



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

Vivian Narana Ribeiro El Achkar

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARAÇÃO TECIDUAL APÓS
EXÉRESE REALIZADA COM BISTURI CONVENCIONAL E BISTURI
HARMÔNICO HARMONIC® DE NECROSE INDUZIDA EM LÍNGUA DE
RATO: ESTUDO MACROSCÓPICO E HISTOLÓGICO**

2014

VIVIAN NARANA RIBEIRO EL ACHKAR

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARAÇÃO TECIDUAL APÓS
EXÉRESE REALIZADA COM BISTURI CONVENCIONAL E BISTURI
HARMÔNICO HARMONIC® DE NECROSE INDUZIDA EM LÍNGUA DE
RATO: ESTUDO MACROSCÓPICO E HISTOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao curso de Odontologia do Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP – Univ Estadual Paulista, Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós- Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Patologia.

Orientador: Prof. Titular Walter D. Niccoli Filho

São José dos Campos

2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Titular Walter D. Niccoli Filho (Orientador)

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Rubens Guimarães Filho

Faculdade de Odontologia
Universidade de Taubaté - UNITAU
Campus de Taubaté

Profa. Dra. Graziella Nueremberg Back-Brito

Instituto de Ciência e Tecnologia
UNESP – Univ Estadual Paulista
Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 23 de setembro de 2014.

DEDICATÓRIA

*À Deus, sobre todas as coisas.
À minha família: meu chão, meu céu, meu tudo.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Titular Walter Nicolli Filho, meu orientador. Meu agradecimento especial, por todo incentivo, apoio, aprendizado e confiança. Coadjuvante do meu crescimento profissional e, principalmente, pessoal, o tenho como grande amigo.

À Banca do Exame Geral de Qualificação e Defesa de Dissertação: Prof. Dr. Rubens Guimarães Filho, que contribuiu com seu conhecimento e generosidade. E Profa. Dra. Graziella Nuernberg Back Brito, pessoa e profissional excepcional, a admiro e tenho como exemplo, tal como professora e amiga.

À Faculdade de Odontologia de São José dos Campos pela base e pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, á coordenadora, Profa. Adj. Juliana Campos Junqueira e vice-coordenadora, Profa. Dra. Ana Lia Anbinder.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

À Johnson e Johnson, em especial à Aliny Pimentel, que colaborou e incentivou este estudo, nos mais diversos aspectos. Aos professores do Programa, por ampliar meus conhecimentos e mostrar novos horizontes.

Aos funcionários da secretaria de Pós-Graduação, aos técnicos de laboratório e do biotério, pela atenção e colaboração imprescindíveis. Especialmente ao Sr. Antônio e Srta. Valéria, pela disponibilidade e grande ajuda.

Aos meus colegas do curso, parceiros dessa jornada, que tornavam leves os momentos difíceis, cada um a sua maneira.
Aos alunos do Ambulatório de Propedêutica, que auxiliaram direta e indiretamente na execução desse estudo e foram ótimas companhias nas quartas-feiras.

À Gerusa de Oliveira Moura Cardoso. Parceira, amiga, conselheira e grande colaboradora na execução de todo o trabalho. Muito obrigada por estar sempre disponível, fosse para o trabalho, para um conselho ou para momentos de descontração.

Aos meus poucos e bons amigos de longa data. Quem o é, sabe! Amigos que me acompanharam de perto e de longe, obrigada, infinitamente, pelo apoio, carinho e compreensão. Sei que pude contar com cada um e chegou a hora de dividir com vocês a concretização de um objetivo.

Aos meus pais, me faltam palavras para agradecer a presença de vocês na minha vida. Por isso eu agradeço a Deus, todos os dias, por esse presente que é ser filha de vocês. À minha família: Jamil, Náira, Flávia, Elaine, Gilson, Renato, Karina, Luna e Mateus. Vocês são minha essência, minha força, minha vontade. Com vocês ao meu lado, meus sonhos tornam-se possíveis. Obrigada por acreditarem neles e em mim. Amo vocês!

“É do buscar e não do achar que nasce o que eu não conhecia.”

Clarice Lispector

SUMÁRIO

RESUMO	09
ABSTRACT	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Tecido Conjuntivo e componentes	14
2.2 Células da inflamação	17
2.3 Cicatrização da ferida	23
2.4 Bisturi Harmônico Harmonic®	33
3 OBJETIVOS	35
3.1 Objetivos gerais	35
3.2 Objetivos específicos	35
4 MATERIAIS E MÉTODO	36
4.1 Caracterização da amostra	36
4.2 Indução da área necrótica em borda lateral de língua	36
4.3 Procedimentos cirúrgicos	37
4.4 Períodos de observação	40
4.5 Análise Macroscópica	41
4.6 Análise Microscópica	41
5 RESULTADOS	43
5.1 Análise Clínica	43
5.1.1 Pós-operatório de sete dias	43
5.1.2 Pós-operatório de 14 dias	44
5.1.3 Pós-operatório de 28 dias	45
5.2 Análise Histológica	46
5.2.1 Língua Normal	46
5.2.2 Língua com necrose induzida por Ethamolin®	47
5.2.3 Pós-operatório de sete dias	48
5.2.4 Pós-operatório de 14 dias	52

5.2.5 Pós-operatório de 28 dias	55
6 DISCUSSÃO	58
7 CONCLUSÕES	65
8 REFERÊNCIAS	66
ANEXO	79

Achkar VNR. Avaliação do processo de reparação tecidual após exérese realizada com bisturi convencional e bisturi harmônico Harmonic® de necrose induzida em língua de rato: estudo macroscópico e histológico [dissertação]. São José dos Campos (SP): Instituto de Ciência e Tecnologia, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2014.

RESUMO

O bisturi harmônico Harmonic® foi introduzido na prática cirúrgica há mais de uma década, com o intuito de minimizar os riscos das tecnologias eletro-cirúrgicas, dano energético local e/ou periférico, além de complicações associadas a energia monopolar. Tem como característica a conversão da energia elétrica em energia mecânica, levando a lâmina ativa à vibração de 55.500Hz por segundo produzindo um aquecimento secundário, que promove a formação de um coágulo adesivo enquanto corta, selando veias e vasos linfáticos de até 5 mm de diâmetro. Contribui com a diminuição do tempo de cirurgia, perda sanguínea e dor pós-operatória, com temperaturas inferiores quando comparado com bisturi elétrico e lasers de alta potência. Tendo em vista as diversas vantagens atribuídas ao bisturi harmônico e a escassez de literatura concernente, julgou-se necessário um estudo que avalie os parâmetros na reparação tecidual do tratamento cirúrgico com bisturi harmônico Harmonic® quando comparado com o convencional, levando-se em consideração os estágios da reparação tecidual na língua. Para isso, foi realizada indução a necrose em borda lateral de língua em 18 ratos, divididos em 2 grupos para remoção cirúrgica da lesão com bisturi harmônico Harmonic® e bisturi convencional. Tomadas as medidas pós-operatórias, 3 ratos por grupo foram sacrificados em 7, 14 e 28 dias e submetidos às análises macroscópica e microscópica. Apesar das diferenças clínicas e histológicas observadas nos tempos iniciais, ao final, a qualidade do processo de reparo foi semelhante em ambos os grupos.

Palavras-chave: bisturi harmônico, bisturi convencional, cronologia de reparo, cirurgia oral.

Achkar VNR. Evaluation of the process of tissue repair following exeresis performed with conventional scalpel and harmonic scalpel Harmonic® in induced necrosis in rat tongue: macroscopic and histological study [dissertation]. São José dos Campos (SP): Institute of Science and Technology, UNESP - Univ Estadual Paulista; 2014.

ABSTRACT

The Harmonic® scalpel (HS) was shown in surgical practice for more than a decade, with the aim of minimizing the risks of electro-surgical technologies, local energy damage and/or peripheral, in addition to complications associated with monopolar energy. Characterize by the conversion of electrical energy into mechanical energy leading to active blade vibration of 55,500 Hz per second producing a secondary heating which promotes the formation of a blood clot while cutting, adhesive sealing veins and lymphatic vessels of up to 5 mm in diameter. Contributes to the reduction of the time of surgery, postoperative pain and blood loss with lower temperatures when compared to electric scalpel and high-power lasers radiation. Considering the several advantages attributed to HS and the paucity of literature regarding was deemed necessary a study that evaluates the parameters on tissue repair of surgical treatment with HS when compared with the conventional scalpel (CS), taking into account the stages of tissue repair in the tongue. For that a necrosis induction of lateral border of tongue was held in 18 rats divided into 2 groups for surgical removal of the lesion with HS and CS. Three rats per group were sacrificed at 7, 14 and 28 days and subjected to macroscopic and microscopic analyses. Despite the clinical and histological differences observed in early times and in the end, the quality of the repair process was similar in both groups.

Keywords: harmonic scalpel, conventional scalpel, chronology of repair, oral surgery.

LISTA DE ABREVIATURAS

BC	Bisturi Convencional
BH	Bisturi Harmônico
CD	<i>Cluster</i> de Diferenciação
ECF-A	Fator Quimiotático Eosinofílico para Anafilaxia
GAG's	Glicosaminoglicanas
HE	Hematoxilina e Eosina
IFN	Interferon
IL	Interleucinas
LAK	Célula matadora ativada por linfocina
LGG	Linfócitos Grandes Granulares
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
NK	<i>Natural Killer</i>
PAF	Fator de Ativação Plaquetária
TA	Células T auxiliares
TC	Célula T citotóxica
TCR	Receptor de célula T
TH	Célula T <i>helper</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TNF- β	Fator de Necrose Tumoral Beta

1 INTRODUÇÃO

A reparação tecidual é um fenômeno dinâmico e complexo que compreende diferentes processos, interdependentes e simultâneos, entre eles, inflamação, proliferação celular e síntese de elementos que constituem a matriz extracelular, como colágeno, elastina e fibras reticulares (Thomas *et al.*, 1995). A síntese de colágeno é um processo rápido e harmônico que tem seu início com a lesão intersticial e se estende até o final da fase de cicatrização, quando ocorre a remodelação dos tecidos.

As respostas teciduais às lesões, sejam induzidas por traumatismo ou por cirurgia, envolvem inflamação. Este é um componente necessário no processo de reparação por proporcionar mecanismos pelos quais o tecido lesionado ou a etiologia seja eliminado, embora a resposta varie de acordo com a causa.

Os tecidos lesionados curam-se por regeneração, reparo ou combinação destas duas modalidades. A regeneração tecidual é a reposição do tecido lesionado ou perdido por um tecido que é estrutural e funcionalmente similar, enquanto o reparo tecidual é a formação do tecido cicatricial não funcional.

A cicatrização de uma ferida cirúrgica ocorre quando há a proximidade das margens da lesão de forma direta, ou seja, pela sutura, o que denominamos de cicatrização de primeira intenção. Quando ocorre infecção, traumatismos e/ou fatores que levem a deiscência da sutura, o cirurgião deverá tratar essa ferida e tem a opção de fechar novamente a ferida (primeira intenção), direcionar a cicatrização pelo tecido de

granulação (segunda intenção) ou optar por técnicas de anaplastia (terceira intenção). (Hess, 2003; Johnstone, 2005 e Enoch, 2007).

As feridas cirúrgicas tendem de um modo geral a cicatrizarem. Quatro componentes principais estão presentes no processo de cicatrização: os macrófagos tissulares, os fibroblastos, os capilares (angiogênese) e os granulócitos.

Os tratamentos cirúrgicos convencionais são rápidos, mas também podem afetar as partes saudáveis do corpo, muitas vezes produzindo efeitos colaterais indesejados. A técnica cirúrgica comprometida pela lesão tecidual, a excessiva manipulação tecidual e o traumatismo intenso, comprometem o aporte sanguíneo para os tecidos envolvidos.

O bisturi harmônico Harmonic® foi introduzido na prática cirúrgica a, aproximadamente, uma década, como esforço para minimizar os riscos das tecnologias eletro-cirúrgicas, dano elétrico local e periférico, e, as raras complicações associadas com energia monopolar (Matthews *et al*, 2008). Durante este período, pesquisas das diversas especialidades da medicina, *in vitro* como *in vivo*, com o uso de instrumentação ultrassônica, tais como bisturi e tesoura, demonstraram uma melhora na segurança do ato cirúrgico.

Esta pesquisa tem por objetivo analisar determinados parâmetros da reparação tecidual frente ao tratamento cirúrgico convencional *versus* bisturi harmônico Harmonic®. Levando-se em consideração os estágios da reparação tecidual e possíveis alterações na resposta inflamatória comparando-os, através dos aspectos macroscópico e microscópico.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Tecido conjuntivo e componentes

O tecido conjuntivo desempenha as funções de sustentação, preenchimento, armazenamento, transporte, defesa e reparação. Originam-se do mesênquima, embrionário, caracterizado por possuir células com prolongamentos, mergulhadas em abundante substância extracelular pouco viscosa. As células mesenquimais possuem núcleos ovóides, com a cromatina fina. O mesênquima deriva principalmente do folheto embrionário médio ou mesoderme e suas células migram, envolvendo os órgãos em formação e neles penetrando. Além de dar origem aos tecidos conjuntivos, a mesoderme forma outras estruturas, como vasos sanguíneos, células do sangue e tecidos musculares (Cleary; Gibson, 1983).

O tecido conjuntivo apresenta diversos tipos de células separadas pela matriz, composta por fibras e substância fundamental amorfa, constituída por um gel viscoso de macromoléculas alongadas (glicosaminoglicanas, proteoglicanas e glicoproteínas adesivas) muito hidratadas, que formam um arcabouço entrelaçado e ligado às fibras e a receptores celulares (Alberts *et al.*, 1997).

Todos os organismos são compostos de células e uma rede complexa de macromoléculas extracelulares denominada matriz extracelular. Esta matriz extracelular ocupa em torno de um terço ou mais do peso total do corpo. É composta por um grande número de diferentes macromoléculas secretadas localmente e montados em uma rede

organizada, associada à superfície celular que os produz, ocupando os espaços que as circundam (Alberts *et al.*, 1997).

Três grupos de macromoléculas associam-se fisicamente para formar a matriz extracelular: proteínas estruturais fibrosas, como os colágenos e as elastinas, um grupo distinto de glicoproteínas adesivas, incluindo fibronectina e laminina e um gel formado de cadeias de polissacarídeos da classe glicosaminoglicanas (GAGs), que são encontradas ligadas covalentemente a proteínas na forma de proteoglicanas (Alberts *et al.*, 1997; Cotran; Kumar; Collins, 2000).

