

ELEN CAROLINA DAVID JOÃO DE MASI

**CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS REALIZADAS
NA MUCOSA JUGAL DE RATOS COM BISTURI
COM LÂMINA FRIA E COM BISTURI
HARMÔNICO ULTRA-SÔNICO**

CURITIBA

2007

ELEN CAROLINA DAVID JOÃO DE MASI

**CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS REALIZADAS
NA MUCOSA JUGAL DE RATOS COM BISTURI
COM LÂMINA FRIA E COM BISTURI
HARMÔNICO ULTRA-SÔNICO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha

CO-ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a Lucia de Noronha

**Curitiba
2007**

D372c
2007

De Masi, Elen Carolina David João

Cicatrização de feridas realizadas na mucosa jugal de ratos com bisturi com lâmina fria e com bisturi harmônico ultra-sônico / Elen Carolina David João De Masi ; orientador, Sérgio Luiz Rocha ; co-orientadora Lucia de Noronha. – 2007.
xvi, 74 f. ; il. : 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2007
Inclui bibliografia

1. Ultra-som em cirurgia. 2. Instrumentos e aparelhos cirúrgicos. 3. Rato como animal de laboratório. 4. Cicatrização de feridas. I. Rocha, Sérgio Luiz. II. Noronha, Lucia de. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. IV. Título.

CDD 20. ed. – 617.07543
617.05
617.1406

O segredo de progredir é começar. O segredo de começar é dividir as tarefas árduas e complicadas em tarefas pequenas e fáceis de executar, e depois começar pela primeira.

Mark Twain

Aos meus queridos pais Salim e Delcy,
exemplos de vida a serem seguidos;
ao meu esposo Helio, pelo seu carinho,
dedicação, compreensão, paciência e amor;
e às minhas filhas Flávia e Roberta, que
são estímulo e motivação para mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha, professor de Anatomia Médica e Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelas prestigiosas orientações recebidas neste estudo, pela confiança e amizade.

À Prof.^a Dr.^a Maria de Lourdes Pessole Biondo-Simões, professora de Metodologia Científica, do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelas valiosas sugestões, ensinamentos e dedicação.

À Prof.^a Dr.^a Lucia de Noronha, professora de Anatomia Patológica, do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pelos ensinamentos em patologia.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Von Bahten, diretor adjunto do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Pontifícia Católica do Paraná, pela exemplar direção e dedicação ao curso.

À Prof.^a Márcia Olandoski, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela grande colaboração na confecção das análises e estudos estatísticos deste trabalho.

À Sra. Mariel Wahrhaftig, funcionária da Johnson, pelo empréstimo do aparelho Bisturi Harmônico Ultra-sônico.

À Sra. Patrícia Bassa, funcionária do Departamento de Clínica Cirúrgica da

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela dedicação e colaboração.

À Sra. Fabíola dos Santos, funcionária do Departamento de Clínica Cirúrgica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela colaboração e presteza nas informações.

Ao Senhor Misael Ferreira, funcionário da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela presteza e colaboração durante a realização das cirurgias experimentais.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	01
1.1 OBJETIVOS.....	05
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	06
2.1 BISTURI HARMÔNICO ULTRA-SÔNICO.....	07
2.2 CICATRIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL.....	09
3 MÉTODOS.....	11
3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO.....	12
3.2 APARELHOS UTILIZADOS.....	12
3.2.1 Bisturi Harmônico Ultra-sônico.....	12
3.2.2 Bisturi com Lâmina Fria.....	13
3.3 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO.....	13
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	14
3.4.1 Procedimento Anestésico.....	14
3.4.2 Confeção das Incisões.....	14

3.4.3 Analgesia no Pós-Operatório.....	15
3.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	15
3.5.1 Avaliação do sangramento.....	15
3.5.2 Avaliação macroscópica das feridas.....	15
3.6 EUTANÁSIA.....	15
3.7 ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO.....	16
3.7.1 Preparo das Amostras.....	16
3.7.2 Preparo das Lâminas.....	16
3.7.3 Avaliação Morfológica Subjetiva.....	16
3.7.4 Análise Morfométrica.....	18
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
4 RESULTADOS	21
4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	22
4.1.1 Avaliação da Hemostasia.....	22
4.1.2 Avaliação Macroscópica das Feridas.....	22
4.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA MORFOLÓGICA MORFOMÉTRICA.....	24
4.2.1. Análise Microscópica Morfológica	24
4.2.2 Análise Microscópica Morfométrica.....	27
4.2.2.1 Avaliação de colágeno.....	27
4.2.2.2 Imunoistoquímica.....	30
5 DISCUSSÃO.....	35
5.1 HEMOSTASIA.....	36
5.2 ASPECTOS MACROSCÓPICOS.....	36
5.3 ASPECTOS MICROSCÓPICOS.....	37

5.3.1 Análise Microscópica Morfológica.....	37
5.3.2 Análise Microscópica Morfométrica.....	37
5.3.2.1 Densidade do colágeno.....	37
5.3.2.2 Imunoistoquímica.....	38
5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
6 CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS.....	41
NORMAS ADOTADAS.....	45
ANEXOS.....	47

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Classificação e atribuição de índices aos achados histológicos do HE.....	17
QUADRO 2 - Caracterização da fase do processo Inflamatório de acordo com o escore final de cada grupo.....	18
QUADRO 3 - Análise estatística para dados subjetivos no terceiro dia	26
QUADRO 4 - Comparação das variáveis Colágeno I e III no sétimo dia.....	27
QUADRO 5 - Comparação das variáveis Colágeno I e III no 14.º dia.....	28
QUADRO 6 - Comparação das concentrações de linfócitos T, detectados pelo anti-CD3 nos 7.º e 14.º dias.....	30
QUADRO 7 - Comparação do número de vasos avaliados pelo anti- Fator VIII, nos 7.º e 14.º dias.....	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Bisturi harmônico ultra-sônico.....	13
FIGURA 2 - Caneta do bisturi harmônico. Observa-se a ponta romba.....	13
FIGURA 3 - Desenho esquemático da incisão feita com BLF, lado esquerdo.....	14
FIGURA 4 - Desenho esquemático da incisão feita com BHU, lado direito.....	14
FIGURA 5 - Aspecto imediato da incisão com BLF e com BHU.....	22
FIGURA 6 - Aspecto das incisões feitas com BLF e com BHU com três dias de evolução.....	23
FIGURA 7 - Aspectos da incisão feita com BLF e com BHU com sete dias de evolução	23
FIGURA 8 – Aspectos da ferida feita com BLF e com BHU com quatorze dias de evolução.....	24
FIGURA 9 - Fotomicrografias de cortes histológicos mostrando a presença do processo inflamatório, no terceiro dia de evolução, nas feridas feitas com BLF e BHU (HE, 100 X).....	25
FIGURA 10 - Fotomicrografias de cortes histológicos mostrando a presença do processo inflamatório, no sétimo dia de evolução, nas feridas feitas com BLF e BHU (HE, 100 X).....	25

FIGURA 11 - Fotomicrografias de cortes histológicos mostrando a presença do processo inflamatório, no décimo quarto dia de evolução, nas feridas feitas com BLF e BHU (HE, 100 X).....	26
FIGURA 12 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões dos colágenos tipo I e III, na avaliação de sete dias, nas cicatrizes dos dois grupos.....	27
FIGURA 13 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões dos colágenos tipo I e III, na avaliação de quatorze dias, nas cicatrizes dos dois grupos....	28
FIGURA 14 - Fotomicrografias, onde se vê colágeno III (verde) e colágeno I (amarelo a vermelho) no sétimo dia, de cicatrizes resultantes de incisões feitas com BLF e BHU (Sirius Red 200 X).....	29
FIGURA 15 - Fotomicrografias, onde se vê colágeno I (amarelo a vermelho) e colágeno III (verde) em cortes histológicos de feridas feitas com BLF e BHU, no décimo quarto dia (Sirius red, 200X).....	29
FIGURA 16 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-CD3, na avaliação de sete dias, nas cicatrizes dos dois grupos.....	30
FIGURA 17 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-CD3, na avaliação de quatorze dias, nas cicatrizes dos dois grupos.....	31
FIGURA 18 – Fotomicrografia de cortes histológicos de feridas feitas com BLF e BHU, onde se vêem linfócitos T, em feridas com sete dias de evolução (Imunoistoquímica, anti-CD3, 200X).....	31
FIGURA 19 - Fotomicrografia de corte histológico corado pelo anti-CD3. em que se vêem linfócitos T, décimo quarto dia, para BLF e BHU	32

FIGURA 20 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-fator VIII, na avaliação de sete dias, nas cicatrizes dos dois grupos.....33

FIGURA 21 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-fator VIII, na avaliação de quatorze dias, nas cicatrizes dos dois grupos.....33

FIGURA 22 - Microfotografias de cortes histológicos de feridas resultantes de incisões feitas com BLF e BHU, avaliadas com sete dias (Imunoistoquímica, anti-Fator VIII, 200X).....34

FIGURA 23 - Microfotografias de cortes histológicos de feridas resultantes de incisões feitas com BLF e BHU, avaliadas com quatorze dias (Imunoistoquímica, anti-Fator VIII, 200X).....34

