOVESE, 2000).

O efeito bioquímico pode provocar dois efeitos, liberação de substâncias pré-formadas como histamina, serotonina e bradicinina e modificação das reações enzimáticas normais, tanto inibitórias quanto estimulatórias (GUIRRO; GUIRRO, 2003), além de exercer estímulos na produção de ATP no interior da célula, acelerando a mitose, aumentando a lise de fibrina e interferindo na produção de prostaglandinas. Deve-se destacar também como efeito bioquímico à ação fibrinolítica dos raios lasers (BOECHAT, 1999).

Segundo Genovese (2000) o efeito bioelétrico estimula o aumento e a quantidade da produção de ATP produzida pela célula (modo indireto) e atua sobre a mobilidade iônica, potencializando a bomba de sódio e potássio (modo direto), com isso, a diferença de potencial elétrico existente entre o interior e o exterior da célula é mantida com maior eficácia (RODRIGUES ; GUIMARÃES, 1998). Além disso, esse efeito ajuda a normalizar o potencial da membrana, atuando como reequilibrante e normalizador da atividade funcional da célula.

Os efeitos bioenergéticos decorrentes da radiação laser são classificados em primários e secundários. Os primários podem ser definidos como sendo as respostas celulares decorrentes da absorção da energia e os secundários são alterações fisiológicas que não afetam só a unidade celular, mas todo o tecido. Os efeitos secundários relacionados a reparação tecidual são: aumento do tecido de granulação, neoformação vascular, aumento do colágeno, aceleração do processo de cicatrização e aumento da atividade fagocitária dos linfócitos e macrófagos (GUIRRO ; GUIRRO, 2003). O estímulo a microcirculação é proporcionado pela ação da radiação laser sobre os esfíncteres pré-capilares, sendo que estes abrem ou fecham a passagem para a rede capilar distribuindo o fluxo sanguíneo e alterando as regiões a serem irrigadas. Através da ação da histamina liberada, ocorre paralisação desses esfíncteres, aumentando o fluxo sanguíneo. Já no trofismo celular, a velocidade mitótica é aumentada com o aumento da produção de ATP, proporcionando aumento na velocidade de cicatrização e melhor trofismo dos tecidos. Isso ocorre pelo estímulo da capacidade de cicatrização do tecido conjuntivo, assim como a neoformação vascular (RODRIGUES ; GUIMARÃES, 1998; COLLS, 1984; BIBIKOVA et al., 1994; GONZÁLES; CRUÑES, 1988; VEÇOSO, 1993; KARU et al., 1995; HERERRO et al., 1988; SILVA et al., 1998).

Veçoso (1993), classifica o laser como laserterapia de alta potência e laserterapia de baixa potência, onde o primeiro apresenta potencial destrutivo e o segundo não apresenta potencial destrutivo respectivamente.

Kitchen e Bazin (1998) definem a laserterapia de baixa intensidade com as aplicações de diodos monocromáticos de intensidade baixa onde para aplicações em lesões são frequentemente usadas potências menores de 35 mW. Esta modalidade é

denominada de bioestimulação por acelerar os processos reparacionais, fatos estes descritos por Mester, porém esta denominação não está adequada, pois o laser possui capacidade de acelerar processos celulares e inibir outros. Desta forma, o termo mais correto a ser utilizado seria a biomodulação.

A primeira interação do laser com o tecido biológico acontece na pele, onde cerca de 6% da radiação luminosa incidente é refletida (PARRISH ; DEUTSCH, 1984). A distribuição gaussiana permite fazer um cálculo de atenuação do laser que tem um caráter exponencial, assim a profundidade na qual a intensidade do feixe é 37% da intensidade original incidente é chamada de profundidade de penetração, assim pode-se fazer um cálculo aproximado em relação aos tecidos corporais irradiados, necessitando saber o coeficiente de absorção de cada tecido biológico (BAXTER, 1997).

Não há dúvida que a laserterapia veio beneficiar inúmeros áreas da saúde, tais como a medicina e a fisioterapia, porém ainda causa algumas polêmicas em relação a seus a possíveis efeitos secundários. Estudos recentes conduzidos pelo professor Nivaldo acusaram a ocorrência de cegueira em filhotes de ratas após a irradiação sobre a região pélvica (VEÇOSO, 1993). Entretanto, a American National Standards Institute classificam os lasers em classes, onde os lasers de baixa intensidade (GaAs, InGaP, HeNe e GaAlAs) possuem poucas possibilidades de causarem efeitos deletérios.

Nos princípios físicos da radiação laser, segundo Colls (1988), a onda é um distúrbio transmitido através do vácuo ou de um meio gasoso, líquido, ou sólido. Estas ondas podem variar de acordo com o ciclo (menor porção não repetida da onda), período (tempo para efetuar um ciclo), comprimento de onda (distância percorrida

pela onda em um período), frequência (numero de ciclos em um período), velocidade de propagação, energia (capacidade de realizar trabalho), potência (quantidade de energia utilizada em um espaço de tempo) e a densidade de energia (quantidade de energia utilizada em uma determinada superfície).

Para haver produção de laser é necessário que tenha bombeamento com energia de gases ou semicondutores, emitindo então um feixe de luz visível ou não visível (BAXTER, 1998).

Colls (1984) descreve um esquema para critérios de doses empregadas em cada situação clínica, onde para efeito analgésico usa-se uma dose de 2 a 4 joules; para o efeito antiinflamatório, dose de 1 a 3 joules; efeito cicatrizante, dose de 3 a 6 joules e para o efeito circulatório, doses de 1 a 3 joules.

O mesmo autor descreve ainda diferentes dosagens de acordo com o estágio da lesão, onde doses baixas de 1 a 3 joules para estágio agudo, doses médias de 3 a 4 joules para estágio subagudo e doses elevadas de 5 a 7 joules para estágios crônicos. Doses acima de 7 joules é considerado de caráter inibitório, não sendo recomendados para obtenção de efeitos terapêuticos.

Para descobrir o tempo necessário para alcançar os efeitos desejados é necessário ter conhecimentos da dose, potência média de emissão do laser e a área a ser irradiada. Para isso utiliza-se a fórmula: densidade de energia igual à potência média vezes o tempo sobre a área. Silva et al. (1998) relata ainda que quanto maior a potência do laser menor o tempo de exposição do tecido a sua radiação se faz necessário para obter o efeito desejado.



## 2.4 Laser na cicatrização tendinosa

A fisioterapia por laser é uma forma de tratamento que tem crescido bastante, mas suas bases fundamentais científicas não estão ainda bem esclarecidas, requerendo estudos randomizados, controlados e com cuidados experimentais físicos e metodológicos (CHIESA ; LAZAROTTO, 2005). Estudos prévios sugerem que a fotoestimulação laser aumenta a síntese de ATP, promove a produção de ácidos nucléicos e a divisão celular, além disso, estimula o processo de cicatrização por liberar fatores de crescimento dos fibroblastos (YAAKOBI et al., 1996; PASSARELLA et al., 1984)

Diversos estudos têm sido realizados para tentar entender os mecanismos fisiológicos pelas quais a radiação laser de baixa intensidade estimula o processo reparativo e à maioria deles relatam principalmente a proliferação de fibroblastos e retirada do processo inflamatório mais precocemente, fatos estes evidenciados nas pesquisas de ABERGEL et al., 1984; BOULTON; MARSCHALL, 1986; VOGEL, 1986; VICENZI ; CARVALHO, 2002.

O primeiro estudo realizado com a aplicação da laserterapia de baixa intensidade em humanos foi no tratamento de úlceras crônicas de pressão e experimentalmente apresentando resultados satisfatórios na velocidade de cicatrização. Além disso, foi avaliado o laser no tratamento de diversos tipos de lesões abertas de tecidos moles, com resultados geralmente positivos (KITCHEN ; BAZIN, 1998). Estudos in vitro experimentais em animais bem como estudos clínicos apóiam a teoria de regeneração

tissular e cicatrização de lesões quando submetidos à radiação laser (CARRATA; BRITO, 2004).

O laser de baixa intensidade tem sido utilizado em experimentos que visam acelerar o processo de cicatrização em tecidos moles, por estar diretamente ligado ao incremento de células responsáveis pela reparação do tecido com melhor qualidade e de forma mais rápida (MESTER et al., 1975). As lesões quando submetidas à radiação laser e observadas em microscopia óptica, pela análise histopatológica e histomorfométrica do tecido, promovem proliferação fibroblástica, síntese colágena aumentada, formação de novos vasos. De fato, baseado nisso, a transformação ocorrida dos fibroblastos e colágenos são as bases estruturais para uma cicatrização (MESTER ; MESTER, 1985).

Inúmeros estudos têm sido realizados em vários tecidos e células que fazem parte do processo de reparação, em uma tentativa de esclarecer os efeitos biológicos pelas quais as radiações lasers de baixa intensidade podem favorecer esse processo. A grande parte dos estudos dizem respeito a proliferação fibroblástica e com ela o aumento na síntese de colágeno. Estudos realizados por Boulton e Marshall (1986), usando fibroblastos embrionários nos quais foram observados um aumento na multiplicação celular seguido da irradiação do tipo He-Ne. Resultados semelhantes foram conseguidos por Bosatra et al. (1984) na dose de 2 joules/cm<sup>2</sup> sobre as culturas fibroblásticas.

Mester et al. (1975) estudaram o processo de regeneração muscular em ratos submetidos a laserterapia. Concluíram, através de exames patológicos que o efeito do laser de baixa intensidade não só acelerou o processo de cicatrização muscular, como também promoveu um reparo tecidual qualitativamente superior ao observado no grupo controle, desde o processo inflamatório até a fase de remodelação.

Vasconcellos et al. (1984) apud Wanderer (1991), usaram o laser de baixa intensidade no tratamento de patologias osteo-articulares, cicatriciais e dermatológicos em 11 cães e 2 gatos, obtendo bons resultados terapêuticos no que diz respeito ao reparo do tecido envolvido.

Abergel et al. (1984), fazendo estudos in vitro de culturas de fibroblastos da pele humana, verificaram que o laser de baixa intensidade do tipo He-Ne, sob a mesma densidade de energia, promove uma acentuada estimulação da síntese de colágeno, podendo ser utilizado para modular o metabolismo do tecido conjuntivo. Estes resultados, entretanto, não foram compartilhados por Hallman et al. (1988) que não observaram diferenças significativas entre as porções tratadas e não tratadas com o laser de baixa intensidade.

Os resultados in vitro obtidos por Balboni et al. (1986) demonstraram que as irradiações laser de baixa intensidade aumentam a produção de colágeno pelos fibroblastos, sem que haja aumento na população celular. Segundo os autores, este efeito está na dependência do tempo de exposição e da dosimetria empregada.

Vogel (1986) citou que os lasers de baixa intensidade têm sido usados efetiva e rotineiramente na Europa para reduzir edemas, inflamações e lesões de tecidos moles, como músculos e tendões, fatos estes evidenciados nas pesquisas citadas.