Essas macromoléculas reúnem-se em duas organizações distintas, a saber, matriz intersticial e membrana basal. A matriz intersticial é encontrada nos espaços entre células epiteliais, endoteliais e musculares lisas, bem como no tecido conjuntivo. Consiste em colágeno (tipos I, III, IV), elastina, fibronectina, proteoglicanas, hialuronato e outros componentes. A membrana basal é produzida por células epiteliais, mesenquimatosas, dentre outras e estão estreitamente associadas à superfície celular. São constituídas por uma rede de colágeno não-fibrilar amorfo (principalmente do tipo IV), laminina, heparan-sulfato, proteoglicano e outras glicoproteínas (Cotran; Kumar; Collins, 2000). É uma estrutura fina, porém resistente, que possui papel importante no controle do comportamento celular (Alberts *et al.*, 1997).

A matriz extracelular desempenha muitas funções, como por exemplo: sequestram moléculas como a água, para proporcionar turgor aos tecidos moles e como os sais minerais, para conferir rigidez aos tecidos esqueléticos e proporcionar um reservatório para fatores de crescimento que controlam a proliferação celular. Também fornece um substrato para a aderência, migração e proliferação das células, podendo influenciar diretamente na sua forma e função. A degradação da matriz extracelular acompanha a morfogênese e a cicatrização de feridas, bem como a invasão e metástases tumorais (Cotran *et al.*, 2000). Moléculas da

matriz extracelular também estão ligadas diretamente na formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese). (Lochter; Bissell, 1995).

Diferentes componentes da matriz extracelular podem competir pelo mesmo receptor potencializando o número de possíveis interações entre a matriz extracelular e receptores celulares da mesma. O modo preciso de ações da matriz extracelular permanece indefinido, mas evidências disponíveis sugerem que a matriz extracelular influencia os procedimentos celulares por mudanças na organização tridimensional do citoesqueleto e ativação de segundo mensageiro e via da proteína quinase (Lochter; Bissel, 1995).

As células do tecido conjuntivo são os fibroblastos, macrófagos, mastócitos, plasmócitos, células adiposas e leucócitos (glóbulos brancos). Algumas células se originam localmente, enquanto outras, como os leucócitos, vem de outros locais e são habitantes temporários. As células do conjuntivo tem a capacidade de se multiplicarem para regenerar ou reparar o tecido destruído (Stites; Terr; Parslow, 2000).

Os fibroblastos sintetizam as fibras colágenas e elásticas, as glicoproteínas e as proteoglicanas da matriz extracelular. A célula ativa é denominada de fibroblasto, enquanto se quiescente é conhecida como fibrócito (Minor, 1988).

O fibroblasto tem prolongamentos citoplasmáticos irregulares, seu núcleo é claro, grande, de forma ovóide, com cromatina fina e nucléolo evidente. O citoplasma é rico em retículo endoplasmático rugoso e o aparelho de Golgi é desenvolvido. O fibrócito é uma célula menor, fusiforme, e com menor número de prolongamentos do que o fibroblasto. Tem núcleo menor, alongado e mais escuro, apresentando citoplasma acidófilo. Diante de um estímulo como a cicatrização, o fibrócito volta a sintetizar fibras, reassumindo a estrutura de fibroblasto (Heathcote; Grant, 1981).

Há uma célula que tem características intermediárias entre o fibroblasto e a célula muscular lisa: o miofibroblasto. Este participa da contração da ferida. Essa célula tem a morfologia de um fibroblasto, mas contém maior quantidade de actina (microfilamentos) e de miosina. No tecido conjuntivo de adulto os fibroblastos não se dividem com frequência, entrando em mitose apenas quando ocorre uma solicitação, como por exemplo, em lesões do tecido conjuntivo (Stites; Terr, 1992, 2000).

2.2 Células da inflamação

Os macrófagos são originários de células precursoras do saco vitelínico, migrando para o fígado, baço e medula óssea, antes e logo após o nascimento. Já nos indivíduos adultos, os macrófagos têm origem em uma célula pluripotente mielóide, presente na medula óssea, a partir da qual são originadas diferentes células progenitoras, entre elas as “unidades formadoras de colônias de granulócitos e monócitos”. Estas dão origem aos pró-monócitos, que apresentam capacidade de pinocitose e expressam uma série de receptores característicos de macrófagos. Os pró-monócitos, por sua vez, dão origem aos monócitos que saem da medula óssea e ganham a circulação sanguínea. Os monócitos permanecem na circulação por cerca de 1 a 3 dias, período após o qual migram para os diversos tecidos, onde se diferenciam e formam uma população residente de macrófagos, com tempo de vida variando entre 2 e 4 meses (Neveu, 1986; Nelson; Jow, 1990).

Ao conjunto de células da medula óssea que são precursoras dos monócitos, mais os próprios monócitos e os macrófagos, denomina-se sistema fagocitário mononuclear. Portanto, o monócito e o macrófago são a mesma célula, em diferentes fases de maturação.

Durante o processo de transformação do monócito em macrófago, ocorre aumento da síntese proteica, do tamanho da célula, do tamanho do aparelho de Golgi e do núcleo de lisossomos, microtúbulos e microfilamentos (Rappopplee; Werb, 1988; Greenberg, 1995).

O macrófago é uma célula muito ativa na movimentação amebóide, com grande capacidade de fagocitose, morfologia variável conforme seu estado funcional e sua localização, núcleo ovóide ou em forma de rim, com cromatina condensada (Roitt; Brostoff; Male, 1999; Gordon, 1999). Tem importante papel na remoção de restos de células, de elementos extracelulares que se formam nos processos involutivos fisiológicos e de material extracelular alterado. Influenciam a atividade celular e a homeostase em vários tecidos; são células apresentadoras de antígenos para o reconhecimento inicial e remoção de células senescentes e providenciam uma linha frontal de defesa contra antígenos invasores e células tumorais recém-formadas.

Além das moléculas envolvidas nos mecanismos microbicidas e citotóxicos, os macrófagos secretam uma série de citocinas regulatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas e fator de crescimento de fibroblastos. Essas citocinas podem exercer efeitos autócrinos ou parácrinos, controlando a proliferação, diferenciação e função efetora dos próprios macrófagos, linfócitos e outras células envolvidas na resposta imunológica (Nathan, 1987; Bianchi et al, 1998).

Quando estimulados, como por exemplo, pela injeção de substâncias estranhas ou infecções, os macrófagos passam por modificações morfológicas e metabólicas, sendo chamados macrófagos ativados. Estas células têm maior atividade fagocitária, maior capacidade de destruição de microrganismos e digerir partículas estranhas, produção de lisossomos aumentada e secretam diversas substâncias que participam do processo defensivo, atraindo leucócitos e estimulando a atividade de outras células (Gordon, 1986 e 1995).

Os macrófagos interagem com outras células e com a matriz extracelular em diversas situações durante sua ontogenia e diferenciação, assim como em resposta a estímulos fisiológicos apropriados. Sua habilidade de interagir com moléculas da matriz extracelular, tais como, colágeno, laminina e fibronectina, é um fator determinante para o desenvolvimento de suas funções. Essa interação permite que as células possam aderir-se e espalhar-se sobre a matriz e se dá via receptores específicos presentes na membrana celular, entre os quais se destacam as integrinas. Além de serem receptores de adesão, as integrinas funcionam como transdutores de sinal via fosforilação de resíduos de tirosina (Lin et al, 1994). Assim, a interação dos receptores integrínicos com seus ligantes na matriz extracelular desencadeia uma série de cascatas de sinalização intracelular, influenciando a expressão gênica e regulando, dessa forma, processos como crescimento celular e apoptose (Unanue et al, 1987).

Os linfócitos são exemplos de células do sistema imune que reconhecem antígenos estranhos, proteínas sanguíneas, e respondem com barreiras físico-químicas. As respostas imunes específicas são mediadas pelos linfócitos, as únicas células do organismo capazes de reconhecer e distinguir especificamente determinantes antigênicos diferentes. Ainda que morfologicamente semelhantes, os linfócitos são constituídos por sub-populações bem distintas (Abbas et al, 2000a, 2000b).

Uma classe de linfócitos é constituída pelos linfócitos B (células B) que iniciam maturação na medula óssea (Greenberg, 1994; Schultz *et al.*, 1990). Eles são classicamente definidos pela presença de imunoglobulina de membrana, produzida pelas próprias células e inserida na membrana da superfície celular, que atua como receptores específicos de antígenos. As células B e os plasmócitos são as únicas células capazes de produzir anticorpos (Abbas et al, 2000b). Entre os vários antígenos expressos nas moléculas dessas células, os CD19, CD20 e

CD22, são atualmente os principais marcadores utilizados na identificação de células B humanas e em camundongos (Roitt et al, 1999; Lai et al., 1998).

Uma segunda classe de linfócitos é formada pelos linfócitos T, cujos precursores originam-se na medula óssea, depois migram pela corrente sanguínea para o timo e aí amadurecem, constituindo os linfócitos T CD3. Subdividem-se em populações funcionalmente distintas, das quais as mais bem definidas são as células T auxiliares ou *helper* (TA, TH ou TCD4) e as células T citotóxicas ou citolíticas (TC, CTLs ou TCD8). Essas células T reconhecem e respondem aos antígenos associados à superfície celular e não aos solúveis, de tal modo que o seu receptor de antígenos (TCR - constituído de polipeptídios) reconhece somente antígenos peptídicos ligados as proteínas codificadas por genes no complexo de histocompatibilidade principal (MHC) e expressas na superfície de outras células (Abbas et al, 2000b).

A função de reconhecimento de antígenos no organismo não está restrita somente às imunoglobulinas, mas é realizada também pelos receptores de células T (TCR), que se ligam aos peptídeos antigênicos. Em um determinado evento das respostas imunes, esses fragmentos antigênicos são apresentados para as células T no contexto das moléculas do MHC. O reconhecimento do antígeno/MHC pelo TCR é a interação biológica fundamental para iniciar e perpetuar a resposta imune, como ativar a proliferação e diferenciação das células T, assim como o desempenho de suas funções efetoras (Frazer et al, 1999).

Tanto o CD4 como o CD8 são membros glicoprotéicos transmembrânicos da superfamília das imunoglobulinas (Ig), mas estruturalmente distintos (Parnes, 1989).

A diversidade funcional das células T foi demonstrada por análises de clones de células T *helper* para os padrões de secreção de citocinas. Em camundongos e humanos foram identificados dois grupos

de clones TCD4 . O grupo TH1, que secreta IL-2 e IFN- β , e o grupo TH2, que produz IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. As células TH1 determinam funções associadas a citotoxicidade e às reações inflamatórias. As células TH2 são mais eficazes na estimulação da proliferação e da produção de anticorpos pelas células B (Roitt et al, 1999).

Uma terceira classe de linfócitos que não expressa marcadores para célula T e B, designados matadores naturais (*Natural Killer* - NK), são grandes linfócitos (linfócitos grandes granulares - LGG) derivados da medula óssea. Apresentam numerosos grânulos citoplasmáticos, contendo perforinas, granzimas e proteoglicanas (como as células TC). A exocitose desses grânulos pode lisar osmoticamente as células alvos e induzir a morte apoptótica pelas vias perforina/granzima B. A ausência de CD3 e presença de CD56 e CD16, ou ambos, são características atualmente empregadas como marcadores definitivos de células NK humanas, embora ambos os marcadores possam ser encontrados em uma minoria de linfócitos T (Roitt et al, 1999 e Abbas et al, 2000a).

Células NK são uma subpopulação distinta de linfócitos que, sem sensibilização prévia e sem necessidade de restrição ao MHC, podem matar células tumorais e células normais infectadas por vírus. O mecanismo pelo qual as células NK preferencialmente reconhecem e lisam alvos transformados em vez de normais, encontra-se na obscuridade. A atividade citotóxica das células NK pode ser aumentada *in vitro* e *in vivo* com linfocinas IL-2 e IFN, originando as células LAK (células matadoras ativadas por linfocinas). (Greenberg, 1994).

As células LAK matam as células tumorais resistentes para as células NK e não atingem as células normais, *in vitro*. Assim, a atividade das células NK pode ser intensificada pelas respostas imunes de célula T (Greenberg, 1994; Schreiber, 1999).

Os plasmócitos são células ovóides, com citoplasma rico em retículo endoplasmático rugoso, núcleo esférico geralmente em

posição excêntrica e estão mais presentes nos locais sujeitos à penetração de bactérias e proteínas estranhas, como a mucosa intestinal e em grande quantidade nas inflamações crônicas (onde predominam plasmócitos, linfócitos e macrófagos) (Greenberg, 1995).

Os plasmócitos sintetizam e secretam anticorpos específicos, fabricados em resposta a penetração de moléculas estranhas denominadas antígenos. A reação antígeno-anticorpo traz diversos efeitos, dentre eles a neutralização de ações prejudiciais que o antígeno poderia ter sobre o organismo (Greenberg, 1995).

O mastócito se origina da medula óssea, é uma célula globosa, grande e com citoplasma carregado de grânulos basófilos eletrondensos que se coram intensamente, frequentemente sobrepondo-se sobre seu núcleo esférico e central (Cohn, 1978). Seus grânulos são metacromáticos por conterem heparina ou sulfato de condroitina e glicosaminoglicanas sulfatadas. Esses grânulos contêm também mediadores químicos da inflamação, como histamina e fator quimiotático dos eosinófilos na anafilaxia, mais conhecida pela sigla ECF-A (Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis), que atrai eosinófilos. Como as moléculas produzidas pelos mastócitos atuam localmente, tem-se uma secreção parácrina (Ioachim *et al.*, 2002).

Existem pelo menos duas populações diferentes de mastócitos, porém com a mesma morfologia. Uma delas encontra-se no tecido conjuntivo em geral, e contém grânulos com heparina, substância anticoagulante. A outra está presente nas mucosas e seus grânulos contêm sulfato de condroitina. Segundo Krstic (1984), grande parte das moléculas de imunoglobulinas-E fixa-se na superfície dos mastócitos, que contêm seus receptores específicos.

As células adiposas tem origem mesenquimal e são especializadas no armazenamento de energia, sob a forma de triglicerídeos ou gorduras neutras (Minor, 1988).

No tecido conjuntivo são encontrados ainda outros leucócitos como neutrófilos e eosinófilos.

