



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

EDUARDO DE LIMA ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL EM SÍTIOS SUTURADOS COM
CIANOACRILATO E SUBMETIDOS A LASERTERAPIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SALVADOR
2020**

EDUARDO DE LIMA ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL EM SÍTIOS SUTURADOS COM
CIANOACRILATO E SUBMETIDOS A LASERTERAPIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Estomatologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Livia Prates Soares Zerbini

SALVADOR
2020

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas

- A553 Andrade, Eduardo de Lima
Avaliação da resposta tecidual em sítios suturados com cianocrilato e submetidos a laserterapia. / Eduardo de Lima Andrade. – 2020.
50f.: 30cm.
- Orientadora: Prof^a. Dra. Livia Prates Soares Zerbinati
- Mestre em Odontologia em estomatologia
- Inclui bibliografia
1. Cicatrização. 2. Terapia a laser de baixa intensidade. 3. Reparo tecidual. I. Zerbinati, Livia Prates Soares. II. Avaliação da resposta tecidual em sítios suturados com cianoacrilato e submetidos a laserterapia.

CDU: 616.441

EDUARDO DE LIMA ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL EM SÍTIOS SUTURADOS COM
CIANOACRILATO E SUBMETIDOS A LASERTERAPIA**

Dissertação apresentada à Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública, como requisito
parcial para a obtenção do Título de Mestre em
Odontologia.

Salvador, 30 de setembro de 2016.

Membros Titulares

Prof. Dr. Arlei Cerqueira
Doutor em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Prof. Dr. Antônio Marcio Teixeira Marchionni
Doutor em Laser
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Profa. Dr^a. Gabriela Botelho Martins
Doutora em Estomatologia
Universidade Federal da Bahia.

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Escola Bahiana Medicina e Saúde Pública - EBMSP

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado saúde, por ter me iluminado e dado força nos momentos mais difíceis neste trabalho e na vida.

Aos meus pais, meu irmão e minha companheira, principalmente pelo amor incondicional e pela confiança. Por serem sempre esse exemplo e por estarem ao meu lado em todos os momentos.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Lívia Prates Soares Zerbinati pelos ensinamentos transmitidos, pela amizade que foi construída, pela atenção, carinho e confiança depositada.

Aos meus colegas e professores da turma de Mestrado em Odontologia, e todas as amizades construídas durante esse período do curso.

Ao Prof. Marcos Ribeiro, veterinário, parceiro do grupo de estudos com animais, que acolheu e ajudou a desenvolver este trabalho.

Aos funcionários da Bahiana e Unime que permitiram a realização deste trabalho

As instituições de ensino EBMSP e UNIME por ter disponibilizado sua estrutura para que este estudo fosse realizado.

À todos vocês, o meu MUITO OBRIGADO!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - A-Sutura em nylon ; B- sutura com cianoacrilato.	33
Figura 2 - Aparelho utilizado para irradiação do laser.	34
Figura 3 - Fotomicrografia da região da incisão, corado em H.E. com aumento de 200x.....	37
Quadro 1 - Organização dos grupos, períodos de observação e dose de laser aplicada.....	35
Quadro 2 - Graduação da intensidade das alterações histopatológicas observadas	36
Gráfico 1 - Análise da contagem de fibroblastos em sítios suturados com Cianoacrilato e Nylon.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação qualitativa da resposta inflamatória.....	38
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS

Ad libitum	Livre de restrições
AINE	Anti inflamatório não esteroidal
Ang-1	Angiopoietina-1
ARGaAl	Arsento Gálio Alumínio
ATP	Adenosina-trifosfato
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cAMP	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
CM ²	Centímetros quadrados
DE	Densidade de energia
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Densidade de potência
EBMSP	Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
et al.	E colaboradores
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EPI	Equipamento de proteção individual
FGF	Fator de crescimento Fibroblástico
GaAs	Arseneto de gálio
GaAlAs	Arseneto de gálio-alumínio
HeNe	Hélio Neônio
HE	Hematoxilina-eosina
Hz	Hertz
IL-1	Interleucina-1
InGaAl	Índio Gálio Alumínio
J	Joule
J/cm ²	Joules por centímetros quadrados
Laser	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> (Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação)
MMPs	Metaloproteínases da matriz
mW	Miliwatts
NO	Oxido nítrico
nm	Nanômetro
O ₂	Oxigênio

PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
P	Potência
RNA	Ácido Ribonucleio
TGF β	fator de crescimento transformante
VEGF	Fator de crescimento vascular e endotelial
W	Watts

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

® Marca registrada

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
MANUSCRITO I	12
REPARO TECIDUAL E LASERTERAPIA: revisão de literatura	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
1 REVISÃO DE LITERATURA	15
2 CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
REFERÊNCIAS	24
MANUSCRITO II	27
AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL EM SÍTIOS SUTURADOS COM CIANOACRILATO E SUBMETIDOS A LASERTERAPIA	27
RESUMO	28
ABSTRACT	29
1 INTRODUÇÃO	30
2 METODOLOGIA	32
2.1 Amostra	32
2.2 Procedimento Cirúrgico	32
2.3 Aplicação do Laser	34
2.4 Analgesia dos Animais	35
2.5 Eutanásia dos Animais e Processamento Histológico	35
2.6 Avaliação do reparo tecidual	36
3 RESULTADOS	38
4 DISCUSSÃO	41
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXOS	48

INTRODUÇÃO GERAL

A inflamação representa a reação do tecido vivo vascularizado frente à uma agressão local. Tem como objetivo destruir o agente agressor, através de uma série de processos biológicos que, tanto quanto possível, reconstituem o tecido lesado e estimula o processo de reparo. Este processo sofre influências regulatórias intrínsecas ao corpo; também é sabido que pode ser regulado por fatores extrínsecos, como o laser de baixa potência.

Os efeitos biológicos que o laser de baixa potência provocam nos tecidos consistem em: penetração de energia luminosa, que se transforma em energia vital, produzindo, então, efeitos de natureza analgésica, anti-inflamatória e cicatrizante. A influência do laser na inflamação e cicatrização recebe a denominação de biomodulação.

Para desenvolvimento do tema e discussão da literatura pertinente, este trabalho traz um manuscrito I, que se trata de uma revisão de literatura sobre os processos envolvidos no reparo tecidual e a atuação que o laser pode causar sobre este processo.

O manuscrito II que consiste no desenvolvimento da pesquisa experimental que possuiu o objetivo de avaliar a se o laser de baixa potência é capaz de biomodular a resposta inflamatória em feridas que foram suturadas com cianoacrilato, com o protocolo já utilizado para modulação da resposta inflamatória, de 685nm e 4J/cm² por aplicação.

MANUSCRITO I

**REPARO TECIDUAL E LASERTERAPIA:
revisão de literatura**

RESUMO

A lesão à microestrutura tecidual, caracterizada pela perda de continuidade do epitélio, ativa imediatamente após a lesão, um processo biológico complexo, com múltiplos eventos celulares inter relacionados e dependentes. É ativado para restabelecer a integridade estrutural e funcional a fim de minimizar perda de fluidos, prevenir infecções e homeostase. O processo de cicatrização é dividido em três fases sobrepostas, porém bem ordenadas, conhecidas como: inflamação aguda ou fase exudativa, proliferação celular e remodelação. Estes envolvem diversos eventos celulares, que podem ser modificados através da biomodulação produzida pelo laser de baixa potência. Esta revisão tem como objetivo, relatar os processos celulares envolvidos na resposta inflamatória, assim como o modelo de atuação do laser de baixa potência e discutir com os achados na literatura.

Palavras chave: Cicatrização. Terapia a laser de baixa intensidade. Reparo tecidual.

ABSTRACT

The injury to tissue microstructure characterized by loss of continuity of the epithelium, active immediately after the injury, a complex biological process with multiple interrelated and dependent cellular events. It is enabled to restore the structural and functional integrity to minimize loss of fluid homeostasis and prevent infections. The healing process is divided into three overlapping stages, but well-ordered, known as inflammation, proliferation and remodeling. These involve many cellular events, which can be modified by biomodulation produced by low power laser. This review aims, report the cellular processes involved in inflammatory response, as well as laser operating model low power and discuss the findings in the literature.

Keywords: Wound healing. Low-level light therapy. Tissue repair.

1 REVISÃO DE LITERATURA

A barreira tecidual tem como função primária a proteção contra o meio ambiente, devido a lesão à sua integridade poder causar deficiências e morte. O processo de reparo tecidual é um mecanismo de sobrevivência intrínseco, pelo qual o tecido lesado sofre diversos processos celulares que levam ao restabelecimento da estrutura e função semelhantes. Estes eventos têm início imediatamente após a injúria ⁽¹⁻⁴⁾.

