

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO - CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA  
BUCOMAXILOFACIAL  
- MESTRADO -**

**ANGELO LUIZ FREDDO**

**EFEITO DA LLLT NA BIOMODULAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO  
PERIMPLANTES BIOABSORVÍVEIS DE PLLA/PGA EM FÊMUR DE RATOS**

**PORTO ALEGRE – RS  
2007**

ANGELO LUIZ FREDDO

**EFEITO DA LLLT NA BIOMODULAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO  
PERIMPLANTES BIOABSORVÍVEIS DE PLLA/PGA EM FÊMUR DE RATOS**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de mestre em Odontologia, pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira

– Orientadora –

Profa. Dra. Adriana Etges

– Co-Orientadora –

PORTO ALEGRE – RS

2007



*Dedicatória*

---

*Ofereço este trabalho aos meus pais, irmãos e  
minha mulher pelo companheirismo, lealdade e  
acolhimento em todos os momentos da minha  
vida.*



## *Agradecimientos*

---

## AGRADECIMENTOS

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e à Faculdade de Odontologia, na pessoa do Magnífico Reitor **Prof. Dr. Joaquim Clotet**, ao qual expresso minha admiração e respeito.

Ao **CNPq**, por viabilizar recursos para a realização deste Curso de Mestrado em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

A **Profa. Dra. Nilza Pereira da Costa**, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela dedicação que tem dispensado ao curso de Pós-Graduação.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**, pela ajuda extremamente dedicada na construção desta dissertação. Sua amizade, experiência e conhecimentos foram inestimáveis neste processo.

À minha co-orientadora, **Profa. Dra. Adriana Etges**, pela valiosa consultoria prestada e por ter possibilitado a realização deste trabalho no Centro de Diagnóstico de Doenças da Boca da Universidade Federal de Pelotas.

A todos os consultores deste trabalho: **Dr. Daniel Humberto Pozza, Profa. Dra. Ingeburg Hellwig, Prof. Dr. João Batista B. Weber, Prof. Dr. João Feliz D. de Moraes, Dra. Luiza Gomes de M. Braga, Profa. Dra. Maria Martha Campos, Profa. Dra. Maria Rita M. Quintella**, a inteligência e a vontade de colaborar dos senhores, guiaram a realização deste projeto.

A colega **Simone Marja Rodrigo** e ao aluno de iniciação científica, **Fabrizio Poletto Massotti**, pela ajuda incansável na realização da parte experimental.

Aos **professores** de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Mestrado da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, deixo aqui minha admiração e meu agradecimento a vocês pelos conhecimentos e confiança que depositaram em mim.

Aos **meus amigos e colegas**, pelo companheirismo sólido construído nestes dois anos de curso. Com certeza este espaço é pequeno para tudo que vivemos juntos. Guardo com carinho a amizade de vocês para o resto de minha vida.

À **equipe de Veterinários e funcionários da FEEPS e equipe do CDDB - UFPel**, pela disposição e profissionalismo, ao prover todos os recursos possíveis na realização da parte experimental deste trabalho.

Aos **funcionários da Secretaria de Pós-Graduação** em Odontologia, pela disponibilidade, dedicação, presteza, desempenhando um trabalho com zelo e simpatia.

Enfim, agradeço a todos que, com seu trabalho ou apoio, contribuíram direta ou indiretamente no mecanismo de conclusão desta pós-graduação.

"Procure ser um homem de valor, em vez de  
procurar ser um homem de sucesso".  
(Albert Einstein)



*Resumo*

---

## RESUMO

Esta pesquisa avaliou a biomodulação do processo inflamatório decorrente de *lasers* vermelho (685nm) e infravermelho (830nm), nos tecidos circunjacentes ao fêmur de 60 ratos *Wistar*, após a implantação de placas bioabsorvíveis. Procedeu-se à análise do reparo tecidual e das reações biológicas dos tecidos irradiados, comparando-se, entre os grupos controle e experimentais, a intensidade do processo inflamatório em feridas provocadas na coxa desses animais, distribuídos aleatoriamente em três grupos. O grupo controle não recebeu qualquer tratamento por *laser*. Os grupos experimentais receberam LLLT em dois pontos equidistantes do ferimento, iniciando-se imediatamente após a sutura da ferida e com periodicidade da irradiação a cada 48 horas. O grupo experimental A foi tratado com *laser* vermelho (10J/cm<sup>2</sup> e 35mW). O grupo experimental B foi tratado com *laser* infravermelho (10J/cm<sup>2</sup> e 50mW). A morte dos animais e as análises microscópicas dos espécimes, com coloração de HE, aconteceram em três, sete, 15 e 21 dias. Os resultados da análise descritiva mostraram que tanto os grupos *laser* vermelho quanto infravermelho biomodularam positivamente o processo inflamatório, pois apresentaram, aos três e aos sete dias de pós-operatório, um padrão histológico superior ao do grupo controle. Os resultados da análise semiquantitativa evidenciaram que ambos os grupos experimentais obtiveram um escore histológico estatisticamente significativo, superior ao grupo controle, aos três dias de pós-operatório. Aos 21 dias de pós-operatório, a análise histomorfométrica mensurou, no *laser* vermelho, um processo inflamatório bem mais intenso que nos demais grupos.

Descritores\* : implantes absorvíveis; lasers; ratos, *Wistar*; terapia à *laser* de baixa intensidade.

---

\* Descritores em Ciências da Saúde (DeCS); disponível em <http://decs.bvs.br/> Acesso em 15 de outubro de 2007.



*Abstract*

---

## ABSTRACT

This research aims at evaluating the biomodulation of the inflammatory process resulting from Low Level Laser Therapy applied to the femur adjacent soft tissues of sixty rats Wistar after the implantation of the bioabsorbent plates. Both the tissue healing process and the biological reactions of the tissues irradiated with laser were analyzed, and the intensity of the inflammatory process in the wounds provoked in the rat's hips were compared between the control and the experimental groups. The control group received zero laser treatment. Each 48 hours, the experimental groups were submitted to a maximum of eight applications of LLLT in two equidistant spots of the wounds, immediately after the suture was made. Experimental group A was treated with red laser (10J/cm<sup>2</sup> and 35m). Experimental group B was treated with infrared laser (10J/cm<sup>2</sup> and 50mW). The animals' deaths and the microscopic analyses with the HE technique took place 3, 7, 15 and 21 days after the surgery. The results of the semi quantitative analysis have demonstrated that both the red and the infrared groups have biomodulated positively the inflammatory process, once they presented a statistically higher histological pattern than the control group on the 3rd day after the surgery. Twenty-one days after the surgery a morphometric analysis detected a rather more intense inflammatory process in the red laser (laser A) group than in the other groups.

Descriptors<sup>\*\*</sup>: absorbable implants; lasers; rats, Wistar; laser therapy, low-level.

---

<sup>\*\*</sup> Medical Subject Headings (MeSH), disponível em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Acesso em 15 de outubro de 2007.



*Lista de Figuras*

---

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Exposição da diáfise do fêmur.....	49
Figura 2 - Perfurações ósseas.....	50
Figura 3 - Adaptação do LactoSorb® .....	51
Figura 4 - Irradiação pós-operatória imediata. ....	52
Figura 5 - <i>Laser</i> pós-operatório. ....	53
Figura 6 - Peça cirúrgica removida. ....	56
Figura 7 - Medida histomorfométrica .....	60
Figura 8 - Fotomicrografia do grupo controle – três dias. Observa-se presença de fragmento da placa de LactoSorb® (LB), processo inflamatório (PI) e tecido muscular (TM). HE, aumento de 40X. ....	66
Figura 9 - Fotomicrografia do grupo controle – sete dias. ....	66
Figura 10 - Fotomicrografia do grupo controle – 15 dias .....	67
Figura 11 - Fotomicrografia do grupo controle – 21 dias .....	67
Figura 12 - Fotomicrografia do grupo experimental A ( <i>laser</i> vermelho) – três dias. Observa-se presença de fragmento da placa de LactoSorb® (LB), processo inflamatório (PI) e tecido muscular (TM). HE, aumento de 40X. ....	69
Figura 13 - Fotomicrografia do grupo experimental A ( <i>laser</i> vermelho) – sete dias .....	70
Figura 14 - Fotomicrografia do grupo experimental A ( <i>laser</i> vermelho) – 15 dias .....	70
Figura 15 - Fotomicrografia do grupo experimental A ( <i>laser</i> vermelho) – 21 dias .....	71
Figura 16 - Fotomicrografia do grupo experimental B ( <i>laser</i> infravermelho) – três dias. Observa-se presença de fragmento da placa de LactoSorb® (LB), processo inflamatório (PI) e o tecido muscular (TM). HE, aumento de 40X. ....	73
Figura 17 - Fotomicrografia do grupo experimental B ( <i>laser</i> infravermelho) – sete dias .....	73
Figura 18 - Fotomicrografia do grupo experimental B ( <i>laser</i> infravermelho) – 15 dias .....	74
Figura 19 - Fotomicrografia do grupo experimental B ( <i>laser</i> infravermelho) – 21 dias .....	74



*Lista de Quadros*

---

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Organização dos animais nos grupos.....	46
Quadro 2 – Protocolo de irradiação da LLLT (doses totais por grupos e subgrupos) .....	54
Quadro 3 - Escores atribuídos às diferentes condições do processo de reparo e da resposta inflamatória .....	59



*Lista de Tabelas*

---

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do exame microscópico.....	64
Tabela 2 - Moda do escore histológico .....	75
Tabela 3 - Teste de Normalidade .....	76
Tabela 4 – Teste de Kruskal-Wallis .....	77
Tabela 5 – Teste de Kruskal-Wallis .....	78
Tabela 6 - Médias Histomorfométricas .....	79



*Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas*

---

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

A	-	área
ABNT	-	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ADP	-	adenosina difosfato
ATP	-	adenosina trifosfato
CEP	-	Comitê de Ética em Pesquisa
CDDB	-	Centro de Diagnóstico de Doenças da Boca
Cm	-	centímetro
CO <sub>2</sub>	-	dióxido de carbono
DE	-	densidade de energia
FDA	-	Food and Drug Administration
FEPPS	-	Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde
FO	-	Faculdade de Odontologia
g	-	grama
GaAlAs	-	arseneto de gálio e alumínio
GaAs	-	arseneto de gálio
GL	-	graus de liberdade
HE	-	hematoxilina e eosina
HeCd	-	hélio-cádmio
HLLT	-	High Level Laser Therapy (Terapia à <i>Laser</i> de Alta Potência)
HeNe	-	hélio-neônio
Hz	-	hertz
InGaAsP	-	fosfeto de índio-gálio-arsênio
InGaAlP	-	fosfeto de índio gálio e alumínio
J	-	joule
J/cm <sup>2</sup>	-	joule por centímetro quadrado
Laser	-	light amplification by stimulated emission of radiation
LB	-	LactoSorb <sup>®</sup>
LLLT	-	Low Level Laser Therapy (Terapia à <i>Laser</i> de Baixa Potência)
mg	-	miligrama
ml	-	mililitro
mm	-	milímetro
mW	-	miliwatts
N	-	amostra
NBR	-	Norma Brasileira
ηm	-	nanômetro
P	-	potência
pH	-	potencial de hidrogênio
PI	-	processo inflamatório
PPG	-	Programa de Pós-Graduação
PLLA	-	Ácido poli-L-Láctico
PGA	-	Ácido poliglicólico
PUCRS	-	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PVPI	-	polivinilpirrolidona iodada
s	-	segundo
sig.	-	significância
TM	-	tecido muscular
TNT	-	tecido não-tecido
UFPel	-	Universidade Federal de Pelotas

W	-	watt
WALT	-	World Association for Laser Therapy
□	-	comprimento de onda
□m	-	micrômetro
®	-	marca registrada
%	-	porcento/porcentagem/percentagem
°C	-	graus Celsius
40X	-	quarenta vezes (aumento de)
100X	-	cem vezes (aumento de)
400X	-	quatrocentas vezes (aumento de)



## *Sumário*

---

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	23
2. REVISTA DE LITERATURA .....	27
3. PROPOSIÇÃO .....	42
4. METODOLOGIA .....	44
4.1. Delineamento da Pesquisa.....	44
4.2. Problema .....	44
4.3. Hipóteses .....	44
4.4. Configuração da Amostra .....	45
4.5. Organização dos Grupos .....	45
4.6. Material Cirúrgico .....	46
4.7. Procedimento Cirúrgico .....	47
4.8. Irradiação com Laser .....	52
4.8.1. Cálculo da densidade de energia utilizada: .....	54
4.9. Preparo das Amostras .....	55
4.10. Processamento Histológico .....	56
4.11. Análise Microscópica.....	57
4.12. Análise Histomorfométrica .....	59
4.13. Análise Estatística.....	61
5. RESULTADOS .....	63
5.1. Análise Macroscópica .....	63
5.2. Análise Microscópica.....	63
5.2.1. Análise Descritiva Qualitativa .....	63
5.2.1.1. Grupo Controle .....	65
5.2.1.2. Grupo Experimental A – <i>laser</i> vermelho .....	68
5.2.1.3. Grupo Experimental B – <i>laser</i> infravermelho .....	71
5.2.2. Análises Semiquantitativa e Histomorfométrica .....	75
6. DISCUSSÃO .....	81
7. CONCLUSÃO .....	91
REFERÊNCIAS.....	91
APÊNDICE A – Ficha de cirurgia dos animais.....	98
APÊNDICE B - Escores histológicos e medidas histomorfométricas .....	100
ANEXO A .....	102
ANEXO B.....	104
ANEXO C.....	105
ANEXO D .....	106
ANEXO E.....	107
ANEXO F.....	108
ANEXO G .....	109
ANEXO H .....	112



## *Introdução*

---

## 1. INTRODUÇÃO

A *Low Level Laser Therapy* (LLLT), de ação biomoduladora terapêutica, importante no processo de reparo tecidual, tem sido empregada com sucesso na clínica odontológica. Consiste na aplicação de uma luz *laser* de baixa potência (abaixo de 1W) sobre tecidos biológicos, com potencial para biomodular positivamente eventos celulares, em busca do favorecimento no processo de reparo, podendo ser integrada como terapia complementar de tratamentos convencionais ou usada isoladamente, de forma eletiva, em algumas patologias. É passível de emprego em praticamente todas as especialidades da Odontologia, considerando-se que as respostas orgânicas decorrentes de agentes agressivos, sejam mecânicos, químicos ou biológicos, geram uma resposta inflamatória acompanhada, na maioria das vezes, de sintomatologia dolorosa (BRUGNERA JÚNIOR *et al.*, 2003).

A palavra *laser* é uma sigla - ou acrônimo - de *light amplification by stimulated emission of radiation* (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação). Essa luz é um instrumento capaz de levar energia aos tecidos com grande precisão, e os princípios que guiaram o seu desenvolvimento foram postulados por Einstein, em 1917, segundo teoria da emissão estimulada (PINHEIRO; FRAME, 1992).

O *laser* é uma forma de radiação não-ionizante, altamente concentrada, que, em contato com os diferentes tecidos, resulta em efeitos fototérmicos, fotoquímicos e não-lineares. Ao contrário de outras formas de radiação usadas com finalidades terapêuticas, a radiação *laser* é não-invasiva e muito bem-tolerada pelos tecidos. É considerada, por muitos autores, como a mais significativa descoberta do século XX, por envolver inúmeras perspectivas nas áreas de pesquisas biológicas e das ciências médicas (BRUGNERA JÚNIOR *et al.*, 2003), entre outras.

A LLLT tem usado amplas porções do espectro de luz visível e infravermelha. Os primeiros estudos enfatizavam a luz visível de *laser* com hélio-neônio (HeNe), rubi, argônio e criptônio. Mais recentemente, os *lasers* diodos semicondutores: arseneto de gálio (GaAs) e arseneto de gálio alumínio (GaAlAs) tornaram-se mais disponíveis e vêm sendo muito estudados e empregados (BASFOR, 1995).

A utilização dos *lasers* na biomodulação do processo inflamatório e do reparo ósseo, por intermédio de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas, tem sido estudada por pesquisadores do mundo inteiro com objetivo de proporcionar maior rapidez na cicatrização óssea, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual ao paciente submetido à cirurgia (TAKEDA, 1988).

No mesmo sentido, com intuito de melhorar as modalidades de tratamento de indivíduos acometidos por fraturas ósseas, diversos pesquisadores, ao acreditarem poder contornar as dificuldades da fixação interna metálica, realizaram estudos experimentais para o desenvolvimento de um material de fixação interna que fosse bioabsorvível (CANÇADO *et al.*, 2006).

Placas bioabsorvíveis podem ser definidas como implantes absorvíveis compostos por homo ou co-polímeros, utilizados na contenção e na estabilização de fraturas ósseas (TÖRMÄLÄ; POHJONE e ROKKANEN, 1998).

Bartlett e De Lozier (1992) lembram que toda fratura inadequadamente abordada poderá apresentar diferentes graus de comprometimento funcional subsequente. Em crianças, é adicionado o fato de o potencial de crescimento correr riscos de comprometimento, ou, ainda, provocar o desenvolvimento de uma deformidade.

Apesar de vários estudos descreverem a resistência à tração e as características de degradação, assim como a reação dos tecidos humanos aos polímeros, tais relatos mostram resultados bastante variados, provavelmente decorrentes das diferentes particularidades bioquímicas de cada material analisado (SUURONEN *et al.*, 1998).

Todavia, essa reação dos tecidos humanos aos co-polímeros não está suficientemente esclarecida. Assim, pois, é sabido que o processo de reparo inicia com a inflamação aguda, a qual tem função de combater o agente agressor responsável pelo mecanismo de lesão tecidual e/ou celular, podendo o mesmo ser de origem física, química e biológica. Essa fase fisiopatológica é inconveniente, uma vez que causa desconforto ao paciente, seja pela liberação de substâncias que provocam dor seja pela ocorrência de eventos vasculares que geram edema (CANÇADO *et al.*, 2006).

Portanto, evidências têm mostrado a importância da realização de novos estudos experimentais visando avaliar o comportamento biológico de tais materiais. Na intenção de analisar se as placas bioabsorvíveis compostas por co-polímeros de ácido poli-L-láctico e de ácido poliglicólico (PLLA/PGA), hoje disponíveis no mercado, são capazes de permitir um

reparo adequado, quando utilizadas como dispositivo de fixação interna, e se a LLLT (*lasers* vermelho e infravermelho) pode ou não biomodular positivamente o processo inflamatório no entorno desse material, foi delineada esta pesquisa.



*Revista de Literatura*

---

## 2. REVISTA DE LITERATURA

A existência na literatura de pesquisas que indiquem a fixação interna metálica como um possível fator de restrição do crescimento craniofacial vem estimulando a procura de um sistema de fixação interna que mantenha os benefícios dos dispositivos metálicos sem o risco da inibição do crescimento (CANÇADO *et al.*, 2006).

O sistema de fixação óssea ideal para o esqueleto craniofacial em pediatria deve permitir a fixação rígida durante a fase inicial da cicatrização, mas também tem de ser absorvido de maneira natural, a partir do momento em que sua presença é prescindível (MONTAG; MORALES e DAANE, 1997).

Em 1997, surgiu no mercado um sistema de osteossíntese bioabsorvível composto de ácido poli-L-láctico (82%) e de ácido poliglicólico (18%), que mantém, segundo o fabricante, adequada resistência por tempo superior ao necessário para a formação do calo ósseo, com indicação de emprego em cirurgias de fraturas em terço fixo da face e reconstrutivas do esqueleto craniofacial. Teria a vantagem de evitar a reintervenção cirúrgica para a remoção de fixações situadas em centros de crescimento ósseo. Outra indicação de emprego do sistema bioabsorvível era em osteotomias situadas em regiões incluídas em campo de irradiação no tratamento radioterápico adjuvante, por não ocorrer, clínica e radiograficamente, sinais de para-efeitos nos tecidos irradiados. O emprego do sistema estaria contra-indicado em áreas cirúrgicas infectadas ou com limitação de suprimento sangüíneo; em osteossínteses de fraturas com perda de substância óssea; em ossos de cortical óssea espessa; em área cirúrgica com redução na qualidade da estrutura óssea, como a que ocorre em sítios ósseos com sinais de osteoporose e em regiões expostas a demandas musculares. O mecanismo de reabsorção é realizado por desencadeamento de moderada reação inflamatória que promove hidrólise dos componentes e microfragmentação da placa, a qual será fagocitada por macrófagos que irão converter os fragmentos em dióxido de carbono e água. Em 12 meses ocorre reabsorção total da placa bioabsorvível com permanência de resíduos da membrana fibrosa que a envolvia. Em 15 meses, há preenchimento com tecido fibroso ou neoformação óssea no sítio do parafuso (MANUAL DO FABRICANTE, 2007).

Pietrzak, Sarver e Verstynen (1997) publicaram um artigo que tinha por objetivo avaliar o avanço dos dispositivos bioabsorvíveis entre as diversas áreas da saúde. Os autores ressaltaram a importância desses dispositivos dentro da cirurgia craniofacial, visto que os

implantes metálicos podem induzir a uma restrição de crescimento em crianças, serem palpáveis em indivíduos de qualquer idade e interferir na qualidade de exames de imagem e na radioterapia. Os especialistas acrescentam que os dispositivos bioabsorvíveis do sistema W. Lorenz - LactoSorb<sup>®</sup> são os primeiros com condições claras na cirurgia craniomaxilofacial a serem aprovados pela Food and Drug Administration (FDA).

Para os mesmos autores, o polímero bioabsorvível ideal é aquele que: (a) permite a fixação interna com uma força inicial capaz de suprir as necessidades biomecânicas, (b) irá degradar em um tempo previsível e controlado, de forma a permanecer com uma força suficiente no implante para manter estabilidade biomecânica durante a cicatrização e (c) depois de degradado, nenhum produto desse processo deve ser encontrado no organismo.

A degradação dos materiais bioabsorvíveis *in vivo* ocorre em duas etapas distintas. A primeira delas é física e consiste na hidrólise das ligações químicas dos polímeros, resultando em cadeias menores e peso molecular reduzido. Já a segunda fase é uma resposta fisiológica do organismo, na qual macrófagos fagocitam os fragmentos resultantes da primeira fase em substâncias comuns como água e dióxido de carbono (PIETRZAK, SARVER e VERSTYNEN, 1997).

A fim de comprovar a aplicabilidade dos co-polímeros como material de fixação interna, surgiram diversos estudos para avaliar sua aplicação nas distintas técnicas de cirurgia bucomaxilofacial. Entre eles, encontra-se o trabalho realizado por Wiltfang *et al.* (1999), no qual os autores, utilizando-se de quatro suínos em crescimento, realizaram em primeiro lugar uma osteotomia supra-orbital e, então, recolocaram os fragmentos novamente em posição e os fixaram por duas placas de quatro furos, compostas de PLLA/PGA. Do lado direito, essas placas foram implantadas subperiostealmente, sendo que no lado oposto a fixação foi supraperiosteal. Já os segmentos ósseos receberam análises histológicas e por microrradiografias. Aos nove meses, cerca de 90% do volume das placas havia sido substituído por tecido conjuntivo fibroso ou por osso, sendo que em 18 meses todo o material que compunha a placa tinha degradado. Os autores concluíram que as placas compostas por co-polímeros PLLA/PGA parecem ser úteis para o uso na região craniofacial em crescimento, sendo necessários, contudo, mais estudos com amostras maiores para permitir uma comprovação estatística de tais achados.

Edwards, Kiely e Eppley (2000), ao avaliarem o uso da fixação bioabsorvível, relatam o tratamento feito em 20 pacientes submetidos a genioplastia, no qual foram utilizados placas e parafusos ou parafusos bicorticais isoladamente, compostos por matérias bioabsorvíveis.

Após um acompanhamento que variou de seis a 24 meses, os pesquisadores concluíram que esse material é seguro para utilização em procedimentos de avanço ou recuo na região mentoniana.

Van Sickels (2000) ressalta que os materiais bioabsorvíveis têm desvantagens em relação à fixação interna com titânio, como a dificuldade de remoção transoperatória nos casos de mau posicionamento e que o número de pacientes submetidos a essa modalidade de tratamento ainda é pequeno quando comparado ao uso de placas e parafusos de titânio, devendo ser cuidadoso na indicação desse material e na avaliação das vantagens reais dos bioabsorvíveis.

Em 2001, Edwards, Kiely e Eppley publicaram um relato de caso, com acompanhamento radiográfico, por mais de 24 meses, de oito pacientes submetidos a várias técnicas em cirurgia ortognática com osteossíntese por materiais bioabsorvíveis. Segundo esses pesquisadores, a ausência de reações de corpo estranho e infecção, com a ocorrência de cicatrização normal do tecido ósseo associado ao material, com estabilidade satisfatória dos fragmentos ósseos e total degradação, mostraram a biocompatibilidade destes biomateriais.