LISTA DE ABREVIATURAS

BLF – bisturi com lâmina fria

BHU – bisturi harmônico ultra-sônico

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

D – direito

E – esquerdo

FVIII – Fator VIII

HE – hematoxilina eosina

SR – sirius red

CFMV- Conselho Federal de Medicina Veterinária

RESUMO

Introdução: Novas técnicas de incisão e hemostasia têm sido utilizadas com diversos aparelhos, em diferentes operações, com o intuito de realizá-las em menor tempo obtendo boa hemostasia, sem prejuízo da cicatrização. **Objetivo:** Avaliar a evolução macro e microscópica do processo de cicatrização de feridas realizadas com o bisturi harmônico ultra-sônico na mucosa jugal de ratas e compará-las às feitas com bisturi de lâmina fria. **Métodos:** Foram utilizadas 30 ratas *Wistar* que sofreram incisões na mucosa jugal, do lado direito com BHU e no lado esquerdo com BLF. As avaliações macroscópicas e microscópicas foram realizadas nos 3.º, 7.º e 14.º dias após a retirada de material fusiforme de cada um dos lados. Para análise microscópica morfológica utilizou-se coloração pela Hematoxilina - Eosina avaliando-se o processo inflamatório, com a técnica do Sirius red avaliaram-se os colágenos tipo I e III. O tratamento com os anticorpos anti-CD 3 e anti-Fator VIII permitiu avaliar a concentração de linfócitos T e os neovasos. **Resultados:** O BHU permitiu incisões sem sangramento, entretanto promoveu maior dano celular representado por feridas mais largas e deprimidas com conseqüente atraso de reepitelização. À microscopia constatou-se reações inflamatórias mais intensas com a presença de microabscessos ($p=0,313$). Nas feridas resultantes do BHU houve prejuízo da deposição de colágeno representado pela menor densidade de colágeno I ($p=0,005$) e de colágeno III ($p=0,037$) no 7.º dia. Constatou-se atraso da maturação das cicatrizes evidenciado por menor concentração de colágeno I ($p=0,008$) e maior de colágeno III ($p=0,038$) no 14.º dia. A neoformação de vasos foi mais intensa com o BHU, tanto no 7.º dia ($p=0,005$) quanto no 14.º dia ($p=0,005$). **Conclusão:** A análise dos resultados do presente estudo permite concluir que a utilização do BHU (quando comparada ao BLF, em incisões feitas na mucosa jugal de ratas) proporciona hemostasia eficiente; leva a uma maior área de lesão no momento da incisão; atrasa o processo de regeneração; promove maior processo inflamatório; prolonga a fase inflamatória; desenvolve maior atividade angiogênica; atrasa a fibroplasia e a maturação das cicatrizes.

Descritores - Eletrocirurgia. Mucosa Jugal. Cicatrização das Feridas.

ABSTRACT

Introduction: New techniques of incision and haemostasis have been used with different devices in the different operations with the intention of carrying them out in the shortest time and with the best results in healing. **Objective:** To evaluate the macroscopic and microscopic evolution of the healing process of incisions carried out with the ultrasonic harmonic scalpel in the oral mucosa of the rats and compare it that done with cold blade scalpel. **Method:** Thirty *Wistar* rats were used which had undergone incisions on the right side jugal mucosa with the ultrasonic harmonic scalpel and on the left side with the cold blade scalpel. The macroscopic and microscopic evaluation was carried out on the 3rd, 7th and 14th days after the collection of fusiforme material from each side of the rats. For the morphologic microscopic analysis, Haematoxilin and Eosin coloration techniques were used to evaluate the inflammatory process and the *Sirius red* technique was used to evaluated the type I and III collagens. Treatment with anti-CD3 antibodies and anti-factor VIII permitted an evaluation of T lymphocytes and angiogenesis. **Results:** The ultrasonic harmonic scalpel made incisions without bleeding. However, it resulted in greater cellular damage shown by wider and more depressed wounds with consequent delayed regeneration. Microscopy showed that there was more intense inflammatory reaction with micro abscesses ($p=0,313$). In the resulting wounds of the ultrasonic harmonic scalpel there was the damage of the deposition of collagen, With lower density of collagen I ($p=0,005$) and collagen III ($p=0,037$) on the 7th day. Delayed maturation of the scars was witnessed by lower concentration of collagen I ($p=0,008$) and higher of collagen III ($p=0,038$) on the 14th day. Angiogenesis was more intense with the ultrasonic harmonic scalpel, as much on the 7th day ($p=0,005$) as on the 14th day ($p=0,005$). **Conclusion:** The analysis of the results of this study allows to conclude that the use of the ultrasonic harmonic scalpel compared to the cold blade scalpel in incisions made in the jugal mucosa of rats results in efficient haemostasis; leads to a larger area of injury at the time of incision; delays the regeneration process; results in an increased inflammatory process; prolongs the inflammatory phase; develops greater angiogenic activity; delays fibroplasia and the maturation of scars.

Key Word - Electro Surgery. Jugal Mucosa. Wound healing.

1 INTRODUÇÃO

Os princípios básicos da cirurgia sustentam-se em três alicerces: a diérese, a hemostasia e a síntese¹. No segundo princípio, todo sangramento que ocorrer no ato operatório deve ser contido de forma efetiva por meio de técnicas classificadas como: mecânicas, químicas e térmicas. Entre as técnicas mecânicas estão procedimentos temporários como os de compressão digital do vaso lesado ou a aplicação de pinças específicas para esse fim, os quais devem ser substituídos por ligadura permanente com fios ou cliques metálicos. Os agentes químicos disponíveis para coagulação podem atuar como vasoconstritores (caso da epinefrina), ou como base da formação do coágulo, tal qual a espuma de gelatina (Gelfoam[®]), ou celulose regenerada oxidada (Surgicel[®]). A hemostasia pela técnica térmica baseia-se na desnaturação protéica pela elevação do calor, com a coagulação sangüínea atingindo grande parte do tecido envolvido².

Vários aparelhos que produzem calor foram desenvolvidos e introduzidos na prática cirúrgica nos últimos anos a fim de melhorar a hemostasia, com mínimo dano tecidual durante as operações. Esses aparelhos incluem eletrocautérios, *laser* de CO₂ e radiofrequência, os quais usam energia térmica para desnaturar proteínas, levando ao tamponamento vascular e a conseqüente hemostasia. Entretanto, esses aparelhos apresentam a desvantagem de a energia térmica levar ao aquecimento lateral do campo operatório, podendo danificar as estruturas da região de sua aplicação e atrasar a cicatrização da ferida³.

Historicamente, o bisturi com lâmina fria (BLF) foi o instrumento mais largamente utilizado para diérese nas operações, devido ao seu fácil uso e dano previsível nos tecidos. Nas incisões feitas com BLF ocorrem sangramentos, o que dificulta a visibilidade do campo operatório e exige hemostasia. Desde a introdução do eletrocautério por Bovie, em 1929 (citado por Vore et al 2002⁴), vários modelos desse instrumento foram desenvolvidos, tanto para uso médico como odontológico.

A eletrocirurgia de alta frequência convencional foi clinicamente avaliada, por mais de meio século, e hoje, seu amplo uso, é uma alternativa ao BLF, pois reduz o sangramento durante as operações. O desenvolvimento tecnológico desses aparelhos permitiu a redução do dano tecidual em torno das incisões uma vez que há uma menor dissipação de calor⁵.

Atualmente, dentre os métodos diferenciados de incisão e hemostasia disponíveis, destacam-se o bisturi harmônico ultra-sônico (BHU), a eletrocirurgia de alta frequência (radiofrequência) e o raio *laser* e o eletrocautério⁶. O BHU é um aparelho com pouca utilização na mucosa oral⁷, pois foi inicialmente usado na videocirurgia, a partir de 1995. Apenas em 1999 foi introduzido na otorrinolaringologia, para tonsilectomias feitas com microscópio⁸.

O BHU efetua hemostasia pela combinação de dissecação com a coagulação sangüínea e conseqüente obstrução do vaso. O ultra-som atua como fonte de energia, pois a ponta do instrumento (lâmina) provoca vibrações unidirecionais de ultra-altas frequências, as quais levam à dissecação do tecido e, ao mesmo tempo, à coagulação sangüínea. Quando a lâmina vibra em 55500 Hz de frequência, o som é transformado em energia mecânica vibratória e atua promovendo corte e coagulação⁹.

O bisturi harmônico ultra-sônico proporciona melhor coagulação em função de sua lâmina apresentar ponta romba e, conseqüentemente, gerar um corte lento. A quantidade de energia fornecida aos tecidos e os efeitos sobre eles dependem de diferentes fatores, tais como: nível de potência, característica da lâmina, tensão do tecido, tipo de tecido, doença e técnica cirúrgica¹⁰.

O bisturi harmônico ultra-sônico utiliza tecnologia que permite cortar hemostaticamente e coagular vasos dos tecidos moles usando baixas temperaturas, diferente das temperaturas usadas pelo laser ou eletrocirurgia. A energia ultra-sônica permite ambos, cortar e coagular no ponto preciso de impacto com mínimo dano térmico tecidual adjacente¹¹. Oferece também grande precisão em pequenos espaços e boa visibilidade no campo cirúrgico devidas à mínima produção de fumaça. O BHU controla sangramento em temperaturas entre 80°C e 100°C. Os vasos são coap tados e selados devido à desnaturação das proteínas que ocorre quando a temperatura ultrapassa 63°C

e logo sofre resfriamento do tecido. O *laser* e o eletrocautério coagulam vasos devido às altas temperaturas geradas, 300°C e 800°C respectivamente, ocasionando a formação de crostas, as quais podem se desprender do tecido e causar sangramento¹².