2.3 Cicatrização de feridas

A cicatrização visa à restauração dos tecidos lesados, a fim de preservar sua estrutura (Fine et al, 2001).

O conceito mais importante a este respeito é a compreensão de que a cicatrização não consiste em uma série de eventos, e sim, em um “concerto” de processos de ocorrência simultânea, alguns dos quais continuam por muitos anos após o restabelecimento da integridade física do tecido lesado. Para o epitélio caracterizam-se três tipos principais de lesões:

- a) lesão superficial: quando atinge somente o epitélio sem comprometer a camada basal da derme, existe epitelização por deslocamento das células sem resultar em cicatriz;
- b) lesão profunda: constituída por ferida incisa limpa com perda inapreciável de tecido, mínima hemorragia, ausência de infecção e com bordas bem justapostas;
- c) lesão aberta: com perda de substância, com ou sem infecção, bordas irregulares com ou sem justaposição, havendo preenchimento do espaço por uma massa de vasos e células neoformadas que constitui o tecido de granulação com posterior reorganização e conversão em tecido fibroso (Weissman, 1992).

Há uma grande variabilidade nos processos de regeneração, dependendo de fatores locais e sistêmicos como fatores do hospedeiro, locais e externos. Embora o tipo de ferimento, tempo de evolução, órgão ou tecido envolvido e as técnicas utilizadas interfiram na cicatrização, o processo é basicamente o mesmo. Este processo ocorre em todo o organismo. Em termos clínicos, pode ser classificada em primeira, segunda ou terceira intenção (Cotran et al, 2000):

- a) primeira intenção: quando os bordos são unidos;
- b) segunda intenção: quando não é possível unir os bordos; neste caso o próprio organismo preenche o espaço necessário à cicatrização;
- c) terceira intenção: está evoluindo por segunda intenção e sutura-se para ajudar. Não é primeira nem segunda intenção (Johnstone et al, 1995, Hess et al, 2003 e Enoch et al, 2007).

A cicatrização por primeira intenção é a mais rápida e forma cicatrizes menores, visto que a fenda da ferida é mais estreita e a destruição tecidual nas suas bordas é menor. O exemplo clássico é o das feridas cirúrgicas (Weissman, 1992).

Segundo Springer (1994), as cicatrizes hipertróficas e queloidianas são bastante frequentes e são constituídas por neoplasias benignas do tecido cicatricial, decorrentes de uma proliferação do tecido de granulação na fase produtiva ou assimilativa. O quelóide difere da cicatriz hipertrófica por ultrapassar os limites dos tecidos normais e pela presença de fibras colágenas hialinizadas. Microscopicamente os dois casos são semelhantes: as fibras colágenas são irregulares, grossas, e formam feixes distribuídos ao acaso, contendo capilares e fibroblastos em maior número do que uma cicatriz normal.

Na primeira fase da cicatrização, ou fase inflamatória, os principais eventos são: hemostasia, quimiotaxia leucocitária e diapedese, fagocitose e liberação de fatores de crescimento. A segunda fase, ou fase de proliferação celular é dividida em outros três eventos: angiogênese, proliferação fibroblástica e epitelização (Kohn, 1992). Na terceira fase conhecida como formação do tecido conjuntivo, continua se formando o tecido de granulação, sendo sua principal característica a presença de fibroblastos que produzem matriz extracelular, colágeno e glicosaminoglicanas. A quarta fase, ou fase da contração, caracteriza-se pela aproximação das bordas da ferida pela movimentação das mesmas através dos miofibroblastos. A quinta fase, chamada de remodelação, é basicamente descrita por modificações no tecido conjuntivo, principalmente na matriz extracelular, como o aumento na resistência entre as fibras colágenas, ação das collagenases e diminuição da quantidade de água, devido à diminuição de proteoglicanos e da vascularização (Springer, 1994).

Logo a cicatrização de feridas envolve a indução de um processo inflamatório agudo pelo ferimento, a regeneração de células parenquimatosas, a migração e a proliferação de células teciduais parenquimatosas e conjuntivas, a síntese de proteínas da matriz extracelular, o remodelamento do tecido conjuntivo e dos componentes parenquimatosos, a collagenização e a aquisição de força pela ferida (Weissman, 1992).

Celsus, escritor romano do primeiro século d.C., enumerou quatro sinais cardeais da inflamação: *rubor, tumor, calor e dor* e Virchow acrescentou um quinto sinal clínico: perda de função (Cotran; Kumar; Collins, 2000).

O tecido conjuntivo vascularizado, inclusive plasma, células circulantes, vasos sanguíneos e componentes extravasculares, diante de estímulos endógenos ou exógenos, pode desencadear uma reação complexa denominada de inflamação, que é caracterizada nas

formas superiores de vida como uma reação dos vasos sanguíneos, que conduz um acúmulo de líquido e de leucócitos no tecido extracelular (Springer, 1994). A inflamação atua no sentido de bloquear, diluir ou destruir o agente agressor, substituindo tecido agredido pela regeneração das células parenquimatosas nativas e pelo preenchimento de tecido fibroblástico, reconstituindo e cicatrizando o tecido lesado (Majno, 1992).

As células do tecido conjuntivo envolvidas na resposta inflamatória são mastócitos, fibroblastos, macrófagos e linfócitos residentes; as células circulantes incluem neutrófilos, monócitos, eosinófilos, linfócitos, basófilos e plaquetas (Kohn, 1992).

A inflamação é dividida em padrões agudo e crônico. A inflamação aguda é a resposta imediata e inicial a um agente agressor, tem duração relativamente curta e tem como características principais a exsudação de líquidos e de proteínas plasmáticas e a migração de leucócitos, principalmente neutrófilos (Springer, 1994). Para que os leucócitos possam alcançar o interstício, é preciso que haja adesão ao endotélio e transmigração, conhecida como diapedese.

As seletinas e as imunoglobulinas são receptores de adesão presentes no endotélio. As integrinas são moléculas encontradas nos leucócitos. Mediadores como a histamina, a trombina e o fator de ativação plaquetário (PAF) redistribuem as moléculas de adesão na superfície celular endotelial. As citocinas interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF) ou caquexia induzem à síntese e a expressão de moléculas de adesão endotelial. Após atravessarem as junções endoteliais, os leucócitos têm que atravessar a membrana basal, provavelmente, com a secreção de collagenase para degradá-la. Após a diapedese, os leucócitos emigram dos tecidos para o local no qual existam substâncias quimiotáticas. Existem vários mediadores químicos endógenos. Os agentes exógenos quimiotáticos mais comuns são os produtos bacterianos (Cotran et al, 2000).

Os fenômenos vasculares na inflamação aguda caracterizam-se pela dilatação arteriolar e abertura de leitos capilares resultando num aumento do fluxo sanguíneo para a região agredida, e este aumento de líquido extravascular rico em proteínas constitui o exsudato (Weissman, 1992).

A inflamação crônica tem longa duração, e ao contrário da aguda que se manifesta por alterações vasculares, edema e infiltração basicamente neutrofílica, caracteriza-se por infiltração de células mononucleares que incluem macrófagos, linfócitos e plasmócitos, destruição tecidual, proliferação de pequenos vasos sanguíneos e fibrose (Majno, 1992).

A fase inflamatória inicia-se imediatamente após a injúria. Quando ocorre o ferimento, a lesão dos vasos produz sangramento, e a resposta do organismo frente a esse evento é a hemostasia, que se traduz por vasoconstricção e formação de coágulo (Fine; Mustoe, 2001; Young, 2001). O coágulo auxilia na aproximação das bordas lesadas e na formação de uma matriz, na qual fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos podem ingressar (Horn, 1993).

Após a hemostasia ocorre vasodilatação, mediada por várias substâncias, como a histamina e serotonina, bradicinina, prostaglandinas e óxido nítrico, que permite um aumento do fluxo sanguíneo para a área do ferimento, causando calor e rubor, levando mais nutrientes, células reparadoras e oxigênio para o interstício, aumentando sua pressão osmótica. A vasodilatação aumenta a pressão hidrostática, levando a uma fuga de líquidos para o meio extravascular. A associação desses fenômenos leva ao edema local (Fine et al, 2001).

Dois dias após a lesão, há um grande afluxo de neutrófilos para a ferida, a qual se encontra com tecido desvitalizado, coágulo, bactérias e proteínas séricas extravasadas. Os neutrófilos são os responsáveis pelo debridamento das superfícies da ferida e de tecidos desvitalizados, fagocitose de partículas antigênicas e de corpos estranhos

e liberação de grânulos para a rede de fibrina, provocando hidrólise enzimática da matriz extracelular. Todos esses eventos visam à promoção da limpeza da área lesada e o início da fase seguinte (Springer, 1994; Witte et al, 1997 e Fine et al, 2001).

Durante os dois ou três dias seguintes, as células predominantes são os macrófagos, os quais são provenientes da migração e diapedese dos monócitos circulantes ou são residentes do próprio tecido (Fine et al, 2001).

Linfócitos também aparecem no local da lesão, mas em número pequeno. Acredita-se que os linfócitos estejam relacionados aos processos inflamatórios crônicos (Fine et al, 2001).

A angiogênese é o processo pelo qual surgem novos vasos para refazer a circulação local, necessária para oxigenação e nutrição da ferida, diante da hipóxia e a diminuição do pH no centro da lesão. Esse evento tem como componente fundamental os macrófagos, que fazem uma interação com os tromboxanos e as prostaglandinas produzindo assim o fator angiogênico (quimiotático) que atrai as células meso e endoteliais (Witte et al, 1997).

Por volta do segundo ou terceiro dia após o trauma ocorre a reparação do tecido conjuntivo, com a migração e divisão das células endoteliais e a formação do tecido de granulação constituído por colágeno, fibronectina e ácido hialurônico, com densa infiltração de macrófagos, células endoteliais capilares e, principalmente, fibroblastos. As primeiras fibras de colágeno produzidas pelos fibroblastos surgem em quatro a cinco dias e o espaço da ferida é preenchido rapidamente por pequenos feixes orientados ao acaso, que aumentam gradativamente dando origem a uma estrutura densa e consistente, que une firmemente os tecidos lesados (Majno, 1992) de modo que, no décimo dia do pós-operatório, já representam metade do número total de células. Dois ou três dias após o ferimento, continuando nas próximas duas a três semanas, diferencia-se no tecido de granulação, uma célula que possui

características ultraestruturais dos fibroblastos e da célula muscular lisa, denominada miofibroblasto, dando-lhe capacidade contrátil, reduzindo a área cruenta da ferida e facilitando a epitelização (Witte et al, 1997).

A epitelização é importante, pois o epitélio oferecerá ao organismo uma dupla proteção: a partir do meio interno, contra as perdas de fluidos, eletrólitos e proteínas, e a partir do meio ambiente, contra a penetração de agentes infecciosos (Witte et al, 1997). Na pele, a epiderme espessa-se e as células basais da borda da ferida aumentam de tamanho e migram para a mesma, não se dividindo até ser restaurada a continuidade epidérmica. A migração é influenciada pelo tipo de matriz e presença ou não de infecção. As células basais fixas em uma zona próxima à borda cortada da ferida continuam a se dividir, e suas células-filhas achatam-se e migram sobre a matriz da ferida como uma lâmina. Essa proliferação celular iniciada após a migração é no máximo 48-72 h após a lesão. O estágio final da reepitelialização é a maturação das células epidérmicas. Em torno do décimo dia há um extrato córneo, que, comumente, é mais espesso que o da pele sã circunjacente (Young, 2001).

A formação do tecido de granulação se inicia entre o terceiro e quarto dia após a injúria tecidual e é mantida até que a reepitelização esteja completada. O fibroblasto produz o colágeno fibrilar, sintetiza elastina, fibronectina, glicosaminoglicanas e proteases, como a collagenase, importante para o debridamento e o remodelamento (Van Winkle, 1967).

A pele normal e uma cicatriz madura contêm colágeno dos tipos I e III, com predomínio do tipo I. Contrariamente, o tecido de granulação é amplamente composto por colágeno tipo III (Gabbiani *et al.*, 1976). É sobre a fibronectina sintetizada pelos miofibroblastos que as fibras de colágeno tipo III repousarão. O colágeno tipo IV está intimamente envolvido na fase de remodelação da cicatrização de feridas e no estabelecimento de uma junção dermoepidérmica funcional. O

colágeno tipo VI é sintetizado por fibroblastos da pele e possui qualidades adesivas tissulares únicas (Olsen *et al.*, 1989). O colágeno tipo VII é de extrema importância no estabelecimento e na manutenção de uma junção dermoepidérmica funcional (Burgeson, 1994; Mc Grath *et al.*, 1993).

A fibronectina é importante para o ingresso dos fibroblastos por funcionar não apenas como um quimioatraente, mas também, quando entrelaçado à fibrina como um suporte adesivo sobre o qual o miofibroblasto possa se acoplar, via um mecanismo de receptores específicos, migrar e, subsequentemente, sintetizar o colágeno (Clark *et al.*, 1983).

As glicosaminoglicanas não apenas auxiliam na manutenção da hidratação da ferida, mas também podem conduzir a migração e à proliferação celular na ferida (Balaas *et al.*, 1950).

Nos estágios tardios da formação do tecido de granulação, o ácido hialurônico é substituído por proteoglicanas. Evidências sugerem que as proteoglicanas possam ser importantes contribuidoras à resistência tissular e desenvolverem algum papel na regulação da síntese de colágeno. Tendem a estabilizar a adesão célula-matriz, desencorajando a migração celular ao longo da estrutura de fibronectina (Wood, 1960; Lark *et al.*, 1985).

Entende-se por contração da ferida, o processo através do qual feridas abertas fecham por movimento das margens em direção ao centro, cerca de quatro dias após a interrupção da integridade da pele (Witte *et al.*, 1997). A velocidade de contração da ferida não é a mesma em todos os pontos e o restabelecimento da integridade física não constitui um estímulo que faça cessar a contração. Descartou-se a ideia de que a desidratação do tecido seja responsável pela contração, e de que a síntese do colágeno e a contração da ferida poderiam ser os responsáveis pela aproximação e união das bordas da ferida. O mecanismo de contração que diminui a lesão é gerado por forças

celulares e elementos contráteis de fibroblastos e miofibroblastos com uma reorganização concomitante do citoesqueleto (Cohn, 1978).