Bos (2001) relatou que a avaliação da cicatrização óssea e da degradação de biomateriais *in vivo* é difícil e especulativa. A tais considerações ele acrescenta que o manejo dos materiais bioabsorvíveis utilizados para osteossíntese é difícil e que os orifícios para os parafusos devem ser preparados previamente à inserção dos mesmos. Devido a uma resistência limitada à torção, apenas uma pequena compressão pode ser induzida nos parafusos disponíveis atualmente. A esterilização dos materiais também é crítica e seu custo ainda muito alto. Assim, o autor, acredita que, levando-se em consideração as propriedades intrínsecas desses polímeros, ainda é questionável se a osteossíntese realizada com materiais bioabsorvíveis poderia vir a substituir a fixação interna metálica, sendo válidas as tentativas de desenvolver e melhorar esses materiais.

Na intenção de verificar a influência das placas bioabsorvíveis sobre os padrões de crescimento ósseo craniofacial no período pós-natal, Cançado *et al.* (2006) realizaram um estudo experimental em coelhos. Para tanto, foram formados dois grupos, fixando, no grupo experimental, os implantes de forma paralela à sutura sagital, transversalmente à sutura coronal craniana direita. No grupo controle, apenas os parafusos de titânio foram implantados, um no osso frontal e outro no parietal. As mensurações morfométricas volumétricas e lineares foram realizadas na vigésima quarta semana de vida dos animais. Com base nos resultados

encontrados, os autores concluíram que as placas bioabsorvíveis não provocaram nenhuma interferência no crescimento normal das cobaias.

A inflamação é basicamente uma seqüência de reações ordenadas, que tem início com uma atividade aguda, evoluindo para um processo crônico, alcançando a resolução por meio da reparação tecidual. A inflamação 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 e aumento da permeabilidade, possibilitando a transmigração celular (CATANZARO, 1991).

Vários estímulos exógenos ou endógenos podem causar lesão celular, e os mesmos também provocam uma reação complexa no tecido conjuntivo vascularizado, incluindo o plasma, as células circulantes, os vasos sanguíneos, além dos constituintes celulares e extracelulares do tecido conjuntivo (COTRAN; KUMAR e COLLINS, 2000).

O processo inflamatório pode ser dividido em duas fases: aguda e crônica. A primeira é relativamente curta, com duração de minutos, horas ou alguns dias. Como características, apresenta exsudação de líquido e proteínas plasmáticas, causando edema e a migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. A segunda é a mais longa e está associada à presença de linfócitos, plasmócitos e macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual (COTRAN; KUMAR e COLLINS, 2000). Para esses autores, a resposta inflamatória aguda está estritamente ligada ao processo de reparo, servindo para destruir, diluir ou encerrar o agente lesivo, movimentando uma série de eventos responsáveis pela cicatrização e reconstituição do tecido danificado.

Segundo Pereira e Burini (1994), o primeiro estágio do processo inflamatório ocorre quando as células inflamatórias aparecem no local da lesão, cerca de seis horas após o desencadeamento inicial da lesão, com as margens da ferida contendo fagócitos. Já nas próximas 24 horas, ocorre um predomínio de polimorfonucleares. Nas 48 horas posteriores ao trauma, o número de polimorfonucleares tende a diminuir, evidenciando-se, então, a infiltração por células mononucleares, sobretudo macrófagos, linfócitos e plasmócitos, além da proliferação endotelial e fibroblástica, em alguns casos. Deve-se considerar também que feridas que cicatrizam 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.

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 reepitelização são os eventos marcantes dessa fase (THOMAS, 1995).

O terceiro estágio é definido como a fase de maturação que se inicia duas a três semanas após a lesão e pode perdurar por anos. A duração depende de algumas variáveis como idade, fatores genéticos, localização e tipo da ferida, assim como duração do processo inflamatório. Nessa, 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 substituída 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).

À biomodulação pelo *laser* tem sido atribuído o aumento dos efeitos biológicos, como o crescimento epitelial e fibroblástico, a estimulação da síntese de colágeno, o aumento da capacidade de fagocitose e de liberação de endorfina, resultando na produção de efeitos terapêuticos analgésicos, antiinflamatórios e reparador tecidual (MESTER, MESTER e MESTER, 1985).

Já ao *laser* de baixa potência vem sendo atribuídos efeitos analgésico, antiinflamatório e estimulante do processo de cicatrização, constituindo-se o estudo das interações entre a luz *laser* e a matéria viva marcadamente complexo. A energia é depositada nos tecidos sobre fenômenos de absorção, reflexão, difusão e transmissão (PANARELLO, 2003).

Brugnera Júnior e Pinheiro (1998) asseveram que a absorção da luz *laser* pelos tecidos pode resultar em quatro processos: fotoquímico, fototérmico, fotomecânico e fotoelétrico. Dentre os efeitos fotoquímicos, pode-se incluir a biomodulação tecidual, que seria o efeito da luz *laser* sobre processos moleculares e bioquímicos, os quais usualmente ocorrem nos tecidos.

As funções terapêuticas no campo da analgesia e da biomodulação do processo inflamatório são em geral desenvolvidas no espectro vermelho e infravermelho da luz, com comprimento de onda de aproximadamente  $\lambda = 600\text{nm}$  a  $900\text{nm}$  (TUNÉR e CHRISTENSEN, [2002]).

Os *lasers* de GaAlAs são muito utilizados na biomodulação. A composição do cristal semicondutor de luz pode variar consideravelmente. Dependendo da porcentagem de cada substância utilizada, o comprimento de onda da luz emitida pode variar de  $\lambda = 660\text{nm}$  a  $\lambda = 940\text{nm}$ . Os mais utilizados são os *lasers* com comprimento de onda de  $\lambda = 820\text{nm}$  a  $\lambda = 830\text{nm}$  (infravermelhos) e  $\lambda = 670\text{nm}$  (vermelho), os quais emitem radiação tanto no modo contínuo quanto no pulsado (PÖNTINEN, 1992).

O uso das propriedades fotoquímicas e fotobiológicas de *lasers* na biomodulação do processo inflamatório e do reparo ósseo tem sido estudados por pesquisadores do mundo inteiro com objetivo de proporcionar ao indivíduo submetido à cirurgia maior rapidez na cicatrização óssea, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual (TAKEDA, 1988).

Pinheiro *et al.* (1998) relatam que a interação do *laser* no tecido é determinada pelos fatores que lhe são inerentes, tais como composição de seu meio ativo, comprimento de onda por ele determinado, densidade de potência, forma de emissão do *laser* (contínua, pulsada ou desencadeada); taxa e duração da pulsação, utilização ou não de fibras de contato, tipo de raio (focado ou desfocado) e quantidade de energia depositada no tecido. Essa quantidade de energia depositada é concernente a cada tecido, pois seus componentes citoplasmáticos celulares irão determinar o coeficiente de absorção e difusão da luz, e, assim, haverá respostas teciduais distintas para cada tecido (BRUGNERA JÚNIOR *et al.*, 2003).

De acordo com Kolárová, Ditrichová e Wagner (1999), a transmissão da radiação óptica depende de fatores individuais de cada camada celular componente da pele humana. Em geral, uma parte da luz é refletida após alcançar a pele, enquanto a outra penetra nas camadas celulares profundas, passíveis de sofrer o fenômeno de espalhamento ou absorção de acordo com as características ópticas de cada tecido. Na pele humana, ainda, o fenômeno de absorção é predominante na epiderme e nas camadas mais superficiais da derme, enquanto que o fenômeno de espalhamento é promovido pelas fibras colágenas nas camadas celulares mais profundas.

Para Catão (2004), a LLLT deve seguir os seguintes parâmetros: escolha do comprimento de onda, densidade de energia, densidade de potência, tipo de regime de operação do *laser*, frequência do pulso, número de sessões e características ópticas do tecido, como os coeficientes de absorção e espalhamento.

Veçoso (1993) explica que a ação antiinflamatória é exercida mediante a aceleração da microcirculação, originando alterações na pressão hidrostática capilar, com reabsorção do edema e eliminação do acúmulo de catabólitos intermediários, tais como os ácidos purínico e láctico. Por outro lado, o *laser* aumenta a celularidade dos tecidos radiados, acelerando o tempo de mitose, ação essa que é observada sobremaneira nos processos de reparação cicatricial de lesões, pois proporciona maior vascularização e formação abundante de tecido de granulação.

Em 1989, Karu afirmou que a LLLT atua na estimulação da reparação tecidual, melhorando a regeneração e a cicatrização de tecidos por meio da promoção da proliferação celular, da aceleração na formação de tecidos de granulação, do aumento da síntese de ATP e do estímulo na síntese do colágeno, com formação das fibras procolágenas tipos I e III.

A LLLT é usada na biomedicina, principalmente para promover a regeneração tecidual. Dentre suas vantagens, destacam-se o controle da dor pós-operatória, a estimulação da cicatrização, a redução da inflamação e a diminuição da dor. O aumento na produção de fibroblastos e colágeno, o aumento da circulação sanguínea dentro do tecido regenerado, bem como o efeito supressivo nas reações imunes também são alcançados com esse tratamento (PINHEIRO; FRAME, 1992). Além do mais, apresenta propriedades de produzir efeito biológico em âmbito celular, promovendo a estimulação seletiva das mitocôndrias e provocando um incremento no metabolismo celular (WEBER *et al.*, 2006).

O processo de reparo das feridas pode ser dividido em três fases: celular, proliferativa e remodeladora. A maior parte dos relatos sobre bioestimulação a *laser* sugere que os efeitos mais importantes ocorrem na fase de proliferação, pois acredita-se que o processo de metabolismo celular acentua-se devido à fotorrecepção mitocondrial pela luz monocromática, sugerindo que o *laser* aumenta o metabolismo respiratório de certas células e, assim, modifica as propriedades eletrofisiológicas da célula (MEYERS, 1990; PINHEIRO e GERBI, 2006).

Segundo Tiphlova e Karu (1987), a cadeia respiratória mitocondrial é um sistema dinâmico unitário, responsável pela absorção da energia *laser* em um determinado ponto, promovendo transformações em toda a cadeia respiratória celular e em todo o estado metabólico celular. A absorção da luz por componentes da cadeia respiratória – flavina desidrogenase, citocromo e citocromo oxidase – provoca uma pequena ativação da cadeia respiratória, o que, por sua vez, ocasiona alterações em ambos os potenciais de ação das membranas mitocondrial e citoplasmática.

O número de mitocôndrias de uma célula varia de acordo com a demanda de energia necessária para seu funcionamento. A matriz mitocondrial possui enzimas essenciais para as reações utilizadas na geração de energia e com partículas de síntese de ATP. O *laser* pode liberar a energia armazenada na forma de ATP, aumentar a sua síntese ou convertê-la em ADP (WEBER *et al.*, 2006).

A literatura consultada sobre o assunto também afirma que a LLLT promove o aumento na concentração das beta-endorfinas e, conseqüentemente, desencadeia efeito analgésico. O *laser* também promove a liberação dos mastócitos, aumentando a concentração de histamina, provoca vasodilatação, com aumento da permeabilidade vascular, além de atuar nas prostaglandinas, inibindo e bloqueando a ação da enzima cicloxigenase e na ativação dos linfócitos, promovendo, assim, efeito antiinflamatório (MESTER, MESTER E MESTER, 1985; CATÃO, 2004).

Mester, Mester e Mester (1985) realizaram uma revisão de todos os seus experimentos publicados, bem como do uso clínico da LLLT nas últimas duas décadas. Esses pesquisadores iniciaram a utilização do *laser* em humanos na década de 1970, tratando úlceras de difícil cicatrização, bem como aquelas que não reparavam, com a dose aproximada de  $4\text{J}/\text{cm}^2$ . Os autores recomendam a LLLT, baseados tanto no acompanhamento de mais de 1100 casos publicados, em que aproximadamente 90% tiveram resposta positiva ao reparo, quanto pelos estudos efetivados que avaliaram a modulação do processo inflamatório e do reparo tecidual em animais.

Takeda (1988) analisou histologicamente o efeito do *laser* na cicatrização inicial do alvéolo após extração dos primeiros molares superiores direitos em ratos *Wistar*. Após a exodontia, os alvéolos foram imediatamente irradiados, no grupo experimental, durante cinco minutos com um *laser* semiconductor de GaAs, com comprimento de onda de  $\lambda = 904\text{nm}$ , densidade de potência de  $25\text{mW}/\text{cm}^2$  e densidade de energia de  $20\text{J}/\text{cm}^2$ . Animais não-irradiados integraram o grupo controle. Os resultados demonstraram que a irradiação com *laser* teve um efeito benéfico na cicatrização inicial do alvéolo dentário.

Aos efeitos da LLLT na ferida cirúrgica têm sido atribuído o aumento da proliferação celular. No entanto, há controvérsias no que diz respeito aos efeitos da LLLT, pois há estudos que ora apresentam efeitos estimulatórios, e há estudos que apresentam efeitos inibitórios da ação do *laser* nas culturas celulares (KARU, 1989).

Como exemplo, destaca-se o estudo de Anneroth *et al.* (1988), que avaliou os efeitos da LLLT no reparo tecidual em ratos. Na referida pesquisa, seus autores realizaram dois ferimentos bilaterais de 06 mm de diâmetro, no dorso de 14 ratos *Sprague-Dawley*, sendo uma das feridas escolhida ao acaso para irradiação, permanecendo a outra como controle. Os animais foram irradiados diariamente com um *laser* diodo (GaAs;  $\lambda = 904\text{nm}$ ; 500Hz; 0.5mW por aproximadamente oito minutos). O primeiro rato foi irradiado no primeiro dia e sacrificado no segundo, o segundo rato foi irradiado no primeiro e no segundo dias, sendo sacrificado no terceiro dia; a seqüência continuava até o décimo quinto dia, após 14 dias de terapia. A avaliação histológica qualitativa com HE não mostrou nenhum benefício com o uso do *laser* nessas condições nem com a observação macroscópica das feridas, em que todos os ferimentos apresentavam o mesmo nível de cicatrização aos 14 dias. Os resultados não mostraram nenhuma diferença relacionada ao tempo de sangramento e ao período de cicatrização, nem quanto à formação e à perda da crosta.

Os efeitos da LLLT em tecidos moles foram analisados por Rochkind *et al.* (1989). Os autores estudaram o processo de reparo cutâneo frente a ferimentos mecânicos e térmicos, além da resposta de tecidos nervosos lesados. Os ferimentos eram bilaterais, mas os animais recebiam irradiação com *laser* de HeNe apenas em um dos lados, pois o ferimento vizinho não era tratado (grupo A). Os autores ainda avaliaram outro animal, que não era irradiado, servindo como outro controle (grupo B). Para avaliar os efeitos em feridas cutâneas, os pesquisadores irradiaram os animais diariamente por 21 dias, durante sete minutos, com 16mW e  $7,6\text{J}/\text{cm}^2$ . No grupo B as feridas cicatrizaram espontaneamente aos 21 dias, com moderado infiltrado inflamatório e tecido de granulação. Já no grupo A, a ferida à direita, irradiada, mostrou o reparo por contração e epiteliação completa aos 21 dias. A ferida à esquerda, contralateral do animal, ainda assim mostrava um nível de reparo superior ao do grupo B.

Os efeitos da LLLT na cicatrização e na contração das feridas também foram observados por In de Braekt *et al.* (1991) após cirurgia de palatoplastia em cães da raça Beagle. A radiação foi realizada com o *laser* AsGaAl ( $\lambda = 830\text{nm}$ ; 30mW;  $01\text{J}/\text{cm}^2$ , 33s). Os animais foram submetidos a três sessões semanais, sendo a primeira radiação estabelecida no pós-operatório imediato, perfazendo um total de 10 sessões. Em cada sessão foram instituídos quatro pontos de aplicação adjacentes à área óssea exposta. O processo de cicatrização tecidual foi observado clinicamente até a completa cicatrização das feridas, o que perdurou por quatro semanas. Não foram observadas diferenças significativas na qualidade e na taxa de

formação da cicatrização da ferida. Os autores concluíram que, macroscopicamente, a terapia não exerceu influência no processo de fechamento ou contração das feridas.

HALL *et al.* (1994) investigaram em ratos o processo de cicatrização em feridas após LLLT. Feridas padronizadas por bisturi tipo *punch* foram realizadas na porção caudal desses espécimes, bilateralmente. Os animais foram divididos em dois grupos, com 19 exemplares em cada um. O grupo A foi irradiado com *laser* em um lado, enquanto o lado oposto foi deixado como controle para possíveis efeitos sistêmicos. O grupo B recebeu uma irradiação placebo (luz normal) unilateral; o lado contralateral foi deixado sem tratamento. A frequência utilizada foi de 500Hz e a potência, de 1mW. O *laser* foi utilizado perpendicularmente a uma distância de 2mm, com uma dose diária de  $0,2\text{J}/\text{cm}^2$ . O período de observação total foi de 21 dias. Dois animais de cada grupo foram mortos a cada 48 horas a partir do terceiro dia do experimento, sendo os últimos mortos no vigésimo primeiro dia. Os resultados, clínicos e histológicos, não mostraram diferenças durante todo o período de observação quando os grupos foram comparados entre si. Os autores concluíram que a radiação com *laser*, nos parâmetros citados, não influenciou no processo de cicatrização das feridas.

Em contrapartida, Bisht *et al.* (1994) avaliaram o efeito do *laser* de HeNe ( $\lambda = 632\text{nm}$ ) em feridas de 8 mm de diâmetro no dorso de ratos. Os ferimentos eram bilaterais, sendo um deles empregado como controle, enquanto o outro era irradiado diariamente, a  $4\text{J}/\text{cm}^2$  durante cinco minutos por 17 dias. As mortes com três, cinco, sete, nove, 12, 15 e 17 dias de pós-operatório, quando, então, eram corados com HE. Macroscopicamente as feridas tratadas com o *laser* foram fechadas em menor tempo do que as produzidas nos animais do grupo controle. Sob análise microscópica, a epitelização precoce com incremento da reação fibroblástica, a infiltração leucocitária e a neovascularização foram observadas no grupo irradiado, porém houve maior quantidade de tecido de granulação só até o nono dia. Entretanto após o décimo segundo, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos. Os pesquisadores concluíram que o *laser* em baixas doses possui capacidade de proporcionar cicatrização mais rápida de feridas abertas.

Observações clínicas têm sugerido que a LLLT tem efeitos benéficos no processo de cicatrização tecidual. Embora essa terapia esteja sendo utilizada sem o estabelecimento de protocolos clínicos específicos, vários autores têm reportado os efeitos biomoduladores nos processos de cicatrização em modelos animais e em meios de cultura tecidual. A LLLT é caracterizada por promover a estimulação no crescimento celular, na revascularização e na redução dos sinais inflamatórios em processos de cicatrização de feridas. O mecanismo pelo

qual o *laser* promove a aceleração nos processos cicatriciais é estabelecido por meio de um estímulo no metabolismo intracelular e na produção de colágeno pelos fibroblastos, os quais produzem uma maior organização e entrelaçamento das fibras colágenas (KERT; ROSE, 1989).

Schlager *et al.* (2000) estudaram a fotoestimulação no reparo de queimaduras produzidas em ratos. O *laser* empregado era um diodo, de luz vermelha, com  $\lambda = 670\text{nm}$  de comprimento de onda. A dose proposta foi de  $2\text{J}/\text{cm}^2$ , com 125mW de potência, realizada diariamente. Os autores provocaram duas queimaduras em cada um dos 30 animais, com 14 mm de diâmetro. Uma das feridas de cada animal foi usada como controle, enquanto a outra recebeu LLLT. Três grupos de 10 espécimes foram empregados, nos quais as mortes aconteceram com 10, 20 e 30 dias para análise histológica com HE e avaliação macroscópica. Os resultados macroscópicos não apontaram nenhum incremento na velocidade de epitelização, bem como não ocorreu a diminuição do edema tecidual em nenhum dos grupos. A avaliação histológica demonstrou, nos três grupos mencionados, que a epitelização, a quantidade de células, tecido de granulação e vascularização não se diferenciaram entre os grupos dos animais tratados e não-tratados. Concluíram, assim, que o *laser*, nas condições empregadas, não desempenhou um papel relevante na melhoria da cicatrização de ferimentos.

Almeida Lopes *et al.* (2001) estudaram os efeitos da terapia a *laser*, vermelho ( $\lambda = 670\text{nm}$  ou  $\lambda = 692\text{nm}$ ) e infravermelho ( $\lambda = 780\text{nm}$  ou  $\lambda = 786\text{nm}$ ), com densidade de energia de  $2\text{J}/\text{cm}^2$ , na proliferação de cultura de fibroblastos humanos. Os resultados demonstraram que, nas culturas de fibroblastos em condições de déficit nutricional, quando irradiadas com a mesma dose, o *laser* infravermelho induziu a uma maior proliferação celular ao ser comparado com o *laser* vermelho, quando as potências eram diferentes. Entretanto, *lasers* de mesma potência apresentaram efeitos semelhantes no crescimento celular, independentemente do comprimento de onda. Para os autores, a LLLT melhora a proliferação de fibroblastos, além de que um menor tempo de exposição resulta em uma maior proliferação.

A LLLT está indicada para regiões traumatizadas, pois aumenta a atividade fibroblástica, auxiliando a recomposição tecidual (MELLO, MELLO e MELLO, 2001). A aceleração no processo de reparo tecidual e a quantidade de luz transmitida a tecidos de ratos foram avaliados por Al-Watban e Zhang também em 2001. Os pesquisadores empregaram no estudo os *lasers* de HeCd ( $\lambda = 442\text{nm}$ ), argônio ( $\lambda = 512\text{nm}$ ), HeNe ( $\lambda = 632\text{nm}$ ), krypton ( $\lambda = 70\text{nm}$ ) e GaAlAs ( $\lambda = 839\text{nm}$ ), com 10, 20 e  $30\text{J}/\text{cm}^2$ , e três irradiações por semana, com diferentes quantidades de potência e tamanho das ponteiros do aparelho. Concluíram que o

*laser* de HeNe, na dose de  $20\text{J}/\text{cm}^2$ , foi o mais efetivo na aceleração do processo cicatricial. Em relação à transmissão de luz junto aos tecidos estudados, encontraram que a menor transmissão deu-se com o HeCd ( $\lambda = 442\text{nm}$ ), enquanto a mais alta com o GaAlAs, sugerindo, para os autores, que a aceleração da cicatrização não seria atribuída à quantidade de transmissão da luz para o interior dos tecidos, mas, sim, à especificidade de um comprimento de onda para cada tecido.

Nascimento (2001) avaliou, por meio de análise histológica, os efeitos teciduais de feridas cutâneas submetidas a diferentes intensidades e uma mesma dose de irradiação, com *laser* (InGaAlP) de comprimento de onda de  $\lambda = 670\text{nm}$  e  $\lambda = 685\text{nm}$ . Em seu trabalho, o autor empregou 18 animais, divididos em dois grupos experimentais, um para cada comprimento de onda, sendo que 12 ratos foram utilizados como controle. Cada um dos grupos, foi ainda subdividido em três grupos de três animais, variando a potência com 2, 15 e 25mW. Os animais receberam irradiação diária durante sete dias e foram mortos no oitavo dia. Na avaliação microscópica com HE, observou que os seis subgrupos tiveram processo de reparo superior, quando comparados aos controles, indicando um processo de modulação positivo do processo inflamatório. Entretanto, os melhores resultados foram alcançados quando empregou menor comprimento de onda.

Fonnof (2002) utilizou 48 ratos para avaliar os efeitos do processo de reparo em frenulectomias labiais inferiores, as quais foram realizadas com *laser* de  $\text{CO}_2$ , com potência de 40mW e luz contínua. A seguir, dividiu os animais em dois grupos, tendo o grupo experimental recebido radiação no ato cirúrgico com GaAlAs por três minutos. Os ratos foram mortos no ato e em um, três, seis, sete e 10 dias. Na reparação tecidual, conforme observações efetuadas ao longo dos sucessivos períodos de tempo, ocorreu proliferação de fibroblastos e de tecido conjuntivo. O autor concluiu que as amostras que receberam *laser* mostravam-se ligeiramente mais avançadas em seus processos reparativos.