O aquecimento do tecido provocado pelo BHU apresenta grau mínimo na profundidade em comparação ao *laser*, radiofrequência e eletrocautério, com reduzido dano tecidual. A profundidade de aquecimento do tecido varia de meio a um e meio milímetros, recomendando uma margem de segurança de três milímetros¹³.

O limite da capacidade de coagulação sangüínea no vaso com BHU é de um a um e meio milímetro de diâmetro para artéria com pressão média de 70 mmHg. O diâmetro da veia não pode ultrapassar dois milímetros¹⁴.

A potência do BHU varia do nível de um a cinco no marcador do aparelho. Na menor potência, ou seja, nível um, a coagulação é maior; enquanto no nível cinco, é o corte que é maior. Nas cirurgias da cavidade oral utiliza-se o nível três, porque corta e coagula de forma homogênea, com vantagens em relação a outros métodos de coagulação. Outra vantagem do BHU é que não há passagem de corrente elétrica pelo paciente como no eletrocautério, não se fazendo necessária a utilização de placas de fio-terra^{10, 13}.

O uso do BHU é uma inovação no tratamento cirúrgico em otorrinolaringologia¹⁵. Ele oferece grande precisão em pequenos espaços e boa visibilidade no campo cirúrgico, devido à mínima produção de fumaça e ao mínimo sangramento, o que torna a cirurgia mais rápida, mais limpa e mais fácil¹⁶.

Alguns estudos mostram a diferença macroscópica da cicatrização da mucosa em feridas feitas com bisturi com lâmina fria e bisturi harmônico em tonsilectomias, operações do palato e da língua^{10, 12}. Entretanto, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura fala das facilidades do seu uso e pouco se dedicam a reconhecer seus efeitos no processo de cicatrização. Dessa forma o estudo histopatológico experimental torna-se importante para o reconhecimento da evolução do processo cicatricial nas lesões da cavidade oral tratadas com este tipo de bisturi.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar a evolução macro e microscópica do processo de cicatrização de incisões realizadas com o bisturi harmônico ultra-sônico na mucosa jugal de ratas e compará-la à evolução do processo de cicatrização de incisões feitas com bisturi de lâmina fria.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 BISTURI HARMÔNICO ULTRA-SÔNICO

Metternich et al (2001) constataram que na tonsilectomia há hemostasia eficiente intra e pós-operatória de significado decisivo, com combinação de dissecação e coagulação sangüínea do vaso promovido pelo BHU, levando a uma mínima perda de sangue. Isso foi favorável para crianças e pacientes anêmicos, abreviando a duração do tratamento, mas o tempo da cicatrização não se alterou em comparação com as tonsilectomias feitas pelo método convencional⁷.

Sood et al (2001) avaliaram a efetividade do BHU em 59 pacientes submetidos à tonsilectomias. Eles foram assistidos por duas semanas no pós-operatório, avaliados quanto à dor e ao sangramento, e após dez dias, em média, retornaram as suas funções normais. Concluíram que o BHU foi um aparelho de fácil uso, as operações foram mais curtas e o sangramento foi mínimo. Segundo eles, os achados foram positivos, e por isso o BHU deveria ser incluído como uma alternativa nas tonsilectomias⁸.

Haegner, Handrock e Schade (2002) confrontaram as vantagens e as desvantagens da tonsilectomia com BHU em relação aos métodos tradicionais e constataram cirurgias mais rápidas, com menor perda de sangue, menor número de complicações intra-operatórias e menos dor no pós-operatório. A desvantagem foi o retardo da cicatrização em relação à tonsilectomia tradicional¹⁴.

Emann e Cushieri (2003)⁶, em estudo realizado em porcos, avaliaram o alto poder de dissecação do bisturi harmônico ultra-sônico em cirurgias laparoscópicas e em cirurgias convencionais. Realizaram o mapeamento dos tecidos durante a dissecação utilizando câmera térmica infravermelha associada a *software*. Fizeram estudo histológico e provaram que os níveis de potência influenciavam no dano térmico. No nível três de graduação do BHU o dano térmico era menor, uma vez que nos níveis quatro e cinco a energia ultra-sônica causou dano tecidual quando permaneceu no mesmo espaço por mais de cinco segundos.

Iushkin, Maistrenko e Andreev (2003)¹⁸, em 20 anos de experiência, utilizaram-se de vários instrumentos para dissecação dos tecidos e coagulação, como eletrocautério, raio *laser* e radiofrequência. Os resultados de 424 estudos

experimentais e a aplicação clínica dos diferentes tipos de energia dos instrumentos, aplicados em 1683 pacientes, foram relatados. As influências dos diferentes tipos de energia nos tecidos e o processo de reparação foram analisadas. As mudanças morfológicas, as vantagens e as recomendações para sua melhor aplicação foram formuladas, concluindo que o raio laser apresentou as maiores vantagens em relação à dissecação, à coagulação e à cicatrização quando comparado aos resultados dos outros aparelhos.

Koch et al (2003)¹¹ mediram a elevação da temperatura nos tecidos durante a aplicação do BHU *in vitro*, em pulmão, língua e parótida de porcos. Os tecidos retirados foram colocados em recipientes preparados com infusão contínua de líquido e nesses recipientes foram colocados sensores térmicos para medir a temperatura. A seguir foram feitas incisões com BHU. Os sensores de temperatura foram posicionados a dois milímetros de distância da superfície do corte. A elevação da temperatura foi menor a medida que se distanciava da incisão. A um milímetro de distância a temperatura encontrada chegou a 40°C. Como nenhuma alteração morfológica de dano térmico foi encontrada acima de dois milímetros, recomendaram que durante a aplicação do BHU a margem de segurança de três milímetros deve ser mantida.

Metternich et al (2003)¹³, em cirurgias de parótida, devido as suas particularidades em relação aos vasos e ao nervo facial, indicaram o uso do BHU, pois a dissecação, com simultânea coagulação do vaso, permitia uma cirurgia mais limpa e mais rápida, com leve elevação da temperatura dos tecidos além da vantagem de não haver fluxo de corrente elétrica passando pelo local. Todas essas vantagens levam a uma menor chance de lesão das estruturas locais, como o nervo facial.

Ramos et al (2004)⁹ afirmaram que o BHU é um excelente recurso para a realização de operações em que o tempo cirúrgico e o sangramento trans-operatório são de grande importância. Relataram desvantagens como a perda da sensibilidade, alteração da temperatura dos tecidos e ausência de direção de corte. Como vantagens descreveram a simultaneidade do corte e coagulação, otimizando o tempo cirúrgico, a não utilização de corrente elétrica, a mínima carbonização tecidual e a fácil instalação e manipulação do aparelho.

2.2 CICATRIZAÇÃO DA MUCOSA ORAL

Liboon, Funkhouser e Terris (1997)¹⁷ fizeram um estudo comparativo dos efeitos histológicos de incisões feitas com BLF, *laser* de CO₂, eletrocautério e eletrocautério de constante voltagem na língua e na mucosa bucal de suínos. As amostras dos tecidos foram histologicamente examinadas nos dias 0, 3, 7, 14, 28 e 42 do pós-operatório, para avaliar o dano do tecido e a propriedade de cicatrização da ferida induzida pelos quatro instrumentos. O dano ao epitélio das margens laterais e a desnaturação do colágeno foi muito menor nas feridas feitas com o bisturi com lâmina fria ($p < 0,001$) quando comparada ao de constante voltagem. Apesar disso, as feridas criadas por todos os instrumentos apresentavam-se reepitelizadas na quarta semana.

Chinpaioj et al (2001)⁵ compararam a eletrocirurgia monopolar (eletrocautério) com um novo sistema elétrico multipolar (eletrocautério com dissociação) em ratos, com o objetivo de reconhecer os efeitos colaterais dos danos teciduais e a cicatrização das feridas em incisões criadas pelos dois instrumentos. A eletrocirurgia tem sido usada como alternativa ao BLF para melhorar a hemostasia. Entretanto, o aquecimento gerado por esses instrumentos pode causar danos aos tecidos vizinhos das incisões, limitando seu uso próximo a nervos e a vasos sanguíneos de maior calibre. Neste estudo foram feitas incisões na língua de ratos, de um lado com eletrocautério e do outro com eletrocautério com dissociação. A análise histológica foi feita nos dias 0, 3, 7, e 14. Os resultados mostraram que a eletro-dissociação criou menos destruição epitelial e menor dano nos tecidos colaterais da ferida, o que determinou a cicatrização mais rápida com esse instrumento.

Metternich et al (2002)¹² examinaram a hemostasia e a cicatrização e fazendo um estudo anátomo-histopatológico em feridas da boca de pacientes, em particular do palato mole feitas com BHU. Foram apresentadas as vantagens da baixa temperatura dos tecidos e ausência de corrente elétrica que possibilitaram a ressecção segura do tumor, sem lesar estruturas vizinhas e promovendo boa coagulação com mínima perda de sangue. O dano térmico e os limites de

resseção do tumor foram seguramente apreciáveis histologicamente dentro de uma zona de um a dois milímetros.

Gaspar e Toth (2001)¹⁹ criaram lesões na cavidade oral de ratos com bisturi com lâmina fria, eletrocautério e *laser* de CO₂, e observaram a cicatrização das feridas com base em estudo histológico. O resultado desse estudo mostrou que a cicatrização das feridas foi similar com o uso dos três aparelhos.