A remodelação da cicatriz normalmente se inicia por volta da terceira semana após o trauma e persiste por meses ou anos. Esta fase se caracteriza por modificações no tecido conjuntivo, sobretudo da matriz extracelular, como a ação de enzimas proteolíticas que metabolizam o excesso de ligações mais estáveis entre as fibras proteicas para ganho de uma maior resistência mecânica na ferida, e por último há uma diminuição da vascularização (Witte; Barbul, 1997; Fine; Mustoe, 2001; Young, 2001).

Eventos que ocorrem próximos ou sobre a cicatrização de feridas, como técnica cirúrgica, formação de hematomas, infecção, reação de corpo estranho, radioterapia, condições de base, drogas, localização e dessecação, podem ter grande influência no grau de cicatrização (Saarialho-Kere *et al.*, 1992).

Durante a técnica cirúrgica, a manipulação rude da pele por causa da in experiência e do uso de instrumentação inapropriada podem levar à formação de crostas, descamação da pele, desvitalização do tecido, aumento da reação inflamatória ao redor da ferida, promovendo um local ideal para infecção bacteriana secundária. Por outro lado, ferimentos fechados com material de sutura reativamente inapropriados podem levar à reação de corpo estranho, inflamação persistente, necrose e infecção secundária (Levenson *et al.*, 1965).

Suturas com tensão excessiva promovem uma isquemia tecidual e podem resultar na necrose das bordas da ferida, deiscência ou uma propensão para uma infecção secundária. Esses fatores também podem promover formação de uma cicatriz hipertrófica nas áreas de máxima tensão ou áreas de deiscências deixadas para cicatrizar por segunda intenção (Borges *et al.*, 1962).

Finalmente, é essencial que o cirurgião escolha o instrumental cirúrgico que vai minimizar o dano da pele. A cirurgia com o

uso da radiação laser, eletrocirurgia, criocirurgia e o *peeling* químico são técnicas indispensáveis, mas também produzem quantidades variáveis de injúria nos tecidos. As proteínas denaturadas e os debris necróticos prolongam o estágio de inflamação na cicatrização de feridas. A cirurgia com o uso de bisturi convencional minimiza o dano mecânico aos tecidos e deve ser considerada sempre que possível (Young et al, 2001).

Um sangramento excessivo associado à formação de um hematoma em um segmento suturado podem romper mecanicamente o fechamento e levar a deiscência da ferida. O sangue coagulado serve como um excelente meio de cultura contribuindo para o desenvolvimento de uma séria infecção bacteriana da ferida. A dissecação cuidadosa do tecido, a ligação apropriada dos vasos e a meticulosa eletrodissecação por ponto de sangramento de capilares minimizam a formação de hematomas (Angel *et al.*, 1986).

Infecção bacteriana da ferida é a causa local mais comum de uma cicatrização prolongada (Silver, 1984). Todas as feridas são contaminadas pela microbiota residente. Infecções clínicas ocorrem quando um número crítico de organismos patogênicos está presente. A bactéria lentifica a cicatrização pela ativação da via alternada do complemento prolongando a fase inflamatória da cicatrização de feridas (Fearso; Austen, 1977).

Um corpo estranho em uma ferida propicia uma superfície apropriada para ativação da via do complemento com a subsequente acumulação excessiva de células inflamatórias. Assim como na infecção da ferida, essa resposta inflamatória exagerada é prejudicial aos estágios subsequentes da cicatrização. Feridas contendo material estranho são caracterizadas por uma relativa hipóxia e acidificação, o que prejudica as células e o reparo normal (Kischer *et al.*, 1982). Pouco óxido nítrico estimula a proliferação celular, e o aumento do número de fibroblastos pode levar a cicatrizes hipertróficas. O aumento de óxido nítrico resulta em um aumento de macrófagos ativados evidenciando um processo de

ativação celular. O óxido nítrico induz também a um fenótipo de deslocamento de queratinócitos, auxiliando no processo de fechamento da incisão (Witte; Barbul, 2002).

2.4 Bisturi Harmônico Harmonic®

O bisturi harmônico Harmonic® tem como característica a conversão da energia elétrica em energia mecânica na peça de mão, levando a lâmina ativa a vibração de 55.500Hz por segundo e de 50 a 100µm. A pressão da lâmina no tecido produz um aquecimento secundário, este faz com que as proteínas denaturadas formem um coágulo adesivo enquanto cortam, selando veias e vasos linfáticos de até 5mm de diâmetro. A vibração transfere energia mecânica ao tecido, resultando em corte e coagulação simultâneo. Mas, assim como vários estudos sobre tecnologia energética, o preciso mecanismo de ação permanecem na obscuridade (Foschi *et al*, 2002).

A vibração da lâmina do bisturi gera uma intensidade de calor entre 50°C a 100°C, bem menor do que as produzidas pelo bisturi elétrico ou pela radiação laser de alta potência (150-400°C), sendo que a vibração resulta em cavitação, o que facilita a dissecação (Kadesky *et al*, 1997).

Salami *et al* (2008) estudaram as diferenças entre 160 pacientes submetidos a cirurgia a bisturi convencional e a bisturi harmônico Harmonic®, em cirurgias de cabeça e pescoço e verificou que o bisturi harmônico diminuiu significativamente o tempo de cirurgia, perda sanguínea, dor, quantidade de drenagem no primeiro e segundo dia de pós-operatório e tempo de internação, assim como, não houve nenhum tipo de complicação pós-operatória neste grupo.

Deo *et al* (2002), realizaram mastectomias radicais com bisturi harmônico Harmonic® e observaram que há outras vantagens deste tipo de bisturi, tais como:

- a) mínima dispersão térmica lateral e destruição do tecido
- b) visualmente sem formação de escaras
- c) sem passagem de eletricidade através do paciente
- d) ausência de estímulo neuromuscular geralmente causado pela corrente elétrica

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Avaliar a cronologia do processo de reparação tecidual em borda lateral de língua de rato após exérese de área de necrose induzida, realizada com bisturi convencional e bisturi harmônico Harmonic® através das análises macroscópica e microscópica.

3.2 Objetivos específicos

a) Avaliar macroscopicamente o tempo e a qualidade da cicatrização;

b) Analisar os parâmetros na reparação tecidual entre tratamento cirúrgico convencional e bisturi harmônico Harmonic®, levando-se em consideração os estágios da reparação tecidual através da microscopia de luz.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Caracterização da amostra

Após a aprovação do presente projeto de pesquisa pela Comissão de Ética do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP foram utilizados 18 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Wistar*), machos, clinicamente sadios, com idade aproximada de doze semanas de vida e peso corporal variando de 140 a 160 gramas. Os animais foram alojados no Biotério do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos – UNESP, mantidos sob as condições ambientais, em salas não-climatizadas, providas de exaustor de ar, e alimentados com ração comercial e água *ad libitum*.

4.2 Indução da área necrótica em borda lateral de língua

Para o procedimento de indução à necrose, os animais foram sedados utilizando-se infusão intraperitoneal de Rompum^{®**}/Dopalen^{®***} na proporção de 2:1 e dose de 0,05 ml/100g de peso corporal.

** Rompum – Cloridrato de Xilasina 2% - Laboratório Bayer, Saúde Animal, Brasil.

*** Dopalen – Cloridrato de Ketamina – Sespo – Ind. Com. Ltda. Saúde Animal, Brasil.

A necrose em borda lateral da língua foi induzida por solução aquosa de Ethamolin®* administrada em dose única de 0,2 ml, por via infiltrativa local, seguindo as sugestões de Morosolli et al (2010), (Figura 1). O oleato de monoetanolamina (Ethamolin®) é um composto esclerosante que age solubilizando a membrana celular e as adesões intercelulares, aumentando a permeabilidade vascular (Masaki et al, 1990 e Cruz-Filho 2002). Sua alta toxicidade e a injeção do líquido viscoso no tecido levam a necrose na profundidade da língua (Morosolli et al, 2010).

Após a inoculação, utilizou-se uma gaze para secar a superfície lingual, com finalidade de retirar possível excesso da solução no sentido de minimizar e/ou evitar a deglutição da droga.



Figura 1: Administração de Ethamolin®, em borda lateral esquerda.

* Ethamolin – Oleato de monoetanolamina a 5% – Zest Farmacêutica Ltda. Brasil.

4.3 Procedimentos cirúrgicos

Após o período de indução à necrose tecidual (3 dias), foram realizados procedimentos de exérese da área necrótica (Figura 2)



Figura 2: Área necrótica em borda lateral esquerda da língua

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, sendo cada grupo constituído de 9 animais:

Grupo BC (controle) – Tratamento cirúrgico com bisturi convencional.

Grupo BH - Tratamento cirúrgico com bisturi harmônico Harmonic®

As cirurgias propostas a cada grupo foram realizadas no mesmo dia e pela mesma profissional.

Os animais dos referidos grupos foram anestesiados seguindo o mesmo protocolo de anestesia para a indução à necrose.

GRUPO BC (controle): após a comprovação da efetividade anestésica, foi feito o tracionamento da língua do animal com uma pinça Allis e realizada a remoção da lesão com lâmina de bisturi número 15 no limite da lesão. Após a exérese, efetuou-se a lavagem do leito cirúrgico com solução estéril de NaCl a 0,9% e o fechamento das bordas remanescentes através de sutura com pontos simples com fio de seda 4-0.

GRUPO BH (bisturi harmônico Harmonic®): a mesma sequência operatória utilizada no grupo BC foi executada, exceção à remoção da lesão que foi realizada utilizando-se bisturi harmônico Harmonic® (Figura 3), sistema Harmonic Focus® Curved Shears (Ethicon Endo-Surgery®, Johnson & Johnson Medical EUA). Este sistema é constituído de um gerador, peça de mão e ponta ativa com acionamento manual integrado e haste e 5 mm de diâmetro (Figura 4), sendo apresentado em embalagem estéril blister com uma unidade e um torquímetro (Registro ANVISA: 80145901149).



Figura 3: Exérese da lesão com bisturi harmônico

Durante os procedimentos foram seguidas as medidas de biossegurança para utilização do aparelho, ressaltando o uso de óculos de proteção, luvas e máscara para o operador e demais pessoas envolvidas.



Figura 4: Bisturi harmônico Harmonic®, Sistema Harmonic Focus® Curved Shears

Também foram realizados os seguintes cuidados pós-operatórios:

1. Terapia medicamentosa

Durante as primeiras 24 horas pós-cirúrgicas foi feita terapia medicamentosa com analgésico, sendo empregado 200mg/ml paracetamol, 18 gotas do fármaco dissolvidas em 300ml da água oferecida.

2. Distribuição dos animais em gaiolas

Os animais foram distribuídos em gaiolas, separados em grupos, permanecendo, no máximo, cinco animais em cada gaiola, conforme as normas do biotério.

4.4 Períodos de observação

Decorridos 7, 14 e 28 dias pós-operatórios, três animais de cada grupo foram sacrificados por overdose de sedativos de uso veterinário (Dopalen^{®*} e Rompum^{®**}) (SOUZA, 1996). As peças anatômicas foram cortadas em bloco, fixadas em formol a 10% por 72 horas e submetidas às análises macroscópica e microscópica.

4.5 Análise Macroscópica

O aspecto macroscópico da região de bordo lateral de língua foi analisado durante todos os períodos de observação dos grupos estudados, tais como: coloração, textura da mucosa, presença de sangramento e/ou úlceras, presença ou não de edema. Os sinais foram documentados com o auxílio de fotografias (Morosolli, 2010).

4.6 Análise Microscópica

Para estudo microscópico, após a fixação com formol a 10% por 72 horas, as peças foram processadas, incluídas em parafina e cortadas no sentido longitudinal com aproximadamente 5µm de

* Dopalen – Cloridrato de Ketamina – Sespo – Ind. Com. LTDA, Saúde Animal, Brasil.

** Rompum – Cloridrato de Xilasina 2% - Laboratório Bayer, Saúde Animal, Brasil.

espessura. A coloração utilizada foi de hematoxilina-eosina (HE) para posterior análise por meio de microscopia de luz.

As lâminas obtidas foram descritas com o auxílio de um microscópio de luz (Axioskop 40®, Carl Zeiss, Alemanha), levando-se em consideração seu aspecto histológico, verificando a velocidade do processo cicatricial, as células envolvidas em cada estágio do processo inflamatório e a qualidade do tecido e das fibras musculares, com o auxílio de fotomicrografias obtidas por uma câmera digital (AxioCam MR5®, Carl Zeiss, Alemanha) conectada ao computador com o programa digital *AxioVision Release*® 4.6 (Carl Zeiss, Alemanha, versão 2007). (Morosolli, 2010).

5.RESULTADOS

5.1 Análise Clínica

5.1.1 Pós-operatório de sete dias

No grupo BC notou-se uma superfície irregular, devido a sutura, áreas hiperemiadas localizadas e uma camada de fibrina denaturada, sem sangramento (Figura 5A). No grupo BH é possível notar a presença da camada de fibrina denaturada e discreto sangramento (Figura 5B). Em ambos casos nota-se área edemaciada de pequena monta.



Figura 5A: Pós-operatório de sete dias, grupo BC.



Figura 5B: Pós-operatório de sete dias, grupo BH.

5.1.2 Pós-operatório de 14 dias

No grupo BC nota-se que ocorreu, efetivamente, a reparação epitelial, pois é possível observar que a área submetida a cirurgia encontra-se dentro dos aspectos de normalidade (Figura 6A).

No grupo BH observa-se que a superfície tem, em sua maior parte, coloração normal. As áreas que não o são apresentam-se avermelhadas e não se observada contração da ferida (Figura 6B).



Figura 6A: Após 14 dias, aspecto clínico do grupo BC.



Figura 6B: Aspecto clínico do grupo BH, após 14 dias.

5.1.3 Pós-operatório de 28 dias

Em ambos grupos observa-se o mesmo nível de reparação, com evidente neoformação de papilas linguais (Figura 7A e 7B). No grupo BC foi possível verificar a formação de tecido cicatricial na região da sutura. Nos dois grupos houve uma perda tecidual, porém não levando a um comprometimento funcional.



Figura 7A: Após 28, aspecto clínico do Grupo BC.



Figura 7B: Após 28, aspecto clínico do Grupo BH.

5.2 Análise histológica

5.2.1 Língua Normal

No que se refere à análise histológica, utilizou-se como parâmetro um corte transversal de uma língua de rato sadia, observando-se dois principais aspectos: mucosa especializada, considerando seu epitélio e a lâmina própria, e o plano muscular.

