



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA MECÂNICA

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE
LESÕES, TRATADAS COM LASER DE BAIXA
INTENSIDADE, ATRAVÉS DE SISTEMA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DE IMAGEM

Renato Mendes Almeida

Belo Horizonte, 01 de setembro de 2006

Renato Mendes Almeida

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE
LESÕES, TRATADAS COM LASER DE BAIXA
INTENSIDADE, ATRAVÉS DE SISTEMA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DE IMAGEM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Área de concentração: Calor e Fluidos – Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. Roberto Márcio de Andrade (UFMG)

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Pinotti Barbosa (UFMG)

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2006

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela graça da existência.

Ao meu pai João Mendes Pereira (*in memórian*), pelo exemplo de vida; à minha mãe Maria Almeida e Silva, que me ilumina em todos os momentos. Seus exemplos de honestidade, amor, carinho e dedicação edificaram a minha trajetória como pessoa, estudante e profissional. À eles dedico este trabalho.

Aos meus irmãos, pelo apoio e incentivo constantes, pela união que nos move e fortalece, juntamente aos meus cunhados e sobrinhos.

À minha avó Tereza e madrinha Julieta pelo orgulho e amor demonstrados.

À Maria Fernanda pelo amor, carinho e incentivos constantes.

Ao professor orientador Dr. Roberto Márcio, grande figura humana, pelo acolhimento, ajuda e cordialidade. Um Grande Mestre.

Ao professor co-orientador Dr. Marcos Pinotti, pelas orientações e conhecimentos transmitidos.

Ao médico veterinário Prof. Luiz Fernando pela troca de informações e apóio na fase experimental.

Aos meus colegas de trabalho pela amizade, compreensão e colaboração.

Ao Jean Mendes pela amizade e hospitalidade.

“O mestre não é aquele que sempre ensina, mas quem de repente aprende”.

Guimarães Rosa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS
LISTA DE TABELAS
LISTA DE FIGURAS
LISTA GRÁFICOS
LISTA DE QUADROS
RESUMO
ABSTRACT

1 – INTRODUÇÃO.....	15
1.1 - Objetivo Geral	17
1.2 - Objetivos Específicos.....	17
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 – Feridas.....	18
2.2 – Queimaduras.....	19
2.3 – Cicatrização.....	20
2.4 – Terapias Convencionais.....	24
2.5 – Laser.....	27
2.5.1 - Interação do laser com os tecidos vivos.....	30
2.5.2 - Efeitos do Laser na Cicatrização.....	31
2.6 – Sistema de Medição.....	36
2.7 - Imagem Digital.....	38
3 - METODOLOGIA	41
3.1 - Procedimento experimental.....	41
3.2 - Calibração do Sistema de Medição.....	51
3.2.1 Calibração do Paquímetro.....	51
3.2.2 Calibração da Imagem.....	51
3.3 Tratamento da Imagem para Cálculo da Área da Lesão.....	53
4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	55
4.1- Método Estatístico.....	56
4.2 - Resultados das análises.....	58
4.2.1 - Análise Pela Técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens.....	58
4.2.1.1 - Imagem - Grupo Controle x Grupo Bilateral.....	58
4.2.1.2 - Imagem - Grupo Unilateral: Esquerdo x Direito	60

4.2.1.3 - Imagem - Grupo Controle x unilateral direito.....	62
4.2.2 - Análise Pela Técnica do Paquímetro.....	64
4.2.2.1 – Paquímetro - Grupo Controle x Grupo Bilateral.....	64
4.2.2.2 - Paquímetro – Grupo unilateral: Esquerdo x Direito.....	65
4.2.2.3 – Paquímetro - Grupo Controle x Unilateral Direito.....	67
4.2.3 - Análise Metrológica.....	69
4.2.3.1 - Resultados da análise: Área Paquímetro x Área Imagem.....	69
4.2.4 - Avaliação da Taxa de Cicatrização.....	76
4.3 – Discussões.....	81
5 – CONCLUSÕES.....	84
5.1 - Trabalhos Futuros.....	85
REFERÊNCIAS.....	86
ANEXOS.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATP – Adenosina trifosfato

Ca – Cálcio

Cm – Centímetro

g – Grama

GaAlAs - Arseneto de Gálio-Alumínio

HeNe – Hélio-neônio

J - Joules

J/cm² - Joules por centímetro quadrado

K - Potássio

LILT – Low Intensity laser therapy

ml – mililitro

mm – milímetro

mW - miliwatt

N^o - número

Nm – Nanômetro

S – Área

SM – Sistema de medição

UTS - unidade de tratamento do sinal

W - watts

W/cm² - watts por centímetro quadrado

λ - Comprimento de onda

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Imagem – Controle x Bilateral.....	59
TABELA 2: Imagem – Grupo Unilateral: Lesão Esquerda x Lesão Direita.....	61
TABELA 3: Imagem – Controle x Unilateral direito.....	62
TABELA 4: Paquímetro – Grupo Controle x Grupo Bilateral.....	64
TABELA 5: Paquímetro – Grupo Unilateral: Lesão Esquerda x Lesão Direita.....	66
TABELA 6: Paquímetro – Grupo Controle x Lesões Direitas do Grupo Unilateral.....	68
TABELA 7: Paquímetro x Imagem.....	69
TABELA 8: Taxa de cicatrização dos Grupos Controle e Bilateral.....	76
TABELA 9: Taxa Média por fase nos Grupos Controle e Bilateral.....	77
TABELA 10: Taxa de cicatrização no Grupo Unilateral Direito e Esquerdo.....	78
TABELA 11: Taxa Média de por fase no Grupo Unilateral Direito e Esquerdo.....	79
TABELA 12: Taxa de cicatrização no Grupo Unilateral Direito e Controle.....	80
TABELA 13: Taxa Média por fase no Grupo Unilateral Direito e Controle.....	81

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Pele humana.....	18
FIGURA 2: Modelo de KARU modificado por SMITH. Ação foto-química do laser visível na cadeia redox da mitocôndria e Ação foto-física do laser infravermelho na membrana celular.....	29
FIGURA 3: Sistema Generalizado de Medição.....	36
FIGURA 4: Realização de tricotomia.....	42
FIGURA 5: Bastão utilizado para produzir a lesão.....	42
FIGURA 6: O bastão sendo resfriado em Nitrogênio líquido.....	43
FIGURA 7: Aplicação do bastão no dorso do animal por 1 minuto.....	43
FIGURA 8: Identificação do animal.....	44
FIGURA 9: Aspecto inicial das lesões.....	45
FIGURA 10: Aspecto da lesão após 1 hora.....	45
FIGURA 11: Aparelho de laser utilizado.....	46
FIGURA 12: Medida horizontal (a) e transversal com paquímetro (b).....	47
FIGURA 13: Equipamento para padronização das fotos.....	48
FIGURA 14: Molde de papel individualizado para cada animal.....	48
FIGURA 15: Posicionamento do rato para realização das fotos.....	48
FIGURA 16: Padronização do registro da imagem.....	49
FIGURA 17: Vista frontal e superior do registro da imagem.....	50
FIGURA 18: Aplicação do laser.....	50
FIGURA 19: Bancada geral: Paquímetro, equipamento para registro da imagem, Aparelho de laser, tesoura, seringa, anestésico e óculos de proteção.....	51
FIGURA 20: Imagem do Bloco Padrão de 100mm.....	52
FIGURA 21: Processo de tratamento de imagem para cálculo das dimensões de um pixel (imagem escala de cinza e binarizada).....	53
FIGURA 22: Tratamento da imagem para cálculo da área da lesão. Imagem colorida, em escala de cinza Binarizada.....	54
FIGURA 23: Ferida com crosta bem definida (a), e após a sua binarização (b).....	72
FIGURA 24: Medida Transversal (a) e horizontal (b) com Paquímetro.....	72

FIGURA 25: Delimitação da lesão após binarização, e evidência da área com aspecto de uma elipse.....	73
FIGURA 26: Ferida com aspecto irregular (a), a após sua binarização (b).....	74
FIGURA 27: Medida Transversal (a) e horizontal (b) com Paquímetro.....	74
FIGURA 28: Delimitação da lesão após binarização, e tracejado de linha retratando possível área, erroneamente, calculada pela técnica do paquímetro.....	75

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: Imagem - Evolução da Cicatrização nos Grupos Controle e Bilateral.....	60
GRAFICO 2: Imagem - Evolução de Cicatrização das Lesões Esquerdas e Direitas do Grupo Unilateral.....	61
GRÁFICO 3: Imagem - Evolução de cicatrização no Grupo Controle e nas Lesões Direitas do Grupo Unilateral.....	63
GRÁFICO 4: Paquímetro - Evolução de cicatrização no Grupo Controle e no Bilateral.....	65
GRÁFICO 5: Paquímetro - Evolução de cicatrização nas Lesões Esquerdas e Direitas do Grupo Unilateral.....	67
GRÁFICO 6: Paquímetro - Evolução de cicatrização no Grupo Controle e nas Lesões Direitas do Grupo Unilateral.....	68
GRÁFICO 7: Evolução da cicatrização pela Técnica Paquímetro e pela Técnica de Aquisição e Tratamento de Imagem.....	70

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: Substâncias utilizadas como curativos de feridas.....	25
---	----

RESUMO

A cicatrização de feridas é um processo complexo e dinâmico caracterizada por uma seqüência de respostas de diversas células como epiteliais, inflamatórias, plaquetas e fibroblastos, que interagem para o restabelecimento da integridade dos tecidos. Este processo tem início logo após a ocorrência da lesão com um estágio de inflamação, seguido por granulação e finalmente por epitelização. Diversas terapias são empregadas para auxiliar e acelerar o processo de cicatrização, como uso de curativos de plantas naturais, anti-sépticos, ultra-som, correntes galvânicas, laser etc. O processo de evolução da cicatrização de feridas é, geralmente, medido pela redução da lesão com o auxílio de paquímetro. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência do laser de baixa intensidade na cicatrização de feridas em ratos, através de análise de redução de lesão com auxílio de um paquímetro e de um sistema de aquisição e tratamento de imagens. Para o experimento foram utilizados 30 ratos *Wistar* divididos em 3 grupos A, B, e C, de 10 ratos cada. Em todos os ratos foram realizadas duas lesões (direita e esquerda, no dorso). O Grupo A recebeu tratamento à Laser visível em baixa intensidade, bilateralmente, ou seja, nas duas lesões. O Grupo B recebeu tratamento à Laser visível em baixa intensidade, unilateralmente, ou seja, somente na lesão esquerda. O Grupo C (Controle) não recebeu nenhum tipo de tratamento, tendo sua evolução de cicatrização natural. As lesões padronizadas foram provocadas por um bastão cilíndrico de aço inoxidável com 10 cm de comprimento e 12 mm de diâmetro, resfriado em Nitrogênio líquido por 10 minutos e posteriormente aplicado no dorso do rato por 1 minuto. A análise de redução da lesão com paquímetro foi feita pela medida linear dos eixos transversal e horizontal da lesão e posterior cálculo da área, equivalente a uma elipse. Para a técnica de aquisição e tratamento de imagens foram realizadas fotos com uma câmera digital a uma distância padronizada entre o dorso do rato até a máquina, para todos os ratos. Após aquisição, foi feito um tratamento das imagens por meio de um programa que avaliou o processo de redução da lesão pelo cálculo da área em função do número de pixels. Após a análise comparativa de resultados, ficou evidenciado que o grupo tratado com laser bilateralmente teve uma aceleração no processo de cicatrização quando comparado com o grupo controle. Enquanto no grupo B, as lesões esquerdas tratadas com laser tiveram um processo de cicatrização parecido com o das lesões direitas não tratadas, o que parece indicar um efeito sistêmico da luz laser, já que essas lesões direitas não tratadas do grupo B cicatrizaram mais rapidamente do que as lesões do grupo controle. Observou-se também que o sistema de avaliação do processo de cicatrização pela técnica de aquisição e tratamento de imagem no visível, garante maior confiabilidade metrológica para controle do processo.

Palavras-chave: Ferida; Cicatrização; Terapia Laser em baixa intensidade (LILT); Efeito sistêmico do laser; Sistema de aquisição e tratamento de imagem.

ABSTRACT

Wound healing is a complex dynamic process characterized as a sequence of responses from several types of cells (epithelial, inflammatory, blood platelet, and fibroblasts) that interact to restore tissue complexion. It starts right after occurring an injury with an inflammatory stage, which is followed by granulation and, finally, by epithelization. Several therapies are proposed to help and accelerate the healing process such as the use of natural plant bandaging, use of antiseptics, ultrasonic waves, galvanic currents, hyperbaric chambers, laser beam, etc. The evolution process of wound healing is usually measured through the lesion reduction evolution with the use of pachymeters. This study was carried out in order to evaluate the efficiency of low-intensity laser on wound healing in mice through the analysis of lesion reduction with the aid of a pachymeter and of a system of acquisition and images treatment. Thirty Wistar mice were used for this trial; they were divided into 3 groups (A, B, and C), each one with 10 mice. All of them underwent two lesions on both sides of their backs (right and left). Group A got a visible low-intensity laser treatment, bilaterally, i.e. on both lesions. Group B got a visible low-intensity laser treatment, unilaterally, i.e. only one on the left side. Group C (control group) did not get any kind of treatment, having a natural evolution of the healing process. The standardized lesions were accomplished by using a cylindrical inoxidable steal staff with 10 cm long and 12 mm diameter, that was cooled into liquid nitrogen for 10 minutes, and then used to bruise the back of the mouse for a minute. The analysis of lesion reduction with a pachymeter was done by the transversal and horizontal linear measures of the lesion and subsequent calculus of its area. For attaining the technique of acquisition and images treatment photos were taken with a digital camera at a standard distance from the camera to the back of the animals. In the sequence, the treatment of images was carried out by software that evaluated the process of lesion reduction by calculating the area according to the number of pixels. After comparative analysis of the results, it was evidenced that the group treated with the use of laser beam bilaterally had a better acceleration in the healing process when compared with the control group. In Group B, the left lesions that were treated with laser had a healing process similar to the right lesions not treated with it, what seems to indicate a systemic effect of the laser light, since those right lesions not treated of Group B had healed faster than the lesions of the control group. It was also noticed that the system of evaluation of wound healing process through the technique of acquisition and images treatment in the visible mode grants a better metrological reliability for the process control.

Key words: Wound; Wound healing; Low intensity laser therapy (LILT); Systemic effect of the laser; System of acquisition and images treatment.

1 - INTRODUÇÃO

As feridas são conseqüências de uma agressão por agente ao tecido vivo. O tratamento das feridas vem evoluindo desde 3000 anos a.C., quando as feridas hemorrágicas eram tratadas com cauterização. O uso de torniquete é descrito em 400 a.C., enquanto a sutura é documentada desde o terceiro século a.C. Na Idade Média, com o aparecimento da pólvora, os ferimentos tornaram-se mais graves (FERNANDES, 2005).

As grandes descobertas do mundo; o avanço do processo de industrialização; a proliferação das guerras; o crescimento populacional; as descobertas científicas; a variedade de produtos disponíveis e o acelerado ritmo exigido pela vida moderna favoreceram o aumento do número de feridas e queimaduras ocasionadas tanto por negligência quanto por acidentes causados pelos produtos oriundos das novas tecnologias.

O tratamento de feridas deve ser visto como um processo dinâmico já que na abordagem terapêutica devem ser incorporados, permanentemente, os conhecimentos técnico-científicos correlatos. Ao longo da história percebe-se que o tratamento de feridas vem-se modificando de acordo com os conhecimentos adquiridos em cada época. Esta evolução vem desde a pré-história, com registros de aplicação de vários agentes sobre as feridas e, na atualidade, os tratamentos têm bases científicas que levam em consideração a fisiopatologia, fatores extrínsecos e intrínsecos à ferida com a utilização de um arsenal farmacológico e de equipamentos aperfeiçoados por modernas tecnologias (NOVATO, CARVALHO, 2000).

Diversas terapias são apresentadas na literatura para o tratamento de feridas, como o uso de plantas medicinais (EURIDES, 1996; OLIVEIRA, 2001); de microcorrentes (STEFFANI et al, 2006); de ácido hialurônico (MEDEIROS, 1999); de curativos e enzimas como a papaína (FERNANDES, 2005) e de açúcar (GALEGO, SILVEIRA, D'ACAMPORA, 1997; PRATA, HADDAD, GOLDENBERG et al, 1988).

Dentre as várias terapias propostas para o tratamento de feridas e de queimaduras, destaca-se o laser de baixa intensidade, cuja utilização possibilita a aceleração do processo de cicatrização (MESTER *et al*, 1971; KANA *et al*, 1981; TSUCHIDA *et al*, 1991; FERNANDO, HILL, WALKER, 1993; ZHANG, 1994; SIMUNOVIC *et al*, 2000; LAGAN *et al*, 2000; AMORIN, 2001; NÚÑEZ, 2002; CARVALHO, 2003; PUGLIESE, 2003; RIBEIRO, 2004).

Um dos grandes avanços da ciência, nas últimas décadas foi o desenvolvimento dos aparelhos de laser. A aplicação dos diferentes tipos de lasers possibilitou alterações

importantes nos procedimentos médicos e odontológicos. Estas alterações vão desde a redução do tempo de duração das cirurgias quanto do tempo de recuperação dos pacientes; à redução nas complicações pós-operatórias e nos edemas; ao maior controle e domínio das dores crônicas e, ainda, facilita a biomodulação dos tecidos moles.

A interação do laser com os tecidos depende não só do comprimento de onda da luz, mas também das propriedades ópticas dos tecidos, já que certos elementos de tecidos, a exemplo de células, mitocôndrias e vasos, podem provocar a dispersão da luz. O feixe de luz ao incidir sobre os tecidos ou penetra-os ou é refletido. Ao ocorrer sua penetração decorrem os seguintes processos, quais sejam: a) a luz é absorvida; b) a luz atravessa o tecido sem produzir nenhuma reação (transmissão colimada) ou, c) sofre espalhamento (muda de direção).

Diversos resultados de estudos sobre os efeitos desse tipo de terapia tanto em clínica humana, quanto em animais ou *in vitro* foram publicados fundamentando, em sua maioria, a teoria de que a regeneração tissular e a cicatrização de feridas são favorecidas quando tratadas com laser de baixa potência.

Alguns estudos refletiam casos pontuais ou experiência de clínicos cuja casuística apresentada era pequena, pouco significativa, e metodologia de pouca qualidade científica e, portanto, passível de contestação. O avanço das pesquisas inclusive quanto à metodologia empregada, com estudos duplo cego e em longo prazo, permitiu melhoria na qualidade dos trabalhos e a conseqüente evolução na confiabilidade dos resultados.

Alguns estudos com o laser de baixa intensidade demonstram que ele pode produzir efeitos em outras partes do corpo além do local onde o tecido é irradiado caracterizando o efeito sistêmico. Este efeito pode ser justificado pelo fato de que células do tecido irradiado produzem substâncias que se espalham e circulam nos vasos sanguíneos e no sistema linfático. Entretanto, efeitos sistêmicos associados ao LILT ainda não estão claros. Há trabalhos na literatura que demonstram resultados positivos estatisticamente significantes nos grupos irradiados, quando comparados ao grupo controle, mesmo quando o controle situa-se no próprio animal ou no indivíduo tratado (RIBEIRO, ZECELL, 2004).

Um estudo de ROCHKIND et al. (1989) sobre os efeitos sistêmicos do laser de He-Ne foi realizado utilizando três modelos experimentais em ratos de acordo com tipos de lesões: feridas cutâneas, queimaduras e injúrias nos sistemas nervoso periférico e central. Para cada um dos modelos foram divididos dois grupos cujos animais receberam duas feridas, uma de cada lado da espinha dorsal. Um dos grupos, definido como o grupo controle, não recebeu irradiação laser e o outro grupo recebeu irradiação apenas em uma das feridas. Foi analisada a

evolução da cicatrização das lesões. Ambas feridas, irradiada e não irradiada do mesmo grupo, foram curadas em tempo significativamente inferior quando comparadas ao grupo controle não irradiado e não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, atestando com isto, a ocorrência do efeito sistêmico. Estes resultados foram observados em todos os tipos de lesões. Os mesmos autores descreveram os efeitos positivos do laser de baixa intensidade e sua persistência em longo prazo.

Apesar dos muitos estudos realizados sobre a efetiva participação da luz laser nos processos de reparação tecidual, muito há, ainda, o que se descobrir em relação à dosagem, tipo de aparelho, indicações e mecanismo de ação local e o efeito sistêmico dessa terapia. Resultados contraditórios ainda persistem tornando necessária a continuação desses estudos em busca de explicações mais objetivas sobre como o laser pode influenciar o tecido biológico, que absorve a energia localmente, a promover reações gerais no organismo.

1.1- Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral analisar o efeito do laser em baixa intensidade no processo de cicatrização de feridas, visando comprovar se a absorção da luz pelo organismo promove aceleração da reparação tecidual.

1.2- Objetivos Específicos

Os objetivos específicos são:

- Atestar o efeito sistêmico do laser em baixa intensidade que se traduz na possibilidade de a energia depositada em um local específico promover reação em outro local no mesmo organismo.

- Promover uma análise metrológica com comparação das técnicas de medição das lesões. Como o Paquímetro é a técnica tradicionalmente utilizada, o estudo propôs a sua utilização e, para maior confiabilidade dos resultados, propôs também adotar o sistema de Aquisição e Tratamento de Imagem, a fim de promover uma análise comparativa quanto à eficiência metrológica.

- Avaliar o efeito do laser em baixa intensidade na Taxa de cicatrização, ao longo do tempo.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Feridas

Em termos anatômicos, a pele é subdividida em epiderme e derme (FIG.1). A epiderme, histologicamente constituída das camadas basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea, é um importante órgão sensorial. Na derme, encontram-se os vasos sanguíneos, linfáticos, folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas, pelos e terminações nervosas, além de células como: fibroblastos, mastócitos, monócitos, macrófagos e plasmócitos, dentre outros (FERNANDES, 2005).

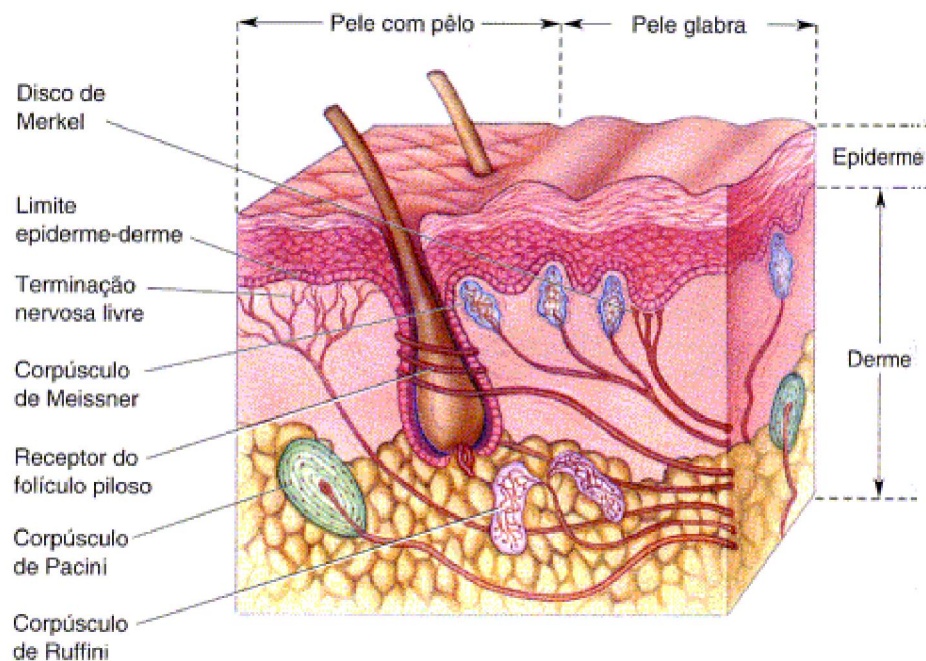


FIGURA 1: Pele humana. Disponível em www.afh.bio.br/tegumentar/tegumentar.asp.

Uma ferida é representada pela interrupção da continuidade de um tecido corpóreo, em maior ou em menor extensão, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica, que aciona as frentes de defesa orgânica para o contra-ataque (BLANES, 2004).

Os procedimentos no tratamento de feridas vêm sendo registrados desde os tempos antigos pelos egípcios e gregos. O registro mais antigo é o Papiro de Luxor de Edwin Smith,

datado de 1700 a.C., que constitui cópia de um manuscrito de 3.000 a 2.500 a.C. Isso significa que o cuidado com feridas vem de 5000 anos atrás. Há registros de que na pré-história vários agentes como extratos de plantas, água, neve, gelo, frutas, lamas e graxa eram aplicados sobre feridas. No início da era Cristã um cirurgião hindu, Sushruta, descreveu 14 tipos de curativos feitos de seda, linho, lã e algodão dando ênfase à importância da limpeza da ferida. O avanço da química nos séculos XVII e XVIII possibilitou a descoberta de compostos como cloro, iodo, mercúrio, ácido carbólico e ácido fólico; este último usado por Lister em 1867 como antisséptico e também para cicatrizar ferimentos sem supuração. A partir do século XX, surgiram vários preparados para uso tópico destinados a tratar as feridas, visando não apenas um melhor tratamento, mas também uma melhor compreensão do processo de cicatrização. O avanço mais significativo foi a introdução das pomadas de corticóides além de cremes e pomadas antibacterianas contendo penicilina e sulfas (NOVATO, CARVALHO, 2000).

Ao longo do tempo vários estudos foram desenvolvidos para o tratamento de feridas e, em consequência, novas alternativas foram apresentadas. Nessa sucessão de estudos algumas alternativas foram descartadas enquanto outras foram desenvolvidas ou aperfeiçoadas, o que aponta a existência de contradições e lacunas nessa área específica do conhecimento a serem ainda sanadas ou preenchidas (GOMES, CARVALHO, 2002).

Em consequência à busca do conhecimento quanto à fisiopatologia das feridas para melhor adequação do tratamento, surgiram pesquisas demonstrando que o laser de baixa intensidade atua como acelerador do processo de reparo de feridas, com efeitos analgésicos, antiinflamatórios e de regeneração tecidual.

Dentre as diversas formas de feridas: perfurações, escoriações, queimaduras, equimoses, hematomas, este trabalho propõe experimentar a terapia de aplicação de laser de baixa intensidade em feridas do tipo queimaduras.

2.2 – Queimaduras

Para MENEZES e SILVA (1988), queimadura é uma lesão causada por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos que agem no tecido de revestimento do corpo humano, podendo destruir parcial ou totalmente a pele e seus anexos, até as camadas mais profundas como tecidos subcutâneos, músculos, tendão e ossos.

No entendimento de JUNIOR (1990), as queimaduras são lesões dos tecidos orgânicos produzidas por um trauma de origem térmica. A injúria determinada por este trauma, assume variadas proporções dependendo do tempo de exposição, da extensão da área

lesada e do agente causal enquanto as conseqüências se estendem desde um simples cuidado com a área atingida, em tratamento ambulatorial, até a morte.

As queimaduras são classificadas de acordo com o grau da lesão em queimaduras de primeiro, segundo, terceiro e quarto graus.

A queimadura de primeiro grau é considerada quando a parte externa da epiderme é o local acometido pelo traumatismo e as lesões celulares. Devido à avascularização da epiderme não há sangramento, mas apenas uma reação eritematosa decorrente de irritação da derme subjacente. Geralmente ocorre leve reação inflamatória o que provoca sinal de dor ao toque. Nela não ocorre a formação de bolhas e a cicatrização acontece entre 2 a 5 dias. Há descamação da epiderme externa (O'SULLIVAN, 1993).

BEHRMAN (1994) define a queimadura de segundo grau como sendo aquela em que o epitélio e parte do cório são destruídos e, em relação à profundidade ele a sub-classifica como queimaduras de espessura parcial superficial ou profunda. E, a menos que existam condições ótimas para a manutenção dos elementos dérmicos e apêndices epidérmicos, as queimaduras de espessura parcial profundas podem converter-se em necrose de espessura total.

Já na queimadura de terceiro grau verifica-se lesão de toda a espessura da derme ocorrendo a resolução apenas pelo crescimento epitelial a partir das bordas da ferida ou por enxerto de pele das áreas não queimadas do corpo (BEHRMAN, 1994).

A queimadura de quarto grau é definida como aquela que estende aos tecidos subjacentes como a gordura subcutânea, fáscia, músculo ou osso. E, para o fechamento das feridas, além do enxerto cutâneo pode se fazer necessário à implantação de retalhos locais ou regionais para cobertura definitiva (BEHRMAN, 1994).

2.3 - Cicatrização

Após ocorrer a lesão a um tecido, imediatamente iniciam-se fenômenos dinâmicos conhecidos como cicatrização, que é uma seqüência de respostas dos mais variados tipos de células (epiteliais, inflamatórias, plaquetas e fibroblastos), que interagem para o restabelecimento da integridade dos tecidos. Mas, o processo de reparação tissular compreende não só o mecanismo de restauração dos tecidos denominado cicatrização, mas, também, o de regeneração celular que ocorre com reposição tissular "original". Nesta, o trauma inicial gera uma resposta inflamatória aguda, manifestada através de edema e formação de exsudato seroso rico em leucócitos, que cessa em menos de 24 horas.

Posteriormente, as células epidérmicas das margens da ferida e das invaginações epidérmicas dos folículos pilosos e glândulas sudoríparas e sebáceas começam a proliferar e migrar no leito da ferida ocluindo, rapidamente, sua superfície.

O tipo de lesão também possui importância no tipo de reparação. Assim, em uma ferida cirúrgica limpa, há necessidade de mínima quantidade de tecido novo, enquanto que, em uma grande queimadura, há necessidade de todos os recursos orgânicos para cicatrização e defesa contra uma infecção.

O processo de cicatrização de feridas é composto de uma série de estágios complexos, interdependentes e simultâneos (BLANES, 2004). Estes estágios são descritos em fases como: inflamatória, epitelização, celular e fibroplasia (FERNANDES, 2005).