Lyons et al. (1987) aplicaram radiação laser de baixa intensidade (He-Ne) em lesões suturadas de ratos. Os autores fizeram aferições da concentração de colágeno e da forma de tensão das lesões em diferentes estágios de evolução. Os resultados encontrados justificam o aumento na tensão obtida nas lesões tratadas, pelo maior número de moléculas de colágenos ligadas e maior organização funcional das células.

De acordo com Ismailov et al. (1993), em um estudo experimental com 120 ratos albinos da raça wistar demonstraram que a combinação simultânea das radiações laser de baixa e alta intensidade aceleram o processo de reparação, sendo que o laser de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio demonstrou ser a melhor ferramenta para a estimulação do reparo de lesões de tecidos moles.

Burgudzhieva (1989) executou um estudo clínico em 97 incisões cirúrgicas pós-operatórias na região abdominal que envolvia pele, tecido subcutâneo e fáscia muscular. As incisões foram tratadas durante 10 a 60 dias sob medicamentos e não obtiveram cura. Após a aplicação do laser de baixa intensidade, as curas aconteceram num período de 5 a 18 dias, mostrando efetividade na reparação de tecidos moles.

Segundo Re e Viterbo (1985), o laser terapêutico ou de baixa intensidade promove um aumento do número de leucócitos e da atividade fagocitária, bem como estímulo da proliferação fibroblástica e elevação do metabolismo celular pela formação de redes capilares ao redor da lesão.

Vicenzi e Carvalho (2002), analisaram os efeitos do laser de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio na inflamação articular induzida em ratos com uma dose de 4 joules/cm<sup>2</sup> e os resultados demonstraram histologicamente que o laser GaAs apresenta efetividade nos processos inflamatórios, edematosos e analgésico.

Para Taturanas et al. (1998), as doses de 1 a 5 joules/cm<sup>2</sup> são recomendadas ao laser terapêutico para conseguir aumento do número de fibroblastos e conseqüentemente de fibras colágenas, incrementando também a vascularização.

Outro estudo realizado por Gebauer e Constantinescu (2000) teve como meta observar os efeitos microscópicos do laser cirúrgico em tecidos. A investigação observou a interação do laser com o tecido biológico e para isso, foram realizadas lesões parciais no tendão flexor digital profundo em coelhos, onde foi utilizado 4 tipos de laser, onde a frequência e a intensidade de cada aplicação era variado de acordo com cada aparelho. A partir dos resultados colhidos os autores acreditam na hipótese dos efeitos do laser na retração do tecido na ferida como processo curativo.

Ozkan et al. (1998), realizou um estudo com o objetivo de investigar os efeitos de fotoestimulação por laser de baixa intensidade na reabilitação de 25 pacientes com 41 danos nos tendões flexores digitais comparando com grupo controle com protocolo de tratamento específico. Os resultados mostraram uma melhoria significativa no grupo tratado com laser para o parâmetro redução de edema ( $p < 0,01$ ).

Seguindo a mesma linha de pesquisa, Fretz e Zhongli apud Taturanas (1998), encontraram em seu estudo menor edema durante o período de reparação nas feridas irradiadas com laser do que no grupo controle.

Albertini et al. (2002) realizou um estudo com o propósito de investigar os efeitos da terapia com laser de baixa intensidade (AsGaAl) no processo inflamatório agudo em modelo clássico de edema induzido em patas de ratos. A radiação baseou-se em diferentes protocolos e os resultados demonstraram que a densidade de energia de 2,5 joules/cm<sup>2</sup> reduz o edema em 45,4% ( $p < 0,01$ ). Os autores concluem então que a radiação laser com esta densidade de energia produz efeitos similares ao diclofenaco de sódio de 1mg/kg.

Goldman et al. (1980) em seu estudo triplo cego com 30 portadores de artrite reumatóide nas articulações das mãos, concluíram que o feixe de luz produziu melhora da função, redução de edema e dor nos casos tratados com Neodymium-YAG com comprimento de onda de 1060 nm e dose de 15-20 joules/cm<sup>2</sup> durante 13 sessões.

Outra pesquisa realizada por England et al. (1989), comparou diferentes tipos de tratamento para tendinite do supra-espinhoso em 30 pacientes com placebo, laserterapia de baixa intensidade (GaAs) e administração de drogas. Concluíram que o laser foi efetivo frente aos outros tratamentos.

Carvalho et al. (2001), verificaram através de seu estudo os efeitos do laser GaAs na regeneração da solução de continuidade muscular em ratos. Utilizaram dosimetrias de 2 e 4 joules/cm<sup>2</sup> e obtiveram resultados eficientes na aceleração do processo normal de reparo muscular após lesão nos ratos por diminuir o processo inflamatório e incrementar fibroblastos e colágenos, além de uma cicatriz com chances diminuídas de aderências.

Outro estudo realizado com laser da baixa potência para promover a cicatrização do músculo gastrocnêmio foi realizado por Buliakova e Azarova (2002), obtiveram resultados positivos comprovados na histologia quando comparados com o grupo controle. Da mesma forma, Morrone et al. (1998) realizou um estudo experimental in vitro e concluíram que este recurso favorece a bioestimulação nas lesões induzidas no tecido muscular de ratos.

Hala et al. (2002), pesquisou os efeitos da radiação laser de baixa potência do tipo GaAs em lesões de continuidade em ratos da raça Fischer, demonstrando que a irradiação com intensidade de 4 e 2 joules/cm<sup>2</sup> promovem uma aceleração no processo de

cicatrização e chances diminutas de fibroses e aderências nos tecidos subjacentes, principalmente quando aplicados na dose maior.

Taturanas et al. (1998), aplicou a laserterapia arseneto de gálio nas doses de 2 e 4 joules/cm<sup>2</sup> nas feridas cirúrgicas de ratas domésticas submetidas a ovário histerectomia de conveniência, em aplicação única no pós-operatório imediato e os resultados mostraram efetividade nas duas doses testadas na cicatrização de primeira intenção.

Guerino et al. (2000) observaram uma redução do número de células inflamatórias em seu estudo realizado em 19 cobaias com lesão de cartilagem que foram submetidos a aplicação de laser de baixa intensidade do tipo He-Ne (633 nm) e 6 mW de potência média durante 37 segundos.

Haker e Lundeborg (1990) realizaram uma pesquisa duplo cega em 49 sujeitos com o diagnóstico de epicondilite lateral e obtiveram resultados efetivos com o laser GaAs de 904 nm com potência de 12 mW, pulsado na frequência de 70 Hz, na modalidade puntual durante 30 segundos num total de 12 sessões.

Takahashi et al. (1992) apud Azevedo et al. (2004), relatam que a neovascularização evidenciada como efeito da radiação laser de baixa intensidade é mais acentuada na fase inicial de formação do tecido de granulação. Além disso, incluem ainda a estes efeitos a intensificação da proliferação fibroblástica e conseqüente deposição aumentada de colágeno (BISHT et al., 1994).

## 3 METODOLOGIA

### 3.1 Caracterização da pesquisa

Esta pesquisa caracterizou-se por um estudo científico experimental aprovado pelo comitê de ética (Anexo D) por estar em concordância com os princípios éticos em experimentação animal.

### 3.2 Amostra

A amostra foi composta por 20 ratos albinos – *ratus norvegicus* – adultos jovens, machos clinicamente sadios da linhagem Wistar, com idade aproximada de 90 dias e peso médio de 280 gramas, provenientes do Biotério da Universidade de Passo Fundo – RS.

### 3.3 Desenho experimental

Tabela 1: Divisão dos grupos, subdivisão dos dias de sacrifício e observações microscópicas



<b>Grupos</b>	<b>Dias de tratamento</b>	<b>Observações microscópicas</b>
G <sub>1</sub>	SG <sub>3</sub>	O <sub>MI</sub>
	SG <sub>7</sub>	O <sub>MI</sub>
G <sub>2</sub>	SG <sub>3</sub>	O <sub>MI</sub>
	SG <sub>7</sub>	O <sub>MI</sub>

Na qual:

G<sub>1</sub> = Grupo do laser de baixa intensidade

G<sub>2</sub> = Grupo controle

SG<sub>3</sub> = Sacrificado no 3<sup>o</sup> dia;

SG<sub>7</sub> = Sacrificado no 7<sup>o</sup> dia;

O<sub>MI</sub> = Observação microscópica

### 3.4 Tratamento das variáveis operacionais

#### 3.4.1 Variável dependente

O tecido retirado pela biópsia foi processado e corado para avaliar as células inflamatórias, os fibroblastos, deposição de colágeno e nova vascularização. A observação foi feita por microscópico óptico da marca Leica® com aumento de até 40 vezes em câmara capturadora de imagens através do software Pixe View Station v5.23.

#### 3.4.2 Variável independente

A aplicação da laserterapia de baixa intensidade foi iniciada imediatamente após a sutura cutânea do procedimento de indução da lesão no corpo do tendão de Aquiles esquerdo, no terço medial de cada animal. Foi utilizado um aparelho de laser clínico portátil do tipo fosfeto de índio e gálio (InGaP), modelo Physiolum dual da marca BIOSET, com comprimento de onda de 658,4 nm na faixa do vermelho visível previamente aferido (Anexo H), potência média de 18 mW, dosimetria de 4 joules e tempo de exposição de 222 segundos, ou seja, 3 minutos e 42 segundos, no modo puntual, durante 7 dias.



Figura 01: Aparelho de laser Physiolum dual

### 3.5 Instrumentos, equipamentos e soluções

- \* Laser clínico portátil da marca Bioset modelo Physiolum dual;
- \* Gaiola de plástico polipropileno medindo 40x33x17 cm;

- \* Luvas cirúrgicas de látex<sup>1</sup>;
- \* Instrumentação cirúrgica;
- \* Lâminas de bisturi aço-inox<sup>2</sup>;
- \* Fio de sutura nylon monofilamentoso preto estéril<sup>3</sup>;
- \* Toalhas de papel<sup>4</sup>;
- \* Álcool iodado<sup>5</sup>;
- \* Xilasina;
- \* Tiopental;
- \* Hematoxilina-eosina
- \* Tricômico de Masson
- \* Solução isotônica de cloreto de sódio<sup>6</sup>;
- \* Álcool etílico hidratado<sup>7</sup>;
- \* Seringa de insulina estéril<sup>8</sup>;
- \* Tricótomo elétrico;
- \* Gase estéril<sup>9</sup>;
- \* Balança de precisão da marca filisona
- \* Ração (complemento para camundongos e ratos)<sup>10</sup>;

---

<sup>1</sup> da marca Volk do Brasil® tamanho grande

<sup>2</sup> da marca Wiltex® de aço carbono estéril

<sup>3</sup> Med Suture Nylon com agulha AT com corpo triangular estéril

<sup>4</sup> Melhoramentos® inodoro e picotado

<sup>5</sup> da marca Multilab® 0,1%

<sup>6</sup> 0,9% estéril fabricado pela indústria farmacêutica Basa Ltda

<sup>7</sup> 92,8° fabricado pela Alfa Química Ltda

<sup>8</sup> da marca B-D® plastipak de 1ml

<sup>9</sup> da marca Cremer®

<sup>10</sup> CR-1 da marca Nuvilab

### 3.6 Procedimentos

Foram utilizados 20 ratos machos, clinicamente saudáveis, da linhagem wistar, com idade média de 90 dias e peso médio de 280 gramas, provenientes do Biotério da Universidade de Passo Fundo. Todos os animais foram identificados e numerados na cauda proximal com numerais, além de adaptados às condições de manejo por um período de sete dias e aleatoriamente distribuídos em dois grupos:

Grupo I: 10 ratos foram submetidos a uma lesão tendínea induzida no tendão de Aquiles esquerdo de 2 mm sob anestesia, com sutura imediata somente da pele. Após o procedimento inicial foi aplicado a laserterapia do tipo fosfeto de índio e gálio com uma dose de 4 joules no modo pontual na porção média da lesão. O processo terapêutico foi repetido diariamente no mesmo horário durante os sete dias subsequentes à lesão.