Uma língua normal é revestida por epitélio pavimentoso estratificado ortoqueratinizado. Na superfície dorsal, este epitélio apresenta papilas filiformes em toda sua extensão. Enquanto, o ventre da língua é revestido por um epitélio delgado, de 5 a 6 camadas, onde algumas vezes, a camada basal apresentou-se duplicada.

A lâmina própria possui fina camada de tecido conjuntivo frouxo, preenchido de capilares sanguíneos de pequeno calibre. Os feixes das fibras musculares esqueléticas encontram-se permeados por vasos

de médio porte e feixes de fibras nervosas. Sua disposição é longitudinal, na porção mediana da língua, e perpendicular na periferia (Figura 8).



Figura 8: Fotomicrografia de fragmento de língua normal, em corte transversal [H.E., aumento original: 25x].

5.2.2 Língua com necrose induzida por Ethamolin®.

A necrose foi confirmada com um corte histológico após três dias da administração de oleato de monoetanolamina 5% (Ethamolin®). Onde foi possível observar extensa área de necrose de coagulação, substituição de tecido muscular por tecido conjuntivo bem vascularizado e tecido conjuntivo, bem como observou-se intenso infiltrado inflamatório polimorfonuclear, predominantemente, na porção central do corte histológico e pigmentos de hemossiderina. O epitélio sofreu alteração para um epitélio paraqueratinizado com áreas de acantose, espongiose, degeneração hidrópica e sua superfície apresentou solução de continuidade (Figura 9).

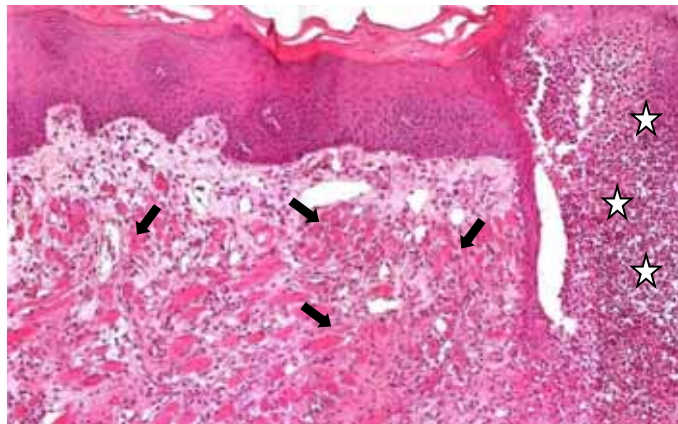


Figura 9: Fotomicrografia de fragmento de língua com lesão provocada por oleato de monoetanolamina. Intenso infiltrado inflamatório (☆) e fibras musculares (setas) sendo substituídas por tecido conjuntivo bem celularizado [H.E., aumento original: 50x].

5.2.3 Pós-operatório de sete dias

Grupo BC: Observou-se uma perda tecidual e alteração na histomorfologia. Ocorreu a substituição do tecido muscular por tecido conjuntivo em grande extensão. Este tecido conjuntivo apresentou-se ricamente celularizado e vascularizado, com intenso infiltrado inflamatório mononuclear e por vezes, multinuclear (Figura 10A). O epitélio com solução de continuidade apresentou necrose em sua superfície (Figura 10B), enquanto na lâmina própria pode-se notar presença de edema e vasos congestos, além do infiltrado inflamatório e áreas de hemorragia em sua profundidade (Figura 10C).

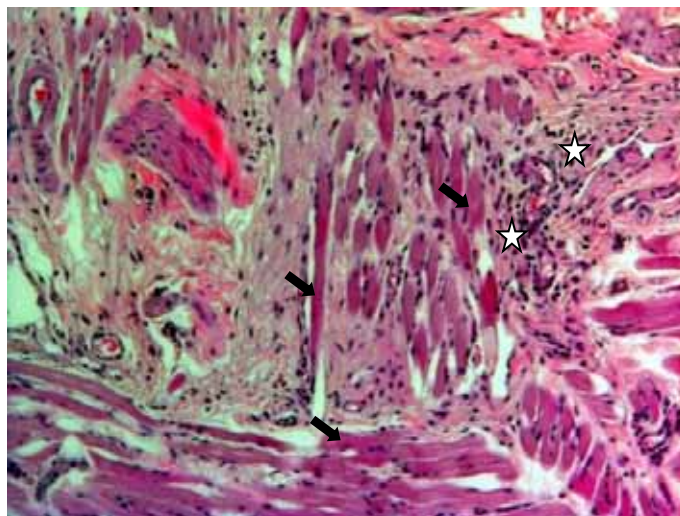


Figura 10A: Pós-operatório de sete dias, grupo BC: tecido conjuntivo e fibras musculares (setas) permeados por células inflamatórias (☆) [H.E., aumento original: 100x].

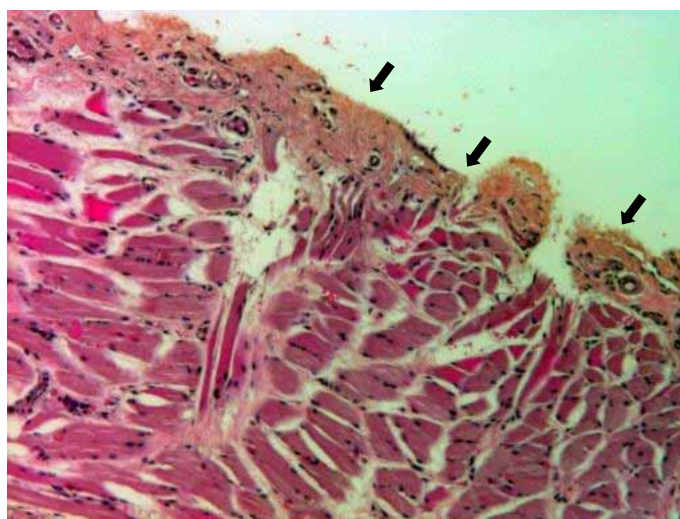


Figura 10B: Pós-operatório de sete dias, grupo BC: solução de continuidade no epitélio (setas) [H.E., aumento original: 100x].

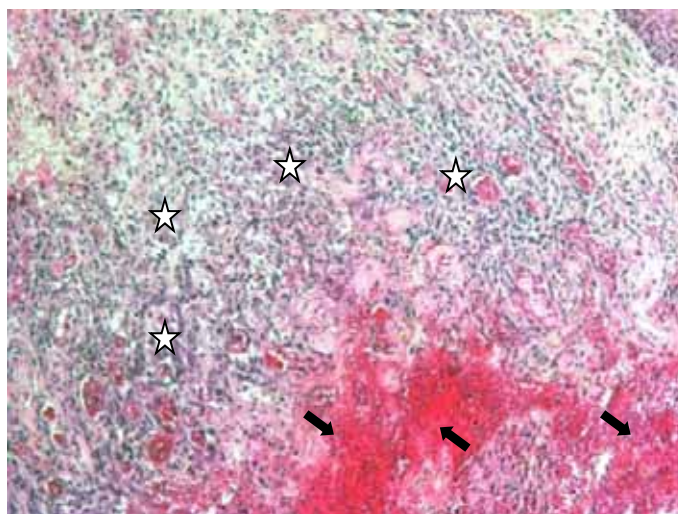


Figura 10C: Pós-operatório de sete dias, grupo BC: áreas de hemorragia (setas) e intenso infiltrado inflamatório (☆) [H.E., aumento original: 50x].

Grupo BH: Houve perda tecidual e mudança da morfologia, o tecido conjuntivo apresentou-se desorganizado e intensamente celularizado e vascularizado. Enquanto as fibras musculares apresentaram características degenerativas, os feixes nervosos permaneceram íntegros. No epitélio observou-se solução de continuidade em algumas regiões, em outras, formou projeções acompanhadas da lâmina própria que apresentou-se bem vascularizada e desorganizada (Figuras 11A, 11B, 11C e 11D).

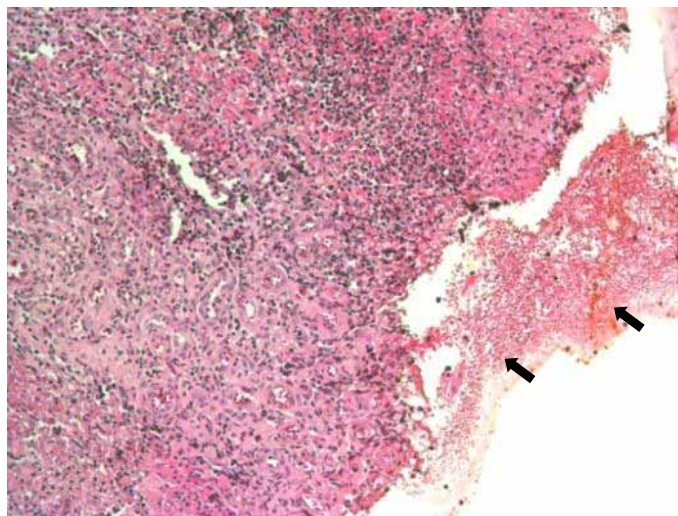


Figura 11A: Pós-operatório de sete dias, grupo BH: solução de continuidade do epitélio e membrana serofibrinosa (setas) [H.E., aumento original: 50x].

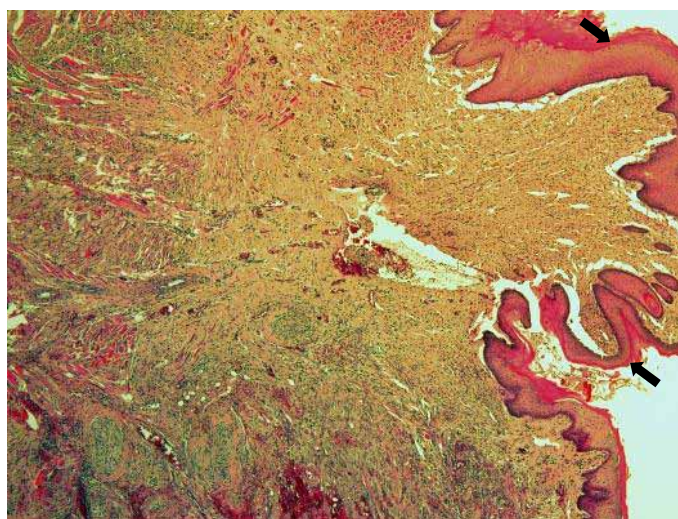


Figura 11B: Pós-operatório de sete dias, grupo BH: projeções epiteliais (setas) [H.E., aumento original: 50x].

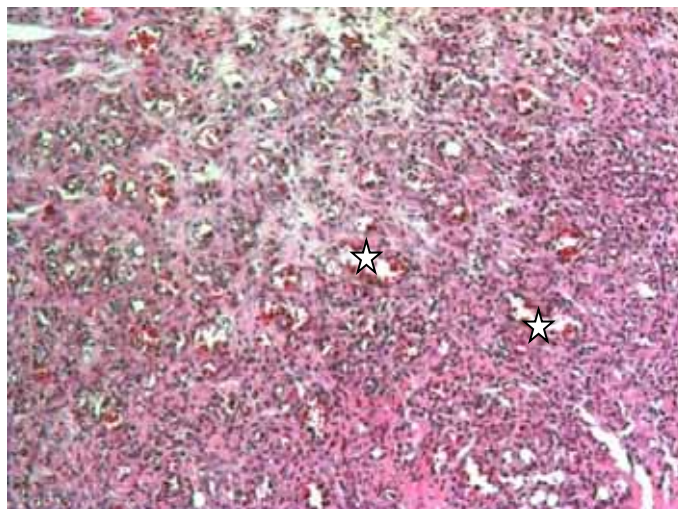


Figura 11C: Pós-operatório de sete dias, grupo BH: intenso infiltrado inflamatório, neoformação e congestão vascular (☆) [H.E., aumento original: 50x].

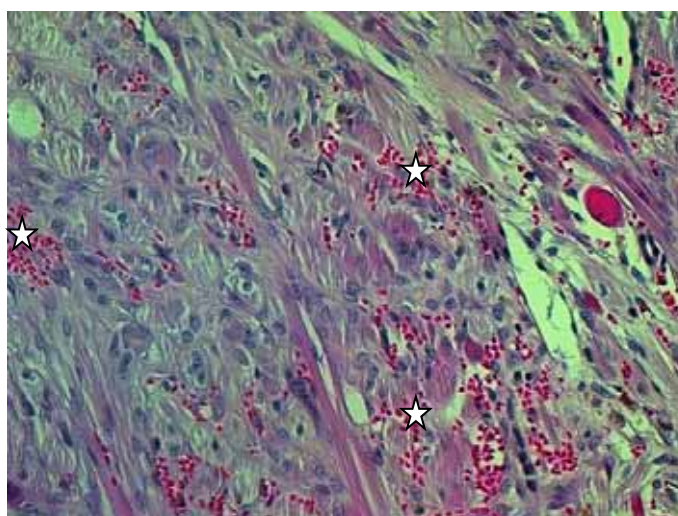


Figura 11D: Pós-operatório de sete dias, grupo BH: áreas de hemorragia (☆) permeando as fibras musculares [H.E., aumento original: 200x].

5.2.4 Pós-operatório de 14 dias

Grupo BC: Aos 14 dias, pode-se notar um tecido conjuntivo organizado, substituindo o tecido muscular. O infiltrado inflamatório encontrava-se moderado, predominantemente de células

mononucleares e o tecido essencialmente vascularizado. Notou-se fibras musculares em fase de organização, em algumas regiões, estas fibras foram regeneradas, e, em outras, atroficas (Figura 12A). Houve notável reepitelização, porém não observou-se a formação das papilas, normalmente encontradas no epitélio normal (Figura 12B).

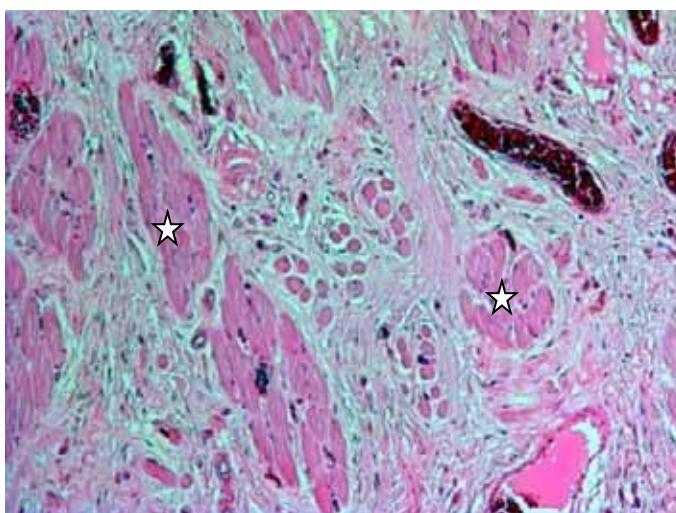


Figura 12A: Pós-operatório de 14 dias, grupo BC: tecido conjuntivo organizado, permeando fibras musculares (☆) [H.E., aumento original: 100x].

