UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO – UNIFENAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EFEITOS DO *LASER* DE BAIXA INTENSIDADE NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM RATOS JOVENS E IDOSOS: ESTUDO MORFOMÉTRICO E MORFOLÓGICO

MÁRCIO ANTÔNIO FERREIRA

ALFENAS - MG
2006

UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO – UNIFENAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EFEITOS DO *LASER* DE BAIXA INTENSIDADE NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM RATOS JOVENS E IDOSOS: ESTUDO MORFOMÉTRICO E MORFOLÓGICO

MÁRCIO ANTÔNIO FERREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Félix Carlos Ocariz Bazzano
Co-orientador: Prof. Ms Marcelo Rodrigo Tavares

ALFENAS - MG
2006

“Não basta a leitura sem unção, não basta a especulação sem a devoção, não basta a pesquisa sem maravilhar-se; não basta a circunspecção sem o júbilo, o trabalho sem a piedade, a ciência sem a caridade, a inteligência sem a humildade, o estudo sem a graça.”

SÃO BOAVENTURA
Bispo e Doutor da Igreja

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

Aos meus **Pais e Familiares** que, na simplicidade e humildade, souberam silenciar e me amparar diante dos momentos mais turbulentos.

Aos meus grandes **Amigos de Alfenas e Campo Belo**, que dividiram comigo os momentos de alegrias e tristezas...

A minha grande amiga e incentivadora **Profa. Janice Vilela Penaforte Torres,** que me empurrou diante das fraquezas e desânimos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos de laboratório de Patologia da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, **Aparecida (Cida) e Antônio (Tonho)**, pela colaboração, pelo incentivo, pelos risos e por acrescentarem muito no meu aprendizado.

Ao **Prof. Dr. Félix Carlos Ocáriz Bazzano**, pela orientação deste trabalho que, mesmo diante a distância e as vezes no silêncio, me acolheu, sem perguntar como e porquê, principalmente pela confiança a mim depositada.

Ao **Prof. MSc Marcelo Rodrigo Tavares**, pelos ensinamentos e pelas palavras acolhedoras, sábias e de carinho...

Ao **Prof. Adriano Macedo de Oliveira** que, mesmo diante dos excessos de atividades, encontrou um tempo precioso para leitura das sofridas lâminas.

Por fim, aos meus companheiros de laboratório, **Tales Rocha Vilela** e **Elton Pirani**, que passaram dias e noites, durante dois anos, cuidando das cobaias, esperando o envelhecimento, bem como as dedicadas horas perdidas diante deste experimento

RESUMO

FERREIRA, Márcio Antônio. **Efeitos do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização em ratos jovens e idosos: estudo morfométrico e morfológico**. Orientador: Félix Carlos Ocariz Bazzano; Co-orientador : Marcelo Rodrigo Tavares. Alfenas: FF/UNIFENAS, 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde, área de concentração Fisiopatologia da Cicatrização).

Com o aumento da expectativa de vida nos últimos anos, muitos problemas surgiram e surgirão com o processo de envelhecimento, inclusive a cicatrização de tecidos envelhecidos. Assim sendo, muitas pesquisas com uso do laser de baixa potência (LBP), para melhorar a cicatrização, têm sido relevantes, porém apenas testadas em tecidos jovens. O propósito desta pesquisa foi verificar os efeitos da aplicação do LBP, 660 nm, na cicatrização em ratos jovens e idosos, por meio de um estudo comparativo morfológico e morfométrico. Quarenta animais (*Rattus norvegicus albinus, Wistar,* machos) foram distribuídos aleatoriamente em 04 grupos iguais (10 ratos jovens tratados (RJT), 10 jovens controle (RJC), 10 idosos tratados (RIT) e 10 idosos controle (RIC), para aplicação do LBP,660 nm, com 3 J/cm^2, 30 mW de potência, durante 7 dias consecutivos. Os grupos-controle foram submetidos aos mesmos procedimentos, porém com o aparelho de laser desligado. Após a excisão cirúrgica com o *punch* metálico, a ferida foi mensurada através da paquimetria, tanto no eixo longitudinal quanto transversal (inicial e final). Da mesma forma a ferida foi fotografada, de cima para baixo, usando uma câmara digital da marca *TEKPIX*, com 3.1 *megapixels*, considerando a mesma distância de 15 cm sem aproximação, *zoom* ou macro, para todos os grupos. As fotos foram capturadas por um *software (ImageLab)* específico, onde a área da ferida foi devidamente demarcada em centímetros, no início e no final do experimento, 1º e 7º dias, respectivamente. Após a confecção das lâminas, as mesmas foram encaminhadas ao Setor de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Alzira Velano, onde ficou evidenciada a porcentagem da reepitalização das feridas. Os dados coletados foram submetidos ao teste *t-student*, bem como Análise de Variância - $p<0,05$, com diferença significante entre as seguintes variáveis e grupos: Eixo Sagital: RJTxRJC; RJCxRIC; RITxRIC; Eixo Frontal : RJTxRIT; RJTxRJC; *ImageLab*: RJTxRIT; RJCxRIC; RICxRIT; RJCxRJT; Na reepitelização: RITxRJT; RITxRIC; RJTxRJC. O tratamento com a terapia l*aser* de baixa potência (660 nm) com 3 joules, durante 07 dias consecutivos, foi eficiente para aumentar a reepitelização dos tecidos, tanto em animais jovens quanto em idosos, portanto o tecido envelhecido responde à terapia por laser da mesma forma que o tecido jovem. A aproximação das bordas da ferida nem sempre pode ser a única variável correlacionada à cicatrização. Não há efeitos lesivos no tecido envelhecido com a terapia *laser* de baixa potência.

Palavras-chave: Envelhecimento, cicatrização de feridas, terapia a laser de baixa intensidade

ABSTRACT

Effects of low potency laser on the cicatrizacion process in young and old rats: a morphometric and morphologic comparative study

The rise of life expectation has brought forth many problems, and others will come with the aging process, including the cicatrization of aged tissues. Therefore, many researches with low potency laser (LPL) to enhance cicatrization are outstanding, although tested in young tissues. A comparative morphologic and morphometric study aimed at verifying the effects of the application of LPL, 660 nm, on cicatrization in young and old rats. Forty male Wistar rats (*Rattus norvegicus albinos)* were separated into four similar groups: 10 treated young rats (TYR), 10 young control rats (CYR), 10 treated old rats (TOR), and 10 old control rats (COR), for the daily application of LPL, 660 nm, with 3 J/cm^2, 30 mW potency during 7 days. The control groups were submitted to the same procedures, but the laser apparatus was turned off. After surgical excision with a metal punch, a pachimeter was used to measure the wound in both frontal and sagittal axes (initial and final). Likewise, the wound was photographed from top to bottom with a *TEKPIX* digital camera, with 3.1 megapixels, and the same distance of 15 cm was maintained without close-ups, zoom or macro, for all the groups. The photos were captured by a specific software (ImageLab), where the area of the wound was duly demarcated in centimeters in the beginning and end of the experiment – 1st and 7th day, respectively. Histological glass slides were prepared and sent to the Laboratory of Pathologic Anatomy of the Alzira Velano University Hospital, wherethe percentage of the reepithelialization of the tissues was evaluated. The data were submitted to the Student´s t-test and analysis of variance (ANOVA) - $p< 0,05$ – with significant differences between the following variables and groups: Longitudinal Axis: TYRxCYR; CYRxCOR; TORxCOR; Transversal Axis: TYRxTOR; TYRxCYR; ImageLab: TYRxTOR; CYRxCOR; CORxTOR; CYRxTYR; in reepithelialization: TORxTYR; TORxCOR; TYRxCYR. The treatment with low potency laser (660nm)with 3 joules, during seven consecutive days, was efficient in enhancing the reepithelialization of tissues in both young and old animals. Therefore, the aged tissues respond like the young ones to laser therapy. The approximation of the wound borders is not always the only variable correlated to cicatrizacion. No damaging effects occur in the aged tissues with low potency laser therapy.

Key Words: aging; wound cicatrizacion; low potency laser therapy

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	1
2	**OBJETIVO**	3
2.1	**OBJETIVO GERAL**	3
2.2	**OBJETVOS ESPECÍFICOS**	3
3	**REVISÃO DA LITERATURA**	4
3.1	**PROCESSO DE ENVELHECIMENTO**	4
3.2	**HISTOLOGIA DA PELE**	7
3.3	**CICATRIZAÇÃO**	8
3.3.1	*Fase Inflamatória ou Exsudativa*	9
3.3.2	*Fase Proliferativa*	9
3.3.3	*Fase de Maturação e Remodelação*	9
3.4	**BIOFÍSICA E AÇÃO DO LASER**	11
3.5	**LASER E LASERTERAPIA**	13
4	**MATERIAL E MÉTODOS**	22
4.1	**MATERIAIS**	22
4.2	**PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**	23
4.3	**EUTANÁSIA DOS ANIMAIS E PREPARAÇÃO DO MATERIAL**	25
4.4	**ANÁLISE ESTATÍSTICA**	28
5	**RESULTADOS**	29
6	**DISCUSSÃO**	32
7	**CONCLUSÃO**	35
8	**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**	36
	ANEXOS	41
	Tabela 1 - Dados referente a peso, data de experimento e paquimetria inicial e final	41
	Tabela 2 - Diferenças de peso e paquimetria longitudinal e transversall em mm	42
	Tabela 3 - Porcentagem do ganho de paquimetria nos eixos longitudinal e transversal da ferida em ratos jovens tratado e controle	43
	Tabela 4 - Porcentagem do ganho de paquimetria nos eixos longitudinal e transversal da ferida em ratos idosos tratado e controle	43
	Tabela 5 - Ganho em mm do diâmetro transverso, maior diâmetro e	44

menor diâmetro inicial e final através do *ImagemLab*
Tabela 6 - Leitura das lâminas – HE – Ratos Jovens Controle e tratados 47
Tabela 7 - Leitura das lâminas – HE – Ratos Idosos controle e tratados 49

LISTA DE ABREVIATURAS

LBP	Laser de Baixa Potência
J/cm^2	Joules por centímetro quadrado
ANSI	*American National Standards Institute*
W/cm^2	Watts por centímetro quadrado
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
HeNe	Hélio-neônio
AsGa	Arseniato de gálio
BioOss	Osso bovino orgânico
mm^2	Milímetros quadrados
mW	Miliwatts
nm	nanômetro
Hz	Hertz
HE	Hematoxilina-eosina
N^2	Nitrogênio
AsGaAl	Arseniato de Gálio e Alumínio

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 Resultados do tratamento com laser entre os grupos tratado e controle em ratos jovens e idosos 29

.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01	Paquimetria (mm) no eixo longitudinal. Significância estatística entre os grupos: RJTxRJC; RJCxRIC; RITxRIC	30
Gráfico 02	Paquimetria (mm) no eixo transversal. Significância estatística entre os grupos : RJTxRIT; RJTxRJC	30
Gráfico 03	Média (mm) – Software *ImageLab*. Significância estatística entre os grupos: RJTxRIT; RICxRIT; RJCxRJT	31
Gráfico 04	Reepitelização (%). Significância estatística entre os grupos: RITxRJT; RITxRIC; RJTxRJC	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	*Punch* metálico	24
Figura 02	Aparelho de *laser* de Baixa Potência - 660 nm – IBRAMED	24
Figura 03	Paquimetria – eixo longitudinal	26
Figura 04	Paquimetria – eixo transversal	26
Figura 05	Área demarcada com *ImageLab* – RJT inicial	27
Figura 06	Área demarcada com *ImageLab* – RJT final	27
Figura 07	Reepitelização – RJT - 70% de epitélio formado	27
Figura 08	Reepitelização – RIT – 100% de epitélio formado	27

1 INTRODUÇÃO

A mídia, a educação, os recursos tecnológicos têm incentivado a população mundial a adquirir hábitos cada vez mais saudáveis, assumindo melhores patamares com relação à qualidade de vida. Como conseqüência, tem aumentado o número de pessoas longevas, gerando, nesta etapa da vida, um caráter preocupante, principalmente aqueles relacionados ao processos corporais, dentre eles a cicatrização tecidual (BUFALARI *et al.*, 1996).