Grupo II: 10 ratos foram submetidos a uma lesão tendínea induzida no tendão de Aquiles esquerdo de 2 mm sob anestesia, com sutura imediata somente da pele, sem aplicação da laserterapia de baixa intensidade – controle.

Cada grupo foi subdividido em 2 subgrupos contendo 5 ratos cada que ficaram na mesma gaiola pelo período estabelecido, sendo que estes foram sacrificados para a remoção do tecido (biópsia) e análise histopatológica nos dias pré-estabelecidos no desenho experimental.

O experimento foi realizado na sala de experimentação do Biotério da Universidade de Passo Fundo (UPF) com controle de umidade relativa e temperatura por climatizador. A manipulação, alimentação e limpeza foram realizadas pelo pesquisador e

sua equipe diariamente a fim de diminuir os riscos de contaminação e infecção. Não foi administrado qualquer medicamento a base de antiinflamatório ou antibiótico no pré-operatório e pós-operatório, objetivando não interferir nos efeitos do laser, porém foi administrado um analgésico<sup>11</sup> por via oral (VO) para minimizar o processo doloroso causado pela intervenção cirúrgica. Além disso, foram tomadas uma medida de higiene com soro fisiológico diariamente na área da lesão em ambos os grupos.

### 3.6.1 Medidas antecedentes aos procedimentos anestésicos e cirúrgicos

Uma semana antes das intervenções cirúrgicas, foi tomada uma medida para comprovar a higidez do grupo experimental. Foi realizado um hemograma com coleta de sangue da artéria caudal de cada animal. Após a retirada, o sangue foi colocado em solução anticoagulante e levado para análise no laboratório de análises clínicas (Anexo F).

### 3.6.2 Medidas pré-anestésicas e cirúrgicas

As cirurgias foram realizadas utilizando-se instrumental padronizado para os dois grupos, esterilizado em estufa por calor seco, assim como equipamentos de proteção individual (EPI).

---

<sup>11</sup> Dipirona sódica da linha genérica EMS® solução oral

Durante as 2 horas antecedentes às intervenções cirúrgicas, os animais foram privados de alimentação e água. A medicação anestésica utilizada foi Xilasina<sup>12</sup> na dose de 2 mg/Kg por via intra-muscular e Tiopental<sup>13</sup> na dose de 30 mg/Kg, por via intra-peritonal (Anexo G). Em seguida, foi realizada tricotomia na região pré-estabelecida. Após este procedimento, os animais foram posicionados na mesa cirúrgica onde foi realizada assepsia com álcool iodado 1%.



Figura 02: Procedimento anestésico



Figura 03: Tricotomia da coxa esquerda

---

<sup>12</sup> da marca Virbaxyl 2%

<sup>13</sup> do laboratório Korig



Figura 04: Assepsia da região cirúrgica

### 3.6.3 Preparação da lesão tendinosa

Foram realizadas incisões verticais de aproximadamente 5mm de comprimento envolvendo pele e tecido subcutâneo sobreposto ao tendão de Aquiles, que foi submetido a um lesão parcial horizontal de 2mm controlada por paquímetro. Em todos os animais dos dois grupos foram realizadas suturas na pele em padrão isolado simples com fio de nylon preto monofilamentoso (4-0), perfazendo um ponto.



Figura 05: Área da lesão tendínea

3.6.4 Laserterapia fosfeto de índio e gálio nas lesões tendinosas dos animais do grupo I:

Nos diferentes períodos pré-estabelecidos os animais do grupo I (laser) foram submetidos a aplicações diárias do laser fosfeto de índio e gálio (Anexo A). Essas aplicações foram realizadas perpendiculares à lesão no modo pontual, sendo que durante o experimento foi utilizado pelo pesquisador óculos com lentes especiais para filtração da radiação com atenuação de 98,6% para emissão direta perpendicular às lentes. Além disso, não foi utilizado nenhum tipo de sedação para os animais no momento das aplicações.





Figura 06: Aplicação da laserterapia de baixa intensidade

### 3.6.5 Procedimentos realizados no grupo II

No período de 7 (sete) dias, os animais com lesões tendíneas do grupo II foram submetidos aos mesmos manuseios e cuidados de higiene tomados no grupo I.

### 3.6.6 Eutanásia e obtenção do tecido

Para a obtenção das amostras dos tecidos, os animais foram sacrificados nos dias pré-estabelecidos, utilizando-se de doses elevadas de anestésicos (100 mg/Kg por via peritoneal), até a parada cardiorrespiratória, conforme procedimento adotado pelo Biotério da Universidade de Passo Fundo. Após a constatação da letalidade foi

realizada a dissecação cuidadosa da área lesionada por desinserção osteotendinosa e miotendinosa nas duas extremidades, sendo imediatamente mergulhada em solução tampão para posterior fixação e preparação das lâminas. Os animais envolvidos na pesquisa foram coletados por empresa especializada e depositados em vala séptica.

### 3.6.7 Preparação das lâminas

Após a coleta do material, as peças permaneceram por 24 horas para fixação em álcool 70%, com um volume 10 vezes superior ao da peça. Esse material foi transportado até o Serviço de Patologia da Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo – RS, para preparação das lâminas.

As lâminas do tecido tendinoso foram preparadas seguindo a ordem de: (a) descrição, (b) desidratação, (c) difusão em xilol, (d) parafinização, (e) inclusão e (f) microtomia.

### 3.6.8 Avaliação histopatológica

Os segmentos obtidos foram acondicionados, processados e corados por Hematoxilina de Harris/Eosina-floxina (HE) e Tricrômico de Masson para avaliar a evolução do quadro cicatricial. As lâminas foram observadas em microscopia óptica conectada ao sistema de análise digital das imagens que captura e transmite as imagens

para um computador onde foi feita a digitalização utilizando o programa específico para otimizar a contagem das células e da área cicatricial com aumento de até 40x (Anexo E). Para as células inflamatórias e fibroblastos foi utilizado um contador de células e para a deposição de colágeno e neovascularização foi realizada uma análise subjetiva encontrando um escore numérico (Anexo B), estando o patologista cego para as lâminas.

### 3.6.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada através de médias e desvio padrão. O teste *t de Student* foi realizado ao nível de significância  $p \leq 0,05$  no programa *Excel for Windows* para as células inflamatórias e fibroblastos (Anexo C), sendo os dados classificados de três maneiras:

$p \leq$  entre 0,05 a 0,01 (valores significativos)

$p \leq$  0,01 até 0,001 (valores muito significativos)

$p \leq$  0,001 (valores altamente significativos)

## 4 RESULTADOS

Nos pós-operatórios foram observados os aspectos microscópicos da cicatrização tendinosa na fase inicial, ou seja, durante os sete dias de experimento. Todos os animais adaptaram-se bem as condições de manejo e procedimentos.

Os cortes histológicos foram primeiramente analisados quanto ao número de fibroblastos e células inflamatórias existentes em três campos de grande aumento (40x), sendo feito à média aritmética destes campos (cada campo corresponde a 0,196 mm<sup>2</sup> utilizando-se uma objetiva n° 18). A avaliação da vascularização da amostra assim como a quantidade da deposição de colágeno foi subjetiva, sendo estabelecido um escore utilizando número de cruces que variam de 0/++++ a 4/++++ para deposição de colágeno e de 1/+++ a 3/+++ para o critério de vascularização. Em relação à deposição de colágeno o escore 0 (zero) refere-se a ausência de deposição enquanto o 4 refere-se a quantidade de colágeno normalmente encontrada no tendão sem lesão e os valores intermediários referem-se a leve (1), moderado (2) e acentuado (3) com o uso de ½ para valores intermediários entre estes escores. Para a avaliação da quantidade de vascularização foram utilizados apenas os escores leve (1), moderado (2) e acentuado (3) também com o uso de ½ para valores intermediários entre estes escores. Os valores individuais de cada animal encontram-se na tabela (Anexo B).

### 4.1 Achados microscópicos das lesões tendinosas no 3° dia

Nas análises microscópicas das lesões tendíneas obtidas através da biópsia no 3º dia os cortes corados por HE mostraram que o grupo controle apresentava proliferação de células inflamatórias, discreta quantidade de fibroblastos e nos cortes corados com Masson apresentavam uma discreta deposição de colágeno, além de uma leve formação de novos vasos. Em contrapartida, na avaliação microscópica do grupo tratado com laser na coloração HE foi observado baixo número de células inflamatórias e importante proliferação fibroblástica, na coloração Masson observou-se moderada deposição de colágeno e leve a moderada neovascularização.

Comparando de forma estatística os resultados obtidos entre as médias dos grupos controle e grupo laser pode-se observar uma diferença altamente significativa quanto à presença de células inflamatórias e proliferação fibroblástica ( $p < 0,001$ ).

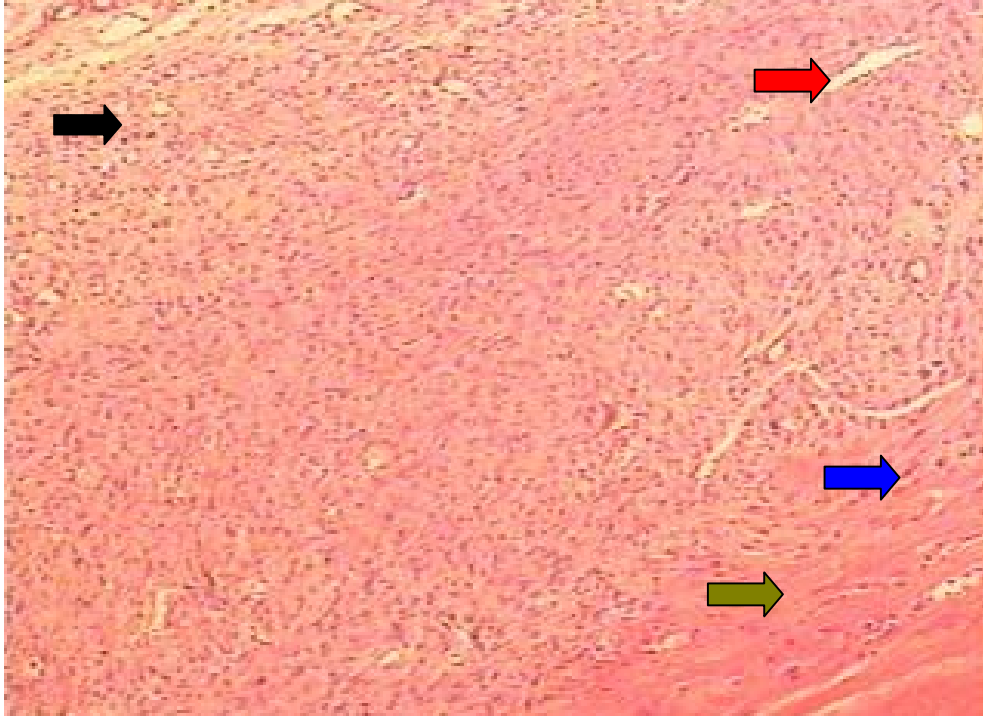


Figura 7: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Laser sacrificados no 3º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal evidenciando um baixo número de células inflamatórias e grande quantidade de fibroblastos. Aumento de 10x.