O processo de cicatrização é essencial para a manutenção da integridade do organismo, porém a finalização do reparo tecidual é um processo complexo até que seja alcançado este objetivo. É caracterizado por envolver uma série de eventos que incluem: quimiotaxia, divisão celular, neovascularização, síntese de matriz extracelular, formação e remodelação de tecido cicatricial. A regulação destes eventos é mediada pela integração entre plaquetas, células inflamatórias, citocinas, fatores de crescimento e moléculas da matriz extracelular ^(3,4-7).

Este processo envolve três fases contínuas, com eventos celulares sobrepostos, porém bem ordenados: inflamação, proliferação e remodelação. A sequência de tempo para cada fase é regulada pelo organismo, com o objetivo final da cicatrização, pelo qual interrupções, defeitos e prolongamento de uma destas etapas, levam ao atraso ou a não cicatrização da ferida ^(2,3-6).

Após o traumatismo, inicia-se o processo de extravasamento sanguíneo na área lesada com ativação da via extrínseca e intrínseca da coagulação. Também há extravasamento de plasma e elementos celulares, como plaquetas, que resultam na formação do coágulo pela vasoconstricção, agregação plaquetária e deposição de fibrina ^(2-4,6-8).

As plaquetas presas no coágulo liberam citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, como o fator de crescimento transformante (TGF- β), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF) e o fator de crescimento epidérmico (EGF), que são responsáveis por iniciar a cascata de cicatrização da ferida junto a ativação de leucócitos, fibroblastos e células endoteliais, estas células liberam citocinas e fatores de crescimento. O coágulo também fornece uma matriz provisória rica em glicoproteínas adesivas como a fibronectina, essencial para migração celular ^(2-4,6-8).

A contaminação pelo ambiente exterior é impedida pelo coágulo formado no processo de hemostasia, assim como não permite que mais fluidos e eletrólitos sejam perdidos pela ferida. Este processo é crucial para que as fases posteriores do reparo tecidual possam prosseguir. Após o controle do sangramento, os neutrófilos, macrófagos e linfócitos migram e infiltram-se no tecido lesado, desta forma caracterizam o início da fase inflamatória. No processo de inflamação, as células inflamatórias exercem papel na apresentação de antígenos, fagocitose, remoção de células que sofreram apoptose, síntese de fatores de crescimento e matriz extracelular^(2-5,7).

As primeiras células a chegarem ao local são os neutrófilos, atraídos pelos agentes quimiotáticos gerados durante a coagulação. Os neutrófilos, a partir do segundo dia, começam a desaparecer pelo processo de apoptose e por fagocitose exercida pelos macrófagos. Este processo, assim como a limpeza da ferida é continuado pelos monócitos que, quando ativados, são denominados de macrófagos e estão presentes na ferida desde o início do processo de inflamação, sendo estes, os mais importantes no processo inflamatório^(3,7).

Os macrófagos quando ativados, atraem fibroblastos, células da musculatura lisa, células endoteliais e vasculares que participarão no processo de angiogênese, através da secreção de fatores de crescimento responsáveis pela proliferação, como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento transformante beta (TGF- β). Qualquer inibição na função dos macrófagos retarda a cicatrização das feridas, o que conduz ao pobre desbridamento da ferida, atraso na proliferação de fibroblastos, angiogênese e fibrose inadequados. Como resultado da fase inflamatória, tem-se o controle da inflamação e manutenção de um leito limpo, em cerca de um a três dias^(2,7,9).

A fase proliferativa sobrepõe-se à fase inflamatória, na qual, a restauração da neovascularização, formação de tecido de granulação e reepitelização são os principais objetivos. É representada pela proliferação celular e de componentes estruturais que foram estimulados por fatores secretados durante a fase inflamatória. Com início em torno do terceiro dia, a mesma pode ser estendida por semanas^(2,7,9).

Esta fase caracteriza-se pela presença de fibroblastos, proliferação de células endoteliais, alteração fenotípica e migração celular. Os fibroblastos derivados da matriz extracelular fornecem suporte para mais influxo celular, adesão e diferenciação^(2,3,7,9-11).

Após a sua formação, a matriz extracelular sofre síntese e remodelação contínua, até atingir o estado estacionário. Inicialmente desorganizada, a fibrina presente é remodelada junto ao ácido hialurônico, proteoglicanos e fibronectina, que formarão uma estrutura final predominante de colágeno. A remodelação é induzida por metaloproteínas da matriz (MMPs) específicas, que são influenciadas pelo fator de crescimento transformante- β (TGF- β), fator de crescimento plaquetário (PDGF), interleucina-1 (IL-1) e fator de crescimento epidérmico (EGF). Brotos de vasos sanguíneos simultaneamente com fibroblastos em crescimento surgem no interior do tecido de granulação^(2,3,7,9-11).

Neovascularização ocorre em resposta a fatores pró-angiogênicos como fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), angiogenina, angiotropina e angiopoietina-1 (Ang-1), produzidos pelos macrófagos que se infiltram e queratinócitos. A densa população de fibroblastos, macrófagos, neovasculatura, fibronectina e ácido hialurônico incorporados dentro de uma matriz solta de colágeno, são denominados de tecido de granulação^(2,3,7,9-11).

A regulação causada por citocinas produzidas por fibroblastos, influenciam a síntese de colágeno, fibronectina e outras substâncias básicas necessárias para a cicatrização de feridas, estas representam a base para a nova matriz de tecido conjuntivo e servem para a restauração da resistência mecânica da ferida. Subseqüentemente, a síntese de colágeno aumenta ao longo da ferida, enquanto que a proliferação de fibroblastos declina sucessivamente, ajustando-se entre a síntese e degradação da matriz extracelular. Na fase posterior a proliferativa, os fibroblastos são substituídos por miofibroblastos^(8,11).

A terceira fase do processo de cicatrização é a remodelação. É a finalização do processo de recuperação da estrutura tecidual normal, sua principal característica é a deposição de colágeno na ferida. Esta fase caracteriza a síntese e a remodelação da matriz extracelular que foi iniciada simultaneamente ao desenvolvimento de tecido de granulação e continua por longos períodos. Os miofibroblastos derivados dos fibroblatos, sofrem esta mudança devido a interação com a matriz extracelular e influências por citocinas, sua atuação ocorre na contração da ferida. Diante do processo de remodelação, o colágeno tipo III sofre degradação e substituição pelo colágeno tipo I, através da ação de metaloproteinases da matriz (MMPs)^(7,9,10).

A finalização da remodelação ocorre após a regressão das atividades dos macrófagos e fibroblastos que sofrem emigração e apoptose, redução do fluxo sanguíneo e atividades celulares^(7,9,10).

Além destes fatores intrínsecos ao organismo, algumas condições locais ou sistêmicas podem contribuir para a modulação no reparo tecidual, tanto para aumento da morbidade quanto sua redução. A laserterapia, comprovadamente, exerce efeitos biomodulatórios no processo de reparo tecidual, no qual seu uso pode reduzir a produção de mediadores inflamatórios e acelerar o processo de reparo^(12,13).

O Laser é uma forma de radiação eletromagnética não ionizante e acrônimo para: *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Dentre suas características, apresenta propriedades como coerência, monocromaticidade e colimação⁽¹⁴⁾.

A coerência representa a propagação das ondas sincronizadas. A monocromaticidade está relacionada à emissão de radiação em um único comprimento de onda direcionado. A colimação é o paralelismo dos feixes de luz emitidos⁽¹⁴⁾.

Os primeiros lasers a surgirem durante a década de 60, foram considerados destrutivos, entretanto, atualmente, são reconhecidos como lasers de alta potência ou cirúrgicos, com propriedades fototérmicas e abrasivas, utilizados para cortar tecidos⁽¹⁵⁾.

Posteriormente, foram reconhecidos as propriedades terapêuticas da relativa baixa potência emitida pelos lasers atômicos⁽¹⁶⁾.

Estão inclusos nesta categoria, o laser de hélio-neônio e os lasers diodos, como Arseneto de Gálio e Alumínio, Arseneto de Gálio e o Fosfato de Arsênio Índio Gálio⁽¹⁵⁾.

O laser atua sobre os tecidos de quatro maneiras. O fundamento da biomodulação causada pelo laser é defendida pelo processo de absorção, no qual os fótons são absorvidos e exercem efeitos sobre o tecido. A segunda maneira de atuação é a dispersão, que representa o espalhamento da luz dentro do tecido. A terceira maneira é a reflexão, que acontece quando a luz é refletida e não penetra no tecido. O quarto modo de atuação é a transmissão, que representa a passagem pelo tecido sem nenhuma atuação⁽¹⁴⁾.

O comprimento de onda é a distância entre duas cristas ou entre dois vales sucessivos, correspondente à distância percorrida pela onda em uma oscilação completa. É comumente medido em nanômetros (nm). A frequência medida em Hertz (Hz), é a quantidade de ondas que passam por um determinado ponto durante o período de um segundo. O comprimento de onda é uma característica indispensável para determinar a maior ou menor absorção da luz pelos tecidos⁽¹⁷⁾.