Na fase inflamatória, de grande importância para o processo de cicatrização, inicialmente, ocorre vaso-constricção fugaz seguida de vaso-dilatação, que é mediada principalmente pela histamina, liberada por mastócitos, granulócitos e plaquetas com aumento da permeabilidade e extravasamento de plasma. Essa fase possui duração efêmera de mais ou menos 30 minutos, sendo a continuidade da vasodilatação de responsabilidade de prostaglandinas.

Nos vasos próximos à inflamação ocorrem fenômenos de coagulação pela formação de trombos que auxiliam a proliferação de fibroblastos. Alguns mediadores químicos são liberados e estimulam a migração de células inflamatórias como monócitos, neutrófilos, fibroblastos e células musculares lisas, ocorrendo também produção de collagenase pelos fibroblastos.

Enquanto a fase inflamatória ocorre na profundidade da lesão, a fase de epitelização ocorre nas bordas da ferida. Em cerca de 24 a 48 horas, toda a superfície da lesão fica recoberta por células superficiais que com o passar dos dias, sofrem fenômenos de queratinização.

Já na fase celular, aproximadamente, no terceiro e quarto dias após a lesão, ocorre a proliferação de fibroblastos originários de células mesenquimais que se tornam predominantes por volta do décimo dia. Essas células agem na secreção de colágeno, matriz da cicatrização, e formam feixes espessos de actina. O colágeno é responsável pela força e integridade dos tecidos.

A fase de fibroplasia caracteriza-se pela presença de colágeno, proteína insolúvel, sendo composta, principalmente, de glicina, prolina e hidroxiprolina. Para sua formação requer enzimas específicas que exigem co-fatores como oxigênio, ferro, ácido ascórbico, daí suas deficiências levarem ao retardo da cicatrização. São os feixes de colágeno que originam

uma estrutura densa e consistente que é a cicatriz. As feridas adquirem resistência constante, por até quatro meses, porém sem nunca adquirir a mesma resistência do tecido original.

Esta fase de fibroplasia não tem um final definido, sendo que as cicatrizes continuam modelando-se por meses e anos tendo como responsável a enzima colagenase. Esta ação é importante para impedir a cicatrização excessiva que se traduz pelo quelóide.

OLIVEIRA *et al.* (2001) relataram que a presença da crosta na ferida favorece o processo de cicatrização. Entretanto, observaram que em experimento realizado com óleo de copaíba, as crostas fibrinoleucocitárias das feridas dos animais foram facilmente removidas no sétimo dia de pós-operatório, permitindo que o medicamento atuasse diretamente sobre as feridas, o que possibilitou melhor avaliação dos aspectos morfológicos e morfométricos.

Nas feridas abertas (não suturadas) ocorre a formação de um tecido granular fino, vermelho, macio e sensível, chamado de granulação, em cerca de 12 a 24 horas após o trauma. Neste tipo de tecido ocorre um fato importante, promovido pelos miofibroblastos que é o fenômeno da contração, sendo que neste caso, não há a produção de uma nova pele para recobrir o defeito. A contração é máxima nas feridas abertas, podendo ser, por vezes, patológica, ocasionando deformidades e prejuízos funcionais, os quais poderão ser evitados com um enxerto de pele. Esse fenômeno pode ser reduzido através de excisões repetidas das bordas das feridas e se diferencia da retração que é um fenômeno tardio que ocorre, principalmente, nas queimaduras e em regiões de dobra de pele (FERNANDES, 2005).

A cicatrização de feridas pode ocorrer por primeira, segunda e terceira intenções. Na primeira intenção não há perda de tecido e as extremidades da pele ficam justapostas uma à outra. Já na segunda intenção, que ocorre em feridas onde há perda de tecido e as extremidades da pele ficam distantes umas das outras, é necessária formação de tecido de granulação até que a contração e epitelização aconteçam. Na terceira intenção, a ferida que é deixada aberta por um determinado período, funciona como cicatrização por segunda intenção, que após ser suturada permite cicatrização à semelhança da primeira intenção. Este procedimento é empregado geralmente nas feridas cirúrgicas com infecção (BLANES, 2004).

Há que ressaltar a existência de fatores que interferem na evolução natural do processo de cicatrização, quais sejam: idade, nutrição, estado imunológico, oxigenação local, drogas utilizadas, quimioterapia, irradiação, tabagismo, hemorragia e tensão na ferida dentre outros.

Essa interferência em relação à idade decorre da diminuição progressiva do colágeno que faz com que os tecidos fiquem cada vez menos flexíveis dependentes também,

de um balanço nutricional adequado, já que é pacífico o entendimento de sua relação com a cicatrização ideal.

No estado imunológico comprometido, a ausência de leucócitos, pelo retardo da fagocitose e da lise de restos celulares, prolonga a fase inflamatória e predispõe à infecção e à deficiência do processo de cicatrização.

Já a interferência da oxigenação se dá pelo fato de que a anóxia leva à síntese de colágeno pouco estável, com formação de fibras de menor força mecânica. Essa síntese do colágeno é diminuída quando da deficiência de insulina, pela diabete e, devido à microangiopatia cutânea, há uma piora na oxigenação o que favorece a ocorrência de infecções das feridas.

As drogas que mais interferem, negativamente, no processo normal de cicatrização são os esteróides, já que o seu efeito anti-inflamatório retarda e altera a cicatrização.

Já a quimioterapia leva à neutropenia que predispõe à infecção; inibe a fase inflamatória inicial da cicatrização e interfere nas mitoses celulares e na síntese protéica enquanto a irradiação leva à arterite obliterante local, com conseqüente hipóxia tecidual, verificando diminuição dos fibroblastos e menor produção de colágeno.

A nicotina por ser um vaso-constritor leva à isquemia tissular, sendo também responsável por uma diminuição de fibroblastos e macrófagos enquanto o monóxido de carbono provoca a diminuição do transporte e do metabolismo do oxigênio daí decorrer a interferência do tabagismo na evolução do processo de cicatrização observando, portanto, cicatrização mais lenta em fumantes.

Dentre as interferências significativas no processo de cicatrização, destacam-se tensões sobre as feridas provocadas por vômitos, tosse e atividade física em demasia e, também, as hemorragias que, pelo acúmulo de sangue, cria espaços mortos que interferem na cicatrização.

Para FERNANDES (2005), a grande complicação das feridas é a sua infecção, sendo que os fatores predisponentes podem ser locais ou gerais. Os locais são: contaminação, presença de corpo estranho, técnica de sutura inadequada, tecido desvitalizado, hematoma e espaço morto enquanto os fatores gerais que contribuem para aumentar este tipo de complicação são: debilidade, idade avançada, obesidade, anemia, choque, grande período de internação hospitalar, tempo cirúrgico elevado e doenças associadas, principalmente o diabetes e doenças imunodepressoras. A hemorragia e a destruição tecidual são outras possíveis complicações.

2.4 Terapias Convencionais

A seguir são citadas apenas algumas das possíveis terapias utilizadas para melhoria da cicatrização de feridas.

Para OLIVEIRA et al. (2001), apesar das recentes descobertas de novas e potentes drogas promovidas, especialmente, pela química sintética e pela biotecnologia, os produtos naturais como plantas e minerais continuam sendo uma grande fonte para obtenção de medicamentos para os mais diversos fins, alguns agentes medicinais comumente usados para o tratamento de várias condições patológicas têm sua origem na medicina popular. Dentre as substâncias naturais mais amplamente utilizadas para cicatrização de feridas cutâneas, destacam-se o mel, a própolis e as folhas de *Aloe Vera*. O autor relata também que resultados positivos foram encontrados em estudos feitos com óleo de copaíba, fibras de batata doce e curcumin.

EURIDES et al (1996) em um estudo para avaliar a reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão, utilizaram a seguinte metodologia: as feridas dos animais foram diariamente avaliadas e mensuradas com auxílio de um paquímetro em períodos estabelecidos. Para determinação das áreas das lesões utilizou-se a equação matemática ($A = \pi.R.r$), onde R corresponde ao raio maior da ferida e r, o menor. Os resultados foram analisados através do teste t de Student fixando $\alpha = 0,05$ ou 5% como nível de rejeição de hipótese de nulidade. A solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman martius*) auxiliou significativamente na reparação de feridas cutâneas de camundongos.

Os curativos são muito utilizados para tratamento de feridas e pode ser definido como todo material colocado diretamente por sobre uma ferida, cujos objetivos são: evitar a contaminação de feridas limpas; facilitar a cicatrização; reduzir a infecção nas lesões contaminadas; absorver secreções; facilitar a drenagem; promover a hemostasia com os curativos compressivos; manter o contato de medicamentos junto à ferida e promover conforto ao paciente (FERNANDES, 2005).

No Quadro 1 são citadas algumas das substâncias mais utilizadas em curativos de feridas abertas e infectadas, especialmente, no que se refere à indicação, mecanismo de ação e maneira de utilização.

QUADRO 1: Substâncias utilizadas como curativos de feridas.

Substâncias	Indicação	Mecanismo de Ação
Papaína: enzima proteolítica extraída do látex da caricapapaya.	Em todo tecido necrótico, particularmente naqueles com crosta.	Ação anti-inflamatória, bactericida e cicatricial; atua como desbridante.
Hidrocolóide: Partículas hidroativas em polímero inerte impermeável.	Lesões não infectadas com ou sem exudato, áreas doadoras e incisões cirurgicas	Promove barreira protetora, isolamento térmico, meio úmido, prevenindo o ressecamento, desbridamento autolítico, granulação e epitelização
Triglicérides de cadeia média: São ácidos graxos essenciais, lipídios insaturados ricos em ácido linoléico	Todos os tipos de lesões infectadas ou não, desde que desbridadas previamente	Promove quimiotaxia para leucócitos, facilita a entrada de fatores de crescimento nas células, promove proliferação e mitose celular, acelerando as fases da cicatrização.
Carvão ativado: curativo consiste em partículas de carvão impregnado com prata	Nas feridas infectadas exudativas	Favorece os princípios físicos de limpeza da ferida e auxilia na diminuição da carga bacteriana que dificulta a cicatrização, reduzindo o exsudato e o odor.
Alginato de cálcio: fibras de não-tecido, impregnadas de alginato de cálcio e sódio, extraídas de alga marinha <i>Laminaria</i>	Nas lesões exudativas com sangramento	Auxilia o desbridamento autolítico; quimiotático para macrófagos e fibroblastos; hemostático (promove agregação plaquetária).
Filme com membrana de poliuretano: película de poliuretano transparente, adesiva e estéril, semipermeáveis	Utilizado para proteção de lesões profundas não infectadas	Agem como barreira à contaminação da ferida; são impermeáveis à água e a outros agentes e permitem visualização direta da ferida e vascularização.

CASTRO (2005) realizou pesquisa bibliográfica objetivando verificar se recursos terapêuticos como a eletroterapia e a termoterapia atuam para qualquer tipo de queimadura, devolvendo ao paciente o aspecto funcional e estético precocemente. Os resultados observados foram: 1-o ultra-som é indicado em áreas que apresentam aderências, com aplicação de doses de $1\text{w}/\text{cm}^2$ a $2\text{w}/\text{cm}^2$ durante 10 minutos, sendo nas primeiras sessões utilizado diariamente e progredindo para dias alternados. 2 - o laser mais indicado é o HeNe com dose de $3\text{J}/\text{cm}^2$, usado pontualmente. 3 - a corrente galvânica é utilizada em pacientes que indicarem lesões nervosas periféricas. 4 - a corrente farádica é utilizada em pacientes que seja necessário hipertrofiar músculo e grupos musculares.

Observa-se que, os recursos termo terapêuticos são utilizados sobre o processo de regeneração tecidual, reiteradamente. O que confirma a eficiência satisfatória desses recursos na recuperação dos pacientes por possibilitar uma rápida melhoria em seu quadro clínico e, conseqüentemente, retorno às suas atividades.

STEFFANI et al. (2005) em trabalho sobre a avaliação dos efeitos do uso de microcorrentes em queimaduras de terceiro grau, em ratos “Wistar”, utilizaram o seguinte modelo de pesquisa: amostra composta por 12 animais que foram subdivididos em dois grupos constituídos por 06 ratos cada. Os ratos do primeiro grupo, após a lesão, receberam estimulação elétrica num total de 15 sessões enquanto os ratos do segundo grupo, também lesionados, não receberam nenhum tratamento.

O tratamento a que fora submetido o primeiro grupo consistiu na utilização de corrente elétrica 5 x por semana, em seções de 15 minutos cada, na forma bipolar - 80 microampéres.

Em análise, o grupo de animais submetidos à terapia por microcorrentes apresentou diminuição do número de microrganismos patogênicos reduzindo assim o processo infeccioso no local da lesão, comparativamente, ao grupo controle. Além disso, a qualidade do tecido cicatricial, no grupo de animais tratados, mostrou-se mais ordenada, evidenciando maior número de fibroblastos, em relação ao grupo controle.

MEDEIROS (1999) investigou a ação tópica do ácido hialurônico em queimaduras de ratos adultos, até a epitelização completa das lesões. O ácido hialurônico, um glicosaminoglicano que ocorre em doses elevadas e por tempo prolongado na matriz extracelular dos tecidos em cicatrização do feto, é o responsável pelo resultado da cicatrização fetal sem marcas residuais e sem contração. Para o estudo foram usados 20 ratos Wistar com peso médio $225 \pm 15\text{g}$, nos quais fora provocada queimadura de 5cm^2 na pele do dorso, sob anestesia com éter sulfúrico. No grupo I (n=10) as queimaduras foram tratadas com aplicação

tópica diária de 1ml de ácido hialurônico 1% e no grupo II (n=10) com 1ml de solução salina 0,9%, até a completa epitelização. O tempo de cicatrização foi de $29 \pm 1,33$ dias no grupo I e $38 \pm 2,58$ no grupo II. A média dos escores histológicos foi de $27,0 \pm 2,78$ no grupo I e de $18,1 \pm 3,66$ no grupo II. As diferenças mostraram-se significantes ($p < 0,05$). A análise do resultado estético revelou maiores deformidades nas cicatrizes do grupo II (controle). Concluiu, então que o ácido hialurônico tópico contribuiu para acelerar o tempo de cicatrização, melhorou a evolução histológica e o resultado estético em queimaduras do dorso de ratos adultos.

PRATA et al. (1988) realizou estudo com objetivo de avaliar o efeito do açúcar aplicado topicamente em ferida cutânea provocada em ratos que foram divididos em dois grupos constituídos por vinte animais cada. O primeiro grupo foi denominado grupo açúcar (A), no qual foi realizado tratamento das feridas com açúcar, colocado em quantidade suficiente para cobri-las totalmente, duas vezes ao dia. No segundo grupo denominado grupo controle (B) as feridas foram tratadas com 1 ml de solução fisiológica, duas vezes ao dia. No 3º, 7º, 14º e 21º dias de pós-operatório as feridas dos animais de ambos os grupos foram analisadas quanto à intensidade de contaminação bacteriana, aspectos macroscópicos, histológicos e histométricos. Os resultados obtidos em relação à intensidade de contaminação bacteriana mostraram que somente no 7º dia de pós-operatório a contaminação foi maior no grupo controle quando comparada ao grupo açúcar. Do ponto de vista histológico, observou-se que o desenvolvimento e maturação do tecido de granulação fizeram-se de forma mais precoce no grupo açúcar. A análise histométrica revelou que fibroblastos e fibras colágenas foram encontrados significativamente aumentados no grupo açúcar em relação ao grupo controle nos dias estudados. Conclui-se que o açúcar foi capaz de estimular o processo de reparação cicatricial em ratos.

2.5 - Laser

Laser é uma abreviação das seguintes palavras: *"light amplification by stimulated emission of radiation"* (amplificação da luz por emissão estimulada de radiação).

A terapia com laser em baixa intensidade tem sido utilizada, atualmente, nos mais diversos campos da medicina como conduta terapêutica da dor. É um tipo de terapia não-invasiva, indolor, não-térmica e asséptica, sem efeitos colaterais, com uma boa relação custo-benefício. Todavia, para que a terapia com laser de baixa intensidade possa surtir efeitos

positivos, é fundamental um correto diagnóstico, assim como um protocolo de aplicação (SANSEVERINO, 2001).

O tratamento que utiliza o *laser* em baixa intensidade não é baseado em aquecimento, ou seja, a energia dos fótons absorvida não será transformada em calor, mas, sim, nos efeitos fotoquímicos, fotofísicos e/ou fotobiológicos nas células e no tecido. De fato, estudos na literatura mostram que este tratamento resulta em aumentos de temperatura inferiores à 1°C. Quando a luz interage com as células ou tecido, se administrada na dose adequada, pode estimular certas funções celulares. Esse efeito é particularmente evidente se a célula tem a sua função debilitada. Trabalhos encontrados na literatura mostram que o LILT tem efeitos mais pronunciados sobre órgãos ou tecidos enfraquecidos, tais como em pacientes que sofrem algum tipo de desordem funcional ou de injúria ao tecido (RIBEIRO; ZECELL, 2004).

Após vários estudos quantitativos serem realizados, KARU (1989) publicou um artigo revisional sobre a fotobiologia dos efeitos da biomodulação *laser* para determinar a ação da luz monocromática visível em baixa intensidade sobre várias células (*Escherichia Coli*, fermentos, células HeLa, fibroblastos de hamsters chineses e linfócitos humanos) e, também, para determinar as condições ideais de irradiação (comprimento de onda, dose e intensidade) que conduz ao estímulo da atividade vital.

Após a aplicação da radiação visível, e conseqüente absorção por um sistema biológico, ocorre uma reação fotoquímica. Tanto a radiação visível como a infravermelha demonstram ser benéficas. Porém elas se diferenciam suas propriedades fotoquímicas e fotofísicas e, por isso mesmo, SMITH (1991) propõe uma modificação do modelo de KARU (1989) para explicar os efeitos produzidos por ambos os comprimentos de onda.

No modelo de Karu a luz visível produz mudanças fotoquímicas nos fotorreceptores das mitocôndrias que alteram o metabolismo, conduzindo à transdução (transferência de energia de um sistema para outro) do sinal a outras partes da célula, inclusive membranas, que finalmente conduzem à foto-resposta. Enquanto a luz visível provavelmente inicia a cascata de eventos na cadeia respiratória das mitocôndrias, por eventos fotoquímicos, Smith sugere que, por causa das propriedades fotofísicas e fotoquímicas, a radiação infravermelha inicia a cascata de eventos metabólicos através de efeitos fotofísicos sobre as membranas (provavelmente nos canais de Ca^{++}), conduzindo à mesma resposta final (RIBEIRO M.S.; ZECELL D.M, 2004).

Os lasers utilizados para bioestimulação estão situados na porção visível do espectro eletromagnético, bem como no infravermelho próximo. Os comprimentos de onda

mais utilizados estão entre 600 e 1000 nm. Estes comprimentos de onda são, relativamente, pouco absorvidos e, conseqüentemente, apresentam uma boa transmissão na pele e nas mucosas (RIGAU, 1996).

Os incrementos de ATP mitocondrial que se produzem após a irradiação com laser favorecem um grande número de reações que interferem no metabolismo celular. Em estados patológicos, o laser interfere no processo de troca iônica acelerando o incremento do ATP (KARU et al.), como mostrado na FIG.2.

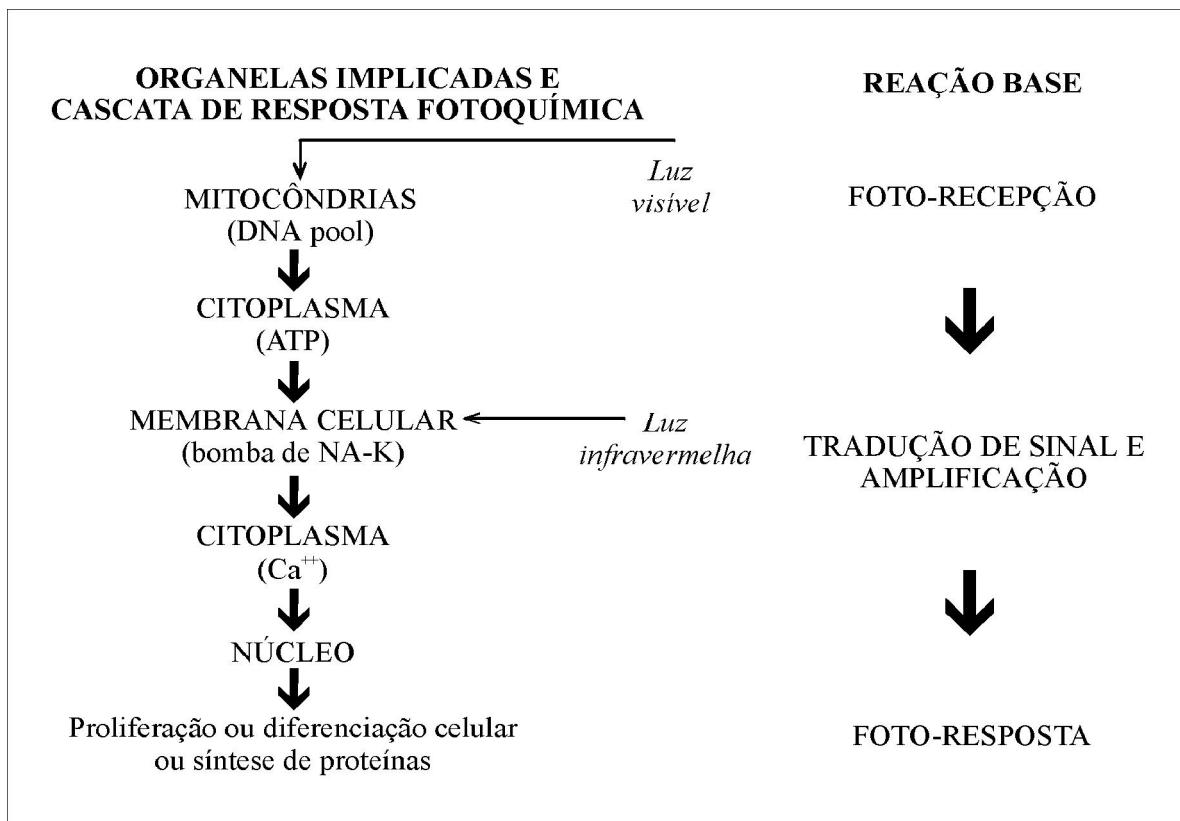


FIGURA 2: Modelo de KARU. Ação foto-química do laser visível na mitocôndria e Ação foto-física do laser infravermelho na membrana celular. Ambos os processos desencadeiam uma resposta celular geradora de reações bioquímicas, em cascata. Fonte: GUTKNECHT, N; EDUARDO, C. P (2004).

A potência do laser é o valor dado pelo fabricante em watts (W). A densidade de potência é a potência de saída de luz por unidade de área medida em watts por centímetro quadrado (W/cm²). A densidade de energia, também chamada de dose, é a grandeza que avalia a possibilidade de estímulo ou inibição dos efeitos do laser. É a quantidade de energia por unidade de área transferida ao tecido. Geralmente é expressa em joules por centímetro quadrado (J/cm²), (RIBEIRO, 2001).

Em 1990, YOUNG et al. estudaram a ação de um diodo laser de As-Ga-Al emitindo em diferentes comprimentos de onda (660, 820 e 870 nm) sobre granulócitos. Os

autores observaram que, quando utilizaram fluências que variaram de 4 a 8 J/cm² ocorria a máxima ativação da bomba de sódio e potássio. Quando utilizaram fluências maiores que isso, acontecia a inibição desse mecanismo. Observaram também que não houve diferença significativa nos resultados encontrados para os diferentes comprimentos de onda utilizados.

2.5.1 - Interação do laser com os tecidos vivos

Os aparelhos laser possuem um determinado meio ativo que, por suas características, produz uma luz de comprimento de onda específico que reage de maneira própria com cada tecido.

Além do comprimento de onda, outros fatores interferem na interação com os tecidos, tais como: densidade de potência; forma de emissão do laser (contínua, pulsátil e desencadeada); tempo de duração da pulsação; raio focado ou desfocado e contato direto ou à distância. Deve-se salientar que as propriedades ópticas de cada tecido, associadas às suas reações moleculares e bioquímicas determinarão a extensão e a natureza da resposta tecidual que ocorre nos processos de absorção, transmissão, reflexão e difusão da luz laser (BRUGNERA JÚNIOR e PINHEIRO, 1998).

A absorção da luz laser pelos tecidos pode resultar em quatro processos, a saber: Fotoquímico; Fototérmico; Fotomecânico e Fotoelétrico, cujos efeitos abaixo descritos são ressaltados por BRUGNERA JÚNIOR e PINHEIRO (1998).

No processo fotoquímico ocorrem vários efeitos: a bioestimulação, a fotodinâmica e a fluorescência.

A bioestimulação consiste no efeito da luz laser sobre processos moleculares e bioquímicos que normalmente ocorrem nos tecidos (cicatrizações e reparo tecidual), enquanto na terapia fotodinâmica o uso terapêutico do laser é associado a um corante com afinidade específica para determinado comprimento de onda que induz reações tissulares e é utilizado no tratamento de processos patológicos. Já a fluorescência tecidual é usada como um método de diagnóstico para detecção de tecidos que refletem a luz.

No processo fototérmico podem ocorrer os seguintes efeitos de fotoablação e fotopirólise. A fotoablação é uma manifestação do efeito fototérmico promovido pelo laser cujo processo se caracteriza pela remoção de tecido por sua vaporização e pelo superaquecimento dos fluidos tissulares, promovendo também, coagulação e hemostasia, enquanto isso, a fotopirólise consiste na queima do tecido por aquecimento.

Nos processos fotomecânicos incluem-se a fotodisrupção e a foto dissociação, que consistem na quebra estrutural do tecido pela luz laser.

Já no processo fotoelétrico inclui-se a fotoplasmólise, que é resultado da remoção tecidual pela formação de íons e partículas carregadas eletricamente e que existem em um estado semi-gasoso de alta energia chamado Plasma. O plasma é considerado o quarto estado da matéria por não ser sólido, nem líquido e nem gasoso.

Há de ser observado que, antes de se iniciar qualquer procedimento clínico com um aparelho laser, deve-se conhecer os mecanismos de interação do laser com os diferentes tipos de tecidos vivos.

2.5.2 - Efeitos do Laser na Cicatrização

Diversos estudos realizados em animais e humanos com laser de baixa potência demonstraram respostas positivas seja na síntese e remodelação de colágeno; seja no número de fibroblastos; no diâmetro e força de tração das feridas tratadas; na viabilidade dos enxertos; na vascularização; na vasodilatação; no sistema linfático; nos efeitos antibacteriano e imunológico e com possíveis efeitos sistêmicos (RIGAU, 1996).

O mais importante efeito do laser de baixa potência sobre a cicatrização de feridas refere-se ao aumento da síntese de colágeno por parte dos fibroblastos, o que foi demonstrado nos experimentos em que essa síntese foi monitorada utilizando microscópio eletrônico para o controle da captação de prolina e glicina tritiada (RIGAU, 1996).

Alguns pesquisadores afirmam que a reação inflamatória aguda, subsequente a uma lesão tecidual, produz um infiltrado leucocitário mais acentuado quando a região é submetida à radiação do laser HeNe (BISHT et al, 1994).

HALL *et al*(1994) realizaram um estudo para avaliar o efeito do laser de GaAIs na cicatrização de feridas em ratos. Para tal utilizou-se de um grupo de ratos onde apenas um lado foi irradiado com o laser, enquanto o grupo controle teve um dos lados exposto à luz normal. O laser foi aplicado diariamente com dose de 0,2 J/cm², até o 21º dia de pós-operatório. Pelas observações clínicas e histológicas semelhantes entre os grupos, concluíram que o uso do laser de GaAIs não produziu resultados significativos.

MESTER *et al*, em 1971, analisaram através de fotografias e estudo histológico os efeitos do laser de rubi com 694,3 nm (luz vermelha) em feridas mecânicas e queimaduras de terceiro grau feitas no dorso de camundongos. O laser foi utilizado com doses de 1,4 e 5

J/cm², duas vezes por semana, num total de seis sessões. Em um dos lados de cada animal foi realizada aplicação do laser enquanto o outro lado serviu como controle. O período avaliado foi de 7 a 14 dias. A dose 1,1 J/cm² se mostrou com melhor efeito na aceleração da cicatrização tanto para as feridas mecânicas quanto para as queimaduras. O autor observou também que no sétimo dia a ferida cirúrgica do lado teste possuía metade do tamanho do lado controle e com 14 dias estava totalmente cicatrizada.

FUKABORI (2003) realizou um estudo com objetivo de avaliar clinicamente os efeitos do laser de diodo (Ga-Al-As) de baixa intensidade na bioestimulação de células cicatriciais em feridas cirúrgicas, correspondentes a leitos doadores de enxertos gengivais livres, em palato de cães, comparando sua evolução temporal com grupo não irradiado. Foram realizados os leitos cirúrgicos do lado esquerdo, que serviram de controle, e os do lado direito que foram irradiados uma única vez, durante 4 minutos com 4 J/cm² de fluência, no pós-operatório imediato. O estudo mostrou que o laser terapêutico promoveu uma maior velocidade inicial de cicatrização, que aos poucos foi desacelerando até atingir os padrões cicatriciais do grupo controle.

TRELLES e MESTER, em 1984, publicaram estudo realizado em pacientes portadores de úlceras vasculares de membros inferiores que receberam irradiação com laser de He-Ne na fluência de 4 J/cm². Após realizarem um seguimento fotográfico, observaram a nível microscópico a evolução dessas feridas. Essa observação constatou uma melhor evolução do tecido de granulação, bem como da neovascularização e da epitelização dos grupos tratados com laser em relação aos grupos controles.

BIHARI e MESTER apresentaram, em 1989, um estudo clínico realizado em pacientes portadores de úlceras. Esses pacientes foram divididos em três grupos. Um deles foi irradiado com laser de He-Ne, outro com a associação de laser de He-Ne e um diodo laser emitindo na região do infravermelho próximo e outro com uma luz não-coerente, cujo comprimento de onda foi de 632 nm. Em todos os grupos a fluência utilizada foi de 4 J/cm². Os autores demonstraram a eficácia terapêutica da associação dos diferentes tipos de lasers por apresentarem melhores resultados quando comparados aos demais grupos.