Campanha (2002) avaliou, por intermédio de análises morfológica e cito-histoquímica, o processo de reparo em feridas, submetidas ou não a tratamento com LLLT de  $\lambda = 685\text{nm}$  ou luz polarizada de  $\lambda = 400\text{-}2000\text{nm}$ . Foram selecionados 30 ratos machos, com feridas padronizadas provocadas. Os animais foram divididos em cinco grupos. O grupo 1 não recebeu qualquer terapia, servindo de controle. Os grupos 2 e 3 foram tratados com luz *laser* de  $\lambda = 685\text{nm}$ , na dose de  $40\text{J}/\text{cm}^2$  e  $20\text{J}/\text{cm}^2$ , respectivamente. O grupo 4 foi submetido à luz polarizada de  $20\text{J}/\text{cm}^2$  e o grupo 5 com  $40\text{J}/\text{cm}^2$ . Os animais foram irradiados a cada 48 horas e mortos no oitavo dia. Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios nos grupos

tratados quando comparados ao controle. A quantidade de fibroblastos foi superior em todos os grupos experimentais, sendo, porém, a população de miofibroblastos menos expressiva nos grupos 2 e 3, quando comparados ao controle. A luz polarizada apresentou uma maior quantidade de miofibroblastos em relação ao controle.

Kreisler *et al.* (2002) também avaliaram o efeito do *laser* diodo ( $\lambda = 809\text{nm}$ , 10mW) na taxa da proliferação de fibroblastos gengivais humanos *in vitro*. Para tanto, 110 culturas de fibroblastos foram irradiadas com doses entre  $1,96\text{J}/\text{cm}^2$  e  $7,84\text{J}/\text{cm}^2$  e tempo de exposição entre 75 e 300s. Outras 110 culturas de fibroblastos serviram como controle e não receberam radiação. O tratamento com *laser* foi realizado alternadamente em uma, duas e três vezes, com 24 horas de intervalo. A taxa de proliferação foi determinada pela atividade de fluorescência por um indicador adicionado à cultura celular. A proliferação foi determinada 24, 48 e 72 horas após a radiação. Os resultados mostraram que as células radiadas revelaram uma atividade proliferativa consideravelmente maior. As diferenças foram bastante significativas, 24 horas após a radiação, mas diminuíram de uma maneira energia-dependente 48 e 72 horas depois da radiação. Os autores concluíram a evidência da LLLT no processo de proliferação fibroblástica, porém o tempo de duração pareceu limitado. Os pesquisadores ressaltaram que os resultados obtidos podem ser clinicamente relevantes, indicando que tratamentos repetitivos são necessários para alcançar um efeito positivo do *laser* nas aplicações clínicas.

A LLLT influencia mudanças de caráter metabólico, energético e funcional nos corpos submetidos à radiação, favorece o aumento da resistência e da vitalidade celular, biomodula a resposta inflamatória e permite a evolução para a cura em um tempo menor, ou seja, proporciona um maior estímulo à normalidade funcional celular, com maior rapidez, assegura BRUGNERA JR. *et al.* (2003).

Prova disto, foi o trabalho Mendez *et al.* (2004), que realizaram um estudo histológico comparando os efeitos do *laser* de GaAlAs ( $\lambda = 830\text{nm}$ ) e do InGaAlP ( $\lambda = 685\text{nm}$ ) em seis grupos de ratos, com feridas no dorso, utilizando diferentes dosimetrias. Os animais foram irradiados nos dias um, três, cinco e sete, sendo mortos em três, cinco e sete dias. Os autores encontraram como melhor resultado a associação dos dois tipos de *lasers*, com dosimetria de  $20\text{J}/\text{cm}^2$  por sessão, divididos em 4 pontos da ferida, comprovado o efeito positivo biomodulador da LLLT em feridas cutâneas.

Weber *et al.* (2006) avaliaram histologicamente a influência do *laser* diodo infravermelho (GaAlAs,  $\lambda = 830\text{nm}$ , 50mW) no processo de cicatrização óssea de feridas

cirúrgicas em fêmur de ratos *Wistar*, submetidos a enxerto ósseo autógeno. Os grupos experimentais tratados com *laser* receberam radiações a cada 48 horas, sendo a primeira realizada durante o ato cirúrgico. A dosimetria utilizada foi de  $10\text{J}/\text{cm}^2$  por sessão, dividida em quatro pontos de  $2,5\text{J}/\text{cm}^2$ . Os autores concluíram que a terapia a *laser* resultou em um efeito biomodulador positivo sobre o processo de cicatrização óssea em cavidades de fêmur de ratos *Wistar* submetidos a enxertos ósseos autógenos, sendo maior o efeito quando o *laser* é aplicado diretamente na loja cirúrgica, durante o transoperatório, antes da adaptação do enxerto ósseo.

No entanto, apesar do grande número de trabalhos publicados, a literatura ainda discute os efeitos biomoduladores, que quase sempre divergem entre si, principalmente quanto ao protocolo de irradiação. Além disso, há muitas questões a serem explicadas, tais como, o exato mecanismo de ação e a dose mais adequada a ser aplicada para a melhoria de determinada enfermidade ou estado biológico. Quando se observam os diferentes parâmetros de tratamentos usados, como comprimento de onda, modo de emissão pulsátil ou contínuo, densidade de energia, densidade de potência, tempo de exposição, frequência e duração total do tratamento, fica-se surpreso com a discrepância dos resultados que variam de uma pesquisa para outra. As características do próprio aparelho *laser* e das condições do experimento tornam difícil qualquer comparação. Um bom entendimento dos parâmetros de tratamento e o uso de protocolos padronizados são necessários para a reprodução dos resultados do estudo (REDDY, 2004).

Pode-se afirmar, contudo, que a maioria dos trabalhos publicados relata claras evidências de que a LLLT altera processos celulares em animais e em bactérias de uma maneira não-térmica e dependente do comprimento de onda. O mecanismo desta interação não está estabelecido. Entretanto, os componentes da corrente respiratória mitocondrial exibem um espectro de ação frequência-dependente, e muitos pesquisadores acreditam que a corrente respiratória possa ser a base de qualquer efeito que a irradiação com *laser* venha a ter (BASFORD, 1995).



*Proposição*

---

### 3. PROPOSIÇÃO

Esta pesquisa objetivou analisar a biomodulação decorrente da *Low Level Laser Therapy* (LLLT), com *lasers* vermelho (685nm) e infravermelho (830nm), nos tecidos circunjacentes ao fêmur de ratos, após a implantação de placas bioabsorvíveis compostas de co-polímeros do ácidos poli-L-láctico e poliglicólico (PLLA/PGA), avaliando o reparo tecidual, analisando as reações biológicas dos tecidos irradiados e comparando a intensidade do processo inflamatório entre o grupo controle e os grupos experimentais.



*Metodologia*

---

## 4. METODOLOGIA

O projeto para a execução desta pesquisa foi avaliado pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (CEP-PUCRS), Anexos A e B. O autor objetivou garantir a proteção adequada aos animais utilizados no estudo, preservando seus direitos e assegurando à comunidade científica que esta investigação fosse realizada dentro dos parâmetros preestabelecidos e aprovados para pesquisas com animais. Para tal, seguiram-se os princípios éticos em observância à Lei 6.688, de 8 de maio de 1979, que trata das normas para a Prática Didático Científica da Vivisseção de Animais (Anexo C); respeitando-se, também, os Princípios Éticos na Pesquisa Experimental, determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (ANEXO D).

### 4.1. *Delineamento da Pesquisa*

Esta pesquisa foi desenvolvida dentro do paradigma tradicional, quantitativo, em uma abordagem experimental, com grupo controle e pós-teste (CAMPBELL; STANLEY, 1979).

### 4.2. *Problema*

A LLLT, com *lasers* vermelho (685nm) e infravermelho (830nm), 10J/cm<sup>2</sup> divididos em dois pontos de 5J/cm<sup>2</sup> por sessão, promove a diminuição na intensidade do infiltrado inflamatório nos tecidos circunjacentes aos implantes bioabsorvíveis de PLLA/PGA em fêmur de ratos?

A biomodulação, a partir de irradiação com lasers vermelho (685nm) e infravermelho (830nm), 10J/cm<sup>2</sup> divididos em dois pontos de 5J/cm<sup>2</sup> por sessão, pode acelerar o reparo tecidual periimplantes bioabsorvíveis de PLLA/PGA em fêmur de ratos?

### 4.3. *Hipóteses*

- A LLLT tem efeito positivo na biomodulação do processo inflamatório provocado pela reação ao material PLLA/PGA das placas bioabsorvíveis utilizadas neste experimento.

- O efeito biomodulador é mais efetivo no período inicial do reparo tecidual periimplantes bioabsorvíveis de PLLA/PGA em fêmur de ratos, quando a irradiação for realizada com *laser* vermelho (685nm).

- O efeito biomodulador é mais efetivo na fase final do reparo tecidual periimplantes bioabsorvíveis de PLLA/PGA em fêmur de ratos quando a irradiação for efetivado com *laser* infravermelho (830nm).

#### **4.4. Configuração da Amostra**

A amostra desta pesquisa foi constituída de 60 ratos, *Rattus norvegicus*, classe *Mammalia*, ordem *Roedentia*, da linhagem *Wistar*, variação *albinus*, machos, com peso variando de 200 a 400 gramas. O número da amostra foi calculado de acordo com Vieira (2003) e também se baseou em outros trabalhos realizados dentro da mesma linha de pesquisa e desenvolvidos na PUCRS (PANARELLO, 2003; BLAYA, 2005; WEBER *et al.*, 2006). Os animais foram obtidos junto à Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) – seção de Coordenação de Produção e Experimentação Animal (ANEXO E) e passaram por período de sete dias de ambientação no Biotério de Manutenção da instituição. Durante o período experimental, os animais foram alimentados com dieta sólida e água *ad libitum*.

#### **4.5. Organização dos Grupos**

Os 60 animais selecionados foram distribuídos aleatoriamente em três grupos distintos: um controle (C) e dois experimentais (“Ea” e “Eb”). O grupo controle foi constituído de 12 animais e cada grupo experimental, de 24 animais.

Em todos os grupos, os períodos de observação foram de três, sete, 15 e 21 dias. Assim, cada grupo foi subdividido em quatro subgrupos (1, 2, 3 e 4), de acordo com o período de observação, respectivamente (Quadro 1). Dessa forma, três animais do grupo controle e seis animais de cada grupo experimental foram mortos em cada período de observação.

Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas, de cobertura metálica e com assoalho forrado com serragem de pinho. As gaiolas foram etiquetadas, durante o estudo, conforme o grupo ao qual pertenciam os animais. Para a identificação dos espécimes, utilizou-se marcação com caneta de tinta permanente na cauda de cada animal.

Os procedimentos de manipulação e alimentação eram realizados diariamente, durante o período do experimento, seguindo a dieta padrão do Biotério, trocando-se a serragem e lavando-se as gaiolas com água corrente e sabão, a cada 24 horas.

Quadro 1 - Organização dos animais nos grupos

GRUPO	PROCEDIMENTOS	SUBGRUPOS	PERÍODO DE OBSERVAÇÃO
Controle (C)	Implantação do <i>LactoSorb</i> <sup>®</sup> sem irradiação	C - 1	03 dias
		C - 2	07 dias
		C - 3	15 dias
		C - 4	21 dias
Terapia com <i>laser</i> vermelho (Ea)	Implantação do <i>LactoSorb</i> <sup>®</sup> e irradiação com <i>laser</i> vermelho	Ea - 1	03 dias
		Ea - 2	07 dias
		Ea - 3	15 dias
		Ea - 4	21 dias
Terapia com <i>laser</i> infravermelho (Eb)	Implantação do <i>LactoSorb</i> <sup>®</sup> e irradiação com <i>laser</i> infravermelho	Eb - 1	03 dias
		Eb - 2	07 dias
		Eb - 3	15 dias
		Eb - 4	21 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS; 2007).

#### 4.6. Material Cirúrgico

- Os materiais de consumo empregados foram:
  - anestésico Francotar<sup>®2</sup> e Anasedan<sup>®3</sup>;
  - broca esférica no. 1<sup>4</sup>;
  - broca cilíndrica cirúrgica no. 699<sup>4</sup>;
  - disco flexível diamantado dupla face<sup>5</sup>;
  - formol a 10%<sup>6</sup>;
  - gaze estéril<sup>7</sup>;
  - solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%<sup>8</sup>;
  - campo estéril de TNT adaptado<sup>9</sup>;
  - caneta de tinta permanente Pilot<sup>®10</sup>;
  - seringas estéreis descartáveis para insulina Injex<sup>®11</sup>;
  - seringas estéreis descartáveis de 20ml Injex<sup>®11</sup>;
  - lâmina de bisturi no. 15 Free-Bac<sup>®12</sup>;

<sup>2</sup> Francotar<sup>®</sup> - Sol. Anest. injetável à base de cloridrato de quetamina. Virbac do Brasil do Lab. Eurofarma Ltda.

<sup>3</sup> Anasedan<sup>®</sup> - Princípio ativo cloridrato de xilazina, Sespo Ind. e Com. Ltda. Divisão Vetbrands Saúde Animal.

<sup>4</sup> Pontas diamantadas KG Sorensen Ind. Com. Ltda.

<sup>5</sup> Disco diamantado dupla face Microdont, São Paulo.

<sup>6</sup> Solução de formol a 10%, manipulação – Farmácia Kautz – Pelotas-RS.

<sup>7</sup> Compressa de gaze estéril. Neve Indústria e Com. de Produtos Cirúrgicos Ltda., São Paulo – SP.

<sup>8</sup> Solução isotônica de cloreto de sódio a 0,9%, estéril, apirogênica. Indústria Farmacêutica BASA Ltda.

<sup>9</sup> Manta 100% polipropileno. Comercial Hospitalar Salles Ltda., Porto Alegre – RS.

<sup>10</sup> Caneta marcador para retroprojektor Pilot, tinta permanente ponta fina 1.0 mm.

<sup>11</sup> Seringa descartável estéril, atóxica e apirogênica. Injex Indústria Cirúrgica Ltda., Ourinhos – SP.

- lâminas para microscopia<sup>13</sup>;
- lamínulas para microscopia<sup>14</sup>;
- luva cirúrgica Madeitex<sup>®15</sup>;
- fio de sutura Mononylon<sup>®16</sup> no. 4-0;
- máscara cirúrgica Descarpack<sup>®17</sup>;
- placas bioabsorvíveis de 1.5mm (LactoSorb<sup>®18</sup>);
- PVPI tópico<sup>19</sup>.

▪ Foram utilizados os seguintes equipamentos cirúrgicos:

- cabo de bisturi Bard Parker no. 3;
- afastadores Senn-Miller
- descolador tipo Molt<sup>20</sup>;
- micromotor e peça reta Dabi Atlante<sup>®21</sup>;
- porta-agulha Mayo-Hegar;
- pinças de Adson-Brown;
- tesouras de ponta reta;
- tesoura de ponta romba;
- tesoura para cortar fio de aço;
- Aparelho de *laser* THERA LASER<sup>®22</sup> (ANEXO F).

#### 4.7. Procedimento Cirúrgico

O procedimento cirúrgico foi realizado no Laboratório de Experimentação Animal da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), sendo este local separado do

<sup>12</sup> Free-Bac lâmina de bisturi nº 15. Fabricado por Wuxi Xinda Medical Device Co Ltda. – China. Importado por Embramac Empr. Bras. Mat. Cir. Ind. Com. Imp. Exp. Ltda – Itapira, SP.

<sup>13</sup> Lâminas Bioslide. Cx. com 50 peças 25.4 x 76.2 mm.

<sup>14</sup> Lamínulas Perfecta. Cx. com 100 peças 24 x 32 mm.

<sup>15</sup> Luvas cirúrgicas de látex estéril, anatômica tamanho 7,5. Madeitex Ind. e Com. de Artefatos de Látex Ltda., São José dos Campos – SP.

<sup>16</sup> Fio monofilamento 4.0 de náilon Ethicon CO, fabricado pela Johnson & Johnson Produtos Profissionais Ltda.

<sup>17</sup> Máscara cirúrgica Descarpack Descartáveis do Brasil Ltda, São Paulo – SP.

<sup>18</sup> LactoSorb®/ Walter Lorenz Surgical.

<sup>19</sup> PVPI (Iodopovidona) 1% tópico, Geyer Medicamentos S.A., Porto Alegre – RS.

<sup>20</sup> Descolador delicado tipo Molt da marca Muzimed, Canoas –RS.

<sup>21</sup> Micromotor N270 e peça reta Dabi Atlante S/A Indústrias Médico Odontológicas – São Paulo.

<sup>22</sup> Thera Lase<sup>®</sup>. DMC Equipamentos. São Carlos – SP.

ambiente de criação. Assim sendo, os animais não ficaram expostos ou sob tensão de ruídos, odores e até mesmo à visão dos procedimentos realizados.

Todas as etapas dos procedimentos anestésicos foram supervisionadas por uma médica-veterinária<sup>23</sup>, que acompanhou o pré, o trans e o pós-operatório dos animais.

Previamente ao ato cirúrgico, os animais eram submetidos à anestesia geral, através da injeção intramuscular do anestésico (Quetamina – dose de 0,05ml/100g; Xilazina - dose de 0,025ml/100g).

Após a anestesia, os animais foram submetidos à tricotomia da região coxofemural direita por arrancamento dos pêlos, e, em seguida, a antissepsia da região foi realizada com PVPI. A área operatória foi isolada com campo cirúrgico fenestrado de tecido não-tecido (TNT) esterilizado, adaptado para o procedimento.

A intervenção cirúrgica descrita foi sempre realizada pela mesma equipe de pesquisadores calibrados antecipadamente, com o objetivo de proporcionar fidelidade do dano tecidual produzido. A calibração foi realizada previamente em um estudo-piloto com cinco fêmeas.

Com um bisturi montado com lâmina de aço inox no. 15, uma incisão contínua (longitudinal, de aproximadamente 02 cm de extensão) foi realizada na pele da região lateral do fêmur direito. Os tecidos subcutâneo e muscular foram divulsionados com o auxílio de uma tesoura romba, permitindo, assim, acesso ao periósteo, o qual era incisado e, após, descolado com um descolador tipo Molt, permitindo acesso direto à face exposta da diáfise do fêmur (Figura 1).

---

<sup>23</sup> Dra. Luiza Gomes de Macedo Braga, CRMV 2.393. Médica-Veterinária da Coordenação de Produção e Experimentação Animal da FEEPS.

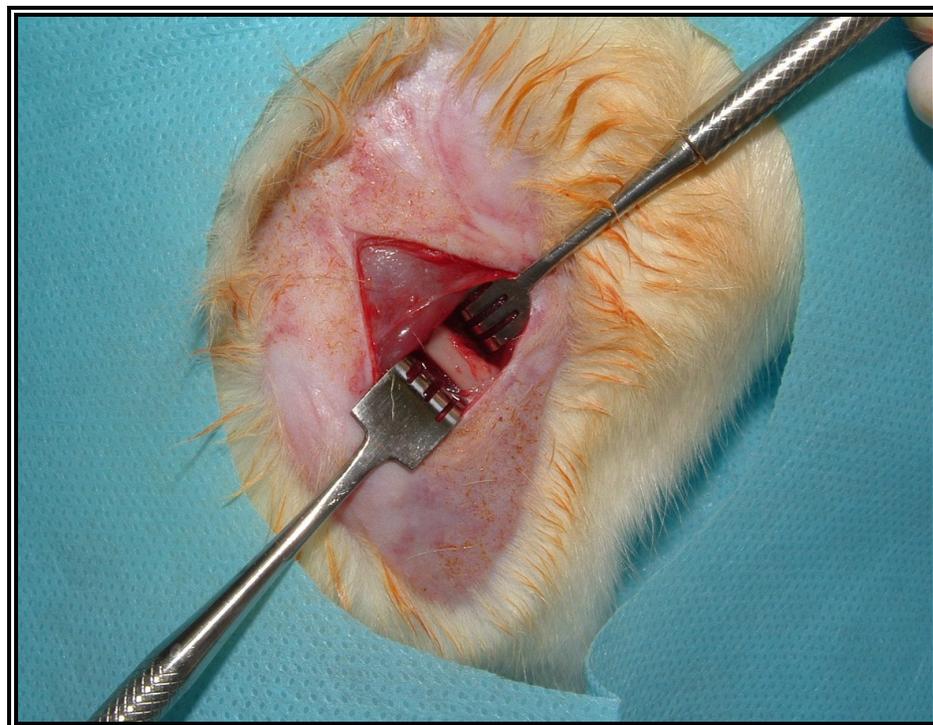


Figura 1- Exposição da diáfise do fêmur.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

Para padronizar o experimento, em todos os 60 ratos, depois de realizada a exposição do tecido ósseo, duas perfurações circulares foram provocadas no terço superior da face lateral do fêmur, com uma broca cirúrgica 699, acoplada a um micromotor em baixa rotação, sob refrigeração constante com solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9%. Tal perfuração óssea tinha o diâmetro da broca usada (1mm) e apresentava, como parâmetro de profundidade, o rompimento da cortical interna do fêmur, criando, assim, uma condição de igualdade entre os três grupos. Não foi necessário construir-se um defeito ósseo crítico, conforme preconizado por Schmitz e Hollinger (1986), pois, nesta pesquisa, testava-se a modulação do processo inflamatório nos tecidos moles circunjacentes ao tecido ósseo (Figura 2).

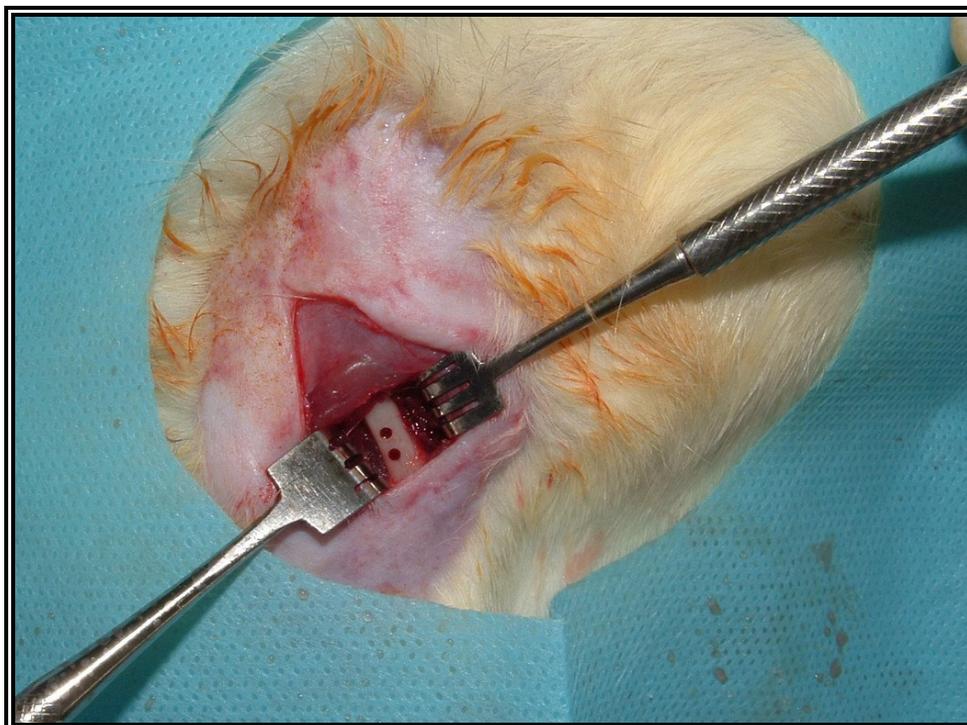


Figura 2 - Perfurações ósseas.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

Em seguida, uma placa bioabsorvível (LactoSorb<sup>®</sup>) do sistema 1,5mm, foi cortada em pequeno tamanho com tesoura de fio de aço e duas perfurações eram feitas, em sua superfície, com broca esférica no. 1, acoplada a um micromotor em baixa rotação e irrigação constante (solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%). Esse pequeno segmento da placa foi adaptado sobre as perfurações ósseas e firmemente estabilizado com fio Mononylon<sup>®</sup> 4-0, devido ao risco de fratura do fêmur se usados os parafusos do LactoSorb<sup>®</sup> (Figura 3).