Associadas ao processo de envelhecimento, encontram-se as doenças cardiovasculares, diabetes e neoplasias, sendo comum ainda a desnutrição, deficiências vitamínicas e neuroendócrinas, uso excessivo de medicamentos, sendo essas situações somadas aos distúrbios da reparação tecidual (FREITAS *et al.*, 2002).

Todos esses fatores bem como as grandes mudanças ocorridas nas últimas décadas, no conceito referente à cicatrização tecidual, têm mobilizado as indústrias a desenvolverem e colocarem no mercado produtos cada vez mais específicos, eficazes e adequados a cada tipo de ferida e indivíduo (BUFALARI *et al.*, 1996).

Um bom exemplo seria o laser de baixa potência (LBP) amplamente empregado em diversas situações terapêuticas, inclusive no processo de cicatrização, conforme afirmam Basford (1993), Amaral, Parizotto e Salvini (2001), Bourguignon Filho (2005), Rochkind *et al*.(2004), Mendez *et al.* (2004), Giovanni *et al.*(2003), dentre outros.

Os diversos trabalhos citados com a utilização do LBP foram realizados, em sua maioria, em tecidos jovens, sendo que ainda não há definições de melhores dosagens,

freqüências, potências e tempos de aplicação, nem a comparação dessa resposta em tecidos envelhecidos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar os efeitos da aplicação do LBP (660 nm) na cicatrização da pele em ratos jovens e idosos, por meio de um estudo morfológico e morfométrico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a aproximação das bordas da ferida no início e final do experimento
- Identificar a porcentagem de reepitelização através das lâminas

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Há várias teorias na tentativa de explicar o processo de envelhecimento - algumas ambientais, outras genéticas. Até agora, no entanto, não existe uma teoria completamente aceita, devido à dificuldade em separar causas internas e externas do envelhecimento (ANDERSON e PARRISH, 1981).

O envelhecimento é um processo normal que começa na concepção e termina na morte. Durante os períodos de crescimento, os processos anabólicos excedem as alterações catabólicas. Uma vez que o organismo atinge a maturidade fisiológica, a taxa de alteração catabólica ou degenerativa se torna maior do que a taxa de regeneração celular anabólica (FREITAS *et al.*, 2002).

A perda resultante de células leva à deficiência diminuída da função orgânica em vários graus. O envelhecimento é marcado por uma perda progressiva de massa corpórea magra, assim como por mudanças na maioria dos sistemas corpóreos (FREITAS *et al.*, 2002).

A pele também sofre as influências do processo de envelhecimento, somando-se à influência de fatores externos ao organismo. A maior exposição aos raios solares antecipa e intensifica o processo de envelhecimento da pele, com diminuição da espessura e da elasticidade da epiderme e da derme, em decorrência de alterações do colágeno e diminuição das fibras elásticas (COTRAN, 2000).

Freitas *et al.* (2002) relatam diminuição das funções em todos os níveis corporais com o envelhecimento, entre eles o tecido conectivo, o tecido nervoso, o tecido muscular, tecido ósseo, bem como a velocidade das reações corporais. Há uma lentidão na cicatrização, tendo em vista uma diminuição das mitoses e da vascularização tecidual.

Carlstedt (1987) relata que existem muitos fatores que afetam as propriedades físicas do colágeno, dentre eles: a maturação, o condicionamento físico, a imobilização, o tratamento com glucocorticóides, as injeções de corticóides em nível local, o diabetes, a gravidez e o período pós-parto, a deficiência de vitamina C e os anti-inflamatórios não hormonais, como também todo o processo de envelhecimento.

Relatos no atraso da reepitelização demonstraram diminuição do colágeno tanto em seres humanos como em animais idosos (GILCHREST, 1983; HOLT *et al.,* 1992; REED *et al.,* 1998; *ASCHCROFT et al.,* 1997). Kletsas *et al.*, (2000), não encontraram dependência da idade com o declínio da resposta de fibroblastos humanos aos vários fatores de crescimento. Para eles, a capacidade de sintetizar está mantida e as alterações estariam na dependência de fatores sistêmicos, como os níveis de hormônios.

O envelhecimento leva a alterações tireodianas, sendo relativamente freqüente o estado de hipotireoidismo. Oliveira (1998) relatou que 24,1% dos pacientes idosos por ela estudados apresentavam hipotireoidimo, e Schindler (2003) observou que o envelhecimento aumenta a possibilidade de hipofunção tireoideana, especialmente nas mulheres. Segundo este autor, após a menopausa 2,4% das mulheres apresentam sintomas de disfunção e 23,2% têm doença subclínica.

Estudos feitos em ratos com hipotireoidismo induzido com 5-propil,2-thioracil ou cirurgicamente demonstraram diminuição da resistência das cicatrizes abdominais e da concentração de colágeno, além de atraso da sua organização (ERDOGAN, 1999; NATORI, 1999).

O hormônio tireoideano estaria associado com a proliferação e a secreção dos fibroblastos. A supressão da secreção dos hormônios tireoideanos causaria distúrbio da ativação metabólica nos tecidos e na síntese do colágeno, estendendo-se da fase inflamatória até à fase proliferativa. Deficiências de cicatrização da parede abdominal aumentam a possibilidade de infecção e morte. Quando se verificam deiscências de anastomoses digestivas, a situação é ainda mais grave (NATORI, 1999).

Biondo-Simões (2001), observou que, embora existam diferenças no processo de cicatrização de jovens e velhos, a idade, por si só, não é a causa da falência da cicatrização, tanto nas feridas da parede abdominal, quanto nas anastomoses colônicas. É provável que distúrbios relacionados com o envelhecimento sejam responsáveis pelos danos causados à reparação. Como o hipotireoidismo é uma situação bastante comum nos indivíduos idosos, é possível que a falta dos hormônios produzidos pela tireóide determine a disfunção da cicatrização.

Isso realmente se confirma através do estudo de Biondo-Simões (2005), concluindo que existe uma diminuição da concentração de colágeno decorrente da redução da síntese e retardo de maturação das cicatrizes das anastomoses, muito mais às custas do hipotireoidismo do que do envelhecimento.

3.2 HISTOLOGIA DA PELE

A pele consiste de duas camadas principais, o epitélio de superfície ou epiderme e a camada de tecido conjuntivo subjacente, o cório ou a derme. Abaixo da derme encontra-se a fáscia superficial ou hipoderme. A hipoderme está intimamente ligada à fáscia profunda subjacente, aponeurose ou periósteo (COTRAN, 2000).

Embora os limites entre as porções de tecido epitelial e conjuntivo da pele sejam nítidos, os elementos fibrosos da derme misturam-se com os da hipoderme, de modo que não há uma delimitação nítida entre tais camadas (COTRAN, 2000).

A epiderme é totalmente destituída de vasos sanguíneos; presume-se que seja nutrida por capilares do tecido conjuntivo subjacente, por difusão através do líquido tecidual, que ocupa o extenso sistema intercelular da camada espinhosa (COTRAN, 2000).

Em microscopia óptica são observados feixes de filamentos de 70 a 80 Angstrons (7 a 8 nm) chamados de tonofilamentos. Na camada de células basais, eles estão pouco organizados e orientados fortuitamente; no entanto na camada espinhosa tendem a se agregar em feixes proeminentes (COTRAN, 2000).

Em geral, a superfície externa da derme em contato com a epiderme é irregular e está elevada em papilas que se projetam nas concavidades entre as cristas da superfície profunda da epiderme - é a camada papilar - e a camada mais profunda da derme, camada reticular, sendo que as duas não podem ser separadas (COTRAN, 2000).

Quando analisadas as fibras elásticas da derme, de acordo com Cotran (2000), elas formam redes abundantes e espessas entre os feixes colágenos e estão condensadas ao redor dos folículos pilosos e das glândulas sebáceas e sudoríparas. Na camada papilar elas são muito mais delgadas e formam uma rede contínua e fina nas papilas abaixo do epitélio. As células da derme são mais abundantes na camada papilar do que na reticular e são semelhantes às da camada subcutânea, a não ser pela exiguidade relativa de células adiposas.

3.3 CICATRIZAÇÃO

A cicatrização é um processo fisiológico iniciado com uma resposta inflamatória, caracterizando um aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade capilar e migração de leucócitos (MODOLIN & BEVILACQUA, 1985).

A literatura demonstra que nos primeiros dias os eventos de reparo estão direcionados para prevenção de perda subsequente de sangue, ou seja, a hemostasia, e formação de trombo que fornece matriz preliminar para processos seguintes, onde as plaquetas aderem ao colágeno no espaço perivascular (CANDIDO, 2001).

O colágeno ativa as plaquetas, que liberam fatores que aceleram a migração e a proliferação da principal célula do processo cicatricial, o fibroblasto (CANDIDO, 2001).

Segundo Candido (2001), o processo cicatricial é sistêmico e dinâmico e está diretamente relacionado às condições gerais do organismo. A reparação tecidual

ocorre em três fases distintas, complexas, dinâmicas e sobrepostas. A liberação de mediadores ocorre em cascata, atraindo estruturas à periferia da região traumatizada.

3.3.1 Fase Inflamatória ou Exsudativa

Sua duração é de aproximadamente 2 a 3 dias. Caracteriza-se pelo aparecimento dos sinais da inflamação: dor, calor, rubor e edema. Mediadores químicos provocam vasodilatação, aumentam a permeabilidade dos vasos e favorecem a quimiotaxia dos leucócitos (CANDIDO, 2001).

3.3.2 Fase Proliferativa

Tem duração de 12 a 14 dias. Ocorrem angiogênese, produção de colágeno pelos fibroblastos e intensa migração celular, principalmente queratinócitos, promovendo a epitelização. A cicatriz possui aspecto avermelhado (CANDIDO, 2001).

3.3.3 Fase de Maturação e Remodelação

A terceira etapa dura, na maioria das vezes, meses, e em algumas situações, anos. Ocorre reorganização do colágeno, que adquire maior força tênsil e empalidece. A cicatriz assume a coloração semelhante à pele adjacente (CANDIDO, 2001).

A ferida, ao se contrair, retrai suas bordas de pele para o centro, permitindo que a área a ser reepitelizada seja menor (OLIVEIRA, 1992).

Oliveira (1992) relata ainda que, quando há granulação excessiva, ocorre um retardamento na cicatrização. A prevenção pode ser obtida pelo fornecimento de uma cicatrização subcrostal, sendo que a formação da crosta em feridas não exsudativas favorece o processo de cicatrização, e isto pode ser conseguido através de diversas substâncias e recursos.

A cicatrização depende de vários fatores, tais como: localidade, tipo de pele, raça, técnica cirúrgica utilizada, etc. Pode variar se a ferida ocorrer no feto, no recém-nascido ou no indivíduo adulto (JULIA *et al.*, 1992).

A resposta à cicatrização não existe de forma absoluta, pois feridas diferentes, em diferentes tipos de pacientes, requerem diferentes formas de tratamento. Como refere Dealey (2001), “não se pode fazer esse tipo de comparação de forma absoluta”, pois o tratamento de lesões com o objetivo de favorecer sua cicatrização não se restringe ao estabelecimento de rotinas para trocas de curativos ou ao estabelecimento de protocolos sobre o uso de produtos.

