

JOSÉ CARLOS TATMATSU ROCHA

**APLICAÇÃO DA RADIAÇÃO LASER EM PACIENTES
PORTADORES DE ÚLCERAS DE PRESSÃO: ANÁLISE
CLÍNICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA DERME**

RECIFE

2002

JOSÉ CARLOS TATMATSU ROCHA

**APLICAÇÃO DA RADIAÇÃO LASER EM PACIENTES
PORTADORES DE ÚLCERAS DE PRESSÃO: ANÁLISE
CLÍNICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA DERME**

Tese Apresentada à Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biofísica.

Orientador: Prof. Dr. Diógenes Luís da Mota

Co-Orientadora: Profa. Dra. Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho

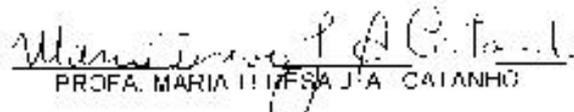
RECIFE

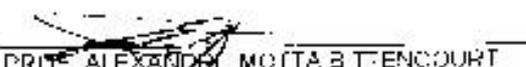
200

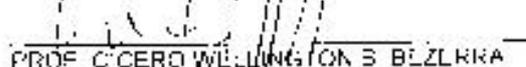


UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
 CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
 DEPARTAMENTO DE FÍSICA E RADIOBIOLOGIA
 COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
 MESTRADO EM BIOFÍSICA

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO DO ALUNO JOSÉ CARLOS TATMATSU ROCHA APRESENTADA, ÀS NOVE HORAS NO AUDITÓRIO DO DEPTO. BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA DO DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA (DBR) DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (CCB) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), AOS DOZE NOVE DIAS DO MÊS DE JULHO DE DOIS MIL E DOIS INTITULADA "ANÁLISE CLÍNICA/HISTOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DA DERMIS NAS ÚLCERAS DE PRESSÃO DE UMA SÉRIE DE CASOS EM PACIENTES HUMANOS TRATADOS COM IRRADIAÇÃO PELO LASER $AsGa(90nm)$ ". É ORIENTADA PELLO PROF. DÓGENES LUIS DA MOTA (DEPTO. HISTOLOGIA/UFPE). A BANCA EXAMINADORA CONSTITUÍDA PELOS PROFESSORES DOUTORES MARIA TERESA JANSEM DE ALMEIDA CATANHO (DEPTO. BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA/UFPE); - NA QUALIDADE DE PRESIDENTE - ALEXANDRE MOTTA BITTENCOURT (DEPTO. ANATOMIA/UFPE) E CÍCERO WELLINGTON BRITO BEZERRA (DEPTO. QUÍMICA/UFMA) FOI APRESENTADA AOS PRESENTES PELA PROFA. MARIA TERESA JANSEM DE ALMEIDA CATANHO (COORDENADORA DO MESTRADO EM BIOFÍSICA). A SEGUIR, O MESTRANDO EXPOS SEU TRABALHO EM TEMPO HABIL. POR SUGESTÃO DOS MEMBROS DA BANCA O TÍTULO DA DISSERTAÇÃO PASSOU A SER "APLICAÇÃO DA RADIAÇÃO LASER EM PACIENTES PORTADORES DE ÚLCERAS DE PRESSÃO: ANÁLISE CLÍNICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA DERMIS". NA SEQUÊNCIA, OS EXAMINADORES PROCEDERAM AS ARGUMENTAÇÕES E O PARECER FINAL O RESULTADO FOI O SEGUINTE: PROFA. MARIA TERESA JANSEM DE ALMEIDA CATANHO **APROVADO**, PROF. ALEXANDRE MOTTA BITTENCOURT **APROVADO**, PROF. CÍCERO WELLINGTON BRITO BEZERRA **APROVADO**. DIANTE DAS MOTIVAÇÕES CITADAS E DE ACORDO COM O REGIMENTO DA PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFÍSICA PELA RES. 03/98 DA COLÉGIO O ALUNO FOI CONSIDERADO **APROVADO**, FAZENDO JULHO AO TÍTULO DE MESTRE EM BIOFÍSICA, NADA MAIS HAVENDO A REGISTRAR FIRMAM ESTE DOCUMENTO OS MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA. RUIHE 13 DE JULHO DE 2012.

ASS 
 PROFA. MARIA TERESA J.A. CATANHO

ASS 
 PROF. ALEXANDRE MOTTA BITTENCOURT

ASS 
 PROF. CÍCERO WELLINGTON B. BEZERRA

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Marcondes Rocha e Carmen Lúcia Tatmatsu Rocha, à minha esposa Daniely Brito Tatmatsu, pelo incentivo, amor e companheirismo, a Nathália Brito Tatmatsu, minha filha, nova luz norteadora de minha vida, e a Deus, cuja presença mantém minha existência.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Diógenes Luís da Mota, que soube conduzir-nos de maneira brilhante para a conclusão desta pesquisa.

A Profa. Dra. Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho, os meus mais sinceros agradecimentos pela sua simplicidade, atenção e paciência.

Ao corpo Docente da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, em especial os professores do Mestrado em Biofísica, cuja contribuição científica estimulou minha busca pelo aprendizado contínuo.

À Valéria Lemos de Oliveira, secretária do Mestrado, que fez-se bastante eficaz e prestativa nas horas necessárias

À diretoria clínica do Hospital Estadual Dr. Carlos Macieira - HCM, representada pela Dra. Nailde Melo Santos, e ao Diretor Técnico do Hospital Municipal Socorrão II, Dr. José Carlos Araújo, que concedeu-nos a oportunidade de coletar dados importantíssimos para nossa pesquisa.

Ao Prof. Carlos Rolim Martiniano (*in memoriam*) pelo incentivo à qualificação profissional

Aos pacientes, meu afeto e minha eterna gratidão.

(...) talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito.(...) Não somos o que deveríamos ser, mas somos o que iremos ser. Mas graças a Deus, não somos o que éramos.

(Martim Luther King).

RESUMO

As Úlceras de Pressão (UP), decorrentes da baixa perfusão tecidual induzida pela compressão do corpo sobre o leito vascular, podem gerar necrose isquêmica da pele. A terapia com lasers de baixa intensidade deflagra uma ação antiinflamatória, aumento da fagocitose, síntese de colágeno e epitelização. Estudos relacionados às alterações resultantes da ação do Laser nos processos de regeneração ainda estão em fase incipiente, especialmente em seres humanos. Alguns trabalhos demonstram que a fotoestimulação *in vitro* promove a síntese de ácidos nucléicos, divisão celular em cultura de fibroblastos humanos e aumenta o pool de células tipo I e II procolágeno e RNAm em feridas de pele em porcos. O objetivo foi avaliar as possíveis alterações provocadas pela ação do Laser de baixa potência AsGa (Arsenito-Gálio), quando irradiado em UP analisando-se as alterações clínicas e modificações histológicas decorrentes desta forma de terapia. A amostra foi constituída por 12 casos, sendo seis do grupo controle, que apresentavam UP não infectadas, submetidos à limpeza cirúrgica da ferida e internados nos hospitais públicos: Carlos Macieira – HCM, Socorrão I e II e Hospital Aldenora Belo, da cidade de São Luís – Maranhão. Para tanto, utilizou-se de uma metodologia quantitativa, na qual os pacientes foram separados em dois grupos, sendo o primeiro grupo A submetido à irradiação Laser AsGa, durante 5 dias consecutivos e o segundo grupo B irradiado durante 15 dias alternados, ambos com comprimento de onda 904 nm, dose 3 J/cm², durante 1 minuto e aplicação pontual. Na avaliação clínica após a irradiação laser pudemos observar a presença de exsudação, tecido de granulação e pontos de sangramento, após o terceiro dia de irradiação, evidenciando início de vascularização colateral em ambos os grupos. A análise morfoquantitativa computadorizada demonstrou que nos casos submetidos à irradiação laser durante 15 dias a área ocupada pelos vasos foi de 4115,922 µm², e nos irradiados durante 5 dias de 4348,253 µm², ambos em uma área de 0,25 cm² de derme demonstrando um aumento na vascularização, sugerindo assim que tal tratamento estimula a angiogênese bem como reparação tecidual (cicatrização). Os resultados obtidos sugerem que esta terapêutica foi eficaz como auxiliar nos processos de regeneração tecidual nos pacientes tratados na pesquisa.

Palavras-Chave: laser; regeneração tecidual; angiogênese.

ABSTRACT

The Ulcers of Press (UP) is caused by decurrent the ischemic necrosis of the skin of low the induced tissue perfusion for the compression of the body on the vascular stream bed. The therapy with lasers of low intensity begins an anti-inflammatory action, the increase of fagocitosis, the synthesis of collagen and the epitelization Os studies related to the resultant alterations of the action of the Laser in the regeneration processes still is in incipient phase, especially in human beings. Works had demonstrated that the fotostimulation in vitro promoted the synthesis of acid nucleics and cellular division in culture of human fibroblasts and increases pool of cells type I and II procolagen and RNAm in wounds of skin in pigs. The objective was to evaluate the possible alterations for action of the Laser of low AsGa power when radiated in UP, clinical alterations and histologics modifications. Twelve cases were used in this study, which six controlled, that presented not infects UP, submitted to the surgical of the wound and interned cleanness in public hospitals: Carlos Macieira –HCM, Socorrão I e II and Hospital Aldenora Belo, of the city of Sao Luis - Maranhao. For in such a way, he used himself of a quantitative methodology, in which the patients had been separate in two groups, being the first group A submitted to the Laser irradiation AsGa prompt application during 5 days consecutive and as the group B radiated during 15 days alternating, both with wave length 904 nm, dose 3 J/cm², during 1 minute. In the clinical evaluation after the laser irradiation we could observe the exsudation presence, fabric of granulation and points of bleed, after the third day of irradiation, evidencing beginning of collateral vascularization in both the groups. The computerized morph quantitative analysis shows that the area occupied by blood vessels in cases after 15 days under laser irradiation was 4115,922 μm^2 , and in cases with radiation laser after 5 days was 4348,253 μm^2 , both total area of dermis 0,25 cm^2 . Therefore a remarkable increase in vascular area was observed these data suggests that tissular factors were secreted after laser therapy as well tissular repair (cicatrisation). The gotten results suggest that this therapeutical one was efficient as to assist in the processes of tecidual regeneration in the patients treated in the research.

Keywords: laser; tecidual regeneration; angiogenesis.