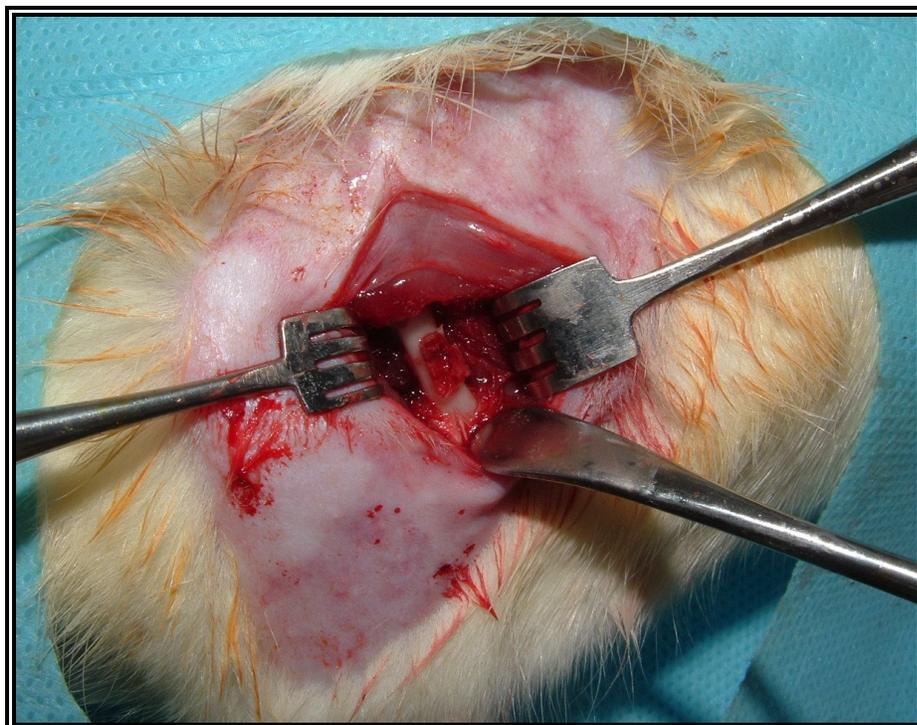


Figura 3 - Adaptação do LactoSorb®.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

O periósteo e o tecido muscular foram reposicionados e suturados com fio Mononylon® 4-0. Então, a pele do animal também foi suturada com fio Mononylon® 4-0, montado em agulha atraumática semicircular de 1,5cm de comprimento e seção triangular. A pele do animal foi marcada com caneta de tinta permanente sobre o centro da incisão, o qual corresponde ao local onde foi instalado o pequeno segmento da placa de LactoSorb®.

A primeira irradiação do *laser* foi realizada imediatamente após a sutura da pele, nos grupos experimentais Ea e Eb, conforme protocolo para cada grupo (Figura 4).

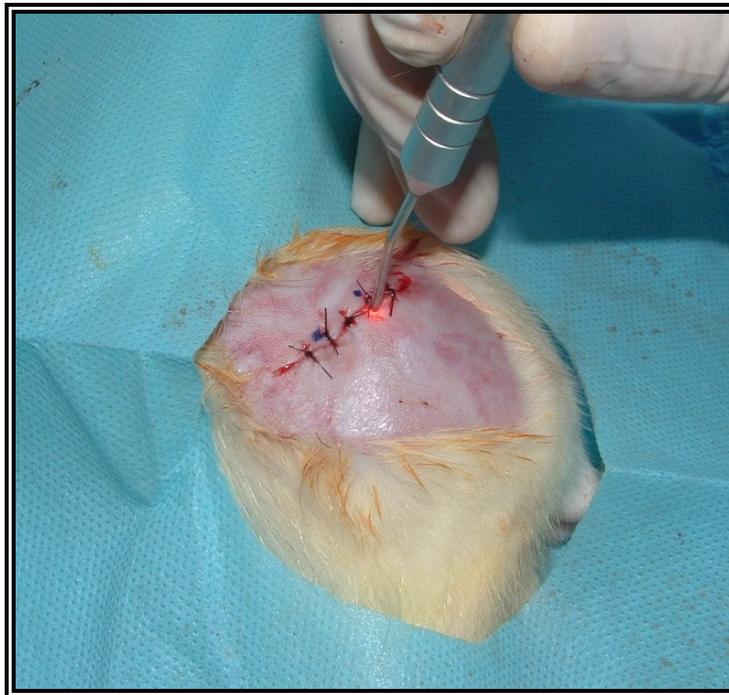


Figura 4 - Irradiação pós-operatória imediata.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO –PUCRS, 2007)

Nova antissepsia foi realizada, no local da cirurgia, e os animais foram, então, recolocados nas gaiolas, mantidos em condições adequadas de temperatura (25°C), umidade e ventilação, identificados e numerados de acordo com o grupo correspondente, data da cirurgia e data das irradiações.

A medicação pós-operatória compreendia drogas analgésica e antibiótica. Foram acrescentadas cinco gotas de Novalgina<sup>®24</sup> à água de cada gaiola (500ml), a fim de fazer analgesia, enquanto para antibioticoterapia, por um período de 14 dias, foi administrado Flotril<sup>®25</sup>. A posologia do antibiótico foi de um comprimido de 50mg diluído em 500ml de água. A limpeza das gaiolas era realizada diariamente, a fim de diminuir os riscos de contaminação e infecção.

#### **4.8. Irradiação com Laser**

O aparelho utilizado para irradiação foi o Thera Laser<sup>®</sup>, com meio ativo InGaAlP (fosfeto de índio gálio e alumínio) com comprimento de onda de 685nm (grupo experimental

<sup>24</sup> Dipirona sódica 500mg gotas. Laboratório Aventis Pharma Ltda, Suzano – SP.

<sup>25</sup> Enrofloxacin. Flotril 50 mg. Laboratório Schering-Plough Saúde Animal, Cotia –SP.

Ea) e GaAlAs (arseneto de gálio e alumínio) com comprimento de onda de 830nm (grupo experimental Eb), devidamente calibrado (ANEXO G).

A irradiação foi aplicada logo após o término da sutura e a cada 48 horas, totalizando oito aplicações (excetuando-se os animais do grupo controle) (Figura 5).

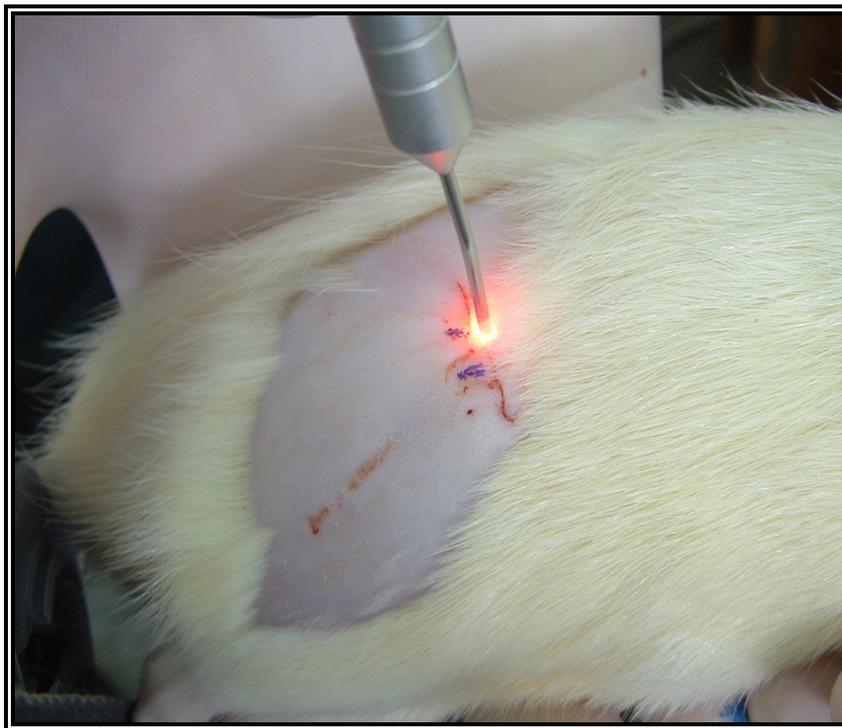


Figura 5 - *Laser* pós-operatório.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

A LLLT seguiu o seguinte protocolo para cada grupo e as doses totais estão descritas no Quadro 2:

- Grupo Ea - *laser* vermelho (685nm): 10J/cm<sup>2</sup> divididos em dois pontos de 5J/cm<sup>2</sup> (eqüidistantes 1cm, um proximal e outro distal), potência de 35mW, modo contínuo, com um tempo de 2,23 minutos.
- Grupo Eb - *laser* infravermelho (830nm): 10J/cm<sup>2</sup> divididos em dois pontos de 5J/cm<sup>2</sup> (eqüidistantes 1cm, um proximal e outro distal), potência de 50mW, modo contínuo, com um tempo de 1,41 minutos.
- Grupo Controle: a ponteira *laser* foi posicionada da mesma forma do que nos grupos anteriores e mantida por dois minutos, com o aparelho desligado (zero J/cm<sup>2</sup>).

De acordo com as regulamentações brasileiras, o *laser* foi aplicado em local isolado, com caracteres e simbologia internacionais para área em uso ou presença de radiação e observando-se os procedimentos de segurança recomendados para tratamento.

Quadro 2 – Protocolo de irradiação da LLLT (doses totais por grupos e subgrupos)

GRUPO	SUBGRUPOS	PERÍODO DE OBSERVAÇÃO	DENSIDADE DE ENERGIA TOTAL
Controle (C)	C – 1	03 dias	0 J/cm <sup>2</sup>
	C – 2	07 dias	0 J/cm <sup>2</sup>
	C – 3	15 dias	0 J/cm <sup>2</sup>
	C – 4	21 dias	0 J/cm <sup>2</sup>
Terapia com <i>laser</i> vermelho (Ea)	Ea – 1	03 dias	20 J/cm <sup>2</sup>
	Ea – 2	07 dias	40 J/cm <sup>2</sup>
	Ea – 3	15 dias	80 J/cm <sup>2</sup>
	Ea – 4	21 dias	80 J/cm <sup>2</sup>
Terapia com <i>laser</i> infravermelho (Eb)	Eb – 1	03 dias	20 J/cm <sup>2</sup>
	Eb – 2	07 dias	40 J/cm <sup>2</sup>
	Eb – 3	15 dias	80 J/cm <sup>2</sup>
	Eb – 4	21 dias	80 J/cm <sup>2</sup>

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

#### 4.8.1. Cálculo da densidade de energia utilizada:

Para o cálculo da dosimetria, aplicou-se a fórmula-padrão:

$$DE = \frac{P (W) \times t (s)}{A (cm^2)}$$

onde (DE) é a densidade de energia a ser calculada ou dosimetria, (P) é a potência, (t) é o tempo de aplicação e (A) representa a área utilizada.

Citada anteriormente, a densidade de energia do estudo seguiu uma média das recomendações para efeito antiinflamatório e antiflogístico do fabricante do aparelho que varia 70 a 130J/cm<sup>2</sup>. No entanto, uma vez que a área da fibra óptica corresponde a aproximadamente 20 vezes menos que a área de 1cm<sup>2</sup> (ALMEIDA-LOPES; MASSINI, 2002), tem-se que:

$$\frac{\text{ENERGIA NOMINAL}}{\text{ÁREA NOMINAL}} = \frac{\text{ENERGIA REAL (ER)}}{\text{ÁREA REAL (AR)}}$$

A densidade de energia, efetivamente aplicada por animal, em cada sessão, foi de

$$\frac{100 \text{ J}}{1 \text{ cm}^2} = \frac{\text{ER}}{1:20} \quad \text{ER} = 5 \text{ J/cm}^2$$

Assim, foram depositados dois pontos de  $5\text{J/cm}^2$ , equidistantes 1 cm, a partir do centro da incisão realizada, marcada com tinta, resultando em um total diário de energia aplicada de  $10\text{J/cm}^2$ . As aplicações foram realizadas a cada 48 horas, totalizando oito aplicações, excetuando-se os animais do grupo controle. A energia total aplicada, ao final do experimento, correspondeu a  $20\text{J/cm}^2$ ,  $40\text{J/cm}^2$ ,  $80\text{J/cm}^2$  e  $80\text{J/cm}^2$ , nos respectivos grupos de observância de três, sete, 15 e 21 dias.

#### **4.9. Preparo das Amostras**

Para a obtenção das amostras, três animais do grupo controle e seis de cada grupo experimental foram mortos aos três, sete, 15 e 21 dias de pós-operatório, por meio da exposição dos mesmos a um ambiente saturado com dióxido de carbono, ocasionando morte por parada cardiorrespiratória, respeitando-se, dessa forma, o que preconiza a Declaração dos Direitos dos Animais (GOLDIN, 1995).

Após a constatação da morte dos animais, pelos sinais vitais, foram removidas as peças cirúrgicas do grupo controle (grupo C), que não sofreu irradiação, além de segmentos dos grupos experimentais (Ea e Eb), submetidos à irradiação com *laser*, com comprimentos de onda de  $685\text{nm}$  e  $830\text{nm}$ , respectivamente. A remoção das peças foi realizada após incisão em elipse em torno da lesão, estabelecendo-se uma margem de segurança para não danificar a peça. Em seguida, a dissecação e a localização da região da placa, segmentando a área de interesse, foi realizada com tesoura de tecido. Posteriormente, com um disco flexível diamantado de dupla face, acoplado em micromotor, utilizando-se refrigeração constante (solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%), realizou-se a secção do tecido ósseo com margem de segurança de 5mm. Todas as peças foram avaliadas macroscopicamente e fotografadas com uma câmera digital<sup>26</sup> (Figura 6).

<sup>26</sup> Máquina fotográfica digital Fuji S 3000, 3.2 megapixels.

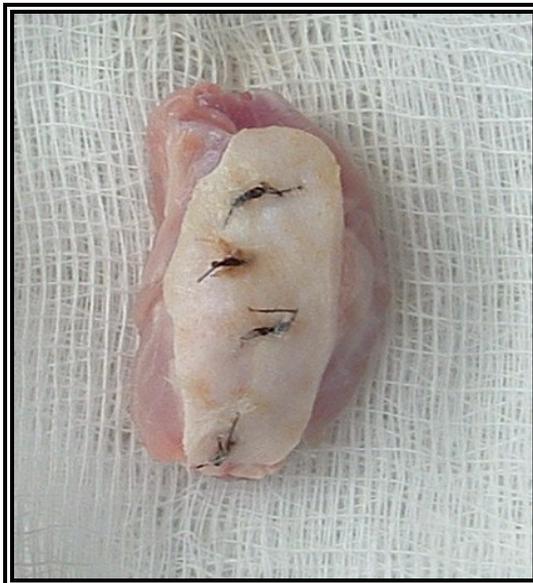


Figura 6 - Peça cirúrgica removida.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

Em seguida, as peças foram fixadas em formalina tamponada a 10%, durante 24 horas, até o momento de sua preparação. Cada recipiente foi identificado com os números do animal e do grupo.

#### **4.10. Análise Macroscópica**

Realizou-se dois tipos de análise macroscópica dos animais: Uma para comparação do processo de cicatrização e reepitelização de cada animal. Esta foi realizada por meio de fotografias, que eram obtidas a cada 48 horas até o dia da morte dos espécimes.

A segunda avaliação macroscópica foi realizada após a constatação da morte dos animais. As peças cirúrgicas removidas foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico da região operada, tanto nos espécimes do grupo controle quanto nos dos grupos experimentais objetivando visualizar a área da placa de LactoSorb<sup>®</sup> e se esta encontrava-se fixada no tecido ósseo.

#### **4.11. Processamento Histológico**

As amostras histológicas foram processadas no Laboratório do Centro de Diagnóstico de Doenças da Boca (CDDB), da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas (ANEXO H).

As peças foram registradas no livro do Laboratório do CDDB, recebendo um número de registro, sem o conhecimento dos pesquisadores sobre a que grupo pertencia cada uma das amostras.

Após o período de fixação (24 horas) em formalina tamponada 10% (pH 7,0), os espécimes, compostos de tecido ósseo e tecido mole, foram descalcificados em solução de ácido fórmico a 20% sob agitação e temperatura ambiente. Posteriormente, iniciou-se o processamento de desidratação, diafanização e inclusão em parafina, em um processador de tecido<sup>27</sup>.

Os espécimes emblocados em parafina foram identificados e submetidos ao corte de 6µm em micrótomo<sup>28</sup>, com cortes no sentido longitudinal do espécime. Foi selecionado somente o primeiro corte em que aparecia o tecido ósseo, a placa e o tecido mole, para cada peça.

Em seguida, todas as lâminas obtidas foram submetidas à técnica histoquímica de coloração hematoxilina-eosina (HE), da seguinte forma:

Dois banhos de xilol de cinco minutos cada. Hidratação em dois banhos de álcoois, absoluto e a 96°, de cinco minutos cada. Lavagem em água corrente por 10 minutos. Coloração com o corante hematoxilina por incubação de oito minutos e a lavagem em água corrente, por 10 minutos. A coloração com eosina foi realizada com a incubação por dois minutos. Após, lavagem em água corrente por cinco minutos. Desidratação das amostras iniciando com um minuto em álcool 96°, dois minutos em álcool absoluto e três banhos em xilol, sendo de cinco minutos cada um. Montagem das lâminas com lamínula e Entellan<sup>®29</sup>.

#### **4.12. Análise Microscópica**

A análise microscópica e a descrição histológica das secções dos fêmures de ratos e dos tecidos moles adjacentes foram feitas utilizando-se um microscópio óptico<sup>30</sup>, em aumentos de 40, 100 e 400X, no Laboratório de Patologia do CDDB - UFPel.

A avaliação foi realizada por meio da análise descritiva e comparativa das lâminas, coradas com a técnica HE, realizada por dois examinadores calibrados (a patologista<sup>31</sup> e o

---

<sup>27</sup> Processador modelo PT Mono 2000, marca LUPE.

<sup>28</sup> Micrótomo Leica RM 2645.

<sup>29</sup> Entellan, Merk KGaA, Darmstadt, Germany.

<sup>30</sup> Microscópio óptico Olympus BX® 50 F3.

<sup>31</sup> Dra. Adriana Etges, cirurgiã-dentista - doutora em Patologia Bucal - USP-SP.

mestrando autor deste trabalho). Em primeiro lugar, a patologista realizou o treinamento do mestrando até que o mesmo estivesse apto a realizar a leitura das lâminas, de acordo com critérios da própria especialista. Os resultados encontrados sempre eram discutidos, com o objetivo de calibrar o mestrando e a patologista.

Duas semanas após o treinamento, uma avaliação aleatória, de 10 lâminas, foi realizada pelo mestrando. Uma semana mais tarde, da última avaliação, a análise foi refeita pelo mesmo, com as mesmas lâminas. Os dados encontrados foram anotados em tabelas e comparados com aqueles obtidos na semana anterior. O resultado foi consensual, configurando a calibração intra-examinador.

Alguns dias depois, uma nova avaliação, de outras 10 lâminas, foi realizada pelo mestrando, identificando os itens e transcrevendo-os em tabelas. As mesmas lâminas foram avaliadas pela patologista, sem que essa soubesse qual era o tempo e a qual grupo pertencia. Os resultados foram consensuais, atingindo um grau de concordância de 90%, configurando a calibração interexaminadores. Só então, após a calibração, iniciou-se a leitura e a classificação das lâminas histológicas.

Todas as lâminas foram descritas em relação ao processo inflamatório e aos fenômenos do reparo, nos quais se observou o tipo celular inflamatório em si, a extensão do tecido de granulação, o grau de envolvimento da camada muscular adjacente, a presença de hemorragia e a necrose, além da presença e da qualidade dos fibroblastos, bem como da quantidade de colágeno depositado.

Quanto ao processo inflamatório, observaram-se os seguintes itens: células do infiltrado crônico (linfócitos e plasmócitos) e células do infiltrado agudo (neutrófilos), presença de edema e hiperemia, quantidade de células gigantes multinucleadas, presença de mastócitos e eosinófilos, além de arranjo do processo inflamatório.

A análise qualitativa foi realizada em cada grupo para avaliação de todos os eventos citados. Para tanto, realizou-se o estudo descritivo e individualizado de todos os cortes histológicos, formando um conjunto de características para cada grupo, em cada período de observação.

Com base nessa análise descritiva, o pesquisador atribuiu, sem conhecimento prévio, a qual grupo as lâminas pertenciam, um escore histológico, para cada lâmina, de acordo com as características encontradas, conforme mostrado no Quadro 3. Esse escore histológico variava de 1 a 4, representando três, sete, 15 e 21 dias de pós-operatório. Dessa forma os

pesquisadores podiam determinar se os espécimes encontravam-se em fase adiantada ou retardada no processo de reparo. Os valores foram, então, submetidos à análise estatística, configurando a análise semiquantitativa.

Quadro 3 - Escores atribuídos às diferentes condições do processo de reparo e da resposta inflamatória

Estágio do Processo Inflamatório	Características
<b>Escore 1 (Agudo)</b>	Fase inicial. O corte histológico é composto na região adjacente ao LactoSorb <sup>®</sup> por faixa de tecido conjuntivo composto por pouquíssimos fibroblastos, desorganizados e um colágeno frouxo, com vascularização intensa, vasos sangüíneos congestos e muitas hemácias extravasadas neste conjuntivo. O infiltrado inflamatório é formado quase que exclusivamente por células polimorfonucleares (neutrófilos), com edema intenso e presença de macrófagos. Completam o quadro muitos focos hemorrágicos e liberação de hemossiderina.
<b>Escore 2 (Misto)</b>	O corte histológico é composto, na região adjacente ao LactoSorb <sup>®</sup> por faixa de tecido conjuntivo frouxo, contém poucos fibroblastos, ainda desorganizados, porém dispostos mais paralelamente que no período 1, e colágeno escasso, apresentando vascularização moderada a intensa, compondo o tecido de granulação. O infiltrado inflamatório é misto, mas com predomínio de linfócitos e plasmócitos. Em geral o edema é intenso, presença de alguns focos hemorrágicos com moderada liberação de hemossiderina.
<b>Escore 3 (Crônico)</b>	O corte histológico é composto, na região adjacente ao LactoSorb <sup>®</sup> por faixa de tecido conjuntivo que, em algumas áreas, se mostra frouxo e em outras um colágeno denso, composto por fibroblastos organizados, apresentando vascularização moderada compondo o tecido de granulação. O infiltrado inflamatório é crônico, predominantemente formado por linfócitos e plasmócitos, de permeio a eosinófilos, ocasionais mastócitos e muitas células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho. Esse tecido conjuntivo apresenta algumas áreas de edema, pouquíssimos focos de hemorragia e locais, evidenciando reparo e organização do tecido muscular adjacente.
<b>Escore 4 (Crônico)</b>	O corte histológico é composto na região adjacente ao LactoSorb <sup>®</sup> por faixa de tecido conjuntivo composto fibroblastos maduros, organizados paralelamente, formando um colágeno fibrilar denso, apresentando vascularização moderada compondo um tecido de granulação discreto. O infiltrado inflamatório é escasso e composto predominantemente por células mononucleares (linfócitos e plasmócitos) e células gigantes multinucleadas. Via de regra, o edema é leve e se observa uma organização do todo conjuntivo ao redor da área da placa bioabsorvível.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

#### 4.13. *Análise Histomorfométrica*

A análise quantitativa foi empregada para estudo e mensuração do processo inflamatório ao redor da placa de LactoSorb<sup>®</sup>. As mesmas lâminas, coradas com HE e descritas de modo individual na etapa anterior, foram novamente analisadas, quando da

captura das imagens do tecido de granulação. Para tanto, submeteram-se as lâminas obtidas de cada animal ao exame microscópico<sup>32</sup> por meio do sistema computacional de captura e análise de imagem - Image-Pro Plus<sup>®33</sup>. Sob um foco fixo e com clareza de campo, capturou-se a imagem do microscópio por uma câmera de vídeo<sup>34</sup> acoplada ao microcomputador<sup>35</sup>, com um aumento de 40X .

Foi utilizado o *software* da avaliação histomorfométrica, Image Pro Plus<sup>®</sup>, pelo qual se realizou a medida do tecido de granulação, ou seja, mediu-se o campo de maior espessura do tecido de granulação, desde o final da placa de LactoSorb<sup>®</sup> até o final do processo inflamatório, até mesmo quando este se apresentava infiltrando na camada muscular subjacente (Figura 7).

