

# ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA E AVALIAÇÃO SOB MICROSCOPIA ÓPTICA DO PROCESSO DE REPARAÇÃO TECIDUAL EM RATOS APÓS APLICAÇÃO DE LASER DE BAIXA INTENSIDADE

Rodrigo Guerra de Oliveira<sup>1</sup>  
Fernando Monteiro Aarestrup<sup>2</sup>  
Leonardo S. Picinini<sup>3</sup>  
Bruno Feital Fusaro<sup>4</sup>

**Resumo** — Foi estudado, por meio de observações clínicas e histológicas, o comportamento de feridas cutâneas provocadas na região dorsal de ratos e submetidas ao tratamento com Laser, aplicado com mesma fluência, porém em frequências distintas. Na análise comparativa, após os períodos de observação de 10 dias, entre as feridas tratadas com laser e as que não receberam nenhum tipo de tratamento (controle), parece-nos lícito concluir que: 1) do ponto de vista clínico e histológico as feridas tratadas com Laser demonstraram reparação bem diferenciado, caracterizado por: a) clinicamente, demonstraram reparação mais rápida; b) histologicamente, o processo de reparação apresentou-se mais acelerado, caracterizado pela elevada taxa de crescimento epitelial. 2) Houve diferença clínica e histológica entre os tempos e grupos estudados com resultados mais significativos para 3 aplicações. 3) No final do experimento, obteve-se cicatrização das feridas, demonstrando completa reparação clínica e histológica, sem evidenciar sinais de efeitos indesejáveis ao emprego do Laser.

**Abstract** — The behavior of cutaneous wounds provoked in the rat's dorsal region was studied by clinical and histological observations, when treated with laser rays, applied with same fluency, however in different frequencies. In the comparative analysis, after the periods of observation of 10 days, the comparison between the wounds treated with laser and the control group led to the following conclusions: 1) under clinical and histological standpoints, the wounds treated with laser showed a well differentiated healing process characterized by: a) a faster healing process under the clinical standpoint; b) histologically, the healing process was more accelerated, characterized by a high epithelial growth; 2) there was a clinical, and histological difference among the groups and intervals studied, being more significant that one of 3 applications; 3) at the end of experiments it was themselves completely healed, with no evidence of inconvenience in the use of laser.

---

1 - Cirurgião-dentista pela UFJF e mestre em Laser pela Universidade de São Paulo.

2 - Pesquisador do Centro de Biologia da Reprodução – CBR da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e do Laboratório de Imunopatologia e Patologia Experimental. Doutor em Patologia pela Universidade Federal Fluminense - UFF - Niterói (RJ). E-mail: femastrup@excite.com.

3 - Mestre em laser pela USP especialista em implantodontia.

4 - Pós-graduando em cirurgia oral e implantodontia – USP, especialista em implantodontia ABO-MG, Professor dos cursos de especialização em implantodontia da Faculdade Estácio de Sá e da Faculdade de Odontologia de Valença, Professor do CEVO – Valença/RJ

# INTRODUÇÃO

O presente artigo desenvolveu, por meio de observações clínicas e histológicas, uma análise do comportamento de feridas cutâneas provocadas na região dorsal de ratos e submetidas ao tratamento com Laser, aplicado com mesma fluência, porém em frequências distintas. O objetivo do presente trabalho é analisar histomorfométrica e microscopicamente o processo de reparação de feridas cutâneas provocadas no dorso de ratos e submetidas ao tratamento com o Laser de baixa intensidade.

## 1 METODOLOGIA

Para o desenvolvimento deste estudo, foram empregados 28 ratos (*Ratus norvegicus, albinus, Wistar*) machos, com peso variando entre 160 e 220 gramas. Todos estes animais procediam do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora.

A região dorsal dos ratos foi depilada após anestesia por inalação de éter sulfúrico e, com um auxílio de um "punch" (FIG 1), de aproximadamente 10 milímetros de diâmetro, foi feita a remoção de um fragmento circular (FIG 2).



FIG 1. Espécime sendo tricotomizado sob anestesia



FIG 2a - Lesão sendo realizada com Punch



FIG 2b - vista frontal da lesão



FIG 3a - Aparelho Laser utilizado



FIG 3b - A forma de aplicação

A aplicação do Laser foi feita de forma “varredura” na área central da ferida, o que permitiu que toda a ferida sofresse tratamento uniforme (FIG 3).