AMORIM (2001) realizou estudo para avaliar a reparação gengival após cirurgia de gengivoplastia em humanos com estimulação pela irradiação de laser de GaAlAs (685nm). Como metodologia, utilizou-se de um dos lados do paciente como controle e o outro recebeu aplicações de 4 J/cm² imediatamente após a cirurgia e com 1, 3 e 7 dias de pós-operatório. Foi feita uma avaliação clínica da cicatrização por três periodontistas e avaliação biométrica das feridas. As medidas de profundidade de sondagem, na avaliação biométrica, foram

significantes para o lado teste. Porém, as medidas de mudança na posição da margem gengival e espessura da faixa de mucosa ceratinizada não foram significantes entre os lados. Após avaliação clínica foi evidenciado que houve melhora na reparação tecidual no lado teste após 3 dias de pós-operatório.

ANDERS *et al* (2002) utilizaram um laser diodo de 632,8 nm com dosagem de 4J/cm para avaliar a sua influência na produção de fator de crescimento derivado de fibroblastos em ratos normais e diabéticos. Foram realizadas feridas cutâneas no dorso dos ratos e uma das destas foi determinada como controle. Após análise dos resultados, os autores observaram diferença estatisticamente significativa para a produção de fator de crescimento derivado de fibroblastos tanto entre lados controle e tratados quanto entre os ratos diabéticos e não diabéticos. Sugerindo que a produção deste fator ficou confinada à área irradiada, já que no lado controle não houve alteração.

RESENDE (2001) realizou uma pesquisa analisando o efeito da aceleração do processo de cicatrização de lesões cutâneas em ratos, utilizando diodo laser emitindo em 830 nm. Os 64 animais selecionados neste estudo foram divididos aleatoriamente em quatro grupos de 16 ratos (G1, G2, G3 e G4). Comparações biométricas e histológicas foram realizadas no 3º, 7º e 14º dias após o ato cirúrgico e a aplicação do laser.

Nesse estudo foram utilizadas três configurações de irradiação, sendo uma com contato pontual (G2) e duas uniformes sem contato (G3 e G4), com dois valores de intensidade (G2: $I= 428 \text{ mW/cm}^2$; G3=G4: $I= 53 \text{ mW/cm}^2$) e dois valores de dose (G2=G4: $D= 3 \text{ J/cm}^2$; G3: $D= 1,3\text{J/cm}^2$). O grupo 1, considerado controle, não foi submetido a nenhum tratamento. Todas as lesões irradiadas apresentaram aceleração do processo de cicatrização com relação ao grupo controle. A combinação do valor de intensidade de 53 mW/cm^2 e da dose de $1,3 \text{ J/cm}^2$ levaram a resultados ótimos dos pontos de vista biométrico e histológico, apresentando contração mais rápida da lesão, com maior rapidez na neoformação de tecido conjuntivo e epitelial.

NÚÑEZ (2002) realizou estudo para avaliar, por meio da fluxometria laser Doppler, os efeitos provocados pela radiação emitida por um laser de He-Ne ($\lambda= 632,8\text{nm}$) na microcirculação sangüínea durante o processo de reparação tecidual. Para esta finalidade foram selecionados 15 ratos machos que receberam uma lesão provocada por nitrogênio líquido aplicado sobre a região dorsal, sendo o fluxo sangüíneo desta área, avaliado em diferentes momentos durante 21 dias. Para a avaliação dos efeitos do laser de He-Ne foi utilizada dose de $1,15 \text{ J/cm}^2$, com intensidade de 6 mW/cm^2 . Os resultados obtidos demonstram alterações de fluxo provocadas pela lesão e conseqüente resposta inflamatória.

Pela observação dos resultados obtidos, a radiação proveniente do laser de He-Ne não afeta a microcirculação imediatamente após a irradiação, embora o grupo irradiado tenha apresentado aumento percentual de fluxo médio no sétimo dia experimental em relação ao grupo controle.

PUGLIESE (2003) realizou estudo sobre a influência da terapia a laser de baixa densidade de energia na biomodulação das fibras colágenas e elásticas. Realizaram-se ferimentos cutâneos padronizados no dorso de setenta e dois ratos Wistar e, em seguida, aplicação pontual do raio laser de baixa potência do tipo Arseneto de Gálio-Alumínio (Ga-Al-As) com diferentes densidades de energia. Os animais foram sacrificados com 24, 48 e 72 horas e aos 5º, 7º e 14º dias. Para o tratamento foram utilizadas doses de 4 J/cm² e 8 J/cm² e um grupo controle não irradiado. Observou-se, que nos grupos submetidos à terapia a laser, houve maior redução do edema e infiltrado inflamatório. Os animais tratados apresentaram uma maior expressão de fibras colágenas e elásticas, embora sem significância estatística ($p > 0,05$). No tratamento com a fluência de 4 J/cm² observaram-se melhores resultados do que naquele em que foi utilizada a fluência de 8 J/cm². Neste estudo, pôde-se concluir que o laser contribuiu para uma maior expressão de fibras colágenas e elásticas durante o processo cicatricial.

RIBEIRO (2004) fez um estudo para investigar a influência da radiação laser visível polarizada de baixa intensidade na aceleração da cicatrização de feridas de pele. Para o estudo foram realizadas três queimaduras de aproximadamente 6 milímetros de diâmetro criadas na parte traseira de ratos com Nitrogênio líquido. Uma Lesão "L" (paralela) foi irradiada pelo laser de He-Ne (632,8 nm), $D = 1,0 \text{ J/cm}^2$, com o polarização linear paralela à coluna espinhal do rato. A lesão "L"(perpendicular) apesar de irradiada com os mesmos laser e dose teve a polarização alinhada perpendicularmente à lesão. A lesão "C" a fim ser considerada como o controle, não foi irradiada. A análise histológica mostrou que a cicatrização nas feridas irradiadas foi mais rápida do que naquelas não irradiadas. Além disso, observou-se que o reparo da ferida da pele é dependente da orientação da polarização com respeito a uma linha central referencial como a coluna espinhal do animal. A lesão "L"(paralela) cicatrizou completamente após 17 dias, visto que "L" (perpendicular) mostrou um grau moderado de cicatrização após o mesmo período.

CARVALHO (2003) realizou um estudo sobre os efeitos da terapia laser na regeneração tecidual de feridas cutâneas induzidas em ratos diabéticos e não diabéticos e sua relação com a reparação tecidual. No estudo foram utilizados 15 ratos Wistar, machos. O diabetes foi induzido por uma injeção intravenosa contendo medicamentos específicos para a referida indução. Para dar cumprimento ao trabalho foi realizada uma lesão no terço médio do

quadríceps dos animais sendo estes divididos em grupo A diabético tratado, B não diabético tratado, C não diabético não tratado. Os animais dos grupos A e B foram tratados com Laser HeNe com uma dosagem de 4 J/cm² por 36 segundos. Nas lâminas do grupo A e B observou-se tecido de granulação exuberante com presença de fibras colágenas; intensa proliferação fibroblástica; e células inflamatórias mononucleadas, principalmente linfócitos e macrófagos; neoformação de vasos sugerindo reposição de tecido conjuntivo por um processo envolvendo angiogênese e fibroblastos. No grupo controle as lâminas apresentaram um intenso exsudato, células inflamatórias, exacerbação de vasos incompletos e fibroblastos. Os resultados indicaram que aplicação da laserterapia se mostrou muito eficaz equilibrando e acelerando o processo de reparação das feridas cutâneas em ratos diabéticos.

Um outro estudo realizado por CARVALHO (2003) teve como objetivo comparar os resultados dos efeitos da terapia laser na regeneração tecidual de feridas cutâneas. Neste estudo foi realizada uma análise morfométrica do percentual de fibras colágenas por densidade de cor. Foram utilizados 48 ratos Wistar, machos, que foram submetidos a uma lesão no dorso e divididos em dois grupos de 24 animais. O grupo I foi tratado com laser e o Grupo II não foi tratado. Os animais do grupo I foram tratados com Laser HeNe com uma dosagem de 4 J/cm² por 36 segundos. Pôde-se concluir que o laser Helio Neônio se mostrou eficiente no tratamento de feridas cutâneas acelerando seu processo de reparo. Quando esta radiação é aplicada há um incremento do processo cicatricial com uma rede de fibras colágenas melhor elaborada do que em animais não submetidos ao mesmo tratamento.

Em um estudo experimental feito por AZEVEDO (2006), foi investigado o processo de cicatrização de feridas em ratos após tratamento com laser de baixa potência. Foram utilizados nove ratos da linhagem Wistar, os quais foram subdivididos em três subgrupos contendo três ratos em cada, para se observar o processo de cicatrização em suas diferentes fases. Na região lateral de ambas as patas traseiras de cada animal, foi realizada uma incisão pérfuro-cortante com 3 cm de extensão sob o efeito de anestésico. A pata esquerda dos animais foi utilizada como teste e a direita como controle. Foram aplicados 3 Joules por centímetro quadrado de área, em três pontos distintos da ferida. Os animais foram sacrificados de acordo com o número de irradiações efetuadas no 4º, 7º e 11º dias. Ao longo de todo o processo de cicatrização, foram observadas diferenças macroscópicas apenas no primeiro dia de sacrifício. Histologicamente foram observadas diferenças significativas em todo o processo cicatricial.

O conjunto de lâminas examinadas sugeriu que o estímulo da radiação laser no tecido, faz desencadear uma reação inflamatória mais intensa nos primeiros dias e mobiliza

células do exsudato inflamatório com mais facilidade. Ao mesmo tempo, o processo cicatricial parece ser acelerado.

2.6 - Sistema de Medição

A operação de medição é realizada por um sistema de medição (SM), composto por vários módulos.

O valor momentâneo do mensurado é descrito em termos de uma comparação com a unidade padrão referenciado pelo SM. O resultado da aplicação deste SM ao mensurado é um número acompanhado de uma unidade de Indicação (ALBERTAZZI, 2001).

Em termos genéricos, um SM pode ser dividido em três módulos funcionais: o sensor/ transdutor, a unidade de tratamento do sinal e o dispositivo mostrador. Cada módulo pode constituir uma unidade independente ou pode estar fisicamente integrada ao SM (FIG.3).

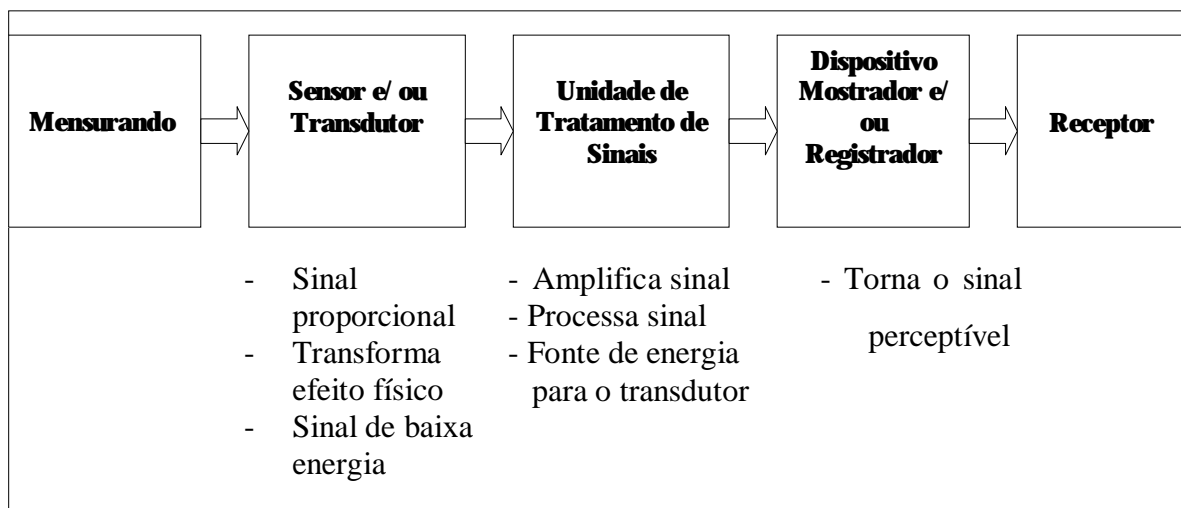


FIGURA 3: Sistema Generalizado de Medição (ALBERTAZZI, 2001).

O transdutor é o módulo do SM que está em contato com o mensurando. Gera um sinal (mecânico, pneumático, elétrico ou outro) proporcional ao mensurando segundo uma função bem definida, normalmente linear, baseada em um ou mais fenômenos físicos.

O sinal gerado pelo sensor/ transdutor normalmente é um sinal de baixa energia, difícil de ser diretamente indicado. A unidade de tratamento do sinal (UTS), além da amplificação da potência do sinal, pode assumir funções de filtragem, compensação, integração, processamento, etc.

O dispositivo mostrador recebe o sinal tratado e, através de recursos mecânicos, eletro-mecânicos, eletrônicos ou outro qualquer, transforma-o em uma indicação direta perceptível.

O procedimento de determinação do resultado de medição deverá ser realizado com base no conhecimento aprofundado do processo que define o mensurando (o fenômeno físico e suas características), no conhecimento do sistema de medição (características metrológicas e operacionais) e no bom senso.

O operador e a técnica de operação empregada podem afetar a medição seja pelo uso de força de medição irregular ou excessiva; por vícios de má utilização ou SM inadequados que podem levar a erros imprevisíveis. A forma, tamanho ou faixa de medição do SM pode não ser a mais indicada para aquela aplicação.

Ao se utilizar um sistema de medição para determinar um resultado é necessário conhecer e considerar a faixa provável dentro da qual se situam estes efeitos indesejáveis – sua incerteza – bem como levar em conta as variações do próprio mensurando. Portanto, o resultado de uma medição não deve ser composto de apenas um número e uma unidade, mas de uma faixa de valores e a unidade. Em qualquer ponto dentro desta faixa deve situar-se o valor verdadeiro associado ao mensurando.

A incerteza de medição é definida como um parâmetro, associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser fundamentadamente atribuídos a um mensurando. A incerteza de medição compreende, em geral, muitos componentes. Alguns destes componentes podem ser estimados com base na distribuição estatística dos resultados das séries de medições e podem ser caracterizados por desvios padrão experimentais. Os outros componentes, que também podem ser caracterizados por desvios padrão, são avaliados por meio de distribuição de probabilidades assumidas, baseadas na experiência ou em outras informações. Entende-se que o resultado da medição é a melhor estimativa do valor do mensurando, e que todos os componentes da incerteza, incluindo aqueles resultantes dos efeitos sistemáticos, como os componentes associados com correções e padrões de referência, contribuem para a dispersão (INMETRO, 2003).

A Calibração é um Conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um instrumento de medição ou sistema de medição ou valores representados por uma medida materializada ou um material de referência, e os valores correspondentes das grandezas estabelecidos por padrões. O resultado de uma calibração permite tanto o estabelecimento dos valores do mensurando para as indicações como a determinação das correções a serem aplicadas. Uma calibração pode,

também, determinar outras propriedades metrológicas como o efeito das grandezas de influência (INMETRO, 2003).

Um sistema de medição (SM) de boa qualidade deve ser capaz de operar com pequenos erros. Seus princípios construtivos e operacionais devem ser projetados para minimizar erros sistemáticos e aleatórios ao longo da sua faixa de medição, nas suas condições de operação nominais.

Entretanto, por melhores que sejam as características de um SM, este sempre apresentará erros, seja por fatores internos, seja por ação das grandezas de influência externas (ALBERTAZZI, 2001).

OLIVEIRA et al (2001) para analisar os resultados do uso de formulações de confrei (*symplytum officinale I.*) na cicatrização de feridas cutâneas de ratos, utilizaram 48 animais da linhagem Wistar divididos em dois grupos, onde as feridas foram mensuradas nos dias 0 (imediatamente após a cirurgia), 1, 3, 7, 12 e 18 de pós-operatório, com o auxílio de paquímetro. A partir das medidas dos lados da ferida, obteve-se o valor de sua área, sendo avaliada a contração da ferida através da seguinte fórmula: $\text{área inicial} - \text{área do dia da medida} \div \text{área inicial} \times 100 = \text{percentual da contração no dia da medida}$.

OLIVEIRA (2005) realizou um trabalho com objetivo de apresentar uma metodologia para análise da função tensão-deformação de elásticos ortodônticos, através de uma avaliação experimental. Foi projetada e construída uma banca de teste de tensão-deformação de elásticos intraorais e intermaxilares de látex dos tipos leve, médio e pesado. Para avaliação dos dados, o autor utilizou um sistema de aquisição e tratamento de imagem no visível. Esse sistema permitiu uma avaliação da evolução da deformação dos elásticos no tempo, e também permitiu verificar a importância da primeira hora no uso dos elásticos. O autor concluiu que o sistema utilizado permite a comparação entre os diversos modelos de elásticos, além de possibilitar o armazenamento e reprodução das imagens. Afirmando que o fato de utilizar um sistema em que o operador não influi tanto no resultado, garante uma melhor repetitividade e reprodutividade dos resultados.

2.7 - Imagem Digital

Uma imagem digital significa uma representação numérica em forma matricial bidimensional finita, cujas células (*pixels*) recebem valores correspondentes à intensidade luminosa numa determinada região. A imagem digital possui elementos que podem ser

manipulados, processados e armazenados em mídia magnética e não pode ser caracterizada somente como forma, cor e textura (SOBUE, 2005).

As imagens são produzidas por uma variedade de dispositivos físicos, tais como câmeras e vídeo câmeras, equipamentos de radiografia, microscópios eletrônicos, equipamento de ultra-som, entre vários outros. A produção e utilização de imagens podem ter diversos objetivos, que vão do puro entretenimento até aplicações militares, médicas ou tecnológicas. O objetivo da análise de imagens, seja por um observador humano ou por uma máquina, é extrair informações úteis e relevantes para cada aplicação desejada (ALBUQUERQUE et Al, 2004).

Em geral, a imagem pura, recém adquirida pelo dispositivo de captura, necessita de transformações e realces que a torne mais adequada para que se possa extrair o conteúdo de informação desejada com maior eficiência. O Processamento Digital de Imagens (PDI) é um procedimento em que imagens são convertidas em matrizes de números inteiros, sendo que cada elemento desta matriz é composta por um elemento fundamental: o *pixel* (uma abreviação de *picture element*).

Um *pixel* é o elemento básico de dimensões finitas na representação de uma imagem digital. (ALBUQUERQUE et Al, 2004).

A resolução do *pixel* é comumente chamada de quantização. Essa resolução do *pixel* é função de um conversor analógico/digital. Sistemas de visão monocromáticos normalmente utilizam 8 bits por *pixel*, fornecendo 256 níveis de cinza. Sistemas em cores utilizam 8 bits para cada um dos três canais de cores primárias (vermelho, verde e azul) fornecendo 16.777.216 possíveis cores. Quando se referencia 8 bits, significa 256 possibilidades de valores diferentes para cada componente. Assim, se são 3 componentes, totalizará aproximadamente 16 milhões de cores possíveis (SCURI, 1999).

O histograma é uma função estatística da imagem que, para cada nível de tonalidade, calcula quantos *pixels* existem naquela tonalidade. Muitas operações pontuais usam o histograma como parâmetro de decisão para fornecer resultados diferentes para o *pixel* da imagem processada. O histograma é bastante utilizado na etapa de segmentação, principalmente, em técnicas que se utilizam da similaridade entre os *pixels*. Segmentar uma imagem significa, de modo simplificado, separá-la em suas partes constituintes que se diferenciam entre si.

A segmentação é um processo empírico e adaptativo que procura sempre se adequar às características particulares de cada tipo de imagem e ao objetivo que se pretende alcançar. De um modo geral, as técnicas de segmentação utilizam duas abordagens principais:

a similaridade entre os *pixels* e a descontinuidade entre eles. A binarização de imagens é uma técnica de segmentação eficiente e simples sendo largamente utilizada em sistemas de visão computacional. Este tipo de segmentação é utilizado quando as amplitudes dos níveis de cinza são suficientes para caracterizar os objetos presentes na imagem. Na binarização um nível de cinza é considerado como um limiar de separação entre os *pixels* que compõem os objetos e o fundo. Nesta técnica, se obtém como saída do sistema, uma imagem binária, ou seja, uma imagem com apenas dois níveis de intensidade: preto e branco. As técnicas baseadas em descontinuidade entre os *pixels* procuram determinar variações abruptas do nível de intensidade entre *pixels* vizinhos. Estas variações, em geral, permitem detectar o grupo de *pixels* que delimitam os contornos ou bordas dos objetos na imagem (ALBUQUERQUE et al, 2004).

3 - METODOLOGIA

3.1 - Procedimento experimental

O modelo animal selecionado foi o rato albino da espécie *Rattus norvegicus*, classe *Mammalia*, ordem *Roedentia*, gênero *Rattus*, da linhagem *Wistar*, que é um animal muito resistente às infecções, de fácil manuseio e manutenção.

Foram selecionados 30 ratos, fêmeas, com peso aproximado de 200 a 220 gramas cada. Os ratos foram provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os 30 ratos foram divididos em 3 grupos: A, B, e C, compostos por 10 animais cada. Em todos eles foram realizadas duas lesões padronizadas (direita e esquerda), no dorso.

O Grupo A (Bilateral) recebeu tratamento à Laser visível em baixa intensidade (GaAlAs), bilateralmente (lados direito e esquerdo), enquanto o Grupo B (Unilateral) recebeu tratamento à Laser visível em baixa intensidade, unilateralmente, no lado esquerdo. Já o Grupo C (Controle) não recebeu nenhum tipo de tratamento.

Os animais foram mantidos no Biotério da Universidade Estadual de Montes Claros, os quais permaneceram em ambiente com temperatura controlada, em gaiolas composta por 3 animais, forradas com serragem branca trocada periodicamente. A dieta foi livre e padronizada com a ração Labina® e beberam água *ad libidum*.

Os ratos foram submetidos à anestesia geral com injeção de medicamento chamado Telazol® (Cloridrato de Zolazepam e Cloridrato de Tiletamina), na posologia de 0,10 ml/100g.

A tricotomia da região dorsal do animal foi realizada com a utilização de lâminas de barbear comum, conforme FIG.4

Após tricotomia na região dorsal, foi feita a anti-sepsia do campo operatório com solução de Gluconato de Clorexidina a 2%.



FIGURA 4: Realização de tricotomia

As lesões padronizadas foram provocadas por um bastão cilíndrico de aço inoxidável com 10 cm de comprimento e 1,0 cm de diâmetro, preso a uma haste de madeira de 9 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro, conforme FIG. 5.



FIGURA 5: Bastão utilizado para produzir a lesão

O bastão de aço foi resfriado, por 10 minutos, em Nitrogênio Líquido contido em embalagem térmica de isopor conforme FIG.6 “a” e “b”. O processo foi repetido para cada lesão.



(a) (b)
FIGURA 6: O bastão sendo resfriado em Nitrogênio Líquido.

Após o tempo de resfriamento o bastão foi aplicado no dorso do rato por 1 minuto (FIG.7).

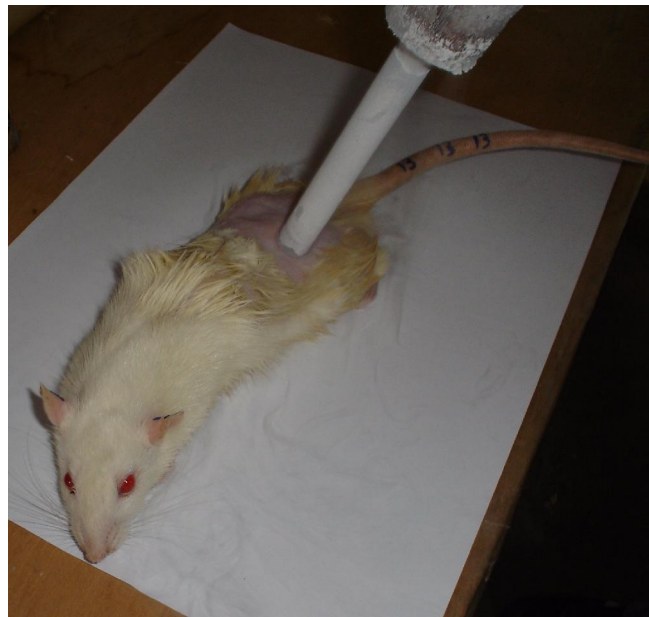


FIGURA 7: Aplicação do bastão no dorso do animal por 1 minuto.

Os ratos foram numerados em pontos variados, no dorso, na cauda e nas orelhas (FIG.7 “a”, “b” e “c”) para identificação e acompanhamento individual quanto à progressão das lesões.



(a)

(b)



(c)

FIGURA 8: Identificação do animal

Imediatamente após a aplicação do bastão resfriado no dorso do animal, ocorre um congelamento dos tecidos na região da injúria cujos limites são bem delimitados pela circunferência do bastão (FIG.9“a”).

Quando da segunda injúria feita no lado oposto, após 10 minutos, já é perceptível o processo inflamatório instalado na primeira lesão, conforme se verifica na FIG.9 ”b”.

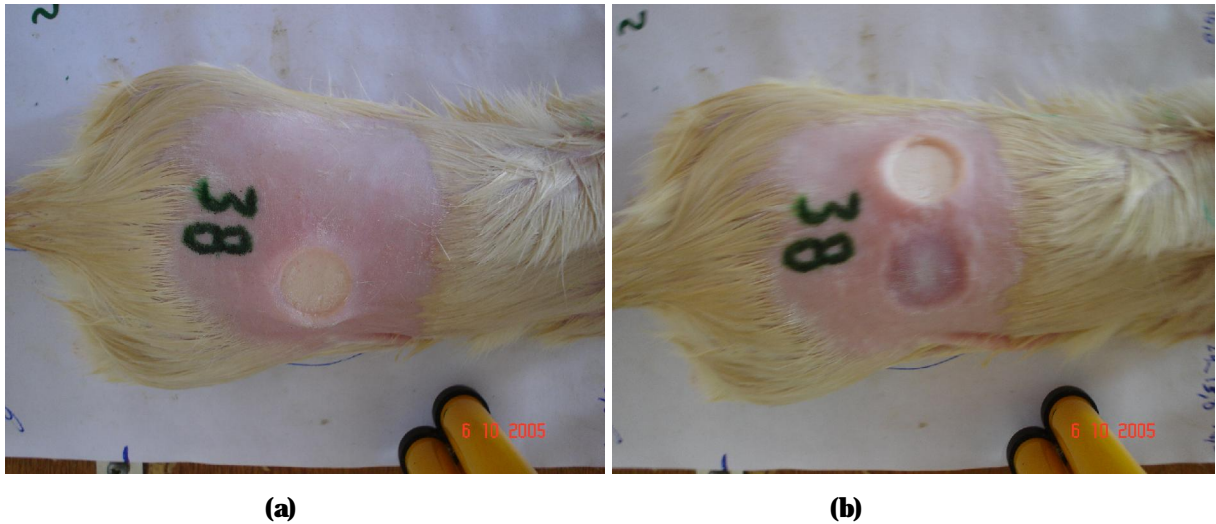


FIGURA 9: Aspecto inicial das lesões

Porém, após uma hora da injúria, já se percebe uma irregularidade na delimitação das lesões o que é decorrente do processo inflamatório imediato em associação à resposta orgânica, individual de cada animal (FIG.10).



FIGURA 10: Aspecto da lesão após 1hora

O laser adotado para o tratamento das lesões possui as seguintes características: Laser de baixa intensidade GaAlAs com 660 nm (vermelho), com potência de 28 mW e dose de 4J/cm² (FIG.11). A potência do laser foi atestada no laboratório de bioengenharia da faculdade de engenharia mecânica da UFMG por meio de um aparelho “Power meter -

NOVA[®]". Esse laser foi empregado no experimento para que pudesse ser evidenciada sua eficiência na aceleração do processo de cicatrização de feridas.

O laser foi aplicado com uma dose diária, nos dez primeiros dias.



FIGURA 11: Aparelho de laser utilizado

Para o desenvolvimento do experimento e conseqüente análise comparativa dos resultados, com base nos objetivos propostos, foi definida a seguinte metodologia:

O Grupo A (Bilateral) foi submetido ao tratamento a laser nas duas lesões (esquerda e direita);

O grupo B (Unilateral) foi submetido ao tratamento do laser somente na lesão do lado esquerdo;

No Grupo C (Grupo Controle) não foi realizado nenhum tratamento, ou seja, ocorreu a evolução natural de cicatrização.

As feridas foram analisadas macroscopicamente de acordo com a evolução do processo de cicatrização avaliado pela redução das áreas das lesões ao longo do tempo.

A avaliação do processo de redução das lesões foi realizada através de duas técnicas distintas quais sejam, medição com Paquímetro, já bastante utilizado em diversas pesquisas e por um sistema de medição por Aquisição e Tratamento de Imagens no visível, proposto no presente trabalho.

A análise de redução de lesão, com paquímetro, foi feita pela medida linear transversal e horizontal da lesão e posterior cálculo da área, equivalente a uma elipse:

$$A = \frac{\pi \times a \times b}{4}$$

Sendo **a**: medida horizontal e **b**: medida transversal, como na FIG.12 “a” e “b”. A redução da área foi acompanhada ao longo dos dias, até a completa cicatrização.