O conceito de densidade de energia (DE) é definido como a relação entre a energia administrada por um emissor laser e a superfície de radiação do raio de luz laser, podendo ser expresso em joules por centímetro quadrado (J/cm^2). A fotoativação do laser não ablativo não ocorre somente na área de incidência do feixe do raio, mas também em uma área igualmente distribuída ao seu redor, de forma tridimensional. Baseado nos princípios de difusão, transmissão e reflexão do feixe de laser que atinge o tecido, dependendo do comprimento de onda, a região de eficiência do laser estende-se por cerca de 1 cm de diâmetro, tendo como centro o ponto de incidência do feixe. Não se pode, porém, definir exatamente a profundidade alcançada, nem a dose que atinge alvos abaixo do ponto de incidência, o que dificulta o conhecimento da dosimetria exata⁽¹⁸⁾.

Entre as teorias do mecanismo de ação do laser de baixa potência, uma refere-se a capacidade de exercer influência sobre fotorreceptores celulares, este mecanismo induz ao aumento do transporte de elétrons presentes nas mitocôndrias, o que ativa a cadeia respiratória endógena e consequente aumento no metabolismo celular. Estes eventos modulados pelo laser de baixa potência, resultam no aumento da síntese de ATP, DNA, RNA, que estão diretamente ligados a oxigenação, nutrição e regeneração tecidual^(12,15,19,20).

Para explicar o efeito bioestimulante do laser de baixa intensidade, Huang et al., (2009), propuseram uma cadeia de eventos moleculares, que tem início com a absorção de luz por um foto-receptor, o qual conduz à fotoativação de enzimas nas mitocôndrias, que incluem a transdução de sinal e amplificação eventos. Os fótons presentes no laser, são facilmente absorvidos pelos cromóforos localizados nas mitocôndrias ou na membrana celular. A energia fotônica é convertida em energia química dentro da célula, sob a forma de ATP, o que aumenta as funções celulares e proliferação celular. A permeabilidade da membrana celular é alterada, seguida por alterações fisiológicas em células alvo. A magnitude do efeito

bioestimulante do laser depende do comprimento de onda utilizada, bem como do estado fisiológico da célula no momento de irradiação^(15,18-21).

O aumento induzido por luz na síntese de ATP eleva o gradiente de prótons a uma atividade crescente. O ATP é o substrato para a adenilciclase, uma importante enzima presente na membrana plasmática, que está associada ao metabolismo celular, o qual controla também o nível de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP), responsável por diversas funções celulares como: controle da permeabilidade da membrana celular e ativação de síntese proteica. Por conseguinte, a fotoativação de enzimas terminais, como citocromo c oxidase, exerce um papel essencial para a síntese de ATP⁽²¹⁾.

A atividade do citocromo c oxidase é inibida pelo óxido nítrico (NO). Esta inibição pode ser explicada pela competição direta entre NO e oxigênio (O₂), sendo que irradiação com laser pode inverter esta inibição por foto dissociação do NO a partir de seus sítios de ligação. A dissociação de NO, aumenta a taxa de respiração com consequente elevação do metabolismo⁽¹⁹⁾.

Diante do exposto, alguns estudos verificam que a laserterapia de baixa potência, é capaz de promover como principais efeitos fisiológicos: neoangiogênese, proliferação epitelial e de fibroblastos, síntese e deposição de colágeno, revascularização e contração da ferida. Pode-se afirmar também, que doses compreendidas entre 3-6 J/cm² parecem ser mais eficazes que doses acima de 10 J/cm² as quais estão associadas a efeitos indesejados. Assim como, os comprimentos de onda compreendidos entre 632,8 e 1000nm seguem como aqueles que apresentam resultados mais satisfatórios no processo de cicatrização tecidual⁽²²⁾.

No estudo realizado por Calisto et al., (2015), que utilizou um laser diodo com 660nm durante 5 dias, totalizando 10J/cm² de aplicação em ratos que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos, verificou-se que no grupo irradiado, após 5 dias, havia epitelização, presença de queratina e anexos cutâneos. Já no grupo controle, no mesmo período, verificou-se infiltrado inflamatório presente. Estes resultados demonstram que o laser exerceu influência biomodulatória sobre o espectro de 660nm⁽²³⁾.

Em um trabalho realizado por Gonçalves et al., (2010), no qual comparou a síntese de colágeno tipo I entre um grupo irradiado com 60J/cm² com 830nm dentre outros irradiados

com diferentes doses, verificou-se que a produção deste tipo de colágeno foi semelhante ao grupo controle. O autor atribui a este fato, a excessiva potência aplicada a este tipo de laser, o que inibiu sua ação modulatória⁽²⁴⁾.

Assim como no estudo supracitado, a produção de colágeno pelos fibroblastos nas fases que sucedem a fase inflamatória, não demonstrou ser influenciado pela terapia a laser de baixa potência, como doses de 904nm, 3J/cm², 45mW em aplicações de dois minutos durante sete e quatorze dias segundo Melo et al., (2011). Por outro lado, neste mesmo estudo, foram verificados propriedades biomodulatórias do laser nas fases iniciais da inflamação, pelo qual os grupos irradiados demonstraram menores taxas de leucócitos polimorfonucleares⁽¹³⁾.

Já em outro estudo, pelo qual observou a reparação óssea com doses de 660nm e 830nm ambos 4J/cm², verificou diferenças estatisticamente significantes quanto à deposição de colágeno em 7 e 15 dias de observação, em comparação com um grupo não tratado. Este resultado evidenciou que o laser com os dois protocolos, foi capaz de biomodular o reparo ósseo⁽²⁵⁾.

Ao utilizar o laser de baixa potência Arseneto e Gálio, de 904nm com 3J/cm² por aplicação durante o período de 14 e 21 dias, na avaliação da regeneração nervosa em ratos submetidos ao esmagamento do nervo ciático, Câmara et al., (2011), observaram que houve maior proliferação de células de Schwann na região afetada. Os autores atribuíram, este resultado, à teoria de que o laser de baixa potência é capaz de induzir a regeneração de células nervosas⁽²⁶⁾.

No trabalho realizado por Alves et al. (2013), utilizou-se o laser de Arseneto-Galium-aluminium com 808nm dividindo grupos, nos quais aplicou 50mW e outro grupo com 100mW⁽¹¹⁾. Este estudo avaliou a inflamação sinovial, induzida por papaína em ratos. Como resultados, observou-se que as duas doses foram capazes de modular a resposta inflamatória das articulações, reduzindo a migração de neutrófilos nas fases iniciais da inflamação, porém com melhores resultados com a dose de 50mW. Em corroboração com estes resultados, outro estudo que utilizou um laser diodo com doses 660nm, 40mW e 10J/cm², em tíbias de ratos infectados por estafilococcus áureos, observou-se que o laser foi capaz de reduzir a colonização bacteriana após trinta dias, quando comparados aos grupos não irradiados. Dessa

forma, Junior et al., (2013), concluíram que o laser demonstra ser uma alternativa no tratamento de osteomielite^(27,28).

Portanto, observa-se uma janela terapêutica para o uso do laser, torna-se crucial saber a combinação correta dos parâmetros como: comprimento de onda, densidade de potência e densidade de energia para elevar o índice de sucesso com o uso do laser, como proposto por Karu et al., (2005)⁽¹⁹⁾.

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os processos fisiológicos dos estágios iniciais da inflamação e conseqüentemente do processo de cicatrização, demonstram ser influenciados pela terapia a laser de baixa potência, porém a mesma ainda não revela qual protocolo ideal de aplicação na modulação do processo de reparo tecidual.

REFERÊNCIAS

1. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *the new England journal of medicine*. 1999; 2:738-746.
2. Beldon P. Basic science of wound healing. *surgery*. 2010; 28(9): 409-412.
3. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol* 2007;25(1):9–18.
4. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453(7193):314–21.
5. Guo S, Dipietro SS. Factors affecting wound healing. *journal of dental research*. 2010; 89(3): 219-229.
6. Young A, McNaught CE. The physiology of wound Healing. *Basic Science*. 2011; 29: 475-479.
7. Enock, S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *surgery*. 2007; 26(2): 31-37.
8. Monaco JL, Lawrence WT. Acute wound healing: An overview. *Clinics in Plastic Surgery*. 2003;.30:1-12.
9. Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin*. 2003; 83:483–507.
10. Madden JW, Peacock EE: Studies on the biology of collagen during wound healing. 3. Dynamic metabolism of scar collagen and remodeling of dermal wounds. *Ann Surg* 1971; 174: 511–520.
11. Opalenik SR, Davidson JM. Fibroblast differentiation of bone marrow-derived cells during wound repair. *FASEB J*. 2005;19(11):1561–3.
12. Farivar S, Malekshahabi T, Shiari R. Biological Effects of Low Level Laser Therapy. *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 2014; 5(2): 58-62.
13. Melo VA, Anjos DCS, Júnior RA, Melo DB, Carvalho FUR. Effect of low level laser on sutured wound healing in rats. Efeito do laser de baixa potência na cicatrização de ferida cirúrgica em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2011; 26 (2) 129-134.
14. Carrol L, Humphreys TR. Laser- Tissue interactions. *Clinics in Dermatology*. 2006; 24(1):2-7.