O primeiro grupo, constituído de 7 ratos, aqui denominados de grupo I, tiveram as feridas experimentais submetidas ao tratamento com Laser nos seguintes parâmetros: 15 mW de potência, dose de  $3,8 \text{ J/cm}^2$  e 0,30 segundos de aplicação. Nesse grupo aplicou-se o laser somente após a realização da ferida cirúrgica.

No grupo II, o tratamento foi feito com a mesma dosagem do grupo I, porém os espécimes foram submetidos a duas sessões de laser, sendo uma imediatamente após a realização da ferida e outra 48 horas após o procedimento.

No grupo III, seguiu-se o protocolo executado no grupo II, porém realizou-se uma terceira aplicação 7 dias após a realização da ferida.

O grupo IV (controle) foi formado por ratos que não receberam nenhum tratamento com laser.

Decorridos 10 dias do ato cirúrgico e após aplicação do Laser, os animais foram sacrificados, por overdose de éter sulfúrico. As biópsias foram realizadas cuidadosamente, de maneira a incluir parte da pele adjacente às bordas da ferida e de todo o tecido cicatricial na sua profundidade.

Todas as biópsias obtidas foram fixadas em formalina 10% por 24 horas. A seguir, os tecidos foram incluídos em parafina, orientadas de forma a permitir a realização de cortes transversais, semi-seriados com 6 micrometros de espessura. Os cortes foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina.

## 2 RESULTADOS

### 2.1 Descrição clínica das feridas cutâneas

#### 0 hora

Imediatamente após a realização da ferida cirúrgica, observamos a integridade tecidual do seu bordo em toda sua extensão. As feridas, na maioria dos casos, exibem pequena quantidade de

coágulo sobre a sua superfície, o que mostra com nitidez vasos sanguíneos presentes na profundidade da hipoderme. Em alguns casos, quando rompidos acidentalmente os vasos da derme ou da hipoderme, a ferida torna-se preenchida parcial ou totalmente com o coágulo (FIG. 4).

Embora tenha sido uma das preocupações do presente trabalho, padronizar o tamanho das feridas provocadas, provavelmente devido à espessura da pele, da quantidade do tecido conjuntivo da hipoderme, bem como a relativa mobilidade do tecido seccionado, algumas feridas apresentam-se maiores em relação ao tamanho médio proposto (FIG. 4).



*FIG 4. Imagem da lesão imediatamente após sua realização*

### **10 dias**

As feridas controles exibem padrão de reparação em uma fase de início de formação de crosta, com um aspecto esbranquiçado, de bordo ligeiramente elevado e o centro avermelhado, provavelmente devido à irrigação sanguínea da área e ao epitélio ainda delgado (Fig 5).



*FIG 5. Imagem da lesão grupo controle*

As feridas do Grupo I, neste estágio do experimento, exibem aspecto semelhante da reparação quando comparadas com as do Grupo Controle. Em alguns espécimes a área central mostra a crosta um pouco mais evidente (FIG. 6).



*FIG 6. Imagem da lesão grupo I*

As feridas do Grupo II mostram a área parcialmente reparada. Não há uma diferença clínica significativa destas feridas em relação à dos Grupos Controle e GI. Apresentam a área da ferida sem perda da solução de continuidade da superfície da pele (FIG. 7).



*FIG 7. Imagem da lesão grupo II*

As feridas do Grupo III, embora apresentem completa reparação, exibem a presença de cicatriz caracterizada por bordos evidentes e a porção central ligeiramente desnivelada, porém, mostrando completo restabelecimento morfo-funcional dos tecidos envolvidos (FIG. 8).



*FIG 8. Imagem da lesão grupo III*

Em nenhuma das feridas, tanto as do Grupo Controle, quanto as dos Grupos I, II ou III mostraram quaisquer sinais clínicos de alterações irreversíveis ou de infecção, em nenhum dos períodos de observação.