Sinha e Gallagher (2003)³ estudaram os efeitos do BLF, BHU, *laser* de CO₂ e eletrocautério monopolar e bipolar em cicatrização de feridas em mucosa oral de Guinea pig. Foram feitas incisões na mucosa oral, avaliada a dor pela medida de peso do animal, feitas análises histológicas e tensão nos dias 0, 7, 14, 21 e 28. Com a análise dos dados concluíram que o uso do BLF produziu cicatrizes mais resistentes em todos os tempos estudados e no final da primeira semana a epitelização era completa nas feridas feitas com BHU e BLF e incompleta no *laser* e eletrocautério. A evolução do processo inflamatório foi mais breve no BHU e BLF.

Hambley et al (1988)²⁶, avaliaram a lesão e a cicatrização dos tecidos em pele de porcos, após incisões com BLF, BHU, CO₂ *Laser* e eletrocautério, e foram comparados os aspectos clínicos, histopatológicos e diferenças na força tensil das feridas. De acordo com os resultados concluíram que o BLF produziu menos lesão nos tecidos e cicatrização mais rápida, mas o BHU apresentou menos lesão nos tecidos e cicatrização mais rápida que eletrocautérios e *laser*.

3 MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da PUCPR, com o protocolo n.º 69 e obedeceu à Lei Federal 6.638 e às orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) .

Foram utilizadas as Nominas Anatômica Veterinária e Anatômica Histológica.

3.1 LOCAL DE EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

Os animais foram observados durante o período de estudo no Biotério da PUCPR e o estudo anátomo-patológico foi realizado no Laboratório de Patologia Experimental da PUCPR.

3.2 APARELHOS UTILIZADOS

3.2.1 Bisturi Harmônico Ultra-sônico

Foi utilizado bisturi harmônico ultra-sônico produzido pela *Ethicon Endo Surgery*®, Inc (figura 1), modelo Gerador 300 GEN04, ano de fabricação 2001.

O aparelho consiste de um móvel com um gerador, com altura de 13 cm, largura de 37 cm, profundidade 39 cm e peso de 7,48 Kg, sistema de lâmina e de pedal. O gerador é um microprocessador controlado, com um interruptor de alta frequência que abastece a potência que dirige o sistema acústico. A potência possui cinco níveis (Figura 1) e transmite a energia ao instrumento de mão, que é uma caneta com ponta romba, com cabo de conexão (Figura 2).



Figura 1- Bisturi harmônico ultra-sônico



Figura 2- Caneta do bisturi harmônico. Observa-se a ponta romba.

3.2.2 Bisturi com Lâmina Fria

Utilizou-se um bisturi de lâmina móvel, cabo número três e lâmina número quinze.

3.3 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Utilizaram-se para o estudo 30 ratas (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*) da linhagem *Wistar*, com idade variando entre 115 e 130 dias, peso de 200 a 260 gramas, as quais foram separadas em caixas de polipropileno, contendo cinco animais cada uma delas, devidamente identificadas e mantidas em ambiente com temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com ciclos de iluminação automaticamente regulados a cada 12 horas para claro e escuro. A umidade e o ruído eram próprios do ambiente, sem regulação artificial. Receberam ração própria para a espécie e água à vontade.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

3.4.1 Procedimento Anestésico

As ratas foram submetidas a um jejum alimentar de 12 horas e a um jejum hídrico de duas horas no pré-operatório. Para indução anestésica foi utilizada uma solução feita com um mililitro de quetamina (50mg/ml) e um mililitro de xilasina (10 mg/ml) administrando-se 0,2 ml intramuscular para cada 100 g de peso da rata.

3.4.2 Confeções das Incisões

Foi realizada, em cada animal, uma incisão longitudinal na mucosa jugal de cada lado da boca, na altura da rima bucal, com um centímetro de comprimento e profundidade até o plano muscular, sendo que no lado esquerdo usou-se o BLF (Figura 3) e no lado direito o BHU (Figura 4).

As feridas não sofreram tratamento de síntese e a cicatrização foi por segunda intenção.



Figura 3 – Desenho esquemático da incisão feita com BLF, lado esquerdo (Isaac Raasch)



Figura 4 – Desenho esquemático da incisão feita com BHU, lado direito (Isaac Raasch)

3.4.3 Analgesia no Pós-Operatório

Utilizou-se como analgésico, no pós-operatório, acetaminofen por via oral, com dose única de 200mg/kg ²⁰.

3.5 AVALIACAO CLÍNICA

Realizou-se a avaliação clínica no terceiro, sétimo e décimo quarto dia de pós-operatório.

3.5.1 Avaliação do sangramento

Observou-se a presença ou ausência de sangramento. Quando presente graduou-se em leve, moderado ou acentuado. Leve quando se percebia leve sinal de sangue sobre a ferida, moderado quando exigia compressão para estancar e acentuado quando, mesmo com a compressão, o sangramento se mantinha.

3.5.2 Avaliação macroscópica das feridas

As feridas estavam abertas ou fechadas. Quando abertas eram classificadas em largas ou estreitas com ou sem a presença de tecido de granulação. Se fechadas eram classificadas em niveladas com os tecidos adjacentes, deprimidas ou imperceptíveis.

3.6 EUTANÁSIA

Os animais foram submetidos à eutanásia com injeção de pentobarbital sódico intraperitoneal, na dose de 120mg/kg (Resolução 714 do CFMV).

3.7 ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO

3.7.1 Preparo das Amostras

Retiraram-se dois segmentos fusiformes da mucosa oral, que continham as lesões, um à direita e outro à esquerda e fixou-se em formalina 10% por 24 horas.

Dividiu-se, cada uma das amostras, em três fragmentos, sendo dois laterais e um central, transversal à cicatriz cirúrgica. Desprezaram-se os fragmentos periféricos processando-se o segmento central para estudo histológico.

3.7.2 Preparo das Lâminas

As amostras processadas forneceram dois blocos por animal do estudo.

Para cada bloco de parafina realizaram-se 20 níveis de cortes histológicos, os quais foram feitos com espessura de quatro micrômetros e escalonados a cada 200 micrômetros. Em cada lâmina, foram colocados cinco cortes, confeccionando-se um total de quatro lâminas, de cada uma das feridas, por animal do estudo. Coraram-se os cortes histológicos de duas lâminas pelas técnicas da Hematoxilina-Eosina (HE) e do Sirius red. As outras duas receberam tratamento imunoistoquímico com anticorpos primários, da Dako®, anti-CD3 e anti-Fator VIII. A revelação da imunoistoquímica foi conseguida pela utilização de anticorpos secundários *Envision Dako Dual Link Sistem*®.

Utilizaram-se os cortes histológicos corados pela técnica do HE para a análise morfológica subjetiva e aqueles corados pelo Sirius red e os tratados pela imunoistoquímica para a análise morfométrica.

3.7.3 – Avaliação Morfológica Subjetiva

Avaliou-se a quantidade de células predominantes na reação inflamatória (infiltrados poli e monomorfonucleares), a presença de edema intersticial, de congestão vascular, o grau de formação de tecido de granulação e de fibroplasia, microabscessos e necrose.

Classificaram-se os dados em: acentuado, moderado, discreto e ausente, de acordo com a intensidade em que se encontravam nos campos de análise. Transformaram-se esses dados em variáveis quantitativas atribuindo-se índices aos achados histológicos. O edema, a congestão e o exsudato polimorfonuclear (exsudato neutrofílico) indicavam processo inflamatório agudo e o exsudato monomorfonuclear, a neovascularização e a fibroplasia indicavam processo inflamatório crônico.

Atribuiu-se aos índices de processo inflamatório agudo sinal negativo e aos índices de processo inflamatório crônico sinal positivo. Resultados entre -9 e -3 diagnosticavam processo inflamatório agudo, entre -3,1 e +3 sub-agudo e entre +3,1 e +9 processo inflamatório crônico (Quadros 1 e 2).

Verificou-se ainda a existência de ulceração, microabscessos, colônias de bactérias e de necrose, nos três períodos de tempos avaliados.

Quadro 1 – Classificação e atribuição de índices aos achados histológicos do HE

PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS	INTENSIDADE			
	Acentuada	Moderada	Discreta	Ausente
Neutrófilos	-3	-2	-1	0
Edema	-3	-2	-1	0
Congestão	-3	-2	-1	0
Monomorfonuclear	+3	+2	+1	0
Neovascularização	+3	+2	+1	0
Fibroplasia	+3	+2	+1	0

Fonte: Noronha et al, 2003²¹

Quadro 2 – Caracterização da fase do processo Inflamatório de acordo com o escore final de cada grupo

FASE DO PROCESSO INFLAMATÓRIO	ESCORE FINAL DE CLASSIFICAÇÃO
Agudo	-9 a -3
Subagudo	-3,1 a +3
Crônico	+3,1 a +9

Fonte: Noronha et al, 2003²⁵

3.7.4 Análise Morfométrica

Realizou-se a análise morfométrica, isto é, objetiva no sétimo e décimo quarto dia, uma vez que os marcadores estavam direcionados para a fase crônica da inflamação e cicatrização, utilizando-se:

- a) Sirius Red;
- b) imunoistoquímica.

Fez-se a análise do colágeno corando-se os cortes histológicos pela técnica do Sirius Red e examinando-os sob luz polarizada. As fibras colágenas tipo III, mais finas e dispersas, sob luz polarizada são fracamente birrefringentes e adquirem tonalidades de verde, enquanto as do tipo I, mais espessas e fortemente birrefringentes, tonalidades que variam do amarelo ao vermelho.

