

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

RODRIGO MARÇAL PEREIRA

**EFEITO DE LASERS DE BAIXA POTÊNCIA EM TRÊS
DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS DE 3º GRAU**

**São José dos Campos, SP
2005**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

RODRIGO MARÇAL PEREIRA

**EFEITO DE LASERS DE BAIXA POTÊNCIA EM TRÊS
DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA NO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO DE QUEIMADURAS DE 3º GRAU**

**Dissertação de Mestrado
apresentada no Programa de Pós-Graduação
em Bioengenharia, como complementação dos
créditos necessários para obtenção do título
de Mestre em Engenharia Biomédica.**

Orientador: Prof. Dr. Marcos Tadeu T. Pacheco.

**São José dos Campos, SP
2005**

P495e Pereira, Rodrigo Marçal

Efeito de lasers de baixa potência em três diferentes comprimentos de onda no processo de cicatrização de queimaduras de 3º grau. / Rodrigo Marçal Pereira. São José dos Campos: Univap, 2005.
78 p.: il.; 30cm.

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

1. Cicatrização de feridas 2. Queimaduras 3. Terapia a laser de baixa potência I.Pacheco, Marcos Tadeu, orientador. II. Título

CDU: 616-003.9

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

Assinatura do aluno:



Data: 03 de novembro de 2005

“Efeito de lasers de baixa potência em três diferentes comprimentos de onda no processo de cicatrização de queimaduras de 3º grau”

Rodrigo Marçal Pereira

Banca Examinadora:

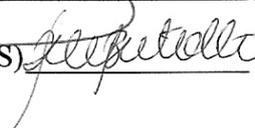
Prof. Dr. ANTONIO G. J. BALBIN VILLAVERDE (UNIVAP)



Prof. Dr. MARCOS TADEU T. PACHECO (UNIVAP)



Profª. Dra. ROSSIENE MOTTA BERTOLLO (Hospital das Clínicas/ES)



Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D - UniVap
São José dos Campos, 01 de julho de 2005.

DEDICATÓRIA

Dedico a minha **esposa**;

por sua presença e companheirismo, meu amor, minha fonte de energia e equilíbrio.

Aos meus **pais**;

por me completarem como ser humano e com muito esforço tornar realidade um sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, por ter me sustentado em todos os momentos, por ter me guiado e dado sabedoria necessária à realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco** pelo seu profissionalismo e seriedade na pesquisa, pelo respeito e credibilidade na minha pessoa, ajudando-me em todos os momentos em que necessitei.

À **Prof^a. Dr^a Emília Ângela Loschiavo Arisana** que me acolheu no laboratório de análise Histológica e me ajudou a compreender os resultados deste trabalho.

À **Prof^a. Rosângela Taranger** por ajudar-me na revisão final da dissertação.

À **todos os professores** que ajudaram a construir o conhecimento e a sabedoria necessárias ao desenvolvimento desta pesquisa.

Ao amigo **Renato Gomes de Magalhães** por ter dividido seu conhecimento na parte experimental do trabalho.

Ao meu irmão **Alexandre Marçal Pereira** e sua **esposa** por acreditarem em mim.

Aos amigos **Carlos Ruiz da Silva, Leandro Vieira de Landa, João Luis dos Santos Freire** e **Nelson Fuirini Jr.** pelo companheirismo e apoio nos momentos de estudo.

À **José Carlos Mattos Espíndula** e sua **esposa** por sempre me incentivarem para conclusão deste Mestrado.

À **Vanessa, Paula** e **Leonardo** por me ajudarem nos momentos em que necessitei.

A **todos** que estiveram de alguma forma envolvidos. Muito Obrigado!

RESUMO

As queimaduras com perda total de pele, ou de terceiro grau, são consideradas lesões muito graves, pois, atingem as camadas da pele (epiderme e derme), podendo destruir tecidos subcutâneos, fâscias, músculos e ossos. A Fisioterapia atua como tratamento auxiliar na recuperação dos tecidos orgânicos lesados, sendo uma das técnicas a utilização do laser de baixa potência, a fim de reduzir a dor e favorecer o processo de reepitelização. Diante deste contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a ação do laser de baixa potência no processo de cicatrização de queimaduras de terceiro grau, em três diferentes comprimentos de onda a uma densidade de energia de $4\text{J}/\text{cm}^{-2}$. Nesta pesquisa foram selecionados 24 (vinte e quatro) ratos machos adultos que foram submetidos ao procedimento cirúrgico na coxa direita para indução da queimadura de terceiro grau. Em seguida, os mesmos foram divididos em quatro grupos sendo: G1 (grupo placebo); G2 (irradiado com laser HeNe de 632,8nm); G3 (grupo irradiado com laser AlGaInP de 685nm) e G4 (grupo irradiado com laser AsGaAl de 830nm). Os grupos foram irradiados com laser durante sete dias consecutivos, iniciando-se 48 horas após a lesão. Após a irradiação, os ratos foram sacrificados no 9 (nono), 16 (décimo sexto) e 23 (vigésimo terceiro) dias pós-queimadura para análise histológica. Foram observados diferentes níveis de cicatrização nos grupos. Observou-se uma melhor cicatrização no grupo G2, com a utilização do laser HeNe de 632,8nm, resultando na diminuição do tempo de cicatrização em queimadura de terceiro grau.

Palavras-chave: Laser, cicatrização, queimaduras de 3º grau.

ABSTRACT

The burns with total loss of skin (third-degree burns) are considered to be very serious lesions; because, they reach the layers of the skin (epidermis and dermis) and can destroy subcutaneous tissues, fascias, muscles and bones. The physiotherapy acts as an auxiliary treatment for the recovery of the damaged organic tissues, being one of the techniques the use of lasers of low power, in order to reduce the pain and to improved the process of re-epithelialization. The aim of this study is to evaluate the action of low power laser on the third degree burns healing process, using lasers with three different wavelengths, at the energy density of 4 J.cm^{-2} . Twenty-four adult male rats were selected for this study and a third-degree burn was provoked in their paw. Rats were separated into four groups, containing six animals each, one group non-irradiated: G1 (placebo), being the other three irradiated with the following lasers: G2 (laser HeNe – 632,8 nm); G3 (laser AlGaInP – 685 nm) and G4 (laser AsGaAl – 830 nm). Rats were irradiated once a day during seven days, starting forty-eight hours after the burning procedure. Then, hystological analyses were carried out on the ninth, sixteenth and twenty-third day after the burning surgery. It was observed different levels of healing for each group. The best healing process was verified for the G2 group, using a HeNe laser at 632-8 nm, resulting in a faster healing time of the third-degree burns.

Keywords: Laser, third-degree burns, healing process.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 - A pele humana, através de um corte longitudinal | 10 |
| Figura 2 - Anatomia da pele | 11 |
| Figura 3 - Histologia da pele | 11 |
| Figura 4 - Epiderme | 13 |
| Figura 5 - Sistema nervoso | 16 |
| Figura 6 - Derme: músculo eretor de pêlo, fibras elásticas (elasticidade), fibras colágenas (resistência), vasos sanguíneos e nervos. | 17 |
| Figura 7 - Derme | 18 |
| Figura 8 - Hipoderme | 20 |
| Figura 9 - Animal após tricotomia | 39 |
| Figura 10 - Animal após queimadura | 39 |
| Figura 11 - Laser HeNe no suporte e lente divergente | 40 |
| Figura 12 - Laser AlGaInP e AsGaAl no suporte a 1cm da lesão..... | 41 |
| Figura 13 - Corte histológico do Grupo G1 nove dias após a lesão | 44 |
| Figura 14 - Corte histológico do Grupo G2 nove dias após a lesão | 45 |
| Figura 15 - Corte histológico do Grupo G3 nove dias após a lesão | 46 |
| Figura 16 - Corte histológico do Grupo G4 nove dias após a lesão | 46 |
| Figura 17 - Corte histológico do Grupo G1 dezesseis dias após a lesão | 47 |
| Figura 18 - Corte histológico do Grupo G2 dezesseis dias após a lesão | 48 |
| Figura 19 - Corte histológico do Grupo G3 dezesseis dias após a lesão | 48 |
| Figura 20 - Corte histológico do Grupo G4 dezesseis dias após a lesão | 49 |
| Figura 21 - Corte histológico do Grupo G1 vinte e três dias após a lesão | 50 |
| Figura 22 - Corte histológico do Grupo G2 vinte e três dias após a lesão | 50 |
| Figura 23 - Corte histológico do Grupo G3 vinte e três dias após a lesão | 51 |
| Figura 24 - Corte histológico do Grupo G4 vinte e três dias após a lesão | 52 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Graus de queimaduras | 09 |
| Tabela 2 - Distribuição dos diferentes equipamentos com os seus respectivos comprimentos de onda, regimes de pulso e ações | 22 |
| Tabela 3 - Características físicas dos diferentes equipamentos de laser de baixa potência | 23 |
| Tabela 4 - Lista dos grupos e respectivos pesos | 37 |

LISTA DE ABREVIATURAS

AlGaInP – Alumínio – Gálio – Índio – Fósforo

AsGa – Arseneto de Gálio

AsGaAl – Arseneto – Gálio – Alumínio

ATP – Adenosina Trifosfato

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CO₂ – Gás Carbônico

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

cm – centímetro

cm² – centímetro quadrado

CTQ – Centro de Tratamento de Queimados

G1 – Grupo 1

G2 – Grupo 2

G3 – Grupo 3

G4 – Grupo 4

g – grama

HeNe - Hélio e Neônio

IP& D – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

J / cm² – Joule por centímetro quadrado

Laser - Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation - Ampliação da Luz por Emissão Estimulada

mm - milímetros

ml – mililitros

mW – miliwatts

nm – nanômetros

PMG – Peso Médio dos Grupos

seg - segundo

SH – Sulfidril

SP – São Paulo

S-S – Dissulfeto

UNIVAP.: Universidade do Vale do Paraíba

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 - INTRODUÇÃO | 01 |
| 2 - REVISÃO DE LITERATURA | 05 |
| 2.1 - Queimaduras | 05 |
| 2.1.1 - Histórico e conceito | 05 |
| 2.1.2 - Epidemiologia e etiologia | 07 |
| 2.1.3 - Classificação das queimaduras | 08 |
| 2.2 - Anatomia e fisiologia da pele | 10 |
| 2.2.1 - Anatomia da pele | 10 |
| 2.2.1.1 - Epiderme | 12 |
| 2.2.1.2 - Derme | 18 |
| 2.2.1.3 - Hipoderme | 19 |
| 2.3 - Laserterapia | 20 |
| 2.3.1 - Definição..... | 20 |
| 2.3.2 - Laser de baixa potência | 21 |
| 2.3.2.1 – Efeitos fisiológicos do laser de baixa potência | 23 |
| 2.3.2.1.1 - Efeitos primários ou diretos | 24 |
| 2.3.2.1.2 - Efeitos secundários ou indiretos | 26 |
| 2.3.2.1.3 - Efeitos Terapêuticos | 27 |
| 2.3.2.2 - Mecanismo de ação e interações teciduais | 30 |
| 2.4 - Processo inflamatório e reparo tecidual | 32 |
| 3 - MATERIAL E MÉTODOS | 37 |
| 3.1 - Cálculo do tempo de aplicação de irradiação dos grupos | 40 |
| 4 - ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS | 43 |
| 5 - CONCLUSÃO | 56 |
| REFERÊNCIAS | 57 |
| ANEXO A - Colorações HE | 64 |
| ANEXO B– Colorações PAS | 65 |
| ANEXO C – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP | 66 |

1. INTRODUÇÃO

A pele constitui uma excelente barreira mecânica de proteção ao corpo humano, participa da termorregulação, excreção de eletrólitos e das percepções táteis de pressão, dor e temperatura. A pele é dividida em epiderme e derme, sendo a última repousada sobre a hipoderme (GUYTON, 1997).

Na atualidade, a queimadura é uma das principais consequências de acidentes que induzem as lesões dos tecidos orgânicos. Pode ser produzida por agentes: químicos, elétricos, térmicos e radioativos. O grau da injúria, determinada por consequência destes traumas, assume proporções variadas, dependendo do tempo de exposição, da extensão da área lesada e do agente causal (KNOBEL, 1998).

As queimaduras com perda total da pele (queimadura de terceiro grau) são consideradas lesões muito graves. A destruição atinge as camadas da pele (epiderme e derme), podendo destruir tecidos subcutâneos, fâscias, músculos e ossos (hipoderme) (DOURADO, 1994).

A queimadura de terceiro grau possui um aspecto clínico de couro ressecado, cuja coloração pode variar do amarelado, marrom, preto esbranquiçado ao marmóreo. Há uma redução da elasticidade tecidual, tonando-se rígido. Além disso, as queimaduras não são lesões estanques, podendo evoluir de um estágio para o outro, devido a uma infecção ou a uma grave instabilidade hemodinâmica, que pode levar ao aumento da profundidade da lesão (GOMES; SERRA; PELON, 1997).

A queimadura, quando extensa e profunda, representa uma das formas mais graves e complexas de traumatismo. Com ela surgem graves alterações metabólicas, hormonais e imunológicas, como o aumento acentuado na taxa metabólica basal (TREDGET; MING, 1992).

Na fase imediata após a queimadura, as necessidades energéticas do indivíduo queimado se aproximam do limite de reserva fisiológica, excedendo, em até duas vezes, os níveis calóricos basais exigidos por uma pessoa saudável. O quadro de hipermetabolismo tem intensidade e duração variável de paciente para paciente,

dependendo, entre outros fatores, da extensão e da profundidade da superfície corporal queimada, da presença de infecções e da eficácia do tratamento inicial (TREDGET; MING, 1992).

Necessário se faz lembrar que, além do aspecto estético, importante para o indivíduo, o aspecto funcional do aparelho locomotor pode ser prejudicado pela aderência tecidual causada pela queimadura, sendo estas, razões primordiais para submeter o indivíduo a um tratamento clínico, cirúrgico e/ou fisioterapêutico (SAY *et al.*, 2003).

No transcorrer da história, a preocupação do homem não foi apenas com os valores representativos da sua vida, mas também com a sua qualidade. Todo esse conhecimento, integrado à medicina, permitiu o desenvolvimento e a aplicação de técnicas, até hoje utilizadas (LOPES, 1970).

Atualmente, existem inúmeros recursos fisioterapêuticos como: crioterapia, massoterapia, drenagem linfática, hidroterapia, cinesioterapia, radiação ultra-violeta, ultra-som, eletroestimulação, laser de baixa potência e oxigênio hiperbárico, que agem na melhora da nutrição tecidual das áreas acometidas e vizinhas às feridas, assim como no próprio processo de cicatrização (KNOBEL, 1998).

Hoje, com uma crescente demanda, influenciada pelo mundo moderno, de pacientes que sofrem de lesões tão graves como as queimaduras de terceiro grau, torna-se necessária a avaliação da eficácia do laser na cicatrização, levando a recuperação mais acelerada desses pacientes, minimizando seu sofrimento e os custos com tratamentos convencionais, que frequentemente levam o paciente a utilizar o centro cirúrgico, com objetivo de desbridamento sucessivos e cirurgia de enxertia cutânea (KITCHEN ; BAZIN, 1998).

O Laser (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) cujo significado é Ampliação da Luz por Emissão Estimulada, possui algumas propriedades peculiares que o tornam capaz de propiciar efeitos biomoduladores sobre organismos vivos. Dentre estas propriedades encontram-se a coerência espacial e temporal, a monocromaticidade e a direcionalidade. Resultados específicos podem ser obtidos pelo

fato das ondas da radiação do feixe de laser se propagar com coerência de fase no tempo e espaço, por proporcionarem, ao operador, a opção de selecionar um único comprimento de onda a ser aplicado e por fornecerem alta concentração de energia em uma determinada região (MESTER; MESTER ; MESTER, 1985).

Na fonte de laser, a luz é produzida pela emissão estimulada de radiação, quando um fóton incidente interage com um átomo previamente excitado. Ao atingir um tecido, a radiação laser pode ser refletida, absorvida, transmitida ou espalhada. A absorção da radiação laser é realizada de maneira seletiva pelos tecidos, onde cada comprimento de onda exercerá em efeito particular sobre tecidos variados, atingindo diferentes profundidades de penetração (MESTER; MESTER ; MESTER., 1985).

A laserterapia foi iniciada no final da década de 1960 objetivando reduzir a dor e favorecer o processo de reepitelização, tanto no homem, como nos animais. Desde então, o estudo da ação da laserterapia, na função biológica, vem crescendo e algumas dúvidas sendo esclarecidas (KNOBEL, 1988).

O processo cicatricial é um fator de grande importância e interesse para os profissionais da saúde. A abordagem a uma ferida não cicatrizada é um desafio interdisciplinar, que tem como objetivo proporcionar o melhor tratamento e permitir uma melhor qualidade de vida ao indivíduo. O processo cicatricial é complexo sendo necessária à compreensão da cascata de eventos cicatriciais para obter uma melhor evolução e resolução do problema (RIGAU, 1996).

Alguns protocolos vêm sendo utilizados para o tratamento de lesões cutâneas, e nos últimos anos a fisioterapia vem se destacando, com a utilização do laser de baixa potência, objetivando promover a redução do período de cicatrização, bem como uma melhora no tipo de cicatrização, levando o indivíduo a um retorno mais rápido à suas atividades. De um modo geral, esta modalidade de laser apresenta uma resposta mais efetiva diante de outros recursos utilizados pela fisioterapia. Estudos demonstraram que tal tratamento favorece o processo da cicatrização desde o processo de síntese do colágeno para remodelação da ferida até os efeitos sistêmicos (RIGAU, 1996).

O laser de baixa potência na região do infravermelho, tem um efeito cicatricial muito eficaz. Seu êxito se deve às particularidades de respostas que induz nos tecidos, como redução de edema, diminuição do processo inflamatório, aumento da fagocitose, da síntese de colágeno e proteínas, assim como a epitelização. Devido a essas características acima citadas observa-se um aumento dos estudos do laser de baixa potência para acelerar a cicatrização e regeneração tecidual com queimadura de terceiro grau (CLARK, 1985).