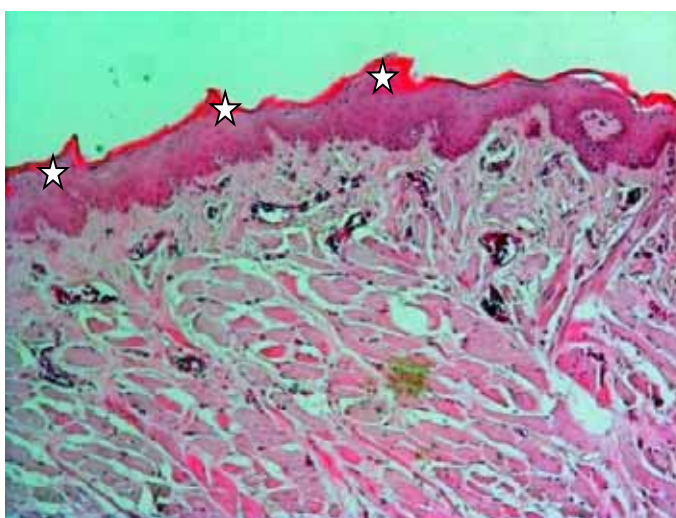


Figura 12B: Pós-operatório de 14 dias, grupo BC: princípio da formação das papilas (☆), lâmina própria ricamente vascularizada [H.E., aumento original: 50x].

Grupo BH: Neste momento, aos 14 dias, observou-se um tecido conjuntivo desorganizado, com suas fibras colágenas permeando as fibras musculares juntamente ao infiltrado inflamatório e áreas de hemorragia. Notou-se, também, algumas fibras musculares em processo de reparo. O epitélio apresentou-se lesado, com áreas de degeneração hidrópica e edema intracelular, recoberto por queratina e material semelhante a uma membrana serofibrinosa. Subjacente a este epitélio, encontrou-se uma lâmina própria aumentada, contendo um tecido conjuntivo bem celularizado e vascularizado e cujas fibras apresentavam-se desorganizadas, provocando projeções volumosas (Figuras 13A e 13B).

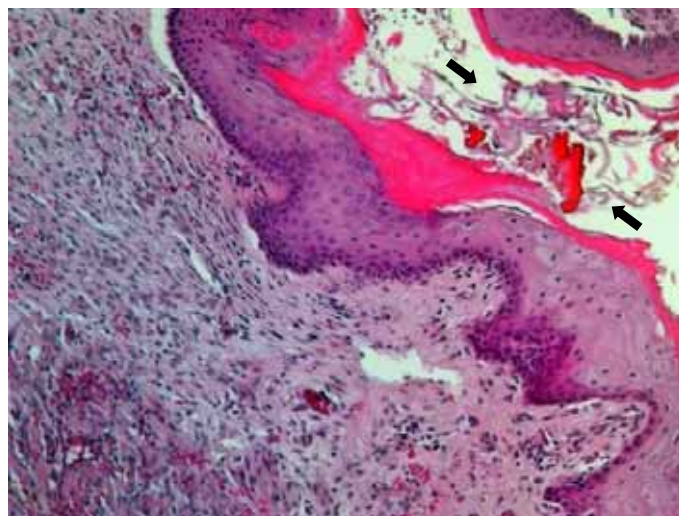


Figura 13A: Pós-operatório de 14 dias, grupo BH: epitélio desorganizado, presença de fibrina na superfície (setas) [H.E., aumento original: 100x].

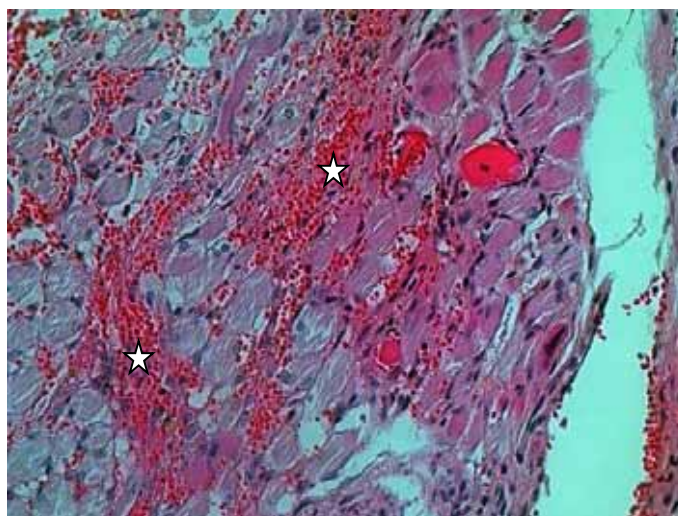


Figura 13B: Pós-operatório de 14 dias, grupo BH: hemorragia (☆ entre as fibras musculares [H.E., aumento original: 200x].

5.3.5 Pós-operatório 28 dias

Grupo BC: No período final do estudo histológico, observou-se certa organização das fibras musculares, permeadas por escassas fibras de tecido conjuntivo. Na região central dos cortes histológicos conseguiu-se observar tecido conjuntivo em maior quantidade e bem organizado, com estruturas vitais preservadas. O epitélio e a lâmina própria apresentavam-se com características de normalidade (Figuras 14A e 14B).

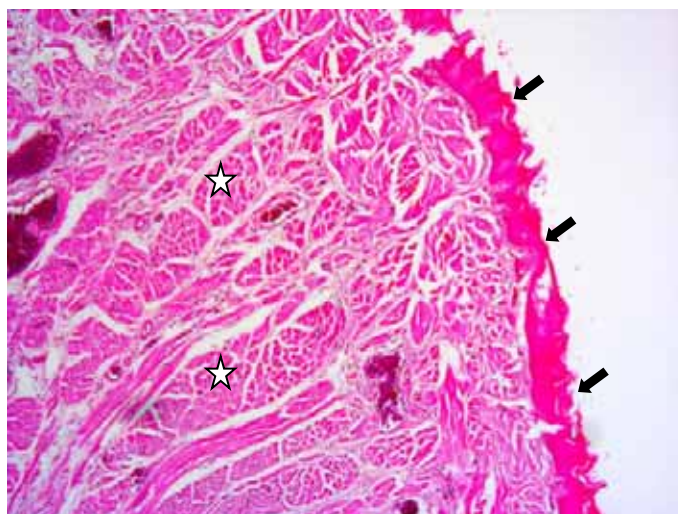


Figura 14A: Pós-operatório 28 dias, grupo BC: papilas filiformes (setas), organização muscular (☆) [H.E., aumento original: 50x].

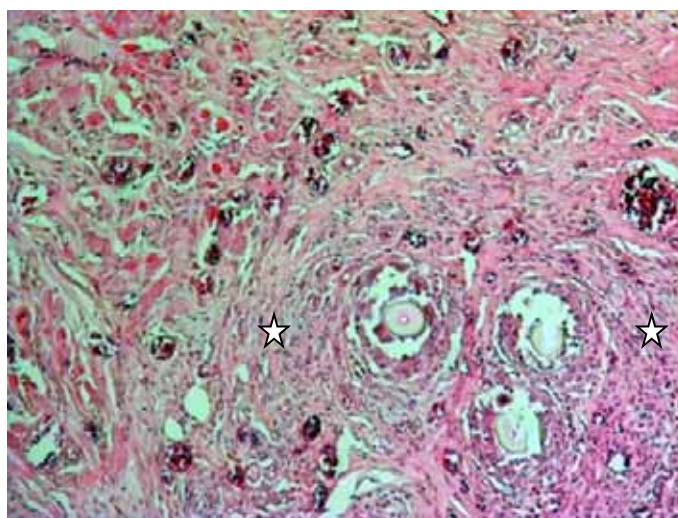


Figura 14A: Pós-operatório 28 dias, grupo BC: tecido conjuntivo organizado na profundidade do corte histológico (☆) [H.E., aumento original: 50x].

Grupo BH: Aos 28 dias, notou-se organização das fibras musculares na periferia dos cortes histológicos, enquanto na porção média e central, observa-se maior quantidade de tecido conjuntivo entre os feixes neoformados. Este tecido conjuntivo apresentou-se ricamente vascularizado, com vasos de pequeno e médio calibre e, em algumas

regiões, era predominante sobre a quantidade de feixes musculares, que por vezes, apresentavam-se de forma isolada. O epitélio e a lâmina própria encontravam-se com características de normalidade, embora, em algumas regiões, a superfície estivesse lisa, sem a formação das papilas.

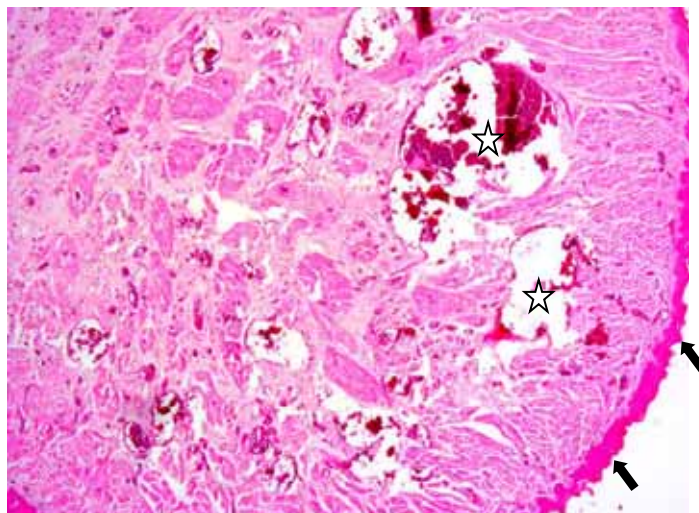


Figura 15A: Pós-operatório 28 dias, grupo BH: áreas de tecido conjuntivo frouxo, com vasos de médio calibre (☆), epitélio reparado (setas) [H.E., aumento original: 50x].

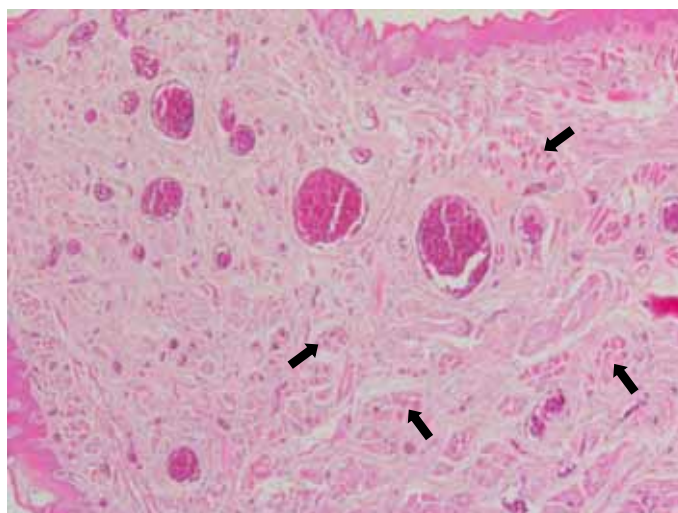


Figura 15A: Pós-operatório 28 dias, grupo BH: feixes de fibras musculares isolados (setas), em meio ao tecido conjuntivo [H.E., aumento original: 50x].

6. DISCUSSÃO

O objetivo de aumentar a segurança e a qualidade de um procedimento cirúrgico, visando possibilitar a diminuição do tempo e complicações trans e pós-operatórias, tem levado a estudos constantes no sentido de se buscar novas ferramentas que venham a substituir e/ou complementar, com vantagens, o bisturi convencional. Como exemplos, podemos citar: o bisturi elétrico, radiação laser de alta potência com diferentes comprimentos de onda, criocirurgia e, atualmente, o bisturi harmônico. Todos eles apresentam vantagens e desvantagens, que devem ser levadas em consideração quando do planejamento cirúrgico.

Quanto ao bisturi harmônico, tem sido utilizado há pouco mais de 15 anos em diversas especialidades da medicina, tais como: cirurgia geral, ginecologia, gastroenterologia e otorrinolaringologia (Matthews et al, 2008; Ali et al, 2011 e Dean et al, 2014), demonstrando algumas vantagens, quando corretamente indicado.

O bisturi de lâmina fria é o instrumento mais utilizado em incisões cirúrgicas apesar das desvantagens, tais como: episódios hemorrágicos, necessidade de sutura entre outras, mesmo assim, é ainda o que promove o mínimo trauma aos tecidos adjacentes e tempo de reparo menor (Arashiro et al, 1996; Morosolli et al, 2010). Esta afirmação também foi confirmada pelo presente estudo. Outros autores discutem que o bisturi convencional não provoca o dano térmico aos tecidos adjacentes, mas, no momento em que a ferida é provocada, há um extravasamento de sangue e linfa que provocam maior edema e formação de cicatrizes (Fisher et al, 1983 e Wilder-Smith et al, 1995).

Mais recentemente, o bisturi harmônico vem sendo indicado na odontologia como parte do arsenal para realização de cirurgias em tecido mole (Cardoso et al, 2014). Entre as vantagens oferecidas, destaca-se a redução no tempo de trabalho, campo exangue, diminuição da dor e edema associados com outras possíveis complicações pós-operatórias (Matthews et al, 2008; Irfan et al 2011; Duan et al, 2013; Dean et al, 2014 e Tirelli et al 2014).

Um dos efeitos preconizado pelo fabricante é uma hemostasia imediata, que está na dependência de dois mecanismos intrínsecos: denaturação das proteínas com a quebra das pontes de hidrogênio (ligações de hidrogênio terciário) selando a luz dos capilares e fricção das células, que também desencadeia denaturação da proteína celular e, assim, sela vasos maiores (Johnson & Johnson Medical).