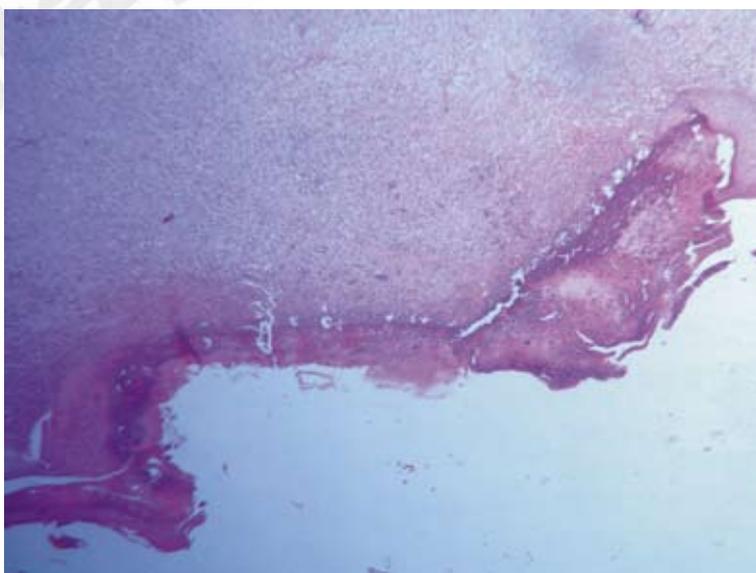
## **2.2 Análise descritiva dos eventos histológicos**

Na descrição dos resultados histológicos, serão consideradas três áreas distintas:

- a) área mais superficial da ferida, envolvendo a proliferação epitelial dos bordos, da porção central da ferida e a presença ou não da crosta;
- b) área de tecido conjuntivo abaixo da porção mais superficial da ferida.

### **Grupo controle**

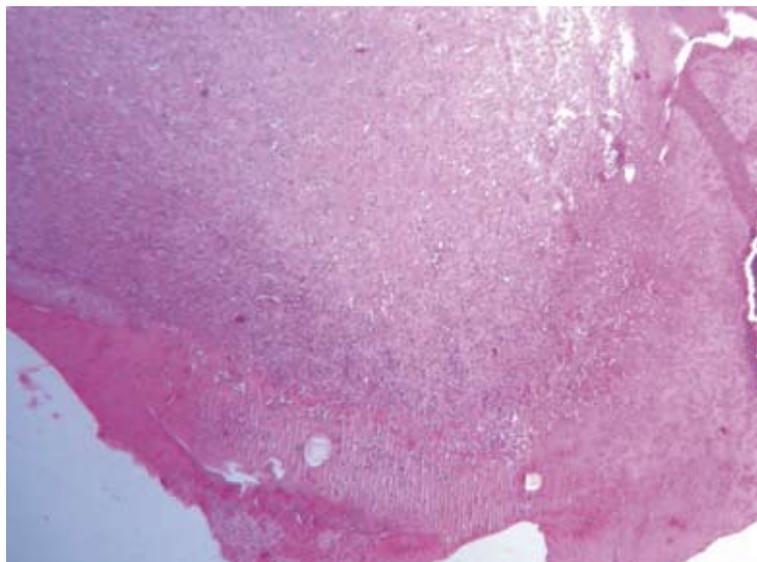
Junto à borda da ferida cirúrgica, nota-se uma discreta proliferação epitelial. Sobre a superfície da ferida, praticamente em toda extensão, nota-se a presença de tecido exibindo ampla área de ulceração e material fibrino-necrótico sobre um tecido de granulação (FIG.9).



