

JORGE RIZZATO PASCHOAL ^h

**EFEITO DO GRAU DE COERÊNCIA DA LUZ LASER
NA CICATRIZAÇÃO DE LESÃO CUTÂNEA
EXPERIMENTAL.**

Tese de Doutorado apresentada à
Faculdade de Ciências Médicas da
UNICAMP

Campinas
1991

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Área de Concentração

CIRURGIA GERAL

Coordenador do Curso de Pós-Graduação:

Prof^a Dr^a MARILISA BERTI DE AZEVEDO BARROS

Orientadora:

Prof^a Dr^a ESTER MARIA DANIELLI NICOLA

Co-Orientador:

Prof. Dr. JORGE HUMBERTO NICOLA

Dedico este trabalho:

Ao meu pai, OLINDO, e à minha mãe, OLÍVIA
"in memoriam", luzes sempre presentes em
minha vida, reflexos de uma LUZ MAIOR.

Aos meus irmãos.

Ao Dr. AGRÍCIO NUBIATO CRESPO, que
trabalha comigo há anos e me ajuda de diversas
maneiras, cujo nome deve ficar gravado.

Agradecimentos

À Sr^a ROSANA CELESTINA MORANDIN RIBEIRO DE PAIVA, bióloga do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM-UNICAMP, pela seleção dos animais e cuidados especiais no seu trato.

Ao Sr. WILLIAM A. SILVA e à Sr^a MARIA DIONÍSIA DE OLIVEIRA, técnicos do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM-UNICAMP, pelo profissionalismo de suas colaborações.

Ao Sr. EMILTON BARBOSA DE OLIVEIRA, pelas documentações fotográfica e gráfica.

À Srta. WILMA PROIDE, pela documentação gráfica.

Ao Dr. ANTONIO CARLOS BACILLI, pelas preparações histológicas.

À Prof^a Dr^a MARIA LETÍCIA CINTRA, pela orientação anátomopatológica.

Ao Dr. MASSAMI KATAYAMA e ao Prof. Dr. ALBERTO AFFONSO FERREIRA, pela crítica ao texto.

À Srta. MARIA CLAUDIA FURLAN, pela datilografia deste trabalho.

À Sr^a CRISTINA MARIA ALVES DOS SANTOS, pela datilografia e impressão deste trabalho.

A todos que andaram juntos comigo, estimulando e apoiando meu trabalho.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Luz/ser vivo	1
1.2. Luz natural/Luz artificial	1
1.3. Laser/Luz	2
1.4. Laser/Histórico	2
1.5. Laser de baixa potência/ Emprego em Medicina e Biologia	3
1.6. Laser/Propriedades físicas	4
1.7. Emissão espontânea/Emissão estimulada	5
1.8. Coerência	6
1.9. Interação Laser/Tecido	10
1.10. Interação Laser/Célula	13
1.11. Bioativação	14
1.12. Objetivo	21
2. MATERIAL E MÉTODO	22
2.1. Material	23
2.1.1. Laser de HeNe	23
2.1.2. Luz com baixo grau de coerência	24

2.1.3. Animal experimental	25
2.1.4. Equipamento anestésico	25
2.1.5. Equipamento cirúrgico	25
2.1.6. Equipamento experimental	25
2.1.7. Equipamento geral	26
2.2. Método	25
3. RESULTADOS	31
3.1. Ilustração fotográfica macroscópica	32
3.2. Ilustração fotográfica microscópica	33
3.3. Lesão	33
3.4. Lesão cicatricial	35
4. DISCUSSÃO	36
5. CONCLUSÃO	45
6. RESUMO	47
7. ABSTRACT	48
8. BIBLIOGRAFIA	49

INTRODUÇÃO

Desde que seres vivos se desenvolveram sob a interferência da luz solar, não é surpreendente que tenham desenvolvido certa variedade de comportamentos fisiológicos compatíveis com as características espectrais da mesma e, ainda, com as suas variações diárias e sazonais. Respostas bioquímicas sutis, em organismos dependentes da luz solar, ou de seus equivalentes artificiais, têm sido descobertas lentamente. Efeitos diretos (reações fotoquímicas na intimidade celular) e indiretos (mediante um sinal neural ou neuroendócrino, mediado por uma célula fotorreceptora) são conhecidos em grande número. Como exemplo dos primeiros, citam-se: fotossíntese, bronzeamento da pele e síntese da vitamina D. No segundo caso, é patente a intervenção da luz no processo de maturação ovular mediante regulação hormonal.

O emprego sistemático da luz, no tratamento de vários processos patológicos, resulta do conhecimento de sua interação com o tecido, sujeita a inúmeras variáveis. Várias fontes luminosas, além da solar, têm sido utilizadas em estudos referentes à interação da luz com o ser vivo. O laser inclui-se entre elas.

Em geral, a luz artificial guarda as mesmas características da natural ou solar, o que se entende, facilmente, pelo fato de os processos intrínsecos de sua produção serem idênticos em ambos os casos: a luz é proveniente de desexcitação eletrônica, espontânea e desorientada.

Para certos seres vivos, o contato com a luz de diferentes lâmpadas não representa contato estranho àquilo que lhe é natural. Sem dúvida, atualmente, ficamos mais tempo expostos à luz do que o faziam nossos ancestrais.

O laser, enquanto luz, guarda características intrínsecas particulares, não encontradas na luz solar ou proveniente de lâmpadas convencionais. Portanto, a "luz" laser representa um elemento estranho ao ser vivo, depreendendo-se que tal radiação pode desencadear processos diferentes como resposta desse organismo.

A luz visível, os Raios X, Gama, Infravermelho e Ultravioleta, as ondas de rádio e outros são fenômenos fisicamente idênticos. Todos são, basicamente, ondas eletromagnéticas de diferentes comprimentos de onda. O laser também é uma onda eletromagnética. A conscientização dessas semelhanças e disparidades entre luz comum e luz laser é que, certamente, auxiliará no entendimento da farta casuística da "laserterapia", cuja popularização desenfreada não permite separar, com facilidade, os casos científicos daqueles onde impera o sensacionalismo.

O laser é algo novo em todos os sentidos. Não pode ser comparado a um simples tipo de lâmpada desenvolvida para substituir outra, obsoleta. As aplicações advindas da sua descoberta são novas.

No início do século (1917), EINSTEIN elaborou a teoria da emissão estimulada, que constitui a base física do "efeito" laser (1). Em 1940, FABRIKANT observou que a intensidade de uma fonte de luz poderia ser aumentada com a aplicação dessa teoria. Em trabalhos simultâneos e independentes, WEBER & TOWNES e BASOV & PROKHOROV (1953-54), desenvolveram os princípios que regem o uso de emissão estimulada para geração e intensificação de ondas eletromagnéticas, sugerindo que seus princípios básicos poderiam ser aplicados à amplificação da luz. Surge o termo LASER ("light amplification by stimulated emission of radiation") (2). Em 1960, o primeiro aparelho foi concebido por MALMANN - laser de rubi. A partir de então, numerosos estudos se desenvolveram. O primeiro laser de HeNe deve-se a JAVAN, em 1961.

Em 1966 tem-se o primeiro laser de CO₂ em fase comercial, concebido por PATEL em 1963 (3).

No Brasil, IVO KUHL foi pioneiro na utilização de laser em cirurgia otorrinolaringológica, em 1975 (4).

O uso dos diferentes tipos de laser na área médica, como instrumento cirúrgico ou de aplicação clínica, vem sendo incrementado, graças aos bons resultados práticos e ao desenvolvimento de base científica. No contexto terapêutico, os mais conhecidos são os de baixa potência, com interesse especial nos de HeNe e diodo de AsGa: Al, graças ao custo relativamente baixo, manuseio fácil e aprendizado simples. Também é crescente o interesse pelos lasers de CO₂, que são classificados fisicamente como cirúrgicos, e vêm sendo adaptados, mediante sistemas des-focalizadores, às necessidades daqueles de baixa potência (3,5). Apesar de seu custo elevado, sua vantagem sobre os de baixa potência é a rapidez com que se obtêm densidades de potência suficientemente altas, em áreas amplas de tratamento, com conseqüente redução do tempo de aplicação.

Resta o campo diagnóstico, ainda desconhecido, no qual seu emprego oferece grande esperança para o futuro.

O uso de lasers em Medicina e Biologia abrange duas décadas. Nesse tempo, o laser adquiriu a reputação de uma das principais armas de pesquisas em Citologia, Embriologia e Genética, por intermédio do qual se pode manipular delicadamente os processos celulares mais íntimos. Pode-se dizer que ele se encontra no estágio de transição na pesquisa médica. Encontramo-nos, ainda, no período de entusiasmo com a abordagem das diferentes alterações patológicas com o novo recurso. O objetivo das pesquisas tem sido, essencialmente, determinar as principais características dos efeitos de seu emprego . A produção de efeitos biológicos seletivos

como decorrência do efeito físico "catalizador" vem ganhando terreno paulatinamente.

Em nosso meio, a interação do Instituto de Física "Gleb Wataghin" com a Disciplina de Otorrinolaringologia (ORL) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) tem propiciado estudos com resultados alentadores (3,6). A nível da FCM dispomos de uma seção especial no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, destinada ao uso experimental do laser e, recentemente, a nível hospitalar, o Núcleo de Laser em Medicina, destinado à terapêutica nas diferentes especialidades médicas.

O fenômeno físico chamado laser apresenta alto grau de complexidade quanto à teoria e à prática. Não cabe, neste trabalho, nos aprofundarmos em detalhes da teoria e esgotarmos o assunto. Respeitando o trabalho dos especialistas na área, tentaremos apenas descrever um modelo que favoreça a compreensão de todos os interessados.

Alta densidade de energia e grande capacidade de **colimação**, são duas de suas propriedades passíveis de compreensão, sem que se faça necessário desenvolver uma linguagem especial. **Coerência e chaveamento rápido** exigem mais, para o seu entendimento. Neste caso, é necessária uma descrição do processo de geração do raio laser, partindo do comportamento de átomos ou moléculas.

A emissão de uma radiação eletromagnética sempre envolve um **centro emissor**, que pode ser um simples elétron ou uma unidade mais complexa, como um átomo ou uma molécula.

O **centro emissor** deve estar previamente excitado para que a emissão ocorra, o que **pode acontecer a qualquer momento**, isto é, é imprevisível quanto ao momento exato de ocorrência. Pode-se apenas

afirmar que a emissão ocorrerá dentro de um tempo característico de cada sistema. Este grau de incerteza é extremamente importante para o processo de geração do raio laser.

A existência de um tempo médio, e não de um tempo fixo, para a emissão, faz com que a intensidade da radiação emitida por um conjunto de átomos previamente excitados, seja uma média ao longo do tempo. Esta intensidade é menor do que a proveniente de um sistema de átomos que pode emitir simultaneamente, desobedecendo a regra de incerteza que acabamos de estabelecer.

Há, pois, um processo natural de emissão, gerando luz comum. Por outro lado, se pudermos ordenar artificialmente, no tempo, as emissões dos diferentes centros, teremos uma luz não natural. Esta apresentará, ao menos instantaneamente, uma intensidade muito maior do que a da luz natural.

Chamamos de **emissão espontânea** ao primeiro processo e de **emissão estimulada** ao segundo.

A descrição simples que estamos fazendo é parte de um complexo teórico, desenvolvido por EINSTEIN no início do século (1), e contém indicações de como tornar prática a **emissão estimulada**. EINSTEIN demonstrou, basicamente, que a **emissão espontânea** proveniente de um átomo qualquer (parte de um sistema de muitos outros) pode ser o elemento desencadeador de um processo de **emissão estimulada**. Imaginando-se um conjunto muito grande de átomos excitados e prestes a emitir espontaneamente, se este meio for atravessado por uma radiação (fóton) haverá uma grande probabilidade de antecipação da emissão. Além disso, um mesmo fóton pode estimular vários átomos a emitir praticamente no mesmo instante, antecipando a emissão espontânea e resultando numa intensidade instantânea muito grande.

As emissões estimuladas por uma radiação inicial seguem a mesma direção, isto é, formam um feixe altamente **colimado**, dando origem ao **raio laser**.

A **coerência** é outra propriedade dessas emissões e tem importância especial para este trabalho, da qual trataremos adiante.

Na construção de um laser, os espelhos servem para aumentar a probabilidade de os fótons, que desencadearão o processo de estimulação, encontrarem átomos excitados no seu trajeto. Estão dispostos de maneira a refletirem a radiação sempre para o meio ativo. Dessa forma, refletem os fótons estimuladores em direção ao conjunto de átomos excitados, aumentando a probabilidade de provocarem estímulos.