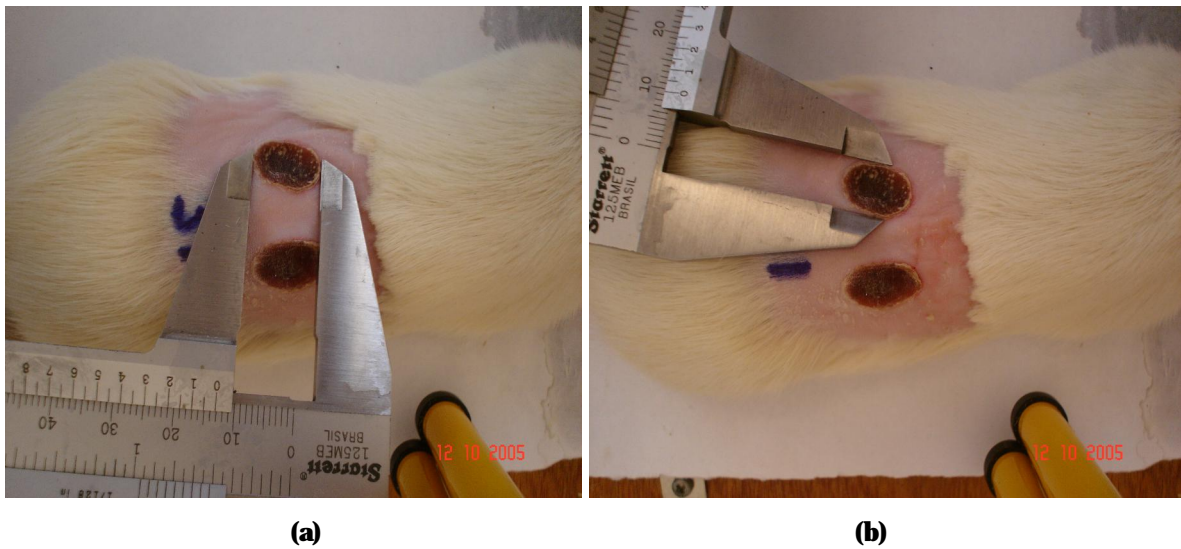


FIGURA 12: Medida horizontal (a) e transversal com paquímetro (b).

Para a técnica de medição por Aquisição e Tratamento de Imagens foi projetado e construído um equipamento no Laboratório de Bioengenharia do Departamento Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais (FIG.13).

O equipamento é composto de:

- a)** uma base de acrílico acoplada a uma base de madeira;
- b)** uma câmera digital;
- c)** Uma haste de metal fixa na base de madeira para adaptação da câmera digital e ajuste da altura;
- d)** Um microcomputador contendo um programa de transferência de imagem e um outro programa de tratamento de imagem;

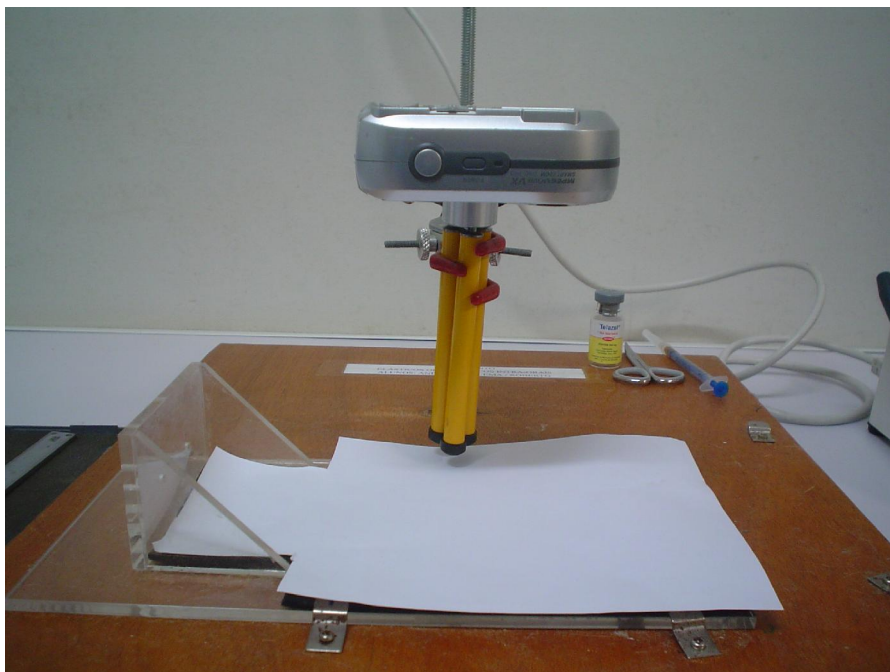


FIGURA 13: Equipamento para padronização das fotos

Para padronização dos registros das fotos os ratos foram anestesiados e mantidos na mesma posição em um molde de papel individualizado para cada animal (FIG.14) e adaptado ao suporte de acrílico preso a uma base de madeira.

As fotos foram realizadas com uma câmera digital da marca Sony® com resolução de 2304 x 1728 pixels, a uma distância de 11 cm (altura entre o dorso do rato até limite inferior da máquina), padronizada para todos os ratos (FIG.15).

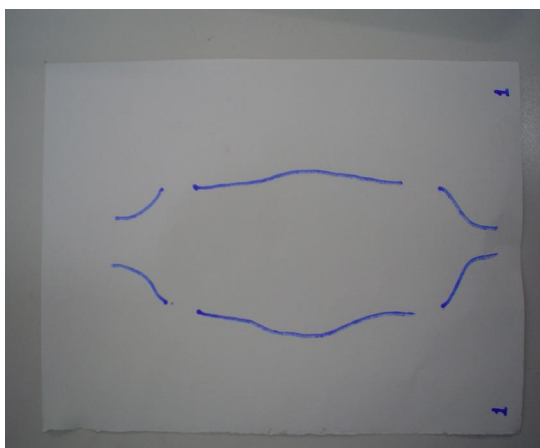


FIGURA 14- Molde de papel individualizado para cada animal

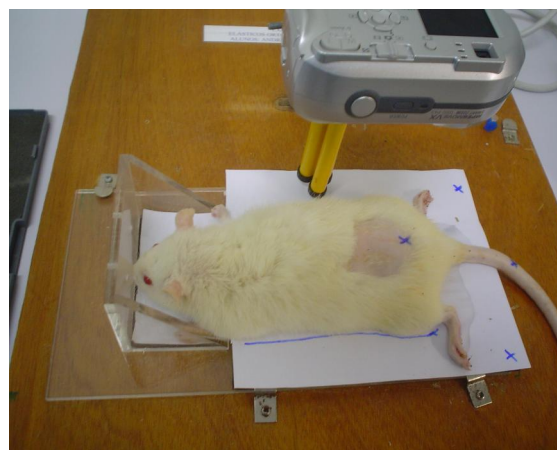


FIGURA 15- Posicionamento dos rato para realização das fotos

Para padronização e maior confiabilidade dos registros das imagens tomou-se o cuidado de estabelecer marcações de referência para posicionamento da maquina na haste metálica e esta na base de madeira, conforme a FIG.16.

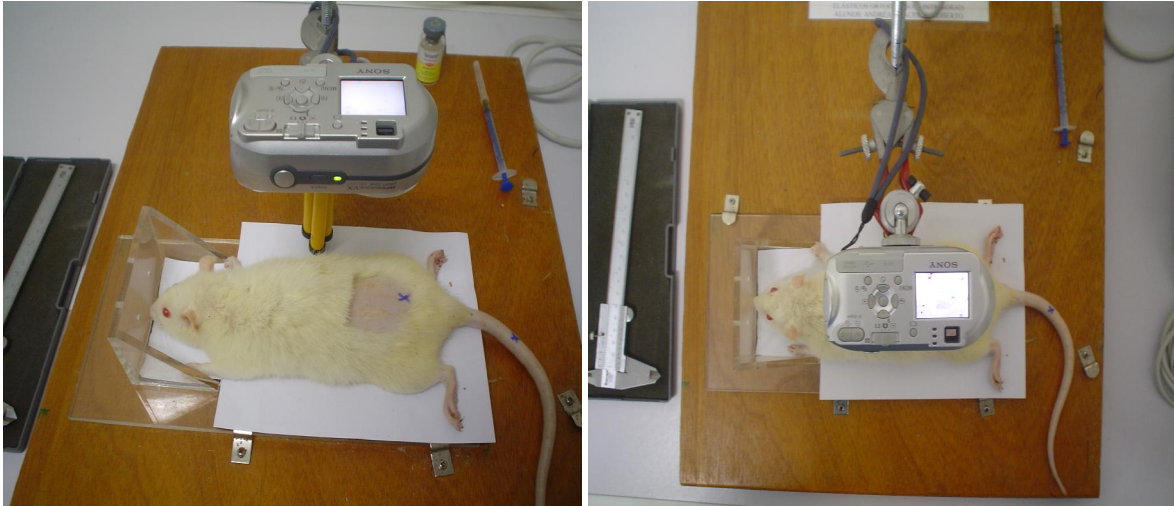


FIGURA 16: Padronização do registro da imagem

A FIG.17 “a” e “b” apresenta uma vista frontal e superior do registro de imagens, ilustrando a adoção de procedimentos uniformes e criteriosos que permitem que os resultados do estudo sejam decorrentes de dados confiáveis.

O programa utilizado para a captura de imagens foi o original da câmera Sony®, enquanto o programa para tratamento de imagens foi o Image-Pró Plus versão 3.2.

As fotos, depois de adquiridas, foram transferidas e armazenadas em um microcomputador, onde foi feito um tratamento das imagens. O processo de redução da lesão foi avaliado pelo calculo da área, obtido pela contagem do número de pixels dentro do contorno da lesão multiplicado pelo valor da área de um pixel.

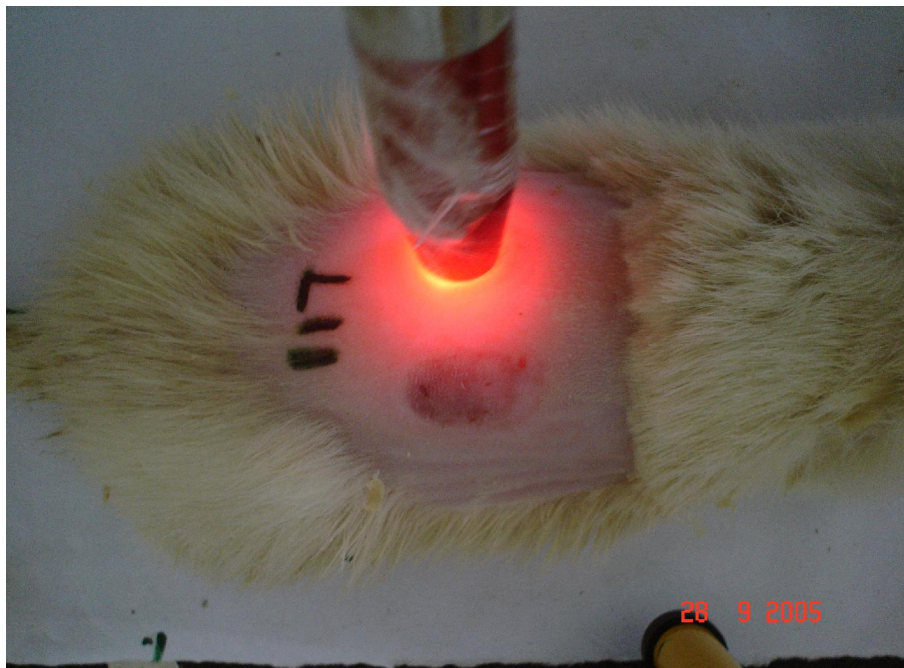


(a)

(b)

FIGURA 17: Vista frontal e superior do registro da imagem

As aplicações do laser foram efetuadas com intervalos de 24 horas nos dez primeiros dias. As medidas de redução das lesões foram realizadas em todos os grupos nos dias 1°, 3°, 6°, 9°, 15°, 20°, 23°, 28° e 30° após a queimadura. A FIG.18 ilustra um momento de aplicação do laser.

**FIGURA 18:** Aplicação do laser

A FIG.19 apresenta a bancada geral com alguns dos materiais utilizados.

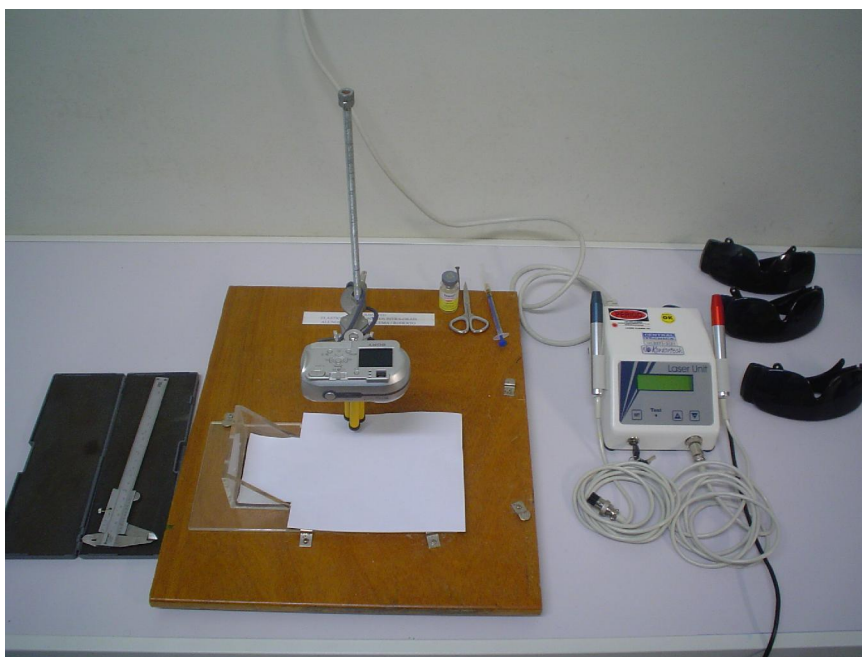


FIGURA 19. Bancada geral: Paquímetro, equipamento para registro da imagem, Aparelho de laser, tesoura, seringa, anestésico e óculos de proteção.

3.2 Calibração do Sistema de Medição

3.2.1 Calibração do Paquímetro

Para a técnica do Paquímetro a calibração foi realizada medindo-se as dimensões individuais de 10 blocos padrões, onde foram realizados 09 (nove) ciclos de medição com objetivo de registrar a Repetibilidade (95%) do paquímetro. Onde se concluiu que a incerteza do Paquímetro é igual a $\pm 0,02$ mm. O certificado de calibração do paquímetro encontra-se no anexo A.

3.2.2 Calibração da Imagem

Antes de analisar as medições das lesões pelo método de sistema de aquisição e tratamento de imagens, realizou-se a calibração da imagem para obtenção do tamanho e área do *pixel* em mm, de acordo com a resolução da câmera digital e altura de 11 cm delimitada, com auxílio do programa Image Pró Plus.

A calibração da imagem, para quantificação da dimensão do pixel, foi realizada no Laboratório de Metrologia Dimensional do SENAI (Centro de Formação Profissional Euvaldo Lodi), utilizando-se de um bloco padrão de Aço de 100 mm da marca Mitutoyo e número de série 810972 (FIG.20). Foram realizadas fotos onde se capturaram imagens do bloco padrão na mesma posição e altura das imagens realizadas com os ratos, e em seguida a mensuração do bloco padrão utilizando a metodologia de tratamento de imagens.



FIGURA 20: Imagem do Bloco Padrão de 100 mm.

Para definir as dimensões do *pixel*, a imagem do bloco padrão foi adquirida e tratada, utilizando o programa Image Pró Plus. Para o tratamento, a imagem original colorida é transformada para escala de cinza com 8 bits, tornando a figura com 256 níveis de intensidade (0 – 255). Em seguida a imagem é binarizada e passa a ter apenas duas intensidades (preto e branco). Após a binarização, utilizou-se a função de medição *Line Profile*. Essa função permite o uso de uma linha na qual são indicados os pontos para medir a distância. As extremidades da linha passam sobre os pontos de referência, que são os limites do bloco, o que permite observar o *pixel* de transição (branco/preto) da referência. Juntamente com a linha, é fornecido um gráfico e uma tabela, onde é vista a quantidade de *pixels* existentes entre os pontos de referência do bloco indicados pela linha. Com os dados registrados na tabela gerada pela função *Line Profile*, obtém-se o número de *pixels* referentes ao comprimento do bloco padrão, como observado na FIG.21.

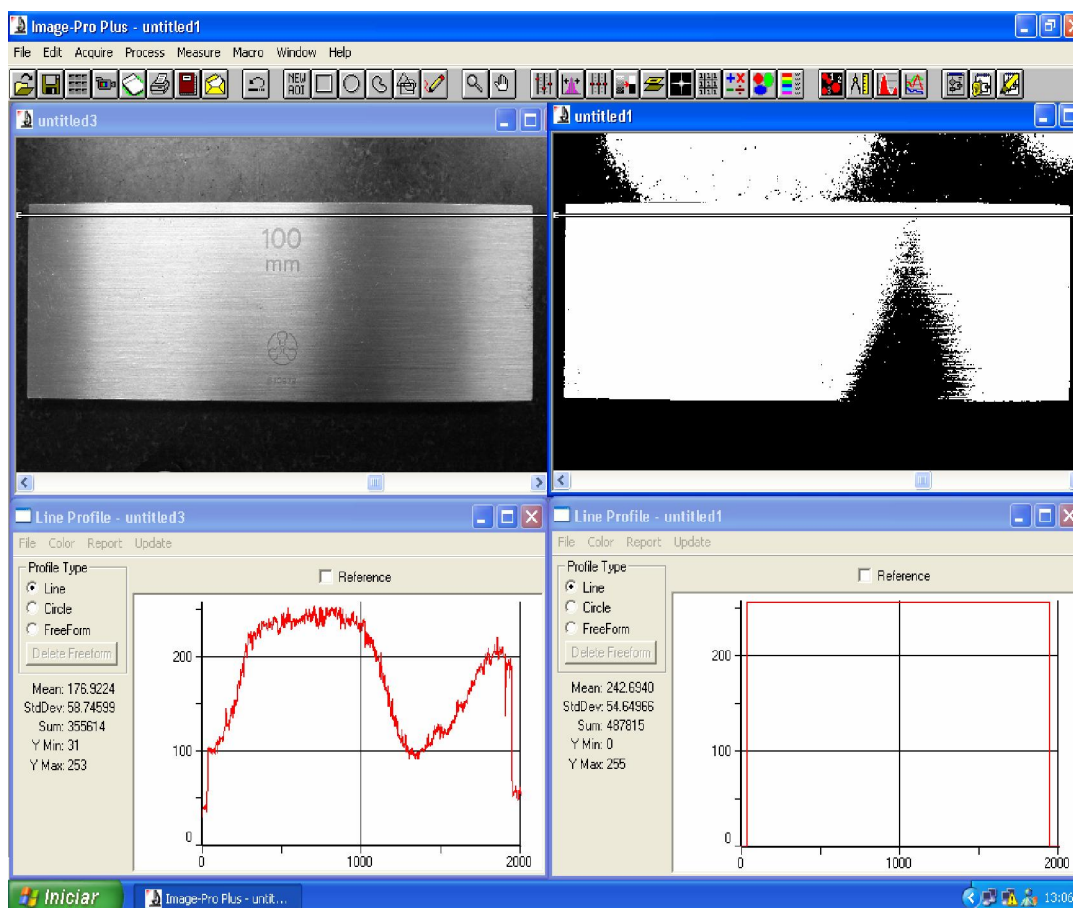


FIGURA 21: Processo de tratamento de imagem para cálculo das dimensões de um pixel (imagem escala de cinza e binarizada).

Para verificação do número de *pixels* na faixa de operação foram realizadas sete medições, tendo como valor médio o número de 1921. A incerteza expandida com 95% de confiabilidade foi de 0,12 mm (anexo B).

Para o cálculo do comprimento do *pixel* foi dividido o valor do comprimento do bloco (100 mm) pelo número de *pixels* (1921), ou seja, $100/1921$ que é igual a 0,052 mm.

Portanto, o resultado da calibração estabeleceu que 1 *Pixel* mede 0,052 mm de comprimento, e sendo o *pixel* um quadrado, logo, a área equivalente corresponde a 0,052 multiplicado por 0,052. A área do *pixel* é 0,0027 mm².

3.3 - Tratamento da Imagem para Cálculo da Área da Lesão

O processo de tratamento de imagem ocorre da seguinte forma: a imagem original, no formato JPEG, colorida, é transformada para escala de cinza com 8 bits, o que significa que a figura fica com 256 níveis de intensidade (0 – 255). Em seguida a imagem é binarizada,

ou seja, passa a ter apenas duas intensidades (preto e branco), onde a medida 0 representa o preto e a medida 255 representa o branco. No processo de binarização, após a transformação da imagem em escala de cinza, foi definido como limite de intensidade um valor aproximado de 90, ou seja, os valores de intensidade abaixo de 90 (0 – 90) passaram ao nível zero (preto) e os valores de intensidade acima de 90 (90 – 255) passaram ao nível 255 (branco).

Assim faz-se uma delimitação rígida da região onde se quer medir. A binarização facilita a definição dos pontos de referência do contorno da lesão, sendo todo o contorno e interior da lesão demarcado por pixels pretos, e a área externa por pixels brancos, permitindo, com isso, uma redução dos erros de localização dos pontos de extremidade da lesão e demonstrando a eficiência no processo de medição FIG.22. Para o cálculo da área desejada faz-se a contagem do número de pixels pretos presentes no interior do formato da lesão e multiplica pelo valor da área de um pixel, definida anteriormente, ou seja:

$$\text{Área da lesão} = N^{\circ} \text{ de Pixels} \times 0,0027 \text{ mm}^2$$

A redução da área foi acompanhada ao longo dos dias, até a completa cicatrização.

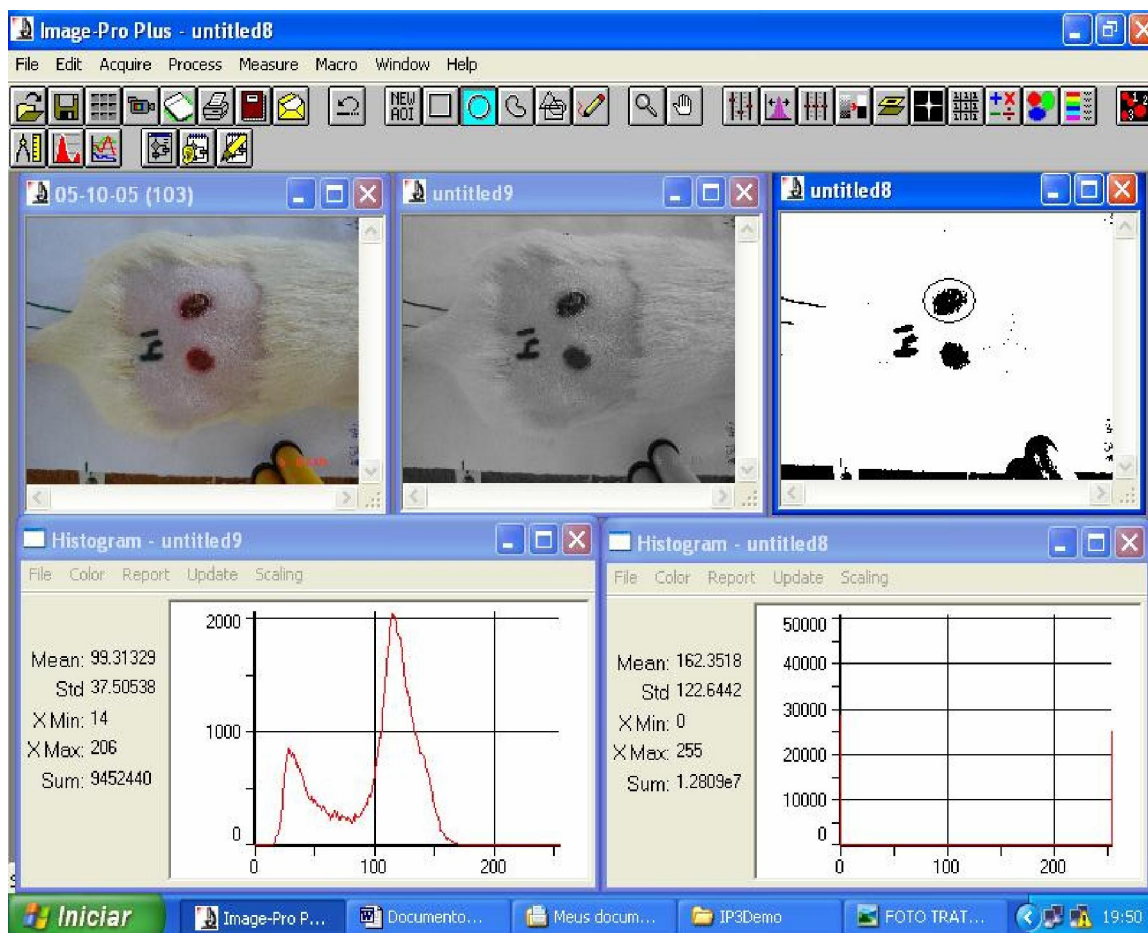


FIGURA 22: Tratamento da imagem para cálculo da área da lesão. Imagem colorida, em escala de cinza e binarizada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As feridas foram analisadas macroscopicamente de acordo com o registro das áreas evidenciadas pela reação orgânica à inflamação provocada pela ação da queimadura pelo bastão resfriado em nitrogênio líquido. O processo de evolução de cicatrização das feridas nos ratos foi analisado pela redução das áreas das lesões ao longo do tempo, através de duas técnicas distintas de medição: com Paquímetro e com um Sistema de Medição por Aquisição e Tratamento de Imagens no visível, proposto no presente trabalho. A redução da área foi acompanhada ao longo dos dias, até a completa cicatrização.

Para a técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens, para observação e registro da evolução do processo de cicatrização das feridas, foram realizadas sucessões de fotografias, as quais depois de armazenadas no computador tiveram suas imagens tratadas, o que permitiu a análise da evolução do processo de cicatrização pela avaliação da redução das áreas ao longo dos dias.

Para o registro uniforme das observações das feridas, houve a necessidade de uma padronização das informações, obtida com a decisão de adotar como valor medidas das áreas em percentuais. Após esta decisão, fez-se necessário o estabelecimento do parâmetro-referência ou marco inicial, ou seja, todas as medidas do primeiro dia passaram a ter valor "1".

Esta padronização adotada foi concebida e utilizada objetivando evitar diferenças conseqüentes de processo inflamatório desenvolvido por cada rato logo após a injúria provocada pelo bastão de aço resfriado em nitrogênio líquido. Apesar de o bastão ser de diâmetro bem delimitado e o tempo de contato deste com a pele dos ratos ter sido também padronizado, os ratos reagem física e biologicamente de maneiras diferentes, o que pode provocar variações das medidas iniciais das áreas.

Por conseguinte, tornou-se conveniente a adoção de medida em percentual. Essa avaliação efetuada em relação ao percentual de redução das áreas, propiciou uma análise mais eficiente quanto ao grau de cicatrização das lesões ao longo dos dias, que foram estipulados como 1°, 3°, 6°, 9°, 15°, 20°, 23°, 28° e 30° dias.

A medida referente ao primeiro dia, foi realizada 1 (uma) hora após a produção da lesão.

Para avaliação dos resultados e esclarecimentos dos objetivos propostos foram estabelecidas as seguintes análises, para cada Sistema de Medição proposto:

1) Grupo A (Bilateral) x Grupo C (Controle): Esta análise foi definida objetivando analisar se a irradiação de feridas com laser de baixa intensidade, na forma adotada, acelera o processo de cicatrização das feridas do Grupo A, que recebera tratamento nas duas lesões. Essa análise foi feita pela comparação com a cicatrização das lesões do Grupo C que não recebera nenhum tipo de tratamento ao longo dos dias, ou seja, a cicatrização teve evolução natural.

2) Grupo (B) Unilateral - Lesão Esquerda x Lesão Direita: Esta análise, também comparativa, foi definida para avaliar a evolução da cicatrização das feridas produzidas neste Grupo de ratos, pela observação da redução das lesões esquerdas submetidas ao tratamento a laser, em comparação com a redução das lesões direitas que não foram irradiadas.

3) Grupo (C) Controle x Grupo (B) Unilateral, subgrupo Lesão Direita: Esta análise foi definida para avaliar a ocorrência de efeito sistêmico benéfico da ação do laser através da evolução do processo de cicatrização da lesão direita do Grupo B, em consequência ao laser aplicado na lesão esquerda do mesmo Grupo, estabelecendo comparação com a evolução do processo de cicatrização das lesões do Grupo C que teve a cicatrização decorrente de evolução natural.

Em consequência às técnicas de medição adotadas, foi estabelecido como objetivo a busca de uma eficiência metrológica para a medição das lesões e análise dos resultados. Os registros efetuados pelas duas técnicas permitiram a realização da **Análise Metroológica**, comparativa, pela aferição da equivalência das medidas das áreas obtidas através do Paquímetro em relação às medidas das áreas definidas pela Técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens.

Através de avaliação dos resultados das comparações dos grupos, foi estabelecido como objetivo também, uma análise da influência do laser em baixa intensidade na velocidade de cicatrização das feridas ao longo do tempo.

4.1- Método Estatístico

Para análise estatística dos resultados, definiu-se como variável dependente a “Área da lesão” (em percentual) e como variáveis independentes, o “Tempo” (em dias) e o “Grupo”, categorizado em grupo: controle, bilateral e unilateral.

Em função deste delineamento composto por grupos distintos (Controle, Bilateral e Unilateral) nos quais a variável dependente - “Área da lesão” - foi avaliada em 9 (nove) momentos (1°, 3°, 6°, 9°, 15°, 20°, 23°, 28°, 30° dias), entendeu-se conveniente a utilização da técnica estatística *Split-plot Anova* (SPANOVA), uma das derivações da análise de variância.

Com esta técnica, própria para delineamentos mistos, pretendeu-se avaliar as diferenças da “Área da lesão” entre os grupos distintos, nos quais a “Área da lesão” foi mensurada mais de uma vez. Para avaliar onde se encontram as diferenças, tornou-se necessário realizar testes de hipóteses paralelas, no caso o teste “*t*” de *Student*. Este teste foi executado para cada momento de comparação dos grupos, a fim de analisar as diferenças observadas.

Este teste - “*t*” de *Student*”- foi utilizado para amostras independentes e para amostras pareadas quando os grupos comparados eram distintos ou correlacionados, respectivamente.