A vibração da ponta ativa do bisturi harmônico produz rápida mudança de pressão nos tecidos causando a vaporização da água intra e extracelular, promovendo a separação dos planos anatômicos, facilitando assim a visualização e dissecação cirúrgica com temperaturas entre 60°C e 80°C (Eman e Cuschieri, 2003; Blankenship et al, 2004 e Dean et al, 2014). O calor produzido é diretamente proporcional ao nível de potência e duração do toque do instrumento no tecido, permitindo, assim, controlar seus efeitos, através dos seguintes fatores: variação do nível de energia, tempo de exposição e pressão aplicada. Quanto maior a potência, mais rápido é o corte e menor a hemostasia. Com um nível de potência mais baixo, a hemostasia é mais intensa e o corte mais lento (Dean et al, 2014). Este efeito hemostasia/corte foi observado neste experimento.

O oleato de monoetanolamina, substância utilizada neste estudo para induzir a necrose na língua, induziu a lesões com diferentes graus de necrose, sendo, uma resposta particular de cada animal. Com relação ao processo de cicatrização normal da língua, é fato que não

ocorre uma regeneração do tecido muscular, portanto, o que é possível verificar é a qualidade e a cronologia relativos à cicatrização, tanto clínica quanto histologicamente, sendo este fato a base para este estudo.

No primeiro período de análise clínica (sete dias), ambos os grupos apresentavam uma camada serofibrinosa na superfície da área incisada, discreto edema e coloração avermelhada localizada, porém, o grupo BH apresentou ainda, pontos de sangramento quando da manipulação.

Aos 14 dias, no grupo BC, a aparência clínica foi de uma cicatrização completa, onde a coloração da superfície era homogênea, enquanto o grupo BH, ainda apresentava áreas avermelhadas e desepiladas. Este contexto indica um atraso no processo de cicatrização do grupo BH em relação ao grupo BC, pois a reepitelização do grupo BC mostrou-se avançada em relação ao grupo BH.

Aos 28 dias, esse atraso é superado em ambos os grupos, sem diferenças significativas no resultado final, onde se apresentaram reparados.

No tocante as análises histológicas, foi possível classificar os períodos de observação em 3 etapas, de acordo com o fenômeno fisiopatológico predominante em cada momento: fase inflamatória (sete dias), fase substitutiva (14 dias) e fase de remodelação (28 dias).

Na fase inflamatória, além do intenso infiltrado inflamatório de células predominantemente mononucleares, observou-se proliferação tecidual e angiogênese intensa, formando tecido de granulação. Bem como a presença da camada serofibrinosa, em ambos os grupos, cumprindo seu papel de curativo biológico.

Na fase substitutiva, este tecido de granulação adquiriu a forma de um tecido conjuntivo composto por fibroblastos imaturos e intensamente vascularizado. Também, neste período, já ocorreu a

reepitelização. Este dado está em concordância com o estudo de Morosolli et al (2010), enquanto, segundo Sinha e Gallangher (2003), este fenômeno foi observado apenas aos 28 dias.

Quando se diz respeito à fase de remodelação, refere-se ao momento em que o tecido conjuntivo, bem como suas fibras colágenas, atingem seu estado de maturação, permitindo que as fibras musculares remanescentes se reagrupem em feixes, promovendo uma reorganização e aproximando a estrutura da língua ao aspecto de normalidade.

Para ser observado o retardo na cronologia do processo de reparo no grupo BH, é preciso levar em conta que ambos os grupos passam pelas mesmas etapas, porém cada um com sua dinâmica, fazendo-se necessário entender que essas etapas, em determinados momentos, ocorrem simultaneamente.

Em pesquisas realizadas sobre a reparação de feridas produzidas pelo laser de CO₂, observou-se, também, um atraso no reparo, mas que não foi representativo na qualidade final (Niccoli 1999, Paes Junior 2001). Estudos de Schunke et al (1995) indicam alguns fatores que podem ser responsáveis por esse atraso, quando da utilização do laser de CO₂, como, por exemplo, os danos térmicos provocados ao endotélio e a trombose nos capilares e veias, comprometendo a liberação da laminina e fibronectina. A primeira é responsável por liberar fatores de replicação celular e a segunda é quimiotática para fibroblastos, sendo assim, há um comprometimento da formação do tecido de granulação. Esses fatores podem ser os mesmos responsáveis pelo retardo no processo de reparo do grupo BH, visto que há um dano térmico e consequente selamento dos vasos, impedindo o extravasamento destes mediadores para o meio extracelular, comprometendo o *start* do processo regenerativo.

Os resultados apresentados neste estudo indicam que o bisturi harmônico é uma alternativa viável ao uso do bisturi convencional, uma vez que promove uma reparação adequada e sem a presença de cicatrizes. Extrapolando estes resultados para seres humanos, pode-se dizer que o uso do bisturi harmônico além de trazer o resultado clínico esperado, ainda carrega uma melhor qualidade do ponto de vista estético e permite que haja conforto pós-operatório para o paciente.

Nos últimos anos, os estudos direcionados às cirurgias de cabeça e pescoço, especialmente as oncológicas, tem enfatizado a qualidade de vida do indivíduo. Quando possível, os procedimentos são realizados com especial atenção a manutenção funcional do órgão associada a procedimentos reconstrutivos (Zhang et al, 2011 e Tirelli et al, 2014).

Alexiou (2011) não encontrou diferenças em relação a hemorragia trans e pós-operatória e dor, quando comparou com o uso de bisturi harmônico, eletocautério e lâmina fria, em tonsilectomias. Resultado divergente ao de Walker (2001), que constatou que pacientes submetidos à tonsilectomias com o bisturi harmônico retornaram à dieta e atividades habituais mais rapidamente, além de apresentarem menor taxa de hemorragia tardia.

Outro benefício a ser atribuído ao bisturi harmônico é a diminuição das doses de analgésicos administrados no período pós-operatório (Djanic et al, 2012). Ali et al (2001), quando compararam o bisturi harmônico e o bisturi elétrico em tonsilectomias, notaram que os pacientes operados com bisturi harmônico tinham dor menos intensa nas primeiras 72 horas. Os mesmos autores não encontraram diferença significativa no tempo de cirurgia, mas atribuíram tal fator à falta de prática com o instrumento.

Enquanto Hanby et al (2011) compararam o laser de CO₂, o bisturi elétrico e o harmônico em incisões em língua de cadáver fresco,

concluindo que o menor dano térmico foi produzido pelo laser CO₂, Sinha e Gallagher (2003) afirmaram que o bisturi harmônico é superior a radiação laser e ao eletrocautério, quando comparado os fatores: hemostasia, coagulação, reepitelização e inflamação. A temperatura de trabalho do bisturi harmônico foi inferior aos outros instrumentos, sendo assim, o dano térmico aos tecidos adjacentes menor. Além disso, não há transmissão de estímulo elétrico ao tecido nervoso ou muscular. Dessa forma, a soma dessas características leva a redução no desconforto pós-operatório (Diamantis et al, 2006).

Estudos permitem enumerar outras vantagens do bisturi harmônico, tais como: a não transmissão de eletricidade, diminuindo os riscos ao paciente e a equipe cirúrgica; a adesão insignificante de tecido na ponta ativa do instrumento, que poderia interferir na diminuição da potência (Sherman e Davies, 2000; Barrett e Garber, 2003 e Dean et al, 2014). Além disso, uma vez que o bisturi harmônico serve tanto para a dissecação como para a coagulação, há menos substituições de instrumentos (Ali et al, 2001; Matthews et al, 2008 e Mantke et al, 2011). Matthews et al (2008) ainda acrescenta que o bisturi harmônico pode ser utilizado em pacientes portadores de marca-passo, condição esta que não permite o uso do bisturi elétrico.

Mantke et al (2011) explicam que a seleção do instrumento deve ser feita conforme a necessidade e o planejamento do cirurgião, pois não há um equipamento ideal para as diversas situações cirúrgicas. Há situações em que os danos térmicos e elétricos são mais relevantes que o selamento de vasos, como, por exemplo, na proximidade de um nervo ou tecido cartilaginoso.

A respeito das margens cirúrgicas, estudos não indicam o bisturi elétrico e bisturi harmônico quando é necessário avaliar com precisão as margens de uma lesão, pois provocam fragmentações, artefatos e contração do tecido biopsiado (Kakarala et al, 2011 e George

et al, 2013). O dispositivo utilizado numa biópsia deve ser de conhecimento do patologista que realiza a análise das margens de um tumor, somente dessa forma é possível diminuir os resultados falso-positivos ou falso-negativos e assim permitir, com cautela, o uso do laser de CO₂ ou do bisturi harmônico para exérese de tumores. Exemplificando com casos de câncer em laringe, um resultado falso-positivo pode levar a uma cirurgia revisional ou uma radioterapia pós-operatória, sendo assim, autores defendem o uso do bisturi de lâmina fria nestes casos (Manelli et al, 2014).

Uma das maiores desvantagens atribuídas ao BH é o alto custo do equipamento, porém vários autores refutam este argumento. Tirelli et al, em 2014, demonstraram que há uma redução no custo das cirurgias de exérese de câncer bucal e orofaríngeo, quando utiliza-se o bisturi harmônico, correlacionando o custo do equipamento com o tempo em centro cirúrgico. Irfan et al (2011) acreditam que todas as vantagens citadas a respeito do bisturi harmônico justificam os custos, desde o investimento inicial aos gastos com manutenções. Ainda assim, para as cirurgias bucais menores realizadas em ambulatório, o custo do equipamento utilizado pode representar uma desvantagem considerável em relação ao bisturi de lâmina fria, fato que outros autores estão de acordo (Michelsen et al, 2011). O confronto dessas opiniões divergentes chama atenção para um aspecto importante na relação custo/benefício: o grau de habilidade do cirurgião para manipular o equipamento, pois quanto mais evoluída a habilidade menor é o tempo da cirurgia, o que diminuiria os custos hospitalares.

Pelos resultados observados podemos afirmar que o bisturi harmônico, apesar de seu alto custo, traz benefícios importantes que levam ao bem estar do paciente, devendo ser esse o nosso objetivo principal.

7. CONCLUSÕES

Embasados na metodologia aplicada e nos resultados obtidos, julgamos poder concluir que:

1. No grupo tratado com BH, observamos um retardo na cronologia de reparo nos tempos iniciais (sete e quatorze dias), porém aos vinte e oito dias, ambos os grupos apresentavam características de normalidade;
2. Aos quatorze dias o infiltrado inflamatório era menos evidente no grupo tratado com BC;
3. O grupo tratado com BC apresentou, histologicamente, uma melhor organização, traduzindo-se em um reepitelização mais rápida e aceleração no processo de reparo, quando comparado ao BH;
4. Apesar das diferenças clínica e histológicas observadas nos tempos iniciais, estas não foram impeditivos para que a qualidade do processo de reparo foi semelhante em ambos os grupos.

8 REFERÊNCIAS*

Abbas AK, Lichtman AH, Pober, J.S. *Imunologia Celular e Molecular*, 3.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000 a.

Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular immunology*, 4.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000 b.

Alberts B. et al. *Biologia Molecular da Célula*, 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.

Alexiou VG, Salazar-Salvia MS, Jervis PN, Falagas ME *Modern Technology–Assisted vs Conventional Tonsillectomy - A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials.* , *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, Vol 137: 6, june 2011.

Ali, N., Ikram, M., Akhtar, S., Moghira, I., Nawaz, A., Arain, A. Harmonic scalpel versus electrocautery tonsillectomy: a comparative study in adult patients. *Journal of the Pakistan Medical Association*, 61(3), 256-9, 2011.

Angel ME, Narayana K, Swartz WM, The etiologic role of free radicals in hematoma-induced flap, necrosis, *Plast Reconstr Surg*, 77: 795, 1986.

*Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 ago.] Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Arasshiro DS, Rapley JW, Cobb CM, Killoy WJ. Histologic evaluation of porcine skin incisions produced by CO2 laser, electrosurgery, and scalpel. *Int J Period Dent*, v.16, p.479-91, Oct. 1996.

Balaas A, Holmgren HJ. The basic dye uptake and the presence of growth inhibiting substance in the healing tissue of skin wounds, *Exp Cell Res*, 1:206, 1950.

Barrett WL, Garber SM: Surgical smoke: a review of the literature. Is this just a lot of hot air? *Surg Endosc* 17: 979e987, 2003

Bianchi M, Sacerdote P, Panerai AE. Cytokines and cognitive function in mice. *Biol Signals Receptors*, v.7, n.1, p.45-54, 1998.

Borges AF, Alexander JE. Relaxed skin tension lines, Z-plasties for scars, and fusiform excision of lesions. *Br J Plast Surg*, v.125. p.242, 1962.

Burgeson RE. Type VII collagen, anchoring fibrils, and epidermolysis bulbosa. *J Invest Dermatol*, v.101, p.252-255, 1994.

Cardoso GOM, Achkar VNR, Botrel T, Niccoli-Filho W, Efficacy of the Harmonic Synergy® Scalpel in the surgical removal of fibrous hyperplasia, *National Journal of Medical Research*; 4, 1 (Jan – Mar), 2014.

Clark JJ. Wound repair and factors influencing healing. *Crit Care Nurs Q*, 2002; 25(1):1-12.

Clark RAF, Winn HJ, Dvorak HF. Fibronectin beneath reepithelializing epidermis in vivo. Sources and significance, *J Invest Dermatol*, 80:0263, 1983.

Cleary EG, Gibson MA. Elastin-associated microfibrils and microfibrillar proteins. *Int Rev Tissue Res*, 10:97, 1983.

Cohn ZA. The activation of mononuclear phagocytes: Fact, fancy and future. *J Immunol*, v. 121, p. 813-816, 1978.

Contran RS, Kumar V, Collins T. Reparo dos tecidos: crescimento celular, fibrose e cicatrização das feridas. *In: Robbins: Patologia estrutural e funcional*. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap.4, p.79-100.

Cotran RS, Kumar R, Collins T. Patologia estrutural e funcional, 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 2000.

Cotran RS. Endothelial cells. *In KELLEY, W.N., et al. (eds.):Textbook of Reumathology*, 4 ed. Philadelphia, W.B.Saunders Co., 1993, p 327-336.

Cruz-filho M, Maia CC, Abrahão S, Baptista Silva JCC, Gomes PO. Efeitos do oleato de etanolamina na parede venosa, de cães. *Acta Cir Bras*, v.17, n.5, p. 317-25, set/out. 2002.

Danic D, Hadibegovi A, Stojadinovi T, Damjanovi D, Gudelj A, Mahovne I. Harmonic Scalpel Surgical Treatment of the Tongue Angioleomyoma – Case Report and Review of the literature. *Coll. Antropol.* 36 Suppl. 2: 167–170, 2012

Dean A, Alamillos F, Centella I, García-Álvarez S. Neck dissection with the harmonic scalpel in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity, *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery* 42; 84-87, 2014.