Sendo assim, a realização deste trabalho torna-se uma valiosa contribuição para a ampliação do conhecimento e utilização de um recurso como a laserterapia. Esta técnica favorece o processo cicatricial em pacientes com queimaduras de terceiro grau em Centros de Tratamento de Queimados (CTQ), contribuindo para recuperação e reintegração de um indivíduo lesado; influenciando no tempo e qualidade de atendimento às vítimas; o que conseqüentemente irá minimizar o sofrimento e o tempo do período de hospitalização.

Neste trabalho foram utilizados três tipos de equipamento laser de baixa potência. O primeiro foi o laser Hélio Neônio (HeNe), com comprimento de onda de 632,8nm; o segundo o Alumínio Gálio Índio Fósforo (AlGaInP), com comprimento de onda de 685nm; o último foi o laser de Arseneto de Gálio Alumínio (AsGaAl) com comprimento de onda de 830nm.

O objetivo da realização deste trabalho é comparar o efeito da radiação de cada um dos lasers de baixa potência utilizados nos grupos irradiados por laser: G2 (HeNe-632,8nm), G3 (AlGaInP-685nm) e G4 (AsGaAl- 830nm), ao grupo G1 (placebo) que não sofreu nenhum tipo de terapia.

Esta pesquisa tem como proposta inicial colaborar com os estudos já realizados referentes à avaliação do efeito e eficácia desses três tipos de laser de baixa potência no processo de cicatrização de queimaduras de terceiro grau, bem como fornecer um referencial teórico sobre o processo cicatricial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Queimaduras

As queimaduras podem ser causadas por fontes produtoras de energia térmica, elétrica e substâncias químicas. A causa mais comum é a queimadura por fogo. A maioria tem baixa severidade e extensão, onde se calcula que em 80% dos casos, o acometimento é de menos de 20% da área corporal total. A injúria determinada por este trauma assume variadas proporções, dependendo do tempo de exposição, da extensão da área lesada e do agente causal. A fisioterapia atua como tratamento auxiliar na recuperação dos tecidos orgânicos lesados utilizando-se de métodos e técnicas que de um modo geral melhora o bem estar físico e psíquico do indivíduo.

É diante desses aspectos que será a análise deste capítulo.

2.1.1 Histórico e conceito

A história das queimaduras confunde-se com a história da humanidade. Papiros datados de 1500 a.C. já relatavam misturas usadas no tratamento de queimados. Em 430 a.C., Hipócrates sugeriu gordura de porco velho. Atualmente, centros avançados utilizam pele de porco para cobrir, temporariamente, as lesões (KOBAYASHI *et al.*, 1999, apud MATSUMOTO, CARVALHO ; NIRSCHHEIMER, 1999).

Provavelmente, nenhum trauma poderá ser tão catastrófico como uma queimadura extensa. As profundas e imediatas alterações das funções orgânicas, especialmente as alterações dos líquidos corporais, e a grande frequência de complicações graves, principalmente de ordem infecciosa, mantêm o paciente sob constante risco de vida. As deformantes lesões cutâneas afetam, profundamente, o psique do grande queimado. A família se depara, subitamente, com a necessidade de enormes gastos e passa a conviver com a possibilidade de morte ou de grandes deformidades físicas em um de seus membros. A equipe de saúde é exaustivamente mobilizada pela necessidade de cuidados frequentes, e, muitas vezes, se sente frustrada, apesar dos esforços (MATSUMOTO, CARVALHO; NIRSCHHEIMER, 1999).

O enfoque terapêutico da criança gravemente queimada deve ser abrangente. Deve o clínico, no caso o pediatra, ser o maior responsável pelo paciente queimado, mas deve agir em contínuo contato com a cirurgia reparadora, assim como todos os profissionais envolvidos - enfermeiras, nutricionistas, psicólogos, fisioterapeutas etc. Deve o pediatra ser responsável, não apenas pelo tratamento da patologia em si, mas também pelo acompanhamento da criança queimada e sua família (SERRA ; GOMES, 1999).

Equipamentos e técnicas, algumas modernas e outras já antigas, permanecem sofisticadas e caras, e desta forma, inacessíveis à maioria dos hospitais brasileiros. Com muita atenção e dedicação da equipe de saúde e colaboração da família, a maioria dos queimados graves será salva. (SERRA; GOMES, 1999).

O conceito de queimadura é bastante amplo; porém, basicamente a queimadura, segundo definição de Serra e Gomes (1999) é: lesão causada por agentes térmicos (calor ou frio) na superfície da pele. Sendo a pele o maior órgão do corpo humano, sua destruição pode levar a alterações locais e principalmente sistêmicas, sendo essa última causada pelo comprometimento de outros órgãos e sistemas do organismo humano ocasionado após uma queimadura.

Conforme abordagem de Knobel (1998) as alterações teciduais decorrentes de alterações calóricas, incompatíveis com as exigências fisiológicas do tecido, são chamadas queimaduras.

As intercorrências locais e sistêmicas causadas pelas queimaduras mostram a grande importância da pele e conseqüentemente de suas funções protetoras ao organismo contra agentes externos (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

A lesão térmica é o resultado do contato direto ou da proximidade de uma fonte energética à superfície corpórea. O grau dessa lesão dependerá das características próprias de cada fator, tais como intensidade, tempo de exposição, capacidade de transferência energética, agressão à circulação periférica e presença ou ausência de isolantes térmicos no local. A resposta do organismo à mudança de temperatura ambiental faz-se pelo controle periférico ou central da circulação, absorvendo e

dissipando o calor de sua superfície, mantendo dentro de uma estreita faixa a temperatura corporal central. Desse modo, aumentando-se a temperatura externa, ocorrem súbitas mudanças na temperatura corpórea resultando em uma resposta local e imediata dos vasos sanguíneos, conservando ou dissipando o calor através de vasodilatação ou vasoconstrição. Tais fenômenos fisiológicos deixam de existir se a temperatura tornar-se extrema, mesmo que em curto período, devido à destruição local (MATSUMOTO, CARVALHO ; NIRSCNHEIMER, 1999).

2.1.2 Epidemiologia e etiologia

Os acidentes por queimaduras ocupam o segundo lugar no mundo, perdendo somente para as fraturas. Estima-se que no Brasil ocorram em torno de 1.000.000 de acidentes por ano, envolvendo queimaduras, sendo que 100.000 pacientes procurarão atendimento hospitalar e, destes, cerca de 2.500 pacientes irão falecer direta ou indiretamente devido a suas lesões (SERRA; GOMES 1999).

É sabido que 2/3 dos acidentes com queimaduras acontecem em casa, sendo os adolescentes, na sua maioria, vítimas de líquidos combustíveis e as crianças vítimas de líquidos superaquecidos (SERRA ; GOMES 1999). Ressalva Piva, Carvalho e Garcia (1997) que tal incidência corresponde a 3% das emergências atendidas em prontos-socorros; em média 30 hospitalizações para cada 100.000 crianças com menos de 15 anos e, dentre as causas externas, ocupam o quarto lugar em mortalidade. A população de mais baixa renda tem duas vezes mais probabilidade de sofrer queimaduras se comparada à faixa de maior poder aquisitivo (KOBANETO *et al.*, 1997, apud MATSUMOTO, CARVALHO ; NIRSCNHEIMER, 1999).

É importante salientar que mesmo que não existam dados estatísticos sobre queimaduras, em nível nacional, sabe-se que a grande maioria dos acidentes térmicos é de pouca ou nenhuma gravidade e que a maioria dos casos é tratada com práticas caseiras arraigadas em nossa cultura popular (KOBANETO *et al.*, 1997, apud MATSUMOTO, CARVALHO; NIRSCNHEIMER, 1999).

Segundo informação da Secretaria de Saúde e do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul, o Brasil é o país com o maior índice de acidentes envolvendo

líquidos inflamáveis, principalmente o álcool sendo este responsável por 20% de todas as queimaduras do Brasil. Isso se deve a um antigo costume popular de se limpar tudo com álcool (SERRA; GOMES 1999). Tendo conhecimento desse importante fato, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da resolução número 46 restringe a fabricação e venda do álcool etílico na forma líquida podendo apenas sua comercialização na forma de gel, com o volume máximo de 500 ml. A venda do álcool líquido se tornou permitida somente nas drogarias e não mais nos supermercados, e no volume máximo de 50 ml.

2.1.3 Classificação das queimaduras

As queimaduras são classificadas de acordo com a profundidade da lesão cutânea e a extensão corporal atingida. Quanto maior a extensão da superfície corporal queimada e a profundidade da lesão, maior a gravidade.

De acordo com a classificação de Knobel (1998) as queimaduras são classificadas como:

- **Primeiro grau** - quando apenas a camada superficial da pele (epiderme) é atingida. O sinal característico é a presença de vermelhidão da pele e ardor como ocorre na queimadura solar. Serra e Gomes (1999), concluíram que, clinicamente, a região atingida encontra-se hiperemiada na ausência de bolhas ou flictenas.
- **Segundo grau** – quando, além da camada superficial, a camada intermediária da pele (derme) é atingida. Os sinais característicos são a presença de bolhas, dor e a perda de líquido pela área queimada. Também apresentam uma cor rósea após a rotura da bolha. São classificadas em superficial, quando apenas a camada superficial da derme é atingida, e profunda, quando além da camada superficial da derme a camada profunda também é atingida, podendo, essa última, transformar-se em queimadura do terceiro grau.
- **Terceiro grau** - quando além da derme o tecido celular subcutâneo (camada profunda da pele) é atingido; ou seja, hipoderme. O sinal característico é a ausência de dor na área queimada, a formação de uma crosta seca e branca e a

facilidade em extrair os pêlos. É a mais grave de todas as lesões térmicas, visto que provoca lesões deformantes, não restando tecido cutâneo capaz de regenerar; de imediato haverá a necessidade de enxertia para reparação da lesão. As queimaduras nos três graus de severidade podem ser caracterizadas conforme a TABELA 1 a seguir (KNOBEL, 1998):

TABELA 1 – Graus de queimaduras

| | 1º grau | 2º grau | 3º grau |
|---------------------|-----------------------------|--|--|
| Causa | Exposição ao sol | Exposição limitada a líquidos, fogo ou agentes químicos. | Exposição prolongada ao fogo, objetos quentes ou agentes químicos. Contato com alta voltagem |
| Cor | Vermelho | Rosa | Branca, translúcida |
| Superfície | Seca ou com pequenas bolhas | Inúmeras bolhas com descamação | Seca, pela trombose dos vasos superficiais. |
| Sensação | Dor | Dor | Insensível |
| Cicatrização | 3 a 6 dias | 10 a 21 dias | Necessita de implante |

Conforme estudos de Serra e Gomes (1999) a grande dificuldade prática está na diferenciação entre a queimadura de segundo grau profundo e lesão de terceiro grau; bem como a presença de infecção ou uma grave instabilidade hemodinâmica que pode provocar o aprofundamento da lesão, ou seja, uma queimadura de segundo grau superficial pode evoluir para um segundo grau profundo ou terceiro grau. Em decorrência disso, numa primeira avaliação não se deve diagnosticar, sendo de suma importância a reavaliação do paciente decorridos 48 a 72 horas da lesão.

2.2 Anatomia e fisiologia da pele

A pele tem muitas funções, intimamente ligadas à sua estrutura complexa. Para compreendê-la, portanto, você deve estar familiarizado com sua morfologia, descritas em anatomia e histologia da pele. Nesta parte serão retomados os conceitos morfológicos e ilustradas as principais funções relacionadas à pele.

2.2.1. Anatomia da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a 16% de seu peso (GUIRRO ; GUIRRO, 2002). A pele humana que recobre a superfície do corpo (FIGURA 1) apresenta-se constituída por uma porção epitelial de origem ectodérmica, a epiderme, e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica, a derme (FIGURA 2). Abaixo e em continuidade com a derme está a hipoderme, que, embora tenha a mesma origem da derme, não faz parte da pele, apenas lhe serve de suporte e união com os órgãos subjacentes (FIGURA 2) (FITZPATRICK ; AELING, 2000).

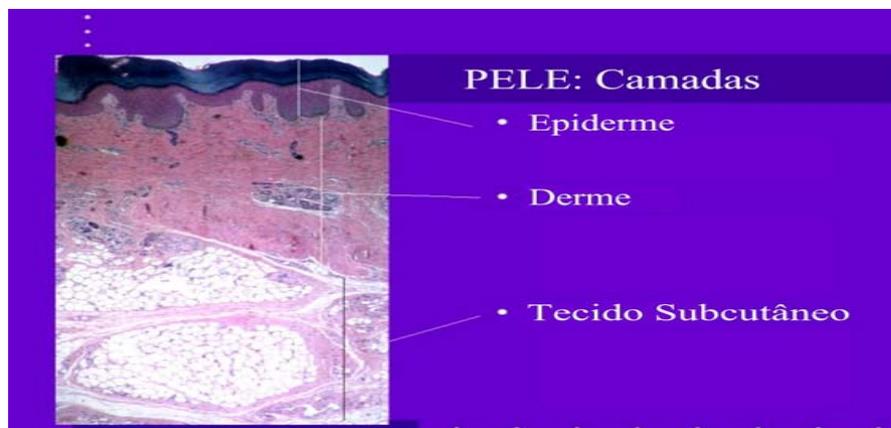


FIGURA 1: A pele humana, através de um corte longitudinal.
Disponível em: < <http://www.tattoo-remove.com/pele.html>>
acesso em 12 jan 2004

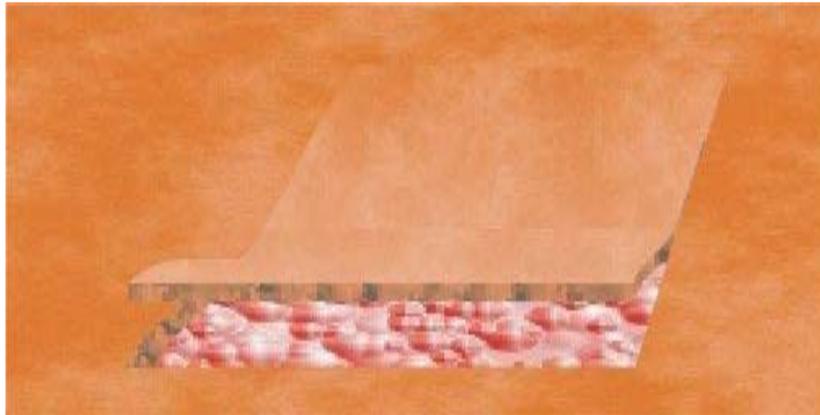


FIGURA 2: Anatomia da pele.
Fonte: Fitzpatrick e Aeling (2000, p. 12).

A epiderme apoia-se na derme e consiste na camada mais superficial da pele (FIGURA 2). A superfície da epiderme é marcada por uma rede de sulcos que a dividem em pequenos polígonos, como acontece no dorso das mãos. Correspondem a áreas de elevação da epiderme pelas papilas dérmicas (FITZPATRICK;e AELING, 2000).

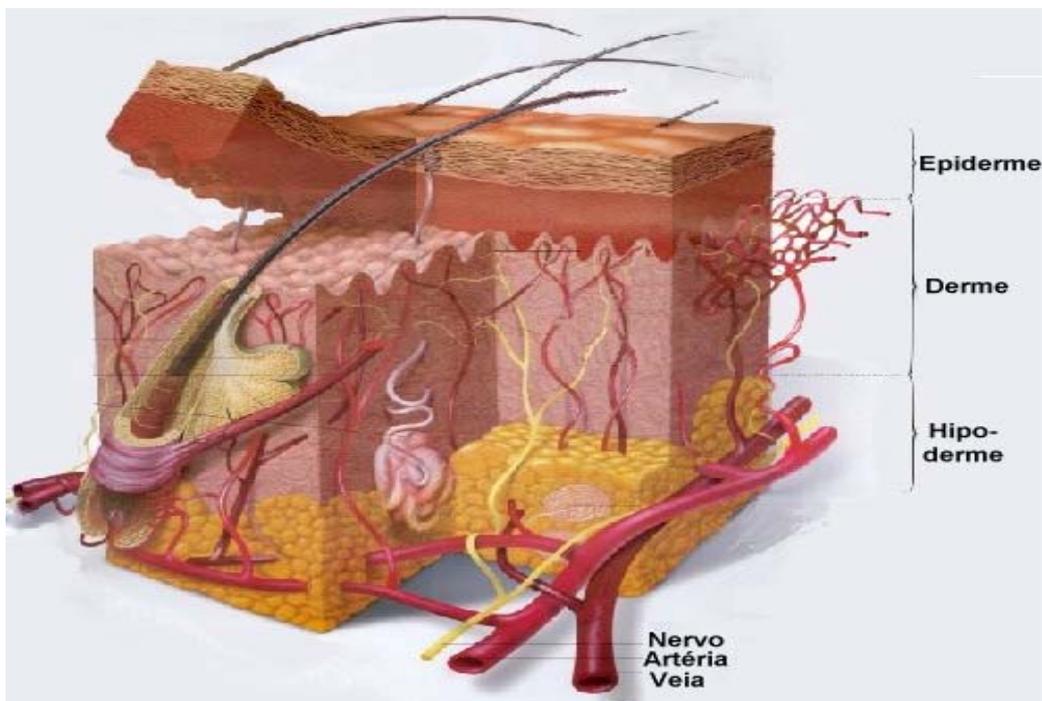


FIGURA 3: Histologia da pele.
Fonte: Fitzpatrick e Aeling (2000, p. 13).

Ressalvam Junqueira e Carneiro (1999) que a pele apresenta múltiplas funções, entre as quais, de proteger o organismo contra a perda de água por evaporação

(dessecação), graças à camada córnea e a proteção contra o atrito. Além disso, através das suas terminações nervosas, está em comunicação constante com o ambiente; e por meio dos seus vasos, glândulas e tecido adiposo, colaboram na termorregulação do corpo. Suas glândulas sudoríparas participam da termorregulação e da excreção de várias substâncias.

