

EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DO TIPO HÉLIO-NEÔNIO VERDE (550 NM) NO PROCESSO DE REPARO EM FERIDAS DE EXTRAÇÃO DENTAL: ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS

Walter Domingos NICCOLI -FILHO*
Tetuo OKAMOTO**
Nei CARDENUTO***
Luciana Christofolini PICON****

- **RESUMO:** Foi feito um estudo histológico sobre os efeitos da radiação *laser* do tipo Hélio-Neônio verde (550 nm) no processo de reparo em feridas de extração dental em ratos. Os resultados sugerem que este tipo de tratamento não trouxe benefícios significantes sobre este processo. A proliferação de fibroblastos e a formação de tecido osteóide não foram mais proeminentes no grupo irradiado.
- Extração dentária; *lasers*; cicatrização de feridas; reparo alveolar.

Introdução

Euler,⁹ em 1923, foi o pioneiro em estudos sobre o processo de reparo em extração dental e, desde então, os pesquisadores têm analisado esse fenômeno biológico por meio de estudos experimentais e clínicos, usando métodos radiográfico, histológico e histoquímico, que permitiram estabelecer os padrões normais deste processo de reparo.^{1,2,19,20}

Morfologicamente podem ser consideradas quatro fases fundamentais na evolução do processo de reparo alveolar, a saber: proliferação celular, desenvolvimento do tecido conjuntivo, maturação do tecido conjuntivo e diferenciação óssea ou

* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 12245-000 - São José dos Campos - SP.

** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 16015-050 - Araçatuba - SP.

*** Departamento de Laser e Opto-Eletrônica - UNIVAP - 12200-720 - São José dos Campos - SP.

**** Bolsista do Programa de Iniciação Científica - CNPq - Faculdade de Odontologia - UNESP - 12245-000 - São José dos Campos - SP.

mineralização. Há que se ressaltar que esta divisão é muito mais didática, visto que em ratos, no sétimo dia pós-exodontia, são observadas essas quatro fases citadas.

A partir do estabelecimento das etapas do processo de reparo e sua cronologia, os diversos autores procuraram estabelecer seu comportamento frente a vários fatores, tanto locais quanto sistêmicos.

Alguns fatores sistêmicos, já estudados, revelam que o diabete,¹¹ a tiroparatiroidectomia,¹⁰ a administração do paratormônio²³ e os contraceptivos⁷ retardam a cronologia do processo de reparo alveolar.

Sob a ação local de substâncias como "osso anorgânico"²⁴ e Boplant compacto,²¹ não houve estimulação da osteogênese, e atrasaram, mais pronunciadamente, a cronologia da reparação alveolar. Niccoli-Filho & Okamoto,* aplicando *laser* do tipo Hélio-Neônio com um comprimento de onda de 632,8 nm (espectro vermelho) em feridas de extração dental, observaram o avanço na cronologia do processo de reparo alveolar.

O uso de radiação *laser*, para melhoria da qualidade em reparações de feridas cirúrgicas, tem estimulado vários estudos, pois tal recurso tem se mostrado eficaz em várias áreas da medicina e da odontologia moderna.

O desenvolvimento do *laser* (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) teve seu nascimento a partir de 1917, quando Albert Einstein estudou a emissão estimulada. Em 1958, Shawlow & Townes²⁵ sugeriram que os princípios básicos da amplificação por emissão estimulada poderiam ser aplicados à amplificação da luz (*LASER*).

Em resumo, o raio *laser* é um raio de luz, portanto, caracteriza-se primariamente por cor e intensidade. O que faz o raio *laser* ser diferente da luz comum são certas características e propriedades importantes, tais como: ser uma fonte de luz monocromática, que pode atingir altas intensidades, ser coerente e com brilho intenso, assim como unidirecional.¹²

Cada uma destas propriedades, em separado ou em conjunto, possibilita aplicações específicas e de grandes resultados na área biológica.^{13,27}

Segundo vários autores,^{3,12,14,18} atuando em nível celular, a radiação *laser* provocará modificações bioquímicas, bioelétricas e bioenergéticas.