Outros elementos dos lasers servem ainda para classificá-los. Os meios ativos são um deles. Um laser pode ser construído a partir de sólidos, líquidos ou gases. Daí o falar-se em laser de Rubí, Nd:Yag, Arseneto de Gálio, Corantes, HeNe, Argônio, Excimers e outros. Para os usuários, importa saber que cada um gera radiação diferente em potência e comprimento de onda (cor), ou em outras propriedades inerentes do laser.

Vale lembrar que a interação de diferentes lasers com tecido vivo ou materiais em geral pode ser fundamentalmente diferente. Daí escolher-se o equipamento adequado para uma determinada aplicação.

Coerência é a propriedade das emissões estimuladas que surge normalmente como um parâmetro característico de um campo de radiação, medindo o grau de organização microscópica do feixe, tanto espacial como temporalmente.

A luz, como qualquer radiação eletromagnética, poder explicada através de um modelo ondulatório. Segundo este modelo, uma emissão de

luz é representada por uma onda finita que se propaga com velocidade muito alta. Por exemplo, quando um átomo de neônio (Ne) desexcita-se, há emissão de uma onda que deve medir cerca de um metro de comprimento e que guarda uma distância máxima entre picos de 6328 angstroms. Quando um átomo de argônio (Ar) desexcita-se, há emissão de uma onda que também mede cerca de um metro de comprimento, tendo distância entre picos de 4880 angstroms (fig.1) . Outras emissões podem ocorrer, tanto dos átomos de Ne como dos de Ar.

Fixando-nos em um tipo de átomo, por exemplo o de Ne, se tivermos um conjunto dele emitindo a radiação correspondente aos 6328 A (vermelho), a onda emitida por um determinado átomo é independente da emitida por um outro.

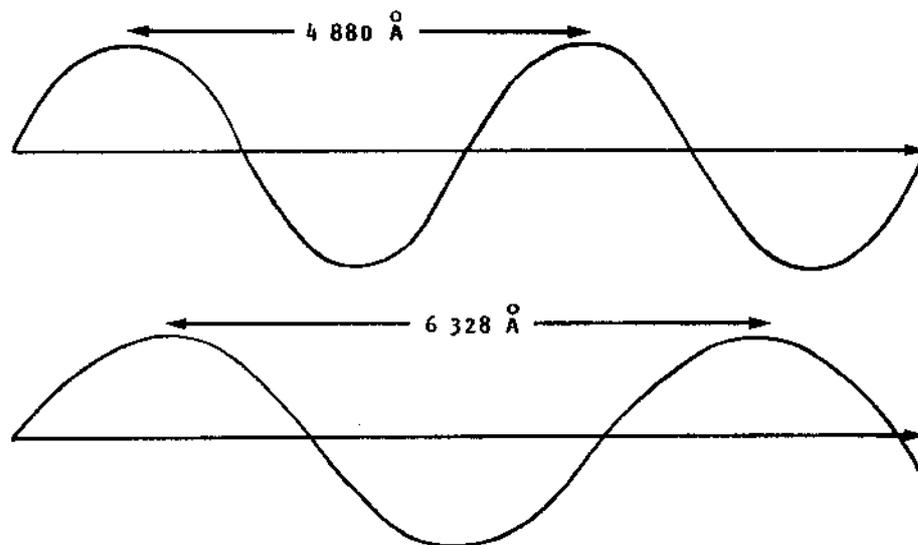


Fig.1. REPRESENTAÇÃO DE DUAS DIFERENTES ONDAS ELETROMAGNÉTICAS DE 4880 A e 6328 A.

Resultam ondas em todas as direções e em tempos diferentes, não e há coerência nas emissões.

As emissões provenientes de átomos estimulados por uma mesma onda guardam, entre si, relações temporais e espaciais definidas. Os máximos e os mínimos de ondas diferentes coincidem, somam-se e resultam em uma onda de grande intensidade. A somatória pode ocorrer a partir de qualquer ponto das ondas, não sendo necessária a coincidência com o início de duas ondas. A onda resultante pode ter até dois metros. Por sua vez, esta resultante pode estimular uma nova emissão, a partir de qualquer ponto, resultando uma nova onda de até três metros de comprimento, com regiões onde os máximos coincidem, caracterizando uma intensidade maior do que o normal.

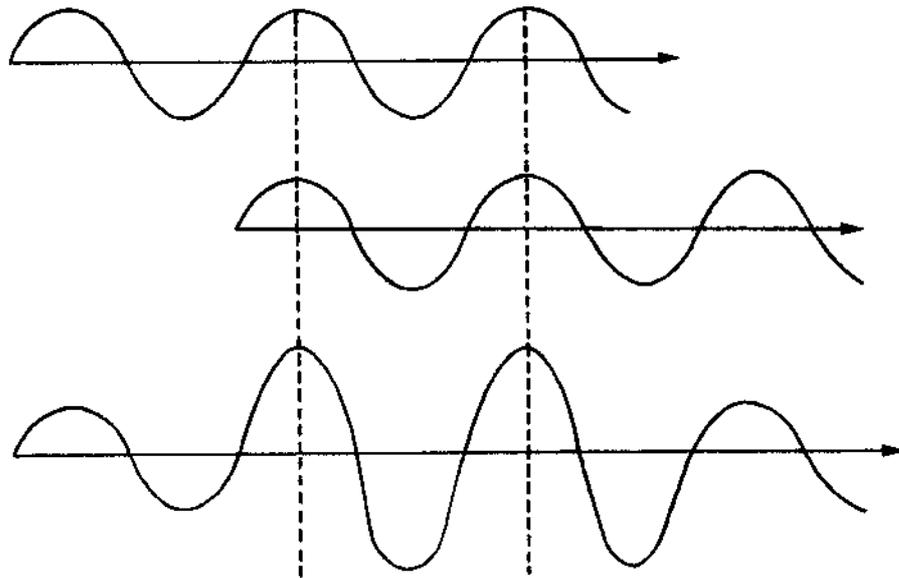


Fig.2. FORMAÇÃO DE UMA ONDA COERENTE, A PARTIR DE ONDAS SOMADAS EM FASE.

O processo ilustrado na figura 2 pode repetir-se muitas vezes e o resultado será uma onda gigante.

Devido à existência desse grau de interligação de ondas individuais para formar uma onda única, dizemos que há uma **coerência no tempo e no espaço**. O grau de coerência medirá, portanto, o grau de organização existente na onda eletromagnética em questão.

Por esse conceito, a luz comum tem grau de coerência baixo, numericamente próximo de zero e a luz laser, perto de um. Um feixe 100% coerente seria aquele composto apenas por uma onda muito longa e que persiste por um tempo relativamente longo. É o caso das ondas de TV ou rádio, intrinsecamente coerentes, por serem geradas através de dipolos macroscópicos, e não por simples átomos ou moléculas, como as ondas luminosas. Um feixe 0% coerente seria composto por muitos "trens de ondas" de, no máximo, um metro de comprimento e que se propagam em todas as direções. É fundamental observar que a diferença entre as ondas de rádio e TV e as luminosas está em como cada uma é gerada: por dipolo macroscópico (antena) ou por simples átomo ou molécula (luz).

Num estudo da influência da luz sobre o ser vivo, as variantes biológicas devem ser revistas em contraponto às variantes físicas.

O revestimento externo (pele) da maioria dos seres vivos apresenta, basicamente, os mesmos substratos histológicos sumarizados na figura 3, cuja homogeneidade varia ligeiramente conforme a natureza e espessura da amostra. Constitui a proteção natural do organismo, inclusive frente às radiações luminosas que a atmosfera não filtra. Trata-se de sistema complexo físico e quimicamente.

Interação das radiações luminosas com os substratos biológicos, comportamento óptico da pele, pigmentos que intervêm na absorção,

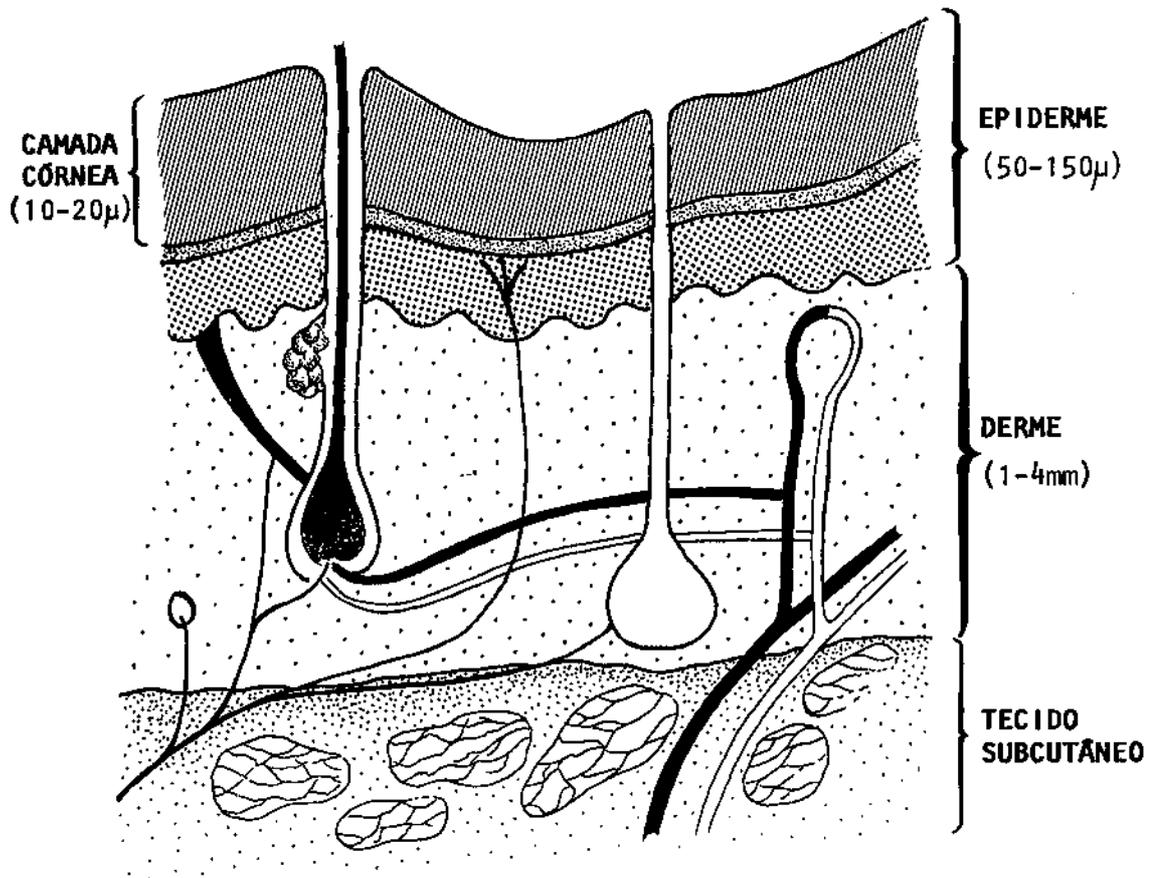


Fig.3. ESTRUTURA HISTOLÓGICA ESQUEMÁTICA DA PELA E ESPESSURA DE CADA DE SEUS SUBSTRATOS

barreira meolecular à maior penetração e conversão da energia luminosa em energia bioativa dão idéia da complexidade do sistema, e tem sido motivo de inúmeros trabalhos com o laser, mas com resultados ainda pouco satisfatórios.

