

TERAPIA COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA DE 685 nm EM RATOS COM LESÕES TÉRMICAS: ANÁLISE COMPARATIVA DAS DOSIMETRIAS PROPOSTAS

Luís Ferreira Monteiro Neto¹, Marcos Tadeu T. Pacheco², Flavio Piloto Cirillo³, Evandro Emanuel Sauro⁴, Alessandro Colares Sales⁵, Ana Claudia de Souza Costa⁶

^{1,2}Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Programa de Pós-graduação em Bioengenharia, Universidade Vale do Paraíba

^{3,4,5,6}Curso de Fisioterapia, Faculdade de Educação Física de Lins, Faculdades Salesianas de Lins
lfmont@salesianolins.br

Resumo

Com a aplicação da laserterapia, observou-se resultados de outros experimentos onde se obteve a aceleração no processo cicatricial, pois aceleram a formação do tecido de granulação, aumento de fibroblastos e da reserva de glicogênio, proporcionando também a neovascularização do tecido. Sendo assim, optou-se a realizar este estudo experimental, pois sabe-se que as agressões em um tecido causadas por lesões térmicas atingem todas as camadas da pele. No presente trabalho, foram utilizados três grupos de ratos, da raça Wistar, os quais sofreram lesões térmicas seguidas de irradiação do laser. O diferencial dos grupos experimentais foi a fluência utilizada; a convencional (quatro Joules por centímetro quadrado) e a proposta (quarenta Joules por centímetro quadrado). O terceiro grupo foi o controle, onde era apenas simulada a irradiação do laser. Após a análise microscópica de luz, observou-se que o grupo irradiado com menor densidade de energia obteve um melhor resultado à cicatrização.

Palavras-chave: *laser, dosimetria, cicatrização e microscopia de luz.*

Áreas de Conhecimento: *III- Engenharias*

Introdução

De acordo com ANDREAS et al (2000), Mester e colaboradores foram os primeiros a realizarem uma irradiação de laser como modalidade fototerapêutica em 1970, no qual a mesma servia para induzir ou acelerar um tecido cicatricial.

Assim, este trabalho tem como objetivo comparar as respostas do laser (685 nm) de baixa potência, na regeneração tecidual de lesões térmicas, através da aplicação de diferentes dosimetrias. Desta forma, verificar os efeitos das dosimetrias preconizadas, observar a aplicação das dosimetrias atualizadas e comparar respostas obtidas com a aplicação do laser nos grupos A, B e C.

O trabalho parte do pressuposto de que haja uma investigação na área da fototerapia, limitando-se a investigar a laserterapia. Especifica a comparação de

duas dosimetrias com o laser de 685 nm, de baixa potência, com a finalidade de melhorar a qualidade tecidual das lesões térmicas em ratos. A partir da análise, demonstrar qual a fluência mais eficaz comprovando histologicamente o resultado.

Metodologia

O experimento foi utilizando 40 ratos machos, da raça Wistar, com peso médio de 278 gramas e 120 dias de vida, aproximadamente.

Os ratos foram divididos em três grupos, sendo A, B e C. O grupo A, refere-se ao grupo controle e foi subdividido em A1 e A2, contendo 10 ratos em cada subgrupo. Em ambos os grupos (placebo), foi simulada a técnica aplicada, idêntica aos grupos B e C, tendo como diferencial o tempo de permanência do animal e de energia

utilizada, 4 J/cm² e 40 J/cm² para A1 e A2, respectivamente.

No grupo B, que é um grupo experimental, foi estimulado com laser de meio ativo InGaAIP com DE igual a 40J/cm², e no grupo C, também com laser de meio ativo InGaAIP, com DE igual a 4J/cm².

Os animais eram anestesiados mediante injeções Ketalar (cloridrato de quetamina) em proporções equivalentes na quantidade de 0,10ml da solução por 100g de peso, anestesia que se mostrou suficiente para o desenvolvimento de todo o protocolo experimental. Foi realizada a técnica anti-séptica com povidine-iodine, para ser feita a tricotomia nos animais com tesoura de pinça e uma lâmina de barbear.

A lesão térmica foi realizada com a placa de alumínio de 1cm², que, após ser aquecida a uma temperatura de 130°C e verificada pelo aparelho termopar, era aplicada na região dorsal de cada animal por 3 segundos. Esse procedimento foi realizado em cada animal sempre por um mesmo aplicador. Após cada lesão, o material era resfriado em um copo com soro fisiológico estéril e posteriormente feito a anti-sepsia do mesmo.