Um pigmento que é produzido e acumulado na epiderme, a melanina, tem função protetora contra os raios ultravioleta. Na pele se forma vitamina D₃ pela ação da radiação ultravioleta do sol sobre precursores sintetizados pelo organismo. Possuindo linfócitos na derme e células apresentadoras de antígenos na epiderme, a pele tem importante papel nas respostas imunitárias do organismo aos alérgenos que entram em contato com ela (JUNQUEIRA ; CARNEIRO 1999).

Conforme ressaltam Sampaio e Rivitti (2001), o limite entre a epiderme e a derme não é regular, apresentando saliências e reentrâncias entre as duas camadas, que imbricam e se ajustam entre si (FIGURA 2), aumentando a coesão entre a epiderme e a derme. As projeções da derme recebem o nome de papilas dérmicas.

Na pele observam-se várias estruturas anexas como: os pêlos, as unhas e as glândulas sudoríparas e sebáceas. (FIGURA 3) (SAMPAIO ; RIVITTI 2001).

2.2.1.1 Epiderme

Na explicação de Junqueira e Carneiro (1999) a epiderme é constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, de origem ectodérmica. A epiderme apresenta ainda três tipos de células: os melanócitos, as células de Langerhans e de Merkel^{1,2}. Os melanócitos são células que se originam das cristas neurais do embrião e

¹ As células de Langerhans são ramificadas, têm citoplasma claro, que pode ser evidenciado através de impregnação pelo cloreto de ouro. Encontram-se localizadas em toda a epiderme entre as células epiteliais, porém são mais frequentes na camada espinhosa. Possuem receptores para o segmento Fc das imunoglobulinas e para o fator C3 do complemento. As células de Langerhans são apresentadoras de antígenos e fazem parte do sistema imunitário, podendo processar e acumular na sua superfície os antígenos cutâneos, apresentando-os aos linfócitos. Originam-se de células precursoras trazidas da medula óssea pelo sangue.

² As células de Merkel são tidas como mecano-receptores, e existem em maior quantidade na pele espessa da palma das mãos e planta dos pés. Caracterizam-se principalmente pela presença de grânulos citoplasmáticos elétron-densos com 80 nm de diâmetro. Na base das células de Merkel notam-se terminações nervosas, algumas em forma de disco. Estas terminações não têm vesículas sinápticas, o que sugere que elas são de natureza sensorial recebendo impulsos das células de Merkel, tidas como mecano-receptores. Esta interpretação, porém, não é universalmente aceita. Alguns pesquisadores admitem que as células de Merkel sejam secretoras de hormônio.

invadem a pele entre a 12^a e a 14^a semanas da vida intra-uterina. Essas células produzem um pigmento chamado melanina. A espessura e a estrutura da epiderme variam com o local estudado, sendo mais espessa e complexa na palma da mão e planta do pé. Nessas regiões atinge a espessura de até 1,5 mm.



FIGURA 4: Epiderme.

Fonte: : Fitzpatrick e Aeling (2000, p. 16).

Segundo Junqueira e Carneiro (1999) a epiderme apresenta, vista da profundidade para a sua superfície, as seguintes camadas (FIGURA 4):

- A Camada basal, constituída por células prismáticas ou cubóides repousando sobre membrana basal que separa a epiderme da derme. Essa camada, que contém as células-fonte da epiderme, é também chamada de germinativa. Apresenta intensa atividade mitótica, sendo responsável pela constante renovação da epiderme. Calcula-se que a epiderme humana se renova cada 20 a 30 dias. As células da camada basal contêm filamentos intermediários constituídos de queratina. À medida que a célula se diferencia e avança para a superfície, o número destes filamentos aumenta e, na camada córnea, a queratina constitui metade das proteínas totais desta camada.
- A Camada espinhosa, constituída por células poligonais cubóides ou ligeiramente achatadas, de núcleo central com pequenas expansões citoplasmáticas que contêm tonofibrilas partindo de cada uma das células adjacentes. Essas expansões citoplasmáticas se aproximam e se mantêm unidas através dos desmossomos, o que confere à célula um aspecto espinhoso. Ao

microscópio eletrônico verificou-se que as tonofibrilas são, na realidade, feixes de filamentos intermediários de queratina que terminam inserindo-se em desmossomos, estruturas estas freqüentes e bem desenvolvidas nessas células. As tonofibrilas e desmossomos têm importante função na manutenção da coesão das células da epiderme e na sua resistência ao atrito.

- A Camada granulosa, que é caracterizada pela presença de células poligonais achatadas, com núcleo central, em cujo citoplasma são observados grânulos grosseiros e basófilos. São os grânulos de querato-hialina, que não são envolvidos por membrana e vão contribuir para a constituição do material citoplasmático interfilamentoso da camada córnea. Além desses grânulos, as células da camada granulosa produzem grânulos envolvidos por membrana, de substância fosfolipídica associada à glicosaminoglicanas. Estes grânulos são expulsos das células e contribuem para a formação do material extracelular que é importante para tornar a camada granulosa impermeável à água e a outras moléculas. As células da camada granulosa, e também as da parte mais superficial da camada espinhosa, apresentam uma camada protéica, elétron-densa, com 10 nm de espessura, presa à superfície interna da membrana celular. Este material protéico confere grande resistência à membrana celular.
- A Camada córnea, que tem espessura variável é constituída por células achatadas, mortas e sem núcleo. O citoplasma dessas células apresenta-se repleto de uma escleroprotéina filamentosa e birrefringente, a queratina, rica em ligações dissulfeto (S-S).

Essa descrição corresponde à epiderme em sua maior complexidade, que é encontrada na planta do pé e palma da mão. Pois, em outras regiões do corpo, a epiderme é mais fina e mais simples, faltando-lhe freqüentemente as camadas granulosa e lúcida, e apresentando uma camada córnea muito reduzida (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).

Durante a queratinização observa-se, na superfície da epiderme, um acúmulo gradual de filamentos intermediários de queratina e de uma substância amorfa, que se acumula entre os filamentos. Na camada córnea, a estrutura dos feixes de filamentos

intermediários de queratina é reforçada pela transformação das suas ligações sulfidríla (- SH -) em dissulfeto (S-S). Existem diversos tipos de moléculas de queratina, codificada por vários genes (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).

As células mais superficiais, ao se tornarem repletas de queratina, morrem e passam a constituir um revestimento resistente ao atrito e altamente impermeável à água, denominado camada queratinizada ou córnea (GUYTON, 1997).

Toda a superfície cutânea está provida de terminações nervosas capazes de captar estímulos térmicos, mecânicos ou dolorosos. Essas terminações nervosas ou receptores cutâneos são especializados na recepção de estímulos específicos. Não obstante, alguns podem captar estímulos de natureza distinta. Porém na epiderme, não existem vasos sangüíneos. Os nutrientes e o oxigênio chegam à epiderme por difusão a partir de vasos sangüíneos da derme (GUYTON, 1997).

Nas regiões da pele providas de pêlo existem: a) terminações nervosas específicas nos folículos capilares; b) terminais ou receptores de Ruffini. As primeiras formadas por axônios que envolvem o folículo piloso, captam as forças mecânicas aplicadas contra o pêlo. Os terminais de Ruffini, com sua forma ramificada são receptores térmicos de calor (GUYTON, 1997).

De acordo com Ross e Rowrell (1993) na pele, desprovida ou não de pêlo, encontra-se ainda três tipos de receptores comuns (FIGURA 5):

Corpúsculos de Paccini: captam especialmente estímulos vibráteis e táteis. São formados por uma fibra nervosa cuja porção terminal, amielínica, é envolta por várias camadas que correspondem a diversas células de sustentação. A camada terminal é capaz de captar a aplicação de pressão, que é transmitida para as outras camadas e enviada aos centros nervosos correspondentes.

Discos de Merkel: de sensibilidade tátil e de pressão. Uma fibra aferente costuma estar ramificada com vários discos terminais destas ramificações nervosas. Estes discos estão englobados em uma célula especializada, cuja superfície distal se fixa às células epidérmicas por um prolongamento de seu protoplasma. Assim, os movimentos de pressão e tração sobre epiderme desencadeiam o estímulo.

Terminações nervosas livres: sensíveis aos estímulos mecânicos, térmicos e especialmente aos dolorosos. São formadas por um axônio ramificado envolto por células de Schwann sendo, por sua vez, ambos envolvidos por uma membrana basal.

Na pele sem pêlo encontram-se, ainda, outros receptores específicos:

Corpúsculos de Meissner: táteis. Estão nas saliências da pele. Como exemplo: as partes mais altas das impressões digitais. São formados por um axônio miélinico, cujas ramificações terminais se entrelaçam com células acessórias.

Bulbos terminais de Krause: receptores térmicos de frio. São formados por uma fibra nervosa cuja terminação possui forma de clava. Situam-se nas regiões limítrofes da pele com as membranas mucosas, por exemplo: ao redor dos lábios e dos genitais.

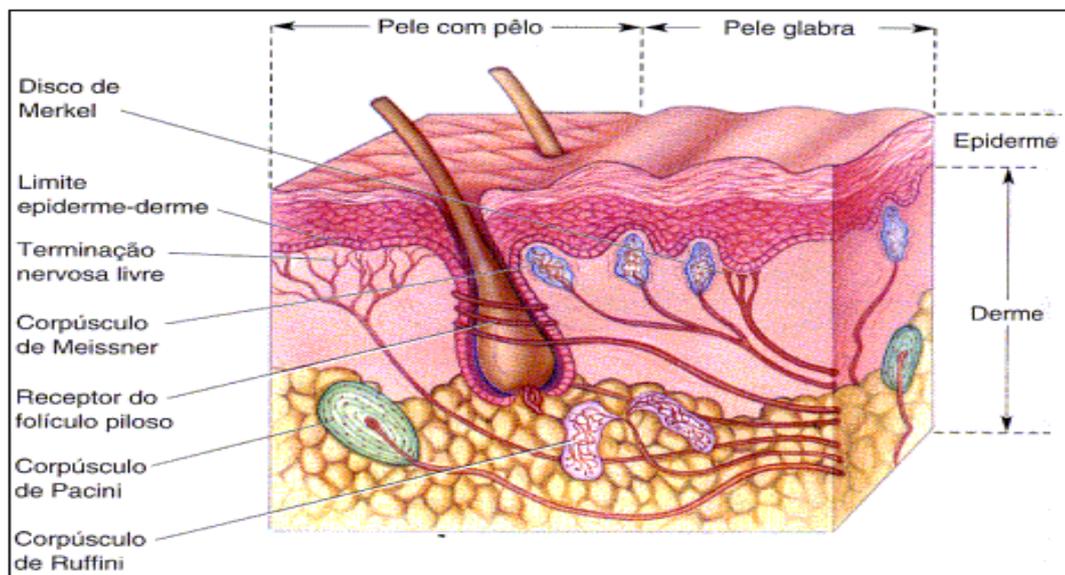


FIGURA 5: Sistema nervoso.

Fonte: Bear, Connors e Paradiso (2002, p. 15).

Nas camadas inferiores da epiderme estão os melanócitos, células que produzem melanina, pigmento que determina a coloração da pele (ROSS; ROWRELL, 1993).

As glândulas anexas, sudoríparas e sebáceas, encontram-se mergulhadas na derme, embora tenham origem epidérmica. O suor (composto de água, sais e um pouco de uréia) é drenado pelo duto das glândulas sudoríparas, enquanto a secreção sebácea

(secreção gordurosa que lubrifica a epiderme e os pêlos) sai pelos poros de onde emergem os pêlos (ROSS ; ROWRELL, 1993) (FIGURA 5).

A transpiração ou sudorese tem por função refrescar o corpo quando há elevação da temperatura ambiental ou quando as temperaturas internas do corpo sobem, devidas, por exemplo, ao aumento da atividade física (ROSS ; ROWRELL, 1993).

A epiderme penetra na derme e origina os folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas sudoríparas. Na derme encontramos ainda: músculo eretor de pêlo, fibras elásticas (elasticidade), fibras colágenas (resistência), vasos sanguíneos e nervos (FIGURA 6). (ROSS ; ROWRELL, 1993).

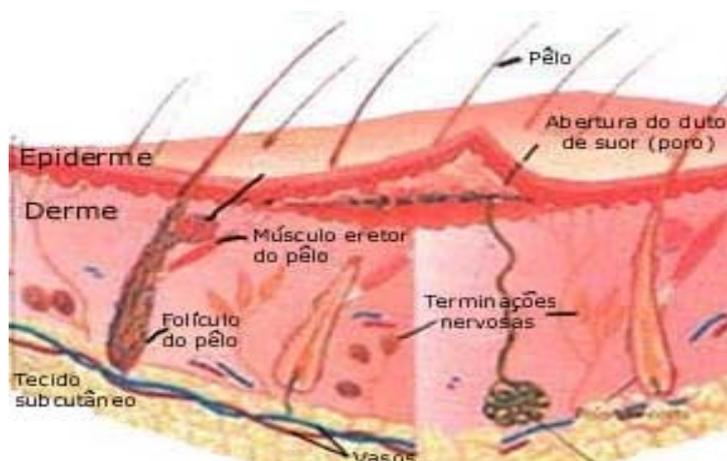


FIGURA 6: Derme: músculo eretor de pêlo, fibras elásticas (elasticidade), fibras colágenas (resistência), vasos sanguíneos e nervos.

Fonte: Bear; Connors e Paradiso (2002, p. 15)

Sob a pele, há uma camada de tecido conjuntivo frouxo, o tecido subcutâneo, rico em fibras e em células que armazenam gordura (células adiposas ou adipócitos). A camada subcutânea, denominada hipoderme, atua como reserva energética, proteção contra choques mecânicos e isolantes térmicos (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).

As unhas e pêlos são constituídos por células epidérmicas queratinizadas, mortas e compactadas. Na base da unha ou do pêlo há células que se multiplicam constantemente, empurrando as células mais velhas para cima. Estas, ao acumular queratina, morrem e se compactam, originando a unha ou o pêlo. Cada pêlo está ligado

a um pequeno músculo eretor, que permite sua movimentação, e a uma ou mais glândulas sebáceas, que se encarregam de sua lubrificação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

2.2.1.2 Derme

É o tecido conjuntivo sobre o qual se apóia a epiderme, de espessura variável, atingindo o máximo de 3 mm nas plantas dos pés (GRAY, 1988). O limite da derme com a epiderme é formado por saliências, as papilas dérmicas (camada papilar), que correspondem a reentrâncias (cavos) na epiderme (GRAY, 1988) e a camada reticular, que é mais espessa (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999) (FIGURA 7). A camada papilar, com limites pouco nítidos, continua-se com uma camada mais profunda e mais espessa, chamada de camada reticular.

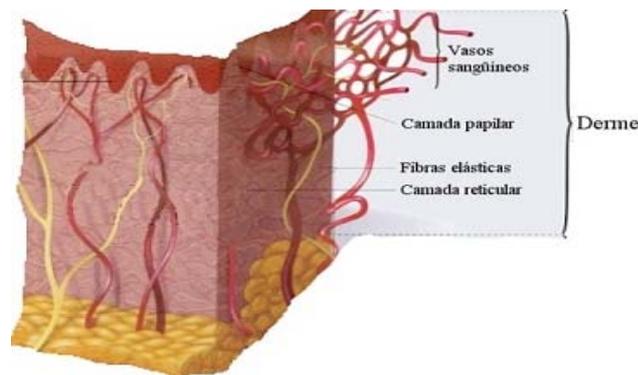


FIGURA 7: Derme.

Fonte : Fitzpatrick e Aeling (2000, p. 18)

A camada papilar é delgada, constituída por tecido conjuntivo frouxo, derivando seu nome do fato de ser ela que penetra nas papilas dérmicas. Nesta camada foram descritas fibrilas especiais de colágeno, que se inserem na membrana basal e penetram profundamente na derme. Estas fibrilas teriam a função de prender a derme à epiderme (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).

A camada reticular é mais espessa, constituída por tecido conjuntivo denso. Ambas as camadas contêm muitas fibras elásticas, responsáveis, em parte, pela elasticidade da pele (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). A tensão da elasticidade varia

de direção conforme a região do corpo, e isto se deve à variação da direção geral das fibras colágenas e elásticas da derme (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

Segundo Guirro e Guirro (2002) a elasticidade da pele pode ser determinada pela orientação das linhas de fenda, ou linhas de Langer. Langer demonstrou que até no cadáver a pele é sujeita a tensões direcionadas de acordo com as linhas. A perfuração da pele provoca a formação não de um orifício circular, mas de uma fenda, cuja direção corresponde à orientação dos feixes conjuntivos elásticos, que indicam, portanto, a direção de menor distensibilidade, ou seja, de resistência da pele à tração.

A junção das inúmeras fendas forma as linhas, por isso chamada linhas de fenda ou clivagem, com as quais é possível esquematizar verdadeiros mapas. Na direção perpendicular à orientação das linhas de fenda a pele apresenta máxima distensibilidade. Em geral, no indivíduo adulto, as linhas de fenda são transversais no tronco e longitudinais nos membros, com modificações nas regiões articulares (GUIRRO e GUIRRO, 2002).

O conhecimento da direção das linhas de fenda, de maneira geral, é de grande interesse cirúrgico, pois auxilia o cirurgião a realizar incisões esteticamente aceitas (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

2.2.1.3 Hipoderme

A hipoderme não é considerada parte da pele (FITZPATRICK ; AELING, 2000). Conforme explicam Junqueira e Carneiro (1999) a hipoderme é formada por um tecido conjuntivo frouxo que serve para unir, de maneira pouco firme, a derme aos outros órgãos do corpo, permitindo que a pele tenha certo grau de deslizamento, variável com a região do corpo. É formada por tecido conjuntivo frouxo, que une de maneira pouco firme a derme aos órgãos subjacentes. É a camada responsável pelo deslizamento da pele sobre as estruturas na qual se apoia. Dependendo da região em estudo e do grau de nutrição do organismo, a hipoderme poderá ter uma camada variável de tecido adiposo que, quando desenvolvida, constitui o pânículo adiposo (FIGURA 8). Como a gordura é bom isolante térmico, o pânículo adiposo proporciona proteção contra o frio (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).