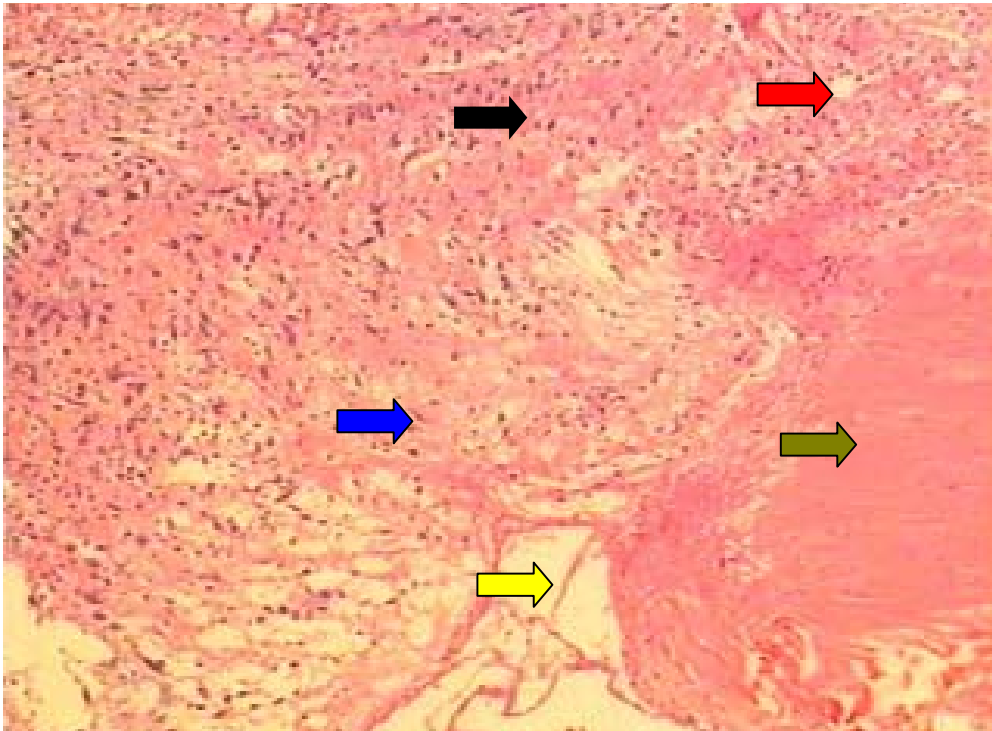
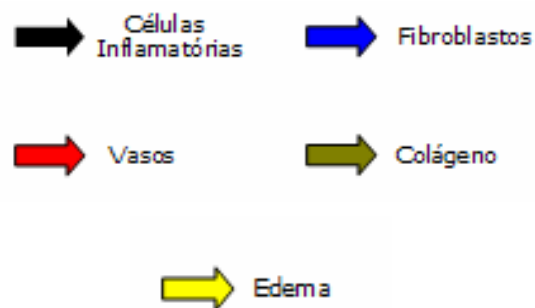


Figura 8: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle sacrificado no 3º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal, mostrando intenso edema, proliferação de células inflamatórias e poucos fibroblastos. Aumento de 10x.



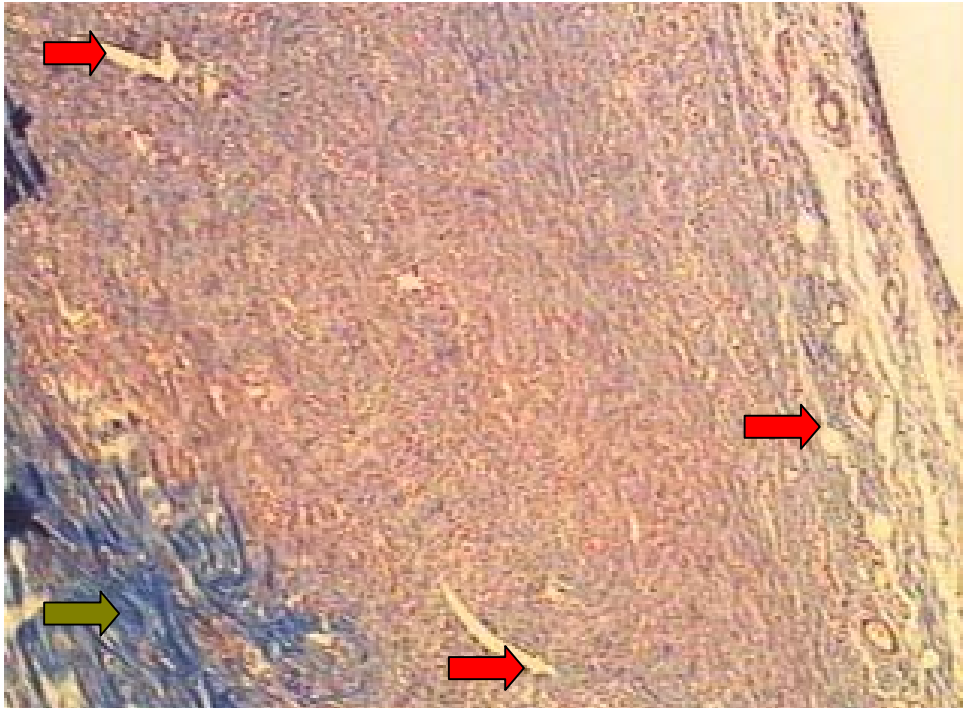


Figura 9: Microscopia do tendão do Grupo Laser no 3º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal apresenta moderada deposição de fibras colágenas e de leve a moderada formação de novos vasos. Aumento de 10x.

 Vasos

 Colágeno

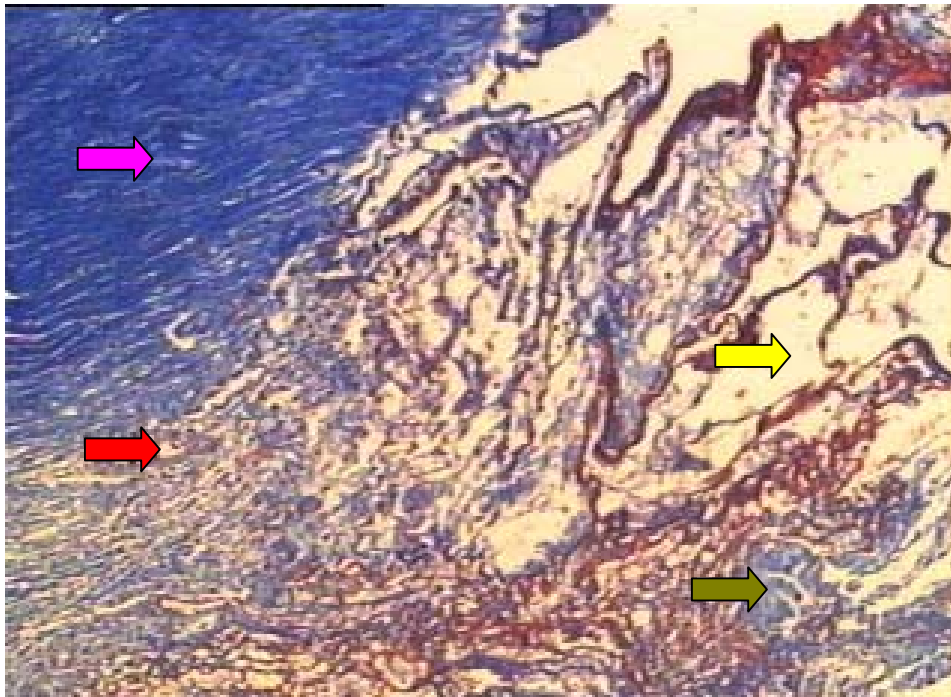


Figura 10: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle no 3º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal demonstrando discreta deposição de fibras colágenas e leve formação de novos vasos. Aumento de 10x.

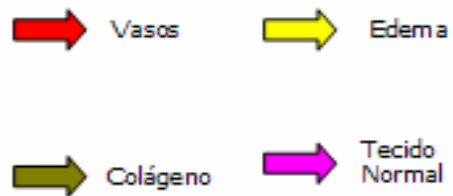


Tabela 2: demonstra a significância das células inflamatórias no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 3º dia.

Grupos	N	X (média)	Dp (Desvio padrão)	T	'p'
Laser	5	12,2	1,92	2,01	0,00000063
Controle	5	88,6	5,98		



Tabela 3: demonstra a significância dos fibroblastos no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 3° dia.

Grupos	N	X (média)	Dp (Desvio padrão)	T	'p'
Laser	5	355	44,73	2,13	0,00058
Controle	5	52,8	7,19		

#### 4.2 Achados microscópicos das lesões tendinosas no 7° dia

Nos aspectos microscópicos da lesão tendínea obtidas no 7° dia, segunda biópsia, os cortes corados por HE mostravam no grupo controle uma diminuição do processo inflamatório, porém ainda presente e um aumento na produção de fibroblastos. Nos cortes corados por Masson observou-se um quadro leve a moderado na deposição de colágeno e na neovascularização. Já no grupo tratado com laser na coloração HE foi evidenciado uma pequena quantidade de células inflamatórias e maior presença de fibroblastos no sítio da lesão. Na coloração Masson pode-se observar uma moderada deposição de colágeno e formação de novos vasos ao redor da lesão.

Comparando estatisticamente os resultados obtidos entre as médias dos grupos controle e tratados com laser pode-se observar uma diferença altamente significativa quanto à presença de células inflamatórias e proliferação de fibroblastos ( $p < 0,001$ ).