SUMÁRIO

<i>RESUMO</i>	7
<i>ABSTRACT</i>	8
1.0 INTRODUÇÃO	14
1.1 CONCEITO E CLASSIFICAÇÃO DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO	14
1.1.2 EPIDEMIOLOGIA DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO	17
1.1.3 TRATAMENTO DAS U.P.	17
1.2 EMISSÃO LASER	18
1.2.1 HISTÓRICO E CONCEITO	18
1.2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS LASERS	19
1.2.3 INTERAÇÃO DA LUZ COM A MATÉRIA	21
1.2.4 EFEITOS PRIMÁRIOS DA INTERAÇÃO LASER COM A MATÉRIA	22
1.3 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TECIDUAL	22
1.4 O PROCESSO DE NEOFORMAÇÃO VASCULAR (ANGIOGÊNESE)	24
1.4.1 FATORES DE CRESCIMENTO ANGIOGÊNICO	25
2.0 OBJETIVOS	27
2.1 OBJETIVO GERAL	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
2.3 CASUÍSTICA	27
3.0 MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1 ANÁLISE CLÍNICA	30
3.2 HISTOLOGIA	30
3.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA	31
4.0 RESULTADOS	33
4.1 ACHADOS CLÍNICOS	33
4.2 ANATOMOPATOLÓGICO	35
4.2 MORFOMETRIA	37
5.0 DISCUSSÃO	39
6.0 CONCLUSÕES	42
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

8.0 ANEXOS	48
ANEXO 1: PROTOCOLO DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE	48
ANEXO 2: AVALIAÇÃO CLÍNICA DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO.....	49
ANEXO 3: SOLICITAÇÃO À COMISSÃO DE ÉTICA HOSPITALAR	50
ANEXO 4: TERMO DE LIVRE ESCLARECIMENTO	51
ANEXO 5: DISTRIBUIÇÃO DO GRUPO AMOSTRAL POR GÊNERO	52
ANEXO 6: PRINCIPAIS PATOLOGIAS NO GRUPO AMOSTRAL	53
ANEXO 7: PRINCIPAIS LOCALIZAÇÕES DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO NO GRUPO AMOSTRAL.....	54

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Fatores da ativação da angiogênese.....	26
FIGURA 2 - Desbridamento Cirúrgico.....	29
FIGURA 3 - Método de irradiação laser- grupos irradiados e controle.....	29
FIGURA 4 - Análise Morfométrica de vasos neoformados.....	31
FIGURA 5 - Avaliação clínica paciente irradiado 15 dias.....	34
FIGURA 6 - Avaliação clínica paciente irradiado 5 dias.....	34
FIGURA7- Fotomicrografia computadorizada de derme humana (região sacro- ilíaca).....	35
FIGURA 8 - Fotomicrografia computadorizada de derme humana (região coxo femural).....	36
FIGURA 9 - Fotomicrografia computadorizada de derme humana (região maléolo medial).....	36

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Média aritmética 15 dias irradiação.....37

GRÁFICO 2 - Média aritmética 5 dias irradiação.....38

LISTA DE ABREVIATURAS

UP	Úlceras de Pressão
AsGa	Arsenito / Gálio
ECM	Matriz extracelular
FACIT	Colágenos fibrila-associados com tríplexes hélices interrompidas
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PMN	Polimorfonucleares
G ₀ a G ₁	Fases da Interfase na divisão celular
FGFb	Fator de crescimento fibroblástico
IL-1	Interleucina - 1
TNF	Fator de necrose tumoral
TGF	Fator de transformação do crescimento
EGF	Fator de crescimento endotelial
nm	Nanômetro
ns	Nanosegundo
W/cm ²	Watts por centímetros quadrados
J/cm ²	Joules por centímetros quadrados
RNA _m	Ácido ribonucléico mensageiro
μm	Micrômetro

1.0 INTRODUÇÃO

Pacientes submetidos a longos períodos de repouso, como os pós-operatórios ortopédicos, bem como pacientes comatosos ou alguns quadros neurológicos específicos apresentam quadros de edema, fibrose e anquiloses nas articulações, bem como a formação de Úlceras por Pressão (UP) que ocorrem sobre pontos de pressão na interface pele - protuberâncias ósseas, como o sacro e calcanhares no paciente em posição supina (AYELLO, 1996; KOTTKE & KOSIAK, 2001).

As UP decorrentes da baixa perfusão tecidual induzida pela compressão do corpo sobre o leito apresentam, a princípio, aparência gangrenosa e, a seguir, a pele sofre descamação, expondo tecido conjuntivo da derme subjacente. A úlcera resultante quase sempre se torna infectada e pode provocar o desenvolvimento de septicemia.(ROBBINS et al, 1994).

A relevância deste trabalho está baseada no fato de que a radiação laser, apesar de estudos acerca desta terapêutica em animais já terem sido realizados, ainda há uma lacuna no que diz respeito a seus efeitos em seres humanos, bem como o uso adequado em relação às dosagens otimizadas (PARIZOTTO & BARANAUSKAS, 1998) o que prejudica sua difusão como tratamento em pacientes com o quadro clínico de UP.

1.1 CONCEITO E CLASSIFICAÇÃO DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO

Úlcera de Pressão conhecida também como escara ou úlcera de decúbito é definida como qualquer lesão causada por pressão não aliviada que resulta em danos nos tecidos subjacentes (tecido subcutâneo, músculo, articulações, ossos).

Lowthian, em alguns trabalhos publicados em meados de 2000 sugeriu analisar os níveis de evolução das escaras em quatro estágios, sendo observado o grau da lesão:

Estágio I - O eritema apresenta-se não branqueável na pele íntegra com lesão que precede a ulceração da pele;

Estágio II - Ocorre perda da porção superficial da pele envolvendo a epiderme, a derme ou ambas, porém a úlcera é superficial e apresenta-se clinicamente sob a forma de escoriação, flictena ou cratera superficial;

Estágio III - Há perda das camadas profundas da pele envolvendo destruição ou necrose dos tecidos subcutâneos que pode estender-se até a faixa subjacente sem a atingir com a úlcera apresentando-se clinicamente como uma cratera profunda com ou sem contaminação dos tecidos adjacentes;

Estágio IV - A ferida evolui com perda da pele profunda com destruição extensa, tecido necrosado ou destruição do músculo, do osso ou das estruturas de suporte.

Em 1999 Pina propôs um protocolo , chamado de Escala de Braden, na qual surgiu a partir de uma necessidade de calcularmos o risco de infecção a que as UP estariam sujeitas

Este instrumento de avaliação analisa cinco itens, sendo cada tópico submetido a quatro critérios escalonados com valores de 1 a 4, somados ao final dando um escore que deverá ser definido de acordo com o quadro abaixo:

ALTO RISCO: Pontuação ≤ 12

RISCO MODERADO: Pontuação total 13-14 pontos

BAIXO RISCO: Pontuação total 15-16, se menor de 75 anos ou de 15-18 se maiores de 75 anos.

ESCALA DE BRADEN PARA CÁLCULO DO RISCO DE ÚLCERAS DE PRESSÃO

O protocolo abaixo descrito leva em consideração os diversos níveis de comprometimento sistêmico a que os pacientes poderão estar submetidos, e portanto, não poderiam deixar de serem observados:

A) PERCEPÇÃO SENSORIAL – Analisa a capacidade do paciente em reagir perante certo desconforto postural

- 1. Completamente Limitada** - Por diminuição do nível de consciência ou sedação, o indivíduo não consegue reagir aos estímulos dolorosos ou apresenta capacidade limitada de sentir dor na maior parte do corpo.
- 2. Muito Limitada** – o enfermo reage apenas a estímulos dolorosos não podendo comunicar o seu desconforto exceto mediante gemidos ou agitação ou apresenta um déficit sensorial que limita a capacidade de perceber dor ou desconforto em mais da metade do seu corpo.
- 3. Ligeiramente Limitada** - Reage a ordens verbais, mas nem sempre pode comunicar o seu desconforto ou necessidade de mudar de posição ou apresenta algum déficit sensorial que limita a sua capacidade de sentir dor ou desconforto em pelo menos uma das extremidades.

4. **Sem Limitações** - Responde a ordens verbais o indivíduo não apresenta déficit sensorial que possa limitar a sua capacidade de expressar ou sentir dor ou desconforto.

B) ATIVIDADE- Aferência do nível de atividade física do cliente.

1. **Acamado** – O Indivíduo apresenta-se constantemente acamado.
2. **Em Cadeira** – O mesmo não pode andar ou sua deambulação é muito limitada, necessitando de ajuda para passar da cadeira para a cama, ou seja, na mudança de posturas.
3. **Deambula Ocasionalmente** – Cliente caminha ocasionalmente tendo ou não ajuda, mas para distâncias curtas, porém passa a maior parte das horas do dia na cama ou na cadeira.
4. **Deambula Frequentemente** - Deambula para fora da enfermaria pelo menos duas vezes por dia e dentro da enfermaria nas horas livres.

C) MOBILIDADE – Capacidade para alterar e controlar a posição do corpo.

1. **Completamente Imóvel** -Sem ajuda não pode realizar nenhuma alteração da posição do corpo ou de alguma extremidade.
2. **Muito limitada** -Ocasionalmente efetua ligeiras alterações na posição do corpo ou das extremidades, mas não é capaz de mudar de posição freqüente ou significativa por si só.
3. **Ligeiramente Limitada** - Efetua com freqüência ligeiras alterações na posição do corpo ou das extremidades sem ajuda.
4. **Sem Limitações** -Efetua freqüentemente importantes alterações de posição do corpo sem ajuda.

D) NUTRIÇÃO – Refere-se ao padrão usual da ingestão de alimentos do indivíduo:

1. **Muito Pobre** - Nunca faz uma refeição completa. Raramente come mais de um terço dos alimentos que se lhe oferece. Bebe poucos líquidos ou está em jejum, com dieta líquida ou a soro mais de cinco dias.
2. **Provavelmente Inadequada** - Raramente come uma refeição completa e geralmente come apenas metade dos alimentos que se lhe oferece. Ingestão protéica pobre apenas três vezes ao dia ou dieta líquida ou sonda, pobre.
3. **Adequada** - Come mais de metade da comida a cada refeição. Come proteínas quatro vezes ao dia. ou recebe dieta por sonda ou parenteral adequada às suas necessidades.

4. **Excelente** - Come maior parte da comida, não recusa alimentação. Normalmente come quatro ou mais serviços de proteínas. Ocasionalmente come nos intervalos das refeições.

E) EXPOSIÇÃO À UMIDADE – Observa o nível de exposição da pele à umidade:

- 1- **Constantemente Úmida** - A pele está constantemente exposta à umidade por sudorese, urina, etc.. Detectamos umidade sempre que mobilizamos o indivíduo;
- 2- **Úmida com Frequência** - A pele está frequentemente úmida. A roupa da cama tem que ser mudada pelo menos uma vez em cada turno.
- 3- **Ocasionalmente Úmida** - Ocasionalmente tem que se mudar a roupa da cama aproximadamente uma vez por dia.
- 4- **Raramente Úmida** - A pele está normalmente seca. A roupa da cama é mudada conforme estipulado para o serviço.

1.1.2 EPIDEMIOLOGIA DAS ÚLCERAS DE PRESSÃO

A análise dos dados estatísticos sobre a prevalência das ÚP torna-se muitas vezes bastante precária e de certo modo incompleta devido a um grande número de pacientes que apresentam essas alterações em fases muito incipientes e portanto, de difícil observação. Além disso, a grande maioria encontra-se em seus domicílios, interferindo, portanto, no número de pacientes submetidos a essa verificação quantitativa.

Um estudo epidemiológico descritivo e transversal de âmbito regional mediante um corte de prevalência demonstrou que as localizações mais frequentes das Úlceras de Pressão (UP) foram o trocânter femural com 29% dos casos, a região sacra sendo a segunda maior incidência, com 24% do total analisado e o calcâneo com 15%. (TORRA i BOU & SOLDEVILLA, 1997). Neste mesmo estudo observou-se que a prevalência das Úlceras de Pressão por doente foi de 2.19 e a incidência de 7.1% no meio hospitalar.

1.1.3 TRATAMENTO DAS U.P.

Atualmente, várias terapêuticas estão sendo empregadas na tentativa de acelerar o processo de cicatrização das úlceras de pressão e evitar a sua evolução, que geralmente progride para infecções focais .

Dentre as técnicas mais empregadas pelas equipes multiprofissionais estão as medidas preventivas como mudanças de decúbitos em intervalos programados, uso de ácidos graxos essenciais tópicos e os curativos.

Os curativos são classificados de acordo com suas características específicas e propriedades, sendo os mais usados (PINA, 1999):

- I) Alginatos - fazem o desbridamento autolítico do tecido macio ou crosta, mas não desbridam a ferida com excesso de tecido necrótico;
- II) Hidrocolóide - Ele acelera a reepitelização e evita as possíveis lesões dos tecidos nas trocas de curativos. Também estimula a ação de enzimas desbridantes do organismo e facilita o desenvolvimento do tecido de granulação;
- III) Papaína - Possui ação bactericida e desbridante através de ação enzimática;
- IV) Colagenase 10% e Clorafenicol - Possui ação desbridante e fibrinolítica, porém não tem ação bactericida;
- V) Carvão Ativado Com Prata - Possui ação bactericida, com alto grau de absorção do exsudato. A cicatrização da ferida torna-se acelerada pela função bactericida exercida pela prata;
- VI) Biofill - É um substituto temporário de pele porque sua estrutura fisiológica é semelhante à pele humana.