Neste teste definiu-se a hipótese nula como sendo aquela em que “não há diferença entre as médias das áreas dos grupos comparados” e, como hipótese alternativa, aquela em que “há diferenças entre as médias das áreas dos grupos comparados”. O nível de probabilidade de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

A análise estatística através do teste “*t*” de *Student* permite considerar que os resultados acima do valor “p” do nível de significância representam igualdade das comparações ou nenhuma diferença significativa. Contrariamente, os resultados obtidos abaixo desse valor “p” representam a existência de uma diferença significativa entre os grupos comparados que, nesse estudo, se traduz em processos diferentes da evolução da cicatrização das feridas, em função das áreas percentualmente consideradas.

As tabelas descritivas do teste “*t*” de *Student*, com a análise dos resultados tanto pelo método do paquímetro quanto pelo sistema de aquisição e tratamento de imagens, estão apresentadas no anexo G.

Para descrição das amostras, foram calculadas as médias e os desvios-padrão da variável dependente “Área da lesão”, para cada grupo, em momentos distintos. E para representação gráfica destes resultados foram construídos os seus respectivos gráficos de linhas.

Para essa análise estatística foi utilizado o Programa SPSS versão 11.0.

4.2 - Resultados das análises

Os dados obtidos por cada técnica de medição para avaliação da evolução do processo de cicatrização, pelo decréscimo das médias das áreas das lesões, dos grupos comparados em cada dia, ao longo dos 9 momentos de tempo (1º, 3º, 6º, 9º, 15º, 20º, 23º, 28º e 30º dia), foram analisados a partir da metodologia denominada “teste *t* de *Student*”. Este teste fornece o valor “p” que em função da adoção do nível de significância de 0,05 permite considerar que, nos dias em que esse valor “p” for abaixo de 0,05, as médias das áreas das lesões dos grupos comparados são significativamente diferentes, ou seja, houve um processo de cicatrização mais acelerado em um dos grupos. Enquanto que, nos dias em que o valor “p” for acima de 0,05, as médias das áreas dos grupos comparados são significativamente iguais quando expandida a uma população teoricamente infinita, ou seja, o processo de cicatrização foi o mesmo para ambos os grupos, naquele momento.

4.2.1 - Análise Pela Técnica de Aquisição e Tratamento de Imagem

4.2.1.1 – Imagem - Grupo Controle x Grupo Bilateral

A TAB.1 apresenta as médias e os desvios-padrão obtidos em percentual do total das áreas das lesões de cada grupo, ou seja, Grupos Controle (C) e Bilateral (A), compostos de 10 ratos, com duas lesões cada, totalizando, em consequência, 20 lesões por grupo (valor “n”).

Há que ser novamente referenciado que o Grupo Controle(C) não recebera irradiação a laser em contraposição ao Grupo Bilateral (A) que recebera o tratamento a laser nas duas lesões.

A evolução do processo de cicatrização é demonstrada pela indicação das médias percentuais das áreas das 20 lesões de cada grupo em relação à variável tempo arbitrada para avaliação em 9 (nove) dias, quais sejam, o 1º, 3º, 6º, 9º, 15º, 20º, 23º, 28º e 30º, tendo como parâmetro inicial o 1º dia, considerado como “1,000”.

TABELA 1: Imagem – Controle x Bilateral

Tempo	Grupo	n	Média	Desvio -padrão	Valor-p
1° dia	controle	20	1,000	,000	1,000
	bilateral	20	1,000	,000	
3° dia	controle	20	,824	,200	,246
	bilateral	20	,760	,139	
6° dia	controle	20	,818	,116	,000
	bilateral	20	,644	,107	
9° dia	controle	20	,654	,097	,000
	bilateral	20	,492	,140	
15° dia	controle	20	,276	,064	,000
	bilateral	20	,141	,056	
20° dia	controle	20	,124	,043	,000
	bilateral	20	,070	,032	
23° dia	controle	20	,057	,031	,000
	bilateral	20	,011	,012	
28° dia	controle	20	,016	,015	,000
	bilateral	20	,000	,000	
30° dia	controle	20	,000	,000	1,000
	bilateral	20	,000	,000	

Os resultados do teste estatístico, apresentados na TAB.1, estão indicados na coluna de “valor-p”, onde se observam diferenças estatisticamente significantes entre as áreas do grupo controle e bilateral nos seguintes dias: 6° dia (valor-p = 0,000), 9° dia (valor-p = 0,000), 15° dia (valor-p = 0,000), 20° dia (valor-p = 0,000), 23° dia (valor-p = 0,000) e 28° dia (valor-p = 0,000).

Por esta análise de comparação das áreas das vinte lesões de cada grupo, expandida para uma população teoricamente infinita, fornecida pelo teste adotado, percebe-se que a partir do 6° dia houve uma evolução de cicatrização significativamente favorável ao tratamento com laser nas lesões do Grupo Bilateral, em comparação ao Grupo Controle, pela confirmação de resultados obtidos do valor-p abaixo de 0,05. No 30° dia todas as lesões estavam cicatrizadas.

Os dados da TAB.1 sugerem que as áreas das lesões diminuem mais rapidamente no grupo bilateral, em comparação ao grupo controle.

O GRAF.1 representa uma comparação da evolução da cicatrização das lesões dos Grupos Controle e Bilateral, em relação à redução das áreas em função do tempo.

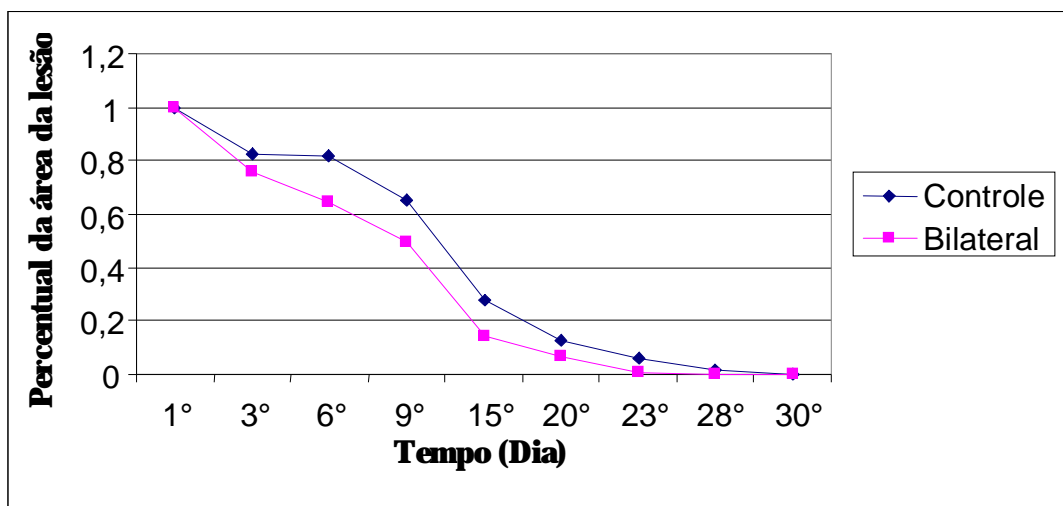


GRÁFICO 1: Imagem - Evolução da Cicatrização nos Grupos Controle e Bilateral

4.2.1.2 – Imagem - Grupo Unilateral: Esquerdo x Direito

O Grupo Unilateral foi comparado quanto às diferenças entre os percentuais das áreas das lesões do lado esquerdo e direito, com intuito de evidenciar se, no mesmo rato, a lesão esquerda irradiada com o laser tem um processo de cicatrização mais acelerado do que a lesão direita. Para fazer essa comparação, foi realizado o teste t de *Student* para amostras pareadas, que avaliou a média das diferenças (esquerdo – direito) dos percentuais das áreas das lesões em cada momento, nos 10 ratos do grupo.

A TAB.2 apresenta as medidas descritivas das áreas das lesões expressas em percentuais, e os seus respectivos desvios-padrão dos lados esquerdo e direito, nos 9 (nove) momentos em que elas foram avaliadas.

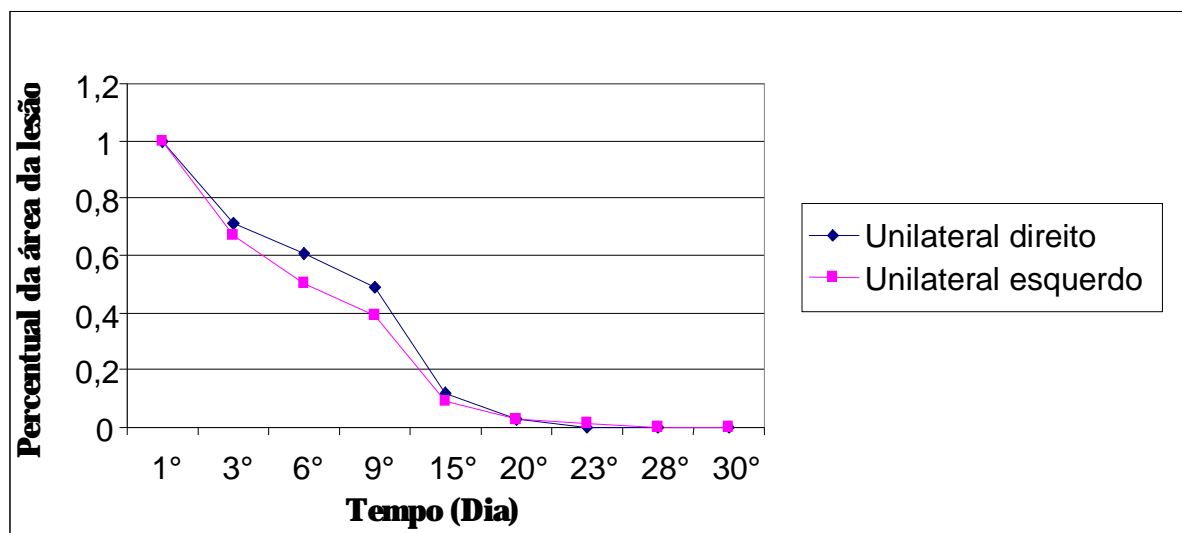
A TAB.2 mostra também os valores “p” ao longo dos dias, como resultado do teste t para amostras pareadas, onde se observam diferenças estatisticamente significantes entre os percentuais de das áreas das lesões somente nos seguintes dias: 6º dia (valor-p = 0,01) e 9º dia (valor-p = 0,005), ou seja, as lesões esquerdas tiveram um processo de cicatrização parecido com o das lesões direitas. Sendo, portanto, observado uma aceleração de cicatrização nas lesões esquerdas, que foram irradiadas com laser, apenas do sexto dia ao nono dia. Tendo sido evidenciado com isso que ocorre um efeito sistêmico benéfico do laser aplicado na lesão esquerda, que provavelmente produz uma resposta orgânica que favorece a cicatrização da lesão direita. Porém, o efeito direto luz laser nas lesões esquerdas, parece ter estimulado a regeneração tecidual de maneira mais efetiva nos dez primeiros dias, tendo ocorrido depois um comportamento parecido, quanto ao processo de cicatrização, com as lesões direitas.

TABELA 2: Imagem – Grupo Unilateral: Lesão Esquerda x Lesão Direita

Tempo	Lateralidade	Média	n	Desvio-padrão	Valor-p
1° dia	esquerdo	1,000	10	,000	1,000
	direito	1,000	10	,000	
3° dia	esquerdo	,668	10	,122	,069
	direito	,713	10	,115	
6° dia	esquerdo	,503	10	,056	,010
	direito	,606	10	,119	
9° dia	esquerdo	,393	10	,086	,005
	direito	,490	10	,145	
15° dia	esquerdo	,088	10	,070	,241
	direito	,118	10	,091	
20° dia	esquerdo	,026	10	,021	,544
	direito	,031	10	,036	
23° dia	esquerdo	,004	10	,008	,234
	direito	,002	10	,003	
28° dia	esquerdo	,000	10	,000	1,000
	direito	,000	10	,000	
30° dia	esquerdo	,000	10	,000	1,000
	direito	,000	10	,000	

Os dados da TAB.2 acima indicam que as lesões esquerdas tiveram um processo de cicatrização parecido com as lesões direitas.

O GRAF.2 representa uma comparação da evolução da cicatrização das lesões Esquerda e Direita do Grupo Unilateral, em relação à redução das áreas em função do tempo.

**GRAFICO 2:** Imagem - Evolução de Cicatrização das Lesões Esquerdas e Direitas do Grupo Unilateral

4.2.1.3 Imagem - Grupo Controle x unilateral direito

A análise a seguir apresenta os resultados das comparações feitas em cada um dos 9 (nove) momentos, onde se avaliou a diferença das médias dos percentuais das áreas das lesões entre o Grupo Controle (vinte lesões) e as lesões do Lado Direito do Grupo Unilateral (dez lesões).

Esta análise permite atestar o efeito sistêmico do laser, observado através da estimulação da reparação tecidual das Lesões Direitas do Grupo Unilateral, em função da irradiação nas Lesões Esquerdas do mesmo Grupo. A aferição e reafirmação do efeito sistêmico são possíveis pela verificação da evolução dos processos de cicatrização já que nem as lesões direitas do grupo unilateral nem as lesões dos ratos do grupo Controle receberam qualquer tipo de irradiação ou tratamento direto.

A TAB.3 apresenta as medidas descritivas dos percentuais das áreas segundo o grupo e o momento da medição, e seus respectivos desvios-padrão.

TABELA 3 Imagem – Controle x Unilateral direito

Tempo	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Valor-p
1º dia	controle	20	1,000	,000	1,000
	unilateral direito	10	1,000	,000	
3º dia	controle	20	,824	,200	,056
	unilateral direito	10	,713	,115	
6º dia	controle	20	,818	,116	,000
	unilateral direito	10	,606	,119	
9º dia	controle	20	,654	,097	,001
	unilateral direito	10	,490	,145	
15º dia	controle	20	,276	,064	,000
	unilateral direito	10	,118	,091	
20º dia	controle	20	,124	,043	,000
	unilateral direito	10	,031	,036	
23º dia	controle	20	,057	,031	,000
	unilateral direito	10	,002	,003	
28º dia	controle	20	,016	,015	,003
	unilateral direito	10	,000	,000	
30º dia	controle	20	,000	,000	1,000
	unilateral direito	10	,000	,000	

Na TAB.3 estão apresentados também os resultados do teste t de *Student*, onde se observa diferença estatisticamente significativa entre os percentuais das áreas do Grupo Controle e do Lado Direito do Grupo Unilateral, nos momentos listados a seguir: 6° dia (valor-p = 0,000) , 9° dia (valor-p = 0,001) , 15° dia (valor-p = 0,000) e 20° dia (valor-p = 0,000), 23° dia (valor-p = 0,000) e no 28° dia (valor-p = 0,003).

Observa-se, portanto, uma verificação da aceleração do processo de cicatrização das Lesões Direitas do Grupo Unilateral conseqüente da redução mais rápida das áreas das lesões em comparação ao Grupo Controle, ao longo de praticamente todos os dias, sendo que o valor-p de 0,056 do 3° dia ficou muito próximo do valor de significância adotado que foi de 0,05.

Este resultado sugere que o efeito sistêmico do Laser provoca ativação na reparação tecidual das Lesões Direitas do Grupo Unilateral já a partir do 3° dia, quando em comparação com o Grupo controle. Considera-se que as lesões do grupo Unilateral cicatrizaram no 23° dia, enquanto que as lesões do Grupo Controle cicatrizaram no 28° dia.

Os dados da TAB.3 indicam que as áreas das lesões direitas do grupo unilateral diminuiram mais rapidamente do que as do grupo controle.

O GRAF.3 representa a evolução do processo de cicatrização das lesões do Grupo Controle em comparação as Lesões Direitas do Grupo Unilateral, em relação à redução das áreas percentuais em função do tempo.

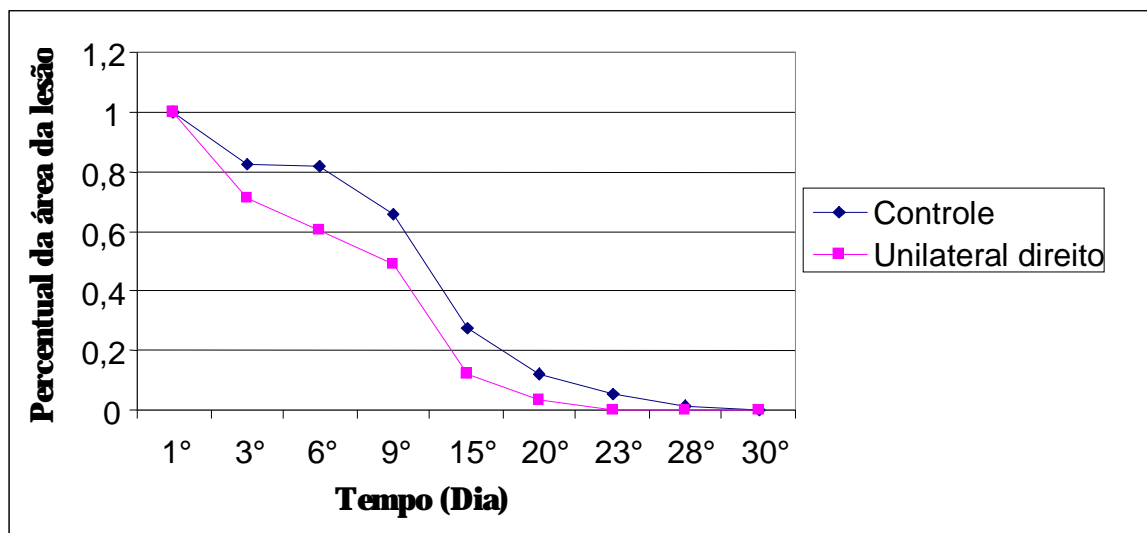


GRÁFICO 3. Imagem - Evolução de cicatrização no Grupo Controle e nas Lesões Direitas do Grupo Unilateral.

Ressalte-se que pela análise dos registros é possível constatar uma maior aceleração do processo de cicatrização das lesões direitas do Grupo Unilateral em relação à evolução do processo de cicatrização das lesões nos ratos do grupo Controle. Sendo isso possível pela resposta orgânica favorável à irradiação direta na lesão esquerda, o que se traduz no conseqüente efeito sistêmico do tratamento com o laser.

4.2.2 -Análise Pela Técnica do Paquímetro

4.2.2.1 –Paquímetro - Grupo Controle x Grupo Bilateral

A TAB.4 apresenta as médias e os desvios-padrão obtidos a partir do total das áreas, medidas pelo paquímetro em mm² e convertidas em percentual, das lesões de cada grupo, ou seja, Grupos Controle (C) e Bilateral (A), compostos de 10 ratos, com duas lesões cada, totalizando, em conseqüência, 20 lesões por grupo (valor “n”) cujas áreas foram medidas pelo paquímetro em mm² e, posteriormente, convertidas em percentual, com adoção da medida-referência “1,000”, estabelecida para o primeiro dia.

TABELA 4: Paquímetro – Grupo Controle x Grupo Bilateral

Tempo	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Valor-p
1° dia	controle	20	1,000	,000	1,000
	bilateral	20	1,000	,000	
3° dia	controle	20	,835	,129	,006
	bilateral	20	,727	,105	
6° dia	controle	20	,711	,126	,001
	bilateral	20	,588	,082	
9° dia	controle	20	,564	,106	,003
	bilateral	20	,463	,094	
15° dia	controle	20	,279	,114	,002
	bilateral	20	,180	,046	
20° dia	controle	20	,156	,075	,025
	bilateral	20	,108	,052	
23° dia	controle	20	,090	,083	,021
	bilateral	20	,039	,047	
28° dia	controle	20	,016	,070	,324
	bilateral	20	,000	,000	
30° dia	controle	20	,000	,000	1,000
	bilateral	20	,000	,000	

Os resultados do teste t de *Student* estão apresentados na TAB.4, na qual observam-se diferenças estatisticamente significantes entre as áreas do grupo controle e bilateral nos seguintes dias: 3º dia (valor-p = 0,006) , 6º dia (valor-p = 0,001), 9º dia (valor-p = 0,003), 15º dia (valor-p = 0,002), 20º dia (0,025), 23º dia (valor-p = 0,021), ou seja, por esta análise de comparação das áreas das lesões de cada grupo, percebe-se que a partir do 3º dia houve uma qualidade de cicatrização significativamente favorável ao tratamento com laser nas lesões do Grupo Bilateral, em comparação às lesões do Grupo Controle. A partir do 28º dia pode-se considerar que todas as lesões estavam cicatrizadas.

Os dados da TAB.4 sugerem que as áreas das lesões do grupo bilateral diminuem mais rapidamente, em comparação ao grupo controle.

O GRAF.4 representa uma comparação da evolução da cicatrização das lesões dos Grupos Controle e Bilateral, em relação à redução das áreas percentuais, extraídas da medição com o paquímetro, em função do tempo.

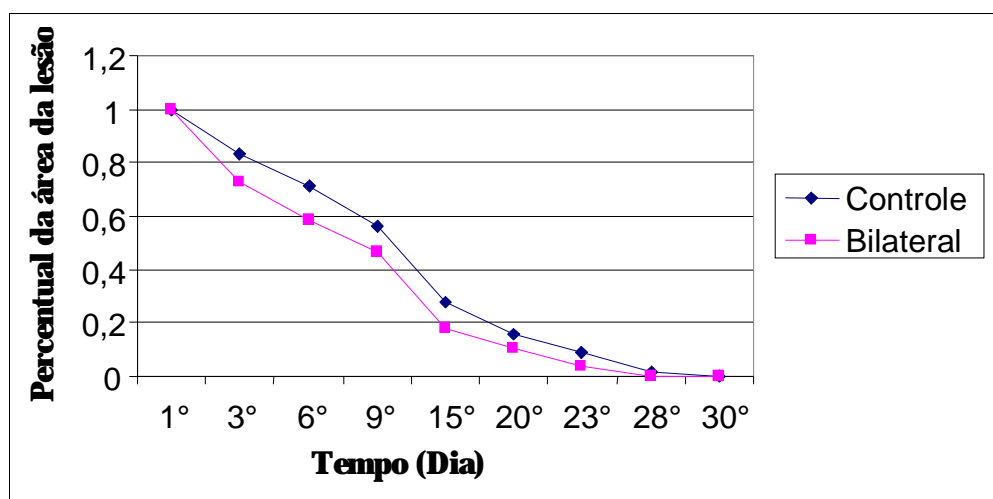


GRÁFICO 4 Paquímetro - Evolução de cicatrização no Grupo Controle e no Bilateral

4.2.2.2 - Paquímetro – Grupo unilateral: Esquerdo x Direito

O Grupo Unilateral foi comparado quanto às diferenças entre os percentuais das áreas das lesões do Lado Esquerdo e Direito.

Essa avaliação comparativa foi possível pela realização do teste “t de *Student*” indicado para amostras pareadas, que avaliou a média das diferenças (esquerdo – direito) dos percentuais das áreas das lesões em cada momento.

A TAB.5 apresenta as medidas descritivas das médias das áreas das lesões registradas pelo paquímetro, e convertidas em percentuais, dos lados esquerdo e direito nos 9 (nove) momentos em que elas foram avaliadas, e seus respectivos desvios-padrão. Como foram comparadas as Lesões Esquerdas com as Direitas dos 10 (dez) ratos do mesmo Grupo Unilateral, o valor “n” é dez para cada subgrupo analisado. Essas medidas referem-se à média das 10 lesões direitas e esquerdas dos 10 ratos integrantes do Grupo. As lesões foram, conforme proposição inicial, convertidas em percentual em relação à medida-referência ou padronizada igual a “1,000”, equivalente ao primeiro dia.

TABELA 5: Paquímetro – Grupo Unilateral: Lesão Esquerda x Lesão Direita

Tempo	Lateralidade	Média	n	Desvio-padrão	Valor-p
1º dia	esquerdo	1,000	10	,000	1,000
	direito	1,000	10	,000	
3º dia	esquerdo	,700	10	,104	,160
	direito	,775	10	,108	
6º dia	esquerdo	,547	10	,086	,200
	direito	,601	10	,098	
9º dia	esquerdo	,445	10	,076	,063
	direito	,507	10	,081	
15º dia	esquerdo	,129	10	,082	,458
	direito	,113	10	,090	
20º dia	esquerdo	,035	10	,033	,959
	direito	,036	10	,049	
23º dia	esquerdo	,000	10	,000	1,000
	direito	,000	10	,000	
28º dia	esquerdo	,000	10	,000	1,000
	direito	,000	10	,000	
30º dia	esquerdo	,000	10	,000	1,000
	direito	,000	10	,000	

A TAB.5 mostra também o resultado do teste t para amostras pareadas, onde não se observam diferenças estatisticamente significantes nos percentuais das áreas do lado esquerdo em comparação com o direito, ao longo de todo o tempo, pela análise dos valores “p”. Contudo, no 9º dia houve um valor-p de 0,063 que foi bem aproximado do nível de significância adotado neste presente trabalho, o qual foi de valor-p < 0,05, podendo sugerir que nesse dia o Subgrupo Esquerdo teve uma cicatrização melhorada em relação ao Subgrupo Direito.

Os dados da TAB.5 sugerem que não houve diferença estatisticamente significativa na diminuição das áreas esquerda e direita do grupo unilateral.

O GRAF.5 representa uma comparação da evolução da cicatrização das lesões Esquerdas e Direitas do Grupo Unilateral, em relação à redução das áreas percentuais, extraídas da medição com o paquímetro, em função do tempo.

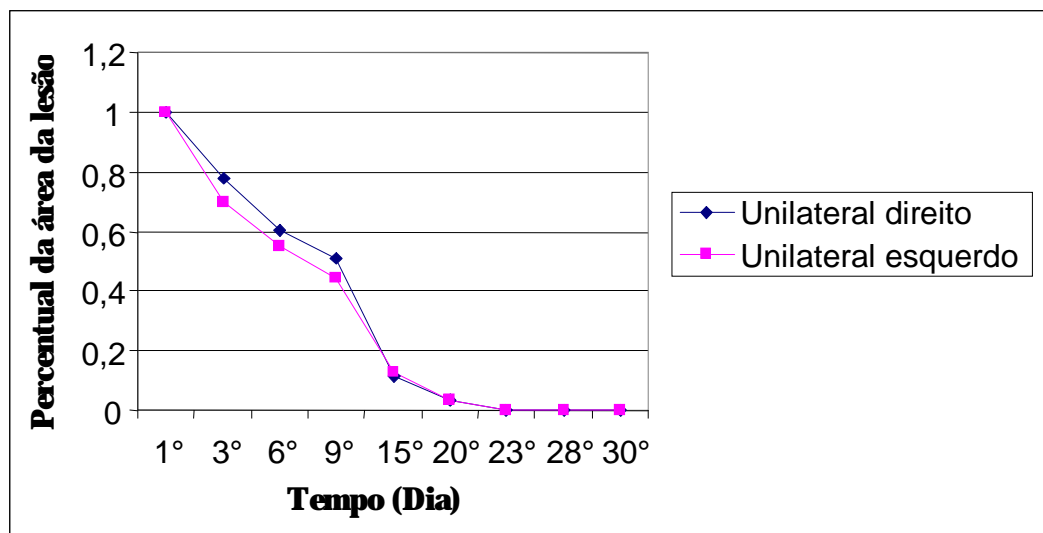


GRÁFICO 5: Paquímetro - Evolução de cicatrização nas Lesões Esquerdas e Direitas do Grupo Unilateral

4.2.2.3 – Paquímetro - Grupo Controle x Unilateral Direito

A TAB.6 apresenta as medidas descritivas dos percentuais das médias das áreas das Lesões do Grupo Controle ($n = 20$) e das Lesões Direitas do Grupo Unilateral ($n=10$), para cada momento fixado. Através do teste t foram verificados os resultados das comparações feitas em cada um dos 9 momentos, onde se avaliou a diferença das médias dos percentuais das áreas das lesões entre o Grupo Controle e as Lesões do Lado Direito do Grupo Unilateral.

Na TAB.6 estão apresentados os resultados do teste t, onde se observa diferença estatisticamente significativa entre os percentuais das áreas do Grupo Controle e do Lado Direito do Grupo Unilateral, nos seguintes momentos: 6° dia (valor-p = 0,022), 15° dia (valor-p = 0,000), 20° dia (valor-p = 0,000) e 23° dia (valor-p = 0,002).

Portanto, houve uma verificação da aceleração do processo de cicatrização das Lesões Direitas do Grupo Unilateral, que tiveram uma redução mais rápida das áreas em comparação ao Grupo Controle, ao longo de quase todos os dias, exceção do 3° e 9° dia. As lesões do Grupo Unilateral cicatrizaram no 23° dia, enquanto que as do Grupo controle no 28° dia.

Os dados da TAB.6 sugerem que as áreas das lesões direitas do Grupo Unilateral diminuem mais rapidamente do que as do Grupo Controle.

TABELA 6: Paquímetro – Grupo Controle x Lesões Direitas do Grupo Unilateral

Tempo	Grupo	n	Média	Desvio-padrão	Valor-p
1° dia	controle	20	1,000	,000	1,000
	unilateral direito	10	1,000	,000	
3° dia	controle	20	,835	,129	,216
	unilateral direito	10	,775	,108	
6° dia	controle	20	,711	,126	,022
	unilateral direito	10	,601	,098	
9° dia	controle	20	,564	,106	,148
	unilateral direito	10	,507	,081	
15° dia	controle	20	,279	,114	,000
	unilateral direito	10	,113	,090	
20° dia	controle	20	,156	,075	,000
	unilateral direito	10	,036	,049	
23° dia	controle	20	,090	,083	,002
	unilateral direito	10	,000	,000	
28° dia	controle	20	,016	,070	,489
	unilateral direito	10	,000	,000	
30° dia	controle	20	,000	,000	1,000
	unilateral direito	10	,000	,000	

O GRAF.6 representa uma comparação da evolução de cicatrização das lesões do Grupo Controle em comparação com as Lesões Direitas do Grupo Unilateral, em relação à redução das áreas percentuais em função do tempo.