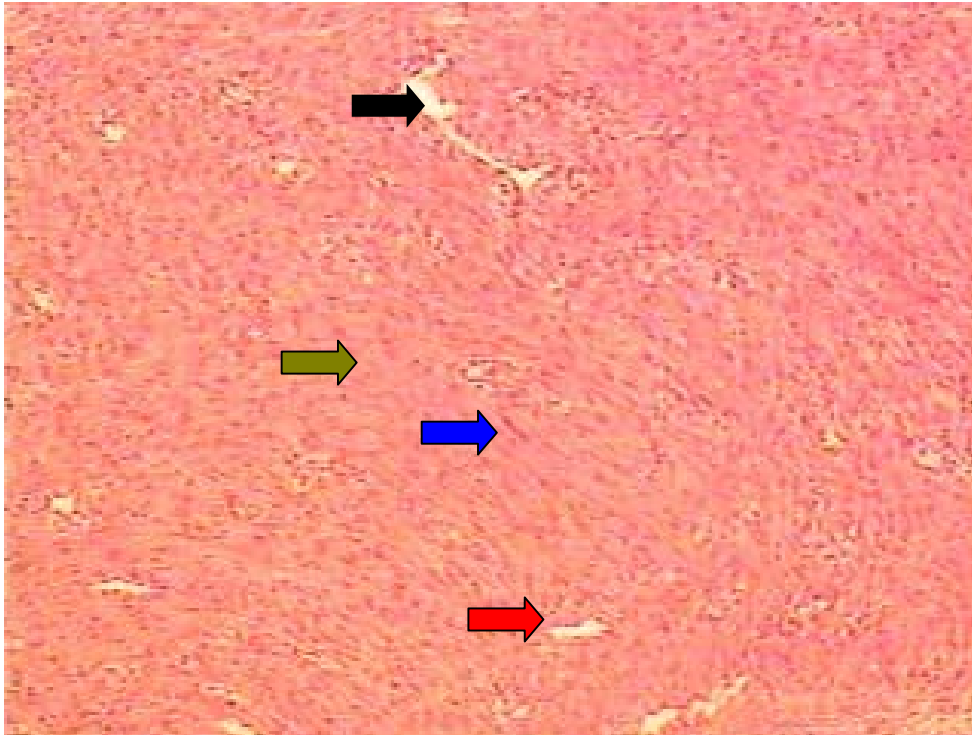


Figura 11: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Laser sacrificado no 7º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal, mostrando importante quantidade de fibroblastos e pouco número de células inflamatórias. Aumento de 10x.



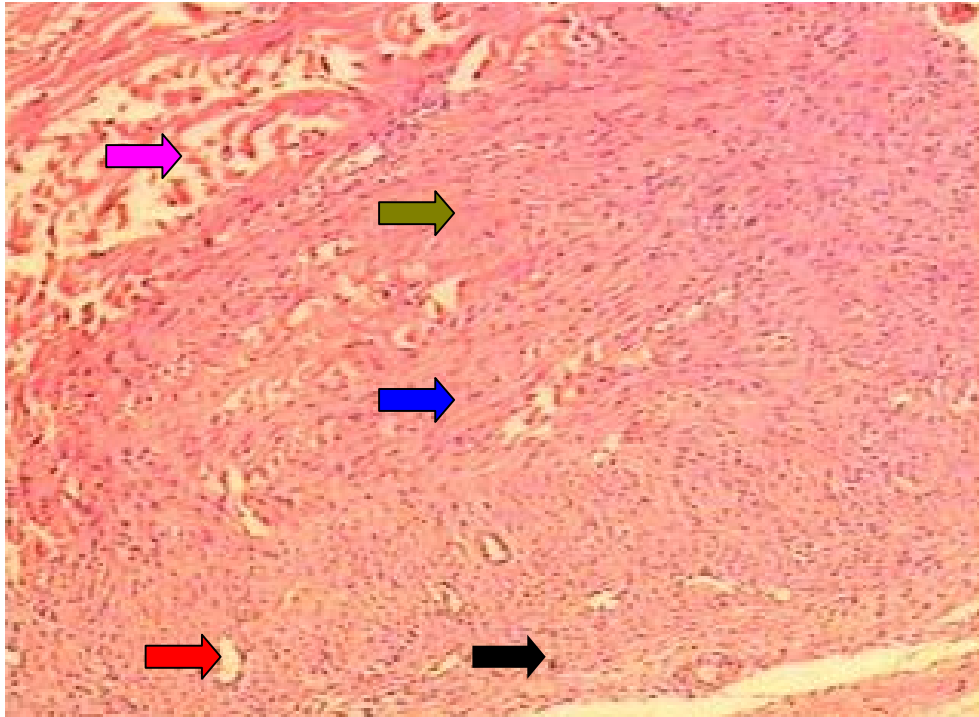
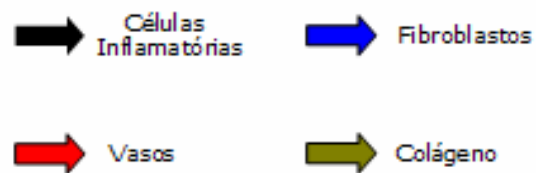


Figura 12: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle sacrificado no 7º dia de pós-operatório, corados por Hematoxilina-eosina. Corte longitudinal, mostrando proliferação fibroblástica na área da lesão em menor quantidade quando comparada com o grupo irradiado e ainda persiste o quadro inflamatório em menor proporção. Aumento de 10x.



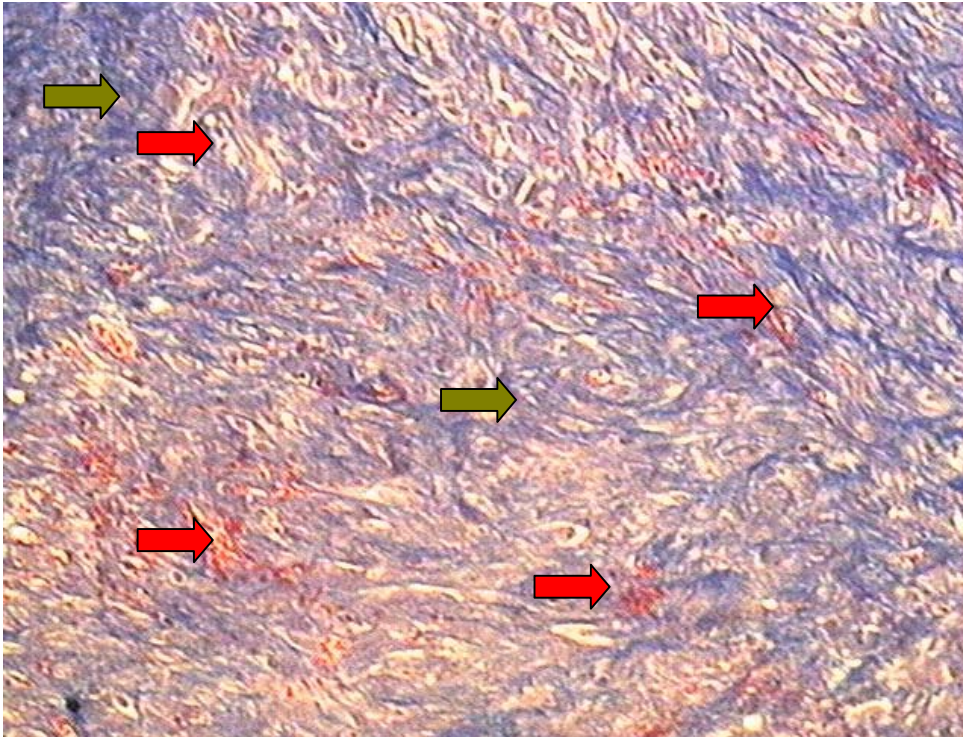


Figura 13: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Laser no 7º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal demonstrando moderada deposição de fibras colágenas. Aumento de 10x.

→ Vasos

→ Colágeno

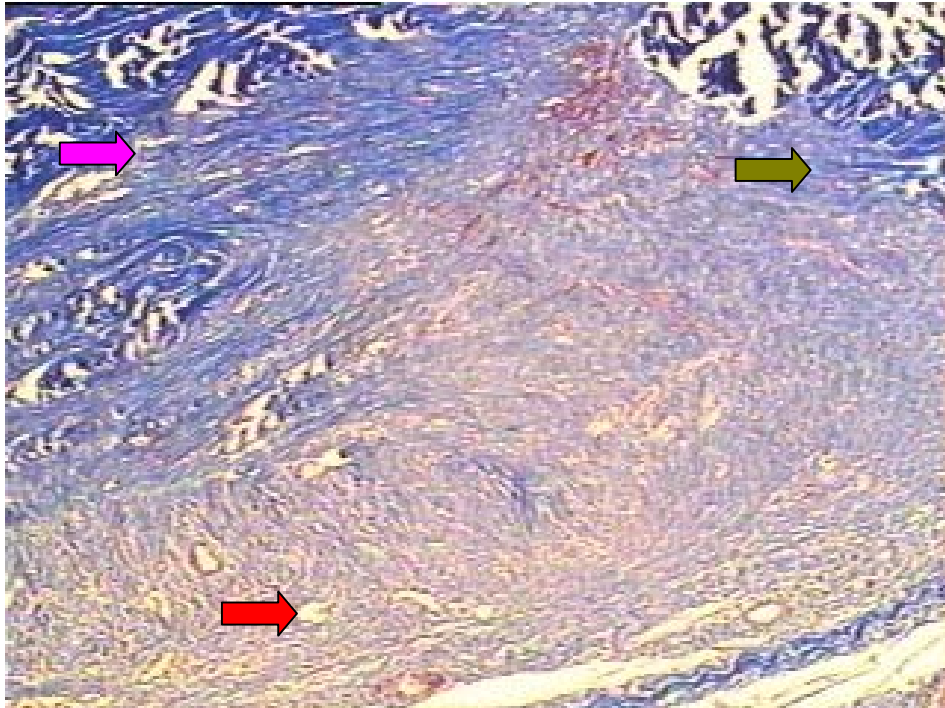


Figura 14: Microscopia do tendão calcâneo do Grupo Controle no 7º dia de pós-operatório, corados por Tricômico de Masson. Corte longitudinal demonstrando deposição de colágeno de leve a moderada. Aumento de 10x.

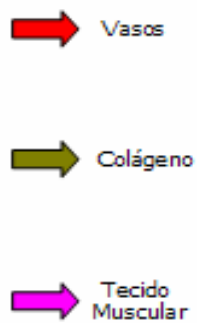


Tabela 4: demonstra a significância das células inflamatórias no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 7º dia.

Grupos	N	X (média)	Dp (Desvio padrão)	T	'p'
Laser	5	8,2	1,92	1,85	0,000000026

Controle	5	29,4	1,51
----------	---	------	------

Tabela 5: demonstra a significância dos fibroblastos no grupo irradiado por laser e controle na análise microscópica do 7º dia.

Grupos	N	<b>X</b> ( <i>média</i> )	<b>Dp</b> ( <i>Desvio padrão</i> )	<b>T</b>	<b>'p'</b>
Laser	5	454,8	59,43	2,13	0,000086
Controle	5	91,4	8,44		

## 5 DISCUSSÃO

É importante elucidar que a intenção deste estudo é a observação das respostas fisiológicas no processo inflamatório do tecido tendinoso lesionado quando submetidos a laserterapia de baixa intensidade.

O rato foi o animal escolhido por favorecer o manuseio, tanto na lesão quanto na aplicação do laser, para tal, foram selecionados ratos adultos com peso médio de 280 gramas e idade adulta. Utilizamos uma dieta irrestrita e água.

A laserterapia de baixa intensidade na lesão tendinosa foi estudada por diversos autores que obtiveram resultados satisfatórios (ENWEMEKA, 1991; ENWEMEKA, 1992; GUM et al., 1997; MURREL et al., 1994) entre outros. Todavia, a maioria concluiu a necessidade de mais estudos para se obter resultados conclusivos mais fidedignos.