FIGURA 8: Hipoderme.
Fonte: Fitzpatrick e Aeling (2000, 21).

A tela subcutânea compõe-se em geral de duas camadas, das quais a mais superficial é chamada de areolar, que é composta por adipócitos globulares e volumosos, em disposição vertical, onde os vasos sanguíneos são numerosos e delicados (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

A proporção dessas camadas varia de acordo com diversos fatores: espessura da pele (na pele espessa a camada areolar é preponderante sobre a lamelar, na pele fina ocorre o inverso), região e segmento corporal, sexo (a mulher tem a camada areolar mais espessa), idade (a camada areolar é mais espessa no adulto).

2.3. Laserterapia

A laserterapia em suas diversas modalidades é largamente utilizada pelos fisioterapeutas em diversos tratamentos. Nos últimos anos houve grande evolução no conhecimento de seus efeitos em lesões, com diversas finalidades tais como alívio da dor, diminuição da inflamação, etc. Sendo assim, será abordado, nesta parte, a origem, o conceito e as aplicações do laser.

2.3.1. Definição

O termo Laser consiste num acrônimo para: *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação), sendo este o princípio em que foi baseada sua criação (TUNER, 1999, apud ORTIZ , *et al.* 2001).

2.3.2. Laser de baixa potência

O laser de baixa potência tem sido usado desde o final da década de 1960, sendo a sua potência de radiação tão baixa (2 a 30 mW) que os efeitos biológicos ocorrem devido aos efeitos diretos da irradiação e não como resultado do aquecimento. Mester, no início dos anos setenta, foi o primeiro a utilizar o laser de baixa potência na cicatrização e no reparo de feridas em humanos (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

Com base nos estudos realizados por Mester, principalmente pela velocidade aumentada da cicatrização, esta modalidade de laser tornou-se popular, contudo, diante do fato de que muitos estudos publicados não são exclusivamente positivos, justifica-se a realização de novas pesquisas referentes à cicatrização de tecidos (CARVALHO *et al.*, 2001).

Destacam Ortiz *et al.* (2001) que este tipo de laser gera efeitos fotoquímicos, fotofísicos e fotobiológicos, afetando não só a área de aplicação como também as regiões circundantes. O poder de penetração da luz laser de baixa potência, não vai além de poucos milímetros, sendo que a sua energia é absorvida nos diferentes estratos da pele. As diferenças entre os equipamentos de laser terapêutico e cirúrgico são várias (GUIRRO; GUIRRO, 2002).

Como o laser de baixa potência é contínuo, conseqüentemente seu efeito cicatricial torna-se muito eficaz. O êxito se deve particularmente às respostas que induz os tecidos, como redução de edema, diminuição do processo inflamatório, aumento de fagocitose, da síntese de colágeno e da baixa intensidade para acelerar a cicatrização e regeneração do indivíduo com queimadura (TUNER, 1999).

Os efeitos não-térmicos produzidos pela radiação de baixa potência são amplamente discutidos, pois, de certo modo, não são conhecidos todos os mecanismos nem todos os elementos que participam da conversão da energia luminosa em energia bioquímica, capaz de gerar processos tão distintos como o analgésico ou o bioestimulante (CARVALHO *et al.*, 2001).

As respostas desencadeadas pela radiação laser nos tecidos biológicos estão relacionadas com o comprimento de onda, o regime de pulso e o nível de energia

depositado, os quais vão desde os efeitos bioestimulantes até os cirúrgicos (TABELA 2). Os elementos geradores da radiação laser podem ser agrupados em três grandes categorias: cristais, semicondutores ou gases. Apesar dos diferentes estados da matéria, o princípio é o mesmo para todos (GUIRRO ; GUIRRO 2002).

TABELA 2: Distribuição dos diferentes equipamentos com os seus respectivos comprimentos de onda, regimes de pulso e ações.

| Material | Comprimento de onda | Regime | Indicação |
|-----------------------|----------------------------|---------------|------------------------------------|
| Cristais | | | |
| Rubi | 694 nm | P/C | Remoção de tatuagem e pêlos |
| Alexandrite | 755 nm | P | Remoção de pêlos |
| Neodímio – YAG | 1064 nm | P | Coagulação de tumores |
| Hólmio – YAG | 2130 nm | P | Endodontia |
| Érbio – YAG | 2940 nm | P | Peeling |
| Semicondutores | | | |
| AlGalnP | 630 – 685 nm | C | Bioestimulante |
| AsGaAl | 780 – 870 nm | C | Bioestimulante |
| AsGa | 904 nm | P | Bioestimulante |
| Gases | | | |
| Exímeros | 193, 248, 308 nm | P | Cirurgia vascular e oftálmica |
| Argon | 350 – 514 nm | C | Cirurgia oftálmica e dermatológica |
| Vapor de cobre | 578 nm | P/C | Cirurgia dermatológica |
| HeNe | 632,8 nm | C | Bioestimulante |
| CO ₂ | 10600 nm | P/C | Cirurgia dermatológica |

P – Pulsado e C – Contínuo
 Guirro e Guirro (2002, p.211).

De acordo com Guirro e Guirro (2002), os equipamentos mais utilizados na prática fisioterapêutica são os de Hélio-Neônio (HeNe) e os de Arseneto de Gálio (AsGa). Recentemente foram lançados no mercado nacional os de Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGalnP) e os de Arseneto-Gálio-Alumínio (AsGaAl), os quais possuem características específicas, segundo a TABELA 2. Uma das vantagens dos equipamentos de AlGalnP e os de AsGaAl está fundamentada na potência média emitida (30 mW), a qual é muito superior ao do HeNe (2 mW) ou mesmo do AsGa. A outra vantagem é decorrente do fato do material gerador (semicondutores) estar na forma de um diodo, o qual facilita o projeto do aparelho, bem como a sua utilização em

relação ao de HeNe, já que não há necessidade da fibra óptica. Várias empresas fabricantes de laser de baixa potência já lançaram novos equipamentos com potência média de 30mW no mercado nacional.

TABELA 3. Características físicas dos diferentes equipamentos de laser de baixa potência

| Tipo de laser | Comprimento de onda | Regime | Feixe | Potência de pico |
|----------------------|----------------------------|---------------|--------------|-------------------------|
| HeNe | 632,8 nm | Contínuo | Visível | 2 a 10 mW |
| AsGa | 904,0 nm | Pulsado | Não visível | 15 a 30 W |
| AlGalnP | 670,0 nm | Contínuo | Visível | 15 a 30 mW |
| AsGaAl | 830,0 nm | Contínuo | Não visível | 30 mW |

Fonte: Guirro e Guirro (2002, p.211)

Apontam Guirro e Guirro (2002) que são vários os autores a relacionarem a profundidade da radiação laser com os tecidos biológicos. Todos são unânimes em afirmar que os estratos biológicos são uma grande barreira à penetração da radiação óptica. Em relação às diferentes profundidades, cabe ressaltar que diferentes estudos relacionam a profundidade de penetração com diferentes porcentagens de energia. A radiação laser pode atingir entre 9,7 – 14,2 mm com 1% da energia incidente.

2.3.2.1 Efeitos fisiológicos do laser de baixa potência

Embora a radiação laser de baixa potência não tenha capacidade ionizante, isto é, não rompe ligações químicas, a sua propriedade de indução fotobiológica é capaz de provocar alterações bioquímicas, bioelétricas e bionérgicas nas células (GUIRRO; GUIRRO, 2002).

A justificativa da ação do laser sobre os tecidos biológicos tem sido recentemente dirigida para o estudo das células ou substâncias que respondem a essa forma de radiação. O estudo dos fotorreceptores tem direcionado as pesquisas nas últimas décadas. Eles podem ser divididos em primários (substâncias fotorreativas) e secundários (estruturas que respondem ao campo eletromagnético) (COLLS, 1984).

As respostas decorrentes da irradiação laser podem ser classificadas em primárias e secundárias. Os efeitos primários podem ser definidos como sendo as respostas celulares decorrentes da absorção da energia e os secundários as alterações fisiológicas que não afetam somente a unidade celular, mas sim toda a série de tecido. (VEÇOSO, 1993).

Colls (1984) explica que os efeitos do laser são divididos em: efeitos primários, secundários e terapêuticos.

2.3.2.1.1 Efeitos primários ou diretos

Esses efeitos diretos subdividem-se em três outros efeitos: bioquímico, bioelétrico e bioenergético.

i) Efeito bioquímico

Este efeito é responsável por:

- Liberação de substâncias pré-formadas, tais como: histamina, serotonina e bradicinina.
- Modificações das reações enzimáticas: proporcionam modificações estimulatórias ou inibitórias em reações enzimáticas normais, como na produção de ATP (adenosina trifosfato), inibição da síntese de prostaglandina e lise de fibrina.

O efeito bioquímico, em alguns casos, interfere na produção de certas substâncias como, por exemplo, as prostaglandinas. É um mecanismo bastante similar a inibição produzida por outros antiinflamatórios. A produção hormonal também pode ser alterada pela radiação laser, sendo observado um aumento na liberação de T3 e T4 em ratas obesas, bem como aumento da atividade da parótida. Com relação à analgesia, ela pode ser explicada em parte pela liberação de Beta endorfina e serotonina. Inserida nos efeitos bioquímicos, deve-se incluir a ação fibrinolítica (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

ii) Efeito bioelétrico

São várias as respostas decorrentes da alteração do potencial elétrico. Como efeito principal está à normalização do potencial da membrana atuando como um fator de equilíbrio da atividade funcional celular. Passarela *et al.*, (1988) apud Guirro e Guirro, 2002, relatam a geração de potenciais eletroquímicos após a irradiação com laser de baixa potência. Estes potenciais seriam responsáveis, por exemplo, pela normalização da atividade das membranas. Através da produção de ATP (ação indireta) e mobilidade iônica (ação direta através dos fótons), ocorre a potencialização da bomba de sódio e potássio.

iii) Efeito bioenergético

Neste contexto é citada a teoria do bioplasma, na qual não há conclusões unânimes nem conclusivas (COLLS, 1984).

Os efeitos relacionados à reparação tecidual são:

- Aumento do tecido de granulação;
- Regeneração de fibras nervosas;
- Neoformação de vasos sanguíneos e regeneração dos vasos linfáticos;
- Aumento da quantidade de colágeno após irradiação, das ligações cruzadas do colágeno e da tensão de ruptura da ferida;
- Aceleração do processo de cicatrização;
- Incremento da atividade fagocitária dos linfócitos e macrófagos.

Nos vários estudos que analisaram as respostas celulares e teciduais frente à estimulação laser de baixa potência há referências à proliferação dos fibroblastos e aumento da produção de colágeno (GUIRRO ; GUIRRO, 2002). A ação biológica do laser no reparo tecidual está bem documentada, sendo atribuída a essa modalidade energética efeitos como: aumento na tensão de ruptura de cicatrizes; modificação da

motricidade do sistema linfático no edema, bem como resultados animadores em cicatrizes eritematosas, hipertrófico e pigmentado (GUIRRO ; GUIRRO 2002).

Segundo Karu; Pyatibrat e Kalendo (1995), existem razões para achar que o fenômeno de biomodulação é de natureza fotobiológica, e de acordo com seus estudos a luz laser atua na cadeia respiratória da mitocôndria, podendo causar o stress oxidativo, modulando com isso as atividades celulares. Em outro trabalho realizado por (KARU; PYATIBRAT ; KALENDO, 2001) a luz mudaria a permeabilidade da membrana o que desencadearia a aceleração da cascata celular.

No trabalho de Al-Watban, Andres e Zhang (2000), foi evidenciado que a irradiação com laser não cirúrgico de baixa potência influencia no aumento de fibroblastos (fibroplasia).

Sanches del Campo *et al.*; *apud* Ocanã-Quero et al.(1995) relataram uma inibição e efeito destrutivo no sistema biológico pela irradiação laser. Já outro autor como Basford (1995), diz que o laser não acelera, mas retarda outros processos dependendo da dosimetria aplicada.

O experimento realizado por Parizotto (1988), *apud* Guirro e Guirro, (2002), sobre o processo de reparação tecidual após irradiação por laser de HeNe, demonstrou que houve um aumento na quantidade de pontes de hidrogênio formadas na molécula de colágeno, além da melhor organização da estrutura fibrilar e molecular do colágeno.

2.3.2.1.2 Efeitos secundários ou indiretos

Segundo Veçoso (1993), existem os seguintes efeitos:

- Estímulo á microcirculação: com a liberação da histamina pelo laser, ocorre a paralisação dos esfínteres pré-capilares, como consequência, o fluxo sanguíneo se vê aumentado.
- Estímulo ao trofismo celular: com o aumento na produção de ATP, a velocidade mitótica é também aumentada, o que proporciona em escala tissular, aumento da velocidade de cicatrização e também melhor trofismo dos tecidos.

2.3.2.1.3 Efeitos terapêuticos

Descreve Colls (1984), os seguintes efeitos terapêuticos: analgésico, antiinflamatório, antiedematoso e cicatrizante.

i) Efeito analgésico

Explica-se por vários fatores:

- Fator antiinflamatório: a nível local reduzindo a inflamação, provocando a reabsorção de exsudatos e favorecendo a eliminação de substâncias alógenas, através do estímulo a microcirculação.
- Interferência da mensagem elétrica: através da manutenção do potencial de membrana e como a mensagem elétrica constitui-se em uma despolarização, este processo de inversão de polaridades seria dificultado, com isso proporcionaria uma menor sensação dolorosa.
- Estimulação, direta ou indireta sobre a mente, a liberação de beta endorfinas evitando a redução do limiar de excitabilidade dos receptores dolorosos através da redução na síntese de prostaglandinas, pois decresce a potencialização da bradicinina e como consequência, tem-se a manutenção do limiar de excitabilidade dos receptores dolorosos.
- Provocando a normalização e o equilíbrio da energia no local da lesão: com a liberação de histamina e bradicinina, ocorre a sensibilização dos receptores dolorosos, que é corrigido através do aumento da permeabilidade de vênulas e das dilatações das arteríolas (COLLS, 1984).

ii) Efeito antiinflamatório

Ainda de acordo com Colls (1984) este efeito justifica-se por dois fatores:

- Interferência na síntese de prostaglandinas: sua redução decresce as alterações proporcionadas pela inflamação.

- Estímulo á microcirculação: garantindo um aporte eficiente de elementos nutricionais e defensivos para região lesada, favorecendo sua resolução.

iii) Efeito antiedematoso.

Também justifica-se por dois fatores:

- Estímulo a microcirculação: favorece melhores condições de drenagem do plasma que forma o edema.
- Ação fibrinolítica: proporciona a resolução efetiva do isolamento causado pela coagulação do plasma, que determina o edema duro (COLLS, 1984).

iv) Efeito cicatrizante.

Para a maioria dos autores (COLLS, 1984; HERRERO, 1988; SILVA; HAIDAR FILHO ;USSKOPF, 1998; VEÇOSO, 1993) o efeito cicatrizante é o que mais se destaca. É caracterizado por:

a) Incrementa a produção de ATP: o laser eleva a produção de ATP (KARU, PYATIBRAT ; KALENDO, 1995) proporcionando um aumento da atividade mitótica (COLLS, 1984; HERRERO, 1988; SILVA; HAIDAR FILHO ; MUSSKOPF, 1998; VEÇOSO, 1993) e aumento da síntese de proteína por intermédio da mitocôndria (GRECO *et al.*, 1989; PASSARELLA *et al.*, 1988) tendo como consequência, o aumento da regeneração tecidual em um processo de reparação (COLLS, 1984; HERRERO, 1988; SILVA; HAIDAR FILHO; MUSSKOPF, 1998; VEÇOSO, 1993).

b) Estímulo à microcirculação: aumenta o aporte de elementos nutricionais associado ao aumento da velocidade mitótica, facilitando a multiplicação das células (COLLS, 1984; SILVA; HAIDAR FILHO; MUSSKOPF, 1998).

c) Formação de novos vasos, a partir dos pré-existentes (BIBIKOVA; BELKIN ; ORON, 1994; COLLS, 1984; GONZALEZ ; CRUANAS, 1988; SILVA; HAIDAR FILHO; MUSSKOPF, 1998; VEÇOSO, 1993).

Longo *et al.*, (1987), Anneroth *et al.*, (1988) e Tatarunas *et al.*, (1998) indicavam a utilização do laser As-Ga para obter cicatrização dos tecidos.

Reddy *et al.* (1998), demonstraram experimentalmente que o laser terapêutico possui um efeito cicatrizante através da estimulação da matriz colagenosa. Eles utilizaram 24 coelhos da raça Nova Zelândia, realizando uma tenotomia no tendão de Aquiles, seguida de sutura. Os animais foram imobilizados e submetidos a uma dose de 1 J/dia do laser He-Ne (632,8 nm) por 14 dias no tendão de Aquiles. No 15º dia os coelhos eram sacrificados e o tendão excitado para posterior análise bioquímica. Observaram um aumento de 26% de colágeno quando comparando com o grupo controle.

Abergel *et al.* (1984), em seus experimentos, também demonstraram que o uso do laser estimulou a produção de colágeno no processo de cicatrização tecidual.

Cambier *et al.* (1996), fizeram um estudo com 20 fêmeas de ratos Fischer para avaliar o efeito do laser de baixa potência na cicatrização de queimaduras. No experimento utilizaram os lasers He-Ne e AsGa, em nenhum dos grupos irradiados neste estudo foi evidenciado grandes melhoras quando comparados ao grupo controle (ratos não irradiados), provocando dúvidas sobre a efetividade desses lasers. Quando comparado aos resultados obtidos nos grupos apresentados, entra-se em discordância com Cambier *et al.* (1996), uma vez que no estudo aqui apresentado houve melhoras significativas nos grupos irradiados com terapia laser, quando comparados ao grupo não irradiado.

Rochkind *et al* (1969) submeteram 20 ratos a queimaduras nas patas traseiras, consistindo de metade desses animais como controle, e a outra metade dividida em ratos que receberam aplicação laser em ambas as patas ou em apenas na direita. O laser utilizado foi He-Ne (632,8nm) na dose de 5J/cm². Os resultados mostraram que o grupo controle apresentou gangrena e tecido necrótico bilateralmente após 21 dias, diferentemente dos grupos tratados, o laser He-Ne na dose especificada foi efetivo.