15. Whinfield AL, Aitkenhead I. The light revival: does phototherapy promote wound healing?. *The Foot*. 2009;19(2): 117-124.
16. Silva JP, Silva MA, Almeida APF, Junior IL, Matos AP. Laser therapy in the tissue repair process: a literature review. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2010; 28(1):17-21.
17. Nicola JH, Nicola EMD. wavelenght, frequency, and color: absolute or relative concepts?. *Jornal of clinicals laser in medicine e surgery*. 2002; 20(6): 307-11.
18. Huang YY, Sharma SK, Carroll JD, Hamblin RM. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response* 2011; 9(4):602-18.
19. Karu TI, PyatibratLV, Afanasyeva NI. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide. *Lasers Surg Med* 2005;36(4): 307-14.
20. Avci P, Gupta A, Sadasivam M, Vecchio D, Pam Z, Pam N, Hamblin MR. Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. *Semin Cutan Med Surg*. 2013 March ; 32(1): 41–52.
21. Hamblin MR, Demidova TN. Mechanisms of low level light therapy. *Proc. of SPIE*. 2006; 6140: 614001-1.
22. Andrade FSSD, Clark RMO, Ferreira ML. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. *Rev Col Bras Cir*.2014; 41(2): 129-133.
23. Calisto FCFS, Calisto SLS, Souza AP, França CM, Ferreira APL, Moreira MB. Use of low-power laser to assist the healing of traumatic wounds in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2015; 30(3): 204-208.
24. Gonçalves RV, Mezêncio JMS, Benevides GP, Matta SLP, Neves CA, Sarandy MM, Vilela EF. Effect of gallium-arsenide laser, gallium-aluminum-arsenide laser and healing ointment on cutaneous wound healing in Wistar rats. *Braz J Med Biol Res*, March 2010; 43(4): 350-355.
25. Barbosa D, Villaverde AGJB, Loschiavoarisawa EA, Souza RA. Laser therapy in bone repair in rats: analysis of bone optical density. *Acta ortop bras*. 2014;22(2):71-4.
26. Câmara CNS, Brito MVH, Silveira EL, Silva DSG, Simões VRF, Pontes RWF. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2011; 26 (1): 12-18.
27. Junior JAR, Carvalho FB, Trindade RF, Assis PN, Almeida PF, Pinheiro ALB. A new preclinical approach for treating chronic osteomyelitis induced by *Staphylococcus aureus* : in vitro and in vivo study on photodynamic antimicrobial therapy (PAmT). *Lasers Med Sci*. 2013. DOI 10.1007/s10103-013-1422-2.

28. Alves ACA, Vieira RP, Leal-Junior ECP, Santos SA, Ligeiro AP, Albertini R, Junior JAS, Carvalho PTC. Effect of low-level laser therapy on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. *Arthritis Research & Therapy*. 2013; 15(5):1-11.

MANUSCRITO II

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL EM SÍTIOS SUTURADOS COM
CIANOACRILATO E SUBMETIDOS A LASERTERAPIA**

RESUMO

O objetivo final da reparação tecidual é a cura com o restabelecimento da integridade estrutural e funcional dos tecidos. A função primária da sutura é unir as bordas da ferida e permitir a cicatrização por primeira intenção, com isso reduzir a resposta inflamatória presente e acelerar o processo de reparo tecidual. Diversos são os fatores extrínsecos que podem afetar a resposta inflamatória, como exemplo do laser de baixa intensidade, pelo qual através de interações fotoquímicas com as células, é capaz de biomodular a resposta inflamatória. Não há relatos se o laser é capaz de interagir a nível celular, com os tecidos suturados com o cianoacrilato, devido a sua superfície reflexiva. O objetivo deste trabalho foi avaliar se o laser de baixa potência é capaz de biomodular a resposta tecidual em sítios suturados com cianoacrilato. **Metodologia:** Para este estudo foram utilizados 30 ratos albinos, divididos em 2 grupos de 15 animais, esses animais foram submetidos a procedimento cirúrgico, sutura com nylon ou cianoacrilato; e todos submetidos a laserterapia com ArGaAl 685nm, 4J/cm² a cada 48 horas. Os animais de cada grupo foram subdivididos em 3 grupos de 5 animais por tempo de observação de 1 dia, 3 dias e 7 dias. Foram analisados cortes histológicos corados por H.E. para parâmetros inflamatórios e do reparo tecidual. **Resultados/Conclusão:** Não foram verificadas diferenças significativas quanto a inflamação e proliferação fibroblástica nos dois grupos estudados. Portanto sugere-se que o cianoacrilato, apesar de reflexivo, não altera a penetração e dispersão do laser no tecido suturado.

Palavras chave: Terapia a laser de baixa intensidade. Cianoacrilatos. Cicatrização.

ABSTRACT

The ultimate goal of tissue repair is healing with the restoration of structural and functional integrity of tissues. The primary function of the suture is to unite the edges of the wound and allow healing by first intention, thereby reducing the inflammatory response present and accelerate tissue repair. There are several extrinsic factors that can affect the inflammatory response, such as low-intensity laser example, whereby through photochemical interactions with cells, can biomodulate the inflammatory response. There are reports that the laser is capable of interacting at the cellular level to the tissue sutured with cyanoacrylate, due to its reflective surface. The objective of this study was to evaluate if the low-power laser is able to biomodulate tissue response sutured sites with cyanoacrylate. **Methodology:** For this study were used 30 albino rats were divided into 2 groups of 15 animals, these animals underwent surgery, suture with nylon or cyanoacrylate; and all undergoing laser therapy with ArGaAl 685nm, 4J / cm² every 48 hours. The animals in each group were subdivided into 3 groups of 5 animals per 1 day observation period, 3 days and 7 days. Histological sections stained with H.E. for inflammatory parameters and tissue repair were analyzed. **Results / Conclusion:** Significant differences in inflammation and fibroblast proliferation in both groups were not observed. Therefore it is suggested that cyanoacrylate, although reflective does not change the penetration and dispersion in the laser sutured tissue.

Keywords: Low-Level Light Therapy. Cyanoacrylates. Wound Healing.

1 INTRODUÇÃO

A ciência médica desde a antiguidade já estudava os processos envolvidos no fechamento de feridas. Mesmo com o uso de materiais arcaicos, o objetivo final era promover a reparação do tecido lesado e com isso, restabelecer a integridade estrutural e funcional⁽¹⁾.

A evolução dos biomateriais permitiu o aprimoramento de técnicas e redução das complicações pós-operatórias por possuírem propriedades antibacterianas, reabsorvíveis e biocompatibilidade com os tecidos suturados^(2,3).

Aspectos pré, trans e pós-cirúrgicos devem ser avaliados para a correta indicação ao tipo de material utilizado, devido a sindesmotomia dos tecidos ter por objetivo manter a coaptação da ferida. Isto acelera o processo normal de cicatrização, previne hemorragias pós-operatórias, contribui para formação e manutenção do coágulo sanguíneo, evita infecção, reduz a dor pós-operatória e a penetração de corpos estranhos na ferida, que podem infectar ou lesar o tecido⁽³⁻⁶⁾.

Existem inúmeros materiais de sutura disponíveis, dentre estes, os mais utilizados são: os sintéticos; os absorvíveis; os grampos; fitas e compostos adesivos. Estes últimos, as colas naturais, grampos cirúrgicos e fitas surgiram como alternativa para substituir as suturas clássicas com fios e até mesmo eliminar necessidade de indução anestésica nas emergências, com isso, completou-se o arsenal de possibilidades para o fechamento de feridas^(1,4-6).

Os cianoacrilatos, desenvolvidos em 1949, são adesivos teciduais, fornecidos como monômeros na forma líquida para serem aplicados topicamente sobre a pele. Após sua aplicação, os ânions da pele reagem com o produto e polimerizam o que desenvolve forte adesão sobre o mesmo. O 2-octil-cianoacrilato é a cola tecidual com maior cadeia carbônica e degradação mais lenta, o que permite a este material induzir menor citotoxicidade e consequente menor reação inflamatória nos estágios iniciais do reparo, quando comparados a outros cianoacrilatos de cadeias carbônicas menores e materiais de sutura como nylon. Entre diversas aplicações, destaca-se o fechamento do ferimento, hemostasia, fechamento de lacerações em duramater, embolização vascular, atuação concomitante a outros materiais de sutura e aplicação em enxertos de pele^(1,3-6).