*FIG 9. Imagem histológica de lesão do grupo controle*

### **Grupo I**

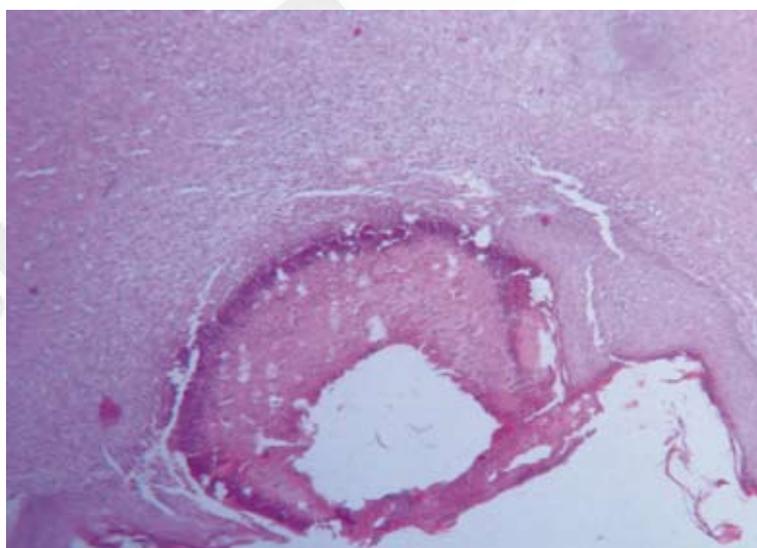
Comparando ao grupo controle, pode ser evidenciada uma proliferação epitelial discretamente mais pronunciada (FIG.10), junto às bordas da ferida cirúrgica. Sobre a superfície da lesão observa-se também um processo inflamatório agudo, com extensa ulceração exibindo fundo necrótico, fibrinoso e leucocitário.



*FIG 10. Imagem histológica de lesão do grupo I*

## **Grupo II**

Neste grupo, em todos os espécimes, observa-se um processo inflamatório agudo ulcerado, aspecto crateriforme e bordos epiteliais hiperplasiados. Ainda é possível observarmos um tecido de granulação (Fig. 11).



*FIG 11. Imagem histológica de lesão do grupo II*

## **Grupo III**

Neste grupo, o estudo histopatológico apresenta um tecido exibindo epiderme íntegra revestindo um tecido de granulação bem desenvolvido (FIG 12). O tecido conjuntivo, tanto superficial, quanto profundo, mostra-se bem desenvolvido, rico em fibras colágenas e orientadas paralelamente à superfície da ferida.

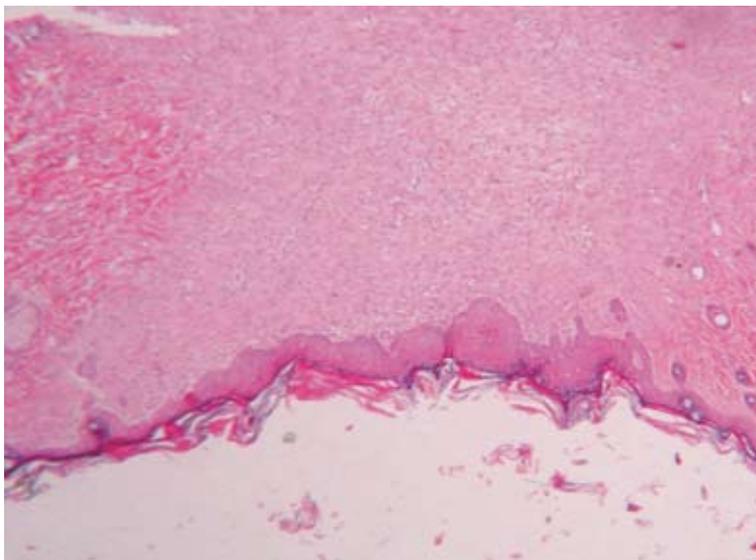


FIG 12. Imagem histológica de lesão do grupo III

### 3 DISCUSSÃO

Na análise dos resultados obtidos no presente estudo, observamos que do ponto de vista clínico e histológico, as feridas submetidas ao tratamento com Laser, quando comparadas às feridas controles, mostraram processo de reparação mais evoluído, caracterizado por maior contração da ferida e velocidade de migração epitelial; a nível do tecido conjuntivo, observou-se maior velocidade da evolução do quadro inflamatório agudo para o crônico, além de elevada proliferação fibroblástica, com formação de tecido conjuntivo bem desenvolvido e rico em fibras colágenas.

Na análise clínica das feridas do grupo I, II e III, submetidas à ação do Laser, o processo de reparação se mostra mais evoluído que o das feridas controles, em todos os períodos do estudo, o que corrobora os resultados de Mester *et al.* (1968); Vejrosta *et al.* (1975); Kana *et al.* (1981); Hunter *et al.* (1984).

Desta forma acreditamos que as feridas do Grupo II e III, comparativamente às feridas controle e às do Grupo I, foram as que apresentaram processo de reparação mais rápido. Isto era mais evidente a partir do 3º dia, com características clínicas mais satisfatórias ao 7º dia, fato que foi observado também por Mester *et al.* (1968); Kana *et al.* (1981); Hunter *et al.* (1984).