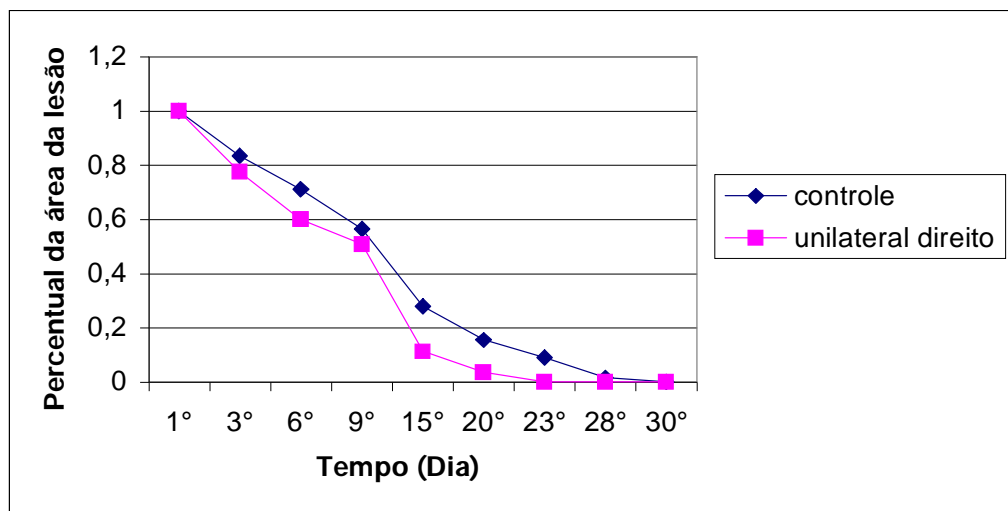


GRÁFICO 6: Paquímetro - Evolução de cicatrização no Grupo Controle e nas Lesões Direitas do Grupo Unilateral

4.2.3 Análise Metrológica

O objetivo primordial desta análise é a aferição da eficácia do método proposto. Esta eficácia foi testada pela comparação das medidas obtidas através do paquímetro, método, tradicionalmente, utilizado e através do Sistema de Aquisição e Tratamento de Imagens, método inovador proposto no presente trabalho.

Para tanto, foram incluídas para o teste todas as 60 lesões cujas medidas foram consideradas não em percentual, mas em mm². Essas medidas, obtidas através do paquímetro e pela contagem do número de *pixels*, foram assim consideradas (mm²) em função da necessária e melhor comparação entre os registros das duas medições.

4.2.3.1 - Resultados da análise: Área Paquímetro x Área Imagem.

A TAB.7 apresenta as medidas descritivas das médias de todas as áreas das 60 (sessenta) lesões, registradas pela técnica do Paquímetro e pela técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens e os seus respectivos desvios-padrão. Os resultados do teste t de *Student* são apresentados na coluna de valor-p.

TABELA 7: Paquimetro x Imagem

Tempo	Método	Média	n	Desvio-padrão	Valor-p
1º dia	paquímetro	163,217	60	28,854	0,035
	imagem	154,382	60	25,108	
3º dia	paquímetro	123,206	60	19,488	0,004
	imagem	115,936	60	25,043	
6º dia	paquímetro	100,224	60	17,802	0,248
	imagem	102,334	60	22,143	
9º dia	paquímetro	80,968	60	17,847	0,891
	imagem	80,739	60	23,459	
15º dia	paquímetro	30,573	60	15,059	0,001
	imagem	25,943	60	14,171	
20º dia	paquímetro	15,458	60	10,633	0,000
	imagem	10,980	60	7,230	
23º dia	paquímetro	6,237	60	8,988	0,003
	imagem	3,278	60	4,022	
28º dia	paquímetro	0,596	60	4,613	0,923
	imagem	0,654	60	1,362	
30º dia	paquímetro	0,000	60	0,000	1,000
	imagem	0,000	60	0,000	

Para analisar se as técnicas produzem os mesmos resultados, foram comparadas as áreas das lesões mensuradas com o paquímetro e as respectivas áreas obtidas pela contagem do número de pixels.

Para isto, foram calculadas as diferenças obtidas pelas duas técnicas em cada uma das medições (segundo o grupo e o momento). O teste t de *Student* permite o cálculo do valor-p para cada momento, apresentados na TAB.7, e registra onde ocorrem as diferenças significativas entre os dois métodos, através da indicação do valor-p < 0,05.

Os resultados da TAB.7 indicam que os dois métodos apresentaram diferenças significantes nos seguintes momentos: 1º dia (valor-p = 0,035) , 3º dia (valor-p = 0,004), 15º dia (valor-p = 0,001), 20º dia (valor-p = 0,000) e 23º dia (valor-p = 0,003). Enquanto nos 6º, 9º, 28º e 30º os valores-p acima do valor de significância indicam um resultado de semelhança das medidas comparadas, ou seja, sem diferenças significativas. O nível de significância adotado foi de 0,05 no teste “t” para amostras pareadas

Os dados da TAB.7 indicam que as medidas realizadas com o Paquímetro têm diferenças estatisticamente significativas em relação às medidas realizadas pela técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens.

O GRAF.7 representa a evolução de cicatrização de todas as Lesões, analisada pela redução da média das áreas das lesões de todos os Grupos (sessenta lesões), ao longo do tempo, e registradas pela técnica do Paquímetro e pelo Sistema de Aquisição e Tratamento de Imagens.

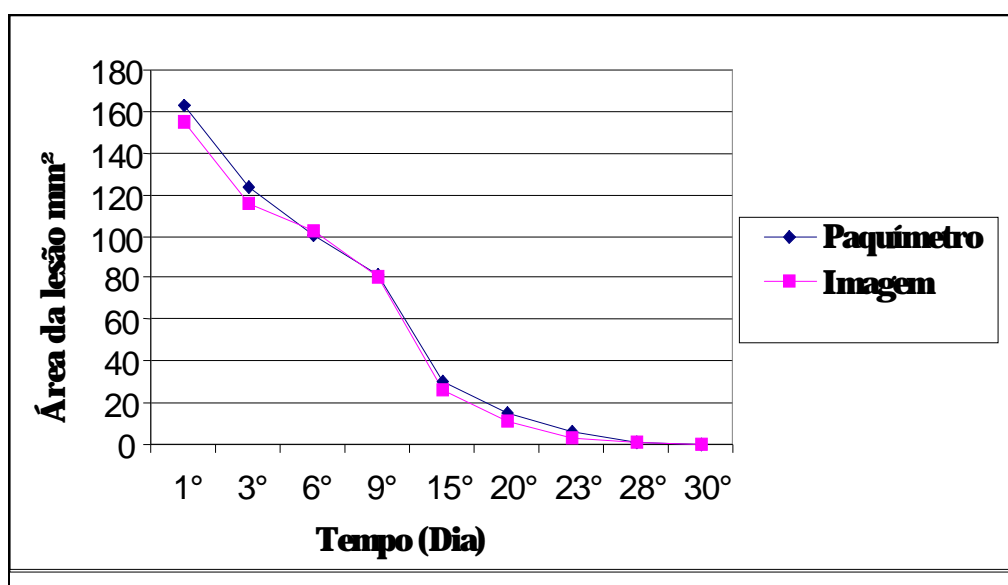


GRÁFICO 7: Evolução da cicatrização pela Técnica Paquímetro e pela Técnica de Aquisição e Tratamento de Imagem.

Os momentos onde não houve diferenças significativas foram justamente nos dias onde as feridas estão mais bem definidas, com presença de crosta bem estabelecida e de fácil delimitação e medição tanto pela técnica do paquímetro quanto pelo tratamento da imagem, sendo que o valor da área média no 6º dia, em torno de 100 mm², e no 9º dia, em torno de 80 mm², confirma a quase igualdade das medições nesses momentos. No 28º dia todas as Lesões estão praticamente cicatrizadas, através das medições pelas duas técnicas.

Entretanto, pelos dados avaliados anteriormente, qualitativamente as lesões em geral se comportaram com a mesma tendência de evolução de cicatrização, tanto pelo método de análise com paquímetro quanto pelo sistema de aquisição e tratamento de imagem. Tendo variação quantitativa no valor de cada área. Portanto, o efeito benéfico do laser é atestado tanto pela técnica do Paquímetro quanto pela técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens, mesmo que os valores absolutos das áreas obtidos por essas técnicas não tenham sido equivalentes. Considerando com isso, que houve uma certa coerência na execução do procedimento de medição registrado por cada técnica. Porém, com algumas dificuldades apresentadas pela técnica do Paquímetro, devido à complexidade do processo de cicatrização das lesões, que resulta em contração da ferida de maneira irregular, às vezes com aspecto estrelado, que descaracteriza o formato pré-determinado de uma elipse para o cálculo da área.

Mesmo sendo sempre o mesmo examinador para a realização das medições com o paquímetro, às vezes torna-se difícil, em face ao grande número de animais e ao variado processo de contração das feridas decorrente da evolução da cicatrização inerente ao mecanismo biológico individualizado de cada animal, registrar os pontos de referência para as margens da demarcação horizontal e transversal utilizando o paquímetro para a medida da área de determinada lesão ao longo dos dias. O que não ocorre com o Sistema de Tratamento das Imagens, devido a binarização, que torna evidente a delimitação do contorno da lesão pelo contraste, preto no interior da ferida e branco na área externa da imagem selecionada, facilitando com isso a contagem do número de pixels pretos, através do uso do programa apropriado, para cálculo da referida área.

A FIG.23 (a) ilustra um momento da cicatrização das feridas, as quais se apresentam com formato equivalente a uma elipse, bem definidas e com estabelecimento da crosta de fácil delimitação e medição tanto pela técnica do paquímetro quanto pela técnica de Aquisição e Tratamento de Imagem, como observado após a binarização na FIG.23 (b).

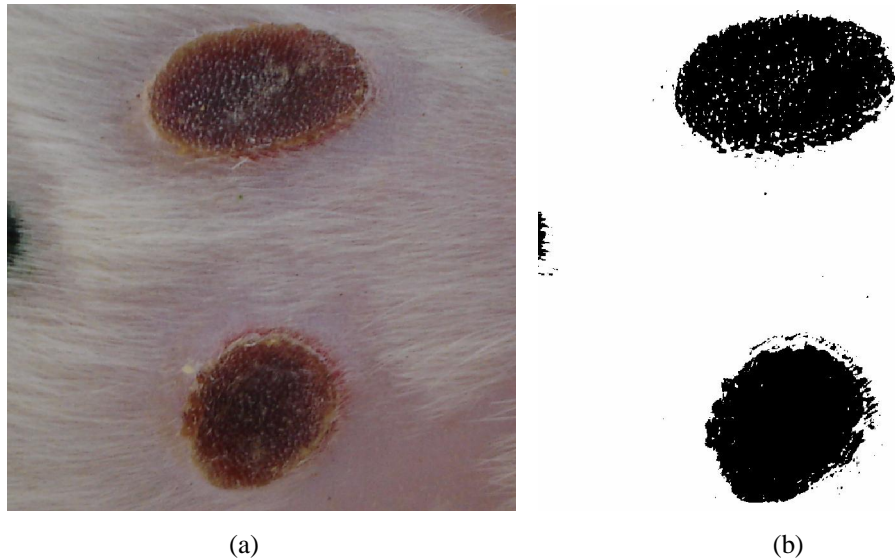


FIGURA 23: Ferida com crosta bem definida (a), e após a sua binarização (b).

A FIG.24 apresenta o momento da utilização do paquímetro para registro das medidas transversal (a) e horizontal da ferida (b), por volta do 6º dia, onde se percebe uma boa definição dos limites referenciais dos bordos da lesão, pela característica da crosta da ferida, que permite um resultado confiável para o cálculo da área com essa técnica.

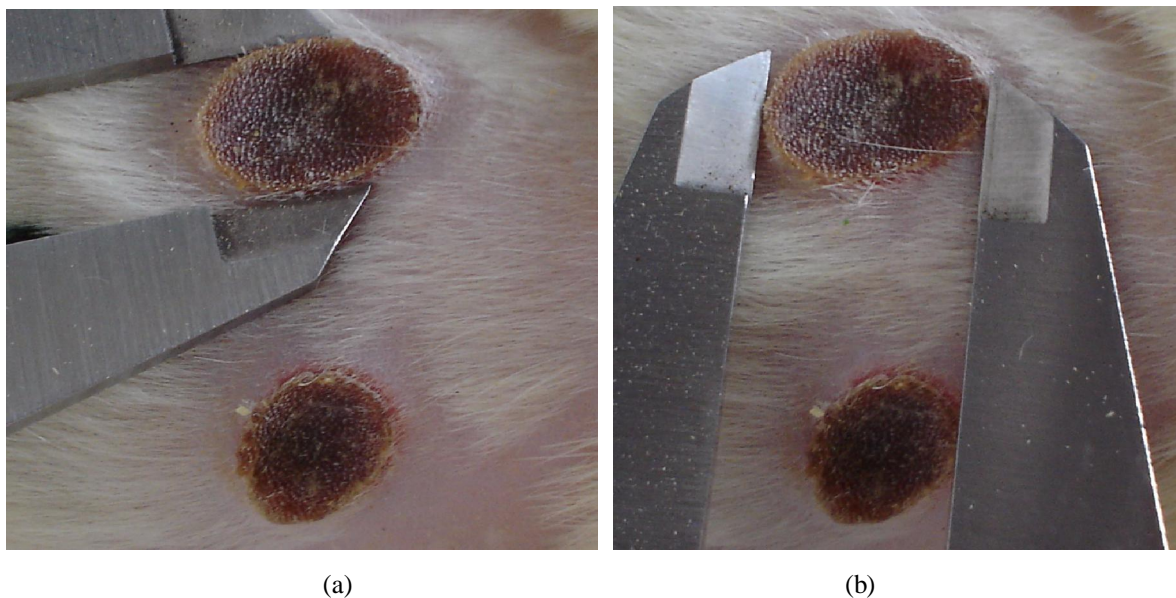


FIGURA 24: Medida Transversal (a) e horizontal (b) com Paquímetro

Para o cálculo da área da ferida superior da FIG.24 (como exemplo), desenvolveu-se as seguintes equações com referência nas medidas registradas com Paquímetro e com a técnica de tratamento de imagem, pela contagem do número de pixels:

$$\text{Paquímetro: } A = \frac{\pi \times a \times b}{4}$$

$$A = \frac{\pi \times 13,2 \times 9,7}{4}$$

$$A = \frac{\pi \times 128,4}{4}$$

$$A = 100,51 \text{ mm}^2$$

Onde “A” representa a área, “a” a medida horizontal e “b” a medida transversal.

Análise de Imagem:

$$A = N^\circ \text{ de pixels no interior da lesão} \times \text{constante (área de um pixel)}$$

$$A = 36.697 \cdot 0,00271$$

$$A = 99,44 \text{ mm}^2$$

Nota-se que as técnicas utilizadas para medição de área neste caso revelaram resultados semelhantes.

A FIG.25 evidencia a qualidade de definição da área da lesão após a binarização, e revela após demarcação dos bordos de referência, que o formato de uma elipse permite o uso técnica do paquímetro com eficiência nesses casos, com resultado semelhante à técnica de Tratamento de Imagem.

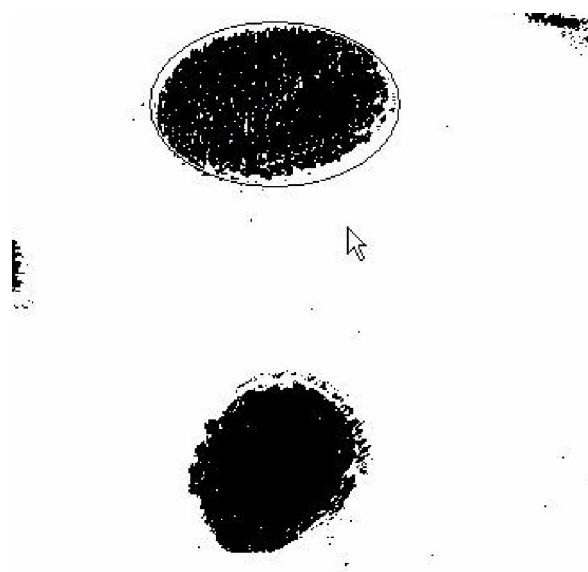


FIGURA 25: Delimitação da lesão após binarização, e evidência da área com aspecto de uma elipse.

Na FIG.26 (a) observa-se uma lesão que apresenta uma contração dos bordos como uma reação biológica característica da evolução do processo de cicatrização, tornando o

aspecto irregular, diferente do formato inicial equivalente a uma elipse, proposto para o cálculo da referida área utilizando a técnica do Paquímetro. Enquanto que na FIG.26 (b) mostra a lesão após o processo de tratamento da imagem através da binarização, que possibilita demarcar a lesão de preto, onde se percebe nitidamente o contorno bem delimitado da ferida, permitindo o cálculo da referida área de maneira mais confiável pela técnica que utiliza a contagem do número de pixels no interior do formato evidenciado.

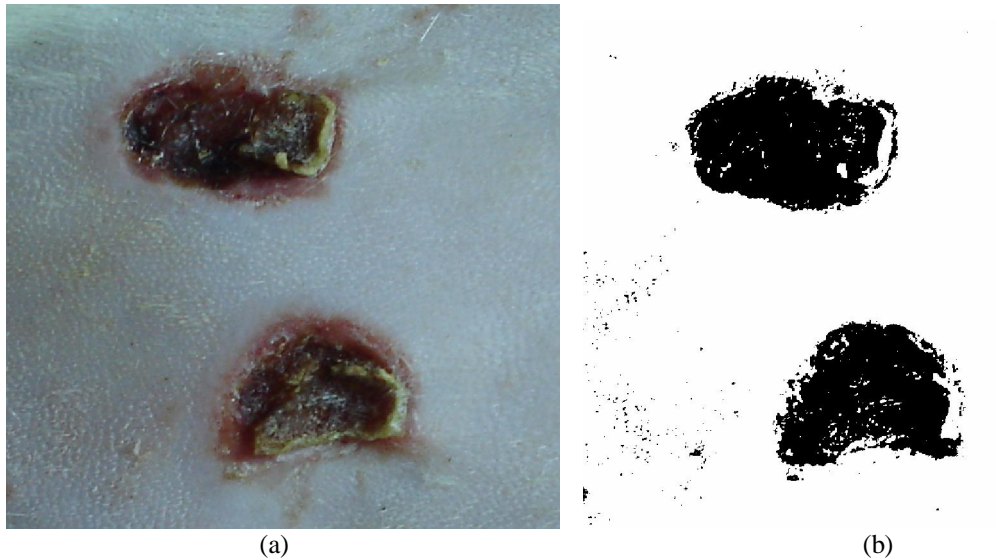


FIGURA 26: Ferida com aspecto irregular (a), a após sua binarização (b).

A FIG.27 apresenta o momento da utilização do paquímetro para registro das medidas transversal (a) e horizontal da ferida (b), onde fica evidente a dificuldade de determinar os limites referenciais dos bordos da lesão, para o cálculo da área.

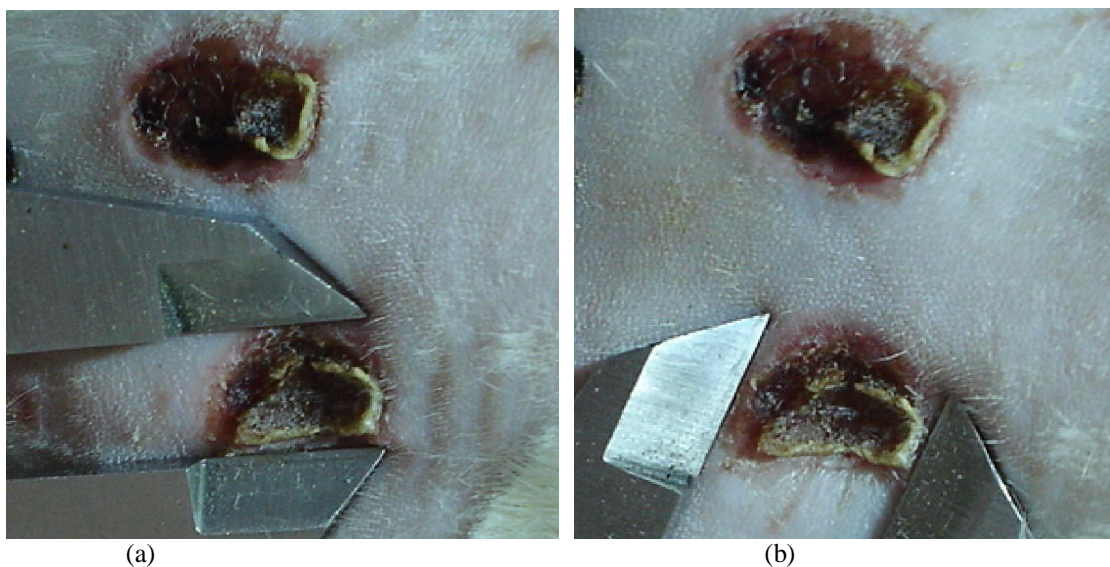


FIGURA 27: Medida Transversal (a) e horizontal (b) com Paquímetro

Para o cálculo da área da ferida inferior da FIG.27, desenvolveu-se as seguintes equações com referência nas medidas registradas com Paquímetro e com a técnica de tratamento de imagem, pela contagem do número de pixels:

$$\begin{aligned} \text{Paquímetro: } A &= \frac{\pi \times a \times b}{4} \\ A &= \frac{\pi \times 7,2 \times 9,5}{4} \\ A &= \frac{\pi \times 214,77}{4} \\ A &= 53,69 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

Onde “A” representa a área, “a” a medida horizontal e “b” a medida transversal.

Análise de Imagem:

$$\begin{aligned} A &= \text{N}^\circ \text{ de pixels no interior da lesão} \times \text{constante (área de um pixel)} \\ A &= 17.010 \times 0,00271 \\ A &= 46,09 \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

Nota-se que as técnicas utilizadas para medição de área neste caso não revelaram resultados semelhantes.

A FIG.28 ilustra uma possível falha na técnica do Paquímetro que calcula a área da ferida, através de dados que retratariam uma lesão com formato imaginário e errôneo de uma elipse, superestimando, desta forma, o valor supostamente verdadeiro da área.

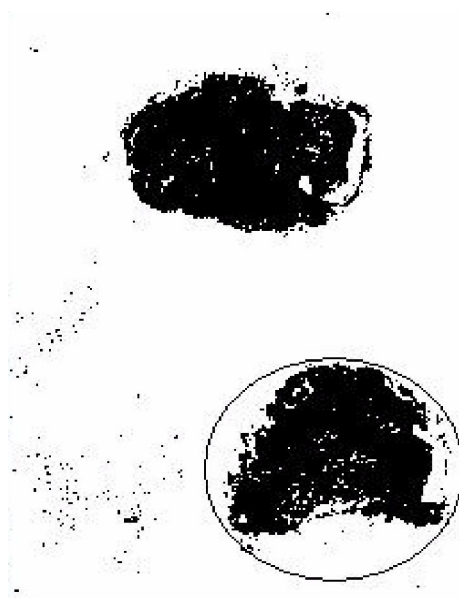


FIGURA 28 Delimitação da lesão após binarização, e tracejado de linha retratando possível área, erroneamente, calculada pela técnica do paquímetro.

4.2.4 - Avaliação da Taxa de Cicatrização

Como ficou demonstrado, a técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens para avaliação do processo de cicatrização em função da redução das feridas garante melhor confiabilidade metrológica em relação ao paquímetro. Tornou-se, então, conveniente observar os resultados desta técnica como referência para análise da taxa de cicatrização das lesões nos Grupos comparados. A TAB.8 mostra os dados dos Grupos Bilateral e Controle para o cálculo da taxa de cicatrização ao longo do tempo em função do grau de redução da área, medida em períodos. O período corresponde ao intervalo entre os dias pré-determinados para medição da área das lesões. A coluna de taxa média por dia, registra o valor da redução da área em determinado período dividido pelo número de dias relativo aquele período. A taxa média foi definida em mm² por dia. Quanto maior a redução da área, maior é a taxa de cicatrização da lesão naquele período. Tornou-se conveniente definir os valores da área média inicial com equivalência de 100 mm², padronizada para todos os grupos, para uma melhor interpretação e registro da Taxa média de cicatrização.

TABELA 8 Taxa de cicatrização dos Grupos Controle e Bilateral

Tempo	Grupo	n	Área Média	Período (dias)	Redução por período (mm²)	Taxa média (mm² / dia)
1° dia	controle bilateral	20 20	100,0 100,0			
3° dia	controle bilateral	20 20	82,4 76,0	1° ao 3°	17,6 24,0	5,8 8,0
6° dia	controle bilateral	20 20	81,8 64,4	3° ao 6°	6,0 11,6	2,0 3,8
9° dia	controle bilateral	20 20	65,4 49,2	6° ao 9°	16,4 15,2	5,5 5,0
15° dia	controle bilateral	20 20	27,6 14,1	9° ao 15°	37,8 35,1	6,3 5,8
20° dia	controle bilateral	20 20	12,4 7,0	15° ao 20°	15,2 7,1	3,0 1,4
23° dia	controle bilateral	20 20	5,7 1,1	20° ao 23°	6,7 5,9	2,2 1,9
28° dia	controle bilateral	20 20	1,6 0,0	23° ao 28°	4,1 1,1	0,8 0,2
30° dia	controle bilateral	20 20	0,0 0,0			

O laser foi aplicado somente nos 10 primeiros dias e posteriormente observado o efeito contínuo de sua ação nos tecidos ao longo de 30 dias. Sabendo-se que esse efeito persiste por um tempo, mesmo após ter cessado a aplicação do laser (FUKABORI, 2003).

Pela avaliação da coluna de taxa média da TAB.8, percebe-se que as diferenças foram maiores nos primeiros dias, principalmente até o sexto dia, ou seja, no grupo bilateral as lesões sofreram um processo de redução de modo mais acentuado em comparação proporcional as lesões do Grupo controle nos primeiros momentos. Portanto, o laser parece exercer um efeito mais efetivo nesses dias iniciais, promovendo uma taxa de cicatrização mais intensa em relação a meados e fim do processo de cicatrização. No período do 15º ao 20º dia houve uma taxa média de cicatrização significativamente maior do grupo controle em relação ao bilateral. Porém, as lesões do grupo bilateral já estavam em processo avançado de cicatrização e, portanto tem a taxa naturalmente reduzida nesta fase. Considera-se que as feridas do grupo bilateral cicatrizaram no 23º dia, enquanto que no Grupo Controle as feridas cicatrizaram no 28º dia.

TABELA 9: Taxa Média de cicatrização por fase nos Grupos Controle e Bilateral

Fase (dias)	Grupo	Redução por Fase (mm²)	Taxa média (mm² / dia)
1º ao 9º	Controle	34,6	3,84
	Bilateral	50,8	5,64
9º ao 23º	Controle	59,7	4,26
	Bilateral	48,1	3,43

A TAB.9 mostra a taxa média de cicatrização das lesões dos grupos bilateral e controle, registrada em mm² por dia, referente aos valores de redução das áreas, em função de duas fases, compreendidas entre o 1º e 9º dia (relativo aos dias de aplicação do laser), e o 9º e 23º dia (relativo ao fim da cicatrização no grupo bilateral). Nota-se que na primeira fase, a taxa média de cicatrização é significativamente maior no grupo bilateral, permitindo a cicatrização final das lesões deste grupo no 23º dia. Enquanto que na segunda fase a taxa foi

maior no grupo controle, porém, as lesões deste grupo só cicatrizaram no 28º dia. Ficando demonstrado que a ação do laser foi mais efetiva nos dias iniciais.

No Grupo unilateral, em que foram comparadas as lesões esquerdas (irradiadas) com as lesões direitas (não irradiadas), considera-se que todas cicatrizaram no 23º e que o processo de cicatrização ao longo dos dias ocorreu de maneira semelhante, evidenciando o efeito sistêmico. Contudo, foi observado nos dois primeiros períodos (1º ao 3º dia e 3º ao 6º dia), pela coluna de taxa média da TAB.10, que o laser promoveu um efeito mais acelerado no processo de cicatrização das lesões esquerdas. Sugerindo que, o efeito direto da luz no local da aplicação parece ter promovido uma reação biológica que intensificou a redução das lesões esquerdas em comparação ao lado direito, nesses dias, sendo que o laser foi aplicado somente nos dez primeiros dias. Porém, nos outros períodos, o lado direito teve uma taxa de cicatrização um pouco maior que o esquerdo, o que proporcionou uma completa cicatrização equivalente das duas lesões no 23º dia.

TABELA 10: Taxa de cicatrização no Grupo Unilateral Direito e Esquerdo

Tempo	Lateralidade	n	Média	Período (dias)	Redução por período (mm²)	Taxa média (mm² / dia)
1º dia	esquerdo	10	100,0			
	direito	10	100,0			
3º dia	esquerdo	10	66,8	1º ao 3º	33,2	11,0
	direito	10	71,3		28,7	9,5
6º dia	esquerdo	10	50,3	3º ao 6º	16,5	5,5
	direito	10	60,6		10,7	3,5
9º dia	esquerdo	10	39,3	6º ao 9º	11,0	3,6
	direito	10	49,0		11,6	3,8
15º dia	esquerdo	10	8,8	9º ao 15º	30,5	5,0
	direito	10	11,8		37,2	6,2
20º dia	esquerdo	10	2,6	15º ao 20º	6,2	1,2
	direito	10	3,1		8,7	1,7
23º dia	esquerdo	10	0,4	20º ao 23º	2,2	0,7
	direito	10	0,2		2,9	0,9
28º dia	esquerdo	10	0,0			
	direito	10	0,0			
30º dia	esquerdo	10	0,0			
	direito	10	0,0			

A TAB.11 mostra a taxa média de cicatrização das lesões do grupo unilateral, registrada em mm² por dia, referente aos valores de redução das áreas, em função de duas fases, compreendidas entre o 1º e 9º dia (relativo aos dias de aplicação do laser), e o 9º e 23º

dia (relativo ao fim da cicatrização das lesões esquerdas e direitas do grupo unilateral). Nota-se que na primeira fase, a taxa média de cicatrização é maior nas lesões esquerdas, enquanto que na segunda fase a taxa foi maior nas lesões direitas. Ficando demonstrado que a ação do laser aplicado nas lesões esquerdas exerceu um efeito sistêmico favorável às lesões direitas, permitindo a cicatrização final das lesões direitas e esquerdas deste grupo no 23º dia.