2.3.2.2 Mecanismo de ação e interações teciduais

O laser de baixa potência no interior dos tecidos causa alterações celulares, tanto nos tecidos superficiais como nos profundos. O efeito do laser de baixa potência depende apenas do comprimento de onda, da dose e intensidade da luz durante a irradiação (ABERGEL *et al.*, 1984 *apud* CORRÊA, 2001; FEDOSEYEVA *et al.* *apud* ALBERTINI, 2001). O efeito do laser é influenciado pela maneira ideal de aplicação do mesmo, onde o contato da luz com a superfície deve ser perpendicular à superfície – alvo e o mais próximo possível (PRENTICE ; VOIGHT, 2003).

A penetração da luz laser dentro do tecido é determinada principalmente pelo comprimento de onda e de maneira secundária, pela potência do aparelho, assim como também pelos fenômenos de dispersão e de absorção (BAXTER, 1998; TUNER; HODE, 1999; OSHIRO, 1991; LAAKSO; RICHARDSON ; CRAMOND, 1993). Acredita-se que o pico de penetração no tecido acontece no intervalo espectral do infravermelho próximo, entre comprimentos de onda de 600nm a 1200nm, devido à fraca absorção pela água. Assim, a absorção tecidual será determinada pelas características de absorção das moléculas orgânicas, gerando uma janela ótima de penetração que acontece nos comprimentos de onda entre 820nm a 840nm (BAXTER, 1998; LAAKSO, RICHARDSON ; CRAMOND, 1993; PARRISH; DEUTSCH, 1984).

Comprimentos de onda curtos dispersam muito mais do que os longos e penetram menos profundamente, alcançando penetração profunda só em tecido mole (LAAKSO, RICHARDSON ; CRAMOND, 1993; PARRISH ; DEUTSCH. 1984; STOLIK *et al.*, 2000). Portanto, comprimentos de onda curtos, no intervalo do visível, podem ser mais apropriados para o tratamento de lesões superficiais e comprimentos de onda longos, no intervalo do infravermelho próximo, podem ser mais úteis para o tratamento de lesões profundas (LAAKSO, RICHARDSON ; CRAMOND, 1993).

Goldman *et al.* (1980) e Laakso; Richardson e Cramond (1993), indicaram que para fontes laser entre 300nm a 1000nm, cerca de 99% da radiação penetrante na pele será absorvida nos primeiros 3,6mm de tecido. Lasers da região infravermelha penetram mais de 15 mm no tecido vivo, no entanto, lasers de comprimento de onda ultravioleta

penetram minimamente nos tecidos biológicos (KITCHEN ; PARTRIDGE, 1991; LAAKSO, RICHARDSON; CRAMOND, 1993; SNYDER-MACKLER *et al.* 1989).

Estudos *in vitro* e em tecidos vivos associam os resultados obtidos na aplicação do laser ao comprimento de onda, sugerindo que comprimentos de onda na região do vermelho e infravermelho próximo, seriam mais efetivos na proliferação de fibroblastos (YOUNG *et al.*, 1989; NASCIMENTO, 2001).

Um estudo desenvolvido por Almeida-Lopes *et al.* (2001) sugere que a terapia laser de baixa potência operando com a mesma potência e em dois diferentes comprimentos de onda, região do vermelho (692nm) e infravermelho próximo (786nm), estimula a proliferação de fibroblastos *in vitro* de forma similar.

Radiação com diferentes comprimentos de onda em um tecido biológico irradiado, atinge regiões de diferentes profundidades, exercendo adversos efeitos sobre o tecido. Enquanto um laser operando no comprimento de onda na região de 400nm tem profundidade de penetração máxima de 2,0mm, capaz de atingir a derme reticular, o laser que opera no comprimento de onda na região de 600nm atinge uma profundidade de 3,0mm correspondente ao tecido adiposo subcutâneo (CEBURKOV ; GOLLNICK, 2000).

A aplicação do laser de He-Ne na aceleração da cicatrização de feridas em animais tem sido observada em estudos *in vivo e in vitro* com efeito benéfico na proliferação tecidual. Diferentes protocolos de irradiação têm sido utilizados, de modo que os parâmetros mais efetivos ainda estão por ser estabelecido. Sabe-se que a densidade de energia aplicada sobre tecidos biológicos com a finalidade de estimulação não deve ultrapassar o valor de 20J/cm². Entretanto, fatores como a integridade do tecido, a espécie do animal em estudo, o efeito sistêmico do laser dentre outros precisam ser considerados ao estabelecer protocolos efetivos (RIGAU, 1996; AL-WALTBAN; ANDRES ; ZHANG, 2000; CARVALHO *et al.*, 2001; CARNEVALLI; PACHECO-SOARES ; ZÂNGARO, 2000; FISZERMAN; MARKMANN, 2000; KANA *et al.*, 1981).

O laser de baixa potência tem sido usado com grande eficiência como bioestimulador das feridas e cicatrizes pós-operatórias. A radiação de laser em dose de $4\text{J}/\text{cm}^2$ provoca, inicialmente, um aumento da proliferação das células do tecido conectivo e estimula a formação de novos capilares vasculares partindo dos já existentes e, em segundo lugar, ajuda a maior regeneração do epitélio de revestimento, fechando a ferida em torno de poucos dias (COLLS, 1984).

Para Tatarunas *et al* (1998), as doses de 1 a $5\text{J}/\text{cm}^2$ são recomendadas em laserterapia de baixa potência para conseguir um aumento no número de fibroblastos e conseqüentemente de fibras colágenas, como também ter um incremento vascular e reepitelização.

Segundo Colls (1984), em cinco sessões há a estimulação do processo de regeneração, com a formação do tecido de granulação, evitando o risco de infecção pelo efeito da aceleração da cicatrização e do efeito antiinflamatório. Em feridas onde há perda de tecido, o laser colabora para melhorar o reparo tecidual; evitando totalmente o aparecimento de quelóides, em todos os processos de cicatrização.

Albertini (2001) relata que a radiação de baixa potência pode estimular, mas também inibir a atividade celular. Assim o termo bioestimulação não estaria sendo usado adequadamente e foi substituído por biomodulação, porém sempre enfatizando o mecanismo não térmico da irradiação.

Todos os experimentos mencionados acima exemplificam as futuras possibilidades onde podem-se usar os lasers para modulação de várias funções biológicas de células nos tecidos e atesta o potencial papel dos mesmos no tratamento de desordens do organismo, principalmente as cutâneas (NASCIMENTO, 2001).

2.4 Processo inflamatório e reparo tecidual

A inflamação é uma seqüência de reações ordenadas, que se iniciam com uma atividade aguda, evoluindo para um processo crônico, alcançando a resolução através da reparação tecidual. Conseqüentemente seria a resposta orgânica mais elementar dos seres vivos, além de ser essencial à continuidade da vida. A mesma pode ser caracterizada como um processo dinâmico, que conduz à cura após a eliminação do

agente flogístico. O resultado na rede vascular, em resposta às agressões, provoca vasodilatação, aumento da permeabilidade e possibilidade de transmigração celular (CATANZARO, 1991).

No processo de reparo, enquanto o agente agressor é destruído, uma seqüência de eventos ocorre no intuito de substituir o tecido lesado através da regeneração de células parenquimatosas nativas ou por proliferação de um tecido cicatricial fibroblástico ou mesmo pela associação destes dois eventos (SAMPAIO; RIVITTI, 2001).

O reparo tecidual compreende uma seqüência de eventos contínuos e bem coordenados, que visam a restauração morfofisiológica de uma lesão. Neste processo ocorrem 3 fases: uma fase inicial exsudativa, uma fase proliferativa e uma fase de remodelação. Acredita-se que o laser de baixa potência atue na fase proliferativa da reparação, estimulando fotorreceptores das mitocôndrias, intensificando o metabolismo energético de algumas células. Alguns aspectos evidenciados em estudo *in vitro* pela ação do laser foram: aceleração da proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno, estimulações de macrófagos e o aumento da quantidade de matriz extracelular (RIGAU, 1996; ALMEIDA-LOPES, 1999; WEBB; DYSON ; LEWIS., 1998)

Segundo Pereira e Burini (1994), as células inflamatórias aparecem no local da lesão cerca de seis horas após o desencadeamento inicial da injúria, com as margens da ferida contendo fagócitos, sendo que nas próximas 24 horas com predomínio de polimorfonucleares. Nas 48 horas após o trauma, o número de polimorfonucleares diminuiria, evidenciando-se então a infiltração por células mononucleares, principalmente macrófagos, linfócitos e plasmócitos, além da proliferação fibroblástica em alguns casos. Deve-se considerar também que feridas que cicatrizem por segunda intenção, com presença de infecção e de trauma excessivo e/ou repetitivo, podem ter a ampliação da resposta inflamatória, culminando com retardo do processo cicatricial.

A primeira fase de reparação se inicia com a hemostasia, que visa o bloqueio da perda sanguínea, em seguida, se verifica uma resposta inflamatória aguda, decorrida da presença de agentes flogísticos no local da lesão. Durante a resposta inflamatória, teríamos a remoção dos tecidos necróticos desorganizados e de restos celulares e a

formação de uma base provisória, constituída primordialmente de um malha de fibrina-fibronectina para a migração adjacente à ferida. Em seguida teríamos os fenômenos da angiogênese, reepitelização e formação dos tecidos de granulação, que levarão efetivamente ao surgimento de um tecido de reparo propriamente dito (SIQUEIRA; DANTAS, 2000).

É nesta fase inicial da reparação que ocorre a reação inflamatória aguda com nuances próprios, com resposta vascular e resposta celular. A resposta vascular consiste no aumento da permeabilidade capilar, e isso é a chave para todos os fenômenos subseqüentes ao fenômeno bioquímico. É onde acontece o aumento da permeabilidade capilar no local da lesão, o que ocasionará a saída de líquido do interior das pequenas vênulas. Com isso haverá um movimento celular ativo representado principalmente pelos leucócitos. Já os eritócitos são carreados passivamente para o local da lesão (TROWBRIDGE ; EMLING, 1996).

Segundo Bevilaqua (1998), na reação inflamatória um dado importante é o acúmulo de células fagocitárias no local da invasão. Na inflamação aguda predominam os neutrófilos, mas na inflamação crônica surgem os macrófagos em número bastante elevado.

O segundo estágio do processo de reparação tecidual é caracterizado pela fase da proliferação celular, normalmente iniciado no começo do processo reparativo, prolongando-se por cinco a sete dias após a fase inflamatória. O aumento da capilaridade, formação de tecido de granulação, proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno e reepitelialização são os eventos marcantes nesta fase (THOMAS, 1995).

Aproximadamente no sexto ou sétimo dia, as fibras de colágeno são depositadas de modo aleatório em toda a cicatriz em formação. Conforme o colágeno continua a proliferar, a força elástica da ferida aumenta rapidamente em proporção à velocidade da síntese do colágeno. Conforme a força elástica aumenta, o número de fibroblastos diminui, sinalizando o início da fase de amadurecimento (PRENTICE ; VOIGHT, 2003).

As fibras colágenas são formadas pelos fibroblastos e os fibrócitos, que são células, presentes na derme, responsáveis também pela síntese de fibras elásticas e reticulares, substância fundamental e matriz extracelular do tecido conjuntivo. O colágeno é o principal tipo de proteína fibrilar insolúvel desta matriz extracelular do tecido conjuntivo. No seu estado fresco são brancas, conferindo esta cor aos tecidos nos quais predominam. São constituídas por uma glicoproteína estrutural denominada colágeno, que tem composição de aminoácidos bem característicos. O aminoácido glicina aparece no colágeno na proporção de 33,5%, enquanto que a prolina e a hidroxiprolina estão presentes na proporção de 12 e 10%, respectivamente. O colágeno é a única proteína que contém quantidade apreciável de hidroxiprolina (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

O colágeno é a proteína mais abundante do corpo humano, representando cerca de 30% do total de proteínas presentes no organismo, sendo que existiriam pelo menos quatorze tipos de colágeno (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999). O colágeno dos tipos I, II, e III são os mais numerosos, formadores de estruturas fibrilares ou similares. O tipo IV, forma retículos bidimensionais e é o principal componente na lâmina basal. São flexíveis e têm grande força tênsil, ao microscópio óptico tem a aparência típica de estruturas ondedadas de largura variável e comprimento indeterminado, coram-se com facilidade pela hematoxilina & eosina, podendo ser nitidamente observadas por esta coloração (ROSS; ROWRELL, 1993).

Com relação à fase de proliferação esta é caracterizada pela presença de fibroblastos e menor quantidade de mastócitos. Na fase de maturação haverá a migração e proliferação do epitélio remanescente das bordas da ferida. As células epiteliais produzem uma colagenase que controla a produção do colágeno, sendo auxiliado pelos fibroblastos em contato com o epitélio, depois há uma regressão e aumento dos capilares neoformados (SUCENA, 1982; GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

O terceiro estágio é definido como a fase de maturação, inicia-se 2 a 3 semanas após a injúria e pode perdurar por anos. A duração depende de algumas variáveis como idade, fatores genéticos, localização da ferida, tipo de injúria e duração do processo inflamatório. Nesta fase ocorre diminuição da angiogênese e proliferação celular com aumento da secreção de matriz extracelular. A deposição do colágeno tipo III na fase

inicial é gradualmente substituído pelo colágeno tipo I e pelo rearranjo das fibras que compõem a matriz extracelular, que conduziria à contração da ferida e ao aumento da força de tensão (THOMAS, 1995). Para Guirro e Guirro (2002), esta fase de maturação pode ser chamada de fase de remodelamento, pois durante esta fase o arranjo e o tipo de colágeno é mudado. O colágeno tipo III é substituído pelo colágeno tipo I, ou em resposta ao stress mecânico a que o tecido estará doravante submetido.

A partir do 21^o dia após a lesão inicia-se a fase de maturação do tecido, é a fase mais longa, podendo durar meses ou até anos dependendo da gravidade da lesão. O objetivo é fazer com que a ferida esteja em condições ótimas, voltando ao aspecto e consistência normal (PRENTICE ; VOIGHT, 2003). Mas, com o tempo, o tecido cicatricial pode modificar-se podendo elevar a sua contração superficial tornando-se, então, um tecido hipertrófico, eritematoso e fibroso e, em alguns casos, podendo tornar-se arroxeados ou azulados (LOPES, 1970).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido utilizando-se os princípios éticos relacionados à experimentação animal de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) sob protocolo N° 107-04.

Para o desenvolvimento desta pesquisa, foram utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus* Wistar) machos, com peso médio de 297g. Os ratos foram alojados em gaiolas adequadas no biotério de passagem do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D – UNIVAP). Os animais foram pesados em balança, devidamente aferida, e separados em 04 grupos. O alojamento se deu em caixas próprias, separadas por grupo, onde foram acondicionados em biotério durante o desenvolvimento experimental. Aos animais foram disponibilizados água e ração *ad libitum*.

Segue abaixo a tabela com a divisão dos grupos e seu peso médio.

TABELA 4. Lista dos grupos e respectivos pesos

| GRUPO 01 (Placebo) | GRUPO 02 (632nm) | GRUPO 03 (685nm) | GRUPO 04 (830nm) |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 300g | 290g | 302g | 294g |
| 288g | 240g | 360g | 228g |
| 254g | 300g | 265g | 285g |
| 268g | 321g | 280g | 291g |
| 350g | 342g | 285g | 330g |
| 352g | 282g | 314g | 301g |
| PMG1 = 302g | PMG2 = 295g | PMG3 = 301g | PMG4 = 288g |

Peso médio total = 297g

As amostras foram divididas, aleatoriamente, em quatro grupos, totalizando um número de seis animais por grupo:

GRUPO 1 (G1- Placebo): animais submetidos à queimadura de terceiro grau, porém, não submetidos à terapia laser de baixa potência.

GRUPO 2 (G2- Irradiado com laser HeNe): animais submetidos à queimadura de terceiro grau e à terapia laser de 632,8nm, com uma densidade de energia $D=4\text{J}/\text{cm}^2$.

GRUPO 3 (G3- Irradiado com laser AlGaInP): animais submetidos à queimadura de terceiro grau e à terapia laser de 685nm, com uma densidade de energia $D=4\text{J}/\text{cm}^2$.

GRUPO 4 (G4- Irradiado com laser a 830nm): animais submetidos à queimadura de terceiro grau e à terapia laser de 830nm, com uma densidade de energia $D=4\text{J}/\text{cm}^2$.

Os ratos permaneceram alojados durante o desenvolvimento da pesquisa, em caixas específicas para biotério, forradas com uma camada de maravalha. Os mesmos foram divididos, por grupo, em 4 caixas, com 6 animais. Cada grupo foi colocado em uma única caixa. A dieta foi livre e padronizada com ração e água *ad libitum*. As condições de temperatura, luminosidade e umidade foram previamente analisadas e constatadas adequadas.

Foram utilizados: gaze estéril; soro fisiológico; agulha de insulina 13 x 4,5; seringa plástica descartável 1ml, luvas, máscara, gorro, anestésico, Zoletil 50®, *punch*, bandeja cirúrgica, pinça clínica, haste de aço de forma cilíndrica com área de $0,2\text{cm}^2$ para indução da queimadura e maçarico, para promover o aquecimento da mesma.

O procedimento da queimadura, nos vinte e quatro animais, foi realizado sob anestesia geral, com injeção intramuscular de Zoletil® 50, na coxa posterior esquerda (oposta à lesão) do animal com uma dose de $0,1\text{ml}/100\text{g}$ de peso. Os ratos foram colocados em decúbito ventral, em seguida feita tricotomia na região externa da coxa direita de cada animal (FIGURA 9) com tricotomizador, seguindo-se a anti-sepsia com solução de Clorexidina a 4% e soro fisiológico. A seguir foi feita secagem da área com compressas de gaze estéril.