1.2 EMISSÃO LASER

1.2.1 HISTÓRICO E CONCEITO

A designação Laser, na realidade, originou-se da abreviação de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, cuja teoria é creditada ao físico Albert Einstein (Apud VEÇOSO,1993) cientista quem primeiro utilizou o termo emissão estimulada.

Em 1950, Townes, Gordon & Zeiger construíram um modelo bastante robusto e que seguia os mesmos princípios da emissão estimulada, o MASER (*Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*), que viria a ser o predecessor do laser atual (BAXTER, 1994).

Em 1960, Maiman construiu o laser a rubi, instrumento que a seguir, um ano depois, gerou a possibilidade da realização com êxito da primeira cirurgia oftálmica com o objetivo da retirada de um tumor de retina.(GONZÁLEZ et al, 2000).

Já no ano de 1965, Sinclair & Knoll adaptaram o laser à prática terapêutica, utilizando baixas potências e pequeno poder de penetração(LICHTENSTEIN & MORGA, 1998).

Os lasers AsGa entraram em cena em meados dos anos 80, também com baixa potência, com valores potenciais em torno de 1 a 4mW, níveis utilizados na época (PATTAN et al, 1997).

Os lasers AsGa emitem uma luz invisível com comprimento de onda de 904 nm. Esse tipo de laser sempre opera com pequenos pulsos (100-200ns) e com alta intensidade (10-15 W) (MESTER et al, 1985).

O laser significa uma luz amplificada produzida por radiação eletromagnética que se manifesta como luz monocromática, diferentemente da luz branca (que é policromática) e emitida pelas lâmpadas comuns, apresentando ondas no mesmo comprimento e nas mesmas fases ondulatórias, e, por isso mesmo, somam energia (ABERGEL et al, 1984).

O laser carrega quase o máximo de energia para uma radiação luminosa. A alta quantidade de energia proporciona ao laser grande poder de destruição ao interagir com qualquer material. Esse poder destrutivo depende do tipo de laser, da distância entre a fonte e o material, do meio de transmissão (densidade, cor, potência.), do ângulo de incidência, do tempo de exposição, da constituição e da cor do material sobre o qual incide (LIEVENS & LIPPENS, 1998).

O processo de estimulação ocorre quando uma fonte energética fornece energia para o átomo de um meio. Os átomos que absorvem parte da energia se tornam excitados e recebem mais energia do que podem reter, e logo após liberam esta energia na forma de radiação laser (SUPPAN, 1994).

1.2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS LASERS

A classificação dos lasers segue, a rigor, o princípio de definição do material ao qual foram originados, podendo ser agrupados em:

- **Gasosos:** hélio-neônio, kriptônio, neodýmium, yttrium-aluminum-garnet (YAG), argônio, CO₂ e outros.
- **Líquidos:** mercúrio, amônia, corantes químicos e outros.
- **Sólidos:** rubi, safira e outros.

A diferença entre os vários tipos de lasers é dada pelo comprimento de onda, ou seja, quanto menor o comprimento de onda, maior será a sua ação. Quanto à classificação de acordo com o tipo de pulso, os lasers podem ser divididos em contínuos ou pulsáteis.

Sua potência é expressa em watts (W), variando de deciwatts a megawatts de potência. A energia é medida em joules por centímetro quadrado (J/cm²), sendo igual à potência multiplicada pelo tempo de aplicação. (DALLAN & OLIVEIRA, 2000; SCHMITT et al, 1993).

A potência a ser utilizada no laser durante o tratamento poderá seguir a equação proposta por Veçoso (1993):

$$P_m = P_p \times T_i \times f$$

Onde:

P_m = potência média (dada em watts)

P_p = potência de pico (watts)

T_i = tempo de duração de um pulso laser (medido em segundos, normalmente em torno de 0,00000002 s)

F = número de pulsos em 1 segundo (medido em hertz).

Embora existam algumas diretrizes no que se refere à dosagem a ser utilizada durante a terapia laser, pode-se considerar atualmente ainda extremamente difícil estabelecer os padrões de dosagem do laser, devido ao grande número de trabalhos com diferentes dosagens.

Diante disso, Cruañes em seu livro *La terapia laser hoy* (1984) estabeleceu o esquema de dosagem que se segue:

Efeito analésico: 2 a 4 J/cm²

Efeito antiinflamatório: 1 a 3 J/cm²

Efeito cicatrizante: 3 a 6 J/cm²

Efeito circulatório: 1 a 3 J/cm²

Esse protocolo ainda requer maiores comprovações científicas, muito embora seja bastante utilizada na prática clínica de fisioterapeutas, médicos e outros profissionais que atuam com esse equipamento.

1.2.3 INTERAÇÃO DA LUZ COM A MATÉRIA

Embora não tenhamos uma clareza sobre os processos químicos que realmente são estimulados pela luz ou irradiação luminosa (fototerapia), podemos citar a fotossíntese das plantas verdes como um exemplo da atuação ativa das ondas luminosas nos processos físico-químicos celulares, ou seja, através da combinação de moléculas de água, dióxido de carbono e energia luminosa ocorrem reações químicas que culminam com a produção de moléculas de O_2 e água.

As radiações ionizantes incluem a emissão de elétrons rápidos, prótons e nêutrons, tanto quanto fótons na frequência de raios X pesados que têm energia cinética na ordem de milhões de elétron-volts. Quando uma partícula ionizada passa através da matéria, essa energia é dissipada ao longo da sua trajetória.

A maioria dos processos químicos necessitam de energia inicial conhecida como energia livre ou energia de Gibb(ΔG), dada pelo somatório da entalpia(ΔH), também conhecida como calor de um sistema somada à entropia ($T\Delta S$), citada como energia incapaz de gerar trabalho. A maioria das reações ocorridas no organismo humano sofrerão o processo de oxidação ou redução, que necessitam dessa energia disponível para o início do processo metabólico(MESTER et al, 1985).

Em fontes luminosas comuns, a luz é produzida pela emissão espontânea da radiação, na qual os átomos e moléculas são estimulados com energia, geralmente elétrica, de tal modo que os elétrons deslocam-se para órbitas de energia superiores. No momento que tais elétrons ocupem estas órbitas, sofrem instabilidade e caem espontaneamente para níveis de energia mais baixos e com isso liberam sua energia extra em forma de fótons de luz, cujas características energéticas dependerão dos níveis de energia que o elétron excitado caiu, bem como a energia quântica é inversamente relacionada ao comprimento de onda (KITCHEN & BAZIN,1998).

A absorção da radiação equivale à energia transportada pelo fóton, sendo esta absorção específica para comprimento de onda (SUPPAN, 1994) o que determina qual o tipo de tecido irá preferencialmente absorver a radiação incidente e a profundidade de penetração desta energia.

A emissão estimulada da radiação ocorre quando um fóton incidente interage com um átomo que já está excitado e sua energia quântica deve ser exatamente igual à diferença nos níveis de repouso e excitado do elétron (KITCHEN & BAZIN,1998).

1.2.4 EFEITOS PRIMÁRIOS DA INTERAÇÃO LASER COM A MATÉRIA

Efeito Bioquímico: o laser pode provocar a liberação de substâncias pré-formadas como a histamina, serotonina e bradicinina, bem como modificar reações enzimáticas normais, tanto acelerando como retardando essas reações (RODRIGUES & GUIMARÃES, 1998).

Efeito Bioelétrico: a radiação laser proporciona aumento na produção de ATP, o que promoveria um aumento na eficiência da bomba sódio-potássio, com isso a diferença de potencial elétrico existente entre o interior e o exterior da célula é mantida com melhores resultados (VEÇOSO, 1993).

Efeito Bioenergético: defende-se que o aporte energético da radiação laser tem capacidade de normalizar o contingente energético que coexiste com o contingente físico dos indivíduos (KAHN,J.2001).

1.3 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TECIDUAL

Nas feridas cujas bordas foram aproximadas por sutura e que não tenham sido infectadas, a cicatrização é denominada primária ou por primeira intenção e ocorre pelo seguinte mecanismo: o sangue extravasado pelo corte forma um coágulo que ocupa o espaço entre as margens da ferida. A partir do coágulo e do tecido lesado, surgem fatores quimiotáticos e vasoativos que promovem a exsudação de líquidos do sangue para as margens da lesão e assim os fagócitos aproximadamente 6 horas após é possível observar a presença de fagócitos nas margens da ferida e por volta de 24 horas, o coágulo já está invadido por essas células, com predomínio dos polimorfonucleares (PMN) (TATARUNAS et al, 1998).

No intervalo de 48 horas, o número de PMN diminui sensivelmente, passando o exsudato a ser constituído predominantemente por macrófagos. Nesse ínterim, as células da camada basal da epiderme entram em mitose e migram sobre a superfície do coágulo, recompondo o epitélio (ROBBINS et al, 1994).

Os fibroblastos do tecido conjuntivo das margens tornam-se ativados, proliferam, migram em direção ao coágulo em reabsorção e começam a sintetizar os componentes da

matriz extracelular (MEC), que é uma rede complexa de macromoléculas secretadas, localizadas no espaço extracelular, tendo um papel central no controle dos processos celulares básicos, como proliferação, diferenciação, migração e interações celulares. A rede macromolecular da MEC é constituída de colágenos, elastina, glicoproteínas e proteoglicanas, secretadas por células do tecido conjuntivo como os fibroblastos e células epiteliais. Todos esses componentes estão em íntimo contato com suas células de origem e formam um, leito gelatinoso tridimensional no qual as células evoluem. (BAYNES & DOMINICKZAK, 2000)

O endotélio dos capilares adjacente emite brotos que crescem em direção ao coágulo, formando novos capilares sanguíneos. Esse tecido conjuntivo frouxo rico em capilares sanguíneos e contendo leucócitos e matriz extracelular formada por fibras colágenas finas (colágeno tipo III), ácido hialurônico e moderada quantidade de proteoglicanos, é denominado de tecido de granulação. Macroscopicamente esse tecido tem coloração rósea e aspecto granuloso (THORODDSEN, 1999).

Os colágenos são as principais proteínas da MEC, perfazendo aproximadamente 25% da massa protéica total do organismo, sendo os componentes estruturais primários da MEC, tendo papel fundamental na arquitetura tecidual, na resistência dos tecidos e em uma ampla variedade de interações célula-célula e célula-matriz (BAYNES & DOMINICKZAK, 2000)

Esses, ainda, podem ser classificados em dois tipos principais: os formadores de fibrila e os não – fibrilares. As fibrilas colagenosas da derme são híbridos dos colágenos de tipo I e II, sendo o colágeno do tipo I o mais abundante, ocorrendo em uma variedade de tecidos, fornecendo alta resistência à tensão da pele, tendões e ligamentos (BOSARTRA et al, 1984). Os não-fibrilares formam um grupo heterogêneo contendo segmentos em tríplice hélice, de comprimento variável interrompidos por um ou mais segmentos intervenientes não-helicoidais. Esse grupo inclui os colágenos das membranas basais (tipo IV), os fibrila-associados com tríplices hélices interrompidas (FACITs) e os com múltiplos domínios tríplices hélices conhecidos como multiplexinas (BOLTON et al, 1985).

A quantidade de colágeno aumenta com o tempo e por volta de duas semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular. O colágeno tipo I passa a predominar em relação ao tipo III, sendo as fibras colágenas mais densas. As células fagocitárias vão desaparecendo e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado, situado logo abaixo da epiderme já regenerada (DALLAN & OLIVEIRA, 2000).

Os miofibroblastos surgem e provocam a contração da cicatriz, aproximando mais ainda as bordas da ferida, que, apesar de estar consolidada por volta de dez dias, a cicatriz

leva algumas semanas para completar sua remodelação e adquirir resistência máxima (TATARUNAS et al, 1998).

A ativação dos fibroblastos se faz por: 1) fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), sintetizado por macrófagos e plaquetas, que induz a célula a passar das fases da intérfase G_0 a G_1 e a expor receptores para outros fatores de crescimento; 2) fator de crescimento fibroblástico (Fgfb), produzido por fibroblastos e células endoteliais, que tem ação mitogênica para fibroblastos e induz a síntese dos componentes da matriz; 3) Interleucina - 1 (IL-1), fator de necrose tumoral (TNF) alfa e fator de transformação do crescimento (TGF) beta, produzidos por macrófagos, são estimuladores potentes da síntese de colágeno pelos fibroblastos. O TGF beta é estimulador da cicatriz, pois ativa a colagenogênese e inibe a colagenólise. A proliferação epitelial da epiderme depende da ação de fatores de crescimento, principalmente do fator de crescimento endotelial (EGF), liberados por células fagocitárias (HYNES et al, 1999).

Quando a ferida é extensa, como o é geralmente nas úlceras de decúbito, forma-se um grande coágulo; se há infecção, surge reação inflamatória. Nos dois casos, a exsudação de fagócitos é muito intensa e forma-se grande quantidade de tecido de granulação. Como as bordas da ferida estão distantes, a regeneração da epiderme é mais lenta e demora mais tempo para se completar. As células da epiderme proliferam nas margens, onde ocorre certo grau de hiperplasia devido à grande quantidade de fatores de crescimento liberados a partir das células exsudadas. Nas fases iniciais, o tecido de granulação faz saliência na superfície da ferida. Com o passar do tempo, ele sofre as mesmas transformações descritas na cicatrização por primeira intenção, sendo muito mais intenso e evidenciável o fenômeno da retração da cicatriz pelos miofibroblastos (TATARUNAS et al, 1998).

No caso das feridas necrosadas, a diminuição do fluxo sanguíneo local provoca uma diminuição da respiração mitocondrial, causando alterações na membrana celular, como diminuição da eliminação de sódio, com conseqüente aumento da relação Na/K e aumento de água no interior da célula. Esse líquido gera uma tumefação no Retículo Endoplasmático e alargamento do Complexo de Golgi. (TORRA i BOU & SOLDEVILLA, 1999).

1.4 O PROCESSO DE NEOFORMAÇÃO VASCULAR (ANGIOGÊNESE)

Durante o desenvolvimento embrionário, o sistema vascular é um dos primeiros sistemas a se formar.

Os processos do desenvolvimento vascular foram divididos em vasculogênese, e angiogênese. A vasculogênese ou a geração de novos vasos a partir dos angioblastos mesodermiais, pode ser definida como a diferenciação in situ de precursores mesodérmicos em células endoteliais, que posteriormente organizam-se em um plexo capilar primário. A Angiogênese ou formação de vasos a partir de brotamentos de uma árvore vascular preexistente participa em diversos processos fisiológicos e patológicos, incluindo o crescimento tumoral e de metástases (BECK & D'AMORE, 1997; RISAU, 1997).

O desenvolvimento vascular, entretanto, apresenta uma complexidade maior. A vascularização inicial do saco embrionário se dá certamente pela fusão de ilhotas de sangue em um processo de neovasculogênese e os vasos principais, tais como a aorta e o coração surgem pela agregação de angioblastos, gerando áreas de vascularização onde antes não havia (FOLKMAN, 1995).

A elaboração subsequente destes vasos envolve a produção de veias colaterais através de dois mecanismos diferentes: brotamento (RISAU, 1997) e divisão celular (PATTAN, 1996). Os plexos vasculares resultantes são remodelados para diferenciar grandes e pequenas veias e vascularização arterial de venosa. O endotélio é então preenchido por células acessórias (periócitos e células musculares lisas)

A importância da angiogênese está baseada no fato de que este processo é a chave numa série de eventos fisiológicos como ovulação, formação de corpo lúteo e cura das feridas e algumas doenças como artropatias crônicas, psoríase, retinopatia proliferativa e crescimento tumoral e disseminação metastática, o que faz de todos os mecanismos que participam na angiogênese alvos promissores da terapêutica neste grupo de doenças chamadas angiogênese-dependentes.(NEEMAN et al, 1997).

1.4.1 FATORES DE CRESCIMENTO ANGIOGÊNICO

A angiogênese é um mecanismo de múltiplos passos, controlada por fatores estimulantes e inibitórios, que se desenvolve quando algum estímulo induz as células endoteliais a um estado de replicação (PATAN et al, 1997).

Entre os vários fatores do crescimento vascular estão o fator endotelial vascular do crescimento (VEGF), fator básico do crescimento dos fibroblastos, TGF, angiopoitinas, neuregulina e fator do crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e seus receptores correspondentes. O VEGF e os angiopoitinas agem em células endoteliais ligando-se aos receptores da quinase da tirosina, visto que PDGF e o neuregulina são produzidos por células

e pelo ato edotelial para recrutar e organizar células acessórias, outra vez agindo em receptores de quinase da tirosina naquelas células (FOLKMANN, 1995).

Muitos fatores de crescimento angiogênicos foram identificados, como exposto acima, porém as experimentações têm focalizado o fator edotelial vascular do crescimento e fator de crescimento fibroblástico. Os efeitos fisiológicos do VEGF incluem o aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação induzidas pelo óxido nítrico. Este fator é estimulado pela hipóxia e pela isquemia tecidual. Assim, VEGF, agindo através de dois receptores diferentes, controla primeiramente a determinação inicial dos angioblastos e subsequente da sua habilidade de montar os tubos (INOUE et al, 1998).

Entretanto, a ação prévia de Fgf-2 parece necessária para induzir a expressão de receptores de VEGF nos precursores edoteliais. Subseqüentemente, as angiopoitinas que agem em receptores do laço afetam um desenvolvimento mais adicional da vasculatura, provavelmente incluindo interações entre células edoteliais e acessórias. Interações de epinefrina/Efedrina contribuem ainda mais na diferenciação dos tipos diferentes de vasos (HYNES, 1999).

Os fatores e seus receptores são arranjados de acordo com os processos que os afetam, baseado nas informações extraídas dos fenótipos de ratos geneticamente modificados. Assim, VEGF que age com Vegf-r2 (flk-1) afeta o "nascimento" de células edoteliais, visto que VEGF que age com Vegf-r1 (flt-1) afeta preferivelmente a formação do tubo e o VEGF que colabora com as angiopoitinas afetando o recrutamento de células e de acessórios da angiogênese (GONZALEZ, 2000).

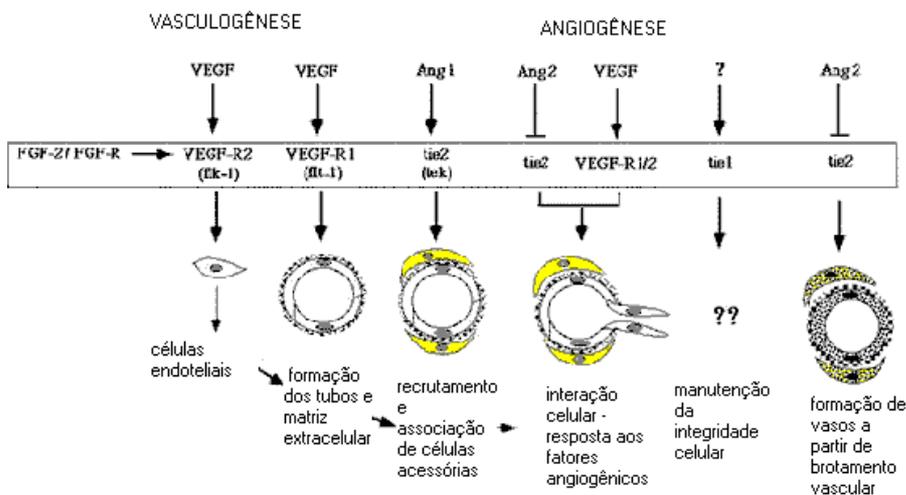


Figura 1 - Regulação da formação dos vasos. O diagrama descreve as várias fases do desenvolvimento vascular, dos fatores múltiplos do crescimento que influenciam as células edoteliais (fator básico do crescimento do fibroblasto (Fgf-2), fator edotelial vascular do crescimento (VEGF), angiopoitinas e de seus receptores. (HYNES, 1999)).

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do Laser de baixa potência AsGa quando irradiado em uma série de pacientes humanos que apresentem Úlceras de Pressão, utilizando-se como parâmetros análises histológicas e morfométricas.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar alterações histológicas devido à irradiação pelo Laser AsGa (904 nm);
- Avaliar a evolução clínica dessas feridas nos pacientes submetidos à terapia Laser;
- Observar formação de áreas de neovascularização e quantificar essas áreas utilizando-se de análise morfométrica;
- Verificar efeito estimulador em fibroblastos humanos nos locais submetidos à irradiação Laser.

2.3 CASUÍSTICA

Este trabalho se configura, de acordo com a classificação proposta por PEREIRA (2001) como uma pesquisa quantitativa, descritiva, de séries de casos, do tipo experimental prospectiva e controlado. Foram selecionados seis pacientes, de ambos sexos, na faixa etária entre 60 ± 3.5 anos, oriundos da cidade de São Luís – Maranhão, internados em quatro hospitais da rede pública de saúde daquela localidade, sejam eles: Hospital Carlos Macieira – HCM, Socorrão I e II e Hospital Aldenora Belo, os quais receberam solicitação para pesquisa junto à suas respectivas comissões de ética, através de formulário padronizado (ANEXO 3), bem como seus familiares receberam o Termo de Livre Esclarecimento (ANEXO 4).

3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

Separou-se o grupo amostral em 2 grupos, A e B, respectivamente, cada grupo com três pacientes aleatoriamente, sendo avaliados (clínico, histológico e morfométrico) antes e após a irradiação laser. O grupo A, irradiado durante cinco dias consecutivos e grupo B irradiado durante 15 dias intercalados. As feridas foram divididas em 2 metades, sendo numa extremidade lateral realizada a irradiação e a outra metade, servindo como controle. Esta metodologia utilizada deve-se à grande extensão entre os bordos das úlceras, bem como a literatura ter como definida que além do ponto atingido pela radiação, a energia do laser é absorvida apenas por uma fina camada de tecido adjacente (DALLAN & OLIVEIRA, 2000), bem como à medida que nos distanciamos da superfície, menor é a energia local absorvida (JOHNSTON, 1977; KANA et al, 1981; KOLARI, 1985).

As feridas foram irradiadas pelo laser diodo AsGa (Arsênio-Gálio), pulsátil, da marca IBRAMED e número de série 330, comprimento de onda 904 nm, potência de pico de 20 W, e densidade de energia radiante pontual de 3 J/cm^2 , método este indolor e sem quaisquer riscos para os pacientes. O método de aplicação foi o pontual, ou seja, com a caneta mantida perpendicular à ferida, dividindo-se a área a ser irradiada em quadrantes de 2 cm^2 , sendo o tempo de aplicação de cada quadrante de 1 min (TATARUNAS et al. 1998; MALM & LUNDERBERG, 1991), não havendo risco de se atingir o quadrante controle, conforme trabalhos mais recentes acerca do grau de profundidade e extensão atingido pela radiação laser de baixa potência (KOLÁROVÁ et al, 1999).

Durante este procedimento, utilizamos óculos de proteção e luvas de procedimento durante a radiação.

A assepsia foi realizada em esquema de soro fisiológico 0,9% em jatos e a área delimitada por panos de campo esterilizada, sendo mantida o mesmo procedimento no concernente à limpeza e manutenção das úlceras durante a pesquisa, tanto nas áreas irradiadas quanto no grupo controle.

O desbridamento foi realizado por técnica cirúrgica, sendo retirado tecido necrosado na região da úlcera, utilizando-se bisturi elétrico, como mostrado na figura 2:



Figura 2: retirada de tecido necrosado através de técnica de desbridamento em sala cirúrgica, utilizando-se bisturi elétrico. A área a ser desbridada foi delimitada por campos de pano esterilizada. Hospital Aldenora Bello.

O feixe de laser irradiou a borda mais externa da ferida, ficando a outra extremidade como grupo controle, como ilustrado na figura 3 abaixo:

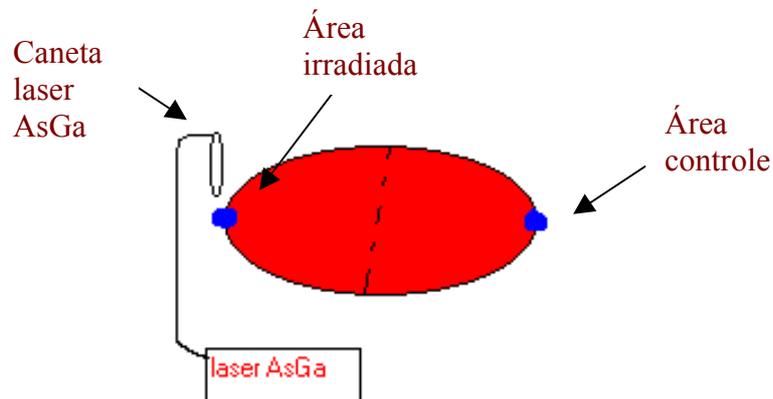


Figura 3: a figura ilustra como foram escolhidas as áreas a serem irradiadas e as controle. Em vermelho, toda a extensão da úlcera; em azul, as extremidades da úlcera, de uma extremidade, irradiação pontual utilizando-se a caneta mantida perpendicular à ferida e na outra extremidade, convencionou-se definir como o controle.

A utilização do mesmo animal como controle já foi utilizada por outros autores para fins de comparação (KANA et al., 1981), haja vista a penetrabilidade do laser, como já exposto acima.

3.1 ANÁLISE CLÍNICA

Todas as feridas foram avaliadas clinicamente, preenchendo-se protocolos (ANEXOS 1 e 2) no 2º dia de pós-debridamento para todos os pacientes e, também no último dia de tratamento, ou seja, 5º dia no grupo A e 15º dia grupo B, tanto no local irradiado quanto na outra extremidade da úlcera (controle).

Os critérios de exclusão para a amostragem foram: presença de tecido de necrose e/ou serosa sem possibilidade de desbridamento cirúrgico, feridas com altos índices de infecção, pacientes com alto risco de morte iminente, hemodinamicamente instáveis, o não consentimento familiar prévio e o não consentimento da instituição hospitalar na qual estivessem inseridos.

3.2 HISTOLOGIA

O procedimento histológico rotineiro, em todas as etapas, foi realizado de acordo com LILLIE (1948).

As biópsias foram realizadas no segundo dia de pós-debridamento e no último dia de irradiação nos dois grupos A e B. Procedeu-se à exérese de fragmento de pele medindo aproximadamente 0,5 cm de comprimento por 0,5 cm de largura e 0,2 cm de profundidade. Padronizou-se coletar o fragmento junto às bordas escarificadas. Os fragmentos retirados (biópsias), devidamente identificados, foram imediatamente imersos em fixador composto por formol a 10% neutro, permanecendo neste por 24 h. Após este período, os fragmentos foram lavados em água corrente por 8-10 h. e em seguida desidratados em uma série crescente de etanol (de 70% a 100%).

Posteriormente, foram clarificados (diafanizados) em xilol, e finalmente incluídos em parafina. Os blocos resultantes (4 blocos/paciente), no total de 24 blocos, sendo 2 blocos controles (inicial e final) e 2 irradiados (início e pós-irradiação) foram submetidos à microtomia (micrótomo JUNG). Cortes de 6 µm obtidos, foram corados pela hematoxilina-eosina e pelo tricrômico de MASSON e montado com resina ENTELAN (Merck Lab).

Para o estudo histológico, as preparações foram examinadas em microscópio Olympus modelo BMX50.

Todos os pacientes foram preservados quanto à sua identidade, esclarecidos em relação a todas as etapas de procedimento e seus familiares assinaram um termo de

esclarecimento e concordância quanto à pesquisa fazendo-se saber aos mesmos que poderiam interromper o tratamento a qualquer momento em que fosse solicitado.

3.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

A análise morfométrica foi realizada empregando-se um sistema de análise de imagens computadorizado, constituído de um microscópio trinocular LEICA modelo DMLS, provido de microcâmera digital marca SAMSUNG acoplado a computador (Pentium II - MICROSOFT) e do Software Image Lab (SOFTIUM), pertencente ao laboratório de imagens do programa de Pós-Graduação em Morfologia (Departamento de Anatomia, CCB – UFPE).

Dos 24 blocos obtidos: 96 preparações de cada bloco foram corados e em seguida 24 selecionados aleatoriamente, como ilustrado na figura 4:

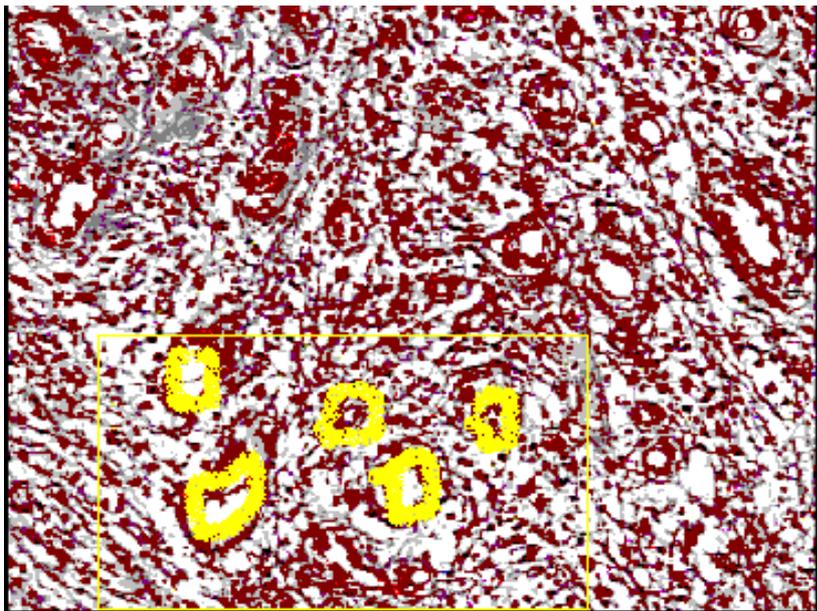


Figura 4: Ilustração de análise morfométrica. As preparações histológicas foram escolhidas aleatoriamente, tanto nos grupos controle quanto nos irradiados pelo laser AsGa (904 nm). No campo microscópico, selecionava-se, também de modo aleatório, alguns vasos e em seguida, hachurava-se a área ocupada por estes vasos. O microscópio interligado por um computador PENTIUM II – MICROSOFT, resgatava as imagens e realizava a contagem morfométrica. HE 400X

Em cada preparação 6 campos foram escolhidos aleatoriamente e os seguintes parâmetros morfológicos foram quantificados:

A_{vs} = Área (média) ocupada pelos vasos. ($\mu\text{m}^2/\text{cm}^2$ de derme)

D_{max} = Diâmetro (média) máximo dos vasos (μm^2)

d_{min} = Diâmetro (média) mínimo dos vasos (μm^2)

P = Perímetro (média) (μm^2)

4.0 RESULTADOS

4.1 ACHADOS CLÍNICOS

Como já exposto no item métodos, a avaliação clínica foi realizada através de observação e preenchimento de protocolo (ANEXOS 1 e 2), método empregado por TATARUNAS et al (1998).

O grupo amostral apresentou uma população de 17% de homens e 83% de mulheres, sendo que 25% dos casos foram diagnosticados como traumatismo crânio encefálico, 62,5% apresentavam acidente vascular cerebral isquêmico e 12,5% paraplegia (ANEXOS 5 e 6).

A maioria das feridas estava localizadas na região do calcanhar (37,5%) e na região coccígea (62,5%) (ANEXO7).

Dos resultados clínicos observados, constatou-se a permanência de exsudação em alguns pacientes irradiados, analisada pelo número de trocas de gases (curativos) que protegiam as UP devido ao aumento da umidade local, sendo que nos pacientes submetidos a cinco dias de irradiação a exsudação permaneceu uma constante.

Cerca de 50% do total de casos apresentava reação inflamatória inespecífica no início da pesquisa, observada por sinais clínicos como exsudação, hiperemia e edema, confirmados pela neutrofilia e leucocitose em hemograma, descartando-se hipótese de infecção, haja vista que todos os pacientes faziam uso de antibioticoterapia de amplo espectro, devido ao alto risco de desenvolver infecções que este tipo de ulcerações apresentam, sendo que essa reação inflamatória caiu para 10% dos casos nos dois grupos.

No grupo irradiado por cinco dias a formação vascular, observada através de sinais clínicos como sangramento pontual e isolado bem como revitalização da área circunscrita a ponto de sangramento, foi em torno de 50% dos casos, contra 70% dos casos irradiados durante 15 dias.

O tecido de granulação, caracterizado por uma área circunscrita, avermelhada de aspecto granuloso ou granulado e saliente, foi observado já no 3º dia de irradiação nos dois grupos, ou seja, irradiados durante cinco dias e 15 dias. Como podemos analisar na figura 5, há presença de pontos de sangramento, o que revela a presença de vasos sanguíneos.

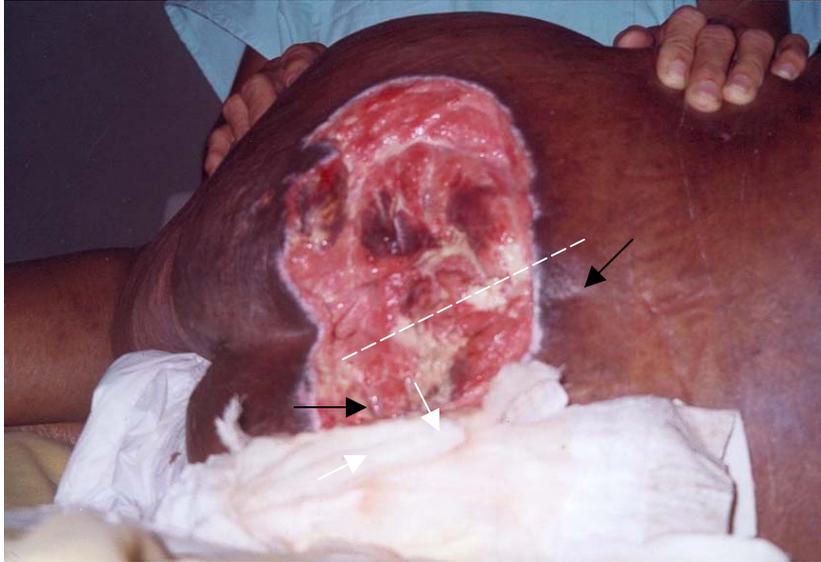


Fig 5: paciente H.P.C., feminino, 65 a, oriundo do hospital Socorrão II, com UP em região sacro ilíaca, tratada pela irradiação laser de baixa potência AsGa (904 nm), / 3 J/cm²/ 15 dias intercalados. As setas em branco apontam pontos de sangramento, confirmando a presença de vasos sanguíneos, e as setas em preto demonstram áreas de formação de tecido de granulação (regeneração tecidual). Acima da área tracejada não houve a irradiação com Laser AsGa.

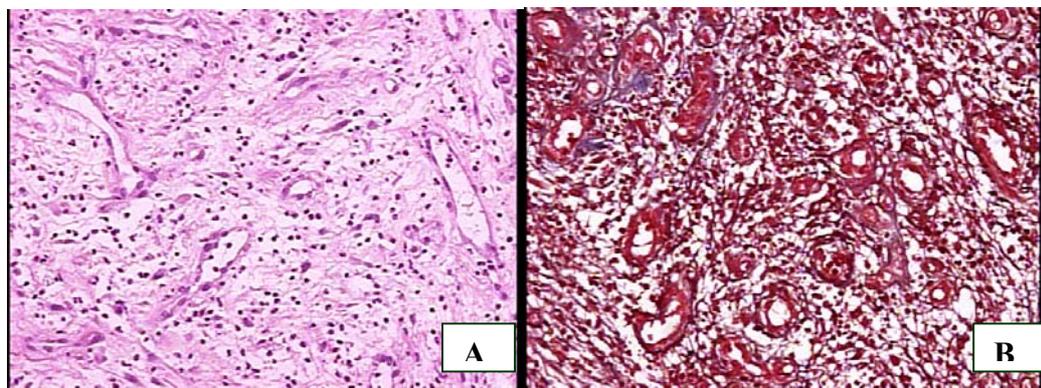


Figura 6: paciente F.S., masculino, 60 a, oriundo do hospital Carlos Macieira - HCM, com UP em região calcânhar direito, sendo a região 1 tratada pela irradiação laser de baixa potência AsGa (904 nm), / 3 J/cm²/ 5 dias consecutivos e 2, região controle.

4.2 ANATOMOPATOLÓGICO

No 2º dia de pós-debridamento, observamos nos dois grupos, A e B, áreas isoladas com tecido amorfo, tecido conjuntivo subjacente com edema e congestão com infiltrado inflamatório composto predominantemente por leucócitos íntegros e degenerados e alguns vasos sanguíneos, como visto na figura 7:

Fig 7: Fotomicrografia da derme humana (região sacro-iliaca).



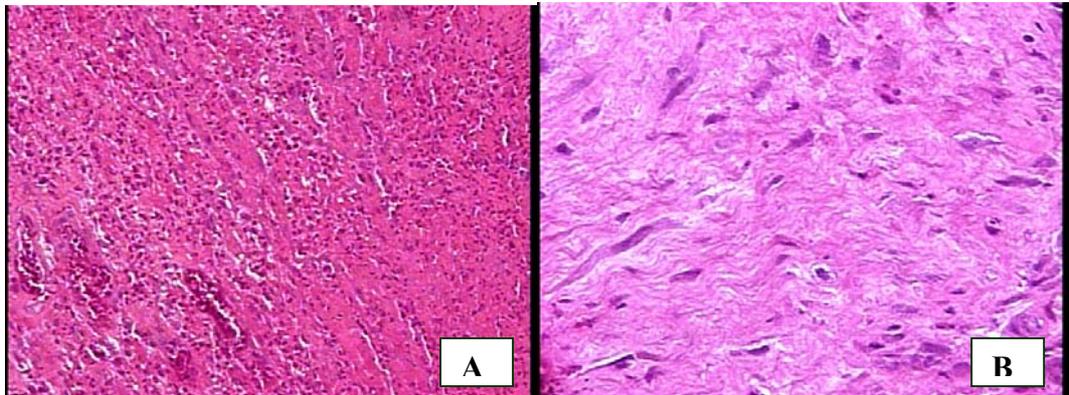
A- Paciente F.V.C. feminino, 63 a, oriunda do hospital Socorrão I., 2º dia pós-debridamento. Há um grande número de leucócitos, poucos vasos sanguíneos e extenso edema. HE 200 X

B- à direita, região submetida à irradiação com laser AsGa durante 5 dias alternados, evidenciando grande quantidade de vasos sanguíneos. MASSON 400 X.

Nas preparações histológicas, pudemos analisar a evolução histológica dos pacientes quando irradiados por Laser AsGa, avaliando-se principalmente o incremento ou não do número de vasos, a formação e disposição das fibras colágenas e sua correlação com a avaliação clínica realizada durante o tratamento.

Ao analisarmos as figuras 7 e 8, observamos que os pacientes irradiados com laser AsGa com dose de 3 J/cm², após o tratamento, apresentaram grande quantidade de vasos neoformados e formação de fibras colágenas, tanto nos irradiados com 5 quanto com 15 dias, não havendo diferenças significativas à microscopia óptica:

Fig 8.: Fotomicrografia computadorizada de derme humana (região coxo-femoral).

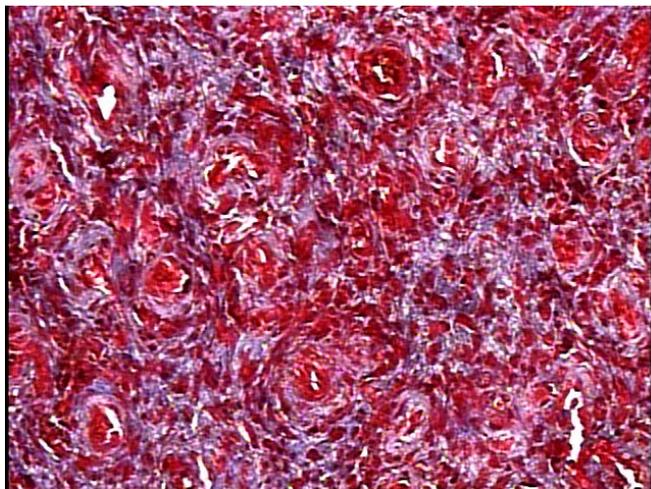


A- Paciente J.N.B., feminino, 70 a, oriunda do hospital Aldenora Belo, 2º dia pós-debridamento, com presença de células inflamatórias, espaços entre as células (edema); HE 200 X

B- região submetida à irradiação com laser AsGa durante 15 dias alternado. Nota-se, fibroblastos evidentes, espaços preenchidos por fibras colágenas. MASSON 400 X.

A figura 9 confirma os dados já analisados acima, em relação à disposição de fibras colágenas e vasos neoformados:

Fig. 9. Fotomicrografia computadorizada de derme humana (região maléolo medial).



Paciente J Paciente F.V.S., masculino, 50 a, oriundo do hospital Aldenora Belo. Observar a formação de vasos sanguíneos em vermelho, e em azul, fibras colágenas. MASSON, 400 X.

4.2 MORFOMETRIA

Os resultados obtidos demonstram que a área ocupada pelos vasos neoformados após a irradiação laser AsGa (904 nm) apresentou uma média em torno de $4115,922 \mu\text{m}^2$, nos pacientes do grupo B, irradiados durante 15 dias, enquanto que o grupo controle apresentou uma cobertura de área pelos vasos que estavam presentes em torno de $1519,758 \mu\text{m}^2$, em uma área total de $5635,68 \mu\text{m}^2$, em uma amostra de derme de $0,25 \text{ cm}^2$, como ilustrado no gráfico 1:

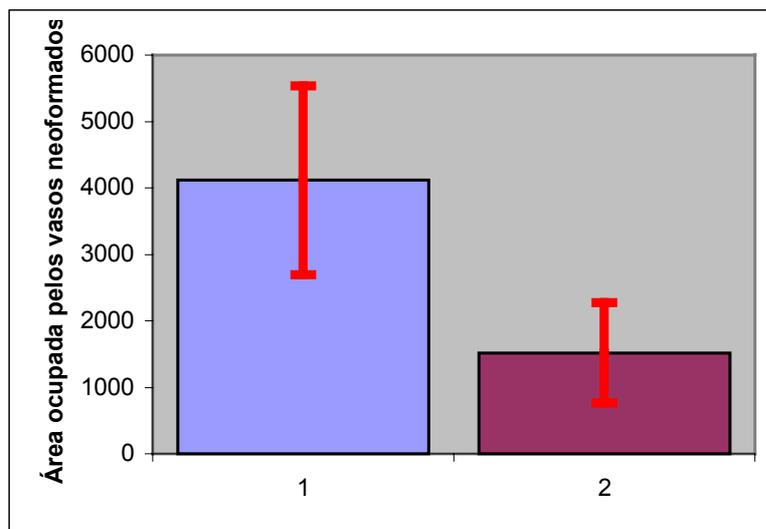


Gráfico 1: A coluna da esquerda demonstra a média aritmética da área coberta pelos vasos neoformados no grupo irradiado pelo sofíaser AsGa/ 15 dias / 3 J/cm^2 . A coluna da direita, revela a área ocupada pelos vasos sanguíneos do grupo controle 15 dias.

O grupo A irradiado durante 5 dias apresentou resultados semelhantes ao grupo B, não havendo diferenças significativas, já que a área apresentada pelos vasos neoformados após a radiação 5 dias foi de $4348,25 \mu\text{m}^2$, enquanto seu grupo controle apresentou uma área de $1971,12 \mu\text{m}^2$, em uma amostra de derme de $0,25 \text{cm}^2$, como ilustrado no gráfico 2:

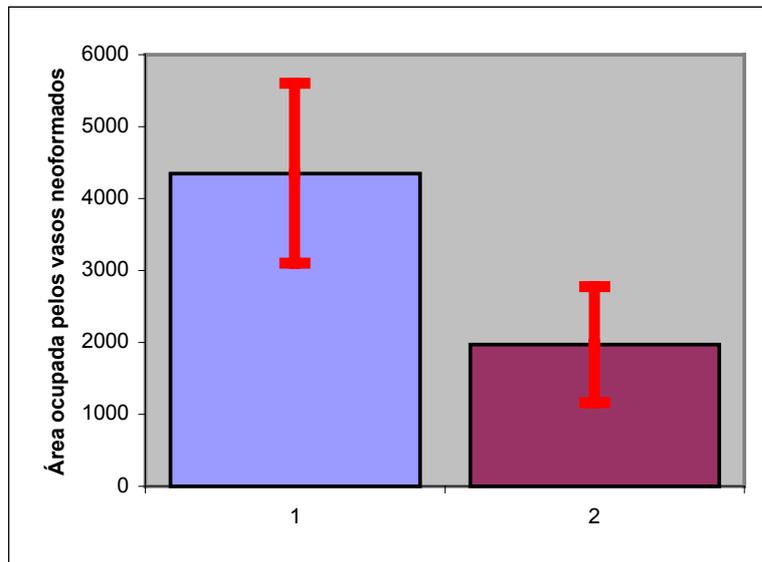


Gráfico 2: A coluna da esquerda demonstra a média aritmética da área coberta pelos vasos neoformados no grupo irradiado pelo softlaser AsGa/ 5 dias / $3 \text{J}/\text{cm}^2$. A coluna da direita, revela a área ocupada pelos vasos sanguíneos do grupo controle 5 dias.

5.0 DISCUSSÃO

O interesse pela análise clínica observacional deve ser considerada como um componente somatório para comprovação dos dados obtidos nas análises histológicas e morfométricas, prática já utilizada por alguns estudos comparativos (ARANTES et al, 1991).

Aos lasers de baixa potência se atribuem efeitos analgésicos, antiinflamatórios e estimulantes da cicatrização, cujo estudo da interação entre luz laser e a matéria viva é ainda bastante complexo (CRUAÑES, 1984).

A energia depositada nos tecidos sofre fenômenos de absorção, difusão, transmissão, refração e reflexão, sendo o último considerado quando um raio de luz incide na superfície de separação de dois meios e retorna ao meio de origem e a refração quando há uma mudança na velocidade de propagação da luz. A pele é extremamente heterogênea do ponto de vista óptico, podendo sofrer todos os fenômenos acima descritos, entretanto, a energia é inversamente proporcional à distância, ou seja, à medida que distanciamos-nos da superfície, menor é a energia absorvida (JOHNSTON, 1977; KANA et al, 1981; KOLARI, 1985).

Nos lasers de alta intensidade como os de gás carbônico (CO₂), a destruição celular ou de substância orgânica pela radiação se faz por fotocoagulação (necrose de coagulação), queima (deixando resíduo carbonizado), liquefação (deixando resíduo líquida), ou vaporização (DALLAN & OLIVEIRA, 2000).

Os raios laser tiveram seu emprego inicial em oftalmologia, através de estudos experimentais em animais, quando Zaret, em 1961 utilizou a terapia laser para incrementar a fotocoagulação em retina de coelhos.

Stainki (1998) investigou a diminuição da intensidade da resposta inflamatória ao fio de sutura em feridas cirúrgicas de cães submetidos à radiação com laser AsGa, porém admitiu poder contribuir para a formação de neuroma mais exuberante, efeito já observado por Cruañes, em 1984 e Rojas, em 1982.

A aplicação da radiação com laser diodo Arsenito de Gálio durante a pesquisa se mostrou simples e segura e o aparelho de fácil aplicação à pele e de baixo custo, como já descrito na literatura (KOLARI, 1985; SCHMITT et al, 1993).

Optamos por utilizar doses de 3 J/ cm² dentro dos limites propostos em literatura (ANNEROTH et al, 1988; CRUAÑES, 1984).

Kirsch (1998) em um exame ultraestrutural com irradiação laser do tipo Dióxido de Carbono (CO₂) em zonas de colágeno em derme e tendões musculares relatou que o laser do tipo dióxido de carbono atuaria no encolhimento da fibra colágena, contribuindo, pelo menos em parte, para a retração das feridas, fato este que nos levou a utilizar aplicação pontual.

A observação das duas extremidades da ferida (irradiada e a controle) para fins de comparação denota do fato de que, além do ponto atingido pela radiação, a energia do laser é absorvida apenas por uma fina camada de tecido adjacente, conforme os trabalhos relatados por Mester, que já em 1985 afirmava que a úlcera inteira não precisaria ser totalmente irradiada para se obter a estimulação, além do que o poder de penetração não ultrapassa dezenove milímetros de derme, de acordo com estudos publicados por Kolárová et al, em 1999.

Alguns estudos *in vitro* em animais buscam elucidar os possíveis efeitos deletérios da radiação laser, como os trabalhos de Gross & Jelkmann (1990), que analisaram culturas de epitélio renal de ratos tratados com doses crescentes de radiação laser, em tempos também crescentes, durante cinco dias e os resultados revelou um decréscimo do número de células em todos os grupos estudados quando o tempo de exposição excedia 5 segundos. Nossos resultados discordam destes autores, quando em nossa análise morfométrica revela que houve um incremento da área ocupada pelos vasos neoformados nos grupos irradiados.

A pele quando lesionada, sofre uma seqüência de eventos a fim de restaurar sua continuidade estrutural; em feridas cicatrizando por primeira intenção ocorre inversão, espessamento, migração e mitose em cerca de 24 a 48 horas, em seguida havendo proliferação fibroblástica e colagenogênese (JOHNSTON, 1977; ROBBINS et al, 1994).

Observamos nos dois grupos A e B e seus respectivos controles no 2º dia de pós-debridamento, a presença de elementos do processo cicatricial (fibroblastos e vasos), porém sendo mais evidente nos grupos irradiados. Já no último dia de terapia com laser, os grupos A e B mostravam maior organização estrutural quando comparado ao grupo controle, com fibroblastos, fibrócitos e fibras colágenas, orientando-se paralelamente à epiderme.

Vários autores vêm pesquisando a eficácia da terapêutica com emissão laser em feridas do tipo úlceras, como Gupta (1997), Lichestein & Morga (1998), Skoric (1998) e Soriano *apud* Parizotto & Baranauskas (1998), sendo os dois últimos autores especificamente voltados para pesquisas com laser AsGa, porém existem poucos trabalhos acerca dos resultados em humanos, principalmente em relação a úlceras de pressão.

Autores referem maior regeneração epitelial (BAXTER, 1994), maior vascularização (TATARUNAS et al, 1998), incremento na proliferação fibroblástica e colagenização, muito

embora trabalhos como os de Hallmann et al. (1988) em contraposição aos estudos acima citados, atestou que a irradiação com o laser HeNe na dose de 24,7 mW/ cm² durante cinco dias consecutivos no tempo de exposição de 1 minuto não mostrando alterações significativas em culturas de fibroblastos de pele humana.

Em nossas ponderações, as análises histológicas e morfométricas sugerem efeitos favoráveis dos componentes do processo cicatricial (fibroblastos, colagenização), bem como incremento na vascularização, nos grupos radiados em relação aos grupos controle.

A Ação estimulante da microcirculação foi observada por Schindl (1998) em pacientes portadores de diabetes, bem como a presença de tecido de granulação representado por fibrose, neoformação vascular e infiltrado inflamatório linfomononuclear, foram consideradas nas publicações de Dallon & Oliveira (2000) durante investigações no coração de pacientes na fase final da doença arterial coronária submetidos à revascularização transmiocárdica com Laser CO₂. Em nossos pacientes, a neoformação vascular e presença de tecido de granulação, se mostraram bastantes favoráveis em ambos os grupos, tanto nos irradiados por cinco dias quanto nos irradiados por 15 dias, não havendo diferenças significativas nos dois grupos.

Bosartra et al (1984), analisaram culturas de fibroblastos humanos irradiadas pelo laser HeNe em doses de 2 J/cm² durante vinte dias e obtiveram um aumento significativo na multiplicação desses tipos celulares. Esse mesmo incremento fibroblástico foi discutido por Bolton et al. (1995).

Alguns autores, entretanto, não evoluíram seus trabalhos com resultados tão animadores, como Vecchio (1993), que durante oito semanas consecutivas irradiou durante duas vezes por semana, dezenove pacientes com tendinite de manguito rotador, não obtendo resposta antiinflamatória significativa, o que poderia ser explicado talvez pelo período bastante prolongado de tempo entre as aplicações.

6.0 CONCLUSÕES

Diferentes reações teciduais podem ser obtidas na terapêutica de lasers de baixa potência, mas a escolha do comprimento de onda, dosagem e tempo de exposição estão diretamente relacionadas com alguns fatores intrínsecos do paciente, como nutrição tecidual e sistêmica, idade e sexo, o que explicaria a obtenção de diferentes respostas.

Apesar de alguns trabalhos apontarem para a preferência do uso de lasers do tipo infravermelho nos processos de reparação tecidual, acreditamos que, dependendo do nível e da profundidade da lesão, pode ser perfeitamente viável a utilização de lasers de comprimentos de ondas acima do visível para a aceleração da resposta tecidual.

Embora muitos trabalhos tenham abordado de maneira extensiva a atuação da radiação laser nos tecidos, ainda existem vários questionamentos sem respostas. Os mecanismos que são efetivamente responsáveis pela estimulação da atividade fibroblástica ainda não foram totalmente elucidados, bem como a dose ótima de terapia laser de baixa potência para a estimulação da regeneração tecidual. Com o esclarecimento de tais mecanismos de ação será possível estabelecer critérios acerca dos reais benefícios da terapia laser em patologias que necessitem da estimulação cicatricial, como as feridas abertas em pacientes diabéticos e úlceras de pressão, otimizando as terapias atuais e minimizando cada vez mais os procedimentos invasivos e agressivos aos pacientes.

Em nosso experimento pudemos constatar um discreto aumento da vascularização das lesões (UP) submetidas ao tratamento de laser nos pacientes irradiados pelo laser diodo AsGa (Arsênio-Gálio), pulsátil, comprimento de onda 904 nm, potência de pico de 20 W, e densidade de energia radiante pontual de 3 J/cm^2 .

Não foram observadas diferenças histológicas ou morfométricas nos pacientes irradiados durante 15 dias alternados em relação aos tratados por cinco dias consecutivos.

O efeito anti-inflamatório analisado pela aplicação da irradiação laser nos faz acreditar que, dependendo do nível e da profundidade da lesão pode ser perfeitamente viável a utilização de lasers de comprimentos de ondas acima do visível para a aceleração da resposta tecidual.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERGEL, R. P.; MEEKER, C. A.; LAM, T. S. Control of connective tissue metabolism by lasers: recent developments and future prospects. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 11, n. 6, p. 1142-1150, 1984.

ANNEROTH, G.; HALL, G.; RYDEN, H.; ZETTERQUIST, L. The effect of low energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 26, p. 12-17, 1988.

ARANTES, C.; GRISS, R. R.; MARTIS, L.; GRISS, M. Fisioterapia preventiva em complicações de úlceras de membros inferiores. *Fisioterapia em Movimento*, v. 4, p. 47-66, 1991.

AYELLO, E. A. Keeping pressure ulcers in check. *Nursing*, v. 26, n. 10, p. 62-63, 1996.

BAXTER, G. D. *Therapeutic lasers: theory and practice*. Edinburg: Churchill Livingstone, 1994.

BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. *Bioquímica médica*. São Paulo: Artes Médicas, 2000.

BECK, J. L.; D'AMORE, P. A. Vascular development: cellular and molecular regulation. *FASEB Journal*, v. 11, p. 365-, 1997.

BOLTON, P.; YOUNG, S.; DYSON, M. The direct effect of 860 nm light on cell proliferation and on succinic dehydrogenase activity of human fibroblasts in vitro. *Laser Therapy*, v. 7, p. 55-60, 1995.

BOSARTRA, M.; JUCCI, A. In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy. *Dermatologica*, v. 168, p. 157-162, 1984.

CRUAÑES, J. C. *La terapia laser hoy*. Barcelona: Meditec, 1984. 250 p.

DALLAN, L. A. O.; OLIVEIRA, S. A. Cirurgia de revascularização transmiocárdica a laser de CO₂. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, v.15, p. 89-104, 2000.

FOLKMAN, J. Clinical applications of research on angiogenesis. *New England Journal of Medicine*, v. 333, p. 1757-1763, 1995.

GONZÁLEZ, R. P.; LEYVA, A.; MELO, R. A. B.; MOREIRA, R. D. M.; PESSOA, C.; FARIAS, R. F.; MORAES, M. O. Method for in vivo study of angiogenesis: induction of neovascularization in the rabbit cornea. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 15, p. 3, 2000.

GROSS, A. J.; JELKMANN, W. Helium neon laser irradiation inhibits the growth of kidney epithelial cells in culture. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 10, p. 40-44, 1990.

GUPTA, A. K. The use of low energy photo therapy in treatment of leg ulcers – A preliminary report. *Journal of Dermatology Treatment*, v. 8, p. 103-108, 1997.

HALLMAN, H. O.; BASFORD, J. R.; O'BRIEN, J. F.; CUMMINS, L. A. Does low energy helium neon laser irradiation after in vitro replication of human fibroblasts? *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 8, p. 125-129, 1988.

HYNES, R. O.; BADER, B. L.; DILKE, K. H. Integrins in vascular development. *Brazilian Journal of Medicine Biology Research*, v. 32, p. 501-510, 1999.

INOUE, M.; ITOH, M.; UEDA, M.; NARUKO, T.; KOJIMA, A.; KOMATSU, R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions. *Circulation*, v. 98, p. 2108-2116, 1998.

JOHNSTON, D. E. The processes in wound healing. *American Journal Animal Hospital Association*, v. 13, p. 186-196, 1977.

KAHN, J. *Princípios e prática de eletroterapia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Santos, 2001. 350p.

KANA, J. S.; HUTSCHENREITER, G.; HAINA, D.; WAIDELICH, W. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Archives of Surgery*, v. 116, p. 293-296, 1981.

KIRSCH, K. M. Ultrastructure of collagen thermally denatured by microsecond domain pulsed carbon dioxide laser. *Archives of Dermatology*, v. 134, p. 10, 1998.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. *Eletroterapia de Clayton*. 10. ed. São Paulo: Manole, 1998.

KOLARI, P. J. Penetration of unfocused laser light into the skin. *Archives of Dermatology*, v. 277, p. 342-344, 1985.

KOLAROVA, H.; DITRICOVA, D.; WAGNER, J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 24, p. 231-235, 1999.

KOTTKE, F. J.; KOSIAK, M. *Krusen: Tratado de medicina física e reabilitação*. 4. ed. São Paulo: Manole, 2001. v 1.

LICHTENSTEIN, D.; MORGA, B. Laser therapy in ambulatory patients with venous stasis ulcers. In: CONGRESS WORLD ASSIGNED FOR LASER THERAPY, 2., 1998, Kansas City. p. 31-32.

LILLIE, R. D. *Histopathologic technic*. Philadelphia: Blakiston, 1948.

LOWTHIAN, P. Apontamentos sobre a patogénese de úlceras de pressão graves. *Nursing*, Lisboa, v. 124, p. 13-16, jul./ago. 1998.

LIEVENS, P.; LIPPENS, E. The influence of low level infra red lasertherapy on the regeneration of cartilage tissue. *Lasers Surgery and. Medicine*, v.10, p. 5, 1998.

MALM, M.; LUNDERBERG, T. Low-power HeNe laser treatment of venous leg ulcers. *Plastic Surgery*, v. 27, p. 47-66, 1991.

MESTER, E.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 5, p. 31-39, 1985.

NEEMAN, M.; ABRANOVICH, R.; SCHIFFENBAUER, Y.S.; TEMPEL, C. Regulation of angiogenesis by hipoxic stress: from Solid tumors to the ovarian follicle. *Pathology*.v.78. pgs. 57-70. 1997.

PARIZOTTO, N. A.; BARANAUSKAS, V. Structural analysis of collagen fibrils after HeNe laser photostimulated regenerating rat tendon. In: CONGRESS WORLD ASSIGNED FOR LASER THERAPY, 2., 1998, Kansas City. p. 66.

PATAN, S.; HAENNI, B.; BURRI, P. H. Implementation of intussusceptive microvascular growth in the chicken chorioallantoic membrane (CAM). *Microvascular Research*, v. 53, n. 1, p. 33-52, 1997.

PEREIRA, M. G. *Epidemiologia: teoria e prática*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 395 p.

PINA, E. *Prevenção e tratamento das úlceras de pressão*. 2. ed. Lisboa, 1999. v .1. 240 p.

RISAU, W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*, v. 386, p. 671-674, 1997.

ROBBINS, S. L.; KUMAR, V.; COTRAN, R. S. Inflammation and repair. In: _____. *Pathology basis of disease*. 5. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994. p.51-92.

RODRIGUES, E. M.; GUIMARÃES, C. S. *Manual de recursos fisioterapêuticos*. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. 148 p.

ROJAS, R. A. G. *Estudo da regeneração do sistema nervoso periférico em cães, por secção do nervo radial*. Santa Maria, RS, 1982. 76p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 1982.

SCHMITT, I.; RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L. Os efeitos da radiação laser arsenito de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 30, n. 2, p.145-149, 1993.

SCHINDL, A.; SCHINDL, M.; SCHÖN, H.; KNOBLER, R.; HAVELEC, L.; SCHINDL, L. Low- intensity laser irradiation improves skin circulation in patients with diabetic microangiopathy. *Diabetes Care*, v. 21, n. 4, p. 580-584, 1998.

SKORIC, T. Laser biostimulation: application of the gallium - arsenide laser in the therapy of ulcus cruris. *Lasers Surgery and Medicine*, v. 10, p. 7, 1998.

SORIANO, F. *apud* PARIZOTTO, N. A.; BARANAUSKAS, V. Structural analysis of collagen fibrils after HeNe laser photostimulated regenerating rat tendon. In: CONGRESS WORLD ASSIGNED FOR LASER THERAPY, 2., 1998, Kansas City. p. 66.

STAINKI, D. R.; RAISER, A. G.; GRAÇA, D. L. et al. Radiação laser AsGa na regeneração do nervo radial submetido à reparação cirúrgica secundária. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, v. 35, p. 37-40, 1998.

SUPPAN, P. *Chemistry and light*. Cambridge: The Royal Society Chemistry, 1994. 295 p.

TATARUNAS, A. C.; MATERA, J. M.; DAGLI, M. L. Z. Estudo clínico e anátomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico: utilização do laser de baixa potência AsGa (904 nm). *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 13, p. 311-316, 1998.

TORRA, I.; BOU, J. E.; SOLDEVILLA, J. J. A. Epidemiología de las úlceras por presión en España. Estudio piloto en la Comunidad Autónoma de la Rioja. *Gerokomos*, v. 10, p. 75, 1999.

THORODDSEN, A. Pressure sore prevalence: national survey. *Journal of Clinical Nursing*, v. 1, p. 170-179, 1999.

VEÇOSO, M. C. *Laser em fisioterapia*. São Paulo: Lovise, 1993. 143p.

VECCHIO, P. A double-blind study of the effectiveness of low level laser treatment of rotator cuff tendonitis. *British Journal of Rheumatology*, v. 32, p. 740-742, 1993.

ZARET, M. M. Ocular lesions produced by an optical maser (LASER). *Science*, v. 134, p. 1525, 1961.

8.0 ANEXOS

Anexo 1: Protocolo de identificação do paciente

Nome: _____ sexo: M () F ()

Estado Civil: _____

Data de Nascimento: ___/___/___

Hipótese Diagnóstica (HD): _____

Data da Internação: ___/___/___ Hospital _____

Data do 1º debridamento: ___/___/___

Início do tratamento com laser: ___/___/___

Término do Tratamento com laser: ___/___/___

Região da úlcera: _____

Exames clínicos

INÍCIO DA IRRADIAÇÃO		TÉRMINO DE IRRADIAÇÃO	
Albumina:	g/dl	Albumina:	g/dl
Proteínas Totais:	g/dl	Proteínas Totais:	g/dl
Hgb:	g/dl	Hgb:	g/dl
Hct:	g/dl	Hct:	g/dl
Linfócitos:	g/dl	Linfócitos:	g/dl
Segmentados:	g/dl	Segmentados:	g/dl

Foi isolado algum germe na escara? S () N () Qual? _____

Gram (+) ? S () N () Gram (-) ? S () N ()

Anexo 2: Avaliação Clínica das Úlceras de Pressão

RESULTADOS	GRUPO A		GRUPO B	
	2 ^o	5 ^o	2 ^o	15 ^o
PRESENÇA DE EXSUDATO				
REAÇÃO INFLAMATÓRIA INESPECÍFICA				
PONTOS DE SANGRAMENTO				
ÁREAS DE NECROSE				
PRESENÇA DE TECIDO DE GRANULAÇÃO				

Anexo 3: Solicitação à Comissão de Ética Hospitalar

Faz-se esclarecido, através deste termo, ao Sr. _____, diretor da instituição _____ que José Carlos Tatmatsu Rocha, por consentimento expresso de familiares e/ou responsáveis de pacientes internados na instituição acima citada, realiza a pesquisa intitulada “Análise Clínica/Histológica e Morfométrica da Derme nas Úlceras de Pressão de uma Série de Casos de Pacientes Humanos Tratados com Irradiação pelo laser AsGa (904 nm))” , a qual tem a finalidade de avaliar a eficácia do uso de laser de Baixa Potência no processo de cicatrização, sendo os pacientes submetidos à irradiação do Laser AsGa de comprimento de onda 904nm com potência 3 Joules / cm²/min em feridas necrosadas do tipo úlceras de pressão e posteriormente avaliadas por métodos histopatológicos, com retirada de fragmentos de tecido cutâneo e subcutâneo.

Este documento isenta o declarante do termo de quaisquer responsabilidades, visto o pré consentimento familiar.

São Luís, _____ de _____ 2001

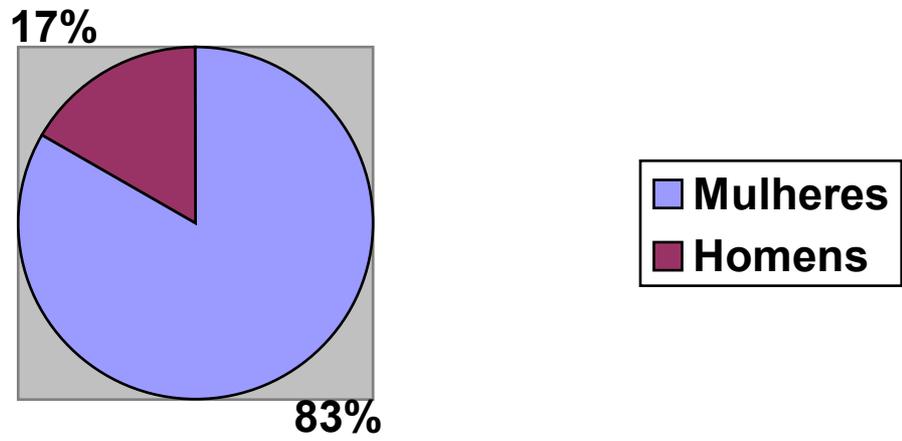
Anexo 4: Termo de Livre Esclarecimento

Faz-se esclarecido, através deste termo, ao Sr. _____, responsável pelo paciente _____ que José Carlos Tatmatsu Rocha, por consentimento expresso dos familiares, realiza a pesquisa intitulada “Análise Clínica/Histológica e Morfométrica da Derme nas Úlceras de Pressão de uma Série de Casos de Pacientes Humanos Tratados com Irradiação pelo laser AsGa (904 nm)”, a qual tem a finalidade de avaliar a eficácia do uso de laser de Baixa Potência no processo de cicatrização, sendo os pacientes submetidos à irradiação do Laser AsGa de comprimento de onda 904nm, de potência de pico 20W e densidade de energia 3 Joules / cm²/min em feridas necrosadas do tipo úlceras de pressão no paciente acima citado e posteriormente avaliadas por métodos histopatológicos, com retirada de fragmentos de tecido cutâneo e subcutâneo, sendo autorizada a publicação bem como a exposição de fotografias referentes ao tratamento sem haver a identificação do paciente.

São Luís, ____ de _____ 2001

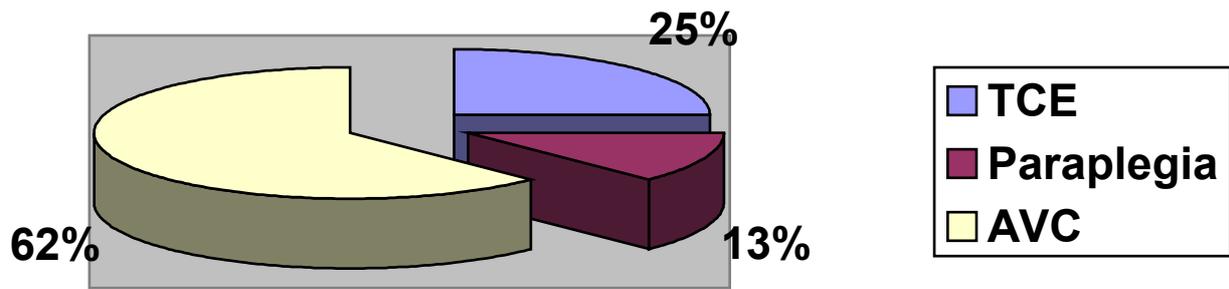
ANEXO 5: Distribuição do grupo amostral por gênero

SEXO



ANEXO 6: Principais patologias no grupo amostral

PRINCIPAIS PATOLOGIAS



ANEXO 7: Principais Localizações das Úlceras de Pressão no grupo amostral**Localização das UP**