Algumas vantagens observadas com este tipo de material, além da resistência, incluem flexibilidade e biodegradação após cerca de dez dias que elimina necessidade de remoção do mesmo, é a capacidade para formar uma capa oclusiva que funciona como uma barreira microbiana e cria um ambiente húmido ideal para a cicatrização de feridas⁽³⁻⁷⁾.

Apesar dos diversos estudos encontrado na literatura sobre o uso de cianoacrilato como substituto aos materiais de sutura convencionais, com resultados superiores quanto a redução da resposta inflamatória, Não existem relatos deste material permitir o uso da fotobiomodulação induzida pelo laser de baixa potência sobre as feridas suturadas com este material^(2,5,6).

O laser de baixa potência tem sido utilizado no período pós-operatório para induzir a biomodulação da resposta inflamatória e efeitos analgésicos. O mesmo atua através de interações foto químicas com as células, o que eleva a atividade de células fagocíticas, metabolismo leucocitário, proliferação celular, vascular, síntese de proteína, colágeno e a síntese de citocinas⁽⁸⁻¹¹⁾.

Há numerosas referências na literatura, que demonstram as interações entre os lasers e o reparo tecidual em feridas suturadas com materiais convencionais. Por isso o objetivo do presente trabalho, é avaliar se o laser de Arseneto Gálio e Alumínio é capaz de interagir a nível celular em feridas suturadas com o 2-octil-cianoacrilato⁽⁸⁻¹¹⁾.

2 METODOLOGIA

2.1 Amostra

A amostra, no presente trabalho, consistiu de 30 ratos albinos Wistar, adultos jovens, machos, clinicamente sadios, com idade aproximada de 180 dias e peso médio de 300g, obtidos e mantidos na União Metropolitana de Educação e Cultura.

Para cada grupo experimental foram sorteados cinco animais, conferindo, assim, a aleatoriedade de cada uma das amostras.

Durante o experimento, os animais foram mantidos em gaiolas individuais de polietileno com tampas de aço inoxidável, regularmente higienizadas, com temperatura ambiente de 23⁰C (mais ou menos 1⁰C), períodos alternados de 12 horas com luz e escuridão e alimentados com ração balanceada e água ad libitum.

Os ratos usados na pesquisa foram divididos em dois grupos, de acordo com o tipo de sutura a que foram submetidos e outros 3 subgrupos em concordância com o tempo de observação, sendo todos irradiados com laser de baixa intensidade. Os períodos de observação, foram de 1 dia, 3 dias e 7 dias de pós-operatório (quadro 1).

2.2 Procedimento Cirúrgico

As cirurgias foram realizadas utilizando-se micro instrumental padronizado para os dois grupos, esterilizados em autoclave, por calor úmido, assim como equipamentos de proteção individual (EPI) ⁽¹²⁾.

Foi utilizada indução anestésica através da administração de Tiopental[®] (solução de 1,25%). Foi feita uma diluição de 1g em 5ml de água destilada, equivalendo a 25mg/ml e injetado 0,15ml da solução por via intraperitoneal.

Após a obtenção do efeito anestésico (ocorrido aproximadamente cinco minutos após), foi procedida anti-sepsia do dorso dos animais com clorexidina a 2% e isolamento, utilizando-se campos cirúrgicos fenestrados, previamente adaptados para o procedimento.

Com o animal posicionado em decúbito ventral, foi realizada uma incisão no sentido latero-lateral com 1cm de comprimento, a 1,5 cm do final do osso occipital, sobre tecido epitelial e subcutâneo. A incisão foi feita com uma lâmina de bisturi n.^o 15 montada em cabo n.^o 3 tipo Bard Parker.

Após a exposição da fascia muscular dorsal dos ratos do grupo 2, foi realizada a sutura utilizando-se fio monofilamentar de nylon preto (6-0) Mononylon[®] (Ethicon Co), de 45cm de comprimento, montado em agulha atraumática semicircular de 1,5cm de comprimento e seção triangular. Para auxiliar a apreensão dos tecidos, foi utilizada um pinça tipo Adson (Figura 1).

Após a exposição da fascia muscular nos ratos do grupo 1, foi realizado a coaptação da ferida, utilizando uma pinça de Adson e foi aplicada a cola a base de 2-Octil-cianoacrilato (Dermabond[®], Johnson & Johnson / Ethicon, Somerville, NJ), com especificações segundo o fabricante, onde foi aplicado sobre toda a ferida, estendendo-se meio centímetro para as bordas e reaplicado após o período de 20 segundos (Figura 1).

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram devolvidos às suas respectivas gaiolas, já identificadas e numerados, e mantidos em monitoramento diário durante todo período de observação até a data da eutanásia.

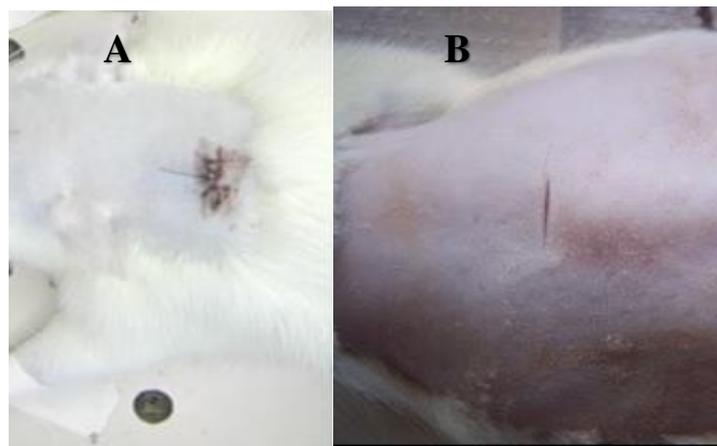


Figura 1 - A-Sutura em nylon ; B- sutura com cianoacrilato.

2.3 Aplicação do Laser

Ao término das cirurgias, os animais receberam a primeira sessão de terapia com Laser (aplicação imediata) na dose de 4 J/cm^2 . As aplicações foram feitas em uma única área central sobre a sutura, com uma fibra óptica de $0,028 \text{ cm}^2$. O aparelho utilizado foi o modelo (Thera Lase/DMC Equipamentos Ltda., São Carlos, SP, Brazil) (Figura 2), de 685nm, com potência máxima de 30mW. O tempo de exposição, densidade de energia, foram calculados através da equação de Tuner-Hode. As aplicações foram repetidas a cada 48 horas, durante o período experimental de até 7 dias, seguindo o mesmo protocolo proposto no trabalho realizado por Soares et al., (2008), a qual observou biomodulação das resposta inflamatória utilizando este protocolo (quadro 1)^(13,14).

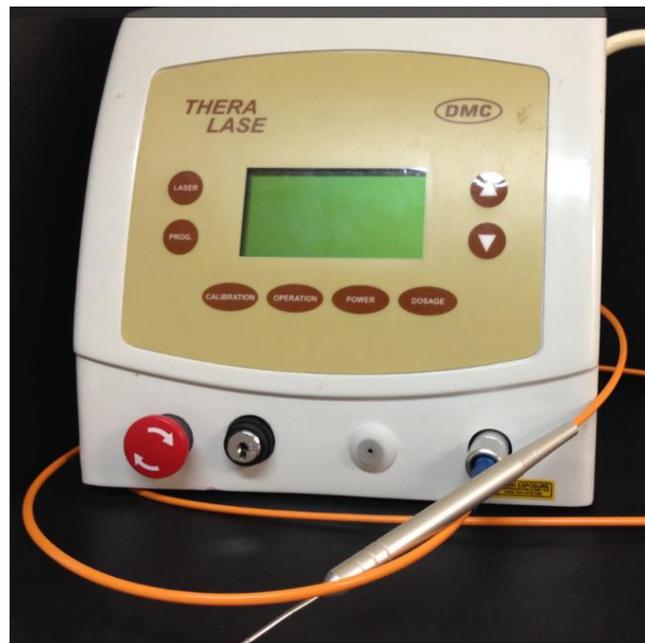


Figura 2 - Aparelho utilizado para irradiação do laser.

Quadro 1 - Organização dos grupos, períodos de observação e dose de laser aplicada.

GRUPO	PROCEDIMENTOS	SUBGRUPOS	PERÍODO DE OBSERVAÇÃO	DOSE TOTAL APLICADA
1	Grupo Dermabond	1 – A	1 dia	4 j/cm ²
		1 – B	3 dias	8 j/cm ²
		1 – C	7 dias	12 j/cm ²
2	Grupo Nylon	2 – A	1 dia	4 j/cm ²
		2 – B	3 dias	8 j/cm ²
		2 – C	7 dias	12 j/cm ²

2.4 Analgesia dos Animais

Para evitar viés nos resultados não foram administrados AINES ou outros fármacos.