A irradiação do laser foi realizada imediatamente após cada lesão, sendo de forma contínua, no espectro de onda vermelho(685nm), com a técnica puntual, sem contato, em cinco regiões da lesão, sendo um ponto em cada extremidade e um ao centro. A caneta do laser era fixada a um instrumento que auxiliava sua aplicação, com 0,5 cm de distância entre a lesão e a caneta, sendo esta calibrada sempre antes da aplicação. Os grupos A1 e A2 foram submetidos a simulações de irradiações para os animais sofrerem o mesmo estresse dos grupos B e C, sendo que o A1 foi utilizado ao mesmo tempo que o de 4J/cm², e o A2 com o mesmo tempo de 40J/cm² em cada ponto. No grupo B foi feita a aplicação com densidade de energia de 40J/cm², perfazendo um tempo de 33 segundos em cada ponto da lesão, sendo dois minutos e quarenta e cinco segundos no total de pontos em cada animal. No grupo C, a aplicação foi com densidade de energia igual a 4J/cm², perfazendo um tempo de 4 segundos em cada ponto da lesão, totalizando 20

segundos em cada rato. Nos terceiro, quarto, quinto e sexto dias, os ratos não foram sedados para a aplicação do laser. Realizaram-se as mesmas técnicas, com temperatura média ambiente de 27,0°C. No último dia os animais foram sacrificados para coleta do material, o mesmo era fixado com alfinetes em uma placa de parafina, colocado em um recipiente individual, identificado, e fechado, fixados em formol à 10%, lavados em água corrente e desidratados em série crescente de álcoois; a inclusão foi feita em parafina rotineiramente em cortes de 7 micrômetros feitos em sentido longitudinal e transversal. Os cortes foram montados em lâminas e corados em Hematoxilina e Eosina, sendo analisadas e fotografadas ao microscópio de luz.

Resultados

A microscopia /HE revelou lesão de pele ulcerada, na qual ocorreu a lise celular e a coagulação das proteínas, formando na superfície uma crosta de material hialino, associado a edema. Observou – se a reação inflamatória aguda, caracterizada por infiltrados polimorfonucleares que se acumulava no fundo da lesão. Nos locais onde havia perda tissular, ocorria formação de tecido conjuntivo vascular neoformado. Notou – se hiperemia com aumento da permeabilidade vascular e grande infiltrado mononuclear. A partir desse ponto, se iniciava uma proliferação de vasos e fibroblastos que se dirigiam ao sitio da lesão, formando o tecido de granulação e levando ao espessamento da lamina própria. Seguindo a cronologia da reparação, algumas áreas apresentam desaparecimento progressivo do infiltrado de vasos e grande deposição de fibras colagenas, para a formação da cicatrização. Sendo assim, resultou – se que:

O grupo irradiado com densidade de energia de 4 joules através da microscopia HE revelou mínima presença de folículos em degeneração. Havia acentuada presença de tecidos em granulação recoberta por exsudato fibrinoso, apresentou grande formação de tecido colágeno, ocorria acentuada regeneração epitelial nas extremidades da lesão, moderada formação de fibrilas colágenas da reparação, já se

observava redução do tecido de granulação apresentava discreta regeneração de folículo piloso, observou-se uma moderada permeabilidade vascular com exsudato fibrinoso, presença de moderado tecido conjuntivo vascular neoformado, entretanto não havia presença de regeneração epitelial.

O grupo irradiado com densidade de energia de 40 joules, revelou através da microscopia /HE uma grande presença de reação do tecido de granulação reativo; com presença também na derme. Havia discreta formação de fibrinas colágenas, ocorreu um pequeno indício de regeneração epitelial nas bordas da lesão, discreta formação de vasos neoformados presença moderada na formação de tecido colágeno. Observou-se um pequeno indício de regeneração do epitélio, não havendo regeneração epitelial.

O grupo controle (Placebo) de 4 joules e 40 joules, através da microscopia H/E revelou baixa reação do tecido de granulação, havia pouca formação de fibrilas colágenas bastante delicadas, ocorreu uma moderada regeneração epitelial na extremidade da lesão, houve uma mínima neoformação de vasos, pouca permeabilidade vascular com exsudato fibrinoso recobrimdo a lâmina própria, discreta regeneração parcial do epitélio e folículos pilosos da região .

Conclusão

De acordo com resultados obtidos pela metodologia empregada, podemos concluir que, de uma maneira geral, o processo de cicatrização das lesões térmicas tanto dos grupos irradiados como dos grupos controles, apresentam uma tendência a uma cicatrização dentro dos parâmetros da normalidade. O efeito biomodulatório positivo do laser, em ambas densidades de energia utilizadas, pode ser evidenciado pela presença de um processo em estágio mais avançado nos grupos experimentais. A densidade de energia possui um efeito no processo de reparo tecidual e os presentes resultados sugerem um melhor efeito quando a densidade de energia menor é utilizada. Os resultados obtidos com as diferentes densidades de energia irradiadas foram mais efetivas na biomodulação do processo de reparo, comparadas aos grupos controles.