Deo SV, Shukla NK, Asthana S, Niranjana B, Srinivas G. A comparative study of modified radical mastectomy using Harmonic Scalpel and electrocautery. *Singapore Med J*, 2002;43(5):226-228.

Diamantis T, Kontos M, Arvelakis A, Syroukis S, Koronarchis D, Papalois A, et al: Comparison of monopolar electrocoagulation, bipolar electrocoagulation, ultracision, and ligasure. *Surg Today* 36: 908e913, 2006

Duan Y, Xue W, Zhu F, Sun D, FOCUS Harmonic Scalpel compared to conventional hemostasis in open total thyroidectomy – a prospective randomized study, *Journal of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 42:62, 2013.

Eman TA, Cuschieri A, How safe is high-power ultrasonic dissection? *Ann Surg* 237: 186-191, 2003

Enoch S, Leaper D. Basic science of wound healing. *Surgery*, v.26, n.2, p.31-36, Mar. 2007.

Fearson DT., Austen KR. Activation of the alternative complement pathway by E coli: resistance of bound c3b to inactivation by c3b INA and BIH, *J Immunol* 120: 1772, 1977.

Fine N, Mustoe TA. Wound Healing. In: Greenfield, L.J.; Mulholland, M.W.; Oldham KT, Zenelock GB, Lillemoe KD. *Surgery: scientific principles and practice*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins; 2001. p 69-85.

Fisher S.E. et al A comparative study of wound healing following CO2 laser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. *Archs. Oral. Biol.*, v.28, n.4, p.287-91, 1983

Fisher SE, frame JW, Browne RM, Trante RM. A comparative histological study of wound healing following CO2 laser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. Arch Oral Biol, v.28, n.4, p.287-291, 1983.

Foschi D, Cellerino P, Corsi F et al. The mechanisms of blood vessel closure in humans by the application of ultrasonic energy. Surg Endosc. 2002;16(5):814-819.

Frazer JK, Capra JD. Immunoglobulins: Struture And Function. In: PAUL, W. Fundamental immunology. 4 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999, p. 37-74.

Gabbiani, G.;Lelous, M. Bailey, A.J. Collagen and myofibroblasts of granulation tissue. A chemical, ultraestructural and immunologic study, Cell Pathol, 21: 133, 1976.

George S, Hyde NC, Wilson P, Smith GI, Does the method of resection affect the margins of tumoursin the oral cavity? Prospective controlled study in pigs. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 51, 600–603; 2013.

Gordon S. Biology of the macrophages. J Cell Sci, v. 4, p. 267-286, 1986.

Gordon S. Macrophage-restricted molecules: role in differentiation and activation. Immunol Lett, v. 65, p. 1-2, 5-8, 1999.

Gordon S. The macrophage. Bioessay, v. 17, p. 977-986, 1995.

Greenberg PD. Mechanisms of tumor immunology. In: Stites, D.P.; Terr, A.I.; Parslow, T.G. Basic & Clinical immunology. 8. ed. London: Printice-Hall International Inc, 1994, p. 567-577.

Greenberg S. Signal transduction of phagocytosis. Trends Cell Biol, v. 5, p. 93-99, 1995.

Hanby D, Gremillion G, Zieske AW, Loehn B, Witworth R, Wolf T, Kakade AC Walveka RR. Harmonic scalpel versus flexible CO2 laser for tongue resection: A histopathological analysis of thermal damage in human cadavers. World Journal of Surgical Oncology, 9:83, 2011.

Heathcote, J.G.; Grant, M.E. The molecular organization of basement membranes, Int Rev Connect Tissue Res, 9:191, 1981.

Hess CL, Howard MA, Attinger CE. A review of mechanical adjuncts in wound healing: hydrotherapy, ultrasound, negative pressure therapy, hyperbaric oxygen, and eletrostimulation. Ann Plast Surg, v.51, p.210-218, Aug. 2003.

Horn DB, Bker SR, Graham LM. Utilizing angiogenic agents to expedite the neovascularization process in skin flaps, Laryngoscope 98: 521, 1988.

Ioachim E, Charchanti A, Briasoulis E, Karavasilis V, Tsanou H, Arvanitis DL, Agnantis NJ, Pavlidis N. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components tenascin, fibronectin, collagen type IV and laminin in breast cancer: their prognostic value and role in tumour invasion and progression. European J Cancer, 2002, v. 38, p. 2362-2370.

Irfan M, Aliyu YA, Baharudin A, Shahid H, Harmonic Scalpel for a bloodless partial glossectomy: A Case Report, J Malaysia Vol 66 No 2 June 2011

Johnstone CC, Farley AC. The physiological basiss of wound healing. Nurs Stand, v.19, n.43, p.59-65, Jul. 2005.

Kadesky KM, Schopf B, Magee JF et al. Proximity injury by ultrasonically activated scalpel during dissection. J Pediatr Surg, 1997;32(6):878-879.

Kakarala K1, Faquin WC, Deschler DG. A comparison of histopathologic margin assessment after steel scalpel, monopolar electrosurgery, and ultrasonic scalpel glossectomy in a rat model. Laryngoscope v.120 Suppl 4:S155; 2010.

Kischer CW, Shetlar MR, Chvapil M. Hypertrophic scars and keloids: a review and new concept concerning their origin, Scan Eletron Microsc 4: 1699, 1982.

Kohn S. Structural basis of hyperpermeability of tumor blood vessels. Lab. Invest. 67:596, 1992.

Krstic RV. Illustrated Encyclopedia of Human Histology. Springer Verlag, 1984.

Lark MW, Latterra J, Culp IA. Close and focal contact adhesions of fibroblasts to a fibronectin-containing matrix, Fed Proc, 44: 394, 1985.

Levenson SM, Geever EG, Crawley LV. The healing of rat skin wounds, Ann Surg 161: 293, 1965.

Lin TH, Rosales C, Mondal K, Bolen JB, Haskil S, Juliano RL. Integrin-mediated tyrosine phosphorylation and cytokine message induction in monocytic cells: a possible signaling role for the Syk tyrosine kinase. *J Biol Chem*, v. 270, p. 16189, 1995.

Lin TH, Yurochko A, Komberg L, Morris J, Walker J, Haskill S, Juliano, RL. The role of protein tyrosine phosphorylation in integrin-mediated gene induction in monocytes. *J Cell Biol*, v. 126, p. 1585, 1994.

Lochter A, Bissel M. Involvement of extracellular matrix constituents in breast cancer. *Cancer Biol*, v. 6, p. 165-173, 1995.

Majno, G. The capillary then and now: An overview of capillary pathology. *Mod. Pathol*. 5:9, 1992.

Mannelli G, Meccariello G, Deganello Impact of low-thermal-injury devices on margin status in laryngeal cancer. An experimental ex vivo study A, Maio V, Massi D, Gallo O, *Oral Oncology* 50; 32–39, 2014.

Mantke R, Halangk W, Habermann A, Peters B, Konrad S, Guenther M, Lippert H, Efficacy and safety of 5-mm-diameter bipolar and ultrasonic shears for cutting carotid arteries of the hybrid pig. *Surg Endosc* 25:577–585, 2011.

Masaki M, Obara K, Suzuki S, Orikasa K, Mitsuhashi H, Iwasaki K. The destructive effects of sclerosant ethanolamine oleate on mammalian vessel endothelium. *Gastroenterol Jpn*, v.25, p.230-235, Apr. 1990.

Matthews B, Nalysnyk L, Estok R, Fahrbach K, Banel, D Linz H, Landman J. Ultrasonic and nonultrasonic instrumentation. *Arch Surg*; 2008;143(6):592-600.

Mcgrath IA, Ishida-Yamanoto A, O'grady A. Structural variations in anchoring fibrils in dystrophic epidermolysis bullosa: correlation with type VII collagen expression, *J Invest Dermatol*, 100:366-372, 1993.

Michelsen J, Use of the harmonic scalpel for soft palate resection in dogs: a series of three cases. *Australian Veterinary Journal* Volume 89, No 12, 511:514, December, 2011.

Minor R,. Collagen metabolism. *An J Pathol*, 98:255, 1988.

Morosolli, ARC; Veeck, EB; Niccoli-Filho, W; Gomes, MF; Goulart, MGV. Healing process after surgical treatment with scalpel, electrocautery and laser radiation: histomorphologic and histomorphometric analysis *Lasers Med Sci* (2010) 25:93–100.

Nathan CF, Secretory products of macrophages. *J Clin Invest*, v. 79, p. 319-326, 1987.

Nelson DJ, Jow F. Whole-cell currents in macrophages. Human monocytes-derived macrophages. *J Membr Biol*, v. 117, p. 29-44, 1990.

Neveu PJ. The mononuclear phagocyte system. *Bull Inst Pasteur*, v. 84, p. 24-66, 1986.

Niccoli-Filho W, Okamoto T. Effect of the helium-neon laser on the healing of extraction wounds: a histological study in rats. *J Lasers Applic*, v.6, p.237-40, 1994.

Olsen DR, Peltonen I, Jaakkola S. Collagen gene expression by cultured human skin fibroblasts. Abundant steady-state levels of type VI procollagen messenger RNAs, *Clin Invest*, 83: 791-795, 1989.

Paes-Júnior TA, Niccoli-Filho W. Clinical comparison between conventional suture and vaporization with carbon dioxide laser in rat's skin. *J Clin Laser Med Surg*, New York, v.19, p.319-324, Dec. 2001.

Parnes, J.R. Molecular biology and function of CD4 and CD8. *Advances in Immunology*, v. 44, p. 265-311, 1989.

Rappopplee, D.A.; Werb, Z. Secretory products of phagocytes. *Curr Opin Immunol*, v. 1, p. 47-55, 1988.

Roitt I, Brostoff J, Male D. *Imunologia*. 5. ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1999.

Saarialho-Kere, UK, Chang ES, Welgus HG, Direct localization of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases expression in wound healing associated with ulcerative pyogenic granuloma, *J Clin Invest*, 90: 1952-1957, 1992.

Salami A, Dellepiane M, Bavazzano M, Crippa B, Mora F, Mora R. New trends in head and neck surgery: A prospective evaluation of Harmonic Scalpel®. *Med Sci Monit*, 2008;14(5):1-5.

Schreiber H. Tumor immunology. In: Paul, W. *Fundamental immunology*. 4^a ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999. p. 1237-1270.

Schultz KR, Klarnet JP, Giene RS, Hayglass KT, Greenberg PD. The role of B cells for in vivo T cell responses to a friend virus-induced leukemia. *Science*, v. 249, p. 921-923, 1990.

Schunke, M et al, Characteristic features of wound healing in lasers induced incisions. *Laser Otorhinolaryngol. H. N. Surg.*, v.49, p.8-14, 1995.

Sherman JA, Davies HT: Ultracision: the harmonic scalpel and its possible uses in maxillofacial surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg* 38: 530e532, 2000

Silver IA. Cellular microenvironment in healing and nonhealing wounds. In Hunt TK, Heppensiall RB, Pines E, *et al*, editors: *Soft hard tissue repair*, New York, 1984, Praeger Publishers.

Sinha VK, Gallangher LA. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 laser, and monopolar and bipolar electrosurgery on wound healing in guinea pig oral mucosa. *Laryngoscope*, v.113, n.2, p.228-236, Feb. 2003.
Springer, T. A. Traffic signal for lymphocyte circulation and leukocyte migration: the multistep paradigm. *Cell* 76:301, 1994.

Stites DP, Terr AI. *Imunologia Básica*. Rio de Janeiro: Editora Prentice – Hall do Brasil Ltda, 1992.

Thomas DW, Oneill ID, Harding KG. Cutaneous wound healing: a current perspective. *J Oral Maxillofac Surg*, v.53, p.442-7, 1995.

Tirelli G, Piero GC, Perrino F, Ultracision Harmonic Scalpel in oral and oropharyngeal cancer resection *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 42: 544-547, 2014.

Unanue ER, Allen PM. The basis for the immuno-regulatory role of macrophages and other accessory cells. *Science*, v. 236, p. 551-557, 1987.

Van Winkle W. The fibroblast in wound healing. *Surg Gynecol Obstet*, 124:369, 1967.

Walker RA, Syed ZA: Harmonic scalpel tonsillectomy versus electrocautery tonsillectomy: York, Raven Press, p 5-13, 1992.

Weissman G. Inflammation: Historical perspectives. *In* Gallin, J.I., *et al.* (eds.): Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, 2 ed. New

Wilder-smith P, Arrasti AM, Liaw LH, Berns M. Incision properties and thermal effects of three CO2 lasers in soft tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v.79, n.6, p.685-691, June. 1995.

Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. *Am J Surg*, 183, 406-412, 2002.

Wood GC. The formation of fibrils from collagen solutions. Effect of chondroitin sulfate and other naturally occurring polyanions on the rate of formation, *Biochem J*, 75: 605, 1960.

Young T. The healing process: nurses are familiar with the management of wounds as they pass through the different stages of the healing process but do they understand the physiology behind tissue growth and repair as well as they could? *Pract Nursing*, v. 22 (10): 38-40, 2001.

Zhang B, Huang HZ, Pan CB, Xu JH, Wang JG, Chen WL: Aesthetic and functional radical surgery in young patients with stage one or two tongue cancer: a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg* 39(3): 209-214, 2011.

ANEXO Certificado Comitê de Ética em Pesquisa

unesp  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Diniz
CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028
Fax (12) 3947-9010 / yanamir@fodp.unesp.br

 **CERTIFICADO**
Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Animais

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº 13/2011-PA/CEP, sobre
**“Avaliação do processo evolutivo da reparação tecidual após
tratamento cirúrgico realizado com bisturi convencional e bisturi
Harmônico HARMONIC® em necrose induzida em língua de ratos:
Estudo clínico e histomorfométrico, sob a responsabilidade de
WALTER DOMINGOS NICCOLI FILHO, tendo como orientada a aluna
Vivian Narana Ribeiro El Achkar, está de acordo com os Princípios
Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de
Experimentação Animal – CONCEA e Lei Arouca nº 11.794 de
08/10/2008 e foi aprovado por este Comitê de Ética.**

São José dos Campos, 14 de outubro de 2011.


Prof.Assist.Dr. RUBENS NISIE TANGO
Coordenador