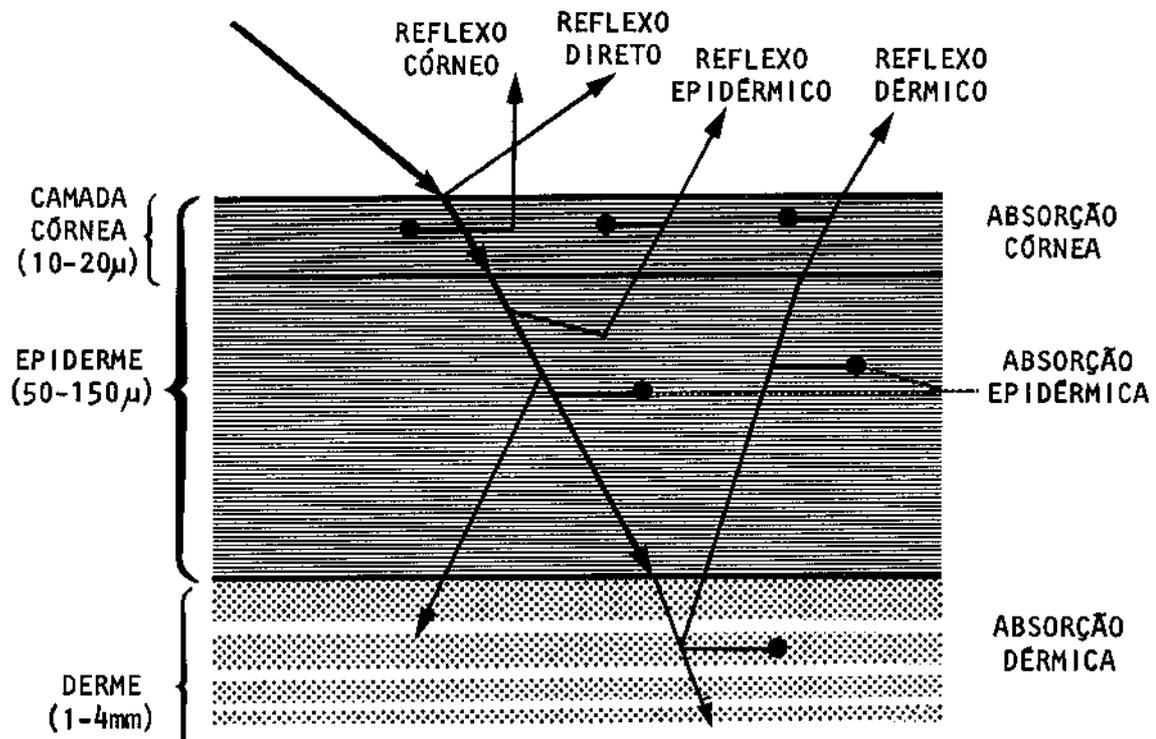


Fig.4. FENÔMENOS POSSÍVEIS À INCIDÊNCIA DE UMA RADIAÇÃO SOBRE A PELE.

A transmissão da luz através dos tecidos é função dos coeficientes de absorção e difusão do meio (pele). A difusão é dependente da heterogeneidade do tecido e do índice de refração de cada extrato. Este fenômeno é, ainda, função do comprimento de onda da luz incidente.

A luz, incidindo perpendicularmente sobre a pele, é parcialmente refletida (4 a 7% do total de radiação incidente) dependendo da cor, conforme estudo experimental de ANDERSON (7). A percentagem absorvida penetra em seus extratos, submetendo-se ao processo de difusão, até

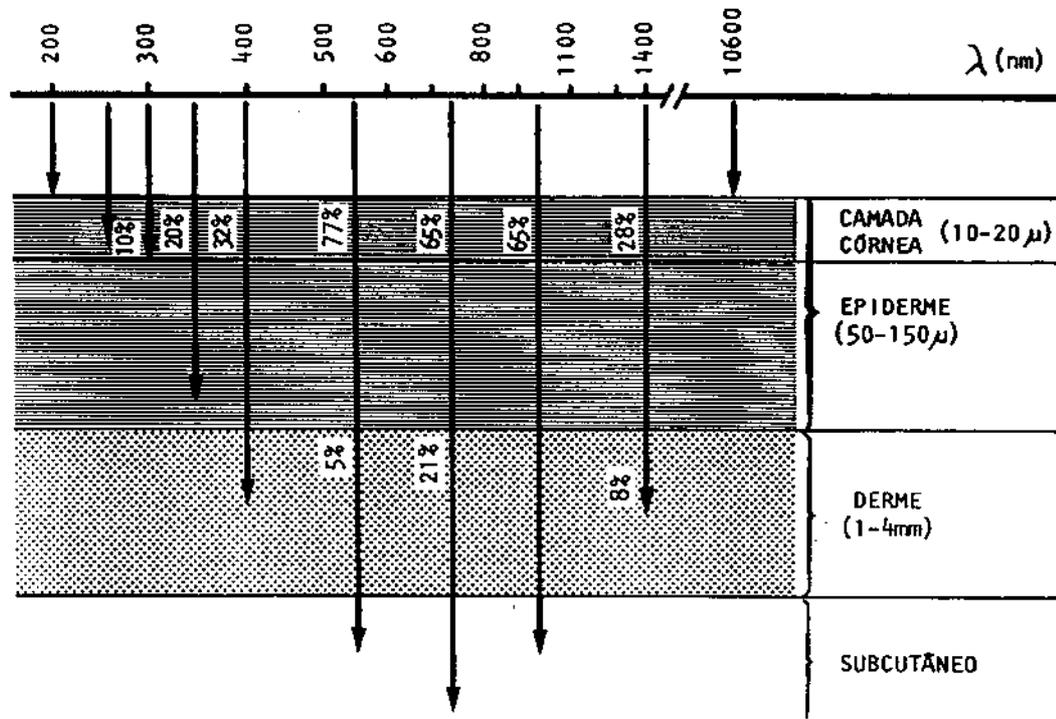


Fig.5. AÇÃO DE DIFERENTES COMPRIMENTOS DE ONDA SOBRE A PELE HUMANA.

a absorção final da onda energética. O fenômeno é conhecido como "scattering" (fig. 4) e interfere no alcance de maior ou menor profundidade, além da concentração energética.

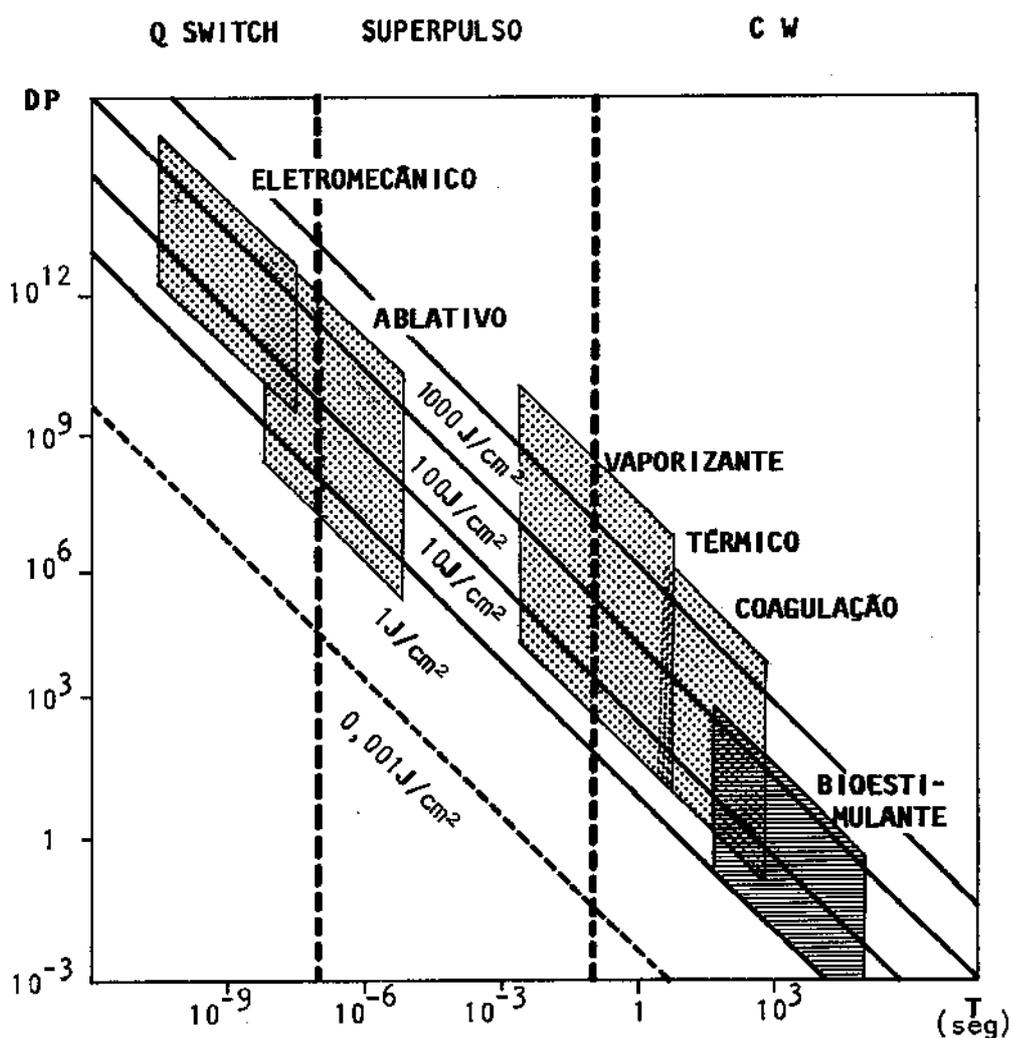


FIG.6. DIFERENTES EFEITOS DAS RADIAÇÕES LASERS,DEPENDENDO DA DENSIDADE DE POTÊNCIA E REGIME DE RADIAÇÃO.

Cromóforos específicos, distribuídos no meio, somados ao coeficiente de dispersão, promovem transmissão da energia em níveis ligeiramente inferiores a 50% da energia incidente (7).

Os parâmetros das radiações eletromagnéticas (comprimento de onda e frequência) contribuem na penetração energética. O laser se com-

porta igualmente. Na figura 5 tem-se o esquema de absorção dos diferentes comprimentos de onda, extrapolável aos lasers (3).

O resultado final, decorrente da incorporação energética, pode ser sumarizado no esquema proposto por BOUENOIS (fig. 6).5.

Na fotobioativação, a penetração é importante. A ação se busca em camadas mais profundas, sem danos aos meios interponentes. O entendimento do fenômeno é fundamental para previsões de futuras aplicações.

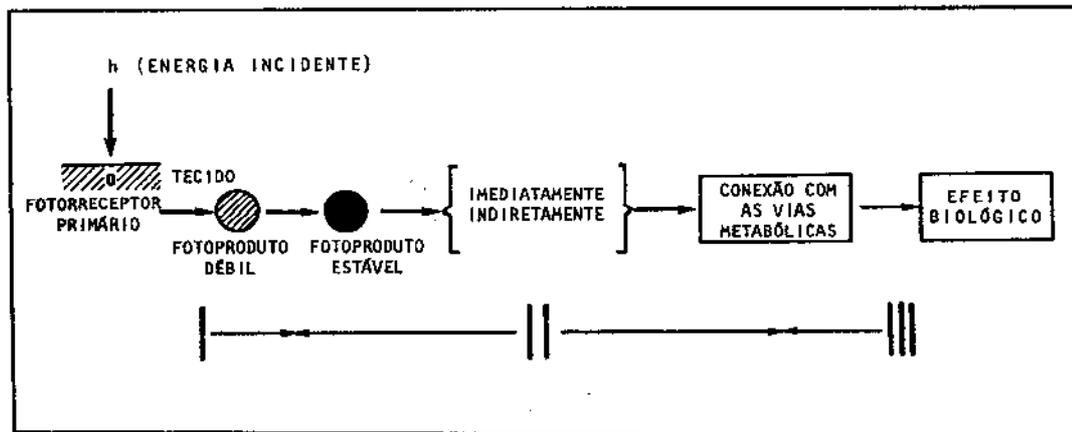


Fig. 7 - ESQUEMA DE AÇÃO (7)

A cadeia bioativa decorrente do uso de laser de baixa potência está esquematizada na figura 7.

O fotoproduto representa a célula, entendida como unidade tecidual e constitui, assim, o primeiro momento real susceptível à fotobioativação. Tratando-se de elemento histológico rico em pigmentos específicos e fotossensíveis, a barreira inicial ao avanço da onda eletromagnética é a membrana celular.

O sistema membranoso celular é lipoprotéico, com quantidade mínima de carboidrato na membrana externa. As membranas intracelulares tendem a ter maior proporção de proteínas. Duas camadas protéicas envolvem dupla camada lipídica. SINGER et al, (8) demonstraram que a porção protéica penetra a camada lipídica, em diferentes níveis e graus, conforme figura 8.