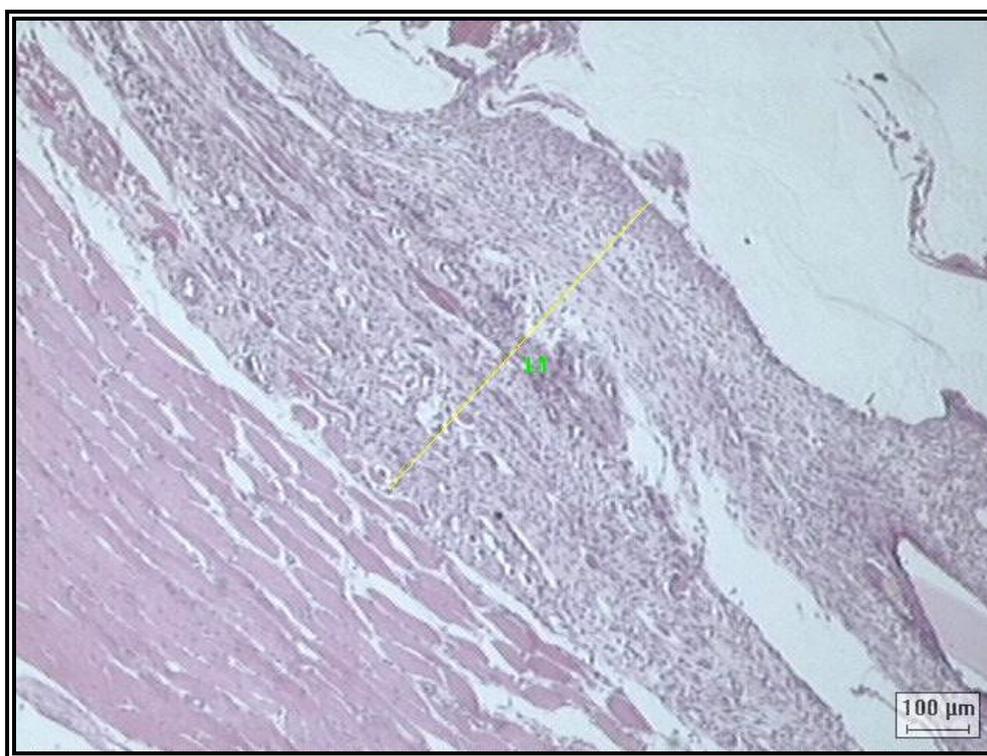


Figura 7 - Medida histomorfométrica

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

<sup>32</sup> Microscópio Olympus BX50

<sup>33</sup> Programa IMAGE-PRO PLUS<sup>®</sup>, versão 4.5.1 desenvolvido por MediaCybernetics.

<sup>34</sup> Sony CCD - Íris - Color Videocâmera, modelo DXX-107.

<sup>35</sup> Pentium 4, CPU 1.8 GHz, 512 MB de memória RAM, HD 40 GB.

As medidas obtidas de cada tecido de granulação foram transferidas para uma tabela. Todos esses valores foram transportados para o programa Microsoft Excel<sup>®</sup>, inseridos nas tabelas definitivas e submetidos à análise estatística por meio do programa SPSS para Windows.

A análise histomorfométrica foi realizada sem o conhecimento prévio da distribuição das imagens em seus respectivos grupos de estudo, sendo, portanto, codificadas todas as lâminas do estudo e, conseqüentemente, todas as imagens capturadas.

#### **4.14. Análise Estatística**

Para análise dos dados obtidos, foi constituído um modelo de análise de comparação das variáveis e das médias da análise semiquantitativa e quantitativa, sendo analisados os seguintes efeitos:

Efeito Experimento: comparação entre os grupos experimentais e controle.

Efeito Tempo: comparação entre os períodos três, sete, 15 e 21 dias e seus respectivos controles;

Para variáveis numéricas de interesse da pesquisa foi feita uma avaliação quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Como todas as variáveis comportaram-se de forma não-normal, utilizou-se o teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis, para comparar os grupo e os tempos. Para o processamento e a análise dos dados foi empregado o *software* Statistical Package for the Social Science (SPSS<sup>®</sup>) para Windows<sup>®</sup>. Toda a análise estatística foi orientada e supervisionada pelo Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes, professor de Bioestatística da Faculdade de Matemática da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.



*Resultados*

---

## 5. RESULTADOS

### 5.1. *Análise Macroscópica*

Durante todo o período de observação, os animais permaneceram saudáveis, com cicatrização normal na região operada, sem evidência de infecção ou deiscência de sutura, com exceção de três animais, os quais apresentaram sinais de processo infeccioso e formação de abscessos na área operada. Os animais do grupo *laser* vermelho, 15 e 21 dias e do grupo *laser* infravermelho, 21 dias, foram excluídos deste estudo (APÊNDICE A).

As análises macroscópicas dos animais, para comparação do processo de cicatrização e reepitelização, realizadas a cada 48 horas, não mostraram diferenças expressivas entre os grupos. Aos três dias, os animais apresentavam uma ferida sem hemorragia e com formação de crosta na região da sutura. Aos sete dias de pós-operatório, apresentavam áreas de reepitelização na região, mas ainda evidenciavam-se algumas áreas de crosta e os locais das suturas um pouco hiperemiados, independentemente do grupo ao qual pertenciam. Aos 15 dias, de um modo geral, discreta linha foi percebida no local da incisão e, aos 21 dias, a maioria dos animais mostrava reepitelização completa da ferida cirúrgica.

No outro tipo de análise macroscópica realizada após a constatação da morte dos animais, em todos os espécimes, o exame macroscópico revelou a presença da placa de LactoSorb<sup>®</sup> firmemente fixada ao fêmur.

### 5.2. *Análise Microscópica*

#### 5.2.1. **Análise Descritiva Qualitativa**

A análise descritiva das lâminas foi realizada de forma individualizada, apresentadas aqui resumidamente, de acordo com as características exibidas por todas as lâminas de cada grupo e esquematizadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados do exame microscópico

<i>Grupo</i>	<i>Tempo</i>	<i>Processo inflamatório</i>	<i>Células predominantes</i>	<i>Eventos principais</i>
C (Contr)	03	Agudo	Neutrófilos	Hemorragia e necrose
	07	Misto	Linfócitos, plasmócitos e neutrófilos	Edema, necrose e fagocitose
	15	Crônico	Linfócitos, plasmócitos e células gigantes de corpo estranho	Angiogênese e fagocitose
	21	Crônico	Fibroblastos e células gigantes de corpo estranho	Deposição de colágeno, fagocitose e reorganização tecidual
Ea (Verm)	03	Misto	Linfócitos, plasmócitos e neutrófilos	Padrão histológico mais avançado que o controle; áreas de hemorragia
	07	Crônico	Linfócitos, plasmócitos, células gigantes de corpo estranho e mastócitos	Edema, fagocitose e alguma deposição de colágeno
	15	Crônico	Linfócitos, plasmócitos, células gigantes de corpo estranho e mastócitos	Assemelha-se ao grupo controle, com uma maior deposição de colágeno
	21	Crônico	Fibroblastos, linfócitos, plasmócitos, células gigantes de corpo estranho e macrófagos	Semelhante ao grupo controle, porém com tecido de granulação mais celularizado e angiogênese
Eb (Infrav)	03	Misto	Plasmócitos, linfócitos e neutrófilos	Angiogênese, edema e hemorragia
	07	Crônico	Linfócitos, plasmócitos, células gigantes de corpo estranho e mastócitos	Edema, fagocitose e alguma deposição de colágeno
	15	Crônico	Fibroblastos, linfócitos, plasmócitos, células gigantes de corpo estranho e mastócitos	Assemelha-se ao grupo controle, com uma maior deposição de colágeno e fibroblastos
	21	Crônico	Fibroblastos, células gigantes de corpo estranho e macrófagos	Deposição de colágeno, angiogênese, fagocitose e reorganização tecidual

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

### 5.2.1.1. Grupo Controle

As secções histológicas do grupo controle, aos três dias, revelaram a presença de um processo inflamatório que se estendeu por toda a região da placa bioabsorvível, tecido conjuntivo fibroso e camada muscular adjacente. O tecido conjuntivo estava composto por pouquíssimos fibroblastos desorganizados e um colágeno frouxo, apresentando vascularização intensa, com vasos sangüíneos congestos e muitas hemácias extravasadas, além de liberação de hemossiderina. O processo inflamatório apresentava-se formado basicamente por um infiltrado inflamatório neutrofilico, com edema intenso e alguns macrófagos (Figura 8).

Aos sete dias, os cortes histológicos apresentaram uma área de tecido de granulação moderada a intensa, estendendo-se pela região da placa bioabsorvível e do tecido muscular adjacente. O tecido conjuntivo estava frouxo. Estava composto por poucos fibroblastos, ainda desorganizados, porém mais paralelos que aos três dias. Verificaram-se escassas fibras colágenas. Áreas de edema e hemorragia foram observadas de forma dispersa no tecido conjuntivo. O infiltrado inflamatório era misto, mas com predomínio de linfócitos, porém era possível visualizar muitos macrófagos e algumas células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho (Figura 9).

Aos 15 dias, o tecido conjuntivo apresentava-se frouxo em algumas áreas, enquanto em outras, com colágeno denso. A área total de tecido de granulação era moderada. Com maior aumento podia-se notar um infiltrado inflamatório mononuclear linfoplasmocitário, inúmeras células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho próximas ao material em processo de fagocitose, macrófagos e alguns eosinófilos. Áreas de edema e pouquíssimos focos de hemorragia (Figura 10).

Aos 21 dias, os cortes histológicos, na região adjacente ao LactoSorb<sup>®</sup>, mostravam uma faixa de tecido conjuntivo composta por fibroblastos maduros, organizados paralelamente, formando fibras colágenas mais densas. Neoformação vascular moderada e vasos sangüíneos congestos por hemácias foram observados. O infiltrado inflamatório era leve e pouco celular, composto basicamente por células mononucleares, além de macrófagos e células gigantes multinucleadas restritos ao contorno da placa bioabsorvível (Figura 11).

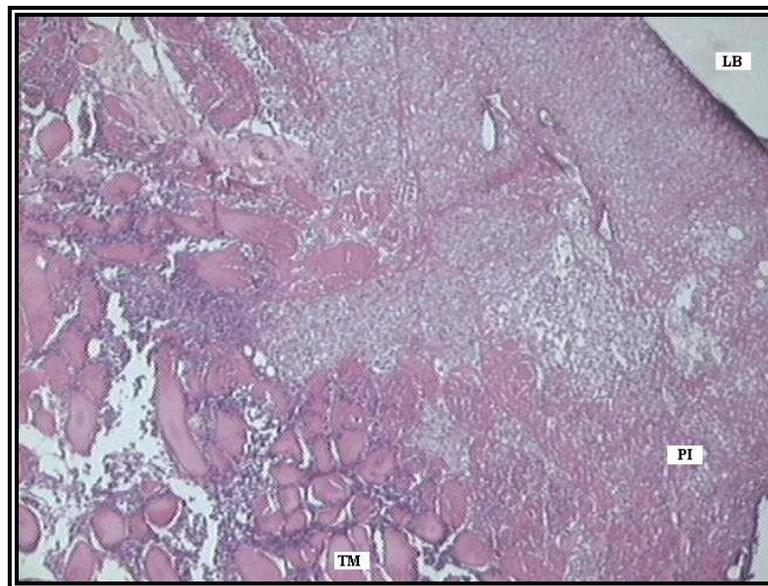


Figura 8 - Fotomicrografia do grupo controle – três dias. Observa-se presença de fragmento da placa de LactoSorb® (LB), processo inflamatório (PI) e tecido muscular (TM). HE, aumento de 40X.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

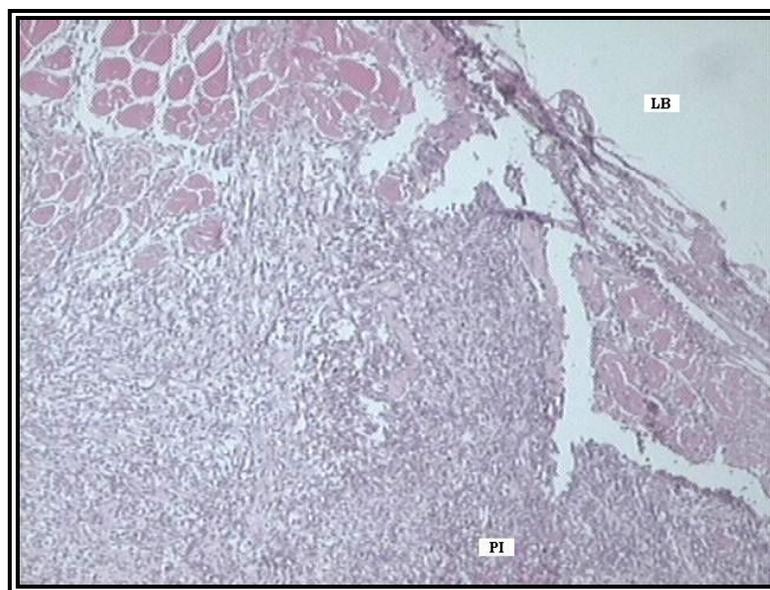


Figura 9 - Fotomicrografia do grupo controle – sete dias.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

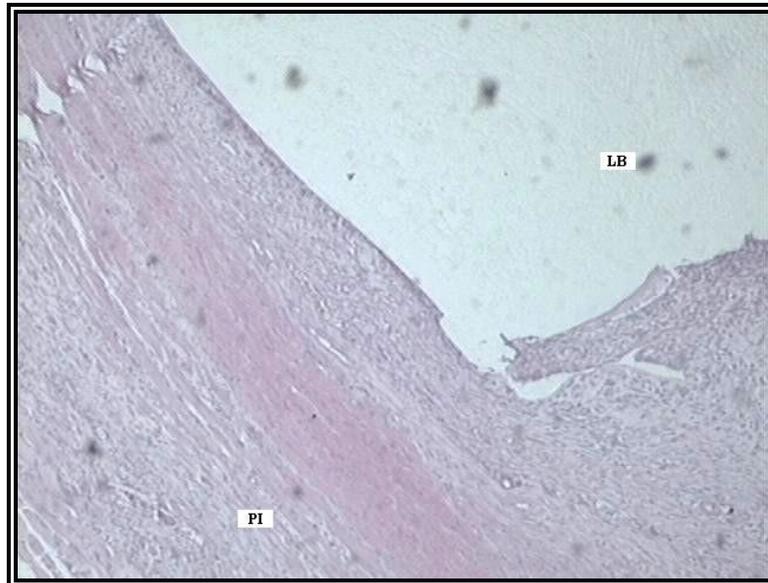


Figura 10 - Fotomicrografia do grupo controle – 15 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

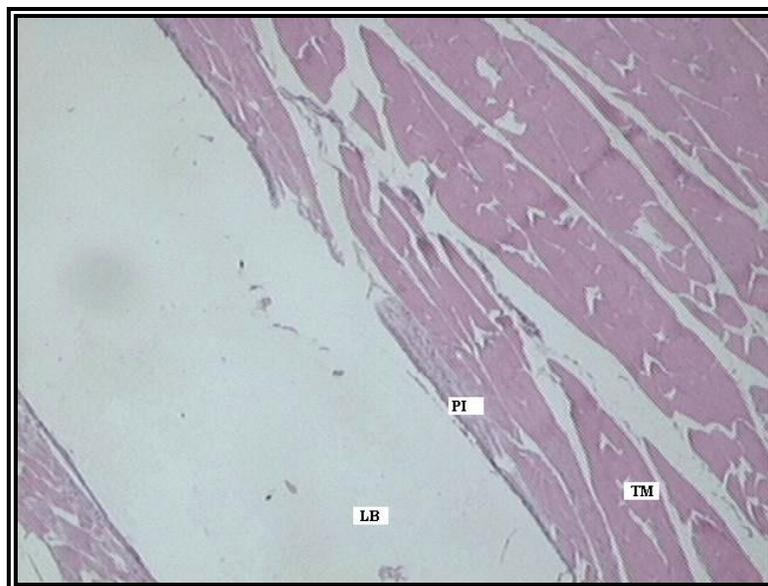


Figura 11 - Fotomicrografia do grupo controle – 21 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

### 5.2.1.2. Grupo Experimental A – *laser vermelho*

As lâminas estudadas, aos três dias, apresentavam um infiltrado inflamatório moderado, envolvendo a área da placa bioabsorvível, infiltrando discretamente a camada muscular adjacente. O infiltrado celular inflamatório observado foi do tipo misto, com predomínio linfoplasmocitário, distribuídos de maneira difusa por todo espécime, sendo os neutrófilos também encontrados nesses cortes, mas em menor quantidade do que no grupo controle, durante o mesmo período. A neoangiogênese também se apresentava exuberante, semelhante à do grupo controle. Nesse período, verificou-se um tecido conjuntivo, com pouca quantidade de fibroblastos e de deposição de matriz colágena. Além disso, as fibras eram predominantemente imaturas e desorganizadas. Foram observadas áreas de hemorragia intensa dispersas pelo tecido conjuntivo (Figura 12).

Aos sete dias, os cortes histológicos apresentavam uma área de tecido de granulação moderada a intensa, estendendo-se pela região da placa bioabsorvível e tecido muscular adjacente, semelhante ao mesmo período do grupo controle. O tecido conjuntivo apresentava fibroblastos paralelos e densas fibras colágenas nas proximidades da placa, mas com um paralelismo pouco menor e fibras colágenas mais frouxas e escassas em áreas mais distantes. Áreas de edema e hemorragia foram observadas pelo tecido conjuntivo. O infiltrado inflamatório era mononuclear linfoplasmocitário, inúmeras células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho, hemossiderinófagos, eosinófilos e mastócitos. O arranjo desse processo inflamatório era bastante semelhante aos cortes histológicos de 15 dias do grupo controle (Figura 13).

As características histológicas, aos 15 dias de pós-operatório nesse grupo, mostraram-se semelhantes às do grupo controle, porém com uma proliferação maior de fibroblastos. Diferenciaram-se das lâminas dos sete dias de pós-operatório do mesmo grupo, pois apresentavam uma área de tecido de granulação restrita ao contorno da placa de LactoSorb<sup>®</sup>, sem invadir o tecido muscular. As secções histológicas, aos 15 dias, mostraram um tecido de granulação moderado em extensão, limitado ao redor do LactoSorb<sup>®</sup>. O tecido conjuntivo apresentava fibroblastos com alinhamento paralelo, bem como um colágeno denso nas proximidades da placa. Fibroblastos pouco menos paralelos e com um colágeno mais frouxo e escasso em áreas mais distantes foram observados. Áreas de edema e pouquíssimas áreas de hemorragia pelo tecido conjuntivo, além de liberação de hemossiderina, estavam presentes. O infiltrado inflamatório era mononuclear, predominantemente linfoplasmocitário, com

inúmeras células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho, muitos macrófagos e alguns eosinófilos e mastócitos (Figura 14).

Aos 21 dias, os cortes histológicos apresentaram um tecido de granulação mais exuberante quando comparado ao grupo controle. O tecido conjuntivo estava composto por fibroblastos maduros e organizados paralelamente, com deposição de grande quantidade de matriz colágena. O infiltrado inflamatório era leve e pouco celular, composto basicamente por células mononucleares, além de macrófagos e células gigantes multinucleadas contornando a placa. Contudo, diferentemente do grupo controle, havia algumas áreas que ainda apresentavam um conjuntivo com fibroblastos mais desorganizados e menor deposição de fibras colágenas, além de um infiltrado inflamatório mais celularizado. Observou-se também Neoformação vascular moderada a intensa, com vasos sanguíneos congestionados e pouquíssimo ou nenhum edema (Figura 15).

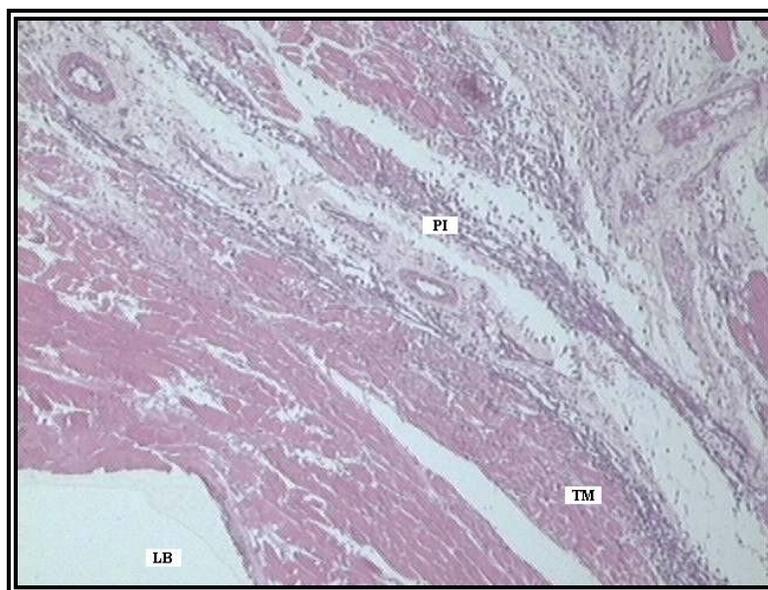


Figura 12 - Fotomicrografia do grupo experimental A (*laser vermelho*) – três dias. Observa-se presença de fragmento da placa de LactoSorb® (LB), processo inflamatório (PI) e tecido muscular (TM). HE, aumento de 40X.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007).

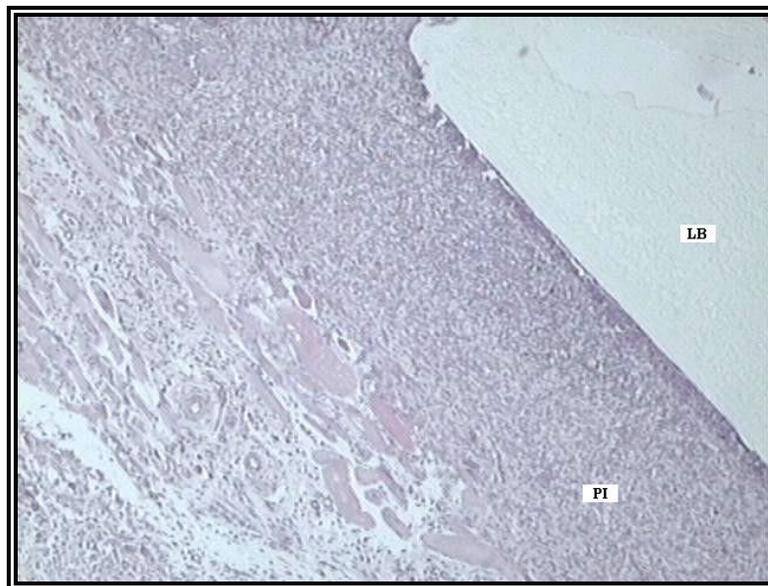


Figura 13 - Fotomicrografia do grupo experimental A (*laser vermelho*) – sete dias

Fonte: Dados da pesquisa (PG-FO-PUCRS; 2007)

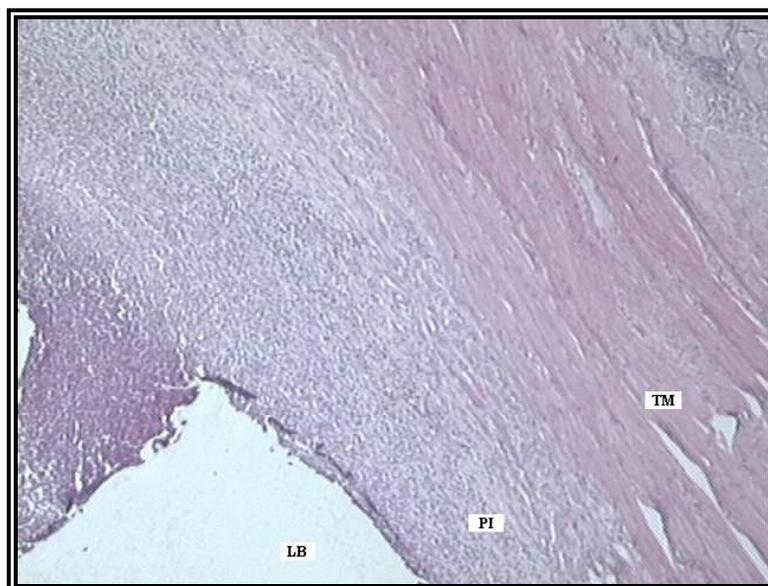


Figura 14 - Fotomicrografia do grupo experimental A (*laser vermelho*) – 15 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)



Figura 15 - Fotomicrografia do grupo experimental A (*laser vermelho*) – 21 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS; 2007)

### 5.2.1.3. Grupo Experimental B – *laser infravermelho*

As análises histológicas realizadas aos três dias, diferentemente do grupo controle, já apresentavam um infiltrado inflamatório crônico misto. Nesse grupo, o infiltrado inflamatório era moderado em extensão, envolvendo a área da placa bioabsorvível e, na maioria dos casos, atingia o tecido muscular adjacente. O infiltrado inflamatório misto apresenta predominância de plasmócitos e linfócitos, alguns mastócitos. Entretanto, neutrófilos estavam presentes, além de macrófagos funcionais. Nesse período, foi observado tecido conjuntivo apresentando proliferação fibroblástica discreta e pequena ou nenhuma quantidade de deposição de matriz colágena. Além disso, os fibroblastos observados eram predominantemente desorganizados. Completavam o quadro, neoangiogênese moderada, edema intenso e muitas áreas de necrose e hemorragia (Figura 16).