Bogatov et al.⁴ estudaram a regeneração óssea e observaram que a laserterapia reduz o tempo de reparação em ferimentos provocados. Em osso alveolar, Takeda²⁶ estudou os efeitos da energia *laser* do tipo Ga-As, após extração de molar em ratos, observando histologicamente uma aceleração no processo de reparo alveolar.

Não têm sido feitas, até o momento, referências sobre a ação da radiação *laser* do tipo Hélio-Neônio verde no processo de reparo em feridas de extração dental, razão pela qual propusemo-nos a desenvolver a presente pesquisa.

* W. D. NICCOLI-FILHO, T. OKAMOTO. The effect of Helium-Neon laser on the healing of extractions wounds. Histological study in rats, *Laser Surg. Med.* (No prelo)

Material e métodos

Para a presente pesquisa, foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*), de peso corporal aproximado de 300 gramas e 80 dias de vida.

Os animais foram alimentados com ração granulada antes e durante o período experimental e água *ad libitum*.

Os ratos foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos de 24 cada, com os seguintes procedimentos experimentais:

Grupo I (controle): os animais, sob anestesia geral por inalação de vapores de éter sulfúrico, tiveram seus incisivos superiores esquerdos extraídos com instrumental especialmente adaptado para esse fim.²⁰ A seguir, a mucosa gengival foi suturada com fio de seda 4-0*.

Grupo II (tratado): Após a extração dos incisivos superiores esquerdos, o alvéolo recebeu a aplicação direta de radiação *laser* do tipo Hélio-Neônio verde, por meio de fibra óptica, durante seis minutos. A seguir, a mucosa gengival foi suturada de forma semelhante ao Grupo I.

Foi usado um aparelho *laser* do tipo He-Ne verde, cuja potência é de 0,95 mW, comprimento de 550 nm (cor visível), divergência de 1,7 m RAD. Para levarmos a radiação ao interior dos alvéolos dos ratos do Grupo II, fez-se o feixe de radiação do aparelho incidir em uma lente positiva, que foca o feixe em uma fibra óptica multimodo, cujas dimensões são: CORE: 50µm e CLADDING: 125 µm.

Os animais foram sacrificados aos 3, 7, 14 e 21 dias após o ato cirúrgico.

As peças obtidas, após o preparo histológico de rotina, foram coradas pela hematoxilina e eosina, seguindo para leitura ao microscópio óptico comum.

Resultados

3 dias

Grupo I (controle): O alvéolo dental encontra-se em grande parte preenchido por coágulo sangüíneo. No terço médio, junto ao ligamento periodontal, podem ser notados alguns fibroblastos jovens invadindo o coágulo sangüíneo (Figura 1), além de capilares neoformados.

Grupo II (tratados): As mesmas características histológicas do Grupo I são observadas neste tempo pós-operatório (Figura 2).

* Seda Preta "Sutupack-Ethicon" - Johnson & Johnson.

7 dias

Grupo I: Os três terços alveolares acham-se ocupados parcialmente por tecido conjuntivo neoformado altamente imaturo, exibindo grande número de macrófagos, fibroblastos jovens e vasos capilares. Ao nível do terço médio, no lado lingual, é possível observar um tecido conjuntivo mais evoluído notando-se algumas espículas ósseas neoformadas com intensa atividade osteoblástica (Figura 3).

Grupo II: Os três terços alveolares acham-se preenchidos parcialmente por tecido conjuntivo imaturo, muito semelhante ao Grupo I, com os mesmos achados histológicos. No terceiro apical, nota-se menor quantidade de coágulo sanguíneo e uma maior quantidade de tecido ósseo neoformado (Figura 4).