Pesquisadores relataram em idosos o atraso da reepitelização e demonstraram a diminuição do colágeno tanto em seres humanos como em animais. Kletsas *et al*. (2000), não encontraram evidências da relação de dependência da idade com o declínio da resposta de fibroblastos humanos aos vários fatores de crescimento. Para eles a capacidade de sintetizar está mantida e as alterações estariam na dependência de fatores sistêmicos, como os níveis de hormônios.

3.4 BIOFÍSICA E AÇÃO DO LASER (LIGTH AMPLIFICATION BY STIMULATED EMISSION OF RADIATION)

De acordo com Miserendino e Pick (1995) e Zezell (2001), os lasers são compostos, na maioria por:

- Ressonador – tubo ou cavidade óptica com um arranjo de espelhos que amplificam seus efeitos, sendo um espelho de reflexão total e outro parcial;
- Meio ativo – determina o comprimento de onda da luz emitida;
- Mecanismo de excitação ou bombeamento – consiste em uma fonte de energia externa que excita os elétrons do meio ativo. Pode ser uma descarga elétrica, o disparo de um flash e até uma ativação por outro laser.

Miserendino e Pick (1995) e Zezell (2001) determinaram que a luz emitida possui propriedades únicas que a diferenciam da luz comum, tais como: monocromaticidade – cada onda de luz possui a mesma cor, ou seja, o mesmo comprimento de onda. Há uma coerência, onde o feixe se propaga na mesma direção no tempo, no espaço e freqüência. A luz, conforme afirmam os autores acima, é unidirecional, não havendo divergência de seus feixes.

A interação do laser, quando atinge os tecidos biológicos seria: absorção – a luz é absorvida pelos tecidos, como água, hemoglobina, melanina, etc; sofre reflexão, onde parte da luz é refletida e perdida; parte da luz se espalha pelo tecido, perdendo sua potência e a luz atravessa toda a espessura do tecido (transmissão), (MISERENDINO e PICK, 1995; ZEZELL, 2001).

De acordo com a ANSI (*American National Standards Institute),* os lasers são classificados tendo em vista sua periculosidade. Essa classificação é baseada na potência de saída e comprimento de onda do laser, sendo quatro classes distintas: Classe 1 – lasers sem perigo, cuja potência não é percebida pelos olhos (leitor de CD): Classe 2 – perigosos, se alguém olhar diretamente para eles (leitor de código de barras); Classe 3a – média potência e perigosos, se a luz for focalizada pelos olhos através de lentes ópticas (ponteiras laser) (DAMANTE *et al.*, 2004).

Ainda de acordo com o mesmo Instituto, Damante *et al.*(2004) dizem que a Classe 3b – média potência - são perigosos, se forem vistos diretamente e a Classe 4 – alta potência – podem causar dano ocular não apenas por contato direto, mas também quando refletidos. São danosos à pele e inflamáveis.

Para que se obtenha a resposta biológica adequada, é necessário atingir a dose ótima de radiação, o comprimento de onda correto e aplicações suficientes para produzir o efeito. O comprimento de onda, densidade de energia (dose), densidade de potência (intensidade), tipo de regime de operação do laser e número de sessões devem ser observados antes do tratamento (RIBEIRO, 2001).

A potência do laser é o valor dado pelo fabricante em watts (W). A densidade de potência é a potência de saída de luz por unidade de área medida em watts por centímetro quadrado (W/cm^2). A densidade de energia (dose) é a grandeza que avalia a possibilidade de estímulo ou inibição dos efeitos do laser; é a quantidade de energia por unidade de área transferida ao tecido. Geralmente é expressa em joules por centímetro quadrado (j/cm^2) (RIBEIRO, 2001).

Os mecanismos biomoleculares do laser de baixa intensidade têm como evento inicial a absorção da luz pelos cromóforos. Os citocromos, presentes na mitocôndria, são responsáveis por converter ADP em ATP, que fornece energia para a célula e dirige o seu metabolismo (síntese de proteínas, replicação, motilidade celular, manutenção do potencial de membrana). Como os citocromos são fotossensíveis, a energia do laser é absorvida e convertida em energia para a célula (ATP) (LABBE *et al.*, 1990; MISERENDINO e PiCK, 1995).

Karu (2001) propôs um modelo de estimulação dos sistemas biológicos para a luz visível (vermelha). A luz promove mudanças fotoquímicas nos receptores das mitocôndrias, alterando o metabolismo. Há envio dos sinais para outras áreas da célula e geração de fotoresposta.

Nenhum efeito colateral foi observado com o uso de lasers no espectro vermelho ou infravermelho, pois seus fótons são de baixa energia e não causam ionização, mas somente excitação e calor (TURNER e HODE, 1996).

3.5 LASER E LASERTERAPIA

O *laser* foi idealizado por Albert Einstein em 1917, que expôs os princípios físicos da emissão estimulada. A sigla *LASER* (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) significa: “ Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação” (VEÇOSO, 1993).

Em 1950 foi construído um oscilador operando na banda milimétrica, chamado *MASER* (*Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation)*. Em 1958, foi

proposto o *laser* óptico por Schawtow e somente em 1960 foi desenvolvido o emissor a rubi por Theodore H. (BAXTER, 1994).

Lehmann e Lateur (1994) relataram que o *laser* é uma onda eletromagnética, constituída por um feixe de fótons de mesma freqüência em coluna, com o comprimento de onda em fase.

A laserterapia, a partir de sua introdução no arsenal fisioterápico proporcionou, e continua proporcionando, vários benefícios associados ou não a outros recursos fisioterapêuticos (BAXTER, 1994).

Em 1965, foi desenvolvido o *laser* terapêutico, encontrando sua aplicação na medicina, em especial nas cirurgias, tendo sido extendido às possíveis aplicações clínicas, na interação atérmica do *laser* com os diversos tecidos (KANA *et al.*, 1981).

Os *lasers* de baixa potência, como os de rubi, hélio-neônio (HeNe), arsênio-gálio e de arsênio-gálio-alumínio (AsGaAl), passaram a ser utilizados. Eles possuem um efeito fotobiológico que promove aceleração dos eventos do processo de cicatrização tecidual. Atuam em nível celular, através da interação fotoquímica, podendo promover aumento do metabolismo celular e, conseqüentemente, induzir diferentes efeitos, como analgesia, antiinflamatório e reparador (THEODORO *et al.*, 2002).

Bourguignon Filho (2005) relata que um dos primeiros trabalhos para avaliar o efeito do *laser* na cicatrização de feridas de tecido mole foi realizado por Mester e colaboradores, em 1971. Este utilizou o laser de rubi com comprimento de onda de 694,3 nm e doses de 0,5, 1, 4, 5 e 10 J/cm^2 para irradiar feridas em dorso de ratos.

Observou que 1 J/cm^2 proporcionou melhor cicatrização em comparação com outras dosagens.

A eficácia da terapia com *laser* de baixa potência usada no tratamento em tecidos moles é controversa, conforme afirma Basford (1993). Atualmente vários estudos foram feitos com uso do laser de baixa potência (LBP) em processos de regeneração em tecidos , principalmente a pele (MESTER, MESTER e MESTER, 1985).

Contudo, verificam-se amplos estudos da aplicação do *laser* no processo cicatricial em úlceras, úlceras varicosas, fraturas, tendões, músculos, sendo que há significância estatística em alguns deles, ou seja, há um incremento da cicatrização tecidual promovendo a reconstituição da área lesada por determinado tempo, (STADLER *et al.*, 2000; REDDY, STEHNO-BITTEL,ENWEMEKA, 1998; VARGAS *et al.*, 1999; WALKER *et al.*, 2000).

Amaral, Parizotto e Salvini (2001) afirmam que a regeneração músculo-esquelética, a partir do uso do *laser* de baixa potência, se torna mais eficiente quando usado em uma dosagem adequada. No trabalho proposto foram utilizados 15 ratos, separados em 03 grupos diferentes, sendo usadas dosagens diferentes do *laser* HeNe (632,8 nm), com 2.6 mW, para cada grupo (2,6; 8,4 e 25 joules).

Comparando os resultados obtidos com uso do *laser* HeNe, com outros trabalhos usando um protocolo experimental com irradiação do AsGa, afirmam Amaral, Parizotto e Salvini (2001) que o uso do HeNe com uma dosagem de 2.6 joules é mais eficiente na regeneração do tecido músculo-esquelético.

O *laser* HeNe foi utilizado por Kana *et al.* em 1981, conforme afirma Bourguignon Filho (2005), com uma potência de 25 mW e comprimento de onda de 632,8 nm, utilizado em feridas no dorso de ratos. As doses utilizadas foram 4, 10 e 20 J/cm^2 diariamente, durante 17 dias. A melhor cicatrização foi encontrada quando da aplicação de 4 J/cm^2 e redução da velocidade de cicatrização com doses de 20 J/cm^2.

Garavello *et al.* (2003) verificaram a cicatrização de defeitos ósseos em tíbias de ratos, com a aplicação do *laser* HeNe. Seus resultados mostram que as doses de 0,03 J/cm^2 não proporcionaram aumento significativo de trabeculado ósseo, mas as doses de 0,3 e 0,9 J/cm^2 promoveram aumento significativo de trabeculado ósseo em relação ao grupo controle, durante 7 dias. Com 14 dias não houve significância.

Em contrapartida, Rochkind *et al.* (2004) utilizaram o laser HeNe (632,8 nm, 35 mW) associado ou não ao tratamento com enxerto de osso bovino orgânico (BioOss), em região de processo alveolar na mandibula de ratos. Os animais foram separados aleatoriamente em quatro grupos, sendo o grupo I :lado esquerdo – osso intacto e lado direito – osso lesado e controle; Grupo II: lado direito lesado – tratado apenas com enxerto (BioOss); Grupo III – lado direito lesado – tratado com *laser* HeNe, por 20 minutos, 14 dias consecutivos e no grupo IV – lado esquerdo lesado – tratado com enxerto (BioOss) e lado direito lesado – tratado com *laser* HeNe.

Após 2 semanas o osso mandibular foi removido e analizado com a técnica de espectroscopia de infravermelho. A composição da estrutura do tecido ósseo foram determinadas e comparadas entre os quatro grupos. Rochkind *et al.* (2004) concluiram que tanto a irradiação por *laser* (HeNe) quanto o enxerto (BioOss) promoveram o reparo ósseo em comparação com os grupos não tratados.

Ainda segundo alguns estudos de Mendez *et al.* (2004), usando o *laser* de baixa potência (830 nm, comprimento de onda 2 mm^2, 35 mW e 685nm), isoladamente ou em associação com doses de 20 ou 50 joules em ferida cutânea de ratos irradiados apresentaram aumento da produção e organização do colágeno quando comparados aos não irradiados (controle). A inflamação estava presente em todos os grupos em todo tempo. O grupo tratado com 830nm e 685nm com 20 J/cm^2 apresentou melhores resultados no período experimental. O autor concluiu, portanto, que a terapia *laser* de baixa intensidade pode ter um efeito biomodulador positivo no reparo de feridas cutâneas (MENDEZ *et al.*, 2004).

Seguindo o mesmo raciocínio, Rocha Júnior *et al.* (2006) propuseram um modelo experimental, onde foram utilizados 12 ratos *wistar*, separados aleatoriamente em dois grupos (n=6) e submetidos à irradiação laser de baixa intensidade, com 3,8 J/cm^2 , 15 mW de potência e tempo de aplicação de 15s, por um período de 10 dias.

De acordo com os resultados da pesquisa acima, foi observado que a terapia laser de baixa intensidade na cicatrização tecidual é eficaz, mostrando efeitos positivos, aumentando a vascularização local, formando um tecido de granulação mais organizado, acelerando, portanto, a proliferação tecidual (ROCHA JÚNIOR *et al*., 2006).