TABELA 11: Taxa Média de Cicatrização por fase no Grupo Unilateral Direito e Esquerdo.

Fase (dias)	Grupo	Redução por Fase (mm²)	Taxa média (mm² / dia)
1º ao 9º	Esquerdo	60,7	6,74
	Direito	51,0	5,66
9º ao 23º	Esquerdo	38,9	2,77
	Direito	48,8	3,48

Para analisar a taxa de redução das lesões direitas do grupo Unilateral em comparação com as do Grupo Controle, foi avaliado a coluna de taxa média da TAB.12, e percebe-se que as diferenças foram maiores nos primeiros dias, principalmente até o sexto dia, ou seja, lesões direitas do Grupo Unilateral sofreram um processo de redução de modo mais acentuado em comparação proporcional as lesões do Grupo controle nos primeiros momentos. Portanto, o efeito sistêmico do laser parece exercer uma ação efetiva nas lesões direitas, promovendo uma taxa de cicatrização maior nos dias iniciais em relação a meados e fim do processo de cicatrização, quando comparadas com o grupo controle. No período entre o 15º e 20º dia houve uma taxa média de cicatrização significativamente maior do grupo controle em relação às lesões direitas do grupo unilateral. Porém, as lesões direitas já estavam em processo avançado de cicatrização e, portanto têm a taxa reduzida nesta fase. Considera-se que as feridas direitas do grupo unilateral cicatrizaram no 23º dia, enquanto que no Grupo Controle as feridas cicatrizaram no 28º dia.

TABELA 12: Taxa de Cicatrização no Grupo Unilateral Direito e Controle

Tempo	Grupo	n	Média	Período (dias)	Redução por período (mm²)	Taxa média (mm²/ dia)
1° dia	controle unilateral direito	20 10	100,0 100,0			
3° dia	controle unilateral direito	20 10	82,4 71,3	1° ao 3°	17,6 28,7	5,8 9,5
6° dia	controle unilateral direito	20 10	81,8 60,6	3° ao 6°	6,0 10,7	2,0 3,5
9° dia	controle unilateral direito	20 10	65,4 49,0	6° ao 9°	16,4 11,6	5,5 3,8
15° dia	controle unilateral direito	20 10	27,6 11,8	9° ao 15°	37,8 37,2	6,3 6,2
20° dia	controle unilateral direito	20 10	12,4 3,1	15° ao 20°	15,2 8,7	3,0 1,7
23° dia	controle unilateral direito	20 10	5,7 0,2	20° ao 23°	6,7 2,9	2,2 0,9
28° dia	controle unilateral direito	20 10	1,6 0,0	23° ao 28°	4,1	0,8
30° dia	controle unilateral direito	20 10	0,0 0,0			

A TAB.13 mostra a taxa média de cicatrização das lesões dos grupos unilateral direito e controle, registrada em mm² por dia, referente aos valores de redução das áreas, em função de duas fases, compreendidas entre o 1° e 9° dia (relativo aos dias de aplicação do laser), e o 9° e 23° dia (relativo ao fim da cicatrização no grupo unilateral direito). Nota-se que na primeira fase, a taxa média de cicatrização é significativamente maior no grupo unilateral direito, permitindo a cicatrização final das lesões deste grupo no 23° dia. Enquanto que na segunda fase a taxa foi maior no grupo controle, no entanto, as lesões deste grupo cicatrizaram no 28° dia. Ficando demonstrado que o efeito sistêmico do laser propiciou uma aceleração da cicatrização das lesões direitas do grupo unilateral mais intensa nos dias iniciais em comparação ao grupo controle.

A taxa de cicatrização com a técnica do paquímetro encontra-se no anexo H.

TABELA 13: Taxa Média de cicatrização por fase no Grupo Unilateral Direito e Controle

Fase (dias)	Grupo	Redução por Fase mm²	Taxa média (mm²) / dia
1º ao 9º	Controle	34,6	3,84
	Unilateral Direito	51,0	5,66
9º ao 23º	Controle	59,7	4,26
	Unilateral Direito	48,8	3,48

4.3 - Discussões

Os efeitos da radiação laser de baixa potência no processo de regeneração tecidual tem sido tema de diversos estudos, como de BISHT *et al* (1994) que afirma em estudo que a reparação tecidual é favorecida pela epitelização e proliferação de fibroblastos nas áreas irradiadas. No entanto, HALL *et al* (1994) em um estudo para avaliar o efeito do laser de GaAlAs na cicatrização de feridas em ratos, concluíram que o uso do laser não produziu resultados significativos, pelas observações clínicas e histológicas semelhantes encontradas na comparação entre os grupos.

A utilização dos ratos Wistar nesta pesquisa foi baseada no estudo de SANTOS HEREDERO (1996) sobre o modelo experimental de queimaduras, em que o autor afirma que os animais mais freqüentemente utilizados nessas pesquisas são os ratos Wistar, por terem baixo custo, maior resistência à infecção e facilidade de produção de diferentes tipos de queimaduras.

Antes da realização do experimento desse estudo, procurou-se estabelecer uma padronização de confecção das feridas através da determinação do tempo de permanência do bastão imerso no nitrogênio líquido e do tempo de contato deste com o dorso do rato. Estes

foram definidos, através de estudo piloto, em 10 minutos para imersão e 1 minuto para contato com o rato.

Para confirmar se a padronização estava produzindo o mesmo grau de lesão nos tecidos foram selecionados 5 ratos para realização do teste piloto, com a produção de duas lesões em cada animal. Foi realizado 1 biopsia para cada lesão no pós-operatório, totalizando 10 laminas histopatológicas. O resultado foi o mesmo para todas as lesões, ou seja, fragmento de pele mostrando epiderme delgada, derme edemaciada e discretamente congesta e com folículos pilosos dilatados, com focos de necrose e circundados por células inflamatórias.

Nenhum animal utilizado em todo o trabalho foi sacrificado.

No presente Trabalho optou-se pela aplicação do laser diariamente de acordo com KANA et al (1981); ROCHKIND et al (1989); HALL et al (1994); YU et al (1997) e ANDERS et al (2002). O laser foi aplicado nos dez primeiros dias.

O modo de aplicação do laser foi o pontual, com base em alguns estudos como de IN de BRAEKT, 1991 e CARRILLO, 1990. A irradiação foi no centro da lesão, em única sessão diária. O laser foi aplicado à distância de 1mm para evitar contato direto com a ferida cirúrgica.

O aparelho de laser utilizado foi o diodo de GaAlAs, baseado em alguns autores como YOUNG et al (1990); HALL *et al* (1994); SIMUNOVIC *et al*, (2000); AMORIM (2001); PUGLIESE (2003), com comprimento de onda de 660nm no espectro vermelho, que tem menor poder de penetração no tecido em relação ao infravermelho, sendo mais adequado ao tratamento de feridas superficiais e abertas.

A densidade de energia utilizada neste estudo foi de 4 J/cm², baseada em diversos estudos como de KANA, (1981); TRELLES, MESTER, (1984); BIHARI, MESTER, (1989); MESTER, E.; MESTER, A.; MESTER, A.(1985); FERNANDO, HILL, WALKER, (1993); AMORIN (2001); CARVALHO (2003); PUGLIESE (2003); ANDERS *et al*(2002).

A opção de se utilizar o nitrogênio líquido para provocar as queimaduras nos ratos foi embasada nos trabalhos de RIBEIRO (2004) e NÚÑEZ (2002). Porém, optou-se pela utilização do nitrogênio líquido para o resfriamento de um bastão de aço inoxidável, proposto neste trabalho, para padronização das lesões, o qual foi idealizado e desenvolvido no laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Engenharia Mecânica da UFMG.

Neste trabalho foi proposto, além do paquímetro, um sistema de aquisição e tratamento de imagens para avaliação do processo de evolução de cicatrização das feridas, ao longo do tempo, baseado no trabalho de OLIVEIRA (2005).

No presente Trabalho foram observados resultados semelhantes aos encontrados por ROCHKIND et al (1989), no que se refere à caracterização do efeito sistêmico do laser, analisado pela evolução de cicatrização mais rápida das lesões direitas não irradiadas do Grupo B, no qual as lesões esquerdas foram irradiadas, em comparação ao Grupo C que não recebera nenhuma irradiação a laser.

Quanto à taxa de cicatrização foi observado que as lesões que se beneficiaram da irradiação com laser sofreram um processo de redução de modo mais acentuado nos primeiros dias em comparação as lesões do Grupo controle. Portanto, o laser exerceu um efeito mais efetivo nos dias iniciais, em concordância com FUKABORI (2003) e AZEVEDO (2006), promovendo uma taxa de cicatrização maior nesse período.

A análise com paquímetro não define corretamente a área da lesão devido à dificuldade técnica de delimitação dos bordos. Isto ocorre principalmente nos primeiros dias, quando a lesão sofre processo inflamatório e alterações morfológicas até o estabelecimento definitivo da ferida. Esta dificuldade de medição também ocorre nos últimos dias, onde o processo de cicatrização promove uma contração dos bordos da ferida, tornando-a às vezes com aspecto irregular. Isso dificulta a medição com o paquímetro e principalmente o cálculo da área, já que a forma geométrica identificada não caracteriza o pressuposto de definição da área, com auxílio de paquímetro, pela fórmula equivalente de uma elipse.

Já com a técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens a delimitação da área da lesão fica bem definida pelo contraste do preto e branco determinado pela binarização da imagem, onde todo o contorno e interior da lesão ficam demarcados de preto e sua vizinhança de branco. Mesmo a lesão tendo um formato irregular, esta será bem definida, permitindo assim um registro mais confiável da área real da lesão. Com isso acreditamos que esse método seja uma alternativa eficaz como método de análise de medição, e que pode ser usado em diversas pesquisas científicas.

5 – CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia utilizada neste trabalho e com base na análise dos resultados dos grupos comparados, pode-se concluir que:

- O laser de Arseneto de Gálio e Alumínio com potência de 28mW e dose de 4J/cm², promoveu uma aceleração no processo de cicatrização das feridas quando comparado com grupo controle não irradiado.

- No mesmo rato, o laser de Arseneto de Gálio e Alumínio com potência de 28mW e dose de 4J/cm², aplicado somente na lesão esquerda promoveu um efeito sistêmico que favoreceu a cicatrização da lesão direita.

- As lesões direitas do grupo unilateral, que não receberam irradiação direta, cicatrizaram mais rápido do que às do grupo controle, o que pôde caracterizar o efeito sistêmico benéfico promovido pela absorção da luz laser aplicada nas lesões esquerdas do grupo unilateral.

- Em relação à taxa de cicatrização das feridas nos grupos comparados, pôde-se constatar que o laser parece exercer uma ação mais efetiva nos dias iniciais da cicatrização, tanto pelo efeito local quanto sistêmico, em comparação ao Grupo controle, promovendo uma taxa de cicatrização mais intensa em relação a meados e fim do processo de cicatrização.

- Nos grupos tratados com laser considerou-se que as feridas cicatrizaram no 23º dia, enquanto que no Grupo Controle as feridas cicatrizaram no 28º dia.

- Pelos resultados da calibração das técnicas de medições e pela avaliação do comportamento das lesões na evolução do processo de cicatrização, constatou-se que a variabilidade do mensurando é mais significativa que a incerteza do sistema de medição.

- A técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens é capaz de quantificar melhor o valor da área da lesão em comparação com o paquímetro. Entretanto, o efeito positivo do laser foi atestado com a análise dos resultados obtidos pelas duas técnicas.

- O método de medição pelo sistema de aquisição e tratamento de imagens garante maior confiabilidade metrológica para controle do processo.

5.1 - Trabalhos Futuros

Para trabalhos futuros propõe-se:

- Uma metodologia para melhor definição da intensidade necessária para registrar os limites da imagem a ser analisada (ferida/tecido normal), quando do processo de binarização, usado em sistemas de análise por imagem.
- Utilizar o sistema de aquisição e tratamento de imagens para avaliar a evolução de cicatrização de diferentes tipos de feridas.
- Realizar análise histológica das feridas ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

ALBERTAZZI, A. **Metrologia – Parte I**. Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC, 2001.

ALBUQUERQUE et al. **Análise de Imagens e Visão Computacional**. V Escola do CBPF - Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, julho 2004. Disponível em www.cbpf.br/cat/pdsi/top_escola2004.htm. Acessado em 20.01.06.

AMORIN, J.C.F. **Reparação gengival após a técnica de gengivectomia e aplicação de laser em baixa intensidade**. Avaliação clínica e biométrica em humanos. São Paulo, 2001. 121p. Dissertação (mestrado profissionalizante) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.

ANDERS, J.J.; et al. **FGF expression increases with low power laser irradiation during healing of cutaneous wounds in normal and diabetic *psammomys obesus*** Lasers Surg. Med., suppl. 14, p.12, abstract 41, 2002.

AZEVEDO, L. S. **Laser de hélio-neônio no processo de cicatrização de feridas em ratos**. <http://www.fisionet.com.br/artigos/interna.asp?cod=5>. Acessado em 12-06-2006

BASFORD, J. R. **Low-Energy Laser Therapy: Controversies and New Research Findings**. Laser in Surgery and Medicine. (1989). V 9. P1-5.

BEHRMAN, R. **Tratado de Pediatria**. 14 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, vol 2, 1994.

BIHARI, J.; MESTER, A. R. **The biostimulative effect of low level laser therapy on longstanding crural ulcers using Helium Neon Laser, Helium Neon Laser Plus infrared lasers, and noncoherent light: Preliminary report of a randomised double blind comparative study**. Laser Therapy, v.1, n.2, p.97, 1989.

BISHT, D et al. **Effect of low intensity laser radiation on healing of open skin wounds in rats**. Indian - J - Med - Res, 100, p. 43 - 46, July, 1994.

BLANES, L. **Tratamento de feridas**. Baptista-Silva JCC, editor. Cirurgia vascular: guia ilustrado. São Paulo: 2004. Disponível em: URL: <http://www.bapbaptista.com>. Acessado em 08/02/2006.

BORTOLETTO, R. **Efeito da radiação do laser de baixa potência no potencial de membrana de mitocôndrias em células *in vitro*** 2000. 35f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2000.

BRAVERMAN, B. et al. **Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits**. Lasers Surg. Med., v.9, p.50-58, 1989.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Laser na odontologia moderna**. 1.ed., São Paulo, Pancast, 1998.

CARRILLO, J.S.; et al. **A randomized double blind clinical trial on the effectiveness of helium-neon laser in the prevention of pain, swelling and trismus after removal of impacted third molars**. Int. dent. J., v.40, p.31-36, 1990.

CARVALHO, P. T. C.; MAZZER, N.; SIQUEIRA, J. F. R. **Análise das fibras colágenas através da morfometria computadorizada em feridas cutâneas de ratos submetidos a irradiação do laser HeNe**. Fisioterapia Brasil, v.4, n. 4, p.253-258, 2003.

CARVALHO, P.T.C. **Os efeitos do laser de baixa intensidade em feridas cutâneas induzidas em ratos com diabetes mellitus experimental**. Fisioterapia Brasil. v. 2, n. 4, 2003.

CASTRO, K. C. **utilização da eletroterapia e termoterapia em pacientes com queimadura**. Anais do II Congresso de Fisioterapia da UNIFENAS. Acessado em <http://www.unifenas.br/confisio/anais19.htm>. Acessado em 30 out. 2005.

COULTER, A. **Low-Energy Laser Research in Wound Healing**. Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1994). V 12. N 2. P117-118.

EURIDES, D. et al. **Morfologia e Morfometria da Reparação Tecidual de Feridas Cutâneas de Camundongos Tratadas com Solução Aquosa de Barbatimão.** Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana, v. 2/3, n. 1, p. 37-42 jan./dez. 1995/1996.

FERNANDES, L.R.A. **Fisiologia da Cicatrização – Feridas e Curativos.** Disponível em http://www.unimes.br/aulas/MEDICINA/Aulas2005/1ano/Procedimentos_basicos_em_medicina/feridas_e_curativos.html. Acessado em 20/10/2005.

FERNANDO, S.; HILL, C. M.; WALKER, R. **A randomized double blind comparative study of low level laser therapy following surgical extraction of lower third molar teeth.** Brit. J. oral Maxillofac. Surg., v.31, p.170-172, 1993.

FISHER, J.C. **A Short Glossary of Laser Terminology for Physicians and Surgeons.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1991). October. P345-348.

FISHER, J.C. **Photons, Physiatrics, and Physicians: A Practical Guide to Understanding Laser Light Interaction with Living Tissue, Part I.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1992). V10. N6. P419-426.

FRANDZEL, S. **FDA Approval Process Alarms Industry.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1993). V 11. N. 6 . P348-349.

FUKABORI, A. Y. **Análise clínica da cicatrização de feridas cirúrgicas irradiadas com laser de diodo de baixa potência em palato de cães.** Pesquisa Odontológica Brasileira São Paulo: SBPqO, 2003, v. 17, sup. 2, 2003.

GALEGO, G. N.; SILVEIRA, P.; D'ACAMPORA, A. J. *et al.* **Study of the variation of glucose levels in rats, with the use of sugar in surgical wound.** Acta Cir. Bras., July/Aug./Sept. 1997, vol.12, no.3, p.174-177.

GOMES, F.S.L; CARVALHO, D.V. **Tratamento de Ferida: Revisão da Literatura.** Rev. Min. Enf, 6(1/2). P.67-72, jan./dez., 2002.

HALL, G. et al. **Effect of low-level energy laser irradiation on wound healing. An experimental study in rats.** Swed. Dent. J., v.18, p.29-34, 1994.

HARRIS, D.M. **Biomolecular Mechanisms of laser biostimulation.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery., v.9, n.4, p.277-79, Aug. 1991.

HOYAMA *et al.* **Tratamento de feridas cutâneas extensas usando tecido dérmico acelular porcino com e sem cobertura impermeável .** An Bras Dermatol. 80(4), p.369-74, 2005.

IN de BRAEKT, M M.H.; et al. **Effect of low level laser therapy on wound healing after palatal surgery in Beagle dogs.** Lasers Surg. Med., v.11, p.462-70, 1991.

INMETRO. **Vocabulário internacional de termos fundamentais e gerais de metrologia.** 3. ed. Rio de Janeiro, 2003. 75p.

JUNIOR, J. de Felipe. **Pronto Socorro. Fisiopatologia, Diagnóstico e Tratamento.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1990.

KANA, J.S. et al. **Effect of low power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats.** Arch. Surg., v.116, p.293-296, 1981.

KARU, T. **A suitable model for wound healing: how many times are we to stumble over the same black?** Lasers Surg. Med., v.25, p.283, 1999.

KARU, T. **Photobiology of low power laser effects.** Health Physics, v.56, n.5, p.691-704, 1989.

KASAI, SHINICHI, et al. **Effect of Low-Power Irradiation on Impulse Conduction in Anesthetized Rabbits.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1996). V 14. N 3. P107-113.

KREISLER, M. et al. **Low-level 809nm diode laser induced *in vitro* stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts.** Lasers Surg. Med., v.30, p.365-69, 2002.

KUCEROVA, H., DOSTALOVA, T., HIMMLOVA, L., BARTOVA, J., MAZANEK, J. **Low-Level Laser Therapy after Molar Extraction.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (2000). V 18. N 6. P309-315.

LABRE, R.F. et al. **Laser Photobioactivation mechanisms: in vitro studies using ascorbic acid uptake and hydroxyproline formation as biochemical markers of irradiation response.** Lasers Surg. Med., v.10, p.201-07, 1990.

LAGAN, H.M.; et al. **Low intensity laser therapy (830nm) in the management of minor postsurgical wounds. A controlled clinical study.** Lasers Surg. Med., v.28, n.1, p.27-32, 2001.

LAGAN, K., DONOUGH, S., CLEMENTS, A., BAXTER, G.D. **A Case Report of Low Intensity Laser Therapy (LILT) in the Management of Venous Ulceration: Potencial Effects of Wound Debriment upon Efficacy.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (2000). V 18. N 1. P15-22.

LILGE, L., TIERNEY K., NUSSBAUM, E. **Low-Level Laser Therapy for Wound Healing: Feasibility of Wound Dressing Transillumination.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (2000). V 18. N 5. P235-240.

LOWE, A.S.; et al. **Effect of low intensity monochromatic light therapy (890nm) on a radiation impaired, wound healing model in murine skin.** Lasers Surg. Med. V.23, p.291-98, 1998.

MANDELBAUM, S. H; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. **Cicatrizacion: current concepts and auxiliary resources - Part II.** An. Bras. Dermatol., vol.78, no.5, p.521-522, Sept./Oct. 2003.

MEDEIROS, A. C. **Tratamento tóxico de queimaduras do dorso de ratos com ácido hialurônico.** Acta Cir. Bras. vol.14 n.4 São Paulo Oct./Dec. 1999.

MENEZES, E. L. M.; SILVA, M. J. **A Enfermagem no Tratamento dos Queimados.** São Paulo: EPV Ed. USP, 1988.

MESTER, A. F; MESTER, A. **Wound healing**. Laser Therapy, v.1, n.1, p.7, 1989.

MESTER, E.; MESTER, A.; MESTER, A. **The biomedical effects of laser application**. Lasers Surg. Med., v.5, n.1, p.31-9, 1985.

MESTER, E., SPITY, T., SZENDE, B., TOTA, J.G. **Effect of Laser Rays on Wound Healing**. The Americans Journal of Surgery. (1971). V122. October. P532-535.

MEYER, T.N.; SILVA, A.L. **A Standard Burn Model Using Rats**. Acta Cir. Bras. vol.14 n.4 São Paulo Oct./Dec. 1999.

MISERENDINO, L.J.; PICK, R.M. **Lasers in dentistry**. Quintessence Publishing, 1995. 341p.

MORITZ, A., GUTKNECHT, N. DOERTBUDAK, O., GOHARKHAY, K., SCHOOP U. SCHAUER, P., SPERR, W. **Bacterial Reduction in Periodontal Pockets Through Irradiation with a Diode Laser: A Pilot Study**. Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1997). V 15. N 1. P33-37.

NOVATO, D.A.; CARVALHO, D.V. **Tratamento de Feridas: Uma Contribuição ao Ensino de Enfermagem**. Rev. Min. Enf., 4(1/2), p.47-51, jan./dez., 2000.

NÚÑEZ, S. C. **Efeito do laser de hélio neônio sobre a microcirculação sanguínea durante a reparação tecidual - Estudo in vivo por meio de fluxometria laser doppler**. 2002. 77f. Dissertação (Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares / Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OHSHIRO, T., CALDERHEAD, G. **Development of Low Reactive Level Laser Therapy and Its Present Satus**. Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1991). August. P267-275.

OLIVEIRA, R. M. B. **Metodologia Experimental para Obtenção das Curvas Força Alongamento com e sem Ciclagem em Elásticos Ortodônticos, por meio de um Sistema de Aquisição e Tratamento de Imagem.** 2005. 126f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Minas Gerais.

OLIVEIRA, S. T. et al. **Formulações de Confrei (*Symphytum Officinale L.*) na Cicatrização de Feridas Cutâneas de Ratos.** Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguaiana, v.7/8, n.1, p. 61-65, 2000/01.

O'SULLIVAN, S. B.; SCHIMITZ, T. J. **Fisioterapia Avaliação e Tratamento.** 2 ed. São Paulo: Manole, 1993.

PFEIFFER, N. S. **Laser-Induced Analgesia: Major Study Attempts to Secure Concrete Data.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1990). April. P12-14

PINHEIRO, A.L.B., CAVALCANTI, E.T., PINHEIRO, T.I.T.N.R., ALVES, M.J.P.C., MIRANDA, E.R., QUEVEDO, A.S., MANZI, C.T.^a, VIEIRA, A.L.B., AND ROLIM, A.B. **Low-Level Laser Therapy Is an Important Tool to Treat Disorders of the Maxillofacial Region.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1998). V 16. N 4. P223-226.

PRATA, M.; HADDAD, C.; GOLDENBERG, S. et al. **Uso tópico do açúcar em ferida cutânea. Estudo experimental em rato.** Acta Cir Bras, v. 3, n. 2, p.43-48, 1988.

PUGLIESE, L. S. **The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers.** Pesqui Odontol Bras.; 17(4), p.307-13, 2003.

REZENDE, S. B. **Ação do diodo laser (= 830nm) sobre o processo de cicatrização de lesões cutâneas: estudo biométrico e histológico em ratos.** 2001. Dissertação (Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares / Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

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

RIBEIRO, M. S. **Effects of low-intensity polarized visible laser radiation on skin burns: a light microscopy study.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. Feb, Vol. 22, No. 1, p.59-66, 2004.

RIBEIRO, M.S.; ZECELL, D. M.P. **Laser de baixa intensidade.** In: GUTKNECHT, N; EDUARDO, C. P. A Odontologia e o Laser - Atuação do laser na Especialidade Odontológica. 1 ed. São Paulo: Quintessence Editora, cap. 5,p. 217-236, 2004.

RICO, F.A., MANZANARES, M.T.L., CLAROS, M.L. **β -Endorphin Response in Blood and Cerebrospinal Fluid after Single and Multiple Irradiation with HeNe and GaAs Low-Power Laser.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. v. 12, n.1, p.1-6, 1994.

RIGAU, J. **Acción de la luz láser a baja intensidad en la modulación de la función celular.** Reus, 1996. Tese (Doutorado em Histologia) - Facultad de Medicina i Ciència de la Salut. Univ. Rovira i Virgili.

ROBICSEK, S. **The 3rd annual reporto f the Austrian Dental Association.** J. Periodontal, v.36, p.265, 1965 apud LINDHE, J. Tratado de periodontia e implantodontia oral. Rio de Janeiro, 3rd ed., Guanabara Koogan, 1999c, 720p.

ROCHKIND, S. et al. **Systemic effects of low power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns.** Lasers Surg. Med., v.9, p.174-182, 1989.

RUSSO, A.C. **Tratamento das Queimaduras.** São Paulo: Sarvier, 1976.

RYDÉN, H. et al. **Effect of low power level energy laser irradiation on gingival inflammation.** Swed. dent. J., v.18, p.35-41, 1994.

SANSEVERINO, N.T.M. **Avaliação do laser de baixa intensidade de GaAlAs no tratamento das disfunções da articulação têmporo-mandibular.** Dissertação de Mestrado – Laser em Odontologia, IPEN/FOUSP, 2001.

SANTOS HEREDERO, F.X. **Experimental burn models** Annals of Burns and Fire Disasters - vol. IX - n. 2 - June 1996.

SCHAWLOW, ARTHUR L. **Principles of Lasers**. Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1995). V 13. N 3. P127-130.

SCURI, A. E. **Fundamentos da Imagem Digital**. Tecgraf/PUC-Rio, Janeiro de 1999. Disponível em www.tecgraf.puc-rio.br/~rtoledo/cg1/apostila%20imagem%20digital.pdf. Acessado em 20/01/06.

SILVEIRA, J. C.; LOPES, E. E. **Alguns aspectos do comportamento do mastócito sob ação do raio laser de GaAs-904 nm. (Estudo experimental em cobaias - *Cavia Porcellus*)**. Arq Cent Estud Curso Odontol, v.28, n.1/2, p.73-96, jan./dez. 1991.

SIMUNOVIC, Z., IVANKOVICH, A.D., DEPOLO, A. **Wound Healing of Animal and Human Body Sport and Traffic Accident Injuries Using Low-Level Laser Therapy Treatment: A Randomized Clinical Study of Seventy-Four Patients with Control Group**. Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (2000). V 18. N 2. P67-73.

SMITH, K. **The photobiological basis of low-level laser radiation therapy**. Laser Ther., v.3, n.1, p.19-24, 1991. apud RIBEIRO, M.S. Curso clínico de laser em odontologia. Apostila de curso FUNDECTO – USP, São Paulo, 2001.

SOBUE, J.K. **Imagem Digital – Representação e Manipulação Matemática**. Disponível em www.upis.br/revistavirtual/tratam_imagem.pdf . Acessado em 20/10/2005.

STEFFANI, J. A. et al. **Avaliação dos efeitos das microcorrentes nas lesões decorrentes de queimaduras de 3º grau**. Disponível em http://www.doutorbusca.com.br/artigos/showquestion_eng.asp?faq=27&fldAuto=176. Acessada em 23/03/2006.

TAM, GIUSEPPE. **Low Power Laser Therapy and Analgesic Action**. Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1999). V 17. N 1. P29-33.

TANG, J., ZENG, F., SAVAGE H., PEI HO, P., AND ALFANO, R.R. **Fluorescence Spectroscopic Imaging to Detect Changes in Collagen and Elastin Following Laser Tissue** Welding. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. (2000). V 18. N 1. P3-8.

TIPHLOVA, O., KARU, T. **Role of Primary Photoacceptors in Low-Power Laser Effects: Action of He-Ne Laser Raciation on Bacteriophage T4-*Escherichia coli* Interaction.** *Laser in Surgery and Medicine*. (1989). V 9. P67-69.

TRELLES, M. A.; MESTER, A. **Ulceras crónicas en las extremidades inferiores.** *Inv Clin Laser I*, v.2, p.32, 1984.

TSAI, J., DAO, M. **The Biological Effects of Low Power Laser Irradiation on Cultivated Rat Glial and Glioma Cells.** *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. (1991). February. P35-41.

TSUCHIDA, T., AIZAWA, K., BABA, J., FURUKAWA, K., YAMAMOTO, H., KAWATE, N., KONAKA, C., KATO, H., HAYATA, Y., ISHITSUKI M. **Wound Healing in Mice Using He-Ne Scanning Laser.** *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. (1991). August. P265-266.

TUNÉR, J.; HODE, L. **It's all in the parameters: A critical analysus of some well-known negative studies on low-level therapy.** *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. v.16, n.5, p.245-48, 1998.

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

VILELA, A. L. M. **Sistema Tegumentar – Estrutura do Tegumento.** Disponível em <http://www.afh.bio.br/tegumentar/tegumentar.asp>. Acessado em 20/05/06.