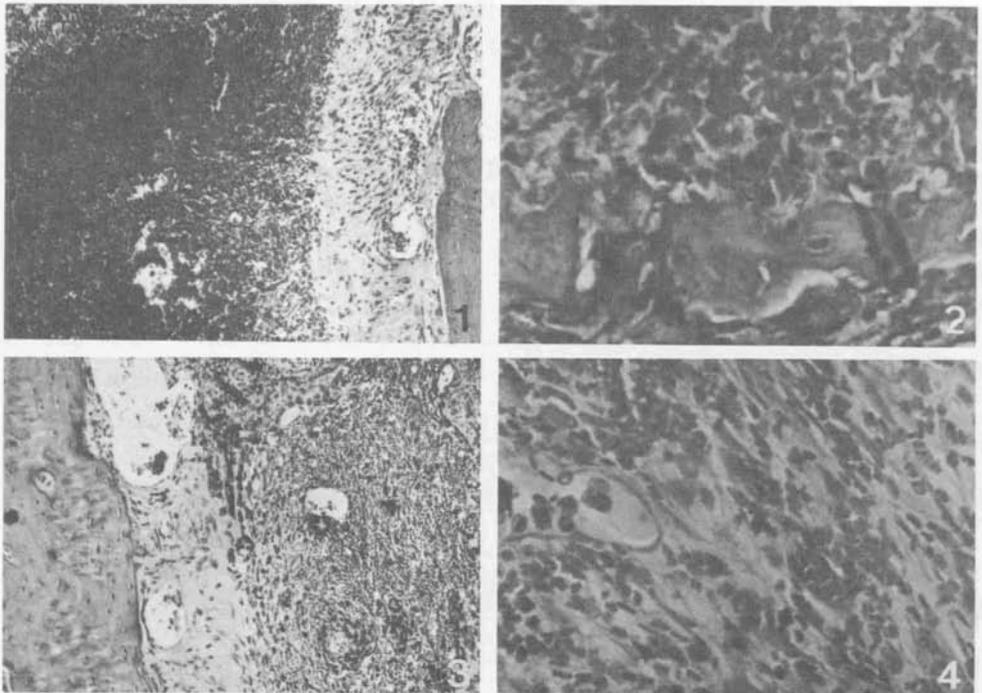


FIGURA 1 - Grupo I. 3 dias. Terço médio evidenciando restos de ligamento periodontal bem vascularizado e rico em fibroblastos. HE - 63X

FIGURA 2 - Grupo II. 3 dias. Terço médio próximo do ligamento periodontal exibindo coágulo sanguíneo e fibroblastos jovens. HE - 420X

FIGURA 3 - Grupo I. 7 dias. Terço médio do alvéolo, lado lingual, evidenciando tecido conjuntivo imaturo. HE - 63X

FIGURA 4 - Grupo II. 7 dias. Terço médio do alvéolo mostrando tecido conjuntivo mais evoluído. HE - 420X

14 dias

Grupo I: Junto aos terços médios e apical podem ser observadas trabéculas ósseas mais desenvolvidas, preenchendo, aproximadamente, a metade da extensão. Em diversos pontos pode ser observado coágulo sanguíneo sem organização (Figura 5).

Grupo II: O alvéolo exibe tecido conjuntivo neoformado com a presença de trabeculado ósseo, com intensa atividade osteoblástica (Figura 6).

21 dias

Grupo I: O alvéolo dental encontra-se totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado, apresentando, no entanto, algumas características distintas conforme o terço considerado. Assim, junto ao terço cervical, as trabéculas ósseas ainda deixam amplos espaços ocupados por tecido conjuntivo bem vascularizado e rico em fibroblastos (Figura 7); junto ao terço médio as trabéculas geralmente são bem definidas.

Grupo II: Os três terços do alvéolo acham-se ocupados por trabéculas ósseas, mas com espaços consideráveis de tecido conjuntivo maturo (Figura 8).

Discussão

Os resultados obtidos por nós, nos animais do grupo controle (Grupo I), mostraram que a evolução do processo de reparo alveolar ocorreu de maneira semelhante à descrita por Okamoto.¹⁹

A análise dos resultados obtidos nos animais do grupo tratado (Grupo II) mostrou que a aplicação do laser He-Ne verde não alterou quer a formação do coágulo quer a proliferação fibroblástica com formação de substância fundamental amorfa, aos três dias pós-operatório.

Nos tempos subseqüentes (7, 14 e 21 dias) foram observados, no mesmo grupo, um pequeno incremento na proliferação osteoblástica e na formação de tecido ósseo, porém julgamos não significantes, quando comparados ao grupo controle.