Examinaram-se as lâminas sem o conhecimento da identificação estabelecida, em microscópio ótico da marca Olympus®, modelo BX40, aumento de 200x, acoplado a uma câmera Sony® e a um computador. Utilizou-se o software *Image Pró-Plus*® for Windows.

Inicialmente capturava-se a imagem da lâmina para o computador e, com o auxílio do programa *Image Pro-Plus* mediam-se as áreas selecionadas e de interesse.

Com a ferramenta “conta-gotas” selecionava-se o objeto de interesse e o programa automaticamente gerava a medida. Uma vez que a área total de exame era constante, selecionava-se a estatística do programa que fornecia o percentual da área ocupada pelo objeto de estudo, ou seja, o colágeno tipo I e o tipo III. Mediram-se três campos por corte histológico em cada lâmina, obtendo-se, então, uma média da leitura daquele corte.

Procedeu-se o tratamento imunoistoquímico dos cortes histológicos, usado para identificar neovasos e células inflamatórias, ou seja, o anti-Fator VIII e o anti-CD3.

Os cortes foram submetidos à reação imunoistoquímica pela técnica da estreptavidina-biotina-peroxidase. Resumidamente, desparafinizaram-se os cortes, que hidratados foram mergulhados em tampão fosfato. Após a recuperação antigênica com tampão citrato e bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 0,3%, os anticorpos primários monoclonais anti-CD3 e anti-Fator VIII foram aplicados sobre os cortes e incubados *overnight*. Em seguida, os cortes foram enxaguados em tampão fosfato e anticorpo secundário bionitinilado foi aplicado e incubado por 60 minutos. Após novo enxágüe, o complexo estreptavidina-peroxidase foi aplicado e a reação imunoistoquímica foi revelada com a aplicação de diaminobenzidina. Após contra-coloração com hematoxilina, os cortes foram desidratados, diafanizados e cobertos com lamínulas de vidro fixadas com bálsamo do Canadá.

As reações foram consideradas positivas quando se detectou reação marrom, excluindo-se as prováveis áreas de coloração de fundo. Para o CD3, o padrão de reação foi de superfície de membrana, para o Fator VIII o padrão foi citoplasmático.

Nos cortes marcados com anti-CD3 contaram-se os linfócitos T e nos marcados com anti-Fator VIII os vasos sangüíneos neoformados.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de variáveis quantitativas foram expressos por valores mínimos, valores máximos, medianas, médias e desvios padrões e de variáveis categóricas por frequências e percentuais. Para a comparação dos dois tipos de bisturi em cada momento de avaliação, foram usados o teste não-

paramétrico de Wilcoxon e o teste binomial. Para as comparações entre os momentos de avaliação, para cada bisturi foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Considerou-se $p \leq 0,05$ ou 5% como nível para rejeição da hipótese de nulidade.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

4.1.1 Avaliação da Hemostasia

Registrou-se o óbito de um animal no pós-operatório imediato por sangramento acentuado na incisão feita com BLF. No primeiro dia de pós-operatório, observou-se sangramento moderado em outro animal em incisão feita com BLF, cuja hemostasia foi obtida com a compressão.

4.1.2 Avaliação Macroscópica das Feridas

Na observação imediata, logo após a feitura das incisões observou-se que as feitas com BLF eram estreitas e as feitas com BHU eram largas (Figura 5).

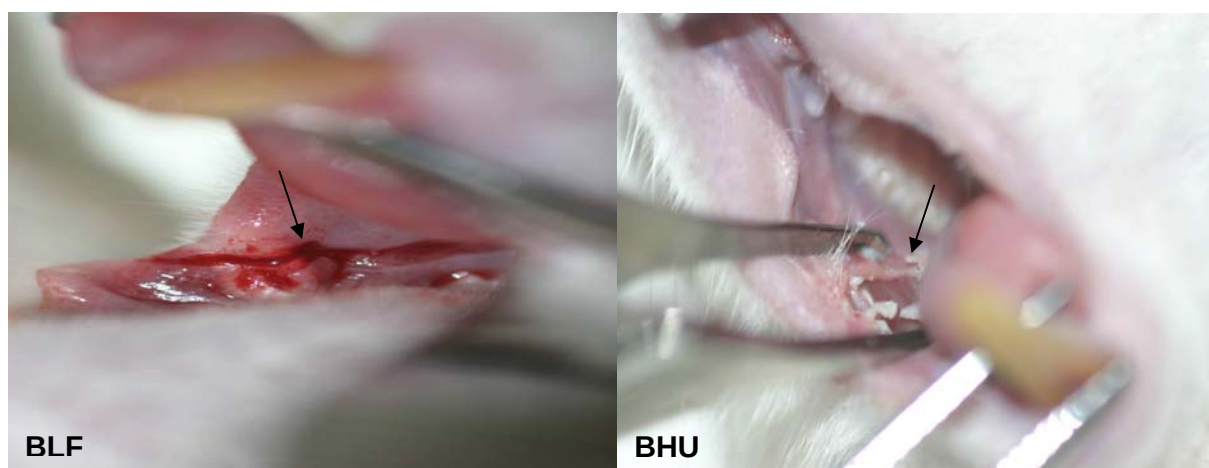


Figura 5 – Aspecto imediato da incisão com BLF e com BHU.

→incisão com BLF e BHU, conforme seta.

No terceiro dia, ambas as feridas, em todos os animais, estavam abertas. As feitas com BHU eram mais largas e mais deprimidas e todas se apresentavam com tecido de granulação. (Figura 6).



Figura 6 – Aspecto das incisões feitas com BLF e com BHU com três dias de evolução.

→incisão com BLF e BHU, conforme seta.

No sétimo dia todas as incisões feitas com BLF estavam fechadas e niveladas enquanto que as feitas com BHU apresentavam-se abertas, alargadas, deprimidas e com tecido de granulação (Figura 7).

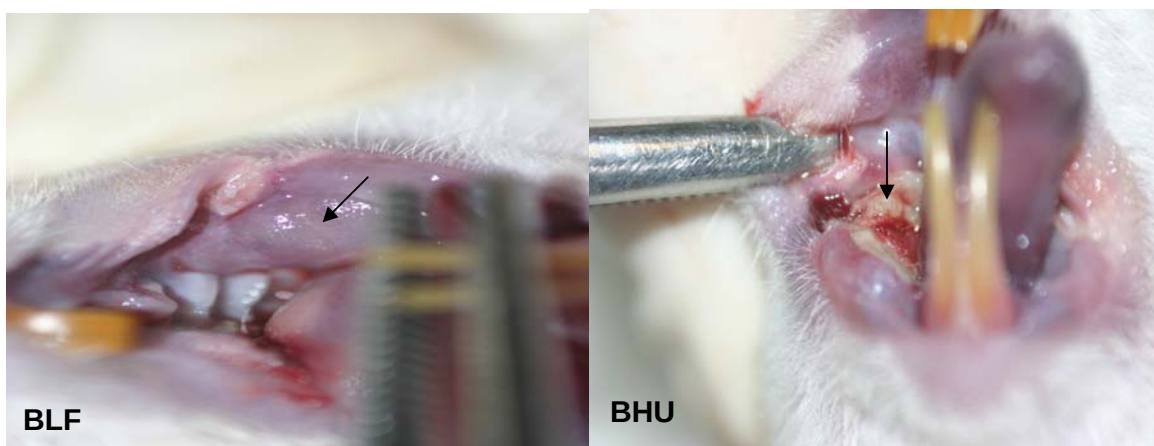


Figura 7 – Aspectos da incisão feita com BLF e com BHU com sete dias de evolução.

→incisão com BLF e BHU, conforme seta.

No décimo quarto dia as cicatrizes das incisões feitas com BLF apresentavam-se imperceptíveis, e as com BHU mostravam-se ainda não totalmente epitelizadas, mostravam-se niveladas e com bordas regulares (Figura 8).



Figura 8 – Aspectos da ferida feita com BLF e com BHU com quatorze dias de evolução

→cicatriz com BLF e BHU, conforme seta.

4.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA MORFOLÓGICA e MORFOMÉTRICA

4.2.1. Análise Microscópica Morfológica

No terceiro dia os cortes histológicos de ambas as cicatrizes apresentavam processo inflamatório agudo. O escore inflamatório das feridas das incisões feitas com BLF foi de -5 e das feitas com BHU foi de -8. Nessas últimas a quantificação de neutrófilos foi acentuada (-3) enquanto que nas BLF foi discreta (-1). No sétimo dia, nas avaliações das incisões com BLF a cicatrização era completa com escore inflamatório de +7 o que caracterizava um processo inflamatório crônico com intensa neovascularização (+3). Nas observações das incisões com BHU o processo inflamatório era ainda agudo com escore de -6. Nessas incisões, a presença de neutrófilos era ainda acentuada (-3). No décimo quarto dia os cortes histológicos das cicatrizes das incisões feitas com BLF mostravam regeneração completa com escore inflamatório +4, caracterizando a inflamação crônica, enquanto as incisões feitas com BHU apresentavam escore inflamatório +6 com intensa neovascularização (+3).

Nas figuras 9, 10 e 11 pode-se ver detalhes histológicos das cicatrizes, nos três espaços de tempo avaliados.