Aos sete dias, os cortes histológicos apresentaram uma área de tecido de granulação leve a moderada, estendendo-se pela região da placa bioabsorvível e levemente em direção ao tecido muscular adjacente, diferenciando-se um pouco dos grupos controle e experimental A. O tecido conjuntivo continha intensa proliferação fibroblástica, que se apresentava um pouco desalinhada, além de uma matriz de colágeno bastante densa, principalmente na proximidade

da placa, bem como na maioria do espécime. Áreas de edema moderado e algumas áreas de hemorragia estavam presentes. O infiltrado inflamatório era mononuclear linfoplasmocitário, com inúmeras células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho funcionais, hemossiderinófagos, eosinófilos e mastócitos. O arranjo desse processo inflamatório assemelhava-se ao do grupo experimental A, aos sete dias, com as mesmas características dos cortes histológicos de 15 dias do grupo controle. Contudo, diferia do grupo experimental A, visto que no grupo experimental B existia uma maior deposição de colágeno e proliferação fibroblástica, além de apresentar um tecido de granulação um pouco mais discreto em extensão (Figura 17).

Aos 15 dias de pós-operatório, as características histológicas desse grupo mostraram uma divisão, na qual 50% das lâminas apresentavam um tipo de padrão histológico semelhante àquele encontrado no décimo quinto dia do experimental A, diferindo apenas porque este último mostrava uma maior neoformação vascular e mais áreas de hemorragia. Ou seja, aos 15 dias de pós-operatório, as lâminas exibiam um tecido de granulação moderado em extensão, limitado ao redor do LactoSorb<sup>®</sup>. O tecido conjuntivo apresentava fibroblastos dispostos paralelamente e um colágeno denso nas proximidades da placa. Observaram-se fibroblastos pouco menos paralelos e um colágeno mais frouxo e escasso em áreas mais distantes. Havia áreas de edema, grande angiogênese e moderada hemorragia no tecido conjuntivo. O infiltrado inflamatório era mononuclear linfoplasmocitário, algumas células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho, alguns eosinófilos e mastócitos. Os outros 50% dos espécimes apresentavam arranjo histológico mais bem-organizado, mostrando um processo inflamatório leve, pouco celular, disperso em um tecido conjuntivo rico em fibroblastos organizados paralelamente, assim como em matriz colágena (Figura 18).

As amostras colhidas deste grupo, aos 21 dias, apresentavam, em sua maioria, um tecido de granulação leve limitado ao contorno do LactoSorb<sup>®</sup>. O tecido conjuntivo era composto por fibroblastos maduros e organizados paralelamente, com deposição de grande quantidade de matriz colágena. O infiltrado inflamatório era leve e pouco celularizado, composto basicamente por células mononucleares, além de macrófagos e células gigantes multinucleadas no contorno da placa. A neoformação vascular foi de moderada a intensa, com vasos sanguíneos congestionados, algumas áreas de hemorragia e pouquíssimo ou nenhum edema completam o quadro (Figura 19).

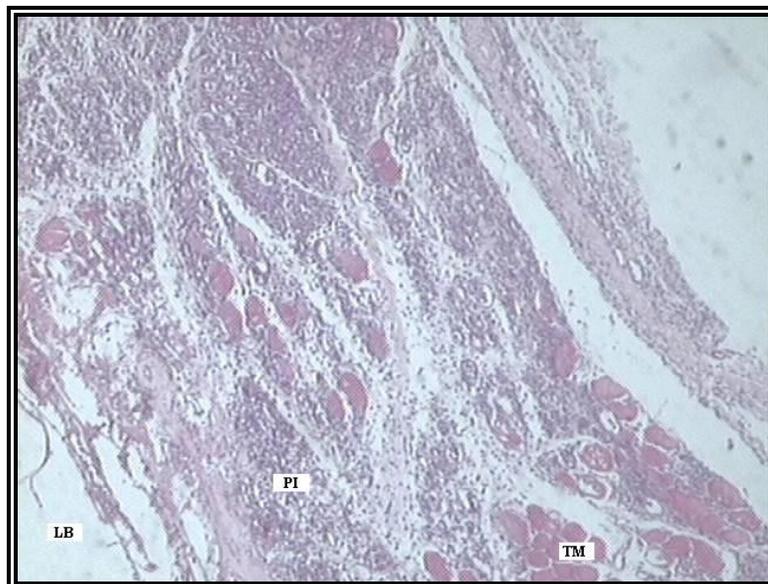


Figura 16 - Fotomicrografia do grupo experimental B (*laser* infravermelho) – três dias. Observa-se presença de fragmento da placa de LactoSorb® (LB), processo inflamatório (PI) e o tecido muscular (TM). HE, aumento de 40X.

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

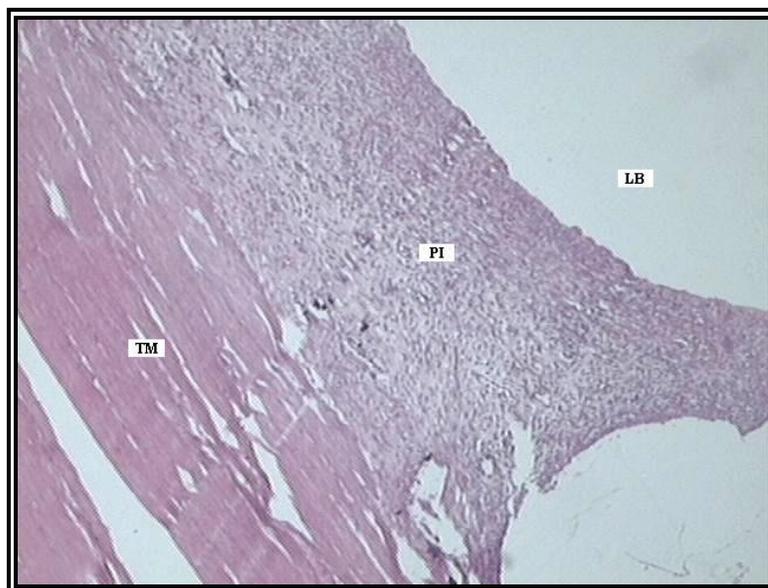


Figura 17 - Fotomicrografia do grupo experimental B (*laser* infravermelho) – sete dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

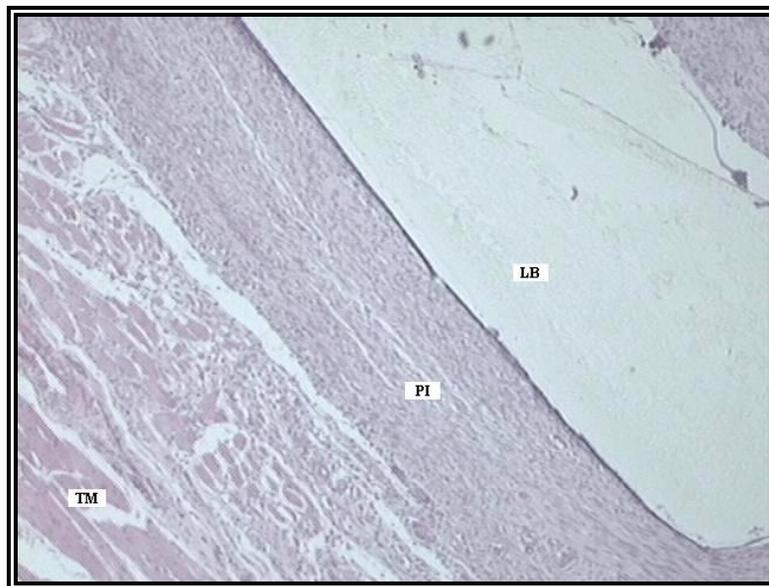


Figura 18 - Fotomicrografia do grupo experimental B (*laser* infravermelho) – 15 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

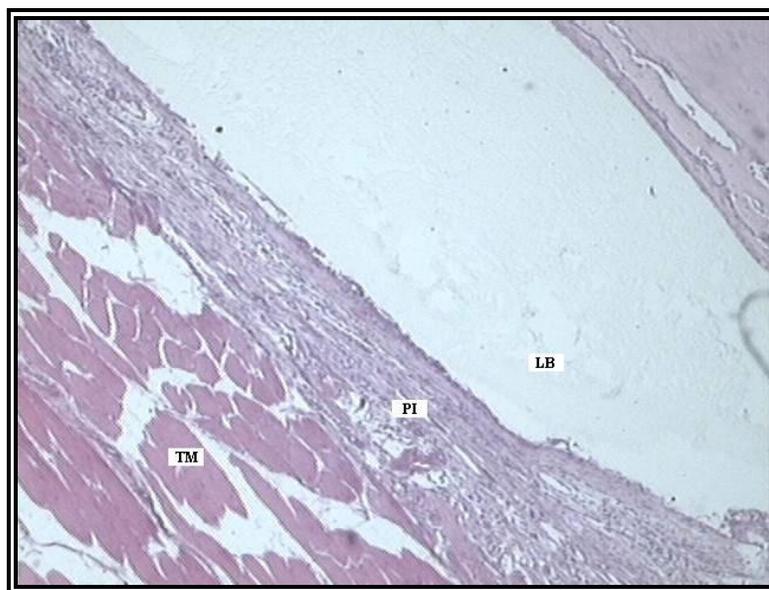


Figura 19 - Fotomicrografia do grupo experimental B (*laser* infravermelho) – 21 dias

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

### 5.2.2. Análises Semiquantitativa e Histomorfométrica

Os resultados dos escores histológicos obtidos através da microscopia óptica para os grupos experimentais e controle, de acordo com as estruturas avaliadas, em todas as lâminas coradas pela técnica histoquímica HE, estão apresentados no Apêndice B, e representam o resultado da análise semiquantitativa. Estes resultados demonstram que a biomodulação tanto do *laser* vermelho quanto do infravermelho foi positiva para os períodos de três e sete dias de pós-operatório, pois as lâminas apresentavam um padrão histológico mais avançado que no grupo controle, porém apenas aos três dias essa diferença foi estatisticamente significativa. Neste mesmo apêndice, apresentam-se as medidas histomorfométricas de cada lâmina.

Avaliando-se a moda, ou seja, o escore histológico referente ao processo de reparo mais freqüente em cada grupo, em cada período de observação, tem-se Tabela 2:

Tabela 2 - Moda do escore histológico

<i>Grupo</i>	<i>Tempo (dias)</i>	<i>Moda do Escore Histológico</i>
C (controle)	03	01
	07	02
	15	03
	21	04
Ea ( <i>laser</i> vermelho)	03	02
	07	03
	15	03
	21	04
Eb ( <i>laser</i> infravermelho)	03	02
	07	03
	15	03 e 04
	21	04

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS; 2007)

A partir da tabela acima, percebe-se que a moda do grupo controle corresponde exatamente aos períodos de observação. Já nos grupos Ea e Eb, aos três e sete dias de pós-operatório, verifica-se que a moda corresponde a um período de observação superior. Assim, tem-se que, aos três dias, os ratos apresentavam um padrão histológico 02, de sete dias de pós-

operatório e aos sete dias de pós-operatório, de forma semelhante, os animais mostravam um padrão histológico 03, de 15 dias de pós-operatório. A moda para as observações de 15 e 21 dias foi a mesma para todos os grupos.

Para a análise estatística, inicialmente procedeu-se a uma avaliação quanto à normalidade, por meio teste de Kolmogorov-Smirnov (Tabela 3), das variáveis tempo e grupos, tanto para escores histológicos quanto para medidas histomorfométricas. Como todas as variáveis comportaram-se de forma não-normal, ou seja, fugiam da normalidade, utilizou-se o teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis, a fim de comparar os grupo e os tempos. Para o processamento e a análise dos dados empregou-se o *software* SPSS®.

Tabela 3 - Teste de Normalidade

<i>Escore histológico</i>	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>				<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Tempo	Estatística	Graus de Liberdade (GL)	Significância (Sig.)	Estatística	GL	Sig.
Medida histomorfométrica	3	,373	15	,000	,734	15	,001
	7	,283	15	,002	,801	15	,004
	15	,407	14	,000	,616	14	,000
	21	,470	13	,000	,533	13	,000
	3	,178	15	,200	,927	15	,243
	7	,221	15	,047	,852	15	,019
	15	,190	14	,181	,937	14	,382
	21	,301	13	,002	,840	13	,021

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO –PUCRS, 2007)

As tabelas 4 e 5 representam o teste de Kruskal-Wallis e demonstram que há diferença significativa quanto ao escore histológico, quando comparados o *laser* vermelho e o infravermelho com o grupo controle, aos três dias. Nos demais períodos de observação, não há diferenças estatísticas significativas entre as formas de tratamento. Aos três dias de pós-operatório, os espécimes dos grupos experimentais vermelho (Ea) e infravermelho (Eb) demonstravam um padrão histológico bem superior aos do grupo controle.

A tabela 5 também mostra que o resultado da histomorfometria, aos 21 dias, é estatisticamente diferente quando o grupo *laser* vermelho é comparado ao grupo controle e ao grupo *laser* infravermelho. Isto porque o *laser* vermelho apresentou um aumento do tecido de granulação bem superior aos demais grupos. Nos outros períodos de observação, não foram verificadas diferenças estatísticas significativas entre as formas de tratamento.

Tabela 4 – Teste de Kruskal-Wallis

<i>Tempo</i>		<i>Escore Histológico</i>	<i>Medida Histomorfológica</i>
3	Qui-Quadrado	8,264	1,725
	GL	2	2
	Sig.	0,16*	,422
7	Qui-Quadrado	,326	,025
	GL	2	2
	Sig.	,850	,988
15	Qui-Quadrado	1,001	1,114
	GL	2	2
	Sig.	,606	,573
21	Qui-Quadrado	1,600	6,435
	GL	2	2
	Sig.	,449	,040*

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

\* Diferença estatística significativa

Tabela 5 – Teste de Kruskal-Wallis

		Grupo	N	Média	
3	Escore histológico	C	3	2,50*	
		A	6	9,25	
		B	6	9,50	
		Total	15		
	Medida histomorfométrica	C	3	11,00	
		A	6	7,50	
		B	6	7,00	
		Total	15		
	7	Escore histológico	C	3	6,83
			A	6	8,17
B			6	8,42	
Total			15		
Medida histomorfométrica		C	3	8,33	
		A	6	8,00	
		B	6	7,83	
		Total	15		
15		Escore histológico	C	3	7,33
			A	5	6,40
	B		6	8,50	
	Total		14		
	Medida histomorfométrica	C	3	6,00	
		A	5	9,00	
		B	6	7,00	
		Total	14		
	21	Escore histológico	C	3	8,50
			A	5	7,20
B			5	5,90	
Total			13		
Medida histomorfométrica		C	3	4,00	
		A	5	10,40*	
		B	5	5,40	
		Total	13		

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

A tabela 6 apresenta as médias histomorfométricas correspondentes à espessura do tecido de granulação. Apesar de só existir diferença estatisticamente significativa aos 21 dias de pós-operatório entre o grupo *laser* Ea, quando comparados aos grupos controle e *laser* Eb, é possível se observar claramente o padrão de comportamento das médias histomorfométricas. Essa mensuração demonstra, sem diferença estatística significativa, que a intensidade do processo inflamatório é menor nos grupos experimentais com três e sete dias; aproxima-se aos

\* Diferença estatística significativa

15 dias em todos os grupos e, aos 21 dias, assemelha-se com o grupo controle e o experimental B, assim como aumenta de intensidade no experimental A.

Tabela 6 - Médias Histomorfométricas

<i>Grupo</i>	<i>Tempo (dias)</i>	<i>Média (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	<i>Desvio</i>	<i>N</i>
C	3	2.329,43	949,86	3
	7	1.045,68	879,03	3
	15	370,80	134,78	3
	21	139,48	122,89	3
	Total	971,34	941,87	12
A	3	1.443,94	1099,92	6
	7	918,78	1001,25	6
	15	456,78	183,78	5
	21	655,21*	292,17	5
	Total	868,67	880,37	22
B	3	1635,74	755,50	6
	7	807,23	925,81	6
	15	411,78	319,49	6
	21	203,05	52,92	5
	Total	788,86	812,83	23
Total	Total	788,86	812,83	23
	3	1745,50	868,94	15
	7	899,54	884,83	15
	15	419,07	231,42	14
	21	362,29	301,05	13
	Total	881,62	855,82	57

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

\* Diferença estatisticamente significativa



*Discussão*

---

## 6. DISCUSSÃO

A biomodulação tecidual é, sem dúvida, uma das áreas de maior controvérsia no uso dos *lasers* na Odontologia (PINHEIRO; FRAME, 1992).

Quanto às nomenclaturas empregadas neste trabalho, optou-se por utilizar somente LLLT, em detrimento de outras terminologias existentes na literatura, como laserterapia, terapia a *laser* de baixa potência e laserterapia não-ablativa, dentre outras, por se acreditar que a escolhida define melhor esta modalidade de tratamento, além de ser o termo usado pela *World Association for Laser Therapy* (WALT).

Muitos são os trabalhos na literatura sobre a atuação da irradiação *laser* no processo de reparo, mas raros são os que abordam as fases iniciais da inflamação como tema de estudo (CHAGAS JR., 2004). Além disso, outra dificuldade encontrada foi a grande variação de protocolos dos estudos quanto ao tipo de *laser* utilizado, à densidade de energia aplicada e às metodologias de irradiação empregadas, dificultando a comparação entre os mesmos, fato também relatado por SILVA JÚNIOR (2002), NICOLAU *et al.*, (2003) e WEBER *et al.* (2006).

A LLLT deve seguir os seguintes parâmetros: escolha do comprimento de onda, densidade de energia, densidade de potência, tipo de regime de operação do *laser*, frequência do pulso, número de sessões, características ópticas do tecido (PINHEIRO *et al.* 1998; VEÇOSO, 1993; CATÃO, 2004).

Assim, optou-se por utilizar parte da metodologia de diversos trabalhos descritos na literatura, mas, principalmente, aquela desenvolvida a partir de Weber *et al.* (2006) realizada no Programa de Pós-Graduação da FO-PUCRS.

As funções terapêuticas no campo da analgesia e de biomodulação do processo inflamatório são geralmente desenvolvidas no espectro vermelho e infravermelho da luz, com comprimento de onda entre  $\lambda = 600\text{nm}$  a  $900\text{nm}$  (TUNÉR; CHRISTENSEN, [2002]).

Em concordância com esta proposição, na presente pesquisa utilizou-se um *laser* com meio ativo de InGaAlP e comprimento de onda vermelho ( $685\text{nm}$ ), além de um *laser* infravermelho ( $830\text{nm}$ ) e meio ativo de GaAlAs, para testar a biomodulação no processo

inflamatório, fato já testado por Mester, Mester e Mester, (1985); Nascimento, (2001); Mendez *et al.*, (2004).

No que se refere à densidade de energia, Sommer *et al.* (2001) acrescentaram que a determinação das melhores doses são parâmetros de importância primária na otimização de efeitos biológicos positivos, tanto para resultados clínicos quanto experimentais. Karu (1989) e Schindl *et al.* (2000) relataram que a maioria das reações biológicas induzidas por LLLT situam-se com doses entre 1 a 50J/cm<sup>2</sup>.

A LLLT, conforme já citado, tem sido intensamente investigada. Entretanto, estudos sobre as variações de dose e a possibilidade de repercussão positiva ou negativa frente ao reparo não foram discutidas o suficiente (BELKIN; SCHWARTZ, 1989).

A importância da escolha de um nível adequado de energia tem sido enfatizada por muitos autores (Bradley, 1997; Schindl *et al.*, 2000; Al-Watban e Zhang, 2001), mas a energia recomendada para a obtenção de uma biomodulação ideal varia muito na literatura. Nesta pesquisa, a densidade energia aplicada de 10J/cm<sup>2</sup>, subdivididos em dois pontos, vai ao encontro das especificações contidas no manual do fabricante para biomodulação inflamatória e também em outras publicações consultadas (Silva Jr., 2000; Panarelo, 2003; Blaya, 2005; Weber *et al.*, 2006), com doses variando de 04 a 10J/cm<sup>2</sup> por sessão.

Hall *et al.* (1994) discutiram que a potência ideal, biomoduladora positiva, da LLLT deveria situar-se entre 01 e 50mW. Neste trabalho, com base na literatura analisada - Fonof (2002); Panarelo (2003); Blaya (2005); Weber *et al.* (2006) - as potências empregadas foram 35mW e 50mW, para o *laser* vermelho e infravermelho, respectivamente, apesar de Basford (1995) ter recomendado que a potência não ultrapassasse 10mW.

Parece ser necessária a constatação de doses que privilegiem a biomodulação, empregando-se baixas potências, mas que não fossem por demais diminutas, a ponto de não influenciar no processo de reparo. Anneroth *et al.* (1988) irradiou os ratos de seu estudo com 0,5mW de potência, não encontrando qualquer benefício perceptível com LLLT. Seus resultados negativos poderiam ser explicados pela baixa potência empregada. Al-Watban e Zhang (1995) não encontraram alterações no processo cicatricial quando a intensidade foi variada entre 3,7 a 15,9mW.

A técnica pontual de aplicação do *laser* sobre os tecidos está de acordo com Nicolau *et al.* (2003). Referida técnica foi eleita para ser empregada em decorrência da possibilidade de poder aproximar a ponteira do aparelho da área lesada, exercendo leve pressão sobre os

tecidos, na tentativa de minimizar a reflexão e com o objetivo de provocar um aumento mais expressivo da absorção de energia depositada na área.

O protocolo de irradiações utilizado baseou-se outros trabalhos anteriormente desenvolvidos na PUCRS, nos quais foi aplicado o *laser*, nas amostras experimentais, logo após o término da sutura e a cada 48 horas, totalizando oito irradiações. Tal protocolo foi semelhante ao utilizado por Hall *et al.* (1994); Mendez *et al.* (2004); Weber *et al.* (2006).

O presente estudo concorda com o de Belkin e Schwartz (1989), Basford (1995), Houghton e Brown (1998), Schindl *et al.* (2000) e Al-Watban e Zhang (2001) que ressaltam a necessidade do emprego de protocolos mais bem-definidos na metodologia dos trabalhos, a fim de que comparações mais fidedignas sejam possíveis e que proporcionem o entendimento sobre a real atuação do *laser* sobre os tecidos.

Quanto à escolha dos espécimes para experimentação científica, a utilização de modelos animais não-humanos constituiu-se em uma etapa fundamental na pesquisa. A biomodulação do processo inflamatório e o reparo dos tecidos moles têm sido estudados em diversos animais, mas principalmente em ratos (Anneroth *et al.*, 1988; Hall *et al.*, 1994; Schlager *et al.*, 2000; Al-Watban e Zhang, 2001; Fonof, 2002; Mendez *et al.*, 2004). Tal escolha justifica-se facilmente, pois os espécimes estudados são oriundos de uma mesma matriz, são de fácil disponibilidade e manutenção. Nesta pesquisa foram empregados 60 ratos, machos, adultos jovens e clinicamente sadios, com peso variando entre 200 e 400 gramas, para evitar a interferência de fatores sistêmicos.

Em concordância com diversas publicações, como, por exemplo, de Nascimento (2001); Campanha, (2002); Fonof (2002); Mendez *et al.* (2004); Weber *et al.* (2006), utilizou-se, nesta pesquisa, grupos experimentais e grupo controle separadamente, com o intuito de ter-se um experimento puro, sem possíveis efeitos sistêmicos e sem criar algum viés de pesquisa. Muitos autores realizaram a utilização de feridas contralaterais em um mesmo animal, com a finalidade de que uma pudesse servir como grupo controle (ANNEROTH *et al.*, 1988; ROCHKIND *et al.*, 1989; BISHT *et al.*, 1994; HALL *et al.*, 1994; SCHLAGER *et al.*, 2000). No entanto, Kana *et al.* (1981) concluíram que a irradiação com argônio induziu ao aumento da síntese de colágeno no lado de aplicação do *laser*, bem como contralateralmente, o que sugeriu a evidência dos efeitos sistêmicos e/ou a distância do sítio primário de irradiação. Opinião semelhante à de Rochkind *et al.* (1989), que comprovou, por meio de seus trabalhos, que o reparo e a epitelização completa das feridas irradiadas a distância aconteciam antes daquelas do grupo controle. Houghton e Brown (1998) também concluíram que a LLLT

poderia aumentar a força tencional, não apenas na ferida tratada, mas na contralateral do mesmo animal. Os autores justificaram o achado pelos mediadores químicos que poderiam ser liberados sistematicamente, deste modo exercendo a biomodulação nas feridas controle.

A escolha da área a ser operada deu-se pela facilidade do acesso ao fêmur, pela facilidade de realizar a osteotomia, pela possibilidade de fixar o LactoSorb<sup>®</sup>, pela quantidade de tecidos moles ao redor desse osso e pela quantidade de citações na literatura utilizando essa área com sucesso (SILVA JÚNIOR *et al.*, 2002; BLAYA, 2005; WEBER *et al.*, 2006).