Para Conway,¹⁸ na cicatrização de feridas cirúrgicas, a formação do tecido de granulação é um dos fatores de maior importância. Para Lindner,¹⁷ esta formação de tecido de granulação está relacionada com o metabolismo dos fibroblastos, o que nos leva a crer que nos animais do grupo tratado deve ter ocorrido, nos tempos de 7, 14 e 21 dias pós-operatório, um pequeno estímulo que, agindo sobre estas células, promoveria a gênese um pouco mais precoce do tecido de granulação.

Bosatra et. al⁵ comentam que a síntese atribuída a seus resultados com laser He-Ne (632,8 nm), incrementando a formação de tecido de reparação, estava presente, mas em termos de pesquisa, não foi possível estabelecer se o processo de reparação

foi beneficiado por um efeito direto de radiação *laser* sobre os fibroblastos, ou foi consequência indireta de outras condições, tal como um bom aporte sanguíneo nos tecidos envolvidos.

Um dos fatores mais benéficos e decisivos atribuídos ao *laser* do tipo He-Ne (632,8 nm), para a melhora na reparação tecidual em feridas cirúrgicas, dá-se pelo desenvolvimento de novos vasos sanguíneos.¹⁸ Os resultados obtidos por estes autores mostraram que este desenvolvimento de um maior aporte sanguíneo foi significativamente influenciado pela aplicação do *laser* He-Ne. Nesta pesquisa, os animais do grupo tratado com *laser* He-Ne verde (550 nm), quando comparados aos do grupo controle, não apresentaram uma proliferação mais intensa de capilares sanguíneos.

A irradiação de cultura de fibroblastos e linfoblastos com *laser*, segundo Labe et al.¹⁵, não revelou mudanças na contagem celular, conteúdo de DNA, índice mitótico ou na morfologia celular. O mesmo autor, em 1990, mostrou que a fotoestimulação por *laser* provocou um incremento na síntese do ácido ascórbico e na hidroxiprolina em culturas de fibroblastos, o que poderia gerar uma melhor qualidade na reparação tecidual.¹⁶

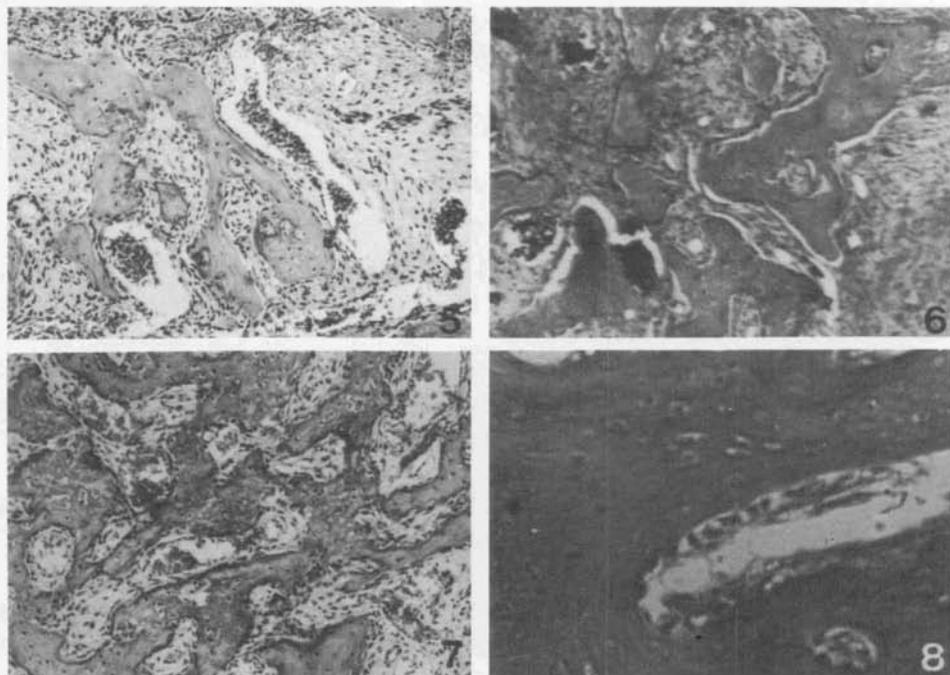


FIGURA 5 - Grupo I. 14 dias. Terço médio do alvéolo mostrando trabéculas ósseas bem-desenvolvidas. HE - 63X