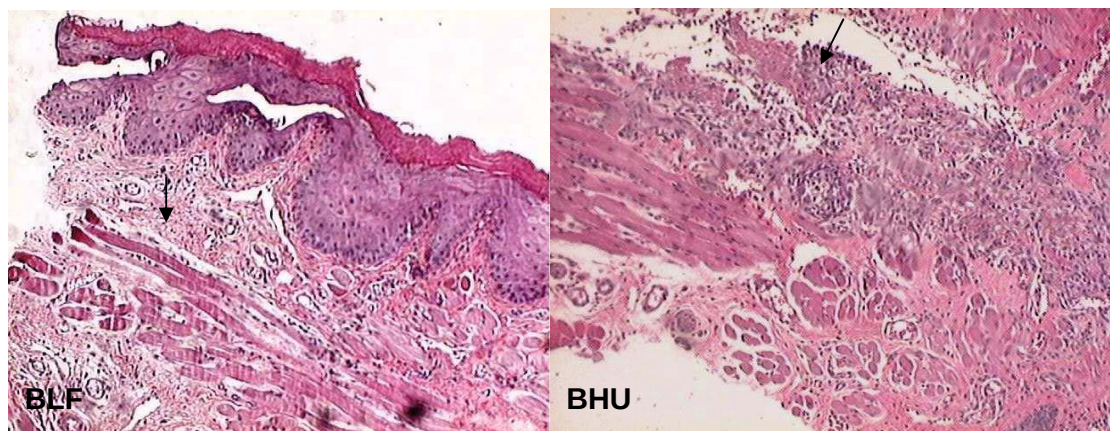


Figura 9 – Fotomicrografias de cortes histológicos mostrando a presença do processo inflamatório, no terceiro dia de evolução, nas feridas feitas com BLF e BHU (HE, 100 X)

→ Processo inflamatório agudo, com predomínio de polimorfonucleares, conforme seta.

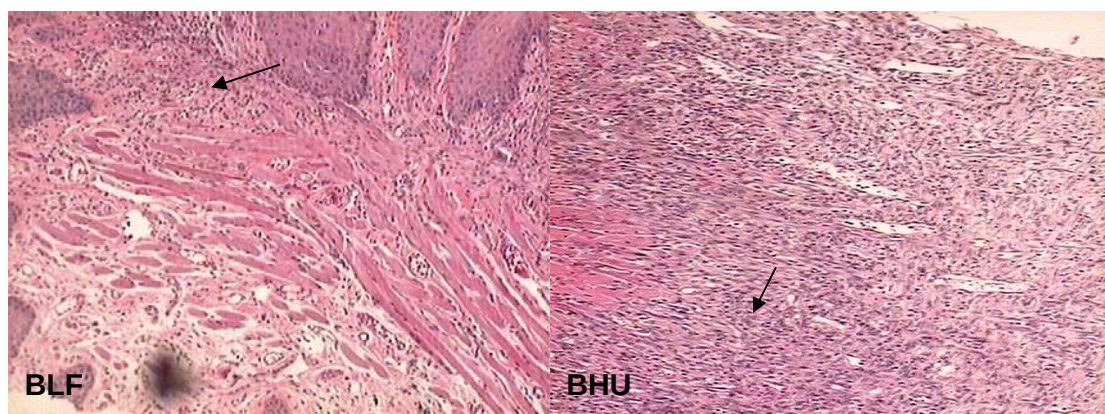


Figura 10 – Fotomicrografias de cortes histológicos mostrando a presença do processo inflamatório, no sétimo dia de evolução, nas feridas feitas com BLF e BHU (HE, 100 X)

→ Processo inflamatório nas feridas com BLF e com BHU, conforme seta.

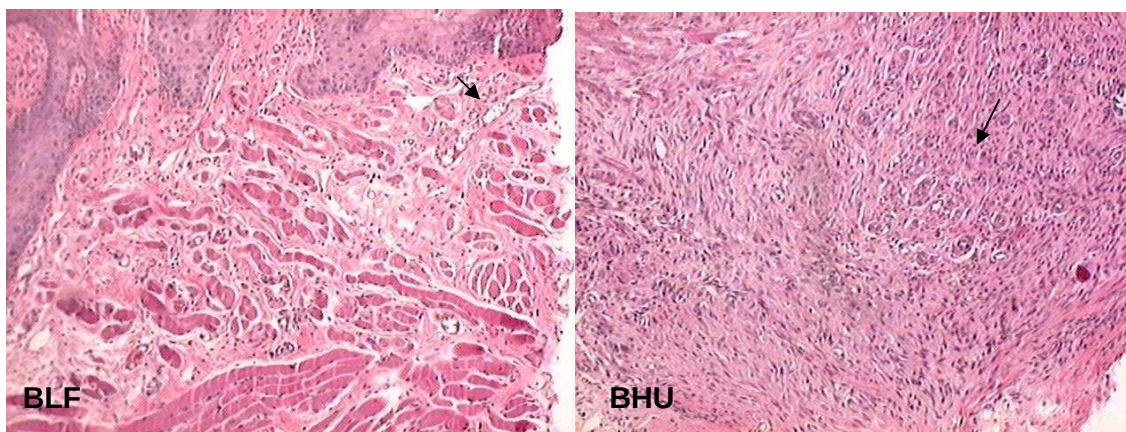


Figura 11 – Fotomicrografias de cortes histológicos mostrando a presença do processo inflamatório, no décimo quarto dia de evolução, nas feridas feitas com BLF e BHU (HE, 100 X)

→ Processo inflamatório crônico, nas feridas com BLF e com BHU, conforme seta.

Quadro 3 - Análise estatística para dados subjetivos no terceiro dia

Variável	Classificação	Bisturi de lâmina fria	Bisturi harmônico ultrassônico	Valor de p*
Neutrófilos	+	7	2	0,0625
	++/+++	1	6	
Edema	+	3	0	0,2500
	++/+++	5	8	
Congestão	+	2	5	0,3750
	++/+++	6	3	
Úlcera	Profunda (A)	0	8	0,0078
	Rasa (A")	8	0	
Microabscesso (B)	Sim	0	6	0,0313
	Não	8	2	
Colônias de Bactérias (C)	Sim	0	6	0,0313
	Não	8	2	
Necrose	Extensa (D)	0	3	-----
	Focal (D")	3	0	
	Não	5	5	

(*) Teste binomial

4.2.2 Análise Microscópica Morfométrica

4.2.2.1 Avaliação de colágeno

No terceiro dia não foi avaliado o colágeno, fazendo-se as quantificações nos sétimo e décimo quarto dias.

No sétimo dia as densidades de colágeno foram maiores nas feridas feitas com o BLF, tanto a fração de colágeno I como a de colágeno III (Quadro 4), (Figura 12)

Quadro 4 - Comparação das variáveis Colágeno I e III no sétimo dia

Variável	Bisturi	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
Col. I	BLF	10	4,65	3,07	1,63	10,17	3,22	0,005
	BHU	10	0,89	0,79	0,65	1,39	0,28	
Col. III	BLF	10	2,85	2,06	1,01	6,11	1,84	0,037
	BHU	10	1,44	1,28	0,8	2,49	0,54	

(*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

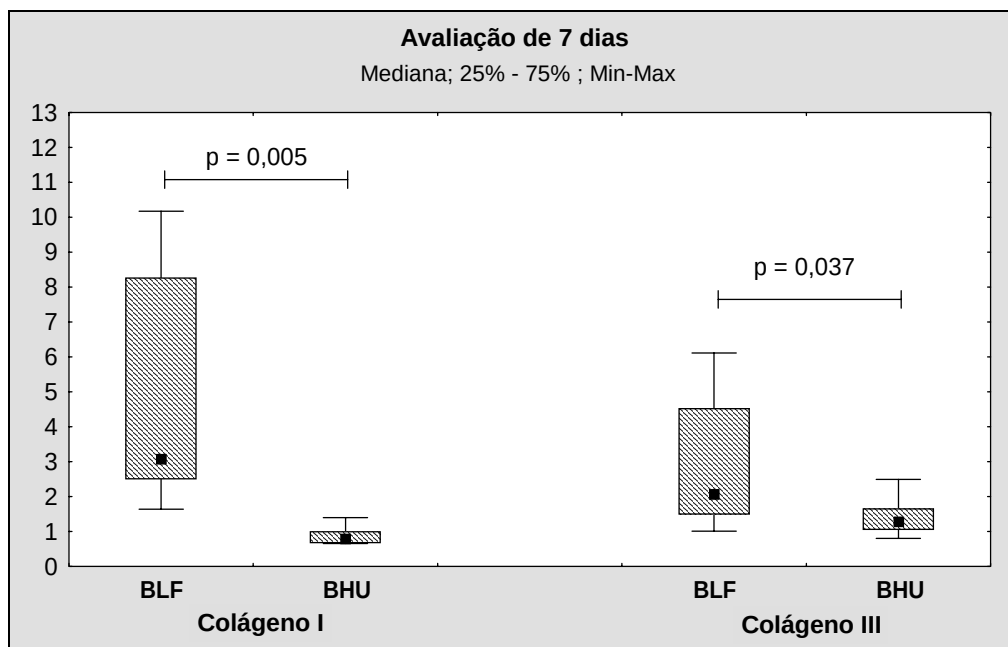


Figura 12 – Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões dos colágenos tipo I e III, na avaliação de sete dias, nas cicatrizes dos dois grupos

No décimo quarto dia, embora a densidade de colágeno total tenha sido maior nas feridas feitas com BLF e nessas a densidade de colágeno I também o fosse, nas feridas feitas com o BHU a densidade maior era de colágeno III (Quadro 5),(Figura 13).