Não foi necessário realizar um defeito ósseo crítico, conforme preconizado por Schmitz e Hollinger (1986), pois, nesta pesquisa, o que está sendo testado é a modulação do processo inflamatório nos tecidos moles, circunjacentes ao tecido ósseo. A utilização de defeitos experimentais, não-críticos, já foi relatada por Melo (2003), em estudo com tíbias de ratos *Wistar*, no qual afirma que o objetivo principal é avaliar o processo de reparo ósseo frente aos materiais inseridos nas cavidades.

Quanto à utilização das placas de LactoSorb<sup>®</sup> fixadas ao fêmur, mesmo para analisar a biomodulação inflamatória dos tecidos moles circunjacentes a esse osso, esta pesquisa é inédita. Nesse sentido, o objetivo foi trazer o experimento o mais próximo possível da realidade clínica, visto que fraturas podem ser tratadas com placas bioabsorvíveis.

Devido a grande possibilidade de fratura do fêmur do rato no momento da inserção dos parafusos da placa bioabsorvível, optou-se por fixá-la com fio de sutura. A escolha do fio mononylon se deu a partir do estudo das suas propriedades físicas e químicas. O mononylon, segundo Weismann (1992); Ribeiro *et al.* (2005) é um fio que mantém a força tênsil por muito tempo, evitando que a placa afrouxasse e também é um fio que propicia uma baixa resposta inflamatória do organismo.

Pietrzak, Sarver e Verstynen (1997), Wiltfang *et al.* (1999) e Edwards, Kiely e Eppley (2000) informaram que as placas bioabsorvíveis, compostas de PLLA/PGA, são materiais seguros para utilização no tratamento de fraturas do complexo craniofacial. Para Pietrzak, Sarver e Verstynen (1997), um polímero bioabsorvível ideal é aquele que: (a) permite a fabricação de um material de fixação interna com uma força inicial capaz de suprir as necessidades biomecânicas, (b) irá se degradar em um tempo previsível e controlado, de forma a permanecer com uma força para manter estabilidade biomecânica durante a cicatrização e (c) depois de degradado, nenhum produto desse processo deve ser encontrado no organismo.

Edwards, Kiely e Eppley (2001) relatam a ausência, após dois anos de acompanhamento, de reações de corpo estranho e infecção, com a ocorrência de cicatrização normal do tecido ósseo associado ao material, com estabilidade satisfatória dos fragmentos ósseos e total degradação do mesmo. Em contrapartida, Van Sickels (2000) e Bos (2001), não indicaram a utilização desses biomateriais até o momento. Neste trabalho, pôde-se observar, por intermédio da análise histológica, que o LactoSorb<sup>®</sup> é um material biocompatível que causa modesto processo inflamatório ao seu entorno, semelhante ao fio de sutura mononáilon.

Segundo Cotran, Kumar e Collins (2000), o processo inflamatório pode ser dividido em duas fases: aguda e crônica. A primeira é relativamente curta, com duração de minutos, horas ou alguns dias e tem como característica a exsudação de líquido e proteínas plasmáticas, causando edema e migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos. A segunda é a mais longa e está associada à presença de linfócitos e macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual.

Para Pereira e Burini (1994) e Thomas (1995), o primeiro estágio do processo inflamatório ocorre quando as células inflamatórias aparecem no local da lesão, cerca de seis horas após o desencadeamento inicial da injúria; sendo que nas 24 horas seguintes há predomínio de polimorfonucleares. Nas 48 horas após o trauma, o número de polimorfonucleares diminuiria, evidenciando-se, então, a infiltração por células mononucleares. O segundo estágio é caracterizado pela fase da proliferação celular, prolongando-se por cinco a sete dias após a fase inflamatória. O terceiro estágio é definido como a fase de maturação. Inicia-se duas a três semanas pós-lesão e pode perdurar por anos. Com base na literatura consultada, a morte dos animais ocorreu com três, sete, 15 e 21 dias, com o intuito de visualizar a processo inflamatório em todas as suas fases. Além disso, esse protocolo foi realizado após a observação macroscópica em um estudo-piloto, do tempo de cicatrização total das feridas.

Desde que Mester *et al.* (1971) publicaram seu estudo pioneiro sobre a biomodulação tecidual com LLLT, surgiram inúmeros trabalhos na literatura em que os efeitos biológicos do *laser*, frente ao processo inflamatório e ao reparo tecidual, têm sido extensivamente investigados. A revista de literatura realizada por Tunér e Christensen ([2002]), a respeito da biomodulação mostrou resultados controversos; entretanto, cerca de 90% dos artigos referidos reportam efeitos positivos, tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

Apesar da grande variedade de opiniões publicadas, os resultados obtidos no presente estudo sugerem que o emprego da LLLT, na biomodulação do processo inflamatório, com

protocolo e metodologia adequados, pode resultar em algum efeito biológico positivo, pelo menos em algum momento da cicatrização, opinião compartilhada por diversos estudos (MESTER *et al.*, 1971; TAKEDA, 1988; ROCHKIND *et al.*, 1989; VEÇOSO, 1993; BISHT *et al.*, 1994; ALMEIDA LOPES *et al.*, 2001; AL-WATBAN e ZHANG, 2001; NASCIMENTO, 2001; CAMPANHA, 2002; FONOF, 2002; MENDEZ *et al.*, 2004).

Neste trabalho, a análise macroscópica dos animais, tanto do grupo controle quanto dos grupos experimentais, não mostrou diferença no tempo de reparação da pele, pois todos os espécimes demonstravam um padrão de cicatrização semelhante, considerado muito bom em todos os grupos. Tal resultado já foi observado por Anneroth *et al.* (1988), In de Braekt *et al.* (1991), Schlager *et al.* (2000). No entanto, é inviável afirmar que o *laser* não foi efetivo, pois a análise macroscópica não avalia fatores importantes, como, por exemplo, a qualidade do tecido reparado.

O reparo tecidual compreende uma seqüência de eventos contínuos e bem-coordenados, os quais visam à restauração morfofisiológica de uma lesão. Inicia-se com a inflamação aguda, a qual, fundamentalmente, seria uma seqüência de reações ordenadas, evoluindo para um processo crônico. Todas essas etapas se inserem em um processo dinâmico e interativo, que se sobrepõe no tempo, envolvendo mediadores químicos, células sanguíneas, parênquima e matriz extracelular (SINGER e CLARK, 1999). O aumento da capilaridade, a formação de tecido de granulação, a proliferação de fibroblastos, a síntese de colágeno e a reepitelização são os eventos marcantes desse fenômeno (THOMAS, 1995).

Assim, a proliferação de fibroblastos, a síntese de colágeno, o infiltrado inflamatório, a extensão do tecido de granulação e a vascularização são alguns dos muitos fenômenos que ocorrem ao mesmo tempo no processo de reparo. A utilização dos mesmos com o objetivo de analisar a biomodulação do reparo tecidual teve por finalidade encontrar uma maneira mais simplificada de estudá-lo.

Nesse sentido, na análise histológica desta pesquisa, observou-se que, aos três dias de pós-operatório, a LLLT atuou positivamente no processo inflamatório, tanto no grupo experimental Ea (*laser* vermelho) quanto no experimental Eb (*laser* infravermelho), pois todas as amostras apresentaram um processo inflamatório mais crônico, com menos áreas de necrose e hemorragia. Segundo Karu (1989), a LLLT promove a aceleração da formação do tecido de granulação.

De maneira semelhante, aos sete dias de pós-operatório, apesar de não haver diferença estatística significativa, os grupos Ea e Eb apresentavam um padrão histológico superior. A proliferação de fibroblastos e de todas as células do processo inflamatório, como macrófagos e mastócitos, mostrou-se maior, assim como a deposição de colágeno. Percebeu-se, inclusive, que essa proliferação celular e fibras colágenas foi ainda maior no grupo *laser* infravermelho.

Bisht *et al.* (1994) relataram que a produção de colágeno poderia ser detectada microscopicamente pela coloração de HE no quinto dia, quando sob efeito de *laser* de HeNe. Já Mester, Mester e Mester (1985), Takeda (1988), Karu (1989), Pinheiro, Frame (1992) e Catão (2004) demonstraram e relataram que os efeitos do *laser* nos tecidos promovem estímulos na síntese do colágeno, aumento da circulação sanguínea, proliferação celular e liberação de mastócitos.

Talvez a maior atuação do *laser* infravermelho com comprimento de onda de 830nm tenha-se devido à propriedade de penetração tecidual maior que o *laser* vermelho, o qual trabalha com um comprimento de onda na faixa de 685nm. Os *lasers* infravermelhos possuem uma maior penetração nos tecidos subcutâneos em decorrência da sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998).

Aos 15 dias de pós-operatório, os cortes histológicos mostravam-se muito semelhantes entre si. Existe um discreto aumento da deposição do colágeno e do número de mastócitos e de células gigantes multinucleadas nos grupos experimentais, sem diferença estatística. O grupo *laser* infravermelho apresentava uma maior proliferação de fibroblastos que nos demais grupos.

De acordo com Schindl *et al.* (2000), fibroblastos são células de importância superior no processo de cicatrização de feridas, associados aos macrófagos, que desempenham papel de mediadores do reparo tecidual.

Logo, a avaliação da quantidade e da qualidade do colágeno poderia demonstrar a presença de um reparo tecidual às expensas de um tecido mais maduro, ou seja, apresentando uma cronologia de reparação mais adiantada e biomodulada.

A explicação para a produção aumentada de colágeno em feridas cirúrgicas irradiadas pode decorrer do incremento do metabolismo dos fibroblastos ou pelo aumento do número destes, os quais produziriam maior quantidade de fibras colágenas, que posteriormente evoluem para um melhor padrão de organização (BISHT *et al.*, 1994).

A síntese da matriz de colágeno é um importante parâmetro no estudo da reparação tecidual, que se desenvolve no segundo estágio do processo de reparação, na fase da proliferação celular, normalmente iniciado no começo do processo reparativo, prolongando-se por cinco a sete dias após a fase inflamatória. A síntese inicialmente não possui padrão organizacional, mas, posteriormente, é possível constatar uma maior organização, quando o tecido torna-se, então, mais maduro (THOMAS, 1995).

Resultados positivos em relação à síntese de colágeno também foram encontrados por outros autores, como Mester *et al.* (1971); Kana *et al.* (1981); Rochkind *et al.* (1989); Bisht *et al.* (1994); Houghton e Brown (1998); Schindl *et al.* (2000); Al-Watban e Zhang (2001); Nascimento (2001); Campanha (2002), que representam a maioria dos trabalhos cujos protocolos de irradiação e metodologias parecem ter sido adequadamente conduzidos.

Aos 21 dias, na análise descritiva, todos os cortes histológicos mostravam um arranjo tecidual organizado. Porém o grupo Ea ainda apresentava algumas áreas de maior celularidade, com tecido de granulação mais exuberante, áreas de conjuntivo frouxo, quando comparado aos grupos controle e experimental Eb. Ambos os grupos experimentais exibiam uma vascularização mais intensa que o grupo controle. Fato explicado por Veçoso (1993), o qual aponta os tecidos submetidos à irradiação com uma maior vascularização e formação abundante de tecido de granulação.

A vasodilatação é um dos efeitos induzidos pelo *laser* de baixa potência nos tecidos. Isto sugere que o *laser* não somente age diretamente nos receptores celulares, mas também estimula a liberação de metabólitos vasodilatadores teciduais ou mediadores vasculares humorais, como os liberados pelos mastócitos após lesão (EL SAYED e DYSON, 1990).

Corroborando os achados de Karu (1989), Nascimento (2001) e Fonof (2002), assim como comprovando o efeito biomodulador positivo da LLLT, a análise semiquantitativa do escore histológico desta pesquisa demonstrou que o padrão histológico, aos três dias de pós-operatório, era superior ao se compararem os grupos irradiados com o grupo controle, havendo diferença significativa entre os valores. Já nos demais tempos de observação não se verificou diferença estatística entre os grupos estudados. Da mesma forma, não houve diferença entre os *lasers* utilizados.

Os resultados da análise histomorfométrica, que mensuravam o tamanho do processo inflamatório, demonstraram um comportamento estatisticamente semelhante entre todos os grupos, nos períodos de observação três, sete e 15 dias de pós-operatório. Apenas aos 21 dias,

o grupo *laser* Ea apresentou um tecido de granulação bem maior que os outros dois grupos. Esse tecido de granulação mais exuberante pode retardar o processo de reparo. Segundo Cotran, Kumar e Collins (2000), a inflamação seria essencialmente uma resposta de proteção, com objetivo de se eliminarem os agentes etiológicos responsáveis pela lesão celular, na qual sucedem, respectivamente, as fases aguda e crônica. Esta última caracteriza-se por um período de duração mais longa, associado à presença de linfócitos e plasmócitos, com proliferação fibroblástica e de vasos sanguíneos em muitos casos. Pereira e Burini (1994) descreveram ainda que a ampliação da resposta inflamatória, aguda ou crônica acaba por retardar o processo cicatricial. Diante destas afirmações, entendeu-se que o grupo *laser* Ea, por prolongar a fase inflamatória crônica, retardou o processo de reparo tecidual aos 21 dias.

Os resultados do presente estudo, frente à avaliação descritiva, semiquantitativa e quantitativa das amostras, mostraram uma diferença qualitativa e quantitativa positiva na biomodulação do processo inflamatório, ao se compararem os animais irradiados com os do grupo controle, principalmente nos períodos iniciais (três dias). Avaliando-se, ainda, comparativamente os dois grupos experimentais, os resultados sugerem que, quanto maior o comprimento de onda, mais eles seriam beneficiados pela luz *laser*, apesar da não haver diferença estatisticamente significativa. Os resultados também mostraram que o *laser* poderia tanto atuar positivamente frente à biomodulação do processo inflamatório quanto proporcionar uma cronologia de reparo semelhante ao grupo controle (sete e 15 dias) e até mesmo retardar a fase crônica da inflamação, o que aconteceu com o *laser* vermelho, aos 21 dias.



*Conclusões*

---

## 7. CONCLUSÃO

- A LLLT foi eficaz na biomodulação positiva do processo inflamatório em sua fase inicial, tanto com o *laser* vermelho (685nm) quanto com o infravermelho (830nm), nos tecidos circunjacentes ao material bioabsorvível de PLLA/PGA em fêmures de ratos, estimulando um aumento da vascularização, da proliferação fibroblástica e da matriz colágena.

- A LLLT com *laser* vermelho promoveu, nos espécimes estudados, um crescimento na celularidade e na vascularização, aumentando o tecido de granulação, nos tecidos circunjacentes ao material bioabsorvível de PLLA/PGA em fêmures de ratos, nas fases finais do reparo tecidual, podendo retardar o processo de reparo tecidual.



*Referências*

---

## REFERÊNCIAS<sup>36</sup>

ALMEIDA-LOPES, L. et al. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblast proliferation using different irradiance and same fluence. **Lasers in Surg Med**, New York, v.29, n.2, p.179-184, Aug. 2001.

ALMEIDA-LOPES, L.; MASSINI, R.J. **Lasers e suas aplicações: Manual do usuário**. [S.I]. DMC Equipamentos Ltda., 2002.

AL-WATBAN, F. A. H.; ZHANG, X. Y. Stimulative and inhibitory effects of low argon wound healing. **J Laser Therapy**, New York, v.7, n.3, p.11-18, Jan. 1995.

AL-WATBAN, F. A. H.; ZHANG, X. Y. The Acceleration of Wound Healing is not Attributed to Laser Skin Transmition. **J Laser Therapy**, New York, v.11, n.3, p.6-11, Mar. 2001.

ANNEROTH, G.; HALL, G.; RYDEN, H. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **Br J Oral and Maxillofac Surg**, v.26, n.1, p.12-17, Feb. 1988.

BARTLETT, S.P.; DE LOZIER, J.P. Controversies in the management of pedriatica facila fractures. **Clin Plast Surg, Philadelphia**, PA, v.19, n.1, p.245-258, Jan 1992.

BASFORD, J. R. Low intensity *laser* therapy: still not an established clinical tool. **Lasers in in Surg Med**, New York, v. 16, n. 4, p. 331-342, 1995.

BELKIN, M.; SCHWARTZ, M. New biological phenomena associated with laser radiation. **Health Phys**, New, York, v.56, n.5, p.687-690, May 1989.

BRADLEY, P.F. A Review of the use of the Neodymium YAG laser in Oral and Maxillofacial Surgery. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Edinburgh, v.35, n.1, p.26-35, Feb 1997.

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

BLAYA, D. S. **Análise comparativa da ação laserterápica com dois comprimentos de onda sobre processos de reparo ósseo**. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2005.

BOS, R.R.M. Invited for discussion about The fate of resorbable poly-L-Lactic/polyglycolic acid (LactoSorb<sup>®</sup>) bone fixation devices in orthognathic surgery. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, PA, v.59, n.1, p.25, Jan. 2001.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A.L.B. **Lasers na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998, 356p.

BRUGNERA JÚNIOR, A. *et al.* **Atlas de laserterapia aplicada à clínica odontológica**. São Paulo: Santos, 2003, 119p.

---

<sup>36</sup> Normas recomendadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); NBR 6023 ago. 2002.

CAMPBELL, D. T.; STANLEY, J. C. **Delineamentos experimentais e quase experimentais de pesquisa**. São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária, 1979.

CAMPANHA, B. P. **Luz Polarizada ( $\lambda=400 - 2000\text{nm}$ ) e Laser Não Ablativo ( $\lambda=685\text{nm}$ ): Descrição do Processo de Reparo em Feridas, Através de Avaliação Morfológica e Imunohistoquímica**. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2002.

CANÇADO, R.P. *et al.* Effect of the LactoSorb<sup>®</sup> bioabsorbable plates on the craniofacial development of rabbits: direct morphometric analysis using linear measurements. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 35, p.528-532, June 2006.

CATÃO, M.H.V. Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia. **Revista Brasileira de Patologia Oral**, v.3, n.4, p.214-218, 2004.

CATANZARO, G.S.A. **Patologia básica da cavidade bucal**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1991.

CHAGAS JR., O.L. **Avaliação da Ação do Laser ( $\lambda=685\text{nm}$ ) sobre os Mastócitos: Contagem Absoluta Através do Método Esteriológico**. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2004.

COTRAN, R.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins: Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000, 1251p.

EDWARDS, R.C.; KIELY, K.D.; EPPLEY, B.L. Resorbable fixation techniques for genioplasty. **J. Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, PA, v.58, n.3, p.269-272, Mar 2000.

EDWARDS, R.C.; KIELY, K.D.; EPPLEY, B.L. The fate of resorbable poly-L-Lactic/polyglycolic acid (LactoSorb<sup>®</sup>) bone fixation devices in orthognathic surgery. **J. Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, PA, v.59, n.1, p.19-25, Jan 2001.

EL SAYED, S. O.; DYSON, M. Comparison of the effect of multiwavelength light produced by a cluster of semiconductor diodes and of each individual diode on mast cell number and degranulation in intact and injured skin. **Lasers in Surg Med**, New York, v.10, n.6, p.559-568, 1990.

FONNOF, N. R. **Reparação tecidual da mucosa bucal de ratos submetidos à frenectomia labial com luz laser CO2 seguida ou não da aplicação de luz laser de As/Ga/Al: estudo aos microscópios de luz e eletrônico de varredura**. São Paulo; ilus. (BR). 2002, 142p.

GOLDIN, J.R. **Pesquisa em saúde: normas leis e diretrizes**. 2. ed. Porto Alegre: HCPA, 1995. 85p.

HALL, G. *et al.* Effect of low level energy *laser* irradiation on wound healing: an experimental study in rats. **Swedish Dental Journal**, Stockholm, v.18, n.1-2, p.29-34, 1994.

HOUGHTON, P. E.; BROWN, J. L., Effect of low level laser on healing in wounded fetal mouse limbs. **Laser Therapy**, v.11, n.2, p.54-70, Feb. 1998.

IN DE BRAEKT, M.H. *et al.* Effect of low-level laser therapy on wound healing after palatal surgery in beagle dogs. **Lasers in Surg Med**, New York, v.11, n.5, p. 462-470, 1991.

KANA J. S. *et al.* Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin in rats. **Arch Surgery**, Chicago, v.116, p.293-296, Oct. 1981.

KARU, T. I. Photobiology of low-power laser effects. **Health Phys**, New York, v.56, n.5, p.691-701, May 1989.

KERT, J.; ROSE, L. Clinical laser therapy: low level laser therapy. **Copenhagen: Scandinavian Medical Laser Technology**, 1989.

KOLÁROVÁ, H.; DITRICHOVÁ, D.; WAGNER, J. Penetration of Laser light Into the skin in vitro. **Lasers in Surg Med**, New York, v. 24, n.5, p.231-235, May 1999.

KREISLER, M. *et al.* Low level 809nm diode laser induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. **Lasers in Surg Med**, v.30, p.365-369, 2002.

MANUAL DO FABRICANTE Disponível em:  
<http://www.lorenzurgical.com/product.php?item=17&cat=5>. Acesso em: 13 de Julho de 2007.

MELLO, J.B.; MELLO, G.P.S.; MELLO, L.S. *Laser em Odontologia*. São Paulo: Santos, p.73-85, 2001.

MELO, L. G. N. **Avaliação do processo de reparo ósseo em cavidades cirúrgicas preenchidas com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histomorfométrico em tíbias de rato.** Dissertação. (Mestrado). Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP, 2003.

MENDEZ, M. T. V. *et al.* Dose and wavelength of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. **J Clin Laser Med Surg**, v.22, n.1, p.19-25 2004.

MESTER, E. *et al.* Effect of laser rays on wound healing. **The American Journal of Surgery**, v.122, p.532-535, 1971.

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

MEYERS, A. D. Lasers and Wound Healing. **Arch Otolaryngal Head Neck Surg**, New York, v.116, n.10, p.1128, Oct. 1990.

MONTAG, M.E.; MORALES, Jr, L.; DAANE, S. Bioabsorbable: their use in pediatric craniofacial surgery. **J Craniofac Surg**, Boston, MA, v.8, n.2, p.100-102, March 1997.

NASCIMENTO, P. M. **Efeito da variação da intensidade e do comprimento de onda do Laser não cirúrgico em feridas cirúrgicas em dorsos de ratos: estudo histológico.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2001.

NICOLAU, R.A. *et al.* Effect of low-power GaAlAs laser (660nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Laser in Medical Science**, London, v. 18, n. 2, p.89-94, May 2003.

PANARELLO, A.F. **Avaliação da potência e intensidade do laser não-ablativo no processo de infiltração e reparo de tecidos moles.** Dissertação (Mestrado em Odontologia). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 113p. 2003.

PEREIRA, P. C. M.; BURINI, R. C. Resposta do hospedeiro à infecção. Primeiro Sistema de defesa e mediadores químicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, 1994.

PIETRZAK, W.S.; SARVER, D.R.; VERSTYNEN, M.L. Bioabsorbable polymer science for the practicing surgeon. **J Craniofac Surg**. Boston, MA, v.8, n.2, p.87-91. March 1997.

PINHEIRO, A.L.B.; FRAME, J.W. Laser em Odontologia: seu Uso Atual e Perspectivas Futuras. **Rev Gaúcha de Odontologia**. Porto Alegre, v. 40, n. 5, p.327-332, set./out. 1992.

PINHEIRO, A.L.B. *et al.* Low-level laser therapy is an important tool to treat disorders of the maxillofacial region. **J Clinical Laser Med and Surg**, Larchmont, v. 16, n.4, p.223-226, Aug. 1998.

PINHEIRO, A.L.B.; GERBI, M.E. Photo engineering of bone repair processes. **Photomedicine and Laser Surg**, v.21, n.2, p.169-178, 2006.

PÖNTINEN, P. J. **Low level laser therapy as a medical treatment modality: A Manual for Physicians, Dentists, Physiotherapists and Medical.** Tampere: Art Urpo, 1992.

REDDY, G.K. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. **J Clinical Laser Med and Surg**, v.22, n.2, p.141-150, 2004.

RIBEIRO, C. M. B. *et al.* Clinical and histopathological study of tissue reactivity to monofilament suture materials: nylon and poliglecaprone 25 in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 284-91, 2005.

ROCHKIND, S. *et al.* Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. **Lasers in Surg Med**, n.9, p.174-182, 1989.

SCHINDL, A. *et al.* Low-intensity laser therapy: a review. **J Investig Med.**, v.48, n.5, p.312-326, 2000.

SCHLAGER, A. *et al.* Healing of burns after treatment with 670 nm low-power laser light. **J Plastic Reconstruction Surg**, Baltimore, v.105, n.5, p.1635-1639, April, 2000.

SCHMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. **Clinical Orthop and Related Research**, n.205, p.299-307, April 1986.

SILVA JÚNIOR, A. N. *et al.* Computadorized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. **J Clin Laser Med Surg**. v.20, n.2, p.83-87, Apr 2002.

SINGER A. J.; CLARK, R. A. F. Mechanisms of Disease: Cutaneous Wound Healing. **New English J Med**. Boston, v. 341, n.10, p.738-746, Sep. 1999.