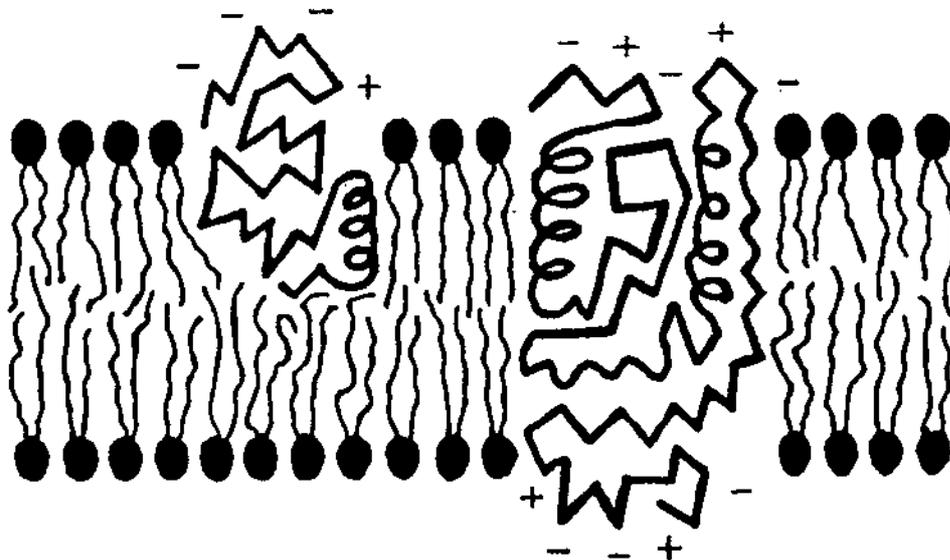


Fig.8. SECÇÃO ESQUEMÁTICA DA MEMBRANA CELULAR - MOLÉCULAS PROTÉICAS SÃO PARCIALMENTE ENVOLVIDAS NA FASE LIPÍDICA

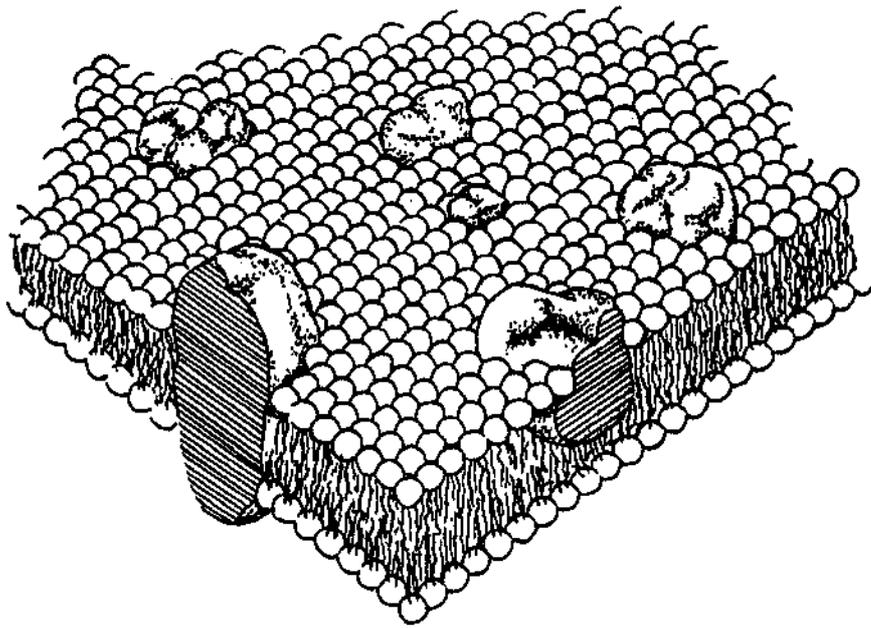


Fig.9. IMPRESSÃO ESQUEMÁTICA TRIDIMENSIONAL DE UM MODELO DE MEMBRANA CELULAR (SINGER E NICOLSON, 1972) (8).

Os autores sugerem que porções protéicas não polares são embebidas pelo meio não polar, formado pelas cadeias hidrocarbônicas das moléculas lipídicas. Suas porções polares projetam-se da membrana para o meio aquoso, polarizado, que envolve ambas as faces.

A visão panorâmica do conjunto está representada na figura 9.

À rugosidade da superfície receptora tecidual, corresponde a rugosidade da superfície membranosas celular, ultramicroscópica, receptora da energia radiante (fotoproducto representado na figura 7).

Podemos inferir que todas as variáveis envolvidas no processo da absorção e transmissão da energia proveniente do Laser de HeNe, a nível tecidual, são válidas a nível celular.

Vale lembrar que a carga elétrica no interior da célula é negativa e, no seu exterior, é positiva. A diferença de potencial é o "potencial de repouso". A membrana celular é a sede desse potencial.

O modelo de membrana celular aceito é o de um mosaico. Há evidências de que algumas dessas moléculas protéicas possam mover-se no plano da membrana e o modelo representado na figura 9 é conhecido como modelo do mosaico fluido.

Na fisiologia celular, algumas proteínas da membrana podem agir como receptores onde substâncias específicas podem se ligar temporariamente ou serem transportadas através da membrana. Às vezes o fazem com gasto de energia metabólica (quebra de ATP), propiciando o transporte ativo.

São as diferentes bombas que geram o potencial de repouso (a mais estudada é a de Na^+/K^+) (8).

As bombas constituem os canais de entrada e saída de substâncias necessárias à homeostase celular, associadas aos processos de difusão e osmose.

A variação dos campos elétricos rege a dinâmica da fisiologia celular.

Os lasers de baixa potência atuam sobre a célula modificando-lhe a fisiologia, sem prejuízo estrutural. Dá-se a esse fenômeno o nome de **bioativação**.

Os efeitos bioestimulantes da radiação com laser de HeNe, a nível celular, são divididos em bioquímicos e bioelétricos.

Vários autores relataram efeitos enfocando a natureza bioquímica (9,10,11,12,13,14,15,16,17,18). A complexidade não tem permitido conclusão satisfatória no esclarecimento dos efeitos, se são primários (ocorrendo em consequência direta da radiação absorvida) ou secundários (resultantes de um fator primariamente afetado pela radiação).

O mesmo ocorre em relação aos efeitos bioelétricos. Todos os trabalhos se referem ao potencial de membrana e eventuais modificações de seu estado eletrofisiológico (5,19,20,21,22, 23).

Alguns autores, estudando a ação da radiação laser de baixa potência em animais, observaram que as alterações mais significativas ocorrem nas ligações entre diferentes tecidos (13,24,25,26). Experimentos em culturas de tecido sugeriram grande vulnerabilidade da membrana celular. Com esse fato em mente, GAMALEYA et al. (2) postularam que, a níveis subcelulares, as unidades estruturais mais sensíveis à radiação laser devem ser as estruturas membranosas primárias do retículo endoplasmático, que constituem considerável parte do citoplasma e a fase de ligações intracelulares (2).

A radiação solar que chega à terra é parte da radiação total emitida em sua direção. É constituída por determinados comprimentos de onda, filtrados pela atmosfera e responsáveis por processos de bioativação natural. Genéricamente, tais processos são classificados como "não térmicos": a radiação atua apenas como elemento desencadeador, sem alterar morfológicamente as estruturas envolvidas.

O espectro solar pode ser imitado através de fontes artificiais, total ou parcialmente, tornando possível experiências que visam ao entendimento da bioativação.

Vários autores têm sugerido que a bioativação com laser deve ser diferente daquela com luz comum, em decorrência de suas propriedades intrínsecas.

Na literatura específica, a afirmativa de conhecimento de efeitos, desconhecendo-se o mecanismo, é freqüente (7,12,16,27,28,29,30). Analgesia e ação antiinflamatória são efeitos terapêuticos da bioestimulação (16,18,19,20,23,31).

Outros efeitos são traduzidos por hipertrofia, atrofia, hiperpigmentação, hipopigmentação, fenômenos de estimulação e inibição (14,17,25,28,32,33).

As observações apontam para uma reação sinérgica resultante mas, além de alterações funcionais, nenhuma alteração de forma ou ultraestrutura tem sido relatada.

A bioativação por lasers de baixa potência tem sido atribuída a variados mecanismos hipotéticos: ondas elásticas ultrassonoras, ondas de choque, geração de raios X, efeitos químicos (ionização, rotura seletiva de radicais, modificações enzimáticas), todas carecendo de esclarecimento dos seus mecanismos (1).

A literatura sobre bioestimulação se diversifica em enfoques, na maioria sob o ângulo bioquímico.

Sob o ponto de vista físico, encontramos abordagem da condutividade elétrica (19,34), densidade de energia (10,32,35), energia térmica (9,13) e polarização (32).

No campo estritamente biofísico vale lembrar o conceito de Bioplasma: "Uma densidade de carga livre definida é mantida às custas de processos metabólicos nas zonas de condutância da membrana". Baseia-se na propriedade de semicondutividade atribuída às membranas celulares, gerando zonas orgânicas de condutância organizadas de forma complexa. O fundamento da existência dessas zonas se encontra no conceito de campo biológico: existência de radiações ultravioletas débeis, emitidas pela célula "em divisão", estimulando a divisão de outras. Vários autores confirmam essa observação. Essa teoria, associada à observação do papel de elétrons deslocados nos processos biológicos e na presença de propriedades semicondutoras em moléculas biológicas, levou à conceituação de Bioplasma, análogo ao plasma físico, quarto estado da matéria (2).

Fatores desfavoráveis, internos ou externos, alterando o equilíbrio do bioplasma, induzem o processo patológico. Os efeitos ressonantes do laser recuperariam a estabilidade, restaurando o estado energético do bioplasma. É importante o papel da frequência nesse efeito ressonante quando comparativamente próxima, em seus parâmetros energéticos, às características do processo metabólico. O laser de HeNe satisfaz essas condições (comprimento de onda: 632,8 nm; potência: 111,9 ev.) (2).

Toda aplicação médica (operação, droga, aparelhos) passa por um ciclo de grande aceitação e entusiasmo, seguido de pessimismo e incorporação final, após período de teste comprovado. Sem dúvida, o laser de baixa potência encontra-se em estágio intermediário desse ciclo. Corte e evaporação, decorrentes de altas potências, são fatos consumados. Os efeitos não térmicos são, ainda, os menos interessantes em Medicina (1). Estudos intensivos desses efeitos têm mudado paulatinamente esse conceito (25). Inicialmente, ocorrem algumas perguntas: Existem os efeitos? Qual a sua razão? A que nível podem ocorrer? Após os estudos de MESTER

et al. (15) revelando efeitos estimulantes e inibitórios, dose-dependentes e cumulativos, decorrentes de irradiações sucessivas, com baixa potência, o interesse internacional tem se voltado para essa aplicação do laser como valioso recurso auxiliar ao médico no futuro (33,36).

Qualquer laser pode ser dimensionado quanto à sua densidade de energia (5). Na disciplina de ORL da F.C.M. -UNICAMP temos observado resultados satisfatórios no tratamento de faringites crônicas hipertróficas, rebeldes a esquemas clássicos de tratamento, com a aplicação do laser de CO₂, com baixa densidade de energia (3). A utilização clínica já faz parte da terapia rotineira.

COLLS (34) refere não haver fundamentos físicos para se imputar à coerência os efeitos decorrentes do uso de lasers de baixa potência. Na literatura compulsada, quatro trabalhos sugerem um possível papel no processo bioativador (14,32,35,37).

O objetivo deste trabalho é estudar, qualitativamente, a evolução de cicatrização de lesão inflamatória inespecífica e o possível papel da coerência de um laser de baixa potência, como principal propriedade física envolvida no processo.

O trabalho faz parte de uma sequência em que, previamente, se projetou e estudou fisicamente o dispositivo laser de HeNe empregado (6).

MATERIAL E MÉTODO

O modelo experimental, elaborado neste trabalho, visa a observação qualitativa do papel da coerência do laser de HeNe, de baixa potência, na evolução cicatricial de uma lesão tecidual particular, bem definida.

Numa primeira etapa montou-se um dispositivo laser HeNe, especialmente destinado a este estudo, no Instituto de Física "Gleb Wataghin" da UNICAMP, cujo estudo foi apresentado em fevereiro de 1987 (6).