Ribeiro (2001), em estudos realizados na cicatrização de pele em queimaduras de animais produzidas com N^2, obteve bons resultados com a terapia *laser* de baixa intensidade (HeNe – 632,8 nm com dose de 1,0 J/cm^2) comparados com os não irradiados. O autor salienta que a direção da luz polarizada perpendicularmente à

ferida , bem como a dosimetria, são de fundamental importância na eficácia da terapia *laser*.

A terapia laser tem suas potencialidades firmadas através de estudos bem dirigidos, sugerindo resultados positivos, como afirmam Hakguder *et al.* (2003), que dedicaram seus estudos no uso desta terapia na síndrome da dor miofascial, onde sugere uma evolução algométrica e termográfica. Sessenta e dois pacientes com síndrome da dor miofascial (SDM), divididos aleatoriamente em 2 grupos iguais porém com terapias diferenciadas. No grupo 1 foi utilizada a terapia *laser* de baixa intensidade associada a exercícios de alongamento e o grupo 2, somente alongamento.

Foram utilizados como parâmetros avaliativos a escala visual analógica(EVA), algometria de *trigger points*, dentre outros. Uma comparação foi feita entre os grupos pré e pós terapia, três semanas após o início do tratamento. Os pacientes do grupo 1 tratados com a terapia *laser*, associada a exercícios de alongamento, obtiveram melhores resultados, sugerindo, portanto, a eficiência da terapia *laser* como analgésica (HAKGUDER *et al.*, 2003).

Outro achado semelhante nota-se em estudo de Ozdemir, Birtane, Kokino (2001) no uso da terapia *laser* de baixa potência na dor e função em osteoartrite cervical, sugerindo melhoras no grupo tratado em comparação com o controle, sendo satisfatório no alívio da dor e na melhora da função na osteoartrite cervical.

Ainda como bons resultados, Giovanni *et al.* (2003) revela regeneração tecidual considerável no processo de cura após extração dentária em 15 pacientes HIV-positivos, após a irradiação com *laser* de baixa potência (790nm/ 30 mW). O processo

de regeneração tecidual no processo de cura levou menos tempo que com procedimentos convencionais, onde todos os pacientes responderam satisfatoriamente à terapia *laser*.

Os efeitos do *laser* arsênio-gálio foi estudado por Anneroth *et al.* (1988), com comprimento de onda de 904 nm, em cicatrização de feridas em dorso de ratos, utilizando uma potência de 0,5 mW, irradiação pulsátil e freqüência de 500Hz. As feridas foram irradiadas diariamente. As peças foram analisadas histológica e macroscopicamente do 2º ao 15º dia pós-operatório. Seus resultados não mostraram benefício com o uso deste tipo de *laser* no processo de cicatrização tecidual.

Oliveira *et al*. (1997) também utilizaram o *laser* arsênio-gálio em feridas cutâneas de ratos, com potência de 2 mW e freqüência de 2.100 hertz. O autor utilizou a aplicação em forma de varredura, durante 2 a 4 minutos no pós-operatório. Houve aceleração do processo de cicatrização nos grupos experimentais, com ênfase no 6º dia após aplicação.

Em estudo *in vitro* foi utilizado o *laser* de arsênio-gálio-alumínio (830 nm) com potência de 40 mW, 5 segundos de irradiação, dose de 1 J/cm^2. As aplicações foram diariamente, durante 3 dias, de forma contínua, com distância de 6 mm dos fibroblastos. Os resultados mostraram aumento destas células (VINCK *et al.*, 2003).

Viegas *et al.*, (2004) utilizaram o *laser* de 685 nm em enxertos gengivais livres em humanos, com períodos de aplicação de 48/48 horas, com 8 sessões ao redor das áreas receptoras e doadoras do enxerto. Os resultados mostraram avançada cicatrização, principalmente nos primeiros 14 dias após a cirurgia.

O efeitos do *laser* de 650 nm foram estudados por Lomeli, Krotzsch e Michtchenko (2004), utilizando fibroblastos humanos cultivados. No estudo, foi instituída uma irradiação contínua de 605 nm com doses de 0,5, 1, 3, 5 e 7 J/cm^2, densidade de potência de 30 mW/cm^2. A proliferação de fibroblastos foi mensurada através do método de incorporação de timina. Os resultados foram obtidos entre 24, 48, 72 e 96 horas após o início. Os resultados mostraram diferenças de proliferação entre os grupos.

O efeito do *laser* diodo (830 nm) também foi testado no processo de cicatrização de tecido cutâneo em ratos por Rezende (2001). O autor separou 64 animais divididos aleatoriamente em 4 grupos de 16 animais. A comparação biométrica e histológica foram feitas nos períodos de 3, 7 e 14 dias após a cirurgia e a aplicação do *laser.*

Na pesquisa acima Rezende (2001) utilizou o grupo G1 como controle, grupos G2 e G4 com doses de 3 J/cm^2 e grupo G3 com 1,3 J/cm^2. Para o grupo G2, ele utilizou uma intensidade de 428 mW/ cm^2 e nos grupos G3 e G4, de 53 mW/ cm^2.

De acordo com os resultados desta pesquisa, através da análise histológica e biométrica, Rezende (2001) relata que a combinação dos valores de intensidade de 53 mW/ cm^2 e a dose de 1,3 J/cm^2 obteve bons resultados, apresentando contração da lesão, neoformação epitelial e tecido conjuntivo com mais fibras colágenas.

Em outra pesquisa, Silva Júnior *et al.* (2002) utililizaram o *laser* arseniato de gálio, usando para avaliação o acompanhamento morfométrico computadorizado. Os autores utilizaram quatro grupos com 10 animais cada, sendo que, no grupo A, foram instituídas 12 sessões de 4,8 J/cm^2 por 28 dias. No grupo C, 03 sessões de 4,8 J/cm^2

por 07 dias. Os grupos B e D foram os controles não irradiados. Os resultados obtidos foram satisfatórios em comparação com os grupos E e D (p=0,017). Houve diferença entre os grupos A e B, porém sem significância estatística.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa refere-se a um estudo experimental, pelo qual foram formados grupos equivalentes e, portanto, ideais para comparação.

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus)* albinos, machos, da linhagem WISTAR: os jovens, com 10 semanas e peso variando entre 80 a 200g; os idosos, com 2 anos e peso variando entre 300 e 500g, todos provenientes do Biotério Central da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS.

Durante o experimento, os animais jovens permaceram em gaiolas metabólicas, contendo 01 animal por gaiola, com condições de temperatura (variando de 24ºC a 28ºC), iluminação e ventilação adequadas, com fácil acesso à água e alimentação sem restrição.

Os ratos idosos foram mantidos em caixas de polietileno contendo maravalha, tendo em vista algumas restrições da gaiola metabólica devido o tamanho dos animais.

4.1 MATERIAIS

Foram utilizados para este estudo :

- Aparelho de *laser* de baixa potência, comprimento de onda de 660nm e 30 mW/cm^2 de potência, da marca Laserpulse, da empresa Imbramed – Brasil;

- Ração padrão *ad libidum;*
- Cloridrato de Cetamina/ Cloridrato de Xilazina/ Atropina;
- Câmera fotográfica digital marca TEKPIX (3.1 *mega pixels*)
- Instrumento metálico circular cortante (*Punch*)
- *Software (ImageLab)*

4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Após ter sido aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, iniciou-se o experimento conforme a literatura consultada.

Foram formados 04 grupos alteatoriamente, sendo 10 para o jovem controle (RJC), 10 para o jovem tratado (RJT), 10 para o idoso controle (RIC) e 10 para o idoso tratado (RIT).

Após a anestesia geral com uso de clodridrato de cetamina 10% e cloridrato de xilazina 2%, sendo a dosagem de 0,2 ml para cada 100g de peso por animal, 50% de cloridrato de cetamina (5 mg), 50% cloridrato de xilazina (2 mg) e 0,03 ml de atropina para os ratos idosos, todos os ratos foram submetidos à tricotomia no dorso e posteriormente à excisão cirúrgica circular da pele, com uso do *punch* metálico (fig. 01), devidamente milimetrada (em torno de 0,5 cm de diâmetro).

Fig 01 – *Punch* metálico

Foi aplicado o *laser* de baixa potência 660 nm (fig 02), 30 mW/cm^2, com densidade de energia radiante de 3 J/cm^2, com aplicação do tipo pontual, no centro da ferida, durante 07 (sete) dias consecutivos em 10 ratos jovens tratados, sendo o tempo de aplicação determinado automaticamente pelo aparelho utilizado.

Fig. 02 – Aparelho de *laser* de Baixa Potência - 660 nm - IBRAMED

10 ratos jovens controle foram submetidos aos mesmos procedimentos porém com o aparelho de *laser* desligado.

Da mesma forma procedeu-se para os ratos idosos.

4.3 A EUTANÁSIA DOS ANIMAIS E A PREPARAÇÃO DO MATERIAL

Os animais foram submetidos ä eutanásia em câmara com monóxido de carbono, no 7º dia após a intervenção cirúrgica. A pele dorsal foi dissecada e colocada em um frasco pequeno para coleta do material (cassete) e mantido em paraformaldeído à 10%, com volume dez vezes superior ao volume da peça. O material foi transportado ao Serviço de Patologia da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, em Alfenas, onde foram preparadas as lâminas.

As peças foram desidratadas com álcool etílico de maneira lenta e gradual crescente, diafanizado em xilol, impregnado e incluído em parafina.

Após a obtenção do bloco de parafina, o mesmo foi cortado (cortes transversais) no micrótomo (4 micrometros) e corados por Hematoxilina-Eosina

Após a excisão cirúrgica com o *punch* metálico, a ferida foi medida por meio da paquimetria tanto no eixo transversal quanto no eixo longitudinal. A mesma determinação foi realizada após a eutanásia dos animais. Do valor da paquimetria (transversal e longitudinal) (figs. 03 e 04) inicial (1º dia) e final (7º dia), obteve-se, em cm, o ganho final de contração das bordas da ferida.

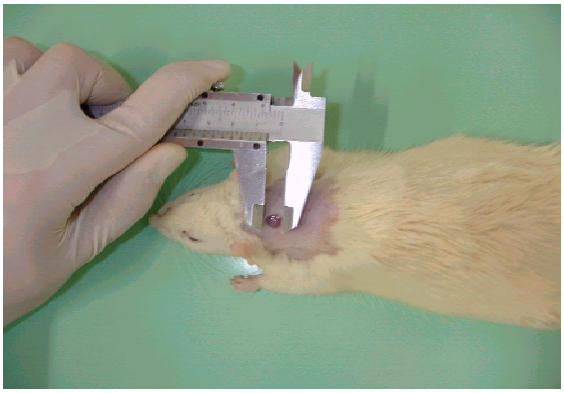

Fig. 03 – Paquimetria – Eixo Longitudinal

Fig. 04 – Paquimetria – Eixo Transversal

Da mesma forma a ferida foi fotografada, de cima para baixo, usando-se uma câmara digital da marca *TEKPIX*, com 3.1 *megapixels*, considerando a mesma distância de 15 cm, usando um tripé, não sendo utilizado nenhum artifício como "zoom" ou "macro" para obtenção da foto, para todos os grupos, no início (1º dia) e final (7º dia) do experimento.

As imagens digitalizadas foram capturadas por um *software (ImageLab)* específico, onde a área da ferida foi devidamente demarcada, em centímetros, no início e final do experimento, 1º e 7º dias, respectivamente, comparando-as.

Fig.05 – Área demarcada com ImageLab – RJT inicial

Fig. 06 – Área demarcada com ImageLab RJT final

Após a confecção das lâminas, as mesmas foram encaminhadas ao Setor de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Alzira Vellano, onde se determinou a porcentagem da reepitelização das feridas por meio de um microscópio óptico acoplado a uma câmara de vídeo e a um computador eletrônico com objetiva de 40X. Foram capturadas 03 imagens de cada lâmina e escolhida aquela que delimitava início e o final da ferida. A partir deste dado, foi obtida a porcentagem de reepitelização em cada imagem (figs. 7 e 8), calculando-se a média final.