Os efeitos da laserterapia de baixa intensidade são dependentes da densidade de energia e tempo de exposição, além do comprimento de onda, a duração e frequência do pulso e até mesmo do tipo de laser pulsado ou contínuo (SCHLAGER et al., 2000).

O laser fosfeto de índio e gálio (InGaP) foi escolhido por possuir uma potência média de 18 mW maior que o infravermelho GaAs 8,5 mW e ser contínuo, o que diminui o tempo de exposição que foi achado através do cálculo matemático da densidade de energia em relação ao tempo. O tamanho reduzido do laser clínico facilitou o manuseio e aplicação. Estes dados foram medidos no laboratório de alta potência do IP&D - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba.

A dose utilizado foi de 4 joules por estar na faixa terapêutica sugerida por Rodrigues e Guimarães (1998) para efeito cicatrizante. Além disso, outros estudos foram

realizados utilizando doses na faixa de 3 a 6 joules/cm<sup>2</sup> (KANA et al., 1981; TATURANAS et al., 1998).

A caneta do laser foi posicionada em contato direto com a pele do animal num ângulo de 90° em relação ao tecido tendíneo a fim de diminuir a dispersão e aproveitar e energia emitida.

A aplicação da radiação laser foi iniciado no grupo experimental imediatamente após a sutura cutânea para maximizar os efeitos na fase inicial de cicatrização e manteve-se por mais sete dias consecutivamente na dose e tempo exposição estabelecida.

A utilização de óculos com lentes especiais para filtragem da radiação, além de proteger os olhos dos aplicadores dos possíveis efeitos danosos à retina não produzem desconforto e nem reduzem a acuidade visual (BENNETT, 1989; HANKE, 1990).

De acordo com Brugnera e Pinheiro (1998) os trabalhos com laser devem-se adequar as regulações brasileiras, aplicado em local isolado, identificado com caracteres e simbologia internacional para área em uso ou presença de radiação e acima de tudo, observando os critérios de segurança recomendados para o tratamento com o laser, tanto de baixa quanto alta intensidade. Evidências estas que foram contempladas em nosso experimento.

Os sacrifícios e retirada da amostra tendínea foram realizados após a aplicação do laser no 3° e 7° dias de pós-operatório para analisar a fase inicial, pois temos a intenção de prosseguir com o experimento nas fases proliferativas e de remodelação na conclusão do doutorado.



Pode-se observar que o laser de baixa intensidade do tipo InGaP é um método eficiente o tratamento de processos inflamatórios induzidos por lesões tendinosas parciais no tendão de Aquiles esquerdo de ratos.

Na comparação entre o grupo irradiado por laser e controle houve uma diferença estatística altamente significativa na fase inicial do processo de cicatrização prevalecendo uma diminuição das células inflamatórias e proliferação fibroblástica com maior deposição de colágeno e formação de novos vasos no grupo tratado com laser do que no controle. Estes resultados vão de encontro aos achados por Hallman et al. (1988) atestaram em sua pesquisa que o laser He-Ne na dose de  $24,7 \text{ mW/cm}^2$  não se mostra efetivo na proliferação de células fibroblásticas. Outro estudo na mesma linha foi realizado por Bosatra et al. (1984) e encontrou resultados semelhantes aos achados em nossa pesquisa, registrando que há um aumento na proliferação de células, principalmente fibroblastos, nos tecidos lesionados com a aplicação do laser de baixa intensidade.

Os maiores êxitos da laserterapia de baixa intensidade devem-se as respostas do tecido frente à irradiação, como redução de edema, diminuição dos processos inflamatórios, aumento na produção de fibroblastos e em consequência aumento da síntese colágena e reepitelização (BAXTER, 1994; GOGIA, 1995).

Taturanas et al. (1998), encontraram em sua pesquisa uma menor quantidade de inflamação após a aplicação do laser. Na mesma linha de pesquisa outros autores relataram o efeito antiinflamatório do laser na fase inicial de reparo (COLLS, 1984; SILVA et al., 1998).

Através das análises histológicas realizadas em cada sacrifício dos animais, pode-se observar que o laser induz notável diferença no processo inflamatório de cicatrização em tendão nos diferentes dias de tratamento, quando comparadas com o grupo controle. Evidências estas também vistas no trabalho de Carvalho et al. (2001) que relatou em seu estudo uma diminuição do processo inflamatório e aceleração na cicatrização muscular quando submetidos a laserterapia.

Ozkan et al. (1998) investigou o efeito da laserterapia de baixa intensidade em tendões flexores digitais em humanos, demonstrando ser um método eficiente na redução do edema. Estas evidências também foram observadas em nossa pesquisa, principalmente nos primeiros dias de experimento, mostrando que a laserterapia de baixa intensidade tem efeito antiedematoso, quando comparados com grupo controle que evidenciou na primeira biópsia presença de líquido no meio extracelular, caracterizando edema. Evidências estas que concordam com os achados histopatológicos de nosso experimento e discordam dos achados de Samar et al. (1995) e De Bie et al. (1998) por concluírem que o laser não interfere de maneira positiva na redução de edema, resultados estes que podem estar relacionados à falha na eleição dos parâmetros adotados para o experimento.

O presente estudo apresenta uma diminuição do processo inflamatório quando comparados com o grupo controle nas duas coletas, resultados estes que estão em concordância com os achados de Romanos et al. (1995) e Guerino et al. (2000) e discordam dos achados por Vecchio et al. (1993) e Basford et al. (1998) que não evidenciam diminuição do processo inflamatório pela utilização do laser de baixa intensidade os quais aplicaram laser arseneto de gálio alumínio de 830 nm na dose de 1 joule/cm<sup>2</sup> em duas aplicações semanais durante 8 semanas no tratamento de tendinite do

manguito rotador de 16 pacientes e AsGaAl de 830 nm com potência de 33 mW durante 33 segundos, 3 vezes por semana durante 4 semanas no tratamento de fascite plantar de 32 sujeitos respectivamente.

Outro estudo que concorda com os achados em nossa pesquisa em relação à diminuição do processo inflamatório foi o de Haker et al. (1990) que obtiveram resultados efetivos com aplicação do laser GaAs de 904 nm e potência média de 12 mW, pulsado, de 2 a 3 vezes por semana num total de 12 sessões em 49 portadores de epicondilite lateral.

Na comparação entre as médias do grupo laser e controle no que diz respeito as células inflamatórias prevalecendo uma menor quantidade em números absolutos, porém houve uma diferença altamente significativa evidenciada no teste *t de Student*.

Diversos autores como Currier e Nelson (1992) relatam em seus estudos uma maior presença de fibroblastos na fase inicial do processo de reparo quando submetidos à aplicação da radiação laser em tecidos lesionados. Fato este evidenciado em nosso experimento e comprovado estatisticamente, havendo uma sobreposição do grupo irradiado sobre o controle também em números absolutos.

Pode-se observar na presente pesquisa um aumento crescente na deposição de colágeno durante a fase inicial de cicatrização, fatos estes também encontrados no estudo realizado por Tavares (2002), onde a terapia por laser proporcionou uma aceleração cicatricial na tenotomia calcânea em ratos, pelo aumento da deposição de colágeno, tanto na fase inicial como tardia do tratamento e no estudo Castro et al. (1983) que afirma ser a radiação laser do tipo He-Ne um estimulador da produção de colágeno pelos fibroblastos em até quatro vezes.

Outro estudo realizado por Reddy et al. (1998) mostrou que a fotoestimulação promovida pelo laser em tendões de Aquiles lesados em coelhos durante 14 dias foi eficiente por incrementar a produção de colágeno, resultados estes que entram em concordância com os achados da presente pesquisa.

Baxter (1988) relatou em seu estudo que o laser de baixa intensidade do tipo arseneto de gálio estimula a proliferação fibroblástica e em consequência produção de novas fibras colágenas. Outro estudo na mesma linha de experimento realizado por Anneroth et al. (1988) demonstrou os mesmos achados. Os resultados obtidos na presente pesquisa vão ao encontro dos resultados acima citados por mais que se usou outro comprimento de onda, porém discordam dos alcançados por Schmitt et al. (1993) que realizou uma análise histológica nas lesões tendinosas em cães e não identificou produção de fibroblastos e síntese de fibras colágenas, fato este que pode estar relacionado à densidade de energia e o tempo de exposição da radiação laser sobre o tecido lesado.

Na comparação subjetiva da análise da deposição de colágeno na lesão tendínea induzida em ratos de nosso experimento, o grupo irradiado por laser mostrou haver uma maior quantidade do que o grupo controle nos campos analisados.

Bibikova et al. (1994) em seu estudo demonstraram que a laserterapia de baixa intensidade promove uma neovascularização no sítio da lesão, fatos este também evidenciados nos estudos de Herrero (1988), Roig et al. (1990) e Schindl et al. (2002). Compararam-se subjetivamente os grupos com relação à formação de novos vasos, onde se observou uma maior prevalência no grupo tratado com laser do que no grupo controle.

Gigante et al. (2003) relataram um aumento da neovascularização, principalmente na fase inicial da lesão, evidências estas que concordam com os achados da presente

pesquisa por notar histologicamente um aumento na rede vascular nos primeiros sete dias de tratamento.

De acordo com a literatura analisada e os resultados evidenciados em nossa pesquisa, somos favoráveis à utilização do laser desde fase inicial das lesões tendinosas por promover uma série de eventos favoráveis a uma cicatrização mais eficiente e rápida.

Faz-se necessário ainda pesquisas com diferentes comprimentos de onda, tipos de laser, dosagens e tempos diferentes para analisar as distintas respostas e conhecermos a interação do laser de baixa intensidade.

## 6 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos na presente pesquisa experimental pode-se concluir que:

1. A laserterapia de baixa intensidade do tipo índio gálio fósforo interfere de maneira positiva na cicatrização tendinosa de lesões induzidas em ratos por incrementar a atividade fibroblástica, deposição de colágeno e formação de novos vasos principalmente na fase inicial da lesão.
2. O grupo irradiado pelo laser obteve uma redução no número de células inflamatórias e aumento número de fibroblastos altamente significativo quando comparados com o grupo controle, contribuindo dessa forma para diminuir a inflamação e acelerar a cicatrização na fase inicial de lesão.
3. A análise subjetiva realizada na avaliação microscópica quanto à deposição de colágeno e formação de novos vasos quando comparados com o controle mostraram uma tendência positiva em relação à média no grupo irradiado por laser.
4. A dosimetria empregada na pesquisa não provocou nenhum dano tecidual observado pela microscopia óptica.

5. Sugere-se, para outros trabalhos que tenham interesse em aprofundar as pesquisas na área de laserterapia de baixa intensidade em tendões, que se realize com uma amostragem maior ou animais da mesma origem genética para facilitar a análise microscópica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERGEL, R. P; MEEKER, C; LAM, T; DWYER, R. M; LYONS, R. F; CASTEL, J. C. Control of connective tissue metabolism by laser. Recent developments and future prospects. **Dermat Surg Oncol**, v.11, p. 1142-1150, 1984.