MATERIAL

1. Laser HeNe - Esquema (fig. 10)

Características: contínuo: - 6328 Å; potência de saída - 5 mw;
superfície do foco de aplicação - 6 mm; cor - vermelho

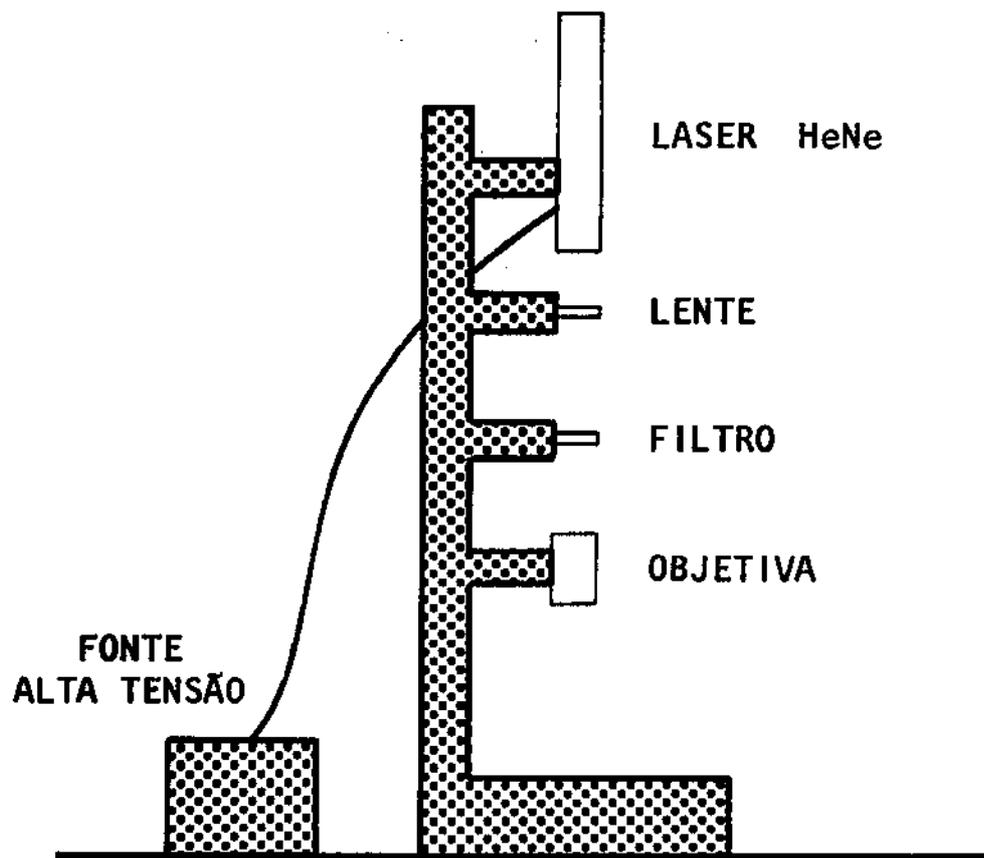


Fig.10. RADIAÇÃO COERENTE (LASER).

2. Fonte de luz com baixo grau de coerência - Esquema (fig. 11)

Características: as mesmas do laser de HeNe, com exceção da coerência.

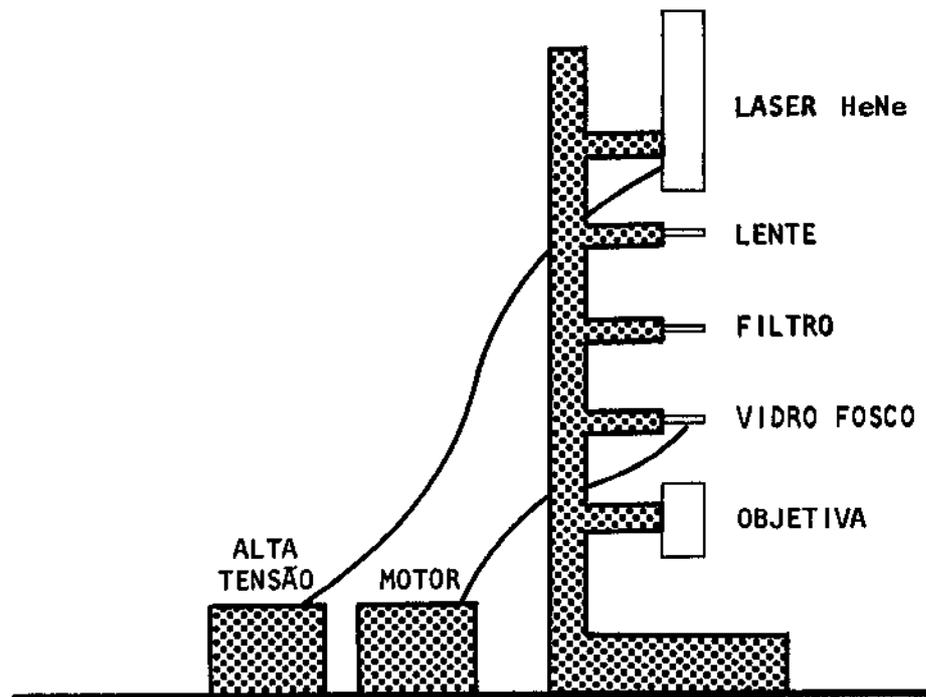


Fig.11. RADIAÇÃO LASER COM GRAU DE COERÊNCIA DIMINUÍDO.

O disco de vidro fosco em rotação e interposto ao feixe de luz laser, afeta a sua coerência, transformando-o em fonte de luz com baixo grau de coerência.

3. Animal experimental

Ratos heterogênicos da linhagem Wistar, de criação SPF ("Specific pathogen free"), obtidos do Centro de Bioterismo da UNICAMP, originários de matrizes recebidas em 1987 do "Zentralinstitut fur Versuschtierzucht" ("Central Institute of Animal Breeding", Hannover, República Federal Alemã).

4. Equipamento anestésico

- a) Cuba cilíndrica de vidro transparente, com tampa de vedação.
- b) Esponja de embebição do agente anestésico, para indução da anestesia.
- c) Cone aluminizado, com esponja de embebição do agente anestésico, para manutenção da anestesia durante os procedimentos.
- d) Frascos do agente anestésico - éter etílico (éter anestésico, RHODIA).

5. Equipamento cirúrgico

- a) Equipamento de dissecação constituído de bisturi, tesoura cirúrgica e pinças anatômicas.
- b) Frascos coletores de amostras da pele para exame histopatológico.

6. Equipamento experimental

- a) Recipiente de isopor para conservação do nitrogênio líquido.

b) Recipiente metálico cilíndrico, com ponta de diâmetro de 0,6 cm, concebido para aplicação do nitrogênio líquido.

c) Pinça porta-instrumento especial, para sustentação do cilindro metálico, durante a aplicação do nitrogênio líquido.

d) Prancheta de madeira, com sistema elástico de fixação, para sustentação do animal anestesiado durante os procedimentos.

e) Nitrogênio líquido.

7. Equipamento geral

a) Máquina elétrica para tricotomia b) Cronômetro c) Câmara fotográfica d) Óculos protetores e) Aventais f) Luvas de borraha g) Canetas de marcação epidérmica h) Gaze i) Papel absorvente j) Livro de registro de dados.

MÉTODO

Foram estudados 28 animais, cuja seleção foi feita a partir de lotes oriundos de uma mesma geração, portanto homogêneos quanto à idade que variou de três a quatro meses, com peso entre 200 e 250 g. Foram selecionados quanto ao trofismo, buscando-se utilizar amostra homogênea. Houve preocupação com as condições tegumentares, descartando-se os portadores de lesões cutâneas, ectoparasitas ou outras alterações que interferissem na evolução das lesões a serem estudadas. Não houve seleção por sexo e os animais, que foram mantidos sob condições ambientais convencionais, receberam água e ração apropriada para ratos (Labina, Purina) "ad libitum". Na seleção dos animais, foram eliminados aqueles que apresentavam as características:

1. comportamento alterado;
2. pêlo eriçado e sem brilho;
3. secreção sangüinolenta nos olhos;
4. irritação ou descamação de pele;
5. falha na pelagem.

A anestesia inalatória foi realizada matendo-se o animal no interior de uma cuba de vidro fechada, contendo esponja embebida em éter anestésico.

Após a anestesia, o animal foi imobilizado em decúbito ventral na prancheta apropriada e procedeu-se a tricotomia dorsal alta. Este local da tricotomia foi escolhida para dificultar ao animal coçar-se e, eventualmente, mascarar a lesão em estudo. A tricotomia foi realizada cuidadosamente,

evitando-se escarificação ou corte. Procedeu-se, em seguida, à marcação dos pontos de lesão.

O plano anestésico foi mantido com auxílio de um cone aluminizado, sustentado por um técnico auxiliar, que observava a frequência respiratória e imobilidade do animal. Sabe-se que a parada respiratória é possível de recuperação por técnica simples de ventilação. Neste experimento, foi bem dominada pelo técnico auxiliar, garantindo a sobrevivência do animal.

Três lesões foram provocadas em cada animal, por contato do cilindro metálico com nitrogênio líquido na pele, durante cinco segundos, com intervalo de cinco minutos, num total de três aplicações. Repetiu-se o procedimento três dias consecutivos, obtendo-se lesões bem definidas. As lesões foram circulares, com 0,6 cm de diâmetro.

A padronização dessa lesão foi precedida de testes com vários agentes químicos e físicos (ácido tricloroacético e nitrato de prata em diferentes concentrações, escarificação, corte com bisturi, queimadura elétrica), em diferentes modalidades de esquema. O nitrogênio líquido propiciou lesão mais homoganeamente reprodutível e mais adequada ao objetivo proposto.

A distribuição das três lesões foi feita conforme esquema da figura 12.

O pequeno número de lesões, três em cada animal, diminui o risco de depressão respiratória em função de anestésias prolongadas e repetidas. Três lesões permitem estudar, num mesmo animal, as três variáveis:

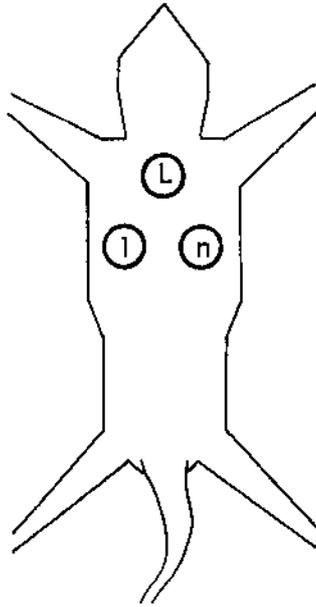


Fig.12. ANIMAL ESQUEMÁTICO: L - LASER; l - BAIXO GRAU DE COERÊNCIA; n - EVOLUÇÃO NATURAL

- a) evolução natural;
- b) tratamento com laser de HeNe;
- c) tratamento com luz de baixo grau de coerência.

Os animais foram comparados individualmente, eliminando-se erro devido a variações individuais, cada animal servindo como controle de si mesmo.

O tratamento das lesões iniciou-se imediatamente após a última aplicação de nitrogênio líquido e constou de irradiação, na superfície total da lesão, com laser de HeNe e com o dispositivo de luz com baixo grau de coerência, em número, tempo e a intervalos iguais. A localização da ferida tratada com uma ou outra modalidade, assim como o da ferida controle, foi

alternada de animal para animal. Com isso buscou-se afastar interferências de eventuais fatores locorregionais intrínsecos.

O dispositivo laser empregado permitiu trabalhar com o animal em decúbito ventral, prevenindo-se a depressão respiratória provocada pelo decúbito supino prolongado.

As aplicações foram feitas a cada três dias, durante três semanas (total seis aplicações). Cada aplicação durou 8 min. e 20 seg., tendo-se o cuidado de expor sempre o animal à mesma densidade de energia. Exemplificando: considerando que a luz laser, ao passar pelo "disco redutor de coerência", perde parte de sua energia, quando se utiliza o laser puro há necessidade de colocar um filtro de absorção cuja finalidade é manter a mesma densidade de energia (1 J/cm^2) em cada caso. A densidade de energia total aplicada é de 6 J/cm^2 , fracionada em seis aplicações de 1 J/cm^2 .

As lesões foram observadas quanto ao aspecto e evolução cronológica em dias. A observação foi qualitativa e a documentação, fotográfica.

Amostras foram colhidas para estudo dos padrões histológicos normal, lesional e cicatricial, decorrentes da evolução natural e dos tratamentos com luz coerente e com luz de baixo grau de coerência. O teor de fibras colágenas foi o aspecto histológico analisado qualitativamente. O material foi incluído em parafina, cortado e corado em hematoxilina-eosina (coloração de rotina) e Van Gieson (coloração para tecido colágeno).

RESULTADOS

Em todos os animais estudados observamos um tempo de cicatrização menor nas lesões tratadas com luz coerente, em comparação com as tratadas com luz de baixo grau de coerência e com as que evoluíram normalmente. As cicatrizes se apresentaram consolidadas, à inspeção, em média, nove dias antes, sob a ação da luz coerente.

Foram observadas variações mínimas no aspecto evolutivo, sobretudo quanto à espessura de crostas hemato-fibrinosas. As crostas foram removidas antes da aplicação em dez animais e deixadas intatas nos demais.

A evolução se fez de maneira uniforme, não se observando alterações decorrentes de fatores indesejáveis.