Quadro 5 - Comparação das variáveis Colágeno I e III no 14.º dia

Variável	Bisturi	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
Col. I	BLF	9	2,71	2,59	0,83	5,18	1,69	0,008
	BHU	10	0,85	0,67	0,39	2,15	0,55	
Col. III	BLF	9	1,3	0,68	0,33	3,26	1,04	0,038
	BHU	10	2,52	2,6	1,51	3,9	0,9	

(*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

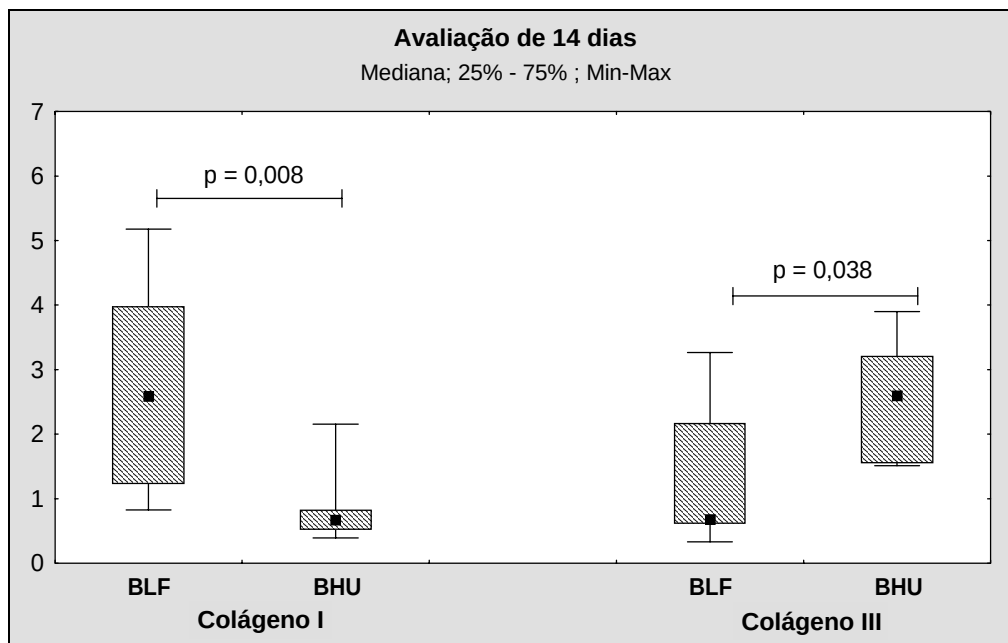


Figura 13 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões dos colágenos tipo I e III, na avaliação de quatorze dias, nas cicatrizes dos dois grupos

Nas figuras 14 e 15 pode-se ver aspectos dos cortes histológicos e a densidade dos colágenos I e III.

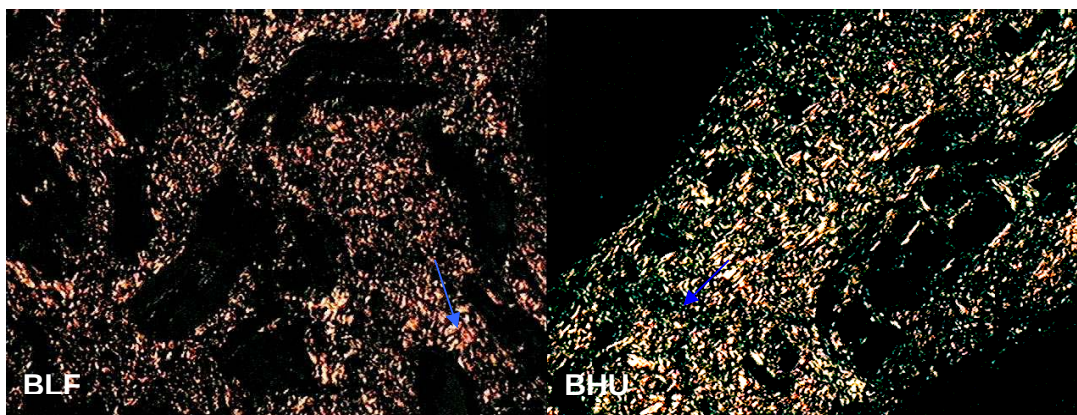


Figura 14 - Fotomicrografias em que se vê colágeno III (verde) e colágeno I (amarelo a vermelho) no sétimo dia, de cicatrizes resultantes de incisões feitas com BLF e BHU (Sirius Red 200 X)

→colágeno I e III, conforme seta.

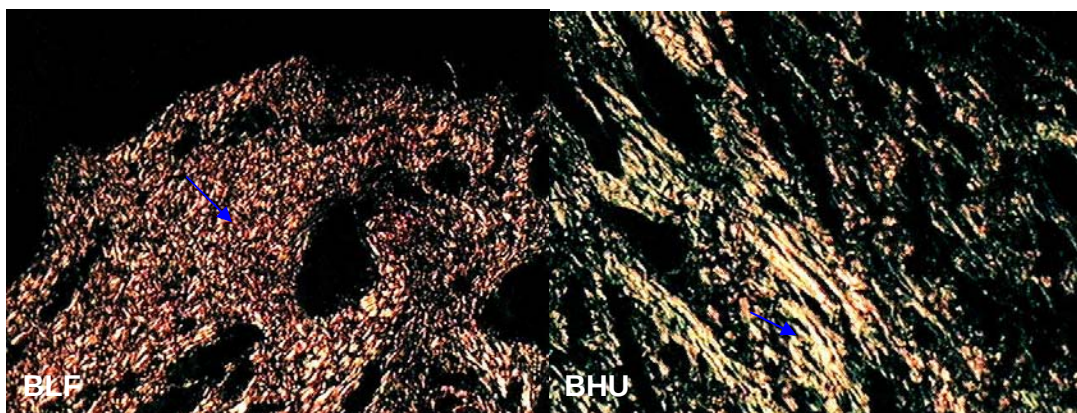


Figura 15 – Fotomicrografias nas quais se vê colágeno I (amarelo a vermelho) e colágeno III (verde) em cortes histológicos de feridas feitas com BLF e BHU, no décimo quarto dia (Sirius red, 200X)

→colágeno I e III, conforme seta.

4.2.2.2 Imunoistoquímica

A análise com anti-CD3, no sétimo dia revelou maior número de linfócitos T nas feridas feitas com o BHU e no décimo quarto dia a concentração dessas células era semelhante nas duas feridas (Quadro 6), (Figuras 16).

Quadro 6 - Comparação das concentrações de linfócitos T, detectados pelo anti-CD3 nos 7.º e 14.º dia

Variável	Bisturi	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
CD3 7.º d	BLF	10	29	28,5	19	41	7,93	0,005
	BHU	10	107,4	104,5	79	147	21,98	
CD3 14.º d	BLF	10	19,5	19,5	14	27	4,35	0,327
	BHU	10	25,5	21	11	57	16,09	

(*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

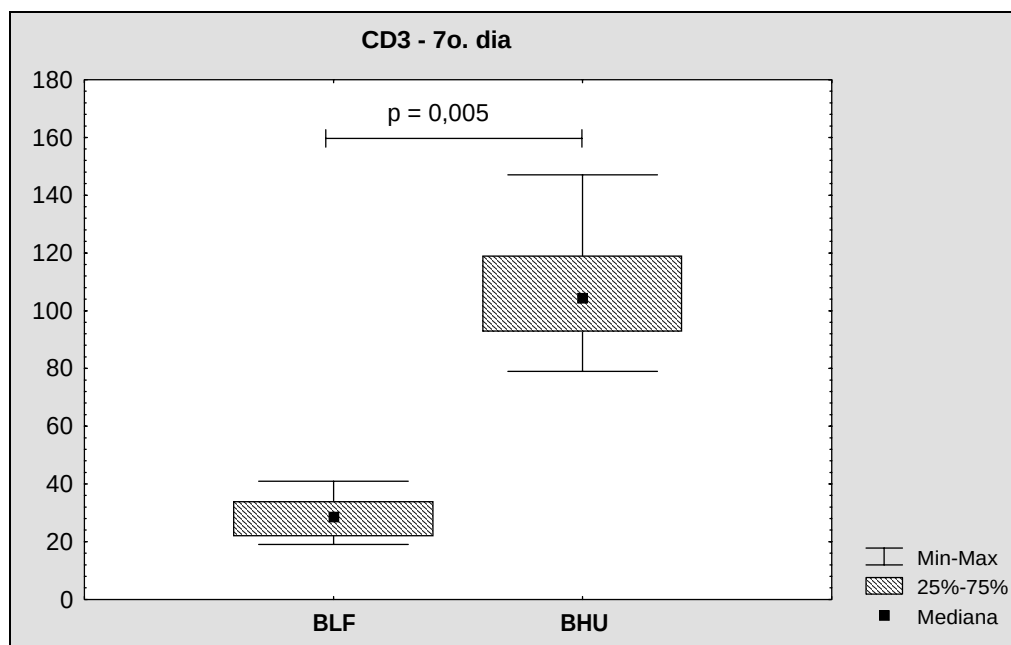


Figura 16 – Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-CD3, na avaliação de sete dias, nas cicatrizes dos dois grupos