A indução das queimaduras foi padronizada, utilizando-se um maçarico até a haste ficar incandescente (vermelho rubro). A profundidade determinada foi de 3 mm, pois abaixo desta profundidade inicia-se a hipoderme. O tempo de exposição do calor foi determinado em 2 segundos para cada ferida evitando-se, assim, o aumento da ferida em decorrência do calor ao redor da mesma. As lesões foram feitas na região externa da coxa direita de cada animal (FIGURA 10).



FIGURA 9: Animal após tricotomia.



FIGURA 10: Animal após queimadura.

Os equipamentos de lasers utilizados foram:

GRUPO 2 - Laser de Hélio Neônio (HeNe visível) com comprimento de onda de 632,8nm e potência de 15mW.

GRUPO 3 – Equipamento Laser de Alumínio Gálio Índio Fósforo (AlGaInP visível) com comprimento de onda de 685nm e potência de 20mW.

GRUPO 4 – Equipamento Laser de Arsenieto de Gálio Alumínio (AsGaAl infravermelho) com comprimento de onda de 830nm e potência também de 20mW.

O início da aplicação laser foi feito dois dias após a lesão, com objetivo de atuar diretamente na segunda fase da reparação (proliferativa). A estimulação foi realizada, diariamente, por sete dias consecutivos, sendo o horário dos procedimentos pré-estabelecidos em todos os grupos. No grupo G1 (placebo), não houve aplicação da técnica laser, entretanto houve participação de todo o procedimento de deslocamento do biotério para o laboratório, anestesia e condições de estresse que os demais grupos tratados também sofreram.

3.1 Cálculo do tempo de aplicação – irradiação dos grupos

Para o grupo G2 foi utilizado o laser de 632,8nm (HeNe). Para este equipamento, houve necessidade de utilizar uma lente divergente, plano, côncava, com distância focal de -50mm. Como a fibra óptica do laser não abrange a área total da ferida, tornou-se necessário a utilização da lente divergente (o tipo de lente foi devidamente calculado no laboratório do IP&D – UNIVAP). Utilizando-se esta lente perde-se, em média 8% da potência do laser devido a reflexão do feixe nas faces da lente, ou seja, a potência caiu de 15mW para 13,8mW. O tempo calculado para irradiação foi de 58 segundos, como segue (Figura 11).

D (Densidade de Energia em J/cm^2) = $4J/cm^2$.

P (Potência do aparelho em mW) = 13,8 mW.

A (Área da ferida em cm^2) = $0,2 cm^2$.

T (Tempo de terapia em seg) = $D.A/ P = 58 seg$.



FIGURA 11: Laser HeNe no suporte e lente divergente.

Para cálculo do tempo de aplicação (dos grupos G3 e G4) foram utilizados os lasers de 685nm (AlGaInP) e de 830nm (AsGaAl). Como o feixe laser nos dois comprimentos de onda divergem, para atingir a área total da lesão, a fibra laser foi colocada a 1cm de distância da lesão, para que o feixe atingisse a área total da ferida (o cálculo da distância entre a fibra laser e a ferida, foram devidamente calculados no laboratório do IP&D – UNIVAP). O tempo de exposição foi calculado em 40 segundos como mostrado abaixo (FIGURA 12).

$$D = 4\text{J}/\text{cm}^2$$

$$P = 20\text{mW}$$

$$A = 0,2\text{cm}^2$$

$$T = D.A / P = 40 \text{ seg}$$

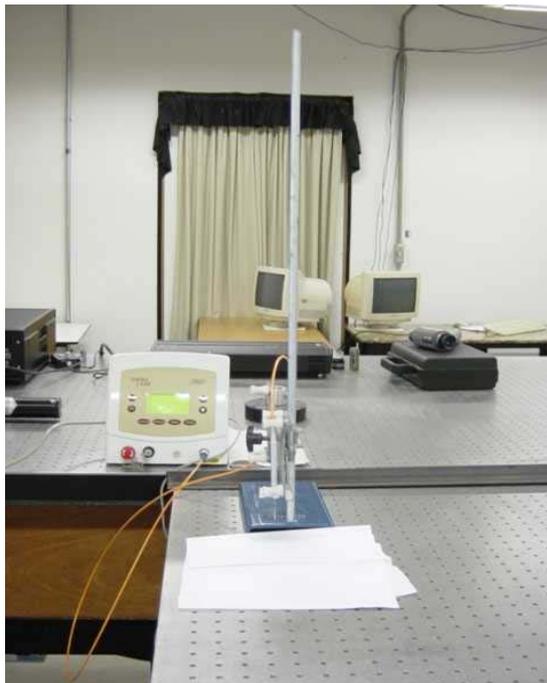


FIGURA 12. Laser AlGaInP e AsGaAl no suporte a 1cm da lesão

Para o sacrifício dos animais foram padronizados períodos específicos após a indução da queimadura, sendo estes: nono, décimo sexto e vigésimo terceiro dias.

Em cada um desses períodos, dois animais de cada grupo foram sacrificados e uma amostra tecidual foi removida de cada animal para realização da análise histológica. Para início dos sacrifícios, cada rato foi colocado individualmente em prancha cirúrgica, sendo administrada injeção letal de Zoletil® 50 na coxa esquerda de cada animal (oposta à lesão) seguindo a dosagem padrão. Em seguida foi retirado, com *punch*, uma amostra de pele ao redor da lesão de cada animal, para análise histológica.

Após o sacrifício dos animais foram retirados os fragmentos, sendo os mesmos colocados em Formol a 10%, deixando-se fixar por, no mínimo, 48 horas. Retirado o fragmento do Formol 10% os mesmos foram identificados e colocados em recipiente contendo água, por aproximadamente 1 hora e 30 minutos. A água foi então desprezada e substituída por uma mistura de água e álcool absoluto em uma proporção de 1:1 (Álcool 50 %) por aproximadamente 1 hora e 30 minutos; Decorrido o tempo, desprezou-se metade do conteúdo e acrescentou-se álcool absoluto (Álcool 70%), deixando-se em repouso por aproximadamente 1 hora e 30 minutos. O material permanece, então, em álcool absoluto, mantendo-se o bocal tampado e deixado por no mínimo 8 horas.

O passo seguinte foi a colocação do material em xilol, e depois de 3 a 4 horas absorveu-se o excesso com papel absorvente, colocando-se o fragmento dentro da estufa em um recipiente de vidro com parafina líquida por 3 a 4 horas. Após a impregnação por parafina esperou-se a solidificação para apararem-se os blocos. Estes foram fixados no micrótomo e após a definição da espessura do corte (3mm) iniciou-se a microtomia. Os fragmentos foram esticados em lâminas identificadas e levadas à estufa para secagem, após o que foram coradas pela Hematoxilina e Eosina.

As amostras permaneceram no Laboratório de Histologia da Univap, onde foram feitas as preparações das lâminas para leitura (ANEXO I) e conseqüentemente a análise comparativa de cada grupo com relação ao processo de reparação da queimadura de 3º grau.

4 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Para esta pesquisa, foram escolhidos animais com idade adulta e peso médio de 297g. A dieta foi administrada sem restrições de alimento ou água, uma vez que a nutrição interfere no processo de cicatrização.

No estudo presente, foram utilizados os lasers HeNe de 632,8nm, AlGaInP de 685nm e o AsGaAl de 830nm, com densidade de energia de $4\text{J}/\text{cm}^2$ baseado nos estudos de Colls (1984) e Tatarunas *et al.* (1998). Com estes três diferentes lasers foi possível diminuir o processo inflamatório e favorecer a reparação tecidual, fato evidente nos grupos G2, G3 e G4, onde submetidos à técnica laser, houve aumento no número de vasos e incremento da reepitelização até o 23º dia pós-queimadura. Estes achados evidenciam que o uso da laserterapia de baixa potência acelera a resolução do processo favorecendo a cicatrização, fato coincidente com os trabalhos de Mendez (2002) e Karu; Pyatribat e Kalendo (2001). A técnica de aplicação pontual utilizada no experimento foi escolhida para evitar que ao encostar ou aproximar a fibra óptica da pele houvesse um aumento ou diminuição de dosagem no decorrer da aplicação (TURNER e HODE, 1999; CARVALHO *et al.*, 2001).

Neste experimento pode-se dizer que a evolução no processo de cicatrização da queimadura de terceiro grau, tanto nos grupos irradiados quanto no grupo placebo, se comportou de acordo com as fases de evolução do processo cicatricial. A destruição tecidual causada pela indução da queimadura produziu lesão nas células de tecido mole, resultando em alteração do metabolismo e liberação de substâncias que desencadearam resposta inflamatória, porém com melhora microscópica evidente nas lâminas das amostras dos grupos submetidos à técnica laser, principalmente no grupo G2. Estes mesmos efeitos foram evidenciados nos trabalhos de Rochkind *et al* (1969).

Para análise dos resultados foram examinadas as lâminas de cada fragmento.

Segue abaixo a lâmina referente ao grupo G1 não irradiado por terapia laser, nove dias após lesão.

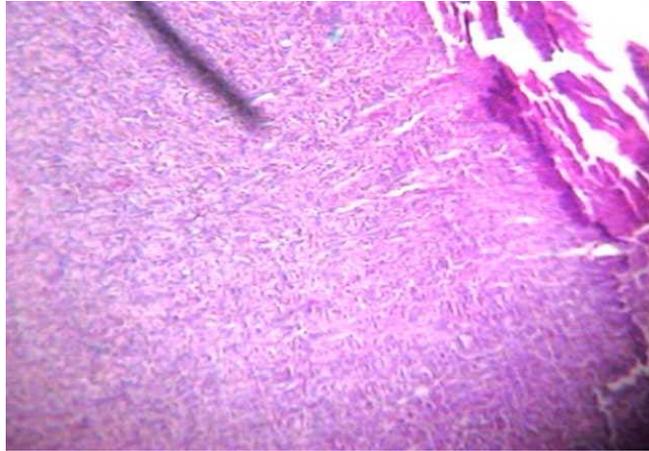


FIGURA 13: Corte histológico do grupo G1 nove dias após lesão.

Os cortes histológicos mostram fragmentos de pele, onde se observa uma zona de ulceração recoberta por exudato fibrino-purulento, fibras colágenas delgadas, vasos sanguíneos de pequeno calibre e células inflamatórias predominantemente mononucleadas, permeadas por polimorfonucleares neutrófilos.

Ao iniciar uma lesão, alterações do metabolismo e liberação de materiais que desencadeiam resposta inflamatória são evidenciadas. A inflamação é um processo onde se têm a liberação de leucócitos, células fagocitárias e exsudatos para o tecido lesado. Conseqüentemente há alterações vasculares, hiperemia e dilatação (TROWBRIDGE e EMLING, 1996).

O processo de cicatrização sempre ocorre após uma lesão, sendo inevitável e seqüencial; sendo que ao início da lesão há, primeiramente, o período de inflamação aguda que é uma resposta fundamental do organismo, sendo destinada a proteger, localizar e livrar a região lesada de algum agente agressor, em preparação para cicatrização e o reparo que acontecerá, posteriormente. Pode-se dizer, então, que a resposta inflamatória visa, em última instância, combater o agente agressor e eliminar qualquer produto que tenha sido resultante da destruição celular, gerando condições

ideais para uma boa reparação tecidual (CATANZARO, 1991; SAMPAIO ; RIVITTI, 2001).

A cicatriz nada mais é do que a substituição de tecido lesado por tecido conjuntivo neoformado, chamado tecido cicatricial. Sempre que ocorre uma lesão, o objetivo da reparação da mesma é a cicatriz, cujas características devem ser similares às da pele original (CATANZARO, 1991; SAMPAIO ; RIVITTI, 2001).

Segue abaixo a lâmina referente ao grupo G2 irradiado com laser HeNe de 632,8nm nove dias após a lesão, com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$.

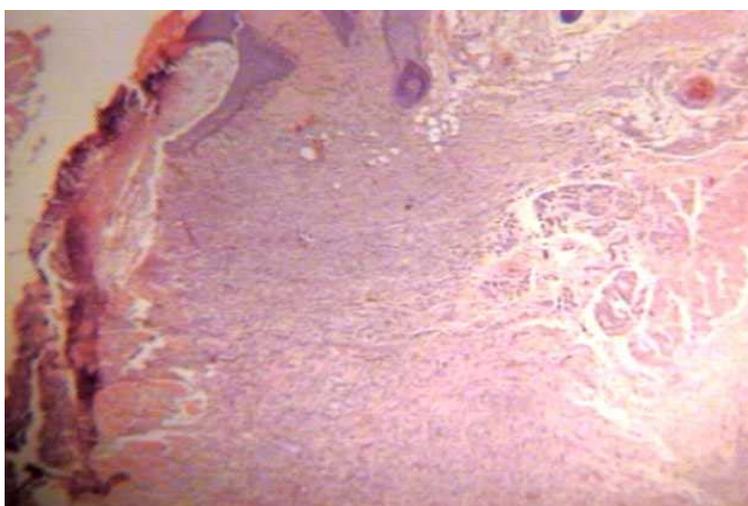


FIGURA 14: Corte histológico do grupo G2 nove dias após a lesão

Os cortes histológicos mostram fragmentos de pele onde se observam nas margens laterais do tecido lesado, a proliferação de células epiteliais, no sentido de recobrir a área lesada. Inúmeros vasos sanguíneos de pequeno calibre congestionado e infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico, tecido de granulação composto por fibroblastos jovens e volumosos. Completam o quadro histológico anexos da derme, células adiposas e fibras musculares com aspecto de normalidade.

Segue a lâmina referente ao grupo G3 irradiado com laser AlGaInP de 685nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, nove dias após a lesão.

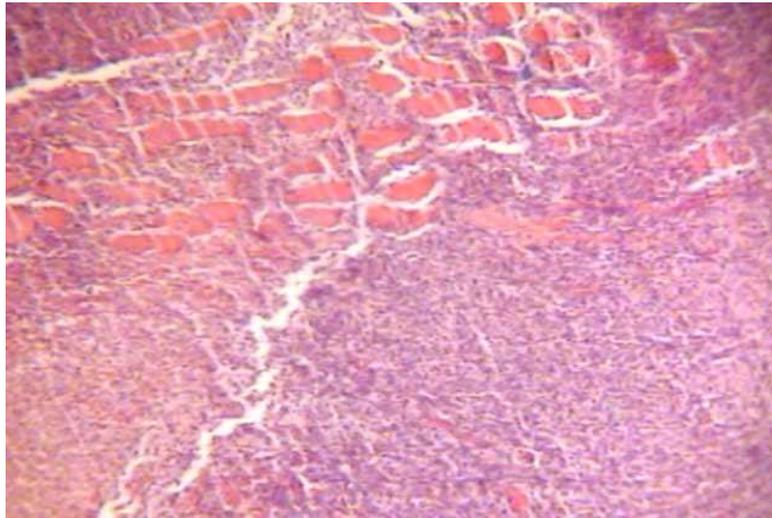


FIGURA 15: Corte histológico do grupo G3 nove dias após lesão.

Os cortes histológicos mostram fragmento de pele onde se observa zona de ulceração recoberta por exudato fibrino-purulento, tecido de granulação composto por fibroblastos jovens e volumosos, intenso infiltrado inflamatório mononuclear principalmente formado por macrófago, pequeno número de vasos sanguíneos. Possui fibras musculares e células adiposas.

Segue abaixo a lâmina referente ao grupo G4 irradiado com o laser AsGaAl de 830nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, nove dias após a lesão.

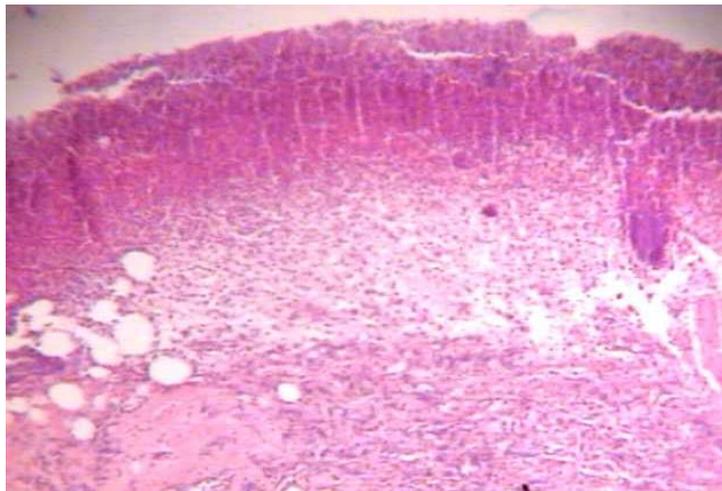


FIGURA 16: Corte histológico do grupo G4 nove dias após lesão

Observa-se a proliferação de tecido epitelial a partir das margens da lesão, onde se observa uma zona de ulceração recoberta por exudato fibrino-purulento, tecido de granulação composto por fibroblastos jovens e volumosos, fibras colágenas delgadas, vasos sanguíneos de pequeno calibre e células inflamatórias predominantemente mononucleadas, permeadas por polimorfonucleares neutrófilos.

Abaixo segue a lâmina referente ao grupo G1 dezesseis dias após a lesão, não irradiados por terapia laser.

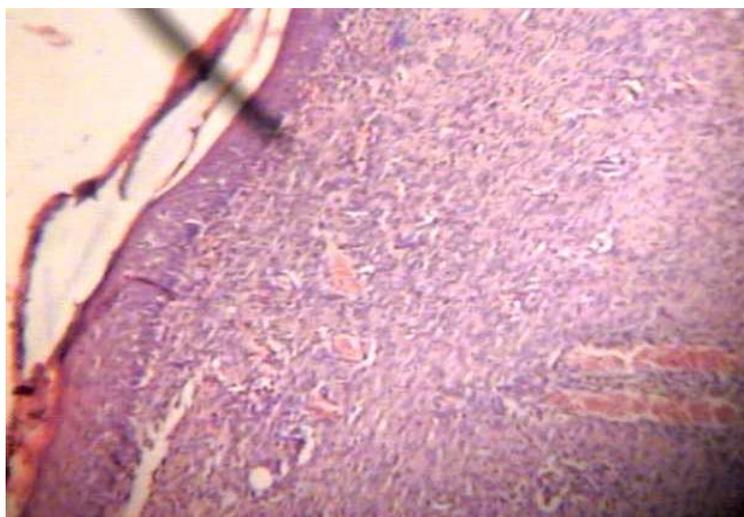


FIGURA 17: Corte histológico do grupo G1 dezesseis dias após lesão

Os cortes histológicos mostram fragmentos de pele apresentando tecido de reparo, observa-se epitélio de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado, e na derme formada por tecido conjuntivo apresentando grande celularidade com fibroblastos volumosos, fibras colágenas possuindo um arranjo denso, inúmeros vasos sanguíneos de pequeno calibre, estando alguns congestionados e discreto infiltrado inflamatório mononuclear completam o quadro histológico, células adiposas, terminações nervosas e glândulas com aspecto de normalidade.