A cicatrização, nas três situações, obedeceu a um sentido centrípeto, com o processo de descolamento das crostas iniciando-se pela periferia. Nos casos de crostas mais espessas, as mesmas permaneceram intatas por mais tempo, descolando-se todas abruptamente, quando a superfície já se encontrava totalmente cicatrizada. Em alguns casos apresentaram zona central mais hiperemiada.

As figuras 13, 14, 15 e 16 ilustram a sequência do processo cicatricial, observada em todos os grupos estudados.

A nível microscópico, numa visão panorâmica, as fotografias ilustram o epitélio normal (fig. 17), a lesão estudada (fig. 18) e o aspecto final, com 60 dias de evolução, da evolução natural (fig. 19), da evolução decorrente do tratamento com laser de HeNe (fig. 20) e da decorrente do tratamento com luz de baixo grau de coerência (fig. 21).



Fig.13. LESÃO: 3º DIA

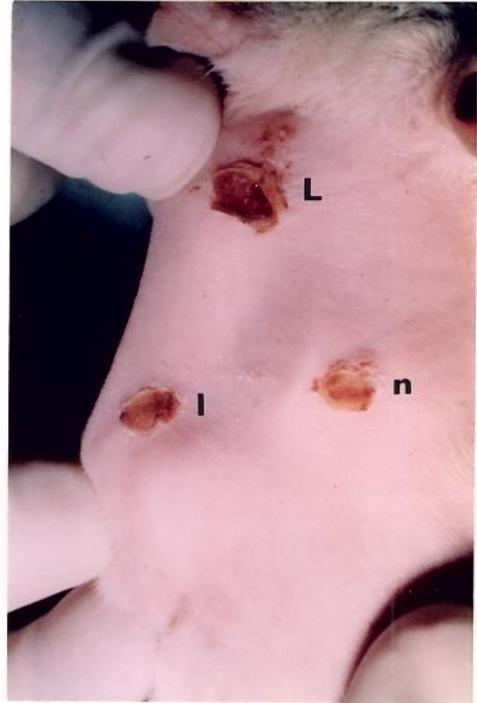


Fig.14. LESÃO: 13º DIA



Fig.15. LESÃO: 23º DIA



Fig.16. LESÃO: 33º DIA

A lesão (fig. 18) se caracteriza por necrose coagulativa interessando derme, hipoderme e, focalmente, a musculatura esquelética subjacente. As células apresentam coloração acidófila mais intensa por desidratação e ausência de núcleos. Os limites celulares não são distintos. A epiderme, os anexos pilo-sebáceos na periferia e, focalmente, na base, exibem sinais de atividade regenerativa, caracterizados por aumento de volume nuclear, multinucleação, vacuolização citoplasmática e paraqueratose. Presença de exsudato inflamatório composto por neutrófilos, histiócitos e pequeno número de mononucleares perivasculares na superfície da área necrótica. Junto às bordas, sobre a fáscia muscular, o exsudato migra para o interior da lesão em alguns pontos.

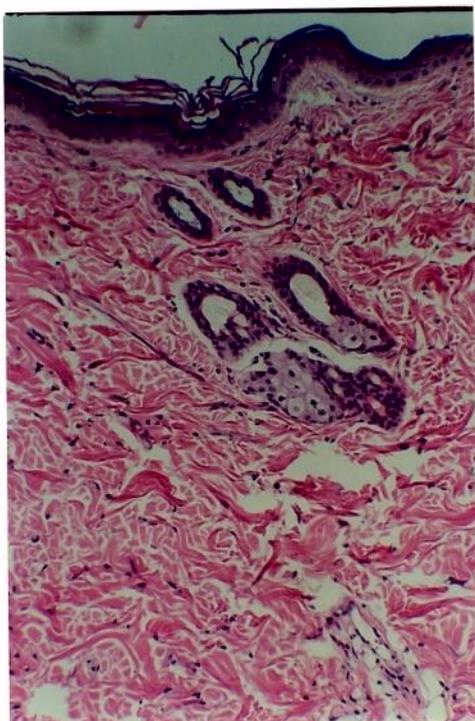


Fig.17. EPITÉLIO NORMAL

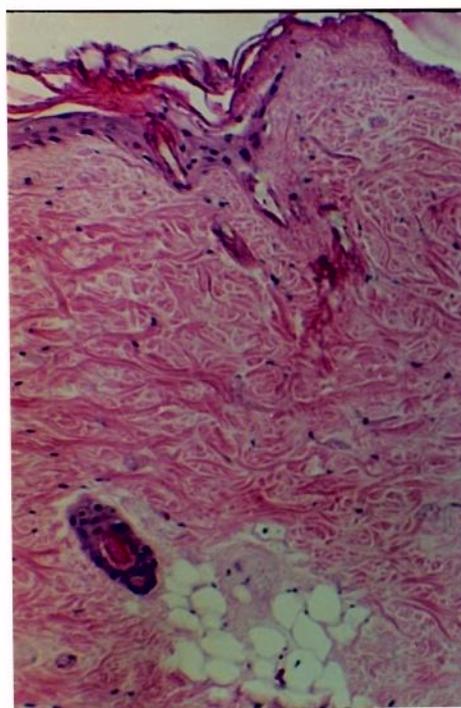


Fig.18. LESÃO ESTUDADA

As lesões no 60^o dia (fig. 19, 20 e 21) exibem área cicatricial mal delimitada lateralmente e na base, onde o tecido colágeno da derme tem aspecto mais compacto e coloração mais basófila, em relação ao tecido circunjacente. A espessura da derme também é maior na área cicatricial. A epiderme tem espessura uniforme delgada, e os anexos são atróficos e dilatados, com forte redução numérica. O coxim adiposo subdérmico mostra-se, em muitos pontos, igualmente substituído por fibrose. Observa-se aumento de fibroblastos e vasos, especialmente na superfície, onde muitos dos fibroblastos têm aspecto ativo, exibindo forma estrelada. O aspecto geral é semelhante nas lâminas do tecido das três cicatrizes.

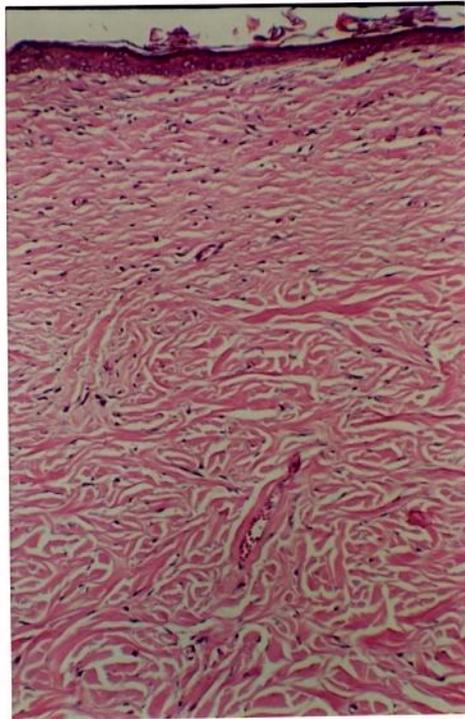


Fig.19. LUZ COERENTE: 60^º DIA

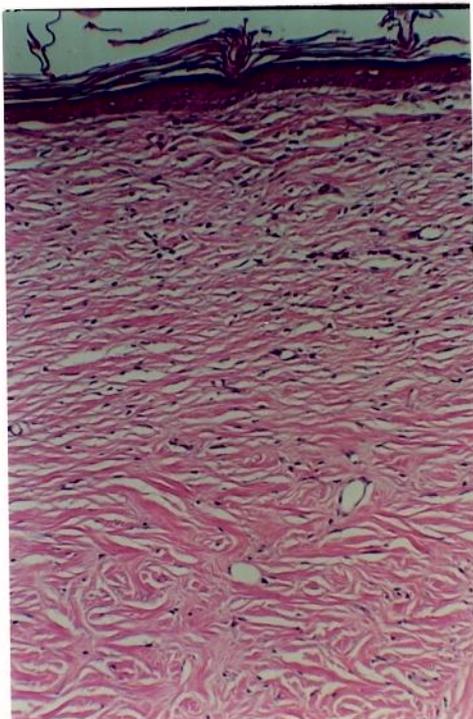


Fig.20. LUZ COM BAIXO GRAU DE COERÊNCIA: 60^º DIA

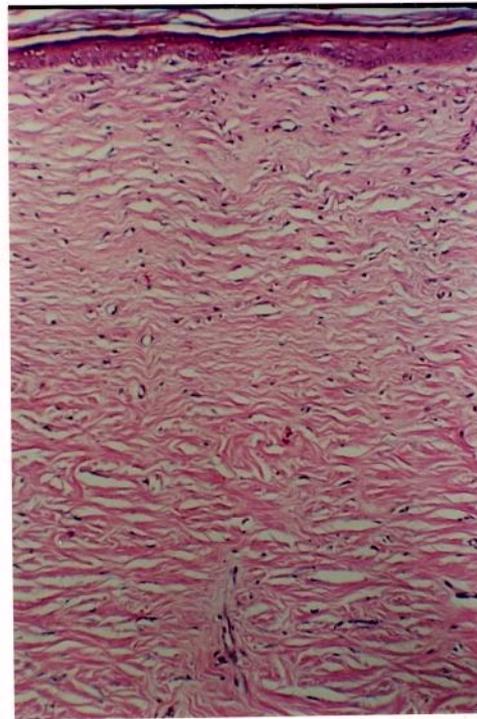


Fig.21. EVOLUÇÃO NATURAL: 60^º DIA

DISCUSSÃO

O processo de cicatrização constitui fenômeno complexo que requer a intervenção de múltiplas variáveis de natureza bioquímica e fisiológica sutis, e em perfeito equilíbrio. Implica em várias fases consecutivas distintas e o resultado é a substituição de tecido morto por tecido vivo.

A fase inicial é de uma reação inflamatória aguda típica, caracterizada por alteração microcirculatória, exsudação plasmática e protéica, trombose, migração leucocitária e neoformação vascular. As células inflamatórias, além do exsudato protéico, promovem a fagocitose de células mortas e restos, limpando a área lesada.

Na fase seguinte, proliferativa, há um recrutamento local de miofibroblastos que desencadeiam a contração mecânica de ferida. Simultaneamente há o desenvolvimento de novos capilares com efeito de neovascularização exuberante que constitui o tecido de granulação.

Em seqüência, há uma diferenciação de células mesenquimatosas em fibroblastos, responsáveis pela produção de colágeno e respondendo pela fase final de cicatrização (38).

Os dois tipos celulares, miofibroblastos e fibroblastos, apresentam características anatômicas particulares, onde se destacam retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi proeminentes e abundantes, dando idéia da intensa atividade fisiológica em curso e denunciando a importância das estruturas membranosas celulares.

Trofismo (nutrição), suprimento sangüíneo, balanço hormonal, infecção, são fatores gerais que determinam a evolução natural do processo.

A seleção e seguimento cuidadoso dos animais, ao longo da rotina do estudo, é fundamental para se descartar alterações desses aspectos que possam atuar como fatores desfavoráveis.

A espessura das crostas fibrinosas é o único aspecto variável na observação. Essa variação de espessura foi observada nas três situações estudadas e interpretada como decorrente da pressão desigual exercida com o tubo cilíndrico de nitrogênio e conseqüente lesão mais ou menos profunda, uma vez que o tempo foi cuidadosamente cronometrado. A observação nas três situações descarta a possibilidade de a variação ser decorrente do tratamento.

A evolução semelhante, cronologicamente, entre lesões em que as crostas foram removidas antes da aplicação e as que foram deixadas intatas, contraria a observação de SURINCHAK et al.(29) em estudo de lesões incisionais. Possivelmente, a natureza diferente das lesões, bem como sua dimensão, não tenham propiciado a atuação das crostas no sentido de dificultar a retração da ferida, conforme sugerido por esses autores.

A coloração mais rósea, observada em alguns casos, após a queda da crosta, foi interpretada como decorrente de neovascularização mais intensa observável em reparação de lesões mais profundas.

O efeito bioativador do laser de baixa potência, na cicatrização de feridas, tem sido estudado em seus vários aspectos. MESTER et al. (27), KOVACKS et al. (28) e KUBASOVA et al. (24) observaram aumento da força de tensão, favorecendo a contração de feridas, efeito não observado por JONGSMA et al. (39) e SURINCHAK et al. (33). KOVACS et al. (28, 29) e MESTER et al. (15) estudaram os aspectos vasculares e de condutividade elétrica envolvidos. KOVACS et al. (28), LEW et al. (10), KUBASOVA et al. (24) e MESTER et al. (15) analisaram os aspectos síntese protéica, neovascularização e matriz intercelular. Entre nós, SOARES et al. (40)

estudaram o teor de fibras colágenas. Em nenhum trabalho são descritas alterações morfológicas, comprovando o efeito bioestimulante da radiação.