- SOMMER, A. P *et al.* Biostimulation window in low-intensity laser activation: Lasers, Scanners, and NASA's light-emitting diode array system. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v.19, n.1, p.29-33, Jan. 2001.
- SUURONEN, R. *et al.* A five year *in vitro* and *in vivo* study of the biodegradation of polylactide plates. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, PA, v.56, n.5, p.604-614, May 1998.
- TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy *laser* on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. **International J of Oral and Maxillof Surg**, v.17, n.6, p.388-391, 1988.
- THOMAS, D. W. Cutaneous wound healing: A current perspective. **J of Oral and Maxillof Surg**, Philadelphia, v. 53, n. 4, p.442-447, Apr. 1995.
- TIPHLOVA, O. A.; KARU, T.I. Action of low-intensity laser light on transient metabolic processes in cell. **Proc. USSR acad. Sci. (Biophysics)**, v.2955, p.1002-1005, 1987.
- TÖRMÄLÄ, P.; POHJONE, T.; ROKKANEN, P. Bioabsorbable polymers: materials technology and surgical applications. **Proc Inst Mech Eng [H]**, London, v.212, n.2, p.101-111, 1998.
- TUNÉR, J.; CHRISTENSEN, P.H. **Low level lasers in dentistry**. [2002]. Disponível em: <http://www.laser-therapy.us/cold%20laser%20low%20level%20laser/Dental%5B1%5D.pdf>. Acesso em: 01 maio 2006.
- VAN SICKELS, J.E Invited for discussion about reabsorbable fixation techniques for genioplasty. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, PA, v.58, n.3, p.272, March 2000.
- VEÇOSO, M. **Laser em fisioterapia**. Curitiba: Louise, 1993.
- VIEIRA, S. **Bioestatística, tópicos avançados. Testes não-paramétricos, tabelas e contingência e análise de regressão**. 3 ed. Rio de Janeiro: Campus, 2003.
- WEBER, J. B. B. *et. al* Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. **Photomedicine and Laser Surg**, v.24, n.1, p.38-44, 2006.
- WEISMANN, R.; BRITO, J. H. M. Resposta tecidual frente a diferentes fios de sutura implantados na língua de ratos. **Rev. Odonto Ciência**, v.8, n.16, p.19-31, Dez 1993.
- WILTFANG, J. et al. The resorbable miniplate system LactoSorb® in a growing crânio osteoplasty animal model. **J. Craniomaxillofac Surg**. Edinburg, v.27, n.4, p.207-210, Aug 1999.



*Apêndices*

---

### APÊNDICE A – Ficha de cirurgia dos animais

GRUPO	DIAS	RATO	PESO (G)	DIA CIRURGIA	DIA MORTE	OBSERVAÇÕES
CONTROLE	3	C11	245	17/out	20/out	
	3	C12	350	9/nov	12/nov	
	3	C13	340	9/nov	12/nov	
	7	C21	220	17/out	24/out	
	7	C22	382	9/nov	16/nov	
	7	C23	388	16/nov	23/nov	
	15	C31	230	17/out	1/nov	
	15	C32	397	16/nov	1/dez	
	15	C33	340	16/nov	1/dez	
	21	C41	210	17/out	7/nov	
	21	C42	359	16/nov	7/dez	
	21	C43	266	16/nov	7/dez	
GRUPO EXPERIMENTAL A	3	A11	330	16/nov	19/nov	
	3	A12	400	16/nov	19/nov	
	3	A13	330	16/nov	19/nov	
	3	A14	355	16/nov	19/nov	
	3	A15	380	23/nov	26/nov	
	3	A16	401	23/nov	26/nov	
	7	A21	391	7/dez	14/dez	
	7	A22	346	7/dez	14/dez	
	7	A23	337	7/dez	14/dez	
	7	A24	362	7/dez	14/dez	
	7	A25	348	7/dez	14/dez	
	7	A26	351	7/dez	14/dez	
	15	A31	336	5/dez	20/dez	
	15	A32	340	5/dez	20/dez	
	15	A33	340	5/dez	20/dez	Processo infeccioso
	15	A34	392	5/dez	20/dez	
	15	A35	390	5/dez	20/dez	
	15	A36	340	5/dez	20/dez	
	21	A41	289	14/nov	5/dez	
	21	A42	387	14/nov	5/dez	
	21	A43	364	14/nov	5/dez	
	21	A44	378	14/nov	5/dez	
	21	A45	364	14/nov	5/dez	Processo infeccioso
	21	A46	375	14/nov	5/dez	
GRUPO EXPERIMENTAL B	3	B11	388	23/nov	26/nov	
	3	B12	329	23/nov	26/nov	
	3	B13	396	23/nov	26/nov	
	3	B14	359	23/nov	26/nov	
	3	B15	309	23/nov	26/nov	
	3	B16	339	23/nov	26/nov	
	7	B21	359	5/dez	12/dez	
	7	B22	397	5/dez	12/dez	
	7	B23	360	5/dez	12/dez	
	7	B24	227	12/dez	19/dez	
	7	B25	213	12/dez	27/dez	
	7	B26	231	12/dez	27/dez	
	15	B31	354	5/dez	20/dez	
	15	B32	210	12/dez	20/dez	
	15	B33	224	12/dez	20/dez	
	15	B34	386	5/dez	20/dez	
	15	B35	350	5/dez	20/dez	
	15	B36	388	5/dez	20/dez	
	21	B41	300	1/dez	22/dez	
	21	B42	373	1/dez	22/dez	
	21	B43	370	1/dez	22/dez	Processo Infeccioso
	21	B44	340	1/dez	22/dez	
	21	B45	343	1/dez	22/dez	
	21	B46	380	1/dez	22/dez	

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

**APÊNDICE B - Escores histológicos e medidas histomorfométricas**

<b>ANIMAL</b>	<b>GRUPO</b>	<b>TEMPO (Dias)</b>	<b>ESCORE HISTOLÓGICO</b>	<b>MEDIDA HISTOMÉTRICA</b>
C11 ou 1	C (Controle)	3	1	2.147,5760
C12 ou 2	C	3	1	2.243,8490
C13 ou 3	C	3	1	2.596,8900
C21 ou 4	C	7	2	1.193,3280
C22 ou 5	C	7	2	1.841,5440
C23 ou 6	C	7	4	102,1763
C31 ou 7	C	15	3	485,0580
C32 ou 8	C	15	4	222,1627
C33 ou 9	C	15	3	405,2023
C41 ou 10	C	21	4	279,6074
C42 ou 11	C	21	4	88,8369
C43 ou 12	C	21	4	50,0000
A11 ou 13	A (Laser Vermelho)	3	3	489,8278
A12 ou 14	A	3	1	2.400,0000
A13 ou 15	A	3	2	826,8200
A14 ou 16	A	3	2	2.196,1330
A15 ou 17	A	3	2	2.306,3701
A16 ou 18	A	3	2	444,5011
A21 ou 19	A	7	3	137,0447
A22 ou 20	A	7	3	684,1509
A23 ou 21	A	7	3	1.464,1860
A24 ou 22	A	7	4	72,6722
A25 ou 23	A	7	2	2.687,6460
A26 ou 24	A	7	2	467,0032
A31 ou 25	A	15	3	496,4877
A32 ou 26	A	15	4	153,8871
A33 ou 27	A	15	Necrose	
A34 ou 28	A	15	3	615,3245
A35 ou 29	A	15	3	583,8718
A36 ou 30	A	15	3	434,3458
A41 ou 31	A	21	4	698,6460
A42 ou 32	A	21	4	1.054,1850
A43 ou 33	A	21	4	230,8950
A44 ou 34	A	21	3	636,4814
A45 ou 35	A	21	Necrose	
A46 ou 36	A	21	4	655,8777

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)

**APÊNDICE B - Escores histológicos e medidas histomorfométricas**

<b>ANIMAL</b>	<b>GRUPO</b>	<b>TEMPO (Dias)</b>	<b>ESCORE HISTOLÓGICO</b>	<b>MEDIDA HISTOMÉTRICA</b>
B11 ou 37	B (Laser Infravermelho)	3	2	2.734,2950
B12 ou 38	B	3	2	1.301,7680
B13 ou 39	B	3	2	1.540,5650
B14 ou 40	B	3	2	479,4007
B15 ou 41	B	3	2	2.067,4376
B16 ou 42	B	3	2	1.691,02
B21 ou 43	B	7	3	274,3720
B22 ou 44	B	7	3	417,7718
B23 ou 45	B	7	3	106,0660
B24 ou 46	B	7	2	1.505,9490
B25 ou 47	B	7	3	164,5068
B26 ou 48	B	7	3	2.374,7480
B31 ou 49	B	15	4	67,2745
B32 ou 50	B	15	4	57,0087
B33 ou 51	B	15	4	907,2507
B34 ou 52	B	15	3	426,1387
B35 ou 53	B	15	3	473,5567
B36 ou 54	B	15	3	539,4909
B41 ou 55	B	21	4	184,7859
B42 ou 56	B	21	4	206,274
B43 ou 57	B	21	Necrose	
B44 ou 58	B	21	4	237,1331
B45 ou 59	B	21	3	262,5119
B46 ou 60	B	21	3	124,5492

Fonte: Dados da pesquisa (PPG-FO-PUCRS, 2007)



*Άνεχος*

---

## ANEXO A



*Comissão Científica e de Ética  
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

---

Porto Alegre 30 de outubro de 2006

**O Projeto de: Dissertação**

**Protocolado sob nº:** 0060/06

**Intitulado:** Avaliação histológica da influência da terapia a laser com luz vermelha (685 nm) e infra vermelha (830 nm) no processo inflamatório após a utilização de placas bio-absorvíveis em ratos

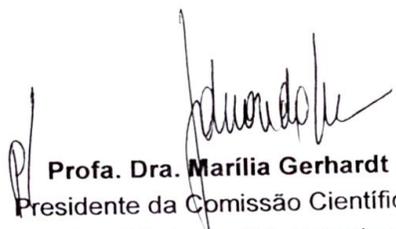
**Pesquisador Responsável:** Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira

**Pesquisadores Associados:** Angelo Luiz Freddo, Profa. Dra. Adriana Etgers, Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber, Prof. Dr. Daniel Humberto Pozza

**Nível:** Mestrado

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em *11 de agosto de 2006*.

*Este projeto deverá ser imediatamente encaminhado ao CEP PUCRS.*

  
**Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**  
Presidente da Comissão Científica e de Ética da  
Faculdade de Odontologia da PUCRS

**ANEXO B**

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 1475/06-CEP

Porto Alegre, 20 de dezembro de 2006.

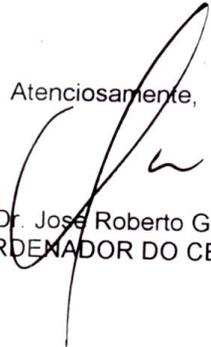
Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 06/03495, intitulado: **"Avaliação histológica da influência da terapia a laser com luz vermelha (685nm) e infra vermelha (830nm) no processo inflamatório após a utilização de placas bio-absorvíveis em ratos"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser entregues a este CEP.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Roberto Goldim  
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)  
Profa Dra Marília Gerhardt de Oliveira  
N/Universidade

**PUCRS**

Campus Central  
Av. Ipiranga, 6690 - 3º andar - CEP: 90610-000  
Fone/Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [cep@pucrs.br](mailto:cep@pucrs.br)  
[www.pucrs.br/prppg/cep](http://www.pucrs.br/prppg/cep)

## ANEXO C

**Lei n.º 6.638 , de 08 de Maio de 1979<sup>37</sup>.**

**Estabelece normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais e determina outras providências.**

**ART. 1º** - Fica permitida, em todo o território nacional, a vivisseção de animais, nos termos desta Lei.

**ART. 2º** - Os biotérios e os centros de experiências e demonstrações com animais vivos deverão ser registrados em Órgão competente e por ele autorizados a funcionar.

**ART. 3º** - A vivisseção não será permitida:

1. Sem o emprego de anestesia;
2. Em centros de pesquisas e estudos não registrados em órgão competente;
3. Sem a supervisão de técnico especializado;
4. Com animais que não tenham permanecido mais de quinze dias em biotérios legalmente autorizados;
5. Em estabelecimento de ensino de primeiro e segundo grau e em quaisquer locais freqüentados por menores de idade.

**ART. 4º** - O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos das experiências que constituem a pesquisa ou os programas de aprendizado cirúrgico quando, durante ou após a vivisseção, receber cuidados especiais.

1. Quando houver indicação, o animal poderá ser sacrificado sob estrita obediência às prescrições científicas.
2. Caso não sejam sacrificados, os animais utilizados em experiência ou demonstrações somente poderão sair do biotério trinta dias após a intervenção, desde que destinados a pessoas ou entidades idôneas que por eles queiram responsabilizar-se.

**ART. 5º** - Os infratores estão sujeitos:

1. Às penalidades cominadas no artigo 64, caput, do Decreto Lei nº 3.688 de 03.10.1941, no caso de ser a primeira infração;
2. À interdição e cancelamento do registro do biotério ou do centro de pesquisa, no caso de reincidência.

**ART. 6º** - O poder Executivo, no prazo de noventa dias, regulamentará a presente Lei, especificando:

1. O órgão competente para o registro e a expedição de autorização dos biotérios e centros de experiências e demonstração com animais vivos;
2. As condições gerais exigíveis para o registro e o funcionamento dos biotérios; III - Órgão e autoridades competentes para a fiscalização dos biotérios e centros mencionados no inciso I.

**ART. 7º** - Esta Lei entrará em vigor na data publicada.

**ART. 8º** - Revogam-se as disposições em contrário.

*Assinado: João Figueiredo, Petrônio Portella, E. Portella e Ernani Guilherme Fernandes da Motta.*

---

<sup>37</sup> Fonte: Disponível em: <http://www.cobea.org.br/etica.htm#topo#topo>. Acesso em: 21 março 2006.

## ANEXO D

### **Princípios éticos na experimentação animal**<sup>38</sup>

A evolução contínua das áreas de conhecimento humano, com especial ênfase àquelas de biologia, medicina humana e veterinária, e a obtenção de recursos de origem animal para atender necessidades humanas básicas, como nutrição, trabalho e vestuário, repercutem no desenvolvimento de ações de experimentação animal, razão pela qual se preconizam posturas éticas concernentes aos diferentes momentos de desenvolvimento de estudos com animais de experimentação. *Postula-se:*

**Artigo I** - É primordial manter posturas de respeito ao animal, como ser vivo e pela contribuição científica que ele proporciona.

**Artigo II** - Ter consciência de que a sensibilidade do animal é similar à humana no que se refere a dor, memória, angústia, instinto de sobrevivência, apenas lhe sendo impostas limitações para se salvaguardar das manobras experimentais e da dor que possam causar.

**Artigo III** - É de responsabilidade moral do experimentador a escolha de métodos e ações de experimentação animal

**Artigo IV** - É relevante considerar a importância dos estudos realizados através de experimentação animal quanto a sua contribuição para a saúde humana em animal, o desenvolvimento do conhecimento e o bem da sociedade.

**Artigo V** - Utilizar apenas animais em bom estado de saúde.

**Artigo VI** - Considerar a possibilidade de desenvolvimento de métodos alternativos, como modelos matemáticos, simulações computadorizadas, sistemas biológicos "in vitro", utilizando-se o menor número possível de espécimes animais, se caracterizada como única alternativa plausível.

**Artigo VII** - Utilizar animais através de métodos que previnam desconforto, angústia e dor, considerando que determinariam os mesmos quadros em seres humanos, salvo se demonstrados, cientificamente, resultados contrários.

**Artigo VIII** - Desenvolver procedimentos com animais, assegurando-lhes sedação, analgesia ou anestesia quando se confirmar o desencadeamento de dor ou angústia, rejeitando, sob qualquer argumento ou justificativa, o uso de agentes químicos e/ou físicos paralisantes e não anestésicos.

**Artigo IX** - Se os procedimentos experimentais determinarem dor ou angústia nos animais, após o uso da pesquisa desenvolvida, aplicar método indolor para sacrifício imediato.

**Artigo X** - Dispor de alojamentos que propiciem condições adequadas de saúde e conforto, conforme as necessidades das espécies animais mantidas para experimentação ou docência.

**Artigo XI** - Oferecer assistência de profissional qualificado para orientar e desenvolver atividades de transportes, acomodação, alimentação e atendimento de animais destinados a fins biomédicos.

**Artigo XII** - Desenvolver trabalhos de capacitação específica de pesquisadores e funcionários envolvidos nos procedimentos com animais de experimentação, salientando aspectos de trato e uso humanitário com animais de laboratório.

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

---

<sup>38</sup> Fonte: Disponível em: <http://www.cobea.org.br/etica.htm#topo#topo>. Acesso em: 21 março 2006.

## ANEXO E



## AUTORIZAÇÃO

A COORDENAÇÃO DE PRODUÇÃO E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL, da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde, autoriza o pesquisador **Ângelo Luiz Freddo** a realizar seu experimento nesta Instituição, titulado "**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA INFLUÊNCIA DA TERAPIA A LASER COM LUZ VERMELHA (685 nm) E INFRAVERMELHA (830 nm) NO PROCESSO INFLAMATÓRIO APÓS UTILIZAÇÃO DE PLACAS BIO-ABSORVÍVEIS EM RATOS**", uma vez aprovado no Comitê de Ética de sua instituição de origem.

*Porto Alegre, 24 de julho de 2006.*

  
Luisa Maria Gomes de Macedo Braga  
Chefe da CPEA

## ANEXO F

Porto Alegre, 01 de agosto de 2006.

Prezada Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira

Venho, pelo presente, solicitar o empréstimo do equipamento Thera *Laser*<sup>®</sup>, de sua propriedade, a fim de realizar a parte experimental desta dissertação intitulada: **Avaliação histológica da influência da terapia a laser com luz vermelha (685nm) e infravermelha (830nm) no processo inflamatório após a utilização de placas bioabsorvíveis em ratos**, caso a mesma seja aprovada pelo Comitê de Ética da FO/PUCRS

Certo de sua compreensão agradeço antecipadamente.

Atenciosamente

ANGELO LUIZ FREDDO

Mestrando

Profa. Dra. MARÍLIA GERHARDT DE OLIVEIRA

Pesquisadora Responsável

## ANEXO G



LABORATÓRIO DE IRRADIAÇÃO E RADIOMETRIA  
GRUPO DE FÍSICA DAS RADIAÇÕES - GFR  
NÚCLEO DE PESQUISA EM INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA  
CENTRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM FÍSICA - PUCRS

1/3



## Relatório Espectrorradiométrico N° 0006IEI/05 - GFR

Data 13/09/05

### MEDIDA DE IRRADIÂNCIA ESPECTRAL E IRRADIÂNCIA

#### 1. REQUERENTE

**Razão Social/Nome:** Faculdade de Odontologia da PUCRS – Marília Gerhardt de Oliveira  
**Endereço:** Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 6  
**Cep:** 90619-900  
**Cidade:** Porto Alegre – RS  
**Telefone:** 3320-3538

#### 2. DESCRIÇÃO DOS ITENS ENSAIADOS <sup>[1]</sup>

A tabela 2.1 identifica as duas fontes lasers ensaiadas do seguinte equipamento:

- **Marca:** DMC.
- **Modelo:** Thera Laser.
- **Tensão:** 127 V.
- **Número de série:** TLSR0391.

2.1 Tabela de Identificação:

Código	Tipo	Potência	Obs.
0006IEI/05 – 01	Fonte Laser Vis	35 mW	---
0006IEI/05 – 02	Fonte Laser IR	100 mW	---

[1] Informações fornecidas pelo requerente.

#### 3. INSTRUMENTO DE MEDIDA

- Espectrorradiômetro: Detecção espectral entre 250-1100 nm em intervalos de 1 nm, com largura de banda não excedendo a 2,5 nm.
- Certificado de Calibração n° 506074717 de 07/06/05.

#### 4. MÉTODO DE MEDIDA

Método realizado de acordo com o Procedimento Técnico Interno de Medida de Irradiância Espectral Difusa.

- Distância fonte - detector:  $(2,5 \pm 0,1)$  cm.
- Intervalos de medida: 400 - 800 nm e 750 - 1100 nm.

Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 96A / 104  
CEP 90619-900 - Porto Alegre - RS - Brasil  
Home-page: www.pucrs.br/gfr E-mail: gfr@pucrs.br

*seco*  
Fone: (51) 3320-3682  
Fax: (51) 3320-3616  
CNPJ 88630413/0002-81



## Relatório Espectrorradiométrico

Nº 0006IEI/05 - GFR

Continuação

Data 13/09/05

### 5. RESULTADO DAS MEDIDAS<sup>[2]</sup>

Tabela com Valores da Irradiância Difusa e Espectros das fontes identificadas pelo código da Tabela 2.1.

5.1 Tabela de Irradiância Difusa e Comprimento de Onda:

Código	Comprimento de Onda	Irradiância Difusa
0006IEI/05 – 01	683 nm	2,87 Wm <sup>-2</sup>
0006IEI/05 – 02	829 nm	13,22 Wm <sup>-2</sup>

5.2 Anexo I: Espectros da Irradiância Espectral Difusa x Comprimento de Onda, para as fontes de radiação identificada pelo código da Tabela 2.1.

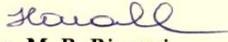
[2] Observações:

- Incerteza das medidas: 251-400 nm : ± 4.0 %; 400-900nm: ± 3.3 %; 900-1000: ± 5.1%; 1000-1100: ± 8.0%.
- Para as medidas de irradiância de barreiras (filtros, óculos, tecidos, entre outros) será acrescida ao código da fonte empregada a seguinte identificação: letra A para a primeira barreira, letra B para segunda e assim, sucessivamente.
- Esse relatório espectrorradiométrico é válido exclusivamente para as amostras identificadas na Tabela 2.1, não sendo extensivo a quaisquer lotes, mesmo que similares.
- O relatório espectrorradiométrico não deve ser reproduzido sem prévia autorização.

Esclarecimento:

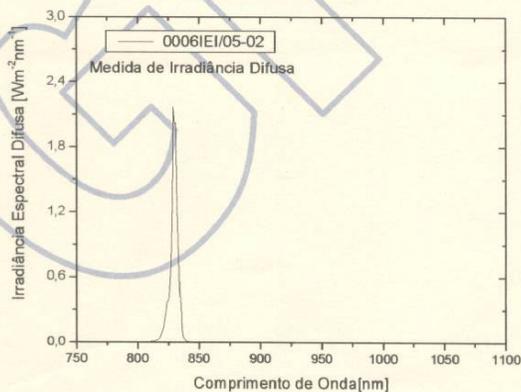
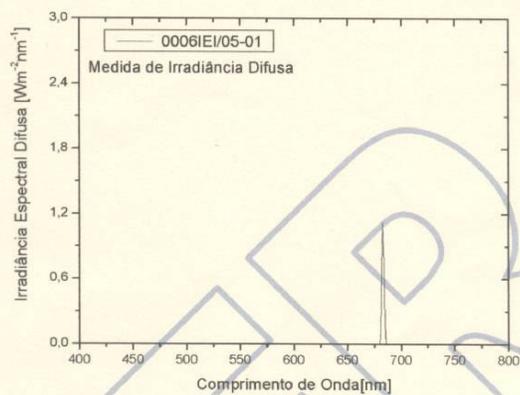
O presente Relatório Espectrorradiométrico nº 0006IEI/05 – GFR está inserido na rede de convênio-cooperação desse Laboratório com o solicitante desse serviço. Como consequência toda divulgação dessas medidas deverá ser acompanhada com a descrição: “Resultados concedidos pelo Grupo de Física das Radiações (GFR-PUCRS)”.

Porto Alegre, 13 de setembro de 2005.

  
**Dra. M. R. Rizzatti**  
Coordenadora do GFR-PUCRS



## ANEXO I (3/3)



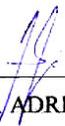
## ANEXO H

Porto Alegre, 01 de agosto de 2006.

À Comissão Científica e de Ética  
Faculdade de Odontologia  
PUCRS

Prezados Senhores:

Vimos, por meio desta, informar que o pesquisador Angelo Luiz Freddo solicitou apoio para a realização da sua pesquisa intitulada: **Avaliação histológica da influência da terapia a laser com luz vermelha (685nm) e infravermelha (830nm) no processo inflamatório após a utilização de placas bioabsorvíveis em ratos**, que será desenvolvida no Programa de Mestrado da Pós-Graduação de Odontologia da PUCRS, que uma vez aprovado pelo Comitê de Ética de sua instituição, poderá ser desenvolvida nas instalações do laboratório do Centro de Diagnóstico de Doenças da Boca da UFPel.



---

Prof.ª. Dra. ADRIANA ETGES