WEBB, C.; DYSON, M.; LEWIS, W.H.O. **Stimulatory effect of 660nm low level laser energy on hypertrophic scar derived fibroblasts: Possible mechanisms for increase in cell counts.** *Lasers Surg. Med.*, v.22, p.294-301, 1998.

WIST, A.O., MOON, P., MEIKSIN, Z., HERR, S.L. AND FATOUROS, P.P. **High Resolution Light Imaging System for Teeth and Tissues.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1993). V 11. N 3. P313-321.

YAMAMOTO, Y., KONO, T., KOTANI, H., KASAI, S., MITO, M. **Effect of Low-Power Laser Irradiation os Procollagen Synthesis in Human Fibroblasts.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1996). V 14. N 3. P129-132.

YOUNG, S. R.; DYSON, M.; BOLTON, P. **Effect of light on calcium uptake by macrophages.** Laser Therapy, v.2, n.2, p.53-57, 1990.

YU, W.; NAIM, J.O.; LANZAFAME, R.J. **Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice.** Lasers Surg. Med., v.20, n.1, p.56-63, 1997.

ZARKOVIC, N., MANEV, H., PERICIC, D., SKALLA, K., JURIN, M., PERSIN, A., AND KUBOVIC, M. **Effect of Semiconductor GaAs Laser Irradiation on Pain Perception in Mice.** Laser in Surgery and Medicine. (1989). V 9. P63-66.

ZHANG, X.Y., AL-WATBAN, F.A.H. **The Effect of Low-Power He-Ne and He-Cd Laser Therapy on Wound Healing of Rats.** Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. (1994). V 12. N 6. P327-329.

ANEXO A

CERTIFICADO DE CALIBRAÇÃO

DATA: 04/11/05

1. OBJETIVO

Calibração de um Paquímetro “MITUTOYO”, a fim de conhecer as características metrológicas e compara-las com as especificações do fabricante.

2. PAQUÍMETRO A CALIBRAR (SPC)

Proprietário: LABORATORIO DE METROLOGIA – DEMEC/UFMG

Fabricante: MITUTOYO

Número de Série: 3315647

Faixa de Indicação: 0 a 150 mm

Valor de uma Divisão: 0,02 mm

Estado de Conservação: Bom

3. SISTEMA DE MEDIÇÃO PADRÃO (SMP)

Blocos Padrão de Cerâmica

Fabricante: Mitutoyo

Número de Série (fabricante): 0108123

Incerteza do SMP: $(0.10 + 1.0L/1000) \mu m$

Rastreável aos padrões primários conforme Certificado de Calibração N° 121/2001

4. PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Medições com Bicos do Paquímetro – Medição Externa

A calibração foi realizada medindo-se com um paquímetro as dimensões individuais de cada bloco padrão, onde foram realizados 09 (nove) ciclos de medição com objetivo de registrar a Repetibilidade (95%) do paquímetro. Sendo anotados os respectivos valores de leituras e do bloco padrão. Logo os blocos foram ordenados e medidos em 09 seqüências até abranger a faixa de indicação do instrumento.

Na calibração foi adotado procedimento de calibração, de acordo com especificações da norma DIN 862.

Condições de ensaio: - Temperatura ambiente: $21,0 \pm 0,005$ °C
 - Pressão atmosférica: $1022,0 \pm 0,5$ mbar

5. ANÁLISE DOS RESULTADOS

a) Erro sistemático máximo (tendência máxima)

$T_{dmax} = 0,02$ mm ou $1,33 \times 10^{-2}$ do VFE

b) Repetitividade (95)% máxima:

$R_{max} = (95)\% \pm 0,0022$ mm ou $\pm 1,46 \times 10^{-3}$ do VFE

Obs: VFE = Valor Final de Escala = 150mm

7. CONCLUSÃO

A incerteza do Paquímetro é igual a $\pm 0,02$ mm ou $\pm 0,13\%$ do VFE

A incerteza de medição de um paquímetro depende:

- dos erros da divisão da escala principal;
- dos erros da divisão do nônio;
- da retilineidade dos bicos de medição;
- da perpendicularidade dos bicos de medição em relação à haste e paralelismo entre si;
- dos erros da guia do cursor.

8. PARECER

O paquímetro satisfaz as tolerâncias estabelecidas pela norma DIN 862.

DADOS BRUTOS										
PTOS	SMC	CICLOS SMP								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	7.6	7.6	7.64	7.62	7.64	7.62	7.6	7.62	7.64	7.64
3	15.3	15.3	15.32	15.32	15.3	15.32	15.3	15.32	15.32	15.32
4	25.8	25.8	25.82	25.82	25.8	25.82	25.8	25.82	25.82	25.82
5	38.7	38.7	38.72	38.72	38.7	38.72	38.7	38.72	38.72	38.72
6	53.7	53.7	53.72	53.72	53.7	53.72	53.7	53.72	53.72	53.72
7	71.3	71.3	71.32	71.32	71.32	71.3	71.3	71.32	71.32	71.32
8	91.5	91.5	91.52	91.52	91.52	91.5	91.5	91.52	91.52	91.5
9	114.3	114.3	114.32	114.3	114.32	114.3	114.3	114.3	114.3	114.32
10	139.3	139.32	139.3	139.32	139.3	139.32	139.32	139.32	139.32	139.3

Unidade de Leitura no Sistema de Medição Padrão (SMP): mm

Unidade de Leitura no Sistema de Medição a Calibrar (SMC): mm

TABELA DADOS PROCESSADOS

PTOS	MEDIDA MÉDIA SMC	VALOR VERDADEIRO CONVENCIONAL	TENDÊNCIA		REPETITIVIDADE (±)	
			ABS	% VFE	ABS	% VFE
01	0	0	0	0	0	0
02	7.62	7.6	0.02	1.33×10^{-2}	0.0022	1.46×10^{-3}
03	15.32	15.3	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
04	25.82	25.8	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
05	38.72	38.7	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
06	53.72	53.7	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
07	71.32	71.3	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
08	91.52	91.5	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
08	114.32	114.3	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}
10	139.32	139.3	0.02	1.33×10^{-2}	0.0011	7.33×10^{-4}

Convenção:

ABS: Valor Absoluto

VFE: Valor Final de Escala = 150

Unidade de Análise: mm

Anexo B

CALIBRAÇÃO DA TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DE IMAGEM

A calibração para a técnica de Aquisição e Tratamento de Imagens foi realizada utilizando-se o critério de comparação entre o valor conhecido de um bloco padrão de 100 mm e o número de pixels referentes ao comprimento do bloco, obtidos por meio do *software* Image Pró Plus.

Para verificação do número de pixels na faixa de operação foram realizadas sete medições. Essas medições procederam-se colocando o bloco padrão na direção e na altura da câmera digital referente ao posicionamento do dorso dos ratos. As leituras realizadas do bloco padrão apresentaram os seguintes valores: 1916, 1921, 1921, 1921, 1922, 1922 e 1925. Isto indica que a repetitividade do sistema de medição apresenta um desvio padrão.

A repetitividade, a incerteza do bloco padrão e a resolução limitada são utilizadas para o cálculo da incerteza expandida ($U_{95\%}$) do sistema de medição (TAB.1). A repetitividade foi obtida por meio de dados experimentais com a medida do bloco padrão. A incerteza do bloco padrão foi fornecida pelo fabricante e a resolução do sistema de medição analisado é 1 pixel.

Bloco Padrão 100 mm						
Fonte de Erro		Efeitos Aleatórios				
Tipo	Descrição	Unidade	Valor Bruto	Distribuição	Divisor	$U_{68\%}$
A	Repetitividade	mm	0,053	normal	1	0,053
B	u (bloco)	mm	0,0002	normal	2	0,0001
B	Resolução Limitada	mm	0,052	retangular	1,73	0,03
		mm	Incerteza combinada			0,06
		mm	Incerteza expandida ($U_{95\%}$)			0,12

TABELA 1: Cálculo da incerteza expandida do sistema de medição proposto neste trabalho

Assim, a incerteza expandida foi obtida multiplicando a incerteza combinada por uma constante k que, para 95% de confiabilidade, é 2.

ANEXO C

MEDIDAS DAS ÁREAS COM PAQUÍMETRO
Lesões Esquerdas

Rato	Grupo	E 1°	E 3°	E 6°	E 9°	E 15°	E 20°	E 23°	E 28°	E 30°
1	1	140,1939	135,2459	120,6374	81,4303	31,46	15,818	11,781	0	0
2	1	115,3596	99,7458	93,2663	77,6761	34,5576	16,4934	10,0531	0	0
3	1	153,8677	144,0424	118,8232	73,8274	31,1018	23,4992	17,0118	0	0
4	1	109,7204	79,7338	70,8117	56,5488	28,2744	21,5985	14,4514	0	0
5	1	166,4263	112,3122	84,8232	70,5917	55,2136	40,2125	24,5045	0	0
6	1	170,5103	124,3759	97,4524	79,5296	63,1462	23,7505	14,0272	0	0
7	1	238,7676	173,4006	163,2847	125,2713	34,7147	24,5045	0	0	0
8	1	169,9867	143,7282	110,1288	90,7137	43,9824	18,4427	0	0	0
9	1	164,6292	132,2296	96,4861	82,4667	26,3894	10,1788	0	0	0
10	1	114,7074	125,3495	105,4004	79,2781	65,031	41,2334	32,9867	35,74	0
11	2	169,4579	125,7897	107,2071	94,7501	35,7357	20,7346	17,2788	0	0
12	2	165,4052	97,8766	87,6506	64,2771	20,8131	14,7655	12,6449	0	0
13	2	111,7703	99,0389	86,0956	38,2901	29,531	22,6195	11,781	0	0
14	2	167,6829	125,1613	87,9648	78,3437	42,4587	31,8087	16,4934	0	0
15	2	210,4239	160,2212	129,5907	105,5575	51,8363	24,3473	0,7854	0	0
16	2	133,8322	106,1861	78,2258	61,8503	21,2058	13,4303	0	0	0
17	2	203,4186	151,2366	121,3443	114,6684	38,9558	30,7877	0	0	0
18	2	204,204	158,0618	127,7375	101,081	23,562	8,7965	0	0	0
19	2	176,8092	136,6596	106,956	103,3586	41,0686	12,535	5,0266	0	0
20	2	241,2749	111,3305	103,6728	100,8297	29,1383	10,4458	0	0	0
21	3	138,8587	115,768	97,7352	84,9017	25,3213	13,4303	0	0	0
22	3	150,7968	81,2889	64,717	51,1295	0	0	0	0	0
23	3	225,2135	126,4494	103,1387	95,2298	54,978	11,8753	0	0	0
24	3	183,7836	132,5363	96,6042	75,1471	13,1319	5,1051	0	0	0
25	3	176,715	126,9992	96,1015	70,3718	43,197	8,4823	0	0	0
26	3	163,3632	122,5224	98,175	81,4852	12,4407	0	0	0	0
27	3	123,7005	93,4626	80,425	61,5754	21,7713	0	0	0	0
28	3	163,3632	114,9826	77,7546	71,0629	15,1739	5,7177	0	0	0
29	3	153,9384	90,7608	81,6816	69,1152	21,5985	6,2832	0	0	0
30	3	160,2216	132,1043	88,8287	62,4393	9,896	8,13674	0	0	0

Grupo 1 = controle

Grupo 2 = bilateral

Grupo 3 = unilateral

E = Lesão Esquerda

ANEXO D

MEDIDAS DAS ÁREAS COM PAQUÍMETRO

Lesões Direitas

Rato	Grupo	D 1°	D 3°	D 6°	D 9°	D 15°	D 20°	D 23°	D 28°	D 30°
1	1	147,341	90,7137	78,54	66,3506	22,2141	12,9591	9,4248	0	0
2	1	135,7171	124,0932	112,2179	95,0019	51,6993	22,4624	14,1372	0	0
3	1	157,3942	130,2586	117,81	93,3055	32,6726	21,4885	14,2943	0	0
4	1	148,2128	142,5501	123,3071	105,5735	45,8045	24,8045	15,7237	0	0
5	1	144,3173	109,956	84,4305	60,7743	42,9771	18,9124	20,4204	0	0
6	1	155,8234	130,2586	108,5266	92,5358	56,0776	31,3846	14,255	0	0
7	1	153,6242	117,81	106,029	76,9692	28,942	16,9646	0	0	0
8	1	159,4362	117,81	101,1595	82,0743	25,9182	11,4855	0	0	0
9	1	159,2786	129,7477	115,7676	95,9756	32,9867	19,933	0	0	0
10	1	127,5487	140,5706	120,1659	102,6672	62,6748	38,8772	35,3429	0	0
11	2	197,7009	148,5977	106,029	84,8232	31,2197	21,2058	12,9591	0	0
12	2	175,6154	114,2914	98,9604	43,7939	27,756	20,8131	15,1949	0	0
13	2	134,1463	110,5058	95,9916	52,1506	27,489	25,6355	14,7655	0	0
14	2	190,2234	131,5385	104,458	104,458	37,0708	27,4889	18,8486	0	0
15	2	150,7964	125,271	92,5984	72,8849	27,3319	9,62113	0	0	0
16	2	161,5882	125,3498	106,5631	90,4781	25,9182	15,5038	0	0	0
17	2	155,6034	125,2713	107,1286	96,6465	33,1753	25,447	0	0	0
18	2	178,1287	138,5446	91,4206	67,9528	24,5045	9,4248	0	0	0
19	2	224,0354	131,9472	117,81	84,6661	26,3109	9,8489	0	0	0
20	2	158,3681	89,5356	76,8514	70,686	25,9182	9,4248	0	0	0
21	3	150,6397	135,7957	99,3531	82,467	37,385	15,708	0	0	0
22	3	126,4494	111,3305	75,3984	57,5855	0	0	0	0	0
23	3	179,2283	126,8107	89,8341	82,467	15,708	0	0	0	0
24	3	183,7836	123,9047	92,2845	67,5444	1,1781	0	0	0	0
25	3	156,2161	125,7033	84,6661	77,7546	39,7412	5,8905	0	0	0
26	3	179,0712	156,2553	137,7199	109,6811	9,896	0	0	0	0
27	3	164,934	91,1064	76,655	71,6285	26,3109	0	0	0	0
28	3	160	128,2558	112,3122	99,5023	24,9757	21,4885	0	0	0
29	3	146,0059	118,4383	92,2845	74,9664	12,1441	3,7699	0	0	0
30	3	163,3632	121,5485	104,4582	91,8918	12,7235	9,2363	0	0	0

Grupo 1 = controle

Grupo 2 = bilateral

Grupo 3 = unilateral

D = Lesão Direita

ANEXO E

MEDIDAS DAS ÁREAS COM IMAGEM
Lesão Esquerda

rato	grupo	E 1°	E 3°	E 6°	E 9°	E 15°	E 20°	E 23°	E 28°	E 30°
1	1	135,75	123,2454	119,4243	95,9665	23,7532	13,4091	6,1734	1,9729	0
2	1	120,39	65,7771	87,9205	80,7499	36,7693	14,8156	7,7045	1,3496	0
3	1	153,91	146,6869	142,7032	86,0208	30,9699	16,9185	8,4281	1,8618	0
4	1	97,2	70,2161	81,5954	60,5577	30,3656	13,5934	9,3658	5,1843	0
5	1	132,1	93,1454	94,7877	68,0996	45,2028	28,5607	10,8319	4,9701	0
6	1	124,63	98,4567	118,446	87,9964	38,9834	15,5337	5,4661	4,6937	0
7	1	165,28	135,874	132,8794	126,7277	47,3139	15,9023	9,2763	0	0
8	1	150,77	82,7553	104,2049	97,0749	39,7963	9,11761	2,8972	0	0
9	1	116,73	134,3428	90,5682	71,7011	16,8941	5,8889	2,043	0	0
10	1	118,1	91,6519	101,3837	71,3952	42,2567	17,7987	4,9403	1,9626	0
11	2	192,48	143,8902	136,6599	120,6167	41,295	13,0134	5,7533	0	0
12	2	132,14	78,1347	92,1698	46,1621	22,1597	13,1842	3,6016	0	0
13	2	158,21	91,3107	80,693	30,7802	12,9728	7,4091	1,5447	0	0
14	2	143,25	112,176	81,4329	79,5163	26,4713	12,5094	0,5501	0	0
15	2	166,82	149,1411	130,3679	103,8525	18,1073	16,1068	1,5728	0	0
16	2	163,22	106,3811	92,4083	68,0535	19,092	11,5473	0	0	0
17	2	185,42	161,0634	146,405	119,4758	39,4793	26,2111	0,6179	0	0
18	2	147,77	156,8385	100,4272	89,7281	28,4984	10,6205	2,8563	0	0
19	2	163,18	157,8385	115,2265	79,8529	17,8399	12,2926	2,3143	0	0
20	2	156,35	137,3889	124,6275	99,9502	19,0215	14,531	5,4498	0	0
21	3	211,72	76,0833	102,0044	55,7691	27,4577	1,3957	1,2601	0	0
22	3	166,02	73,7472	63,5549	46,1703	0,2032	0	0	0	0
23	3	164,15	105,6412	90,0777	64,3137	33,2246	6,5148	0	0	0
24	3	159,08	111,7252	79,9586	66,0183	6,3712	5,9105	0	0	0
25	3	176,17	90,094	77,88	62,8639	33,8425	8,1137	0	0	0
26	3	189,99	135,0664	103,3865	90,3677	6,2872	1,5908	0	0	0
27	3	135,59	89,7498	68,4573	45,5524	2,981	0	0	0	0
28	3	154,61	120,4243	81,8501	74,0047	13,0432	8,8753	2,08399	0	0
29	3	131,1	66,0535	68,7039	54,0455	15,0432	4,9485	0	0	0
30	3	148,84	96,6765	84,9585	77,6551	8,2818	3,458	3,3143	0	0

Grupo 1 = controle
 Grupo 2 = bilateral
 Grupo 3= unilateral
 E = Lesão Esquerda

ANEXO F

MEDIDAS DAS ÁREAS COM IMAGEM Lesões Direitas

rato	grupo	D 1°	D 3°	D 6°	D 9°	D 15°	D 20 °	D 23°	D 28°	D 30°
1	1	116,84	72,3706	88,7064	67,2676	30,0133	22,344	11,041	4,22	0
2	1	157,05	105,6006	120,7278	117,4541	47,7881	24,3195	10,423	1,867	0
3	1	146,19	139,1531	133,7819	111,213	38,5741	19,306	9,8915	3,108	0
4	1	138,09	158,6244	145,4213	113,2157	45,4304	19,2789	14,29	1,247	0
5	1	123,92	112,5246	91,6549	72,8529	31,1406	17,1624	15,553	2,661	0
6	1	145,09	144,4728	123,5272	100,7009	55,452	24,325	8,7208	1,718	0
7	1	159,72	112,0667	95,9963	75,7011	32,9861	10,1408	1,9649	0	0
8	1	154,18	77,132	98,8202	88,682	33,539	13,1625	4,943	0	0
9	1	136,67	154,0527	124,8091	111,82	34,3005	12,2031	2,8103	0	0
10	1	153,05	143,2371	145,8033	95,7476	53,9511	23,0937	5,5386	2,428	0
11	2	185,74	132,4269	103,0884	98,98	39,0782	5,7886	0,2466	0	0
12	2	170,77	112,2889	113,4731	41,8126	23,4334	12,5012	5,3631	0	0
13	2	148,37	100,2321	80,9342	49,761	26,3787	14,7803	3,2249	0	0
14	2	172,12	140,013	108,7793	102,6425	24,2437	7,1872	0,2409	0	0
15	2	141,16	100,0288	109,1096	79,1096	7,7448	3,3351	0,0866	0	0
16	2	169,53	123,5272	104,5355	90,7986	27,9455	11,8481	0	0	0
17	2	164,09	130,0014	119,1885	109,278	33,585	18,4768	0	0	0
18	2	151,71	131,3673	90,9449	69,498	19,2356	8,5365	0,393	0	0
19	2	164,64	122,1099	94,1806	68,5801	7,5907	2,9756	0,206	0	0
20	2	245,65	118,3078	97,0397	86,1943	9,9484	8,1761	0,2087	0	0
21	3	195,76	77,6225	103,0749	60,1674	35,4034	4,1897	1,355	0	0
22	3	147,134	66,0346	79,525	55,4547	2,0704	0	0	0	0
23	3	138,037	93,8121	77,4491	66,4357	12,3576	0,1978	0	0	0
24	3	142,497	102,0722	82,9829	48,3816	3,9674	1,3062	0	0	0
25	3	155,484	97,1752	81,4816	76,235	44,1025	8,5717	0	0	0
26	3	195,651	132,5976	130,4052	120,2644	12,3359	3,4065	0	0	0
27	3	140,736	96,6738	66,8584	53,6824	6,607	0	0	0	0
28	3	161,505	118,95	129,9635	114,381	31,2165	17,7234	1,168	0	0
29	3	137,991	76,0751	76,6063	69,2324	10,0433	3,9214	0	0	0
30	3	153,801	118,7576	125,9798	107,7848	32,1108	10,8725	0,9838	0	0

Grupo 1 = controle
 Grupo 2 = bilateral
 Grupo 3= unilateral
 D = Lesão Direita

ANEXO G

TEST T DE STUDENT

Imagem - Controle x Bilateral

Test t de student

Teste t para igualdade de média					
Tempo	Valor-p	Diferença das médias	Erro-padrão da diferença	Intervalo de confiança (95%)	
				inferior	superior
3° dia	,246	,064	,054	-,046	,174
6° dia	,000	,174	,035	,103	,245
9° dia	,000	,162	,038	,085	,239
15° dia	,000	,135	,019	,096	,174
20° dia	,000	,054	,012	,029	,078
23° dia	,000	,046	,008	,031	,062
28° dia	,000	,016	,003	,009	,022

Imagem - Unilateral esquerdo x direito

Test t de student

Teste t de Student para igualdade de médias					
Tempo	Média da diferença	Desvio-padrão	Intervalo de confiança		Valor-p
			Inferior	Superior	
3° dia	-,044	,068	-,093	,004	,069
6° dia	-,102	,100	-,174	-,031	,010
9° dia	-,097	,083	-,157	-,038	,005
15° dia	-,031	,077	-,086	,025	,241
20° dia	-,006	,029	-,026	,015	,544
23° dia	,002	,005	-,002	,006	,234

Imagem – Controle x Unilateral direito

Test t de student

Teste t para igualdade de média					
	Valor-p	Diferença das médias	Erro padrão da diferença	Intervalo de confiança	
				Inferior	Superior
Percentual área 3° dia	,056	,198	,069	,057	,338
Percentual área 6° dia	,000	,216	,045	,124	,308
Percentual área 9° dia	,001	,167	,045	,076	,259
Percentual área 15° dia	,000	,159	,029	,100	,218
Percentual área 20° dia	,000	,093	,016	,061	,126
Percentual área 23° dia	,000	,055	,010	,035	,076
Percentual área 28° dia	,003	,016	,005	,006	,026

Paquímetro - Controle x Bilateral

Test t de student

Teste t para igualdade de médias					
	Valor-p	Diferença das médias	Erro padrão da diferença	Intervalo de confiança	
Tempo				Inferior	Superior
3° dia	,006	,108	,037	,033	,184
6° dia	,001	,123	,034	,055	,191
9° dia	,003	,101	,032	,037	,165
15° dia	,002	,098	,003	,101	,032
20° dia	,025	,047	,020	,006	,089
23° dia	,021	,052	,021	,008	,095
28° dia	,324	,016	,016	-,016	,047

Paquímetro – Grupo Unilateral esquerdo x direito

Test t de student

Teste t de Student para igualdade de médias						
Tempo	Média da diferença	Desvio padrão	Erro padrão da média	Intervalo de confiança		Valor-p
				limite inferior	superior	
3° dia	-,075	,155	,049	-,186	,036	,160
6° dia	-,054	,122	,039	-,141	,034	,200
9° dia	-,062	,093	,029	-,129	,004	,063
15° dia	,016	,066	,021	-,031	,063	,458
20° dia	-,001	,039	,012	-,029	,027	,959

Paquímetro – Controle x Unilateral direito

Test t de student

Teste t de Student					
Tempo	Valor-p	Média da diferença	Erro padrão da média	Intervalo de confiança	
				Inferior	Superior
3° dia	,216	,060	,048	-,037	,158
6° dia	,022	,110	,046	,017	,203
9° dia	,148	,057	,038	-,022	,135
15° dia	,000	,060	,048	-,037	,251
20° dia	,000	,120	,026	,066	,174
23° dia	,002	,057	,038	-,022	,145
28° dia	,489	,166	,041	,081	,061

PAQUÍMETRO x IMAGEM

Test t de student

Tempo	Média da diferença	Desvio-padrão	Erro- padrão	Intervalo de confiança		Valor-p
				inferior	superior	
1° dia	8,835	31,687	4,091	,649	17,020	,035
3° dia	7,271	18,841	2,432	2,403	12,138	,004
6° dia	-2,109	13,997	1,807	-5,725	1,507	,248
9° dia	,228	12,807	1,653	-3,080	3,537	,891
15° dia	4,631	10,255	1,324	1,982	7,280	,001
20° dia	4,476	6,529	,843	2,789	6,163	,000
23° dia	2,958	7,310	,944	1,069	4,847	,003
28° dia	-,058	4,643	,599	-1,258	1,141	,923

ANEXO H

**AVALIAÇÃO DA TAXA DE CICATRIZAÇÃO COM A TÉCNICA DO
PAQUÍMETRO**

Paquímetro – Controle x Bilateral**Tabela 1:** Taxa de cicatrização dos Grupos Controle e Bilateral

Tempo	Grupo	n	Média	Período (dias)	Redução por período (mm²)	Taxa média (mm² / dia)
1º dia	controle	20	100,0			
	bilateral	20	100,0			
3º dia	controle	20	83,5	1º ao 3º	16,5	5,5
	bilateral	20	72,7		27,3	9,1
6º dia	controle	20	71,1	3º ao 6º	12,4	4,1
	bilateral	20	58,8		13,9	4,6
9º dia	controle	20	56,4	6º ao 9º	14,7	4,9
	bilateral	20	46,3		12,5	4,1
15º dia	controle	20	27,9	9º ao 15º	28,5	4,7
	bilateral	20	18,0		28,3	4,7
20º dia	controle	20	15,6	15º ao 20º	12,3	2,4
	bilateral	20	10,8		7,2	1,4
23º dia	controle	20	9,0	20º ao 23º	6,6	2,2
	bilateral	20	3,9		6,9	2,3
28º dia	controle	20	1,6	23º ao 28º	7,4	1,4
	bilateral	20	0,0		3,9	0,7
30º dia	controle	20	0,0			
	bilateral	20	0,0			

TABELA 2: Taxa Média por fase nos Grupos Controle e Bilateral

Fase (dias)	Grupo	Redução por Fase mm²	Taxa média (mm²) / dia
1º ao 9º	Controle	43,6	4,84
	Bilateral	53,7	5,96
9º ao 23º	Controle	47,4	3,38
	Bilateral	42,4	3,02

Paquímetro – Unilateral Direito x Esquerdo

TABELA 3: Taxa de cicatrização nos Grupos Unilateral Direito e Esquerdo

Tempo	Grupo	Média	n	Período (dias)	Redução por período (mm ²)	Taxa média (mm ² / dia)
1º dia	esquerdo	100,0	10			
	direito	100,0	10			
3º dia	esquerdo	70,0	10	1º ao 3º	30,0	10,0
	direito	77,5	10		22,5	7,5
6º dia	esquerdo	54,7	10	3º ao 6º	15,3	5,1
	direito	60,1	10		17,4	5,8
9º dia	esquerdo	44,5	10	6º ao 9º	10,2	3,4
	direito	50,7	10		9,4	3,1
15º dia	esquerdo	12,9	10	9º ao 15º	31,6	5,2
	direito	11,3	10		39,4	6,5
20º dia	esquerdo	3,5	10	15º ao 20º	9,4	1,8
	direito	3,6	10		7,7	1,5
23º dia	esquerdo	0,0	10	20º ao 23º	3,5	1,1
	direito	0,0	10		3,6	1,2
28º dia	esquerdo	0,0	10			
	direito	0,0	10			
30º dia	esquerdo	0,0	10			
	direito	0,0	10			

TABELA 4: Taxa Média por fase nos Grupos Unilateral Direito e Esquerdo

Fase (dias)	Grupo	Redução por Fase mm ²	Taxa média (mm ²) / dia
1º ao 9º	Esquerdo	55,5	6,16
	Direito	49,3	5,47
9º ao 23º	Esquerdo	44,5	3,17
	Direito	50,7	3,62

Paquímetro – Controle x Unilateral Direito**TABELA 5:** Taxa de cicatrização nos Grupos Controle e Unilateral Direito

Tempo	Grupo	n	Média	Período (dias)	Redução por período (mm²)	Taxa média (mm² / dia)
1° dia	controle unilateral direito	20 10	100,0 100,0			
3° dia	controle unilateral direito	20 10	83,5 77,5	1° ao 3°	16,5 22,5	5,5 7,5
6° dia	controle unilateral direito	20 10	71,1 60,1	3° ao 6°	12,4 17,4	4,1 5,8
9° dia	controle unilateral direito	20 10	56,4 50,7	6° ao 9°	14,7 9,4	4,9 3,1
15° dia	controle unilateral direito	20 10	27,9 11,3	9° ao 15°	28,5 39,4	4,7 6,5
20° dia	controle unilateral direito	20 10	15,6 3,6	15° ao 20°	12,3 7,7	2,4 1,5
23° dia	controle unilateral direito	20 10	9,0 0,0	20° ao 23°	6,6 3,6	2,2 1,2
28° dia	controle unilateral direito	20 10	1,6 0,0	23° ao 28°	7,4	1,4
30° dia	controle unilateral direito	20 10	0,0 0,0			

TABELA 6: Taxa Média por fase nos Grupos Controle e Unilateral Direito

Fase (dias)	Grupo	Redução por Fase mm²	Taxa média (mm²) / dia
1° ao 9°	Controle	43,6	4,84
	Unilateral Direito	49,3	5,47
9° ao 23°	Controle	47,4	3,38
	Unilateral Direito	50,7	3,62