2.5 Eutanásia dos Animais e Processamento Histológico

O procedimento de eutanásia dos animais ocorreu no primeiro, no terceiro e no sétimo dia. Participaram 10 animais para cada período de tempo, sendo 5 de cada grupo (quadro 1). A eutanásia dos animais foi conduzida por intoxicação por injeção letal de tiopental, via intraperitoneal, com dose 3 vezes maior do que o necessário para a indução anestésica.

Cada bloco de biópsia da amostra incluiu 2 x 2 cm da região dorsal em profundidade removido até a fáscia muscular e superfície da musculatura costo-dorsal. A peça cirúrgica foi fixada em formalina tamponada à 10%. Os espécimes fixados foram prontamente enviados ao Laboratório de Patologia Bucal da EBMSP.

Após o período de fixação de 12 horas, os espécimes de tecidos foram processados de acordo com a rotina para inclusão em parafina. Os blocos foram identificados e submetidos à microtomia. Cortes de 5µm foram destinados à técnica de coloração histológica de rotina por Hematoxilina e Eosina.

2.6 Avaliação do reparo tecidual

O estudo das lâminas foi realizado por dois examinadores calibrados, utilizando-se um microscópio ótico (Zeiss Axiolab[®]), com aumentos de 40X e 100X. As lâminas foram identificadas com códigos para garantir que durante a leitura, o examinador não soubesse a qual grupo pertenceu a secção observada.

Para avaliação de edema, hiperemia, infiltrado polimorfonuclear e mononuclear; além da contagem de fibroblastos, foi utilizada a escala de análise semi-quantitativa proposta por Medrado et al., (2003) (Quadro 2) e tabulados utilizando o Excel ⁽¹³⁾.

Quadro 2 - Graduação da intensidade das alterações histopatológicas observadas

0(-)	AUSENTE OU QUASE AUSENTE
1(+)	DISCRETO
2(++)	MODERADO
3(+++)	INTENSO

As laminas dos cortes histológicos corados foram divididas em campos visuais de acordo com aumento de 400x. Foram avaliados 4 campos em extremidades da área operada seguindo direção epitelial para conjuntivo em sentido anti-horário, seguindo as imagens obtidas pelos cortes histológicos da região da incisão exemplificada na figura 3.

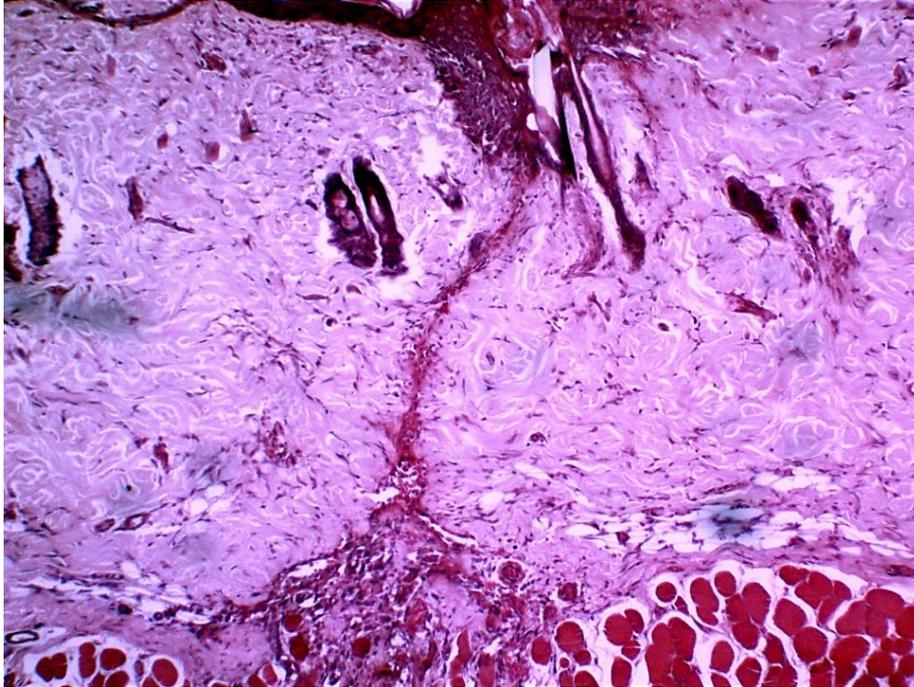


Figura 3 - Fotomicrografia da região da incisão, corado em H.E. com aumento de 200x.

As alterações observadas foram tabeladas em Excel e analisados estatisticamente. Através do teste não paramétrico Wilcoxon para medidas emparelhadas, para os grupos em cada tempo, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% e o programa utilizado para análise foi o R3.3.0.

3 RESULTADOS

Durante o período de observação, 3 animais sofreram eutanásia fora do período proposto para observação dos mesmos. A distribuição desses animais foram de dois animais para o grupo de observação por 7 dias pertencente ao grupo cianoacrilato e um animal que seria observado até o terceiro dia, pertencente ao grupo nylon.

Na avaliação estatística para a presença de hiperemia, foi observado o padrão de redução da mesma quando comparado o grupo suturado com cianoacrilato em relação aos dias de observação. Ao comparar as medianas de valores do grupo cianoacrilato com o grupo nylon, também foram verificados menores valores de hiperemia, porém nenhum dos resultados observou diferença estatística, como demonstrado na tabela 1.

Tabela 1 - Avaliação qualitativa da resposta inflamatória

Variáveis	Momento					
	1 dia		3 dias		7 dias	
	Mediana	q1-q3	Mediana	q1-q3	Mediana	q1-q3
Cianoacrilato						
Hiperemia	1,0	1,0-1,0	1,0	0,0-1,0	0,0	0,0-0,0
Edema	1,0	1,0-1,5	1,0	0,5-1,0	1,0	0,0-1,0
Linfócitos	1,0	0,5-1,0	1,0	0,0-1,0	1,0	0,0-1,0
Neutrófilos	2,0	1,5-2,0	1,0	1,0-1,5	0,0	0,0-0,0
Nylon						
Hiperemia	1,0	0,5-1,0	1,0	0,25-1,0	1,0	0,0-1,0
Edema	1,0	1,0-1,0	1,0	1,0 - 1,0	0,0	0,0-0,5
Linfócitos	0,0	0,0-1,0	1,0	0,25-1,0	1,0	0,5-1,0
Neutrófilos	1,0	1,0-2,0	1,5	1,0-2,0	1,0	0,5-1,0

*p<0,05

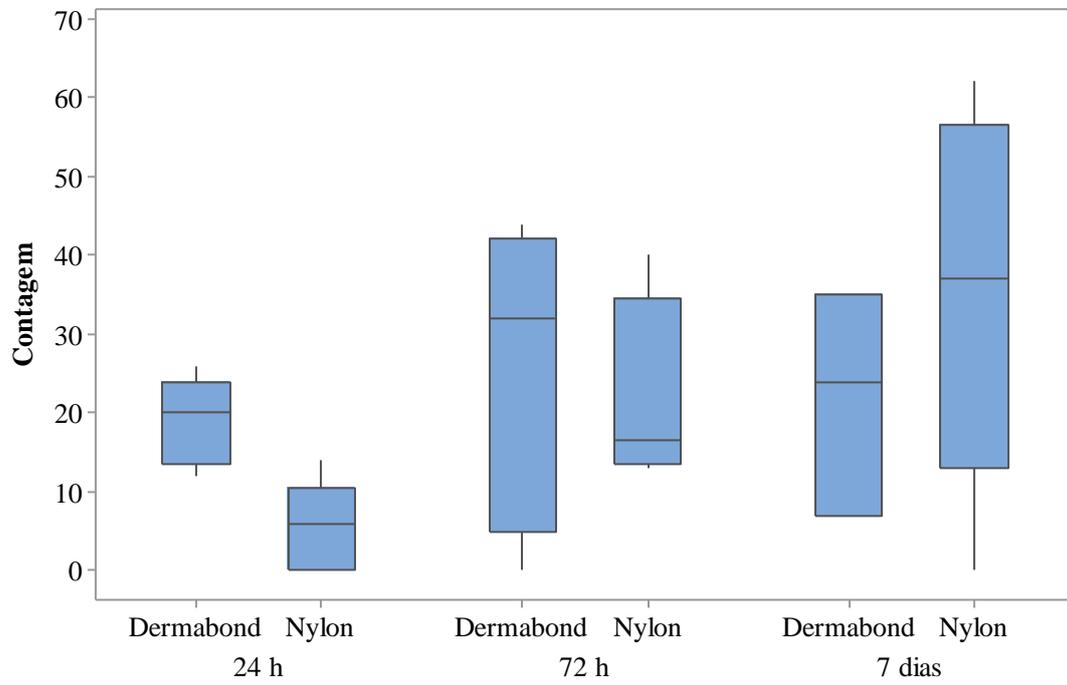
Ao avaliar o edema presente na amostra, através da tabela 1, verificou-se que houve redução do edema nos dois grupos com o decorrer do tempo nos períodos de observação, no entanto não houveram diferenças significativas quando avaliados os períodos de observação dentro de um grupo, assim como na avaliação temporal entre os dois grupos.