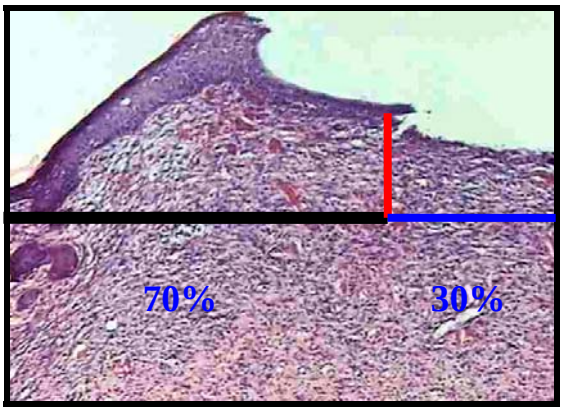

Fig. 07 – Reepitelização – RJT - 70% de **epitélio formado**

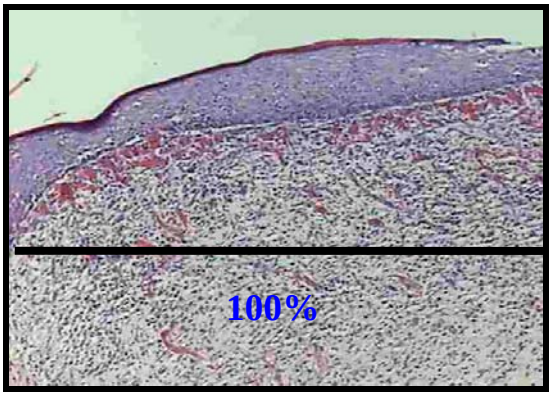

Fig. 08 – Reepitelização – RIT – 100% de epitélio formado

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram submetidos à análise de normalidade por meio do teste *t de Student* e posteriormente foram aplicados a análise de variância (ANOVA) . Para todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

Tabela 1 – Resultados do tratamento com laser entre os grupos tratado e controle em ratos jovens e idosos

	RJT	*RJC*	*RIT*	*RIC*
Eixo Longitudinal (mm)	0,36	0,25	0,38	0,12
Eixo Transversal (mm)	0,08	0,03	0,03	-0,05
ImageLab (mm)	1,33	0,98	0,44	0,61
Reepitelização (%)	33,7	23,5	40,5	22,5

Os dados da tabela 1 referem-se aos 4 grupos de ratos, sendo 10 jovens tratados (RJT – de 1 a 10); 10 jovens controle (RJC – de 1 a 10); 10 idosos tratados (RIT - de 2 a 10, sendo que o primeiro morreu); 10 idosos controle (RIC – de 1 a 10).

Nesta mesma tabela foram organizadas a diferença da média de peso antes e após o experimento, data inicial e final do experimento e a média da paquimetria, aferida no eixo longitudinal da ferida (no 1º e 7º dia de experimento), bem como no eixo transversal da ferida (no 1º e 7º dia de experimento), média da área de reepitelização através da leitura das lâminas e a média da área da ferida mensurada através de um software específico para morfometria (*ImageLab*);

Nota-se que, durante o experimento, houve ganho de peso dos ratos jovens controle e tratado e perda de peso ponderal dos ratos idosos controle e tratado.

Calculando-se a diferença entre o início da paquimetria, tanto longitudinal quanto transversal, nota-se em cada linha, na tabela 1, o ganho real em milímetros de aproximação das bordas da ferida

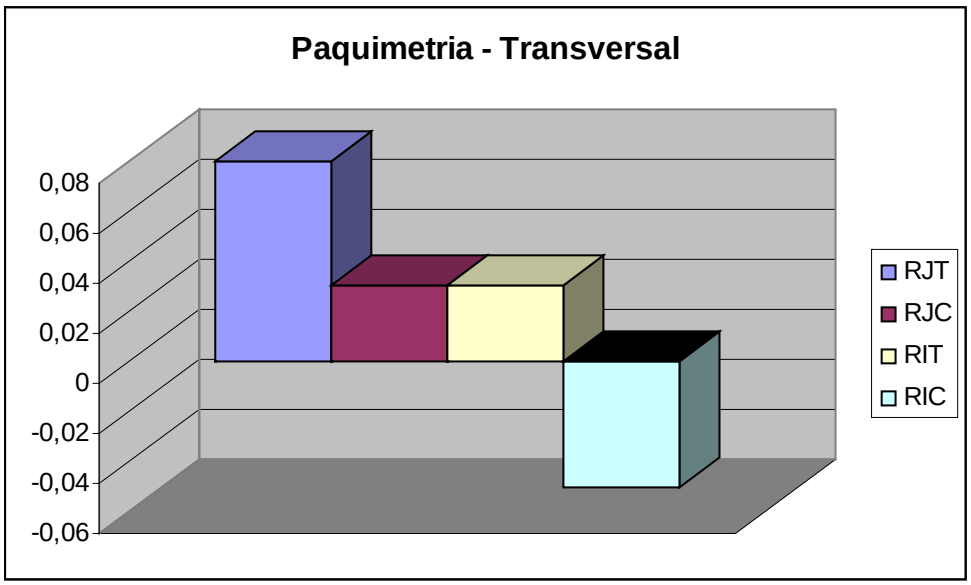

GRÁFICO 01 – Paquimetria no Eixo Transversal, ***p*** < ***0,05*** entre os grupos RJTxRJC; RJCxRIC; RITxRIC

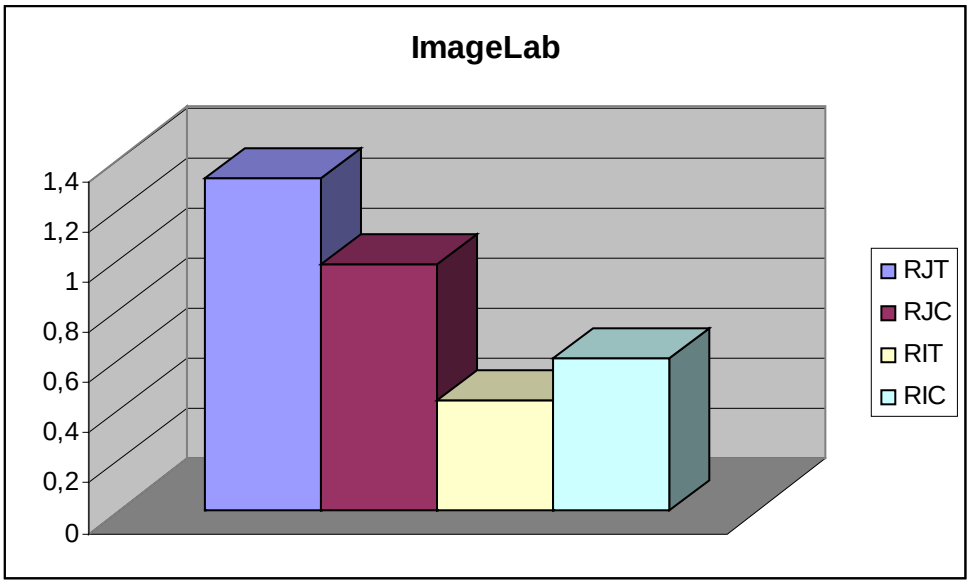

GRÁFICO 02 – ImageLab - ***p*** < ***0,05*** entre os Grupos RJTxRIT; RJCxRIC; RICxRIT; RJCxR

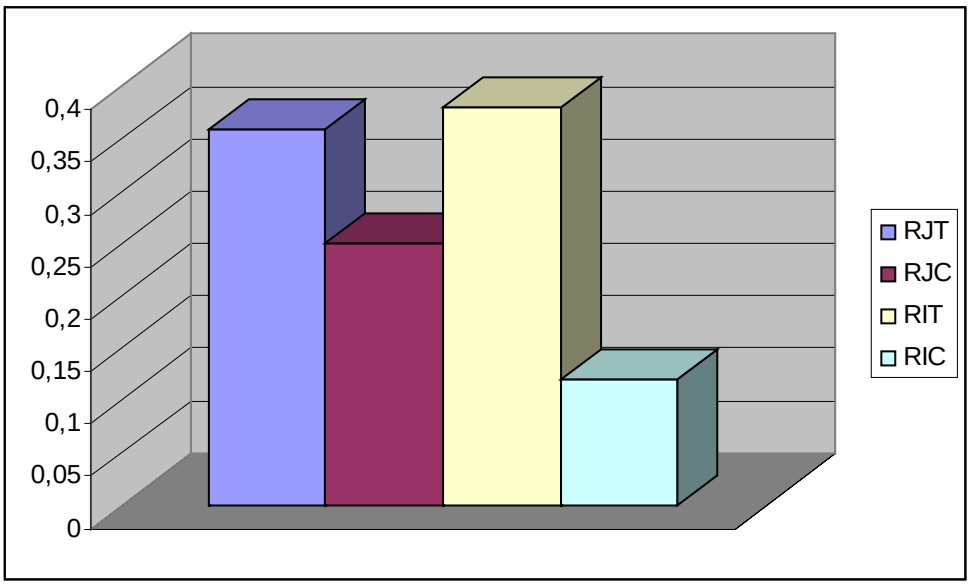

GRÁFICO 03 – Paquimetria no eixo Longitudinal - ***p*** < ***0,05*** entre os grupos RJTxRIT;RJTxRJC

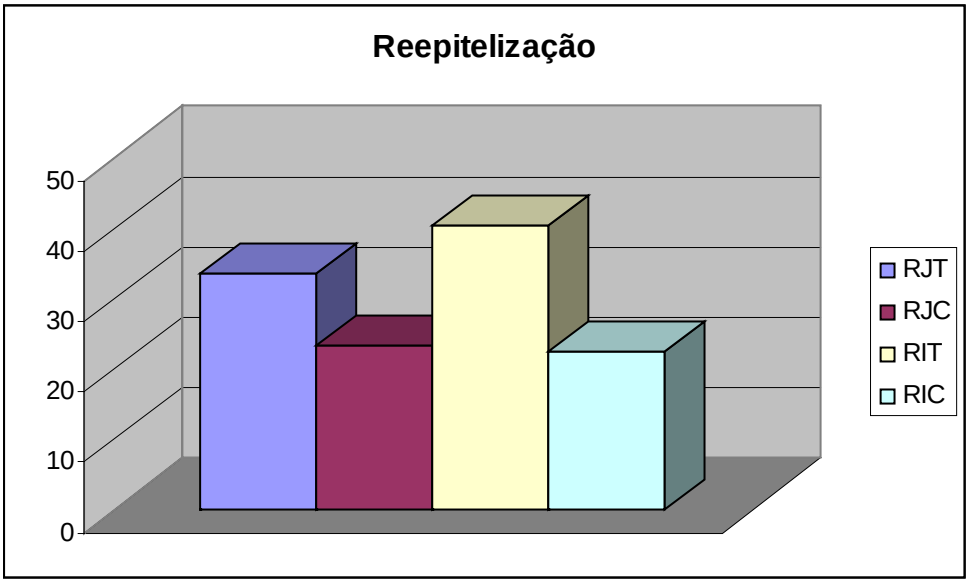

GRÁFICO 04 – Reepitelização – ***p*** < ***0,05*** entre os grupos RITxRJT; RITxRIC; RJTxRJC

6 DISCUSSÃO

Ainda há poucas evidências para explicar o processo de envelhecimento, mas já se pode confirmar a diminuição de todos os níveis corporais nesta etapa da vida .