A lâmina referente ao grupo G2, abaixo, irradiado com o laser HeNe de 632,8nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, dezesseis dias após a lesão.

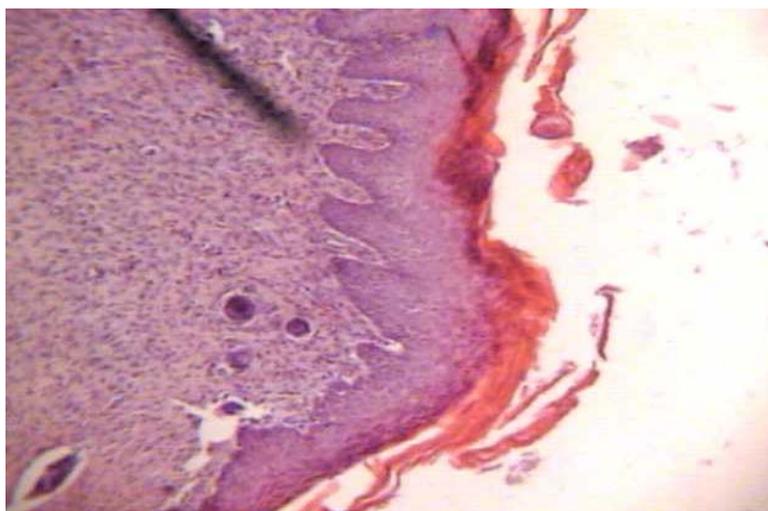


FIGURA 18: Corte histológico do grupo G2 dezesseis dias após a lesão.

Os cortes histológicos mostram fragmentos de pele revestidos por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, apresentando uma degeneração hidrópica* na camada espinhosa e camada granulosa evidente. Derme com fibras colágenas em arranjo frouxo, permeadas por fibroblastos volumosos em grande número, discreto infiltrado inflamatório mononucleado, em localização subepitelial. Completam o quadro histológico anexos da derme, células adiposas e fibras musculares com aspecto de normalidade.

A lâmina referente ao grupo G3 irradiado com o laser AlGaInP de 685nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$ dezesseis dias após a lesão.

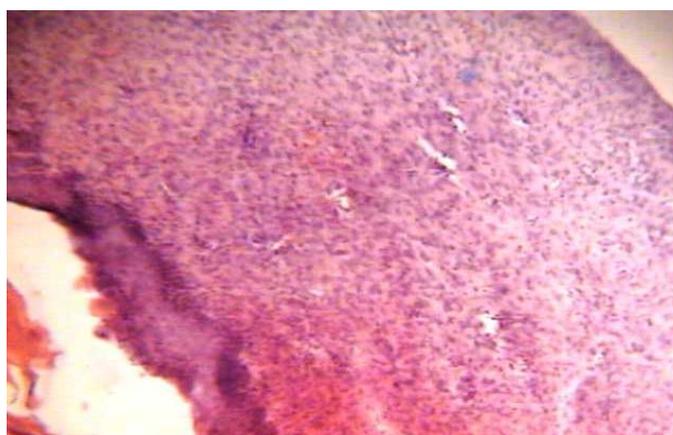


FIGURA 19: Corte histológico do grupo G3 dezesseis dias após a lesão

Cortes histológicos revestidos por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, camada granular evidente e exocitose (presença de células inflamatórias no epitélio). Derme com fibroblastos ainda volumosos, vasos de pequeno calibre congestionados e presença de focos hemorrágicos na região lesada, retificação das papilas dérmicas e infiltrados. Com relação às lâminas 13 e 14, houve um fechamento do epitélio, ou seja, melhora da regeneração quando comparados. Completam o quadro histológico anexos da derme, células adiposas e fibras musculares com aspecto de normalidade.

Segue a lâmina referente ao grupo G4 irradiado com o laser AsGaAl de 830nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, dezesseis dias após a lesão.

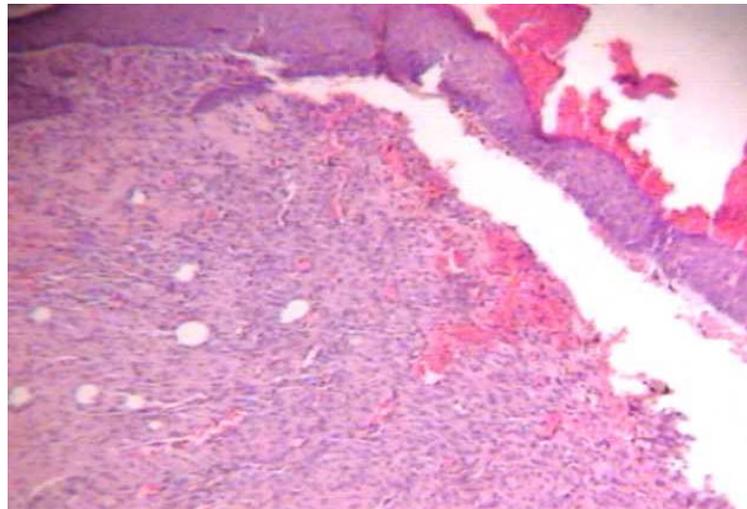


FIGURA 20: Corte histológico do grupo G4 dezesseis dias após a lesão

Cortes histológicos revestidos por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, apresenta exocitose, ausência de papilas dérmicas, derme com grande quantidade de vasos congestionados, hemorragia e infiltrado inflamatório mononuclear subepitelial. Completam o quadro histológico, anexos da derme, células adiposas e fibras musculares com aspecto de normalidade.

Segue abaixo a lâmina grupo não irradiado por terapia laser, vinte e três dias após a lesão.

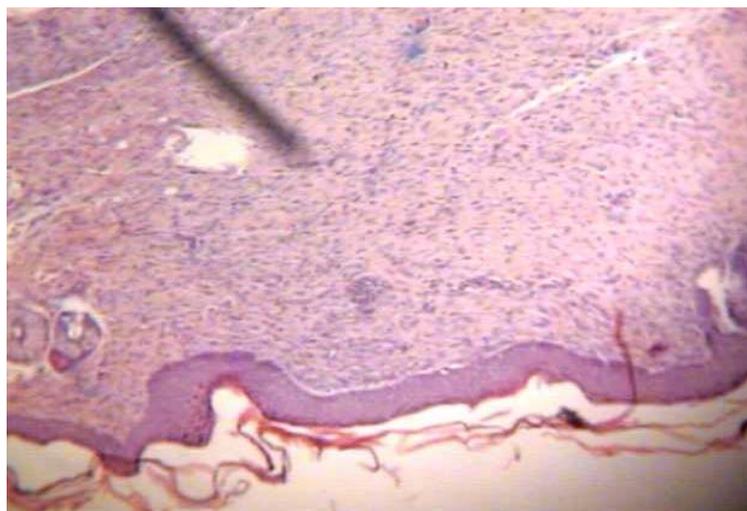


FIGURA 21: Corte histológico do grupo G1 vinte e três dias após a lesão

Os cortes histológicos mostram fragmentos de pele recobertos por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, com camada granulosa evidente, e a derme formada por fibras colágenas em arranjo laminar, permeadas por fibroblastos jovens e volumosos, terminações nervosas, anexos dérmicos e discreto infiltrado inflamatório mononuclear.

Abaixo a lâmina do grupo G2 irradiado com o laser HeNe de 632,8nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, vinte e três dias após lesão.

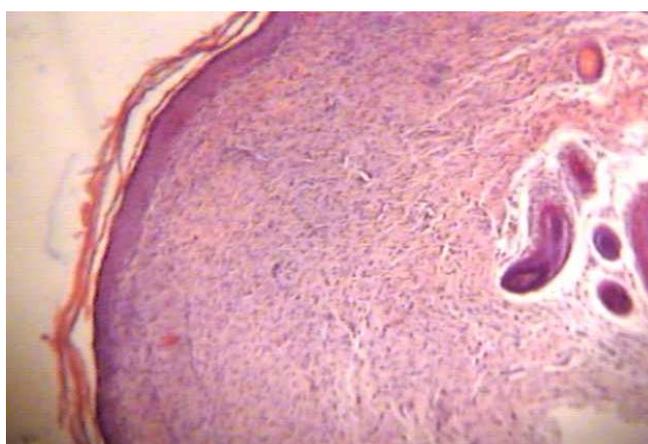


FIGURA 22: Corte histológico do grupo G2 vinte e três dias após a lesão

Os cortes histológicos mostram fragmento de pele com epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, não possui degeneração hidrópica, fibroblasto volumoso, se apresentando em faixa, vasos sanguíneos fusiformes, alguns globosos, outros congestos, não possui infiltrado inflamatório, aspecto de normalidade. Fibras mais maduras com formação de anexos da pele.

Abaixo segue a lâmina referente ao grupo G3 irradiado com o laser AlGaInP de 685nm, com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, vinte e três dias após a lesão.

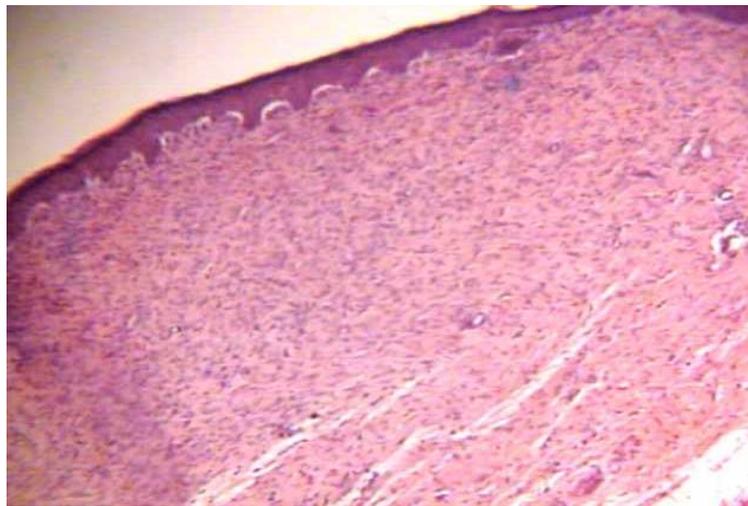


FIGURA 23: Corte histológico do grupo G3 vinte três dias após a lesão.

Cortes histológicos revestidos por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, tecido apresenta epitélio de revestimento, apresenta papilas dérmicas, tecido conjuntivo que forma a derme, apresenta-se laminar com fibroblastos já fusiformes, indicando o amadurecimento do tecido. Observa-se ainda infiltrado inflamatório mononuclear localizado preferencialmente na porção subepitelial. Anexos da derme presentes.

A lâmina referente ao grupo G4 irradiado pelo laser AsGaAl de 830nm com densidade de energia $D = 4\text{J}/\text{cm}^2$, vinte e três dias após a lesão.

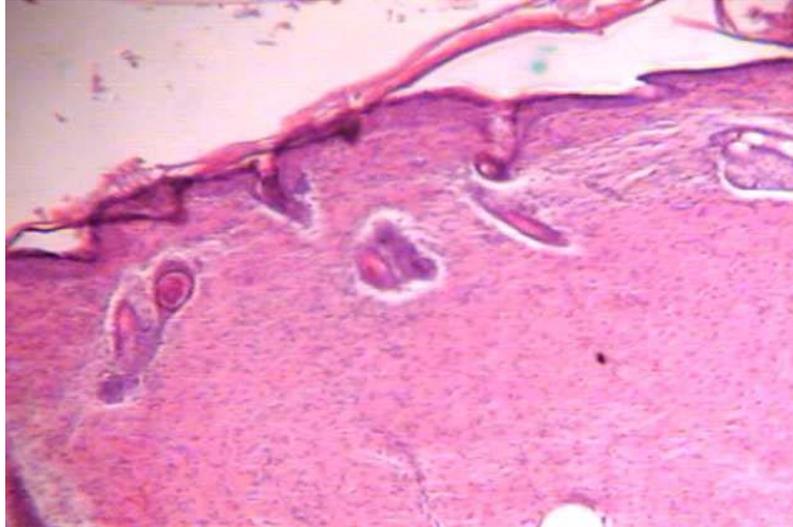


FIGURA 24: Corte histológico do grupo G4 vinte e três dias após a lesão.

Cortes histológicos revestidos por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, formação de tecido epitelial sem papilas, tecido conjuntivo frouxo com fibroblastos fusiformes e alguns ainda globosos. A presença de infiltrado inflamatório é pequena, porém menor, início de formação de anexos da pele. Há degeneração hidrópica.

No estudo, foi observado que durante a fase inflamatória da lesão, houve a presença de exsudatos liberados para o tecido lesado em algumas amostras mais evidentes que outras, geralmente nos grupo submetidos à terapia laser. Estas evidências mostram que o uso do laser faz com que o processo de reparação se inicie primariamente nos grupos irradiados, concordando com Karu; Pyatibrat e Kalendo (1995); Nascimento (2001) e Al-Watban; Andres e Zhang (2000). Seguiu-se um processo de fibroplasia (9 dias após a lesão), acompanhado depois pela remodelação tecidual (16 dias após a lesão) e finalmente pela formação da cicatriz (23 dias após a lesão). Corroborando com os trabalhos de Guirro e Guirro (2002).

Na pesquisa em questão encontra-se bem evidenciado o processo inflamatório, com as fases decorrendo em intensidade diferente quando compara-se o grupo placebo

(G1) com os grupos irradiados com laser (G2, G3 e G4). Embora no grupo G1 o processo inflamatório tenha sido percebido de forma mais intensa, devido à exacerbação do infiltrado inflamatório e ao maior número de células mononucleadas, foi observado, nos grupos irradiados, a neoformação de fibroblastos jovens e um arranjo mais uniforme em toda a extensão lesada, principalmente no grupo G2. Não foram encontrados na literatura estudos similares para a realização de comparações.

Após um evento traumático em determinada região, ocorrem algumas respostas dos vasos sanguíneos frente a essa lesão como a vasoconstrição transitória e depois vasodilatação. Com a vasoconstrição, estimulados pela hipóxia e pela ação dos macrófagos, alguns botões capilares aparecem nas paredes dos vasos que estão intactos, e a partir deles crescem vasos imaturos que formarão conexões com outros vasos. Com o amadurecimento desses vasos, mais sangue oxigenado se encaminhará para a região lesada conforme relatos de Trowbridge e Emling (1996). Durante o estudo a presença de neoangiogênese nos grupos irradiados (G2, G3 e G4) foi mais evidente quando comparadas ao grupo placebo (G1). Este aumento da rede vascular pôde ser notado no achado histológico no período do nono dia após a lesão, ou seja, na fase proliferativa do processo de cicatrização.

Na fase proliferativa, muitos sinais e sintomas associados à resposta inflamatória desaparecem. Nesta fase ocorre formação de um delicado tecido conjuntivo, denominado tecido de granulação. O tecido de granulação consiste de fibroblastos, colágeno e capilares. Nesta pesquisa foi evidenciado nas lâminas das amostras, o aumento no número de fibroblastos (9 e 16 dias após-lesão nos grupos G2, G3 e G4) e da produção de fibras colágenas, bem como a proliferação no número de vasos sanguíneos. Esses vasos são importantes para que haja um maior suprimento de oxigênio e de nutrientes que são essenciais para a regeneração tecidual adequada dessa região (THOMAS, 1995; PRENTICE e VOIGHT, 2003; SUCENA, 1982; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999 e GUIRRO e GUIRRO, 2002).

Durante a fase de maturação o amadurecimento-remodelação é um processo a ser realizado em longo prazo. Inicia-se a partir do 15º dia podendo-se se estender por seis meses ou um ano após lesão. Nas amostras utilizadas no presente estudo, foi observado o início deste processo, uma vez que este experimento foi realizado até o 23º

dia. Contudo, houve melhora significativa nos grupos G2, G3 e G4, pois até o 23º dia o epitélio já se apresentava com aspecto de normalidade e as fibras colágenas estavam com arranjo linear de forma mais organizada quando comparados ao grupo placebo (G1). Foram observados, inclusive, os estratos do epitélio. Essa fase caracteriza-se por um realinhamento ou remodelação de fibras colágeno que formam o tecido cicatricial de acordo com as forças elásticas às quais a cicatriz está sujeita (THOMAS, 1995; PRENTICE; VOIGHT, 2003; GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

Durante a pesquisa foi observada a presença de fibroblastos e de fibras colágenas, pois é sabido que estes vão participar efetivamente no processo de reparação. Foi possível visualizar nos cortes histológicos a presença de fibroblastos a partir do nono dia após lesão, sendo que ao final do experimento no 23º dia, houve um melhor arranjo dos mesmos, evidenciando o amadurecimento do tecido nos grupos irradiados (G2, G3 e G4), o que não ocorreu desta forma no grupo placebo (G1).

Antes da realização do trabalho, por meio da revisão de literatura, foram referenciados diversos autores que relataram melhora significativa na cicatrização através do efeito do laser de baixa potência. O mesmo consegue aumentar a perfusão da circulação local e proliferação de capilares, reduzir a dor, diminuir os microorganismos, bem como aumentar a síntese e até mesmo a proliferação de fibroblastos, e por conseguinte, acelerar o processo cicatricial (COLLS, 1984; TATARUNAS *et al.*, 1998; CORRÊA, 2001; PRENTICE ; VOIGHT, 2003).