Na avaliação da presença de linfócitos nas amostras avaliadas, foi verificado que no grupo cianoacrilato, mesmo com as medianas mantidas no decorrer dos períodos de observação, nos intervalos (Q1) que representam 25% da amostra, houve redução da quantidade de linfócitos, porém sem significância estatística. No grupo nylon, houve um padrão de aumento do contingente de linfócitos, porém não foram verificados diferenças estatísticas quando avaliados as medianas de acordo com o tempo, nem quando associados aos valores do grupo cianoacrilato (Tabela 1).

Ao avaliar a presença de neutrófilos nas amostras, foi verificado que houve redução nas medianas e quartis no grupo cianoacrilato, com o decorrer dos períodos de observação, no qual foi observado redução da mediana de 2,0 para 0,0. No entanto, não foram verificados diferenças estatísticas na análise temporal no mesmo grupo. Já no grupo nylon, houve aumento da mediana no período de 3 dias de observação, com redução na amostra avaliada com 7 dias, no entanto, também não foram verificados diferenças significativas na avaliação temporal neste grupo, nem em associação com o grupo cianoacrilato (Tabela 1).

À análise quantitativa de fibroblastos, foi observado que houve significância estatística entre o grupo nylon e cianoacrilato, quando comparados com o período de observação de 24 horas, com P valor em 0,016. Nos outros períodos de observação não foram verificados diferenças significativas quando comparados a contagem total de fibroblastos (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Análise da contagem de fibroblastos em sítios suturados com Cianoacrilato e Nylon.



4 DISCUSSÃO

O estudo da reação tecidual, contribui diretamente para a previsão de resultados. O planejamento, execução e cuidados, são de grande importância na prática cirúrgica para redução da resposta inflamatória, assim como o uso da terapia fotodinâmica que é capaz de modular a inflamação, promover efeitos analgésicos e induzir o reparo tecidual⁽¹⁴⁾.

A resposta inflamatória mais intensa observada na fase inicial, é compatível com uma reação à agressão aos tecidos causada pelo procedimento cirúrgico. O infiltrado inflamatório demonstrado, pela presença de neutrófilos, linfócitos, hiperemia e edema, observado nas amostras coletadas de cada grupo, corrobora com outros estudos que fizeram comparação entre grupos irradiados com laser^(9,15).

Alguns trabalhos demonstram a eficácia no uso de suturas com compostos adesivos em cirurgias; como na correção de hérnias. Como vantagem, os mesmos não reduzem a perfusão tecidual causada pela sutura convencional, demonstram reações inflamatórias semelhantes aos materiais de sutura convencionais, ou até mesmo, menores nos estágios finais da inflamação^(4,16,17). Em um trabalho comparativo entre o cianoacrilato com sutura a nylon, demonstrou-se que o cianoacrilato promoveu maior recrutamento de leucócitos polimorfonucleares⁽¹⁸⁾. Outro estudo comparou a reação ao fio de sutura reabsorvível com aplicação do laser, o mesmo observou que a terapia fotodinâmica não estava indicada em associação com materiais reabsorvíveis, pois promovia absorção mais lenta do material, o que desencadeou reações de corpo estranho com o decorrer do período de observação⁽¹⁴⁾. No presente trabalho, não foram observados diferenças quanto ao uso do nylon ou cianoacrilato na resposta inflamatória, com o recrutamento de Linfócitos, Neutrófilos, presença de edema e hiperemia.

A maioria dos autores na literatura demonstram que a terapia a laser acelera o processo de reparo dos tecidos, através da elevação o metabolismo celular, mesmo em tecidos com pobre estado nutricional, o que induz a produção de colágeno, angiogênese, fibroblastos e tecido epitelial. Em relação ao protocolo de irradiação dos lasers, os mesmo diferem quanto ao meio de ativação, dose de energia utilizada, bem como o modo e o número de aplicações^(8,11,19-23).

Inumeros protocolos de irradiação são encontrados na literatura, com diferentes materiais ativadores e comprimentos de onda, o que dificulta a comparação de resultados e a escolha dos parâmetros de tratamento. Na maioria das vezes, os lasers empregados são HeNe, AsGa, GaAlAs e InGaAlP^(8,11,19,23-25).

Em uma revisão sistemática realizada por Amid et al., (2014) Propuseram que o laser de baixa potência fornece luz direta as células, que resulta em estimulação de moléculas, sem fornecer calor. Induzem uma variedade de respostas como: redução da inflamação, redução da dor, proliferação fibroblástica e síntese de colágeno, porém a literatura não demonstra um único protocolo a ser utilizado para a biomodulação mesmo com uso de um único laser^(8,24,25).

No estudo realizado por Barbosa et al., (2014), os mesmos utilizaram o laser de Arseneto Gálio e Alumínio com comprimento de onda 830nm e perceberam maior síntese de colágeno nos animais irradiados, já no estudo realizado por Soares et al., (2008), utilizaram o mesmo laser porém com comprimentos de onda em 685nm e também observaram biomodulação na resposta inflamatória^(23,15). Em um trabalho realizado por Hussein et al., (2011) utilizaram o laser de ArGaAl com o comprimento de onda 890nm, ao utilizarem este protocolo, verificaram maior síntese de colágeno nos animais irradiados, menor reação inflamatória e maior proliferação vascular⁽²³⁾. No estudo realizado por Alves et al., (2013), Utilizaram o laser de ArGaAl com 808nm, porém com 50mW e 100mW em diferentes grupos que apresentavam osteoartrite. Neste trabalho, verificaram que a aplicação do laser utilizando-se 50mW foi mais efetivo na redução de IL-1 β e IL-6 (11). Assim como observado por Huang et al., (2012), que também utilizaram o laser de ArGaAl a 920nm. Observaram redução do TNF e IL-1 no grupo irradiado⁽⁸⁾. No presente estudo, foi utilizado o mesmo protocolo proposto por Soares et al., (2008), e verificou-se respostas semelhantes nos dois grupos que possuíam materiais de sutura distintos, apenas a contagem de fibroblastos obteve diferença estatística significativa no primeiro período de observação quando comparado os dois grupos.

O laser de baixa potência exerce efeitos biomodulatórios sobre a resposta inflamatória. No presente trabalho, não foi necessária a inclusão de grupo controle para avaliar a diferença entre animais irradiados e não irradiados, por ter utilizado um protocolo proposto por Soares et al., (2008) que observou efeitos modulatórios nos animais irradiados quando comparados a um grupo controle. Neste trabalho, utilizou a dose de 4J/cm² por aplicação⁽¹⁵⁾. Portanto, presume-se que o laser exerceu efeitos tanto no grupo nylon quanto no grupo cianoacrilato no

presente estudo. Outros trabalhos utilizaram diferentes dosimetrias e obtiveram resultados satisfatórios, como no trabalho realizado por Gonçalves et al., (2010) que avaliaram grupos irradiados com $4\text{J}/\text{cm}^2$; $30\text{J}/\text{cm}^2$ e $60\text{J}/\text{cm}^2$; nos resultados observaram que houve maior deposição de colágeno tipo I nos grupos irradiados com 30 e $4\text{J}/\text{cm}^2$ ⁽⁹⁾. Outro protocolo que utilizou o laser de hélio e neônio, com comprimentos de 632nm e 1J por aplicação, observou que houve diferenças na proliferação de fibroblastos, entre as áreas irradiadas e não irradiadas⁽²⁶⁾. Esses trabalhos corroboram com a revisão sistemática proposta por Khalid et al., (2012), que observou em seu trabalho, que densidades de energia entre 0,5 e $4\text{J}/\text{cm}^2$, assim como comprimentos de onda entre 600 a 700nm induzem a proliferação celular, síntese de colágeno e ativa foto-receptores nas mitocôndrias⁽²⁷⁾. Portanto, nota-se a falta de consenso da literatura em definir um único protocolo e até mesmo apenas um tipo de laser utilizado para biomodulação.

Devido as propriedades reflexivas do cianoacrilato, após sua aplicação, suspeitou-se que o mesmo geraria alterações na penetração do laser no tecido adjacente. Porém os resultados semelhantes dos grupos em todos os períodos avaliados, demonstrou que neste estudo o cianoacrilato não impediu a dispersão e penetração do laser nos parâmetros estudados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O adesivo cianoacrilato demonstra bons resultados quanto a biocompatibilidade com os tecidos, e está indicado como substituto na sutura convencional. O laser terapêutico, por suas indicações na biomodulação do reparo tecidual, é aplicado em situações que exigem melhoria do processo de cicatrização. Podemos sugerir que a associação desses dois métodos terapêuticos se somam para melhorar o pós-operatório e a previsibilidade do tratamento cirúrgico no fechamento de feridas.