Uma vez comprovada a aceleração do processo de cicatrização mediante um efeito bioestimulante, restam inúmeras indagações sobre o mecanismo intrínseco do fenômeno. Os conhecimentos de biofísica são insuficientes para tal propósito. A interação de fenômenos físicos envolvidos, de natureza elétrica, e seu desdobramento nos fenômenos químicos que regem a dinâmica fisiológica, está sujeita a inúmeras variáveis, quer do ponto de vista físico, quer do ponto de vista biológico. A delimitação de parâmetros específicos, envolvidos no processo, é o passo inicial para se decifrar o fenômeno em seu contexto global. Se a observação decorre favoravelmente em relação ao laser, é muito provável que ela seja decorrente de uma de suas propriedades. Como objetivo único deste trabalho, elegemos a coerência como propriedade física do laser, diretamente envolvida no processo, pretendendo estudar a sua importância na ocorrência de efeitos não-térmicos, bioativadores.

As informações expostas anteriormente dão idéia do comportamento da luz no processo de absorção pelas estruturas biológicas (tecido, célula). A membrana celular com sua constante dielétrica (parâmetro físico microscópico) é o centro do modelo teórico que propomos como possível explicação do fenômeno de bioativação em nosso modelo experimental.

Uma onda luminosa apresenta oscilação de carga elétrica que é representada esquematicamente conforme a figura 22. Ao incidir sobre a superfície celular promove, teoricamente, variação de suas cargas elétricas.

A fisiologia celular é controlada por diferença de potencial na membrana da ordem de mV. Qualquer alteração dessa diferença de potencial deve alterar a fisiologia celular.

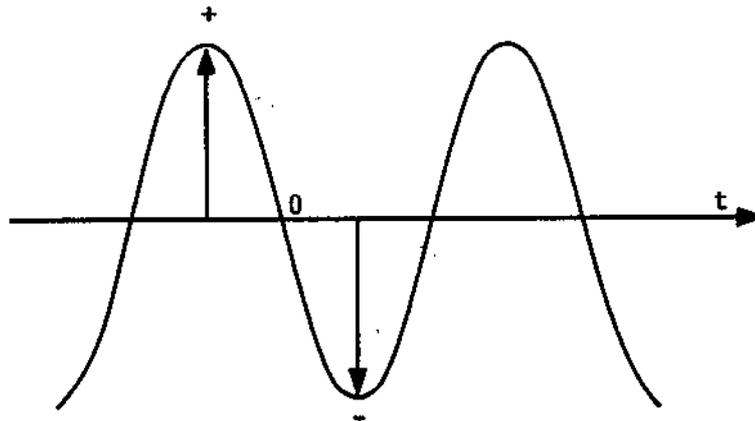


Fig. 22. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UMA ONDA LUMINOSA

A luz comum é composta de ondas luminosas de comprimentos de onda e direções diferentes, numa distribuição anárquica.

Ao incidir sobre a superfície de uma membrana celular, tem-se um fenômeno caótico em que pode haver deformação elétrica local, mas com pouco ou nenhum envolvimento funcional, uma vez que a somatória de fases polarizadas e não polarizadas tem resultante inexpressiva, em relação ao estado de equilíbrio (potencial de repouso). Em média, toda a célula permanece não perturbada. Esquemáticamente podemos representar o fato, conforme a figura 23.

Se no esquema ora representado dividíssemos a superfície celular em vários segmentos, teríamos cada um submetido a diferentes cargas elétricas (fig. 24 e 25), conforme o momento da carga incidente.

A luz comum afeta puntualmente a célula e, em média, o efeito é zero. O potencial resultante não é diferente do escuro, em princípio.

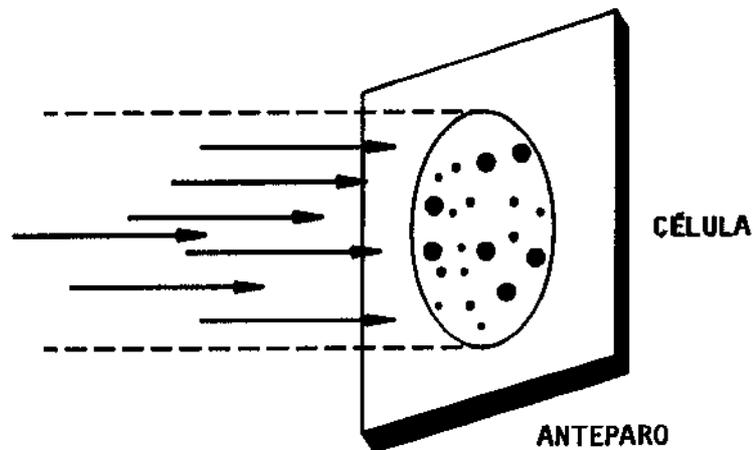


Fig.23. FEIXE DE LUZ COMUM INCIDINDO SOBRE UM ANTEPARO FÍSICO, NO CASO, REPRESENTADO PELA MEMBRANA CELULAR.

A luz coerente se caracteriza pela concordância de fase e, ao incidir sobre a superfície celular, esta seria "massageada" por um mesmo momento elétrico (fig. 26 e 27).

Em tal situação, tem-se um fenômeno organizado, com deformação elétrica local harmônica e possível envolvimento funcional, em decorrência de o potencial resultante poder ser, milhares de vezes, maior que o normal. Cada seção está instantaneamente sob o efeito de um mesmo campo elétrico (mesma fase).

A dispersão energética, decorrente do fenômeno de "scattering" (34), seria compensada pela concordância de fase da luz incidente e o aporte de energia a níveis visados, bem mais significante.

A eventual recuperação do potencial de repouso comprometido, ou mesmo sua modificação com ativação do sistema de bombas (transporte

ativo) (8), seria uma das modificações elétricas previsíveis, sob o estímulo de luz coerente. A baixa potência do laser de HeNe, e suas demais características físicas próximas dos parâmetros biológicos, respondem pelo fenômeno bioativador observado na evolução do processo, através de um mecanismo de excitação eletrônica (15).

No modelo experimental proposto, tivemos os elementos celulares responsáveis pela reparação comprometidos pelo processo inflamatório. O resultado de tratamentos com luz coerente e luz de baixo grau de coerência aponta para a maior eficácia do primeiro. O termo final, aos 60 dias, demonstra características idênticas de ambos os processos, assim como o resultado da evolução

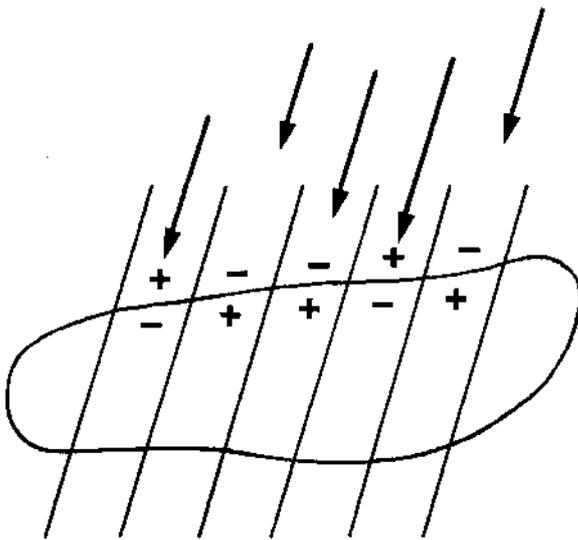


Fig. 24. DIFERENTES CARGAS ELÉTRICAS SEGMENTARES, CONFORME O MOMENTO DA LUZ INCIDENTE

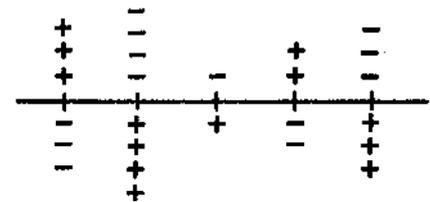


Fig.25. POLARIZAÇÃO SEGMENTAR, CONFORME O MOMENTO DA LUZ INCIDENTE

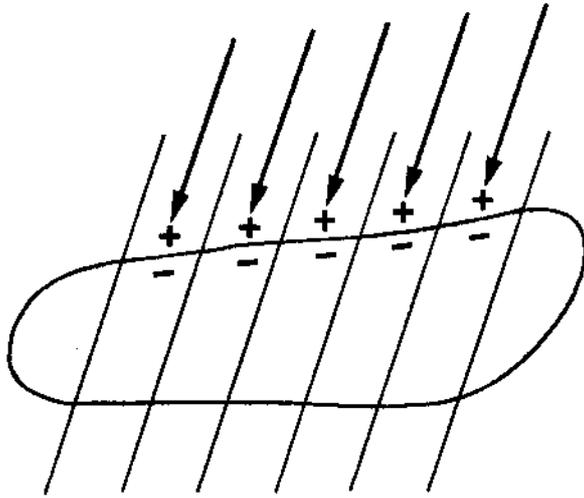


Fig.26. CARGAS ELÉTRICAS SEGMENTARES SEMELHANTES, CONFORME O MOMENTO DA LUZ COERENTE INCIDENTE.



Fig.27. POLARIZAÇÃO SEGMENTAR, CONFORME O MOMENTO DA LUZ COERENTE INCIDENTE

natural: cicatriz com o mesmo aspecto morfológico nas três situações. Isso induz a pensar no processo de bioativação em que o fenômeno natural de reparação é, unicamente, acelerado sob a ação de luz coerente.

Sem dúvida, as fibras colágenas, elemento histológico que tomamos como parâmetro comparativo, conquanto esteja em quantidade igual aos 60 dias, numa visão microscópica panorâmica, deve estar em quantidade maior nas fases iniciais do processo reparativo, eventualmente representado por uma projeção gráfica teórica, conforme ilustra a figura 28.

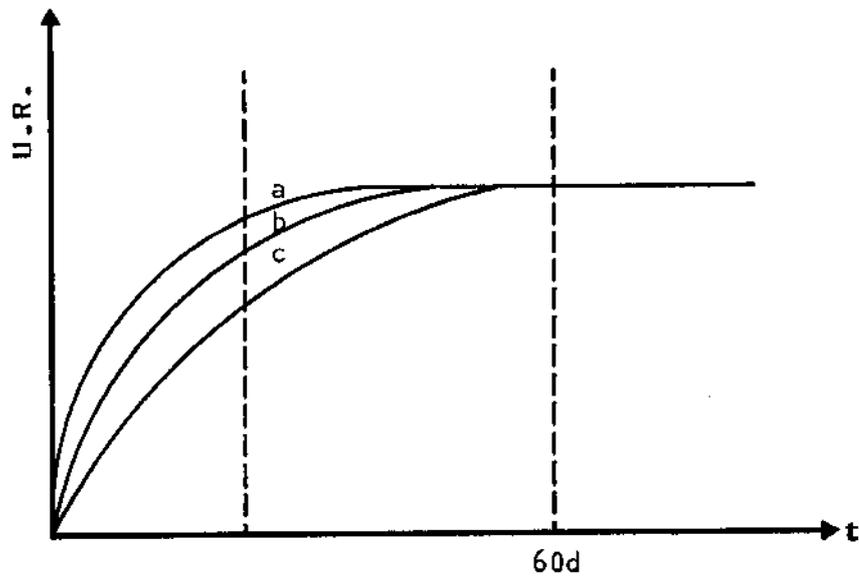


Fig. 28. VARIAÇÃO NUMÉRICA DAS FIBRAS COLAGENOSAS DURANTE O PROCESSO DE REGENERAÇÃO E RESULTADO FINAL: a) SOB A AÇÃO DA

A variação numérica das fibras de colágeno é um fato comprovado em trabalhos realizados "in vitro" e "in vivo" (14,27,28,33,36,40). O teor, aparentemente igual na cicatriz definitiva, aponta para uma provável aceleração do processo regenerativo.

A luz coerente contribuiria, numa fase inicial, para recuperação da estabilidade elétrica de repouso, comprometida pelo processo inflamatório e, numa fase subsequente, para acelerar o processo metabólico específico no mecanismo de regeneração.

Sem dúvida um trabalho experimental, de natureza qualitativa, como este, e de especulações teóricas, merece a previsão de trabalho futuro, a nível de fisiologia celular, para complementação e aperfeiçoamento. O laser de baixa potência é um dos elementos de estudo apontados como um grande recurso para investigações dessa natureza.

Nossa amostragem nos parece suficiente para comprovar a aceleração do processo reparador, confirmando resultados obtidos por outros autores e evidenciando a importância do laser de baixa potência no arsenal terapêutico moderno.