Referências Bibliográficas

- ABERGEL, R. P. et al. Efeitos biológicos del laser. **Invest cli laser**. United States, v.1, p. 7-14, 1986.
- ALLENDORF et al. Helium-neon laser irradiation at fluences of 1, 2, and 4 J/cm² failed to accelerate wound healing as assessed by both wound contracture rate and tensile strenght. **Lasers in Surgery and Medicine**. New York, 1997.
- ANDREAS, S. et al. Low intensity laser therapy: A Review. **Journal of Investigative Medicine**. v. 48, n. 5, p. 312, sep. 2000.
- ARTZ, C. P.; MONCRIEF, J. A.; PRUITT, B. A. **Queimaduras** . Rio de Janeiro: Interamericana, 1980.
- BEDNARSKA et al. Effect of low-power red light laser irradiation on the viability of human skin fibroblast. **Radiat Environ Biophys**. Poland, 1998.
- BENEDICENTI, A. **Manual de laserterapia di Cavo Orale**. Rinini: Maggioli, 1982.
- BLAKISTON. **Dicionário Médico**. 2. ed. São Paulo: Andrei, 2000.
- BRUGNERA, A. J.; PINHEIRO, A. L. B. **Laser na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.
- COLVER, G. B.; PRIESTLEY, G. C. Failure of a helium-neon laser to affect components of a wound healing in vitro. **Br. J. Dermatol**. 121, 179-86, 1989.
- DAVIDSON, J. M. **Animal models for wound repair**. Department of Veterans Affairs Medical Center, Nashville, TNT, USA. p. 57, 1998.
- DIPIRONA SÓDICA: gotas. Responsável Dr. Marco Aurélio Limírio Gonçalves Filho. Anápolis: Ducto, 2002. Bula de remédio.
- GENOVESE, W. J. **Laser de baixa intensidade: Aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Lovise, 2000.
- GOMES, D. R.; SERRA, M. C.; MACIEIRA, L. **Condutas atuais em queimaduras**. Rio de Janeiro, Revinter, 2001.
- GOMES, D. R.; SERRA, M. C.; PELLON, M. A. **Tratamento de Queimaduras: um guia prático**. Rio de Janeiro, Revinter, 1997.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. São Paulo: Guanabara, 1995.
- KALRA, V.; PALAKSHA, H. K.; SRINIVASAN, V. Helium-Neon Laser as an Adjunctive Modality for Wound Healing. **Indian Pediatrics**. New Delhi, v.34, p. 439, 1997.
- KARU, T. I. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. **I.E.E.E. J. Quant Electronics**, QE23, 10, p. 1703-17, 1987.
- LOW, J.; REED, A. **Eletroterapia Explicada: princípios e prática**. 3. ed. Barueri: Manole, 2001.
- MARTIN, Paul. Wound healing – aiming for perfect skin regeneration. **Science**. v. 276, n. 5309, p. 75-81, 1997.
- MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M. **Patologia, processos gerais**. São Paulo: Atheneu, 1999.
- NEIBURGER, E. J. Does laser therapy enhance wound healing? **Journal of the Massachusetts Dental Society**. v. 45, n. 02, p.24, 1996.
- NEMETH, A. J. Lasers in wound healing. **Dermatologic Clinics**. v. 11, n. 4, p. 788, oct. 1993.
- PARIZOTO, N.; ALMEIDA, L.; MASSINI, R. J. **Manual do usuário: lasers e suas aplicações**. São Carlos, 2001.
- ROBBINS, L. S. et al. **Patologia Estrutural e Funcional**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
- RUBIN, E.; FARBER, J. L. **Patologia Rubin Farber**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1990.
- SCHLAGER et al. Low-Power Laser Light in the Healing of Burns: A Comparison between two different Wavelengths (635 nm and 690 nm) and Placebo group. **Lasers in Surgery and Medicine**, Áustria, 2000.
- SILVEIRA, J. C.; LOPES, E. E. Alguns aspectos do comportamento do mastócito sob ação do raio laser de GaAs – 904 nm (Estudo Experimental em Cobaias – Cavia Porcellus). Arq. do Centro de Estudos do Curso de Odontologia, 1991.
- VEÇOSO, M. C. **Laser em fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993.
- WHEELAND, R. G. Lasers for the stimulation or inhibition of wound healing. **Elsevier Science Publishing Co. J. Dermatol. Surg Oncol**, 19, p. 747-48, 1993.