Há relatos no atraso da reepitelização em idosos tanto em seres humanos quanto em animais conforme afirmam Gilchrest (1983), Holt (1992), Reed *et al.* (1998), Ashcroft *et al.*(1997) e Kletsas *et al.* (2000), e que este atraso se deve mais aos fatores sistêmicos, como os níveis de processos corporais, do que o próprio processo de envelhecimento, sendo que há evidências de uma associação com uma hipofunção tireoideana (OLIVEIRA *et al.,* 1997; SCHINDLER, 2003; NATORI *et al.* 1999 e BIONDO-SIMÕES, 2005). No presente trabalho, de acordo com a tabela 1, os grupos tratados, tanto jovens quanto idosos, obtiveram mais rápida cicatrização, através da paquimetria nos eixos principalmente o longitudinal, bem como na reepitelização da ferida.

Sendo assim, inúmeras pesquisas têm surgido na tentativa de aumentar a eficiência do processo cicatricial, evitando as complicações decorrentes. Verificam-se entre elas a aplicação do laser de baixa potência nas diversas lesões corporais, promovendo a reconstituição da área lesada (STADLER, 2000; REDDY, STEHNO-BITTE e ENWEMEKA, 1998; VARGAS *et al.*, 1999; WALKER *et al.*, 2000).

Pela análise estatística há significância entre os grupos ($p < 0,05$), dependente de cada variável: No eixo longitudinal : RJTxRJC; RJCxRIC; RITxRIC; No eixo transversal : RJTxRIT; RJTxRJC; ImageLab: RJTxRIT; RJCxRIC; RICxRIT; RJTxRJC; Na reepitelização : RITxRJT; RITxRIC; RJTxRJC

De acordo com estas análises, notam-se que os ratos tratados jovens e idosos responderam melhor à terapia laser de baixa intensidade em quase todas as variáveis do estudo.

Dentre os vários estudos sobre a terapia laser ainda há controvérsias de resultados, tendo em vista a não padronização das técnicas como fator preponderante para achados conclusivos, dentre eles a dosagem, a potência, a técnica de manipulação, a modalidade do aparelho utilizado, a intensidade, o tempo de aplicação, como também o tipo de tecido irradiado - jovem ou idoso.

Na pesquisa proposta, com o uso do LBP, 660 nm, 3 J/cm^2, com 30w/cm^2, durante 07 dias consecutivos, houve um ganho considerável de aproximação das bordas, nas porcentagens da paquimetria no eixo longitudinal da ferida dos ratos idosos tratados em comparação com o mesmo eixo dos ratos idosos controle, perfazendo uma diferença de 31,8%, sendo bem significativo. Na paquimetria no eixo transversal, houve uma diferença de 13,5% entre os grupos controle e tratado, não sendo significante.

Através da leitura das lâminas, houve melhor cicatrização através da porcentagem de reepitelização do tecido lesado em grupos tratados, com ênfase no grupo tratado de idosos, perfazendo um total de 40,5%.

De acordo com os achados nesta pesquisa, mesmo que os tecidos envelhecidos e os processos corporais nestes estejam diminuídos, conforme afirmam Bufalari *et al.*(1996); Gilchrest (1983); Holt (1992), Reed *et al.* (1998), os tecidos envelhecidos responderam satisfatoriamente à terapia laser de baixa intensidade, produzindo a cicatrização de maneira semelhante ao tecido jovem, assim como também aqueles não tratados (controle jovem e idoso) responderam de forma semelhante, não havendo diferenças significantes entre estes grupos.

Houve uma significância estatística com relação ao eixo longitudinal, aferido através da paquimetria, principalmente entre os grupos tratatos : RJT e RIT em comparação com o grupo controle. No eixo transversal e ImageLab, esta significância foi encontrada apenas no grupo RJT. Na reepitelização, houve significância entre os grupos tratados: RIT e RJT.

Há, portanto, diferenças entre as análises da paquimetria (transversal e longitudinal) e ImageLab em comparação com a reepitelização, sendo que na paquimetria e no ImageLab pode-se verificar apenas a aproximação das bordas da ferida, e estes divergiram com a análise das lâminas evidenciando a reepitelização. Notou-se, portanto, que, mesmo apresentando menor aproximação das bordas da ferida, em alguns grupos, estes desenvolveram melhor reepitelização.

Da mesma forma, as imagens e parâmetros adquiridos através do ImageLab foram somatórias do maior e menor diâmetro, bem como o diâmetro transverso,

evidenciando a área da ferida nos eixos transversal e longitudinal, determinando um resultado antagônico à reepitelização, principalmente no tecido envelhecido.

Não se pode concluir, portanto, que apenas a aproximação das bordas da ferida indique a reepitelização, mas, principalmente, a análise das lâminas através da formação da epiderme.

Analisando a ferida, produzida de forma circular com o punch, salienta-se que, se há aproximação das bordas no plano frontal, há tendências em aumentar o plano sagital e vice-versa, conforme verificado neste experimento.

Candido (2001) diz, em seus estudos que, a fase proliferativa tem duração de 12 a 14 dias, em que também ocorrem neoangiogênese, produção de colágeno pelos fibroblastos, migração celular, principalmente queratinócitos, promovendo a epitelização. No experimento, há presença, em alguns animais, de quase 100% de reepitelização no 7º dia de pós-operatório.

Contudo, tendo em vista que o hipotireoidismo afeta a qualidade da cicatriz com diminuição da concentração de colágeno afirmado por Erdogan (1999), resta saber se a condição da cicatrização, em presença de hipotireoidismo, tratados com a terapia laser de baixa potência, associada a outras intensidades, potências, duração e tecidos diferentes obteria resultados satisfatórios.

7 CONCLUSÃO

O tratamento com a terapia laser de baixa intensidade (660 nm), com 3 joules, durante 07 dias consecutivos, é eficaz para melhorar a reepitelização dos tecidos, tanto jovens quanto envelhecidos.

Novos estudos precisam ser feitos sobre o processo de cicatrização e o envelhecimento, comparando a contração da ferida, o tecido envelhecido e o hipotireoidismo

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL AC, PARIZOTTO NA, SALVINI TF. Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. *Lasers Surg Med*, v.16, p.44-51, 2001.

ANDERSON, R.R; PARRISH, J.A..The optics of human skin. *J Invest Dermatol* , v.77, p.13-19, 1981.

ANNEROTH, G.; *et al.*.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.

ASHCROFT, G.S.; *et al.* Age-related changes in the temporal and spatial distribitions of fibrilin and elastin mRNAs and proteins in acute cutaneous wounds of healthy humans. *J Pathol*., v.183, p.80-89, 1997.

BASFORD JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med*, v.16, p.331-342, 1995.

BAXTER, G.D. *Therapeutic lasers* . New York: churchill Livingston, 1994. p. 259.

BIONDO-SIMÕES, M.L.P. Os efeitos do envelhecimento na cicatrização: avaliação da parede abdominal e de anastomoses colônicas, em ratos. 2001. Curitiba, 168(Tese-Professor Titular – Pontifícia Universidade Católica do Paraná).

BIONDO-SIMÕES, M.L.P.;*et al*. O processo de cicatrização influenciado pelo hipotireoidismo e pelo envelhecimento. Estudo da cicatrização de anastomoses intestinais, em ratos. *Acta Cir. Bras.*, v.20, n.1, p____, 2005.

BOURGUIGNON FILHO, A.M, *et al*. Utilização do *lase*r de baixa intensidade no processo de cicatrização tecidual: revisão da literatura. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac*, v.46, p.37-43, 2005.

BUFALARI, M.; FERRI, M.; LOLLI, G.; FABBRI, C.; BISACCI, R. La chirurgia generale nel paziente octtuagenario. *Minerva Chir*, v.51, p.383-388, 1996.

CANDIDO, L.C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: Editora SENAC-SP, 2001.

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

COTRAN, R.S.; *et al.* **Patología estrutural e funcional**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

_____**. Patologia estrutural e funcional**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1995.

DAMANTE, C.A.; *et al.* Clinical evaluation of the effects of low-intensity laser (GaAlAs) on wound healing after gingivoplasty in humans. Journal of Applied Oral Science. ,v.12, n.2, p.133-136, 2004.

DEALEY, C. Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras. 2ª ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2001.

ERDOGAN, M.;*et al.*. Effects of L-thyroxine and zinc therapy on wound healing in hypothyroid rats. *Acta Chir Belg*., v.99, p.72-77,1999.

ERENO, D. Curativo de borracha. *Revista pesquisa Fapesp*, número 88, jun.2003, disponível em [[http://www.revistapesquisa.fapesp.br/]].

FREITAS, E.V.; *et al*. Tratato de geriatria e gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2002.

GARAVELLO, F.I.; *et al*. Low-power *laser* irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organizacion durings tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B*, v.70, p.81-89, 2003.

GILCHREST, B.A. In vitro assessment of keratinocyte aging. *J Invest Dermatol.*, v.81 (1 suppl): p.184s-9s, 1983.

GIOVANNI, E.M.; *et al.* Effects of low-level laser therapy in HIV/AIDS – positive pacients after exodontic procedure. *Journal of Oral Laser Aplications*., v.3, n.2, p. 109-115, 2003.

HAKGUDER, A.; *et al.* Efficacy of low level laser therapy in myofascial pain syndrome: an algometric and thermographic evaluation. *Lasers Surg. Med.*, v.33, n.5, p.339-343, 2003.

HARRIS, D.M. Biomolecular mechanisms of laser biostimulation. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.9, n.4, p.277-279, 1991.

HOLT, D.R.;*et al*. Effect of age on wound healing in healthy human beings. *Surgery*., v. 112, p.293-298, 1992.

JULIA, V.; *et al.*. Características de la cicatrización de las heridas en el período fetal. *Cir Pediatr* , v.5, n.3, p.117-121, 1992.

KANA, J.S. *et al*. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Archives of Surgery*, Chicago, v.116, n.3, p.293-296, mar. 1981.

KARU, T. Photobiology of low power laser effects*. Health Phys.*, v.56, p.691-704, 1989.

KLETSAS, D.; *et al.*. Fibroblast responses to exogenous and autocrine factors relevant to tissue repair: the effect of aging. *Ann N Y Acad Sci*., v.908, p.155-166, 2000.

LABBE, R.F. *et al.* Laser photobioactivation mechanisms: in vitro studies using ascorbic acid uptake and hydroxyproline formation as biochemical markers of irradiation response. *Laser Surg. Med.*, v.10, p.201-207, 1990.

LEHMANN, J.F.; LATEUR, B.J. Diatermia e calor superficial, *laser* e crioterapia. In: *Tratato de Medicina Física e Reabilitação de Krusen*. Rio de Janeiro: Manole, 1994, cap. 13, p. 277-356.

LOMELI, R.Á.; *et al.*. Efeito da estimulação laser de 650 nm, utilizando doses de uso clínico sobre a proliferação de fibroblastos humanos cultivados. *Revista Mexicana de Medicina Física y Rehabilitación,*2004.

MENDEZ, T.; *et al.*. Dose and wavelength of laser ligth have influence on the repair of cutaneous wounds. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery.*, v.22, n.1, p.19-25, 2004.

MESTER E, MESTER AF, MESTER A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med* , v.5, p.31-39, 1985.

MISERENDINO, L.J.; PICK, R.; **Laser in dentistry**. Carol Stream. Quintessence Publishing, 1995.. 341 p.

MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R.G. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. *Rev Bras. Clin. Ter.,* v.14, n.6, p.208-213, 1985.

NATORI, J.; *et al*.. The influence of hypothyroidism on wound healing. *J Nippon Med Sch*., v.66, p.176-180, 1999.

OLIVEIRA, H.P. Traumatismos nos animais domésticos. *Cad. Téc. Esc. Vet.,*, v.1, n.7, p.01-57, 1992.