FIGURA 6 - Grupo II. 14 dias. Terço cervical do alvéolo mostrando trabeculado ósseo mais espesso. HE - 105X

FIGURA 7 - Grupo I. 21 dias. Terço apical do alvéolo exibindo trabéculas ósseas pouco definidas. HE - 63X

FIGURA 8 - Grupo II. 21 dias. Terço cervical do alvéolo mostrando trabéculas ósseas espessas, com amplos espaços de tecido conjuntivo. HE - 420X

Alguns autores^{6,22,28} contestam os efeitos benéficos advindos do uso da aplicação da radiação *laser* He-Ne na prática clínica. Os mesmos salientam que os resultados positivos obtidos em animais não podem ser transferidos para o homem, devido ao fato de fatores como dissimilaridade de cor e estrutura tecidual, individualidades nas propriedades de absorção/reflexão e diferenças nas susceptibilidades dos tecidos irradiados serem suficientes para não se aceitarem estes resultados positivos descritos na literatura.

Os resultados da presente pesquisa sugerem que o uso da radiação *laser* He-Ne verde não leva a um incremento na formação do tecido de granulação e concomitante aceleração na cronologia do processo de reparo.

Outro aspecto importante a se considerar é que o comprimento de onda utilizado (550 nm), emitindo radiação com a cor verde, influi no processo de reparo, visto que Niccoli-Filho & Okamoto,* usando o mesmo tipo de *laser* (Hélio-Neônio), mas com comprimento de onda de 632,8 nm (cor vermelha), obtiveram uma aceleração na cronologia do processo de reparo.

Dada a complexidade do assunto, acreditamos que o uso de tão sofisticada técnica merece novos experimentos, no intuito de melhor conhecer o comportamento do processo de reparo alveolar, submetido ou não ao estímulo proporcionado pelo uso de radiação *laser* do tipo Hélio-Neônio verde.

Conclusões

1. Não houve formação mais precoce do tecido de granulação e no início da neoformação óssea.

2. O *laser* He-Ne verde não promoveu significativa aceleração na cronologia do processo de reparo.

3. A julgar pelos resultados obtidos, o comprimento de onda do *laser* do tipo He-Ne pode interferir na cronologia do processo de reparo.

* NICCOLI-FILHO, W. D., OKAMOTO, T. op. cit., *Laser Surg. Med.* (No prelo)

NICCOLI-FILHO, W. D. et. al. The effect of green helium-neon laser on the healing of extraction wounds: histological study in rats. *Rev. Odontol. UNESP, São Paulo*, v. 22, n. 2, p. 213-221, 1993.

■ **ABSTRACT:** A histological study on healing of extraction wounds following laser irradiation, using a green He-Ne laser, was carried out in rats. The results suggest that this kind of treatment has no significant beneficial effect on bony wound healing. Proliferation of fibroblasts and formation of trabecular osteoid were found to be not more prominent within the irradiated group.

■ **KEYWORDS:** Tooth extraction; lasers; wound healing.