ABERGEL, R; LYONS, R; DWYER, R; CASTEL, J; UITTO, J. Bioestimulation of wound healing by lasers: Experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. **J. Dermatol**, v.13. n. 2, p. 127-133, 1987.

ALBERTINI, R; CORREA, F; RIBEIRO, W; COGO, J. C; ANTUNES, E; TEIXEIRA, S; DE NUCCI, G; FARIA NETO, H. C; ZÂNGARO, R. A; MARTINS, R. A. Análise do efeito do laser de baixa intensidade (AsGaAl) no modelo de inflamação de edema de pata de ratos. **Fisioterapia Brasil**, v.2, n.1, p. 05-09, 2002.

ALMEIDA LOPES, L. **Análise in vitro da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa intensidade.** 1999. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Universidade do Vale do Paraíba, 1999.

ANNEROOTH, G; HALL, G; RYDEN, H; ZETTERQVIST, L. The effect of low energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **British Journal of oral and Maxillofacial surgery**, v. 26, n.1, p. 12-17, 1988.

ARNOLD, E. **Medicina Esportiva.** Londres : Butterworths: 1976.

BALBONI, G; ZONEFRATI, R; BRANDI, M; REPICE, F. Effects of HeNe-Infrared laser radiation on who lines of normal human fibroblasts in vitro. **Arch. Ital. Anat. Embriol**, v.91, n.3, p. 179-188, 1986.

BANKS, William J. **Histologia Veterinária Aplicada.** 2.ed. Sao Paulo: Manole, 1991.

BASFORD, J. R. Low-energy laser treatment of pain and wounds: hype, hope on hokum. **Mayo Clinic Proceedings.** v. 61, n.8, p. 671-675, 1986.

BASFORD, J. R; MALANGA, G. A; KRAUSE, D. A; HARMSEN, W. S. Randomized controlled evaluation of low intensity laser therapy: Plantar fasciitis. **Arch Phys Med Rehabil**, v.79, p. 249-254, 1998.

BASFORD, J. Low-energy laser therapy. **Lasers in Surgery Medicine**, v.09, n., p. 1-5, 1989.

BASFORD, J. Low intensity Laser Therapy: Still not a established clinical toll. **Lasers in surgery and medicine**; v.16, 1995.

BAXTER, G. M. Wound healing and delayed wound closure in the lower limb of the horse. **Equine Pract.**, v.10, p. 23-31, 1988.



- BAXTER, G. D. **Therapeutic laser**. New York: Churchill Livingstone, 1997. p. 1-9.
- BAXTER, G. L; BELL, A. J; ALLEN, J. M; RAVEY, J. Low level laser therapy. Current clinical practice in Northern Ireland. **Physiotherapy**, v. 77, p. 171-178, 1991.
- BAXTER, G. D. **Therapeutic laser: theory and practice**. New York: Churchill Livingstone, 1994.
- BAXTER, G. D. Laserterapia de baixa intensidade. In: KITCHEN, Scheila; BAZIN, Sarah. **Eletroterapia de Clayton**. São Paulo: Manole, 1998.
- BENNETT, G. L. Laser use in foot surgery. **Foot & ankle**, v. 10, n.2, p. 110-111, 1989.
- BIBIKOVA, A; BELKIN, V; ORON, U. Enhancement of angiogenesis in regenerating gastrocnemius muscle of the toad by low-energy laser irradiation. **Anatomy and embryology**; v. 190, p. 597-602, 1994.
- BISHT, D. et al. Effect of low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Indian J. Med. Res**, v. 12, n.4, p. 89-93, 1994.
- BOECHAT, A. Princípios básicos dos lasers. **Revista de cosmiatria e estética**, n.37, jan/mar, 1999.
- BOSATRA, M; JUCCI, A; OLLIARO, D; SACCHI, S. In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser radiation at low energy. **Dermatologica**, n.168, p. 157-162, 1984.
- BOULTON, M ; MARSCHALL, J. He-Ne laser stimulation of human fibroblast proliferation and attachment in vitro. **Lasers in Life Sci**, v.1, p. 125-134, 1986.
- BRAVERMAN, B; MCCATHY, R. J; IVANKOVICH, A, D. Effect of helium-Neon and infrared laser irradiation o wound healing in rabbits. **Laser in Surgery and Medicine**, v.09, p. 50-58, 1989.
- BRUGNERA JR, A; PINHEIRO, A L. **Lasers na odontologia**. . São Paulo: Pancast, 1998.
- BULIAKOVA, N. ; AZAROVA, U. **Regeneration of gastrocnemius muscle and state of immune system in radiation rats under the influence of HeNe laser**. Moscou: Severtsov Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Sciences, 2002.
- BURGDZHEVA, T. The laser therapy of regenerative tissue processes in long term nonhealing postoperative wound dehiscence. **Khirurgiia Sofia**, v. 42, n. 6, p. 28-32, 1989.
- CASTRO, D. J; ABERGEL, P; MEEKER, C; DWYER, R; JONHSTON, K. Effects of Nd-YAG laser on DNA syntesis and collagen prodution in human skin fibroblast cultures. **Annals Plast Surg**, n.3, p. 214-222, 1983.
- CARRATA, A; BRITTO, M. **O uso do laser de 905nm na reparação de feridas abertas**. 2004. 54f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) – Faculdades Adamantinenses Integradas – FAI, São Paulo, 2004.

CARLSTEDT, C.A. Mechanical and chemical factors in tendon healing: Effects of indomethacin and surgery in the rabbit. **Acta Orthopaedica Scandinavica**; v. 58, n. 224, p. 1-75, 1987.

CARVALHO, F; COELHO, A; ROSA, J; FERREIRA, M. Os efeitos do laser arseneto de gálio na regeneração de solução de continuidade em ratos. In: FÓRUM CLÍNICO E CIENTÍFICO DE FISIOTERAPIA. **Anais...** p. 17-18, 2002.

CHIESA, F; SANTOS, L. **Estudo comparativo dos efeitos do laser e do ultra-som no processo de cicatrização cutânea em ratos**. 2000. 45f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) – Universidade de Cruz Alta, 2000.

CHIESA F; CECCHETTI, A; CHAGAS, A. **Estudo comparativo dos efeitos do laser e do ultra-som na cicatrização muscular em ratos**. 2004. 52f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) - Universidade de Passo Fundo, 2004.

CHIESA, F; LAZAROTTO, S. **Efeitos das radiações laser GaAs sobre o processo de cicatrização tendinosa em ratos**. 2005. 65f. Monografia (Graduação em Fisioterapia) - Universidade de Passo Fundo, 2005.

COLLS, J. **La terapia Laser hoy**. Barcelona: Centro documentacion Laser de Meditec, 1984.

COLLS, J. Enfoque conceptual de las radiaciones eletromagnéticas. **Boletim do Centro de Documentación Láser fr Meditec**, n. 15-16, 1988.

CORMAK, D. H. **Ham Histologia**; 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

COTRAN, R. S; KUMAR, V; ROBBINS, S. L. **Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. cap.3.

COTTERILL, J. A. **The use of lasers in dermatology**. The practitioner, v. 228, n. 1397, p. 1033-1038, 1984.

CRUAÑES, J. C. **La terapia láser, Hoy**. Barcelona, Centro Documentación Láser de Meditec, 1984.

CURRIER, D.; NELSON, R.M. Dynamics of Human Biologic Tissue. In: ENWEMEKA, C.S; SPIELHOLZ, N.I. **Modulation of Tendon Growth and Regeneration by Electrical Fields and Currents**. Philadelphia: F.A. Davis Company: 1992. cap. 3, p. 231-254.

DANGELO, J. G; FATTINI, C. A. **Anatomia Humana Básica**. São Paulo: Atheneu, 2001. cap. 4.

DEL BUE, M et al. Laserterapia in medicina veterinaria. **Practice veterinary modern**. n. 36, p. 258-260, 1982.

De BIE, R. A. et al. Low level laser therapy in ankle sprain. A randomized clinical trial. **Arch. Phys Med Rehabil**, n. 79, p. 1415-1420, 1998.

- DOUGLAS, C. R. **Tratado de fisiologia aplicado à ciência da saúde**. 4. ed. São Paulo: Robe, 2000.
- ENGLAND, S. et al. Lower power laser therapy of shoulder tendinitis. **Scand. Journal Rheumatology**. n. 18, p. 427-431, 1989.
- ENWEMEKA, C.S. Inflammation, cellularity, and fibrillogenesis in regenerating tendon: implications for tendon rehabilitation. **Physical Therapy**; v.69, n.10, p.12-24, 1989.
- ENWEMEKA, C.S. Functional loading augments the initial tensile strength and energy absorption capacity of regenerating rabbit Achilles tendons. **Am. J. Phys. Med. Rehabil**; v. 71, p.31-37, 1992.
- ENWEMEKA, C. S. Membrane-bound intracellular collagen fibrils in fibroblast and myofibroblast of regenerating rabbit calcaneal tendons. **Tissue and Cells**; v.2, n.23, p.173-190, 1991.
- FURLANETTO, B. H; PUIG, L. B; MACRUZ, R; ARMELIN, E; FRANÇA, L; MNINTENTAG, J; VERGINELLI, G; LOPES, E. A; JATENE, A. D. Estudo experimental da ação do raio laser sobre as cordas tendíneas da válvula mitral. **Arq. Brás. Cardiol**, v. 43, n. 2, p. 93-96, 1984.
- GENOVESE, J. W. **Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Lovise, 2000.
- GEBAUER, D; CONSTANTINESCU, M. A. Efeito of laser on tissue collagen. **J. Med. Vet**. v.1, n. 36, p. 258-260, 1982.
- GIGANTE et al. Effect elastin in Achilles tendon: The experimental study. **Mater Med**. p. 37, Aug, 2003.
- GONZALEZ, M. V. & CRUAÑAS, J. C. Comportamiento de luz en la interacción con los tejidos, en especial el laser de baja potencia. **Boletim do Centro de Documentación Laser de Meitec.**, n. 15-16, p. 6-21, 1988.
- GOGIA, P. P. **Laser Treatment. Clinical Wound Management**. Nova York: Slack Incorporated, 1995.p. 177-178.
- GOOSSENS, A; ENDERBY, C. Fundamentals of medical lasers. **Gastrointestinal endoscopy**, v. 30, n. 30, p. 70-76, 1984.
- GOLDMAN, J. A; CHIAPELLA, J; CASEY, H; BASS, N. Laser therapy of rheumatoid arthritis. **Lasers in surgery and Medicine**, n. 1, p. 93-101, 1980.
- GUIRRO, E; GUIRRO, R. **Fisioterapia em estética: Fundamentos, recursos e patologias**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003.
- GUYTON, A; HALL, J. **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
- GUM, S.L. et al. Combined ultrasound, electrical stimulation and laser promote

collagen synthesis moderate changes in tendon biomechanics. **Am. J. Med. Rehabil**; v.76, p.288, 296, 1997.

GUERINO, M. R; BARANAUSKAS, V; GUERINO, A. C; PARIZOTTO, N. A. Laser treatment of experimentally induced chronic arthritis. **Applied Surface Science**, v. 154, n. 155, p. 561-564, 2000.