No final do experimento que durou 10 dias, as feridas experimentais, mostravam, clinicamente, completa reparação, fato este também observado por Mester *et al.* (1968) e Anneroth *et al.* (1988). Na análise comparativa das feridas, observamos que as do Grupo III mostraram cicatriz com características mais satisfatórias, logo, menos evidente e imperceptível, quando comparadas com as dos Grupos Controle, I e II. Este fato comprova os achados de outros autores (MESTER *et al.* 1968; VEJROSTA *et al.*, 1975) o que entendemos, caracteriza ainda mais os efeitos positivos deste grupo.

Baseado nos trabalhos de Shenck *et al.* (1985) e Schneider *et al.* (1990), acreditamos que a contração maior das feridas experimentais provavelmente se deva à atuação do laser a nível

celular. Segundo estes autores, o Laser concorre para a formação e função dos fibroblastos, provocando nestas células modificações intracitoplasmáticas.

Podemos concluir nossas considerações, analisando os trabalhos apresentados na literatura. Por outro lado acreditamos na necessidade de novos estudos, procurando enfatizar com maior controle metodológico, os diferentes aspectos capazes de oferecer maior sustentação biológica para os resultados clínicos já demonstrados em nossa revisão. E, assim sendo, acreditamos que num futuro próximo, teremos ao alcance da Odontologia os mais modernos avanços da Laserterapia.

## CONCLUSÃO

Diante da metodologia empregada e da análise dos nossos resultados, parece-nos lícito concluir que:

1. Do ponto de vista clínico e histológico as feridas tratadas com Laser apresentaram processo de reparação bem diferenciado, caracterizado por:
  - a) clinicamente, as feridas experimentais demonstraram reparação mais rápida;
  - b) histologicamente, o processo de reparação apresentou-se mais acelerado, caracterizado pela elevada taxa de crescimento epitelial.
2. Houve diferença clínica e histológica entre o número de aplicações e grupos estudados, com resultados mais significativos para 3 aplicações;
3. Ficou evidente que a dosagem empregada no presente estudo foi satisfatória, ou seja, demonstrou completa reparação, clínica e histológica, no período de 10 dias, sem evidenciar sinais de efeitos indesejáveis ao emprego do Laser;
4. Seria ainda oportuno concluir que novos trabalhos devam ser conduzidos no intuito de esclarecer os mecanismos de ação do laser e também validar em pacientes o que demonstrou-se "*in vivo*".

## REFERÊNCIAS

- ANNEROTH, G., HALL, G., RYDEN, H., ZETTERQUIST, L. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **Brit. J. oral Maxillofac. Surg.**, v.26, p. 12-17, 1988.
- HUNTER, J.; LEONARD, L.; WILSON, R.; Effects of low Energy laser on wound healing in a porcine model. **Lasers Surg. Med.**, v. 3, p. 285-290. 1984.
- KANA, J.S.; HUTSCHENREITER, G.; HAINA, D.; WANDELICH, W. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Arch. Surg.**, v. 116, p. 293. 1981.
- MESTER, E.; LUDANY, G.; SELLYEI, M.; SZENDE, B.; TOTA, J.G. The stimulating effect of low power laser rays on biological systems. **Laser Rev.**, v. 1, p. 3. 1968.
- SCHENCK, P., PORTEDER, H., ZETNER, K. Electron microscopy studies of the oral mucosal epithelium after irradiation with a He-Ne laser. **Dtsch Z. Mund. Kiefer Gesichts. Chir.**, v. 9, p. 278-283, 1985.
- SCHNEIDER, N.P., SOUDRY, M., REMUSAT, M., FRANQUIM, J.C., MARTIN, P.M. Modificações da dinâmica de crescimento e ultraestrutura após tratamento com laser hélio-neon de fibroblastos gengivais. **Odontologia Hoje**, v.9, p. 403-417, 1990.
- VEJROSTA, Z.; LUKLOVÁ, L.; HORNOVÁ, J.; DOUBEK, J. Laser radiation in healing oral cavity wounds. **Scr. Méd.**, v. 48, n 6/7, p. 569-576. 1975.