OLIVEIRA, J.A.G.P, *et al.* Ação da irradiação laser (arsênio-gálio) sobre a cronologia do processo de reparo em feridas cutâneas – estudo histológico em ratos. *ROBRAC* , v.6, p.28-31, 1997.

OLIVEIRA, I.L.C. **Avaliação das funções tireóideas em idosos**. 1998, 120f. [Tese-doutorado]. Universidade Federal da Bahia, Salvador; 1998.

OZDEMIR, F.; BIRTANE, M.; KOKINO, S. The clinical efficacy of low-power laser therapy in pain and function in cervical osteoarthritis. *Clin. Rheumatol.*, v.20, n.3, p.181-184, 2001.

REDDY, G.; *et al*. laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achilles tendons. *Lasers in Surgery and Medicine*, v.22, p.281-287, 1998.

REED, M.J.; *et al*. Neovascularization in aged mice: delayed angiogenesis is coincident with decreased levels of transforming growth factor beta 1 and type I collagen. *Am J Pathol*., v.152, p.113-123, 1998.

REZENDE, S.B. Ação do *laser* diodo (830 nm) no processo de cicatrização de tecido cutâneo: estudo histológico e biométrico em ratos. 2001. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Escola de Odontologia da USP, São Paulo, 2001.

RIBEIRO, M.S. **Curso clínico de laser em odontologia**. Apostila de curso FUNDECTO. São Paulo; USP, 2001.

ROCHA JÚNIOR, A.M.; *et al*. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. *Anais Brasileiros de Dermatologia*., v.81, n.2, 2006.

ROCHKIND, S.; *et al*. Estrutura molecular em tecido ósseo após trauma experimental em região mandibular seguido por terapia *laser*. *Lasers Surg Med,* v.22, n.3, p. 249-253, 2004.

SILVA JÚNIOR, A.N.; *et al*. Acompanhamento morfométrico computadorizado no efeito da terapia laser de baixa intensidade em reparo ósseo: um estudo experimental animal. *J Clin Laser Med Surg*., v.20, p.83-87, 2002.

SIMÕES, R.M.; *et al*. Effects of low-intesity polarized visible laser radiation on skin burns: a ligth microscopy study. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*, v. 22, n.1,p.59-66, 2004.

SCHINDLER, A.E. Thyroid function and postmenopause. *Gynecol Endocrinol.*, v.17, p.79-85, 2003.

STADLER, I.; *et al*. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm on peripheral blood lymphocytes. *Lasers in Surgery Medicine*, v. 27, p. 255-261, 2000.

THEODORO, L.H.; *et al.*. *Lasers* em implantodontia. *BCI* , v.9, p.74-78, 2002.

TUNÉR, J.; HODE, L. **Laser therapy in dentistry and medicine**. Edsbruk Prima Books. 1996, 236 p.

VARGAS, G.; *et al*. Use of an agent to reduce scattering in skin. *Lasers In Surgery and Medicine*, v.24, p.133-141, 1999.

VEÇOSO, M.C. *Laser* em traumatologia. In: ***Laser* em fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993, p.65.

VIEGAS, V.N., *et al.* Low level laser therapy for free gingival grafts healing. In: *CONGRESS OF THE WORLD ASSOCIATION FOR LASER THERAPY*; 5, 2004, Guarujá. **Annals**. São Paulo: WAIT; 2004, p. 29.

VINCK, E.M.; *et al.*. Increased fibroblast proliferation induced by ligth emitting diode and low power laser irradiation. *Lasers Med Sci* , v.18, p.95-99, 2003.

ZEZELL, D.M. **Curso clínico de laser em odontologia**. Apostila de curso FUNDECTO, São Paulo: USP, 2001.

WALKER, M. D.; *et al*.. Effect of low-intensity laser irradiation (660 nm) on a radiation-impaired wound-healing model in murine skin. *Lasers In Surgery and Medicine*., v.26, p.41-47, 2000.

WILDEN, L.; KERTHEIN, R. Import of radiation phenomena of electron microscopic cytology*. Int. Rev. Cytol.*, v.16, n.3, p.____, 1998.

ANEXOS

DADOS COLETADOS

RATO	P.I(g)	P.F(g)	D.I.	D.F.	P.S.I(mm)	P.F.I(mm)	P.S.F(mm)	P.F.F(mm)
R-1-J-T	230	239	05/12	11/12	0,915	0,72	0,53	0,53
R-2-J-T	186	216	05/12	11/12	0,71	0,61	0,47	0,59
R-3-J-T	194	229	05/12	11/12	0,835	0,61	0,33	0,55
R-4-J-T	183	216	05/12	11/12	0,89	0,57	0,4	0,56
R-5-J-T	173	173	05/12	11/12	0,84	0,53	0,39	0,4
R-6-J-T	178	204	05/12	11/12	0,75	0,525	0,54	0,5
R-7-J-T	164	213	22/12	28/12	0,88	0,7	0,57	0,59
R-8-J-T	151	191	22/12	28/12	0,79	0,58	0,4	0,37
R-9-J-T	234	229	07/12	13/12	0,91	0,575	0,6	0,55
R-10-J-T	203	236	05/12	11/12	0,76	0,56	0,43	0,52
R-1-J-C	191	233	05/12	11/12	0,885	0,635	0,7	0,67
R-2-J-C	206	251	05/12	11/12	0,805	0,56	0,57	0,54
R-3-J-C	222	250	05/12	11/12	0,85	0,64	0,49	0,44
R-4-J-C	170	208	05/12	11/12	0,91	0,63	0,705	0,6
R-5-J-C	180	231	05/12	11/12	0,88	0,6	0,75	0,67
R-6-J-C	172	204	05/12	11/12	0,77	0,535	0,56	0,53
R-7-J-C	214	225	05/12	11/12	1,0	0,61	0,55	0,69
R-8-J-C	201	242	05/12	11/12	0,89	0,56	0,64	0,49
R-9-J-C	195	231	05/12	11/12	0,83	0,58	0,465	0,44
R-10-J-C	197	218	05/12	11/12	0,94	0,7	0,73	0,74
R-1-I-T	*	*	*	*	*	*	*	*
R-2-I-T	567	543	15/12	21/12	1,08	0,77	0,49	0,74
R-3-I-T	613	589	15/12	21/12	0,775	0,76	0,4	0,6
R-4-I-T	501	492	15/12	21/12	0,83	0,7	0,41	0,5
R-5-I-T	625	603	15/12	21/12	0,73	0,61	0,37	0,7
R-6-I-T	575	569	15/12	21/12	0,75	0,69	0,43	0,5
R-7-I-T	510	512	15/12	21/12	0,9	0,72	0,41	0,61
R-8-I-T	514	513	15/12	21/12	0,74	0,73	0,33	0,6
R-9-I-T	567	561	15/12	21/12	0,69	0,84	0,46	0,55
R-10-I-T	601	589	15/12	21/12	0,79	0,69	0,51	0,81
R-1-I-C	667	655	22/12	28/12	0,74	0,64	0,65	0,73
R-2-I-C	619	610	22/12	28/12	0,86	0,73	0,66	0,86
R-3-I-C	645	634	22/12	28/12	0,64	0,73	0,52	0,79
R-4-I-C	472	469	22/12	28/12	0,9	0,73	0,67	0,81
R-5-I-C	545	531	22/12	28/12	0,68	0,7	0,49	0,5
R-6-I-C	534	534	22/12	28/12	0,71	0,7	0,8	0,7
R-I-C	473	463	22/12	28/12	0,9	0,87	0,88	1,0
R-8-I-C	662	646	22/12	28/12	0,74	0,78	0,6	0,86
R-9-I-C	578	570	22/12	28/12	0,71	0,64	0,59	0,65
R-10-I-C	650	650	22/12	28/12	0,69	0,64	0,49	0,76

Tabela 01 – dados referentes ao peso, data de experimento e paquimetria

RATO	Dif. Peso I/F (g)	Dif.P.I/F/Frontal	Dif.PI/F/Sagital
R-1-J-T	+ 9	0,19	0,38
R-2-J-T	+ 30	0,02	0,24
R-3-J-T	+ 35	0,06	0,505
R-4-J-T	+ 33	0,01	0,49
R-5-J-T	0	0,13	0,45
R-6-J-T	+ 26	0,075	0,21
R-7-J-T	+ 49	0,11	0,31
R-8-J-T	+ 40	0,21	0,39
R-9-J-T	- 5	0,025	0,31
R-10-J-T	+ 33	0,04	0,33
R-1-J-C	+ 42	- 0,035	0,18
R-2-J-C	+ 45	0,02	0,235
R-3-J-C	+ 28	0,2	0,36
R-4-J-C	+ 38	0,03	0,205
R-5-J-C	+ 51	0,08	0,13
R-6-J-C	+ 32	0,005	0,21
R-7-J-C	+ 11	- 0,08	0,45
R-8-J-C	+ 41	0,07	0,25
R-9-J-C	+ 36	0,14	0,365
R-10-J-C	+ 21	- 0,04	0,21
R-1-I-T	*	*	*
R-2-I-T	- 24	0,03	0,59
R-3-I-T	- 24	0,16	0,375
R-4-I-T	- 9	0,2	0,42
R-5-I-T	- 22	- 0,7	0,36
R-6-I-T	- 6	0,19	0,32
R-7-I-T	+ 2	0,11	0,49
R-8-I-T	- 1	0,13	0,41
R-9-I-T	- 6	0,29	0,23
R-10-I-T	- 12	- 0,12	0,28
R-1-I-C	- 12	- 0,09	0,09
R-2-I-C	- 9	- 0,13	0,2
R-3-I-C	- 11	- 0,06	0,12
R-4-I-C	- 3	- 0,08	0,23
R-5-I-C	- 14	0,2	0,19
R-6-I-C	0	0	- 0,09
R-7-I-C	- 10	- 0,13	0,02
R-8-I-C	- 16	- 0,08	0,14
R-9-I-C	- 8	- 0,01	0,12
R-10IV-C	0	- 0,12	0,2

Ratos Jovens Tratado
Média de Peso = 25 g
Média P Sagital = 0,36 mm
Média P Frontal = 0,087 mm

Ratos Jovens Controle
Média de Peso = 34,5 g
Média P Sagital = 0,259 mm
Média P Frontal = 0,039 mm

Ratos Idosos Tratado
Média de Peso = - 10,4 g
Média P Sagital = 0,386 mm
Média P Frontal = 0,032 mm

Ratos Idosos Controle
Média de Peso = - 8,3 g
Média P Sagital = 0,122 mm
Média P Front = - 0,05 mm

Tabela 02 – diferenças de peso e paquimetria longitudinal e transversal em mm

Ratos	Long (%)	Trans(%)	Ratos	Long (%)	Trans(%)
RJT1	41,5	26,3	RJC1	20,3	0
RJT2	33,8	3,3	RJC2	29,1	3,5
RJT3	60,4	9,8	RJC3	42,3	4,7
RJT4	55	1,7	RJC4	22,5	4,7
RJT5	50,5	24,5	RJC5	14,7	13,3
RJT6	28	14,2	RJC6	27,2	0,9
RJT7	35,2	15,7	RJC7	45	0
RJT8	43	3,4	RJC8	28	12,5
RJT9	34	4,3	RJC9	43,9	24,1
RJT10	43,4	7,1	RJC10	22,3	0
TOTAL	**42,4%**	**11%**	**TOTAL**	**29,5%**	**6,3%**

Tabela 03 – porcentagem do ganho de paquimetria nos eixos longitudinal e transversal da ferida entre os ratos jovens tratados e controle