Diante dos resultados encontrados, observou-se a melhora do processo cicatricial, causando um aumento inicial no número de fibroblastos e fibras colágenas, levando a uma boa solução da descontinuidade da lesão principalmente no G2, através da exposição do laser HeNe com comprimento de onda de 632,8nm em ratos com queimaduras de terceiro grau. Inversamente, nos trabalhos de Sanches del Campo *et al. apud* Ocanã-Quero (1995), houve inibição e efeito destrutivo no sistema biológico pela irradiação laser. Nos estudos de Basford (1995) houve retardo quando o laser foi aplicado, dependendo da dosimetria aplicada.

Os resultados aqui apresentados estão de acordo com os obtidos no trabalho de Rochkind *et al* (1969), no qual foram observadas melhoras significativas dos grupos

irradiados com terapia laser, quando comparados ao grupo controle não irradiado. Porém, acham-se em desacordo com os estudos de Cambier *et al* (1996), que não acharam nenhuma melhora significativa dos grupos irradiados.

Apesar da riqueza literária e estudos clínicos a respeito da aplicação do laser, o laser de baixa potência é um recurso relativamente novo, encontrando-se em processo de avaliação de seus reais efeitos e necessitando de estudos mais detalhados para confirmar seu mecanismo de ação, determinando parâmetros ideais de aplicação. Faz-se necessário uma melhor definição das enfermidades realmente suscetíveis de tratamento eficaz pelo laser.

5 CONCLUSÃO

A análise dos resultados possibilitou comparar o efeito da radiação dos lasers de baixa potência utilizados nos grupos: G2, G3 e G4 quando comparados ao grupo G1 (placebo) que não sofreu nenhum tipo de terapia. Após os resultados do presente estudo, de fato conclui-se que o uso da laserterapia de baixa potência na cicatrização de queimaduras de 3º grau esteve de acordo com as descrições relatadas no referencial bibliográfico. Através de técnica histológica e análise microscópica das mesmas, foi possível observar os diferentes períodos de cicatrização nos grupos.

Os resultados obtidos demonstraram que houve uma diferença significativa entre os grupos estudados quanto à aceleração no processo de cicatrização da queimadura de 3º Grau. Através de avaliação histológica podem-se verificar melhores resultados para os grupos G2, G3 e G4 quando comparados ao grupo G1, que não foi irradiado.

Após análise dos resultados, foi possível constatar que o laser HeNe resultou em uma melhor cicatrização da queimadura de 3º grau quando comparado com os demais lasers utilizados. Houve uma resposta inflamatória menos intensa favorecendo a reparação tecidual com o aparecimento de fibroblastos jovens, colágeno, neoformação da vascularização tecidual e anexo da derme com aspecto de normalidade.

A dificuldade da pesquisa científica está em encontrar parâmetros reais que sirvam de guia para estabelecer os critérios clínicos a serem seguidos. A literatura não apresenta uma teoria definitiva devido à rica variabilidade do tecido quando submetido a diferentes padrões de utilização dos raios laser, comprimento de onda, irradiância, taxa de repetição do pulso, entre outros, são os fatores limitantes para uma replicação precisa do laser para que se possa estabelecer o padrão para o tratamento de queimaduras. Por tudo isso o tema é relevante e importante para investigação científica.

Face aos resultados encontrados, e de acordo com a literatura pesquisada torna-se favorável a utilização do laser de baixa potência em queimaduras de 3º grau durante as fases de reparação tecidual.

REFERÊNCIAS

- ABERGEL, R.P. *et al.* Control of Connective Tissue Metabolism by lasers: Recent Developments and Future Prospects. **J. Am. Acad. Dermatol.** v 11, p. 1142-1150, 1984.
- ALBERTINI, R. *et al.*, Comparação do efeito Antiinflamatório dos laser de baixa potência AsGa e AsGaAl. In: ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO da UNIVAP.1., **Anais de trabalhos completos.** São José dos Campos: UNIVAP, 2001.p. 147-149.
- ALMEIDA-LOPES, L. **Análise *in vitro* da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa potência, 1999.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica), Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 1999.
- ALMEIDA-LOPES, L. *et al.* Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. **Lasers in Surgery and Medicine.** v. 29, p. 179-184, 2001
- AL – WATBAN, F.A.H; ANDRES, B.L.; ZHANG, X. Wound healing efficacy of HeNe laser (632,8nm) and pharmacological treatments in normal rats. **Lasers in the Life Sciences.** v. 9, p. 245–254, 2000.
- ANNERTH, G. *et al.* The effect of low energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.** v. 26, p. 12-17. 1988.
- BASFORD, J. Low intensity Laser Therapy: Still not a established Clinical Tool. **Lasers in Surgery and Medicine.** v 165, p. 331-342, 1995
- BAXTER, G.D. **Therapeutic laser.** New York: Churchill Livingstone; 1998. p. 1-19.
- BEAR, M.F., CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. **Neurociências – Desvendando o Sistema Nervoso.** 2. ed, Porto Alegre: Artmed Editora, 2002.
- BEVILACQUA, F. *et al.* **Fisiopatologia Clínica.** São Paulo: Atheneu, 1998, p. 29-30.

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.

CAMBIER et al. Low-Power Laser and Healing of Burns: A Preliminary assay. **Plastic Reconstruc. Surg.** v.97, n.3, p. 555-558, 1996.

CARNEVALLI, C.M.M.; PACHECO-SOARES, C.; ZÂNGARO, R.A. Reparação cicatricial de *Rattus albinus wistar* irradiada com laser de Hélio-Neônio (HeNe). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA, 17., Florianópolis, SC., 2000. **Anais...** p. 851–853

CARVALHO, P.T.C. *et al.*. Os efeitos do laser de baixa intensidade em feridas cutâneas induzidas em ratos com diabetes mellitus experimental. **Fisioterapia Brasil**. v. 2, n.4: p. 241-246. 2001.

CATANZARO, G. S. A: **A patologia básica da cavidade oral.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

CEBURKOV, O; GOLLNICK, H. Photodynamic therapy in dermatology. **European Journal of Dermatology**. v.10, n.7, p.586-576; Oct-Nov 2000.

CLARK, R.A.F. Overview and general considerations of wound repair. **Journal of American Academy of Dermatology**. v. 13, p. 701-725, 1985.

COLLS, J. **La Terapia Laser, hoy.** [s.l.]: Centro Documentacion Laser de Meditec, SA. 1984.

CORRÊA, F. I. **Comparação do efeito antiinflamatório dos lasers de baixa potência AsGa (904nm) e AsGaAl (830-870nm) em modelo experimental de edema de pata em ratos e peritonite em camundongos induzidos por carragenina, LPS E 48/50.** 2001. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2001.

DOURADO W.R.C. **Tratamento em pacientes com queimaduras.** São Paulo: Editora Lovise, 1994.

FISZERMAN, R.; MARKMANN, C.A. Effect of low level laser therapy on chronic diabetic foot ulcers. **Diabetes**. v. 49, n.1, p. A393, May 2000.

- FITZPATRICK, J.E., AELING, J.L. **Segredos em Dermatologia**. São Paulo: Artes Médicas, 2000.
- GOLDMAN, J.A. *et al.* Laser therapy of rheumatoid arthritis. **Lasers in Surgery and Medicine**. v.1, p. 93-101, 1980.
- GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; PELLON, M.A.. **Tratamento de queimaduras – um guia prático**. Rio de Janeiro: Revinter, 1997.
- GONZÁLEZ, M.V.; CRUANAS, J.C. Comportamiento de la luz en la interacción con los tejidos, en especial el laser de baja potencia. **Boletim do Centro de Documentación Láser de Meditec**. n. 15-16, p. 6-21. 1988.
- GRAY, H. **Anatomia**. 29. ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan, 1988.
- GRECO, M. *et al.* Increase in RNA and protein synthesis by mitochondria irradiated with Helium–Neon laser. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 163, n. 3, p. 1428-1434, September 1989.
- GUIRRO, E.; GUIRRO, R.. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamento, recursos e patologias**. 3. ed. Rev. Ampl.. São Paulo: Manole, 2002.
- GUYTON, A.C. **Fisiologia Humana**. 9. ed., Rio de Janeiro: Ed. Interamericana, 1997.
- HERRERO, C. Los efectos terapéuticos. **Boletim do Centro de Documentación Láser de Meditec**. n. 15-16, p. 22-26. 1988.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- KANA, J.S. *et al.* Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Archives of Surgery**, v. 116, p. 293-296, 1981.
- KARU, T.; PYATIBRAT, L.; KALENDO, G. Cell attachment modulation by radiation from a pulsed light diode (820nm) and various chemicals. **Laser in Surgery and Medicine**. v 28, p. 227–236, 2001.
- KARU, T.; PYATIBRAT, L.; KALENDO, G. Irradiation with HeNe laser increase ATP level in cells cultivated in vitro. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 27, p. 219-223. 1995.
- KITCHEN, S.; BAZIN S. **Eletroterapia de Clayton**. 10 ed. S.P: Manole, 1998.

- KNOBEL, E. **Conduitas no paciente grave**. 2.ed . São Paulo: Atheneu, 1998.
- LAAKSO, L.; RICHARDSON, C.; CRAMOND, T. Factors affecting low level laser therapy. **Australian Physiotherapy**. v. 39, p. 95-99, 1993.
- LONGO, L. *et al.* Effect of diodes-laser silver arsenide-aluminium (Ga-Al-As) 904nm on healing of experimental wounds. **Lasers in Surgery and Medicine**. v. 7, p. 444-447. 1987.
- LOPES, O.C. **A Medicina no Tempo**. São Paulo: EDUSP, 1970.
- MATSUMOTO, K.; CARVALHO, K.; NIRSCNHEIMER, T. A histopathological study of the effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on infected root canals in dogs. **J. Endod.** v.25, n.3, 1999.
- MENDEZ, T. M. T. V. **Avaliação da influência da Dose e do Comprimento de Onda no Processo de Reparo Subcutâneo de Feridas Submetidas a Laserterapia**. 2002. 73 f., dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) — Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2002.
- MESTER, E.; MESTER, A.F.; MESTER, A. The biomedical effect of laser application. **Lasers in Surgery and Medicine**. v. 5, p. 31-39, 1985.
- NASCIMENTO, P.M. **Efeito da variação da intensidade e do comprimento de onda do laser não cirúrgico em feridas cirúrgicas em dorso de ratos: estudo histológico**. 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica). Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – Universidade do Vale do Paraíba., 2001.
- OCAÑA-QUERO, J.M. *et al.* The effect of Helium-neon laser irradiation on in vitro maturation in fertilization of immature bovine oocytes. **Lasers Med. Sci. Santisteban-Venezuela**. v. 10, p. 113-119, 1995.
- ORTIZ, M.C.S. *et al.* Laser de baixa intensidade: princípios e generalidades-Parte 1. **Revista Fisioterapia Brasil**. v. 2, n.4, p.221-240, 2001.
- OSHIRO, T. **Low reactive-level laser therapy practical application**. Chichester: John Wiley & Sons; 1991. p. 3-10.
- PARIZOTTO, N.A., BARANAUSKAS, V. Structural analysis of collagen fibrils, after He-Ne laser photostimulated regenerating rat tendon. In: CONGRESS WORLD

ASSOCIATION OF LASER THERAPY, 2., Kansas-USA. 1988. **Proceeding...** p. 66-67.

PARRISH, J.; DEUTSCH, T. Laser photomedicine. **IEEE Journal of Quantum Electronics**. QE-20, n.12, p. 1386-1396, 1984.

PASSARELLA, S. *et al.* Increase in the ADP/ATP exchange in rat liver mitochondria irradiated in vitro by Helium-Neon laser. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 156, n.2, p. 978-986. 1988.

PEREIRA, P. C. M.; BURINI, R. C. Resposta do hospedeiro à infecção. 1- Sistema de defesa e mediadores químicos. **Arquivo brasileiro de medicina**, 1994.

PIVA, J.P.; CARVALHO, P.A; GARCIA, P. A **Terapia intensiva pediátrica**. 4º ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1997: p. 741-53.

PRENTICE, W.W.; VOIGHT, M. L. **Técnicas em Reabilitação Musculoesqueléticas**. São Paulo: Artmed, 2003. p.24-46 , 279-286.

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.

RIGAU, J. **Acción de la luz láser a baja intensidad en la función celular**. Doctoral thesis, Reus, Facultad de Medicina i Ciència de la Salut, Univ. Rovira i Virgili. 1996.

ROCHKIND, S. *et al.* Systemic Effects of low Power Laser Irradiation on the Peripheral and Central Nervous system. Cutaneous Wounds and Burns. **Lasers in Surgery and Medicine**. v 9, 174-182, 1969.

ROSS, M.H.; ROWRELL, L.J. **Histologia: texto e atlas**. 2ª ed. São Paulo: Médica Panamericana. 1993.

SAMPAIO, S.A.P, RIVITTI, E.A. **Dermatologia**. 2º ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001.

SANCHEZ, E.L.**Histórico da fisioterapia no Brasil e no mundo**. Atualização Brasileira de Fisioterapia. São Paulo: Panamed, 1984, p. 29-36.

SAY, K. G. *et al.* O tratamento Fisioterápico de Úlceras Cutâneas Venosas Crônicas Através da Laserterapia com Dois comprimentos de Onda. **Revista Fisioterapia Brasil.** v. 4, n. 1, p. 39-48, janeiro/fevereiro 2003.

SERRA, M.C.; GOMES, D.R. **Tratamento com queimaduras – um guia prático.** Rio de Janeiro. Revinter. 1999.

SILVA, E.C.; HAIDAR FILHO, A.; MUSSKOPF, D.E. **Radiação Laser.** In: RODRIGUES, E.M. Manual de Recursos Terapêuticos. Rio de Janeiro, Revinter. p. 17-35. 1998.

SIQUEIRA, J. F; DANTAS, C. J. S. Reparação tecidual: Aspectos Celulares e Moleculares. In: **Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação.** Rio de Janeiro: Medsi, p. 173-196, 2000.

SNYDER-MACKLER, L *et al.*. Effects of HeNe laser irradiation on skin resistance and pain in patients with trigger points in the neck or back. **Physical Therapy.** v. 69, p. 336-341, 1989.

STOLIK, S.; DELGADO, J.A., PEREZ, A., ANASAGASTI, L. Measurement of the penetrations depths of red and near infrared light in human “ex vivo” tissues. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.** v. 57, p. 90-93, 2000.

SUCENA, R.C. **Cirurgia Plástica: contribuição para o ensino da especialidade.** São Paulo: Liv. Roca / Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica, 1982. v.1.

TATARUNAS, A. C. *et al.* Estudo Clínico e Anatopatológico da Cicatrização Cutânea no Gato doméstico. Utilização do Laser de Baixa Potência AsGa (904nm) **Acta Cirúrgica Brasileira.** v. 13, n. 2. São Paulo abr/maio/jun. 1998.

THOMAS, D. W. Cutaneous wound healing: A current perspective. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.** v. 53, n. 4, p.442-447, April 1995.

TREDGET, E.E.; MING Yu, Y. The metabolic effects of thermal injury. **World J. Surg.** v. 16, p.68-79. 1992.

TROWBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C.4.ed. **A inflamação. Uma Revisão de Processo.** São Paulo: Quintessense, 1996. Cap. 6 - 7

TUNER, J., HODE, L. **Low level laser therapy. Clinical practice and scientific background.** Sweden: Prima Books; 1999.

VEÇOSO, M.C. **Laser em Fisioterapia.** São Paulo: Lovise, 1993.

WEBB, C; DYSON, M; LEWIS, W.H.P. Stimulatory effect of 660nm low level laser energy on hipertrophic scar-derived fibroblasts. **Lasers in Surgery and Medicine.** v. 22, p.294-301, 1998.

YOUNG, S. *et al.* Macrophage responsiveness to light therapy. **Lasers in Surgery and Medicine.** v. 8, p.497-505, 1989.

ANEXO A

COLORAÇÕES HE

| | |
|---|------------------|
| ✓ Xilol I (desparafinar) | 3X ou 10 minutos |
| ✓ Xilol II (desparafinar) | 3X |
| ✓ Álcool Absoluto | 3X |
| ✓ Álcool 95% | 3X |
| ✓ Álcool 70% | 3X |
| ✓ Água destilada (desprezar) | 1X |
| ✓ Hematoxilina | 1' |
| ✓ Água destilada (desprezar) | 2X |
| ✓ Diferenciador | 1X |
| ✓ Água destilada para limpeza das lâminas | |
| ✓ Álcool Absoluto | 1X |
| ✓ Eosina | 5' |
| ✓ Álcool Absoluto | 1X |
| ✓ Álcool Absoluto | 1X |
| ✓ Álcool Absoluto | 2X |
| ✓ Xilol I | 3X |
| ✓ Xilol Montagem | 3X |

ANEXO B

COLORAÇÃO PAS

| | |
|---|-----|
| ✓ Xilol I | 3X |
| ✓ Xilol II | 3X |
| ✓ Álcool Absoluto | 3X |
| ✓ Álcool 95% | 3X |
| ✓ Álcool 70% | 3X |
| ✓ Água Destilada (desprezar) | 1X |
| ✓ Ácido Periódico | 5' |
| ✓ Água Destilada | 4X |
| ✓ Reagente de Schiff's | 15' |
| ✓ Água Corrente | 5' |
| ✓ Hematoxilina | 1' |
| ✓ Água Destilada | 1X |
| ✓ Diferenciador | 1X |
| ✓ Água Destilada para limpeza das lâminas | |
| ✓ Álcool Absoluto | 3X |
| ✓ Xilol I | 3X |
| ✓ Xilol II | 3X |

ANEXO C



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º L107/2004/CEP, intitulado “*Efeito do laser de baixa potência no processo de cicatrização de queimaduras de terceiro grau*”, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Tadeu T. Pacheco, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA/Junho de 1991) e segue as Normas Para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de Animais (Lei 6638 de 08/05/1979) sendo, portanto, **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

São José dos Campos, 28 de maio de 2005.

PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP

Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

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

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

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