REFERÊNCIAS

1. Howard MB, Eshraghia SR, Hollanda CM, Refaia D. Octyl-cyanoacrylate skin adhesive is effective for wound closure in posterior spinal surgery without increased risk of wound complications. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2014; 125: 137–142.
2. Santos OJ, Marques GS, Filho ENS, Frota GM, Santos RHP, Santos RAP. Use of 2-octyl cyanoacrylate adhesive in rat liver induced lesion. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2012; 27(9): 624-629.
3. Ahn HB, Shin DM, Roh MS, Jeung WJ, Park WC, Rho SH. A comparasion of 2octyl cianoacrylate adhesives versus Conventional Suture Materials for Eyelid Wound Closure in Rabbits. *Korean J Ophthalmol*. 2011; 25(2): 121-127.
4. Pascual G, Sotomayor S, Rodríguez M, Pérez-Köhler B, Kühnhardt A, Fernández-Gutiérrez M, Román JS, Bellón JM. Cytotoxicity of Cyanoacrylate-Based Tissue Adhesives and Short-Term Preclinical In Vivo Biocompatibility in Abdominal Hernia Repair. *PLOS ONE*. 2016; 20: 1-22.
5. Shivamurthy DM, Singh S, Reddy S. Comparison of octyl-2- cyanoacrylate and conventional sutures in facial skin closure D. M. Shivamurthy, Sourav Singh, Sasidhar Reddy. *Natl J Maxillofac Surg*. 2010; 1(1):15-19.
6. Singer AJ, Quinn JV, Hollander JE. The cyanoacrylate topical skin adhesives. *Am J Emerg Med*. 2008; 26:490–6.
7. Nahas FX, Solia D, Ferreira LM, Novo NF. The use of tissue adhesive for skin closure in body contouring surgery. *Aesthetic Plast Surg*. 2004; 28:165-9.
8. Huang TH, Lu YC, Kao CT. Low-level diode laser therapy reduces lipopolysaccharide (LPS)-induced bone cell inflammation. *Lasers Med Sci*. 2012; 27:621–627.
9. Gonçalves RV, Mezêncio JMS, Benevides GP, Matta SLP, Neves CA, Sarandy MM, Vilela EF. Effect of gallium-arsenide laser, gallium-aluminum-arsenide laser and healing ointment on cutaneous wound healing in Wistar rats. *Braz J Med Biol*. 2010; 43(4): 350-355.
10. Calisto FCFS, Calisto SLS, Souza AP, França CM, Ferreira APL, Moreira MB. Use of low-power laser to assist the healing of traumatic wounds in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2015; 30(3):204-208.
11. Alves ACA, Vieira RP, Leal-Junior ECP, Santos MÊS, Ligeiro AP, Albertini R, Junior JAS, Carvalho PTC. Effect of low-level laser therapy on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. *Arthritis Research & Therapy*. 2013; 15(116): 1-11.
12. Basil. Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde, Coordenação Nacional de DST e Aids. Controle de infecções e a prática odontológica em tempos de aids:manual de condutas – Brasília: Ministério da Saúde. 2000. 118p.

13. Medrado ARAP, Pugliese LS, Reis SRA, Andrade ZA. Influence of Low Level Laser Therapy on Wound Healing and Its Biological Action Upon Myofibroblasts. *Lasers in Surgery and Medicine*.2003; 32:239–244.
14. Ribeiro AC, Amaral IEV, Hoshi R, Medrado AP, Andrade MGS, Reis SRA. Influence of laser biomodulation 670 nm at the rapid absorption polyglactin 910 suture interface. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*.2013; 25: 362–367.
15. Soares LP, Oliveira MG, Pinheiro ALB, Fronza BR, Maciel MÊS. Effects of laser therapy on experimental wound healing using oxidized regenerated cellulose hemostat. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2008; 26(1):10-13.
16. Nose S, Sasaki T, Saka R, Minagawa K, Okuyama H. A sutureless technique using cyanoacrylate adhesives when creating a stoma for extremely low birth weight infants. Nose et al. *SpringerPlus*. 2016; 5(189): 1-5.
17. Souza SC, Oliveira WL, Soares DFOS, Briglia CH, Athanázio PR, Cerqueira MD, Guimarães PH, Carreiro MC. Comparative study of suture and cyanoacrylates in skin closure of rats. Estudo comparativo entre sutura e cianoacrilatos no fechamento de pele de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*.2007;22 (4): 309-16.
18. Cavazana WC, Ioshii SO, Cuman RKN, Passeri LA. Comparative study of tissue reactivity to n-butyl-2-cyanoacrylate and nylon monofilament thread on pericranium-cutaneous flaps in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2014; 29(4): 261-7.
19. Colombo F, Neto AAPV, Sousa APC, Marchionni AMT, Pinheiro ALB, Reis SRA. Effect of Low-Level Laser Therapy (1660 nm) on Angiogenesis in Wound Healing: A Immunohistochemical Studyin a Rodent Model. *Brazilian Dental Journal*. 2013; 24(4): 308-312.
20. Kajagar BM, Godhi AS, Pandit A, Khatri S. Efficacy of Low Level Laser Therapy on Wound Healing in Patients with Chronic Diabetic Foot Ulcers—A Randomised Control Trial *Indian J Surg*. 2012; 74(5):359–363.
21. Leite SN, Andrade TAM, Meyers DSM, Leite MN, Enwemeka CS, Frade MAC. Phototherapy promotes healing of cutaneous wounds in undernourished rats. *An Bras Dermatol*. 2014;89(6):899-904.
22. Halon A, Donizy P, Dziegala M, Dobrakowski R, Simon K. Tissue laser biostimulation promotes post-extraction neoangiogenesis in HIV-infected patients. *Lasers Med Sci*. 2015; 30:701–706.
23. Hussein AJ, Alfars AA, Falih MAJ, Hassan AA. Effects of a low level laser on the acceleration of wound healing in rabbits. *North American Journal of Medical Sciences*. 2011; 3(4):193-197.
24. Amid R, Kadkhodazadeh M, Ghazizadeh Ahsaie M, Hakakzadeh A. Effect of Low Level Laser Therapy on Proliferation and Differentiation of the Cells Contributing in Bone Regeneration. *J Lasers Med Sci* 2014;5(4):163-70.

25. Barbosa D, Villaverde AGSB, Arisawa EAL, Souza RA. Laser therapy in bone repair in rats: analysis of bone optical density. *Acta Ortop Bras.* 2014;22(2):71-4.
26. Sardari F, Ahrari F. The effect of low-level helium-neon laser on oral wound healing. *Dental Research Journal. Dent Res J.* 2016;13:24-9.
27. Khalid M, AlGhamdi, Kumar A, Noura A. Moussa. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers Med Sci.* 2012; 27:237–249.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do CEP



Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comissão de Ética no Uso de Animais

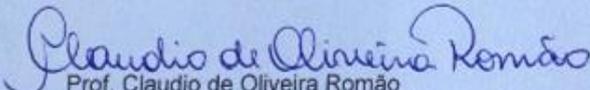
Av. Ademar de Barros, 500 – Ondina-40170-110 Salvador-BA
 Fone: (071) 3283-6704/6708/ - Fax: 3283-6718
 E-mail: escmev@ufba.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da resposta tecidual em sítios suturados com cianoacrilato e com nylon, submetidos a laser terapia.", registrada com o nº 11/2016, sob a responsabilidade de Livia Prates Soares Zerbini, e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, **em reunião de 04.04.2016**

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa científica
Vigência da autorização	15/04/2015 à 15/12/2016
Espécie/linhagem/raça	<i>Amostra tecidual emblocadas em parafina de Ratos raça Wistar, Rattus norvegicus, variação albinus</i>
Nº de animais	40
Peso/Idade	310 gramas/adultos jovens
Sexo	Machos
Origem	Divisão de Produção e Experimentação Animal da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEEPS), do governo do Estado do Rio Grande do Sul.

Salvador, 09/05/2016.



Prof. Claudio de Oliveira Romão
 Coordenador CEUA/EMEVZ-UFBA

Anexo 2 – Análise qualitativa e quantitativa da resposta inflamatória

Grupo	Hiperemia	Edema	Linfócitos	Neutrófilos	Fibroblastos
Dermabond24hs					
Nylon 24hs					
Nylon 24hs					
Nylon 24hs					
Nylon 24hs					
Nylon 24hs					
Dermabond 3dias					
Dermabond 3dias					
Dermabond 3dias					
Dermabond 3dias					
Dermabond 3dias					
Nylon 3dias					
Nylon 3dias					
Nylon 3dias					
Nylon 3dias					
Nylon 3dias					
Dermabond 7dias					
Dermabond 7dias					
Dermabond 7dias					
Dermabond 7dias					