Ratos	Long (%)	Trans (%)	Ratos	Long (%)	Trans(%)
RIT1	*	*	**RIC1**	12,1	0
RIT2	58,4	3,8	**RIC2**	2,3	0
RIT3	48,3	21	**RIC3**	18,7	0
RIT4	50,6	28,5	**RIC4**	25,5	0
RIT5	49,3	0	**RIC5**	27,9	28,5
RIT6	42,6	27,5	**RIC6**	0	0
RIT7	54,4	14,2	**RIC7**	2,2	0
RIT8	51,8	17,8	**RIC8**	18,9	0
RIT9	33,3	34,5	**RIC9**	16,9	0
RIT10	35,4	0	**RIC10**	28,9	0
TOTAL	**47,1%**	**16,3%**	**TOTAL**	**15,3%**	**2,8%**

Tabela 04 – porcentagem do ganho de paquimetria nos eixos longitudinal e transversalda ferida entre os ratos idosos dos grupos tratados e controle

Rato	DT	MaD	MeD	Rato	DT	MaD	MeD	GanT	GMed
R1JCI	1,42	1,39	0,97	**R1JCF**	1,06	1,03	0,59	**1,10**	**0,38**
R2JCI	1,10	1,01	0,94	**R2JCF**	0,65	0,65	0,50	**1,25**	**0,44**
R3JCI	1,18	1,07	1,05	**R3JCF**	0,69	0,64	0,45	**1,52**	**0,60**
R4JCI	1,34	1,27	1,01	**R4JCF**	0,94	0,86	0,78	**1,04**	**0,23**
R5JCI	1,30	1,29	0,69	**R5JCF**	1,02	0,94	0,68	**0,64**	**0,01**
R6JCI	1,01	1,00	0,67	**R6JCF**	0,82	0,75	0,58	**0,53**	**0,09**
R7JCI	1,34	1,31	0,86	**R7JCF**	0,96	0,76	0,64	**1,15**	**0,22**
R8JCI	1,20	1,14	0,79	**R8JCF**	0,88	0,81	0,60	**0,84**	**0,19**
R9JCI	1,01	1,03	0,90	**R9JCF**	0,50	0,47	0,36	**1,61**	**0,54**
R10JCI	1,30	1,21	1,14	**R10JCF**	1,34	1,09	0,98	**0,28**	**0,16**
								0,99	**0,28**
R1JTI	1,43	1,36	1,02	**RIJTF**	1,12	1,08	0,71	**0,90**	**0,31**
R2JTI	1,35	1,31	0,72	**R2JTF**	0,83	0,79	0,61	**1,15**	**0,11**
R3JTI	1,45	1,29	1,29	**R3JTF**	0,67	0,64	0,26	**2,46**	**1,03**
R4JTI	1,44	1,48	0,93	**R4JTF**	0,74	0,66	0,40	**2,05**	**0,53**
R5JTI	1,07	1,05	0,78	**R5JTF**	0,64	0,62	0,36	**1,28**	**0,42**
R6JTI	1,11	1,03	0,87	**R6JTF**	0,68	0,62	0,55	**1,16**	**0,32**
R7JTI	0,82	0,82	0,65	**R7JTF**	0,64	0,57	0,55	**0,53**	**0,10**
R8JTI	1,02	0,94	0,58	**R8JTF**	0,58	0,54	0,43	**0,99**	**0,15**
R9JTI	1,22	1,19	1,00	**R9JTF**	0,93	0,91	0,59	**0,98**	**0,41**
R10JTI	1,12	1,09	0,80	**R10JTF**	0,68	0,65	0,43	**1,25**	**0,37**
								1,27	**0,37**
R1ICI	0,62	0,59	0,45	**R1ICF**	0,60	0,59	0,38	**0,07**	**0,07**
R2ICI	0,76	0,68	0,60	**R2ICF**	0,67	0,65	0,36	**0,36**	**0,24**
R3ICI	0,78	0,76	0,39	**R3ICF**	0,53	0,52	0,17	**0,71**	**0,22**
R4ICI	0,76	0,70	0,55	**R4ICF**	0,61	0,59	0,32	**0,49**	**0,23**
R5ICI	0,72	0,68	0,48	**R5ICF**	0,35	0,31	0,24	**0,98**	**0,24**
R6ICI	0,80	0,75	0,52	**R6ICF**	0,56	0,55	0,27	**0,69**	**0,25**
R7ICI	0,82	0,79	0,57	**R7ICF**	0,77	0,76	0,43	**0,22**	**0,14**
R8ICI	0,75	0,72	0,49	**R8ICF**	0,55	0,53	0,25	**0,63**	**0,24**
R9ICI	0,69	0,63	0,58	**R9ICF**	0,37	0,31	0,26	**0,96**	**0,32**
R10ICI	0,64	0,61	0,47	**R10ICF**	0,56	0,53	0,24	**0,39**	**0,23**
								0,55	**0,21**
R1ITI	0,73	0,64	0,62	**R1ITF**	0,77	0,76	0,34	**0,28**	**0,28**
R2ITI	0,64	0,60	0,46	**R2ITF**	0,59	0,57	0,20	**0,34**	**0,26**
R3ITI	0,69	0,62	0,61	**R3ITF**	0,48	0,43	0,32	**0,69**	**0,29**
R4ITI	0,74	0,69	0,40	**R4ITF**	0,53	0,51	0,28	**0,51**	**0,12**
R5ITI	0,68	0,59	0,58	**R5ITF**	0,57	0,53	0,32	**0,43**	**0,26**
R6ITI	0,61	0,58	0,41	**R6ITF**	0,61	0,59	0,23	**0,18**	**0,18**
R7ITI	0,77	0,62	0,55	**R7ITF**	0,50	0,47	0,32	**0,65**	**0,23**
R8ITI	0,81	0,77	0,62	**R8ITF**	0,76	0,76	0,30	**0,38**	**0,32**
R9ITI	0,69	0,60	0,50	**R9ITF**	0,53	0,51	0,26	**0,49**	**0,24**
R10ITI	*	*	*	**R10ITF**	*	*	*	*	*
								0,49	**0,24**

Tabela 05 : Ganho em mm do diâmetro transverso, maior diâmetro e menor diâmetro inicial e final através do *ImagemLab*

Ratos	Coloração	Reep.%	Leitura
R1JC	H.E	70%	• Tecido de granulação presente, • Neovascularização, macrófagos acentuados, quantidade moderada de neutrófilos, hiperemia; • Reepitelização parcial descontínua (adiantada); • Imagem 06000003EX – 1,2,3
R2JC	H.E	5%	• Neovascularização presente, poucos neutrófilos, macrófagos numerosos • Inflamação menos intensa; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000003EX – 4,5,6
R3JC	H.E.	5%	• Hiperemia mais acentuada; • Neutrófilos numerosos e menos macrófagos; • Inflamação mais intensa; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000003EX – 7,8,9
R4JC	H.E	5%	• Hiperemia intensa; • Neutrófilos numerosos; • Inflamação mais intensa; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000003EX 10,11,12
R5JC	H.E	50%	• Hiperemia presente; • Inflamação menos intensa; • Macrófagos numerosos e menos neutrófilos; • Reepitelização parcial descontínua (adiantada); • Imagem 06000003EX 13,14,15
R6JC	H.E	0%	• Hiperemia intensa; • Inflamação intensa; • Muitos neutrófilos e poucos macrófagos • Neovascularização presente; • Nenhuma reepitelização • Imagem 06000003EX 16,17,18
R7JC	H.E	10%	• Inflamação menos intensa; • Hiperemia moderada • Neovascularização presente; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000003EX 19,20,21
R8JC	H.E	40%	• Inflamação menos intensa; • Hiperemia moderada; • Infiltrado moderado; • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000003EX 22,23,24 •

R9JC	H.E	20%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Quantidade intensa de polimorfonucleares; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000003EX 25,26,27
R10JC	H.E	30%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Quantidade intensa de polimorfonucleares; • Neovascularização presente; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000003EX 28,29,30
R1JT	H.E	10%	• Inflamação intensa; • Infiltrado intenso; • Presença de microabcesso • Reepitelização discreta • Imagem 06000002EX 1,2,3
R2JT	H.E	40%	• Inflamação moderada • Hiperemia moderada; • Infiltrado intenso • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000002EX 4,5,6
R5JT	H.E	40%	• Inflamação moderada; • Hiperemia leve; • Poucos neutrófilos • Reepitelização parcial descontínua • Imagem 06000002EX 7,8,9
R6JT	H.E	30%	• Inflamação moderada; • Hiperemia leve • Reepitelização parcial descontínua • Imagem 06000002EX 10,11,12
R7JT	H.E	90%	• Inflamação moderada; • Hiperemia muito leve • Fibroblastos pronunciados • Reepitelização quase total • Imagem 06000002EX 13,14,15
R8JT	H.E	30%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Presença de polimoformonucleares; • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000002EX 16,17,18
R9JT	H.E	10%	• Inflamação moderada; • Hiperemia moderada; • Reepitelização discreta;

			• Imagem 06000002EX 19,20,21
R10JT	H.E	20%	• Inflamação intensa; • Hiperemia pronunciada; • Neovascularização presente; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000002EX 22,23,24

Tabela 06 – Leitura das lâminas – HE – Ratos Jovens controle e tratado

R1IC	H.E	10%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Microabcessos; • Neutrófilos intensos; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 1,2,3
R2IC	H.E	10%	• Inflamação intensa; • Reação granulomatosa a corpo estranho; • Célula gigante multinuclear • Hiperemia compatível • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 4,5,6
R3IC	H.E	20%	• Inflamação moderada; • Hiperemia moderada; • Reação granulomatosa a corpo estranho; • Célula gigante multinuclear; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 7,8,9
R4IC	H.E	50%	• Inflamação moderada; • Hiperemia compatível; • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000004EX, 10,11,12
R5IC	H.E	30%	• Inflamação moderada; • Hiperemia compatível; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 13,14,15
R6IC	H.E	10%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Exsudato pronunciado; • Hemorragia importante; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 16,17,18 •
R7IC	H.E	20%	• Inflamação intensa; • Hiperemia compatível;

			• Pequena necrose; • Microabcesso intraepidérmico; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 19,20,21
R8IC	H.E	10%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Hemorragia superficial presente; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 22,23,24
R9IC	H.E	5%	• Inflamação intensa; • Hiperemia compatível; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000004EX 25,26,27
R10IC	H.E	60%	• Inflamação moderada; • Neutrófilos presentes; • Célula gigante – reação a corpo estranho; • Hemorragia presente • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000004EX 28,29,30
R2IT	H.E	60%	• Inflamação moderada; • Hiperemia compatível; • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000004EX 31,32,33
R3IT	H.E	50%	• Inflamação moderada; • Hiperemia compatível; • Neutrófilos pronunciados; • Hemorragia presente; • Reepitelização parcial descontínua; • Imagem 06000004EX 34,35,36
R4IT	H.E	10%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Reepitelização discreta; • Imagem 060000005EX 1,2,3
R5IT	H.E	5%	• Inflamação intensa; • Hiperemia intensa; • Pequena hemorragia superficial; • Reepitelização discretíssima; • Imagem 06000005EX 4,5,6
R6IT	H.E	10%	• Inflamação moderada; • Hiperemia compatível; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000005EX 7,8,9

R7IT	H.E	100%	• Inflamação moderada; • Edema presente; • Hemorragia subepidérmica; • Presença de neutrófilos • Reepitelização total; • Imagem 06000005EX 10,11,12
R8IT	H.E	20%	• Inflamação moderada; • Hiperemia compatível; • Hemorragia subepidérmica; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000005EX 13,14,15
R9IT	H.E	100%	• Inflamação mínima; • Microabcesso – necrose por liquefação • Reepitelização total; • Imagem 06000005EX 16,17,18
R10IT	H.E	10%	• Inflamação moderada; • Angiogênese presente; • Células gigantes por reação a corpo estranho; • Reepitelização discreta; • Imagem 06000005EX 19,20,21

Tabela 07 – Leitura das lâminas – HE – Ratos Idosos Controle e Tratados