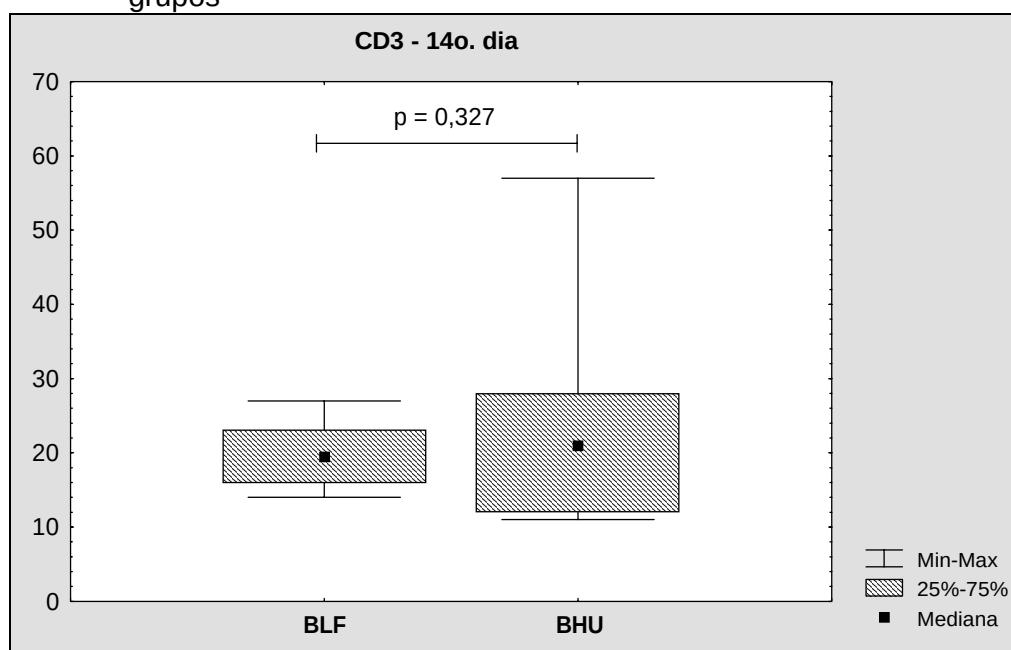


Figura 17 – Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-CD3, na avaliação de quatorze dias, nas cicatrizes dos dois grupos

Nas figuras 18 e 19 demonstram-se os linfócitos T, nos cortes histológicos de feridas resultantes de incisões feitas com BLF e BHU.

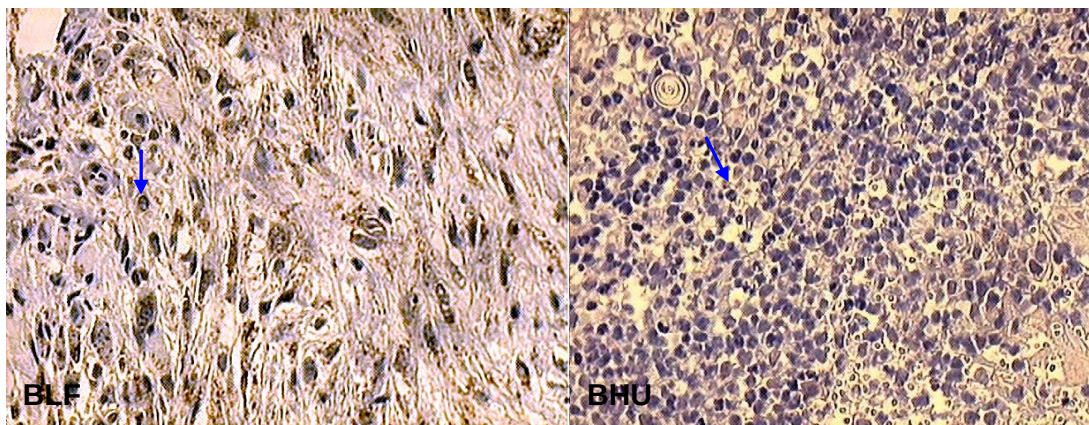


Figura18 – Fotomicrografia de cortes histológicos de feridas feitas com BLF e BHU, nas quais se vêem linfócitos T, em feridas com sete dias de evolução (Imuno-histoquímica, anti-CD3, 200X)

→linfócitos T nas feridas com BLF e BHU, conforme seta.

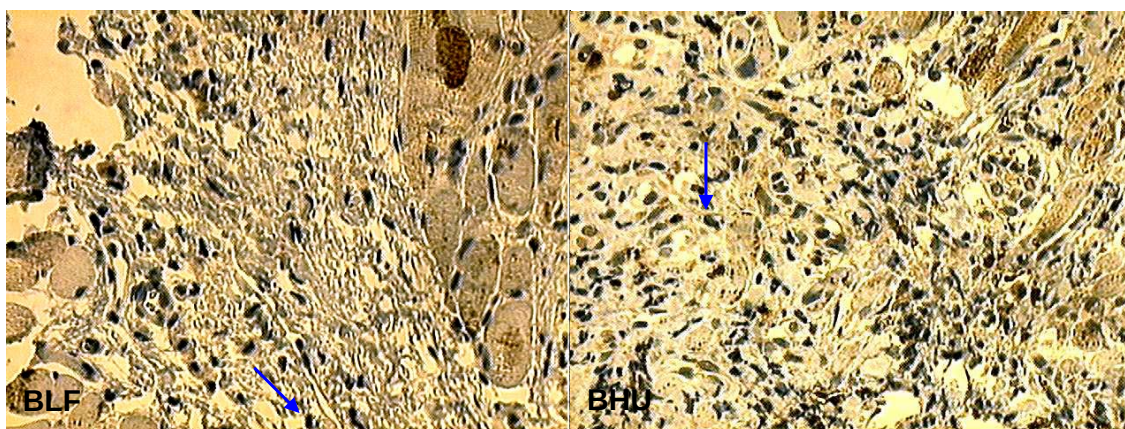


Figura19 – Fotomicrografia de corte histológico corado pelo anti-CD3. em que se vêem linfócitos T, décimo quarto dia, para BLF e BHU (200x)

→linfócitos T nas feridas com BLF e BHU, conforme seta.

A análise com anti-Fator VIII, no sétimo e décimo quarto dias revelou maior número de neovasos nas feridas feitas com o BHU (Quadro 7), (Figuras 20 e 21)

Quadro 7- Comparação do número de vasos avaliados pelo anti- Fator VIII, nos 7.º e 14.º dia

Variável	Bisturi	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
F VIII 7.º d	BLF	10	2,4	2,5	1	4	1,17	0,005
	BHU	10	12,1	12,5	9	15	2,13	
F VIII 14.º d	BLF	10	0,3	0	0	1	0,48	0,005
	BHU	10	5,3	5	4	7	1,16	

(*) Teste não-paramétrico de Wilcoxon

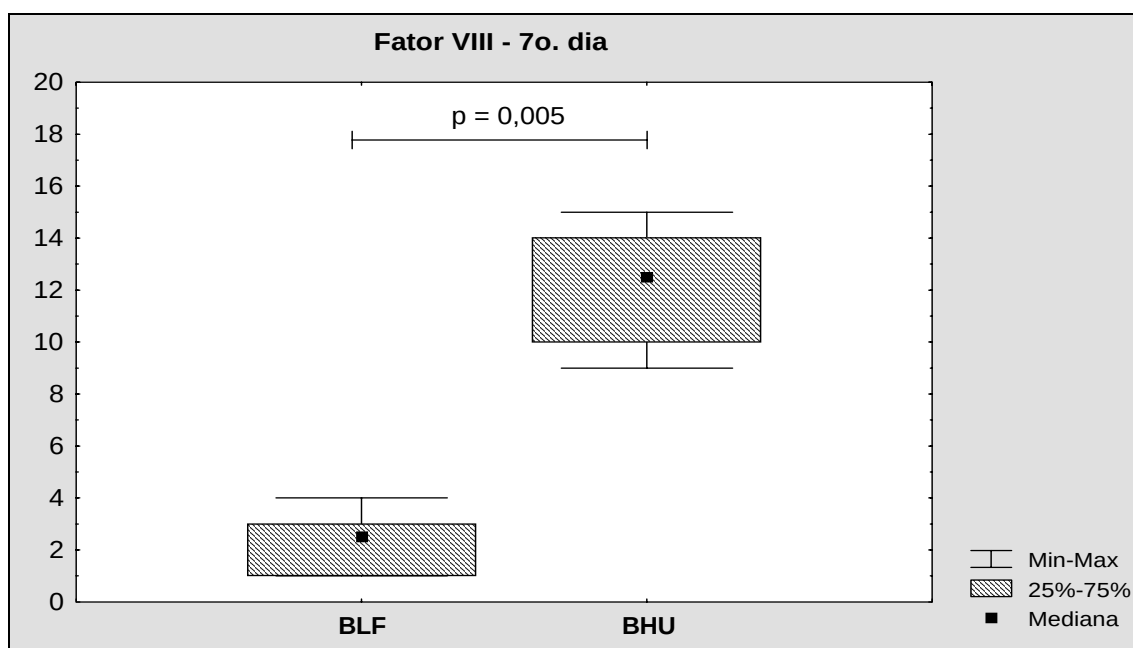


Figura 20 – Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-fator VIII, na avaliação de sete dias, nas cicatrizes dos dois grupos