HERERRO, C; COLLS, J; VELEZ, M. Las dosimetrias en equipos da baja potencia. **Boletim do Centro de documentos de Laser de Meditec**, n. 15-16, p. 31-36, 1988.

HALA, A. Z. Os efeitos do laser GaAs na regeneração de solução de continuidade em ratos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA, São Paulo, SP. **Anais...** 2002. São Paulo: [s.n.], 2002. p. 20-23.

HALLMAN, H; BASFORD, J; O'BRIEN, J; CUMMINS, L. Does low-energy helium neon laser irradiation alter in vitro replication of human fibroblasts. **Lasers in Surgery and Medicine**, n. 8, p. 125-129, 1988.

HEBERT, Sizinio. **Ortopedia e Traumatologia: princípios e prática**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

HANKE, C.W. Lasers in dermatology. **Indiana Medicine**, v. 83, v. 6, p. 394-402, 1990.

HAKER, E. H. K. ; LUNDEBERG, T. C. M. Laser treatment applied to acupuncture points in lateral humeral epicondylalgia. A double blind study. **Pain**, n. 43,p. 243-247, 1990.

HERCH, J. ; TERESI, D. **El rayo laser**. Barcelona: Salvat Editores 1987.

HILÁRIO, M. Softlaser: Um novo recurso terapêutico. **Ciência Hoje**, v.7, n. 8, p. 8, 1988.

HILLENKAMP, F. Laser radiation tissue interaction. **Health Physics**, v. 56, n. 5, p. 613-616, 1989.

HOLLENSHEAD, W. H. **Livro texto de Anatomia Humana**. São Paulo: Harbra – Harper & Row do Brasil.1980. cap. 3.

ISMAILOV, D; KHOROSHAEV, V; SHISHKIN, M; BAIBEKOV, I. Combined use of various radiations in thoracic surgery in experimental studies. **Grud. Serdechno sosudistaia Khir**, n. 4, p. 42-45, 1993.

JUNQUEIRA, L; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1995. 249p.

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. 11-23, 1981.

KARU, T. et al. **The Science of Low power laser therapy**. Melbourne: Gordon and Breach Science Publishers, 1995.

KITCHEN, S; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. 10. ed. São Paulo: Manole, 1998. 321p.

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

KITCHEN, S; YOUNG, S. Reparo dos tecidos. In: KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia: pratica baseada em evidencias**. 2.ed. São Paulo: Manole, 2003.

KITCHEN, S. **Eletroterapia: prática baseada em evidências**. 11.ed. São Paulo: Manole, 2003.

KLIDE, A. M. The use of non-surgical lasers in equine practice: equipment and concepts. In :ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINESPRACTITIONERS, New York, 1983.**Anais...** . New York: AAEP, 1983. n. 89, p. 225-232.

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

LIANZA, S. **Medicina de Reabilitação**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

LYONS, R. F; ABERGEL, R. P; WHITE, R. A; DWYER, R. M; CASTEL, J; UITTO, J. Biostimulation of wound healing in vivo by a He-Ne laser. **Annals of Plastic Surgery**, v. 18, n. 1, p. 47-50, 1987.

MARQUES, A. B. V. Raios Laser: sua história, noções de física e aplicações médicas. **Revista Portuguesa de Estomatologia e cirurgia maxilo-facial**, v. 26, n. 2, p. 151-167, 1985.

MURREL, G. A. C. et al. Effects of immobilization on Achilles tendon healing in a rat model. **Journal of orthopaedic Research**, v.12, n.4, 1994.

MCKIBBIN, L. S. Use of laser light to treat certain lesions in standardbreads. **Modern Veterinary Practice**, v.1, n.3,p. 210-213, 1984.

MESTER, E; MESTER, A. F; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Laser Surg Med**, v.5, n. 1, p. 31-39, 1985.

MESTER, E; BOTH, A; SPIRY, T; TISZA, S. The effects of radiation laser in the regeneration of muscle fiber. **Z. Exper. Chirurg**, v. 8, n. 4, p. 258-262, 1975.

MORRONE, G; GUZZARDELLA, G; ORIENTI, L; GIAVARESI, G; FINI, M; ROCCA, M; TORRICELLI, P; MARTINI, L; GIARDINO, R. Muscular trauma treaded with a GaAlAs diode laser: In vitro experimental study. **Lasers in medical science**, v. 13, n. 4, p. 293-298, 1998.

OLIVEIRA, N. L; PARIZZOTTO, N. A; SALVANI, T. F. GaAs (904nm) laser radiation does not affect muscle regeneration in mouse skeletal muscle. **Laser in surgery and medicine**, v. 25, n2., p. 13-21, 1999.

ORTIZ, M. C; CARRINHO, P. M; SANTOS, A. S; GONÇALVES, R. C; PARIZOTTO, N. A. Laser de baixa intensidade: Princípios e generalidades - *parte I e II*. **Fisioterapia Brasil**: v. 2, n. 4-6, p. 221-240, 337-352, 2001.

OSHIRO T. **Low reactive-level laser therapy practical application**. Chichester: Jonh Wiley & Sons. 1991.

OZKAN, N. Investigation of the additional effect of GaAs laser therapic in the rehabilitation of tendons human digital flexors. **Archives of veterinary Science**. v. 4, n. 1, p. 27-33, 1998.

PARRISH J; DEUTSCH, T. Laser photomedicine. **IEEE Journal of Quantum eletronics**, n.12, p, 1386-1396, 1984.

PASSARELLA S; CASAMASSIMA, E; MOLINARI, S; PASTORE, E; QUAGLIANIELLO, E; CATALANO, I. M; CINGOLANI, A. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rats tendon. In: CONGRESS WORLD ASSOCIATION OF LASER THERAPY, 2., Kansas,(TX), 1984. **Proceedings...**, 1984.

PIMENTEL, G. L. **Utilização de biomaterial bovino em falhas tendíneas**. 2001. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Movimento Humano) – Centro de Educação Física, Fisioterapia e Desportos da Universidade do Estado de Santa Catarina, 2001.

PRETINCE, W. E; VOIGHT, M. L. **Técnicas em reabilitação músculoesquelética**. Porto Alegre: Artmed, 2003.

RE, F. ; VITERBO, S. Anilisi deger effetti biologic dei soflaser. **Minerva Stomatologica**, v.. 34, n. 2, p. 357-359, 1985.

REDDY, G.K.; STEHNO-BITTEL, L.;ENWEMEKA, C.S. **Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achiles tendons; Physical Therapy and Rehabilitation Science**,v.22, p. 281-287, 1998.

REDDY, G. K. et al. Biochemistry and biomechanics of healing tendon: part II effects of combined laser therapy and electrical stimulation. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.30, n.6, p. 794-800, 1998.

RIBARI, O. The stimulating effect of laser rays: experimental examinations in otorhinolaryngology. **Revue de Laryngologie**, v.102, n 11-12, p. 531-533, 1981.

RICHAND, P. ; BOULNOIS, J. L. La radiazioni laser nella terapia medica. **Minerva Medica**, v. 74, n. 27, p. 1675-1682, 1983.

RIGAU, J; TRELLES, M. A; BERNS, M. W. Effects of the 633nm. Laser on the behavior and morfology of primary fibroblast culture. Effects of low power lighth on biological systems, **Proceedings SPIE** , n.2630, p. 38-42, 1995.

RODRIGUES, E. M. ; GUIMARÃES, C. S. **Manual de Recursos Terapêuticos**. Revinter: Rio de Janeiro, 1998.

- ROIG, J. L.G et al. Tratamiento de las úlceras por Presion en el Lesionado Medular com Laser de Baja Potencia y Cirurgia. *Apresentation de um caso. Rev. Cuba Ortop. Traumatologia.* v.4, n.2, 1990.
- ROMANOS, G; PELEKANOS, S; STRUB, J. A comparative histological study of wound healing following Nd: YAG laser with different energy parameters and conventional surgical incision I rat skin. **Journal of clinical laser Medicine & surgery.** v.14, n.2, p.27-34, 1995.
- SAMAR, M. E; AVILA, R. E; JURI, H. O; PLIVELIC, T; FABRO, S. P. Histopathological alterations induced by He-Ne in the salivary glands of the posthatchedd chicken. **Journal of clinical laser Medicine & surgery,** n. 4, p. 267-272, 1995.
- SCHINDL, A; HEINZE, G; SCHINDL, M. Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetis micriangiopathy.**Microvascular Research,** n 64, p. 240-262, 2002.
- SCHIMITT, I. *et al.* Os efeitos da radiação laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.,** v.30, n.2, p. 145-149, 1993.
- SCHLAGER et al. Laser light in the healing of burns: A comparison between two different wavelengths (635 nm and 690 nm) and placeb group. **Laser Surg. Med.,** v.277, n. 22, p. 3942, 2000.
- SILVA, E. C; FILHO, A. H; MUSSKOPF, D. E. *Radiação Laser.* In: RODRIGUES, E. M. **Manual de Recursos Terapêuticos.** Rio de Janeiro: Revinter.1998. cap.3.
- SIQUEIRA, E; DANTAS, A. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação.** Rio de Janeiro: Medsi, 2000.
- SLINEY, D. H. Laser tissue interactions. **Clinics in chest Medicine,** v. 6, n. 2, p. 203, 208, 1985.
- TATURANAS A. C; MATERA, J. M; DAGLI, Z. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização no gato doméstico pela utilização do laser de baixa intensidade (904nm). **Acta Cirúrgica Brasileira,** v. 13, n.2, p.236-239, 1998.
- THOMAS, D. R. Age-Related changes in wound healing. **Drugs & Aging:** v.18, n.8, 2001.
- TRELLES, M. A. **Softlaser – Terapia Manual de empleo terapêutico de los laser de baja intensidad.** Madrid: Enar, 1982.
- TRELLES, M. A; MAYAYAO, E. Bone fracture consolidates faster with low power laser. **Lasers in Surgery and medicine,** v1, n. 7, 36-45, 1987.
- TUNER, J; HODE, L. **Low level laser therapy.** Clinical practice and scientific background. Estocolm - Sweden: Prima Books, 1999.
- VECCHIO, P; CAVE, M; KING, V; ADEBAJO, A. O; SMITH, M; HAZLEMAN, B. L. A

doublé blind study of the effectiveness of low laser treatment of rotator cuff tendinitis. **British Journal of Rheumatology**; v. 32, n.3, p.05-08, 1993.

VEÇOSO, M. C. **Laser na fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993.

VICENZI, C; WANG, E. D. Tendon Repair. J Hand Ther. **Biomecânica da lesão músculo-esquelética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998.

WHITING, W; ZERNICHE, R. **Biomecânica da lesão músculoesquelética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

WANDERER, C. **Avaliação clínica, macro e microscópica dos efeitos das radiações laser sobre o processo de cicatrização cutânea em cães**. 1991. Dissertação ( Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária de Santa Maria, Universidade de Santa Maria, 1991.

YAAKOBI, T; MALTZ, L; ORON, U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser irradiation. **Calcified Tissue International**, n. 59 p.297-300, 1996.

ZÂNGARO, R. **Interação laser tecido biológico**. Produção científica do Mestrado de Bioengenharia da Universidade do Vale do Paraíba, 2004. [Polígrafo]