Referências bibliográficas

1. AMLER, M. H. Pathogenesis of disturbed extraction wound. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 31, p. 664-74, 1973.
2. _____. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 27, p. 309-18, 1969.
3. BERNIS, M. W. Lasers in Biomedicine. *Laser Focus*, v. 1, p. 66-71, 1983.
4. BOGATOV, V. V., DAVYDOV, B. N., SOLO, V. A. Regeneration of bone tissue after laser osteotomy of mandible. *Stomatologiya*, Mosk, v. 62, p. 12-4, 1983.
5. BOSATRA, M. et al. In vivo fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy. *Dermatologica*, v. 168, p. 157-62, 1984.
6. BRUNNER, R. et al. Applications of laser light of low power density. Experimental and clinical investigations. *Curr. Probl. Dermatol.*, v. 15, p. 111-6, 1986.
7. CARVALHO, A. C. P., OKAMOTO, T. Estudo preliminar sobre os efeitos da prednisolona no processo de reparo em feridas de extração dental: Estudo histológico em ratos. *Ars Cvrandi Odontol.*, v. 8, p. 60-3, 1981.
8. CONWAY, H. Principles of wound healing with indication for use on several types of skin grafts. *Surg. Clin. North Am.*, v. 32, p. 419-44, 1952.
9. EULER, H. Die heilung von extraktionswunden. *Dt. Mschr. Zahnheilk.*, v. 41, p. 685-9, 1923.
10. GOUSUEN, L. C. et al. Processo de reparo em feridas de extração dental após tiroparatiroidectomia: Estudo histológico em ratos. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, v. 5, p. 229-35, 1972.
11. GRANDINI, S. A., MIGLIORINI, R. H., OKAMOTO, T. Processo de reparo em feridas de extração dental em ratos com diabete aloxânico (estudo histológico). *Bol. Fac. Farm. Odontol. Ribeirão Preto*, v. 7, p. 41-71, 1970.
12. JAGGER, J. apud: WOLBARSHT, M. L. *Laser application in medicine and biology*. New York: Plenum, 1971. v. 1, p. 67.
13. JAVAN, A., BANNET, W. B., HERRIOTT, T. R. appud: GOLDMAN, L. *Biomedical aspects of laser*. New York: Springer-Verlag, 1967, p. 2.
14. KARU, T. I. Photobiology of lower-power laser effects. *Health Phys.*, v. 56, p. 691-704, 1989.

15. LABBE, R. F., RETTMER, R. L., DAVIS, H. A. Low power laser stimulation of biochemical process. *SPIE*, v. 908, p. 155-8, 1988.
16. LABBE, R. F. et al. Laser photobioactivation mechanisms: *in vitro* studies using ascorbic acid uptake and hydroxiprolinone formation as biochemical markers of irradiation response. *Laser Surg. Med.*, v. 10, p. 201-7, 1990.
17. LINDNER, I. Die morphology der wundheilung longenbecks. *Arch. Klin. Chir.*, v. 301, p. 39-70, 1962.
18. MESTER, E., YASZSAGI-NAGY, E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen synthesis. *Stud. Biophys.*, v. 35, p. 227-30, 1973.
19. OKAMOTO, T. *Estudo histoquímico da reatividade do tecido conjuntivo alveolar após extrações dentais*. Araçatuba, 1964. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba.
20. OKAMOTO, T., RUSSO, M. C. Wound healing following tooth extraction: histochemical study in rats. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 2, p. 153-69, 1973.
21. OKAMOTO, T. et al. Implante de Boplant em alvéolos dentais: estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 3, p. 13-21, 1974.
22. PASSI, P., TERRIBLE, W. M., MIOTTI, F. Glieffetti della luce laser 904 nm su lesione indotte nella mandibola del ratto. *Riv. Ital. Stomatol.*, v. 53, p. 449-56, 1984.
23. RUSSO, M. C., OKAMOTO, T., SANTOS-PINTO, R. Parathormone effect on the healing of extractions wounds in rat: histological study. *Bull. Tokio Dent. Coll.*, v. 10, p. 12-8, 1969.
24. SANCHES, M. G., OKAMOTO, T., CARVALHO, A. C. P. Processo de reparo em feridas de extração dental após implante de "osso anorgânico": estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba*, v. 26, p. 125-8, 1972.
25. SHAWLOW, A. L., TOWNES, C. H. He-Ne Laser. *Phys. Rev.*, v. 112, p. 1940-5, 1958.
26. TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v. 17, p. 338-91, 1988.
27. VERHULST, J., VERHULST, D. Le laser in otholaryngologie. *Rev. Laryngol. Otol. Rhinol.*, v. 100, p. 247-58, 1979.
28. WILDER-SMITH, P. The soft laser: therapeutic tool or popular placebo? *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 66, p. 654-8, 1988.

Recebido em 9.2.1993.