CONCLUSÃO

Na introdução deste trabalho observamos que seres vivos evoluíram, por milênios, sob a influência da luz comum, intrinsecamente desordenada. O laser, com propriedades obtidas artificialmente, constitui luz estranha a esses seres. A conscientização desse fato é fundamental.

Coerência é a propriedade física relacionada com o comportamento ordenado da luz e a sua abstração vai além de conceitos simples, como os da mecânica clássica. Considerável parte de nosso trabalho foi no entendimento de seu conceito. Acreditamos que a nossa contribuição aos conhecimentos teóricos da ação da luz laser sobre tecidos vivos possa ajudar em trabalhos futuras nesta área.

Sob o ponto de vista experimental, nossos resultados evidenciam que a bioestimulação por laser, nos processos cicatriciais, é evidente, caracterizando-se por:

1. A luz coerente atua sobre as membranas celulares, modificando-lhes o potencial elétrico, com conseqüente alteração de seus processos fisiológicos.
2. A evolução temporal do processo de cicatrização sugere maior teor de fibras colágenas, sob a ação da luz laser, **apenas** em etapas intermediárias, com aceleração do fenômeno.
3. O efeito ocorreria em camadas mais profundas, tendo em vista que a espessura das crostas não interferiu na evolução. Seria acelerado, sob a ação da luz coerente, em decorrência de um débito energético maior, resultante de seu "scattering".

Nossos resultados, obtidos através da comparação entre efeitos da luz laser com alto grau de coerência e efeitos da mesma luz laser, com baixo grau de coerência, nos permite afirmar que a bioestimulação seria dependente dessa propriedade, isto é, do grau de organização do feixe de luz.

RESUMO

Neste trabalho, apresentamos resultados experimentais que comprovam a importância do grau de coerência da luz laser no processo de cicatrização estimulado por lasers. A comprovação experimental foi obtida através de estudo comparativo da ação bioestimuladora da luz laser, e da luz laser modificada para apresentar baixo grau de coerência.

Os experimentos foram desenvolvidos em feridas padronizadas e obtidas através da aplicação de um "dedo frio" a nitrogênio líquido, no dorso de ratos. Os resultados são animadores para a possível aplicação clínica. Sob o ponto de vista técnico, apresentamos, nesta tese, um modelo baseado no significado físico da coerência óptica, que está relacionada com a ordenação das ondas eletromagnéticas do feixe de luz laser.

O conhecimento básico da física do laser e da sua interação com o tecido biológico foi revisto e descrito de forma acessível aos profissionais interessados, esperando que possa servir como referência em futuros trabalhos na área.

ABSTRACT

The present work shows experimental data confirming the importance of light coherence in the process of wound healing stimulated by lasers. The results were obtained through a comparative study of biostimulating effects obtained by the use of laser light and laser light with low degree of coherence.

In this study we use standardized lesions resulting from the application of liquid N₂ on the dorsal region of rats. The results seem to indicate good clinical applications in human beings.

Concerning the technical aspect, this thesis also presents a theoretical model based on the importance of optical coherence which is related to the ordenation of the eletromagnetical waves in the laser beam.

The basic principles of laser physics and of its interaction with biological tissue are reviewed and described in an accessible way so that professionals interested on the matter can use it as a reference in further works.

BIBLIOGRAFIA

01. VERHULST, J. & VERHULST, D. - Le laser in O.R.L. **Rev. de Laryngol.**, vol. 100 n^o 3-4: 248-258, 1979.
02. GAMALEYA, N.F. - **Laser applications in Medicine and Biology** (vol. 3). Wolbarsht (ed.). Plenum Press, New York, 1-13, 1977.
03. NICOLA, E.M.D. - **Caracterização de micro-lesões produzidas por laser de CO₂ na mucosa oral de cães, em função da variação de parâmetros intrínsecos do equipamento.** Tese de doutoramento, FCM - UNICAMP, 1984.
04. KUHL, I.A. & KUHL, G. - Obstrução aguda da laringe. **Clínica Pediátrica**, 1(12): 30-35, 1977.
05. HERRERO, M.C.; SERES, A.; SOTO, J.J.M.; PEÑA, P.P.; FRUCTUOSO, F.G.; MOLLER, I.; SAÑUDO, I.; VALDEREAL, A.; MONTOTO, C.; TARRAGO, A. & SANTIESTEBAN, J.M. - Editorial. **Bol. CDL**, n^o 17: 1988.
06. COTTA, M.A. - **Estudo de efeitos não térmicos da radiação laser em tecidos vivos.** Tese de Mestrado, Instituto de Física "Gleb Wataghin", UNICAMP, 1987.
07. GONZLES, M.V. & CRUAÑAS, J.C. - Comportamiento de la luz en la interacción con los tejidos, en especial el laser de baja potencia. **Bol. CDL** n^o 15-16: 6-21, 1988.
08. BECK, J.S. - **Biomembranes fundamentals in relation to human biology** - cap. 3: The resting cell membrane. Hemisphere Publishing Corporations, Washington, 1980.

09. BRUNETAUD, J.M. & DECOMPS, B. - Les lasers en médecine. **Le Recherche**, **137**: 1122-1129, 1982.
10. YEW, D.T.; WOND, S.L.L. & CHAN, Y. - Stimulating effect of the low dose laser - a new hypothesis. **Acta Anat.** **112**: 131-136, 1982.
11. BERNS, M.M.W. - Viewpoint: lasers in biomedicine. **Laser Focus.** **Jun**: 66-71, 1983.
12. PARRISH, J.A.; WOLBARSHT, M.; GOLDSTEIN, R.; DIXON, J.A.; FULLER, T.; DOUKAS, A.G.; ALFANO, R.R. & GUIDI, R.A.- Responses to "Viewpoint: lasers in biomedicine". **Laser Focus.** **Aug.**: 57-59, 1983.
13. ABERGEL, R.P.; MEEKER, C.A.; DWYER, R.M.; LESAVOY, M.A. & VITTO, J. - Nonthermal effects on Nd:YAG laser on biological functions of human skin fibroblasts in culture. **Lasers in Surg. and Med.** **3**: 279-284, 1984.
14. BERKI, T.; NÉMETH, P. & HEGEDOS, J. - Effect of low-power continuous wave He-Ne laser irradiation on "in vitro" cultured lymphatic cell lines and macrophages. **Studia Biophysica** **105**: 145-148, 1985.
15. MESTER, E.; MESTER, A.F. & MESTER, A. - The biomedical effects of laser application. **Laser in Surg. and Med.** **5**: 31-39, 1985.
16. HERRERO, C. - Los efectos terapeuticos. **Bol. CDL.** **nº 15 - 16**: 22-26, 1988.
17. HERRERO, C. - El laser y su aplicacion en los diferentes tratamientos de medicina estetica. **Bol. CDL** **nº 15-16**: 45-50, 1988.
18. OYAMADA, Y.; SATODATE, R.; NISHIDA, J.; IZU, S. & ADKI, Y. Estudio a doble ciego del efecto del laser de baja potència He-Ne en la artritis reumatoidea. **Bol. CDL,** **nº 17**: 8-12, 1988.

19. YO-CHENG, Z. - An advanced clinical trial with laser acupuncture anesthesia for minor operations in the oro-maxillofacial region. **Lasers in Surg. and Med.** 4: 297-303, 1984.
20. FRUCTUOSO, F.J.G. & MOSET, J.M. - La reumatología y la aplicación del laser de baja potencia dentro de la multiterapia utilizada en dicha especialidad. **Bol. CDL. n^o 15-16:** 38-42, 1988.
21. SAÑUDO, I. - El laser dentro de las medidas terapéuticas empleadas en la rehabilitación. **Bol.CDL n^o 15-16:** 43-44, 1988.
22. KUDOH, C.; INOMATTA, K.; MOTEEGI, M. & OHSHIRO, T. - Low level laser therapy pain attenuation mechanisms, 1: histochemical and biochemical effects of 830 nm gallium aluminium arsenide diode laser radiation on rat saphenous nerve Na-K-ATPase activity. **Laser therapy**, 1: 3-6, 1988.
23. MOORE, K.C.; HIRA, N.; KUMAR, P.S.; JAYAKUMAR, C.S. & OHSHIRO, T. - A double blind crossover trial of low level laser therapy in the treatment of post herpetic neuralgia. **Laser therapy**, 1: 7-9, 1988.
24. KUBASOVA, T.; KOVCS, L.; SOMOSY, Z.; UNK, P. & KKAJ,A. Biological effect of He-Ne laser: investigations on functional and micromorphological alterations of cell membranes, "in vitro". **Lasers in Surg. and Med.** 4: 381-388, 1984.
25. CASTRO, J.; SAXTON. R.E.; CASTRO, D.J.; FETTERMAN,H.R. & WARD, P.H. - Bioestimulation of human carcinoma cells with the argon laser: a previously unreported potential iatrogenic effect of lasers. **Laryngoscope**, 98: 109-166, 1988.
26. MESTER, A.F. & SNOW, J.B. - Effects of laser irradiation on immature olfactory neuroepithelial explants from the rat. **Laryngoscope**, 98: 743-745, 1988.

27. MESTER, E.; SPIRY, T.; SZENDE, B. & TOTA, J.G. - Effect of laser rays on wound healing. **The Am.J. Surg.**, **122**: 532-535, 1971.
28. KOVCS, I.B.; MESTER, E. & GOROG, P. - Stimulation of wound healing with laser beam in the rat. **Experientia** **30**: 1275-1276, 1974.
29. KOVCS, I.B.; MESTER, E. & GOROG, P. - Laser-induced stimulation of the vascularization of the wound healing. An ear chamber experiment. **Experientia**, **30**: 341-343, 1974.
30. GOLDMAN, J.A.; CHIAPPELLA, J.; CASEY, H.; BASS, N.; GRAHAM, J.; McCLATCHEY, W.; DRONAVALLI, R.V.; BROWN, R.; BENNETT, W.J.; MILLER, S.B.; WILSON, C.H.; PEARSON, B.; HAUN, C.; PERSINSKY, L.; HUEY, H. & MUCKEREIDE, M. - Laser therapy of rheumatoid arthritis. **Lasers in Surg. and Med.** **1**: 93-101, 1980.
31. PÉREZ-PEÑA, P.; CASTELLS, A.A. & RODO, L.B. - Enfermedad de la Peyronie: el laser una nueva alternativa terapeutica. **Bol. CDL n^o 17**: 13-16, 1988.
32. MESTER, E.; NAGYLUCSKAY, S.; WAIDELICH, W.; TISZA, S.; GREGUSS, P.; HAINA, D. & MESTER, A. - Effects of direct laser radiation on human lymphocytes. **Arch Dermatol. Res.** **263**: 241-245, 1978.
33. SURINCHAK, J.S.; ALAGO, M.L.; BELLAMY, R.F.; STUCK, B. & BELKIN, M. - Effects of low-level energy lasers on the healing of full skin defects. **Lasers in Surg. and Med.** **2**: 267-274, 1983.
34. COLLS, J. - Enfoque conceptual de las radiaciones eletromagneticas. **Bol. CDL n^o 15-16**: 1-5, 1988.
35. TOMBERG, V.T. - Non-thermal biological effects of laser scams. **Nature**, **200**: 868-870, 1964.

36. RIBARI, O. - The stimulating effect of low power laser rays: experimental examinations in otorhinolaryngology. **Rev. de Laringol.** vol. 102 nº 11-12: 531-533, 1981.
37. KARLANDER, E.P. & KRAUSS, R.W. - The laser as a light source for the photosynthesis and growth of "Chlorella varielli". **Biochim. Biophys. Acta.** 153: 312-314, 1958.
38. MARTINEZ - HERNANDES, A. - Reparação, Regeneração e Fibrose. In: RUBIN, E. & FARBER, J.L. - **Patologia.** Rio de Janeiro, Interlivros, 1990 - cap. 2, 32-59.
39. JONGSMA, F.H.M.; BOGAARD, A.E.J.M.; GEMERT, M.J.C. & HENNING, J.P.H. - Is closure of open skin wounds in rats accelerated by argon laser exposure? **Lasers in Surg. and Med.**, 3: 75-80, 1983.
40. SOARES, J.H.; TARDIVO, J.P.; GOLDENBERG, S.; KATZ, S. & MOURA, L.A.R. - Aspectos morfológicos e histométricos da reparação tecidual das feridas cutâneas de ratos após irradiação com o laser de Hélio-Neônio. **Acta Cir. Bras.**, 4 (2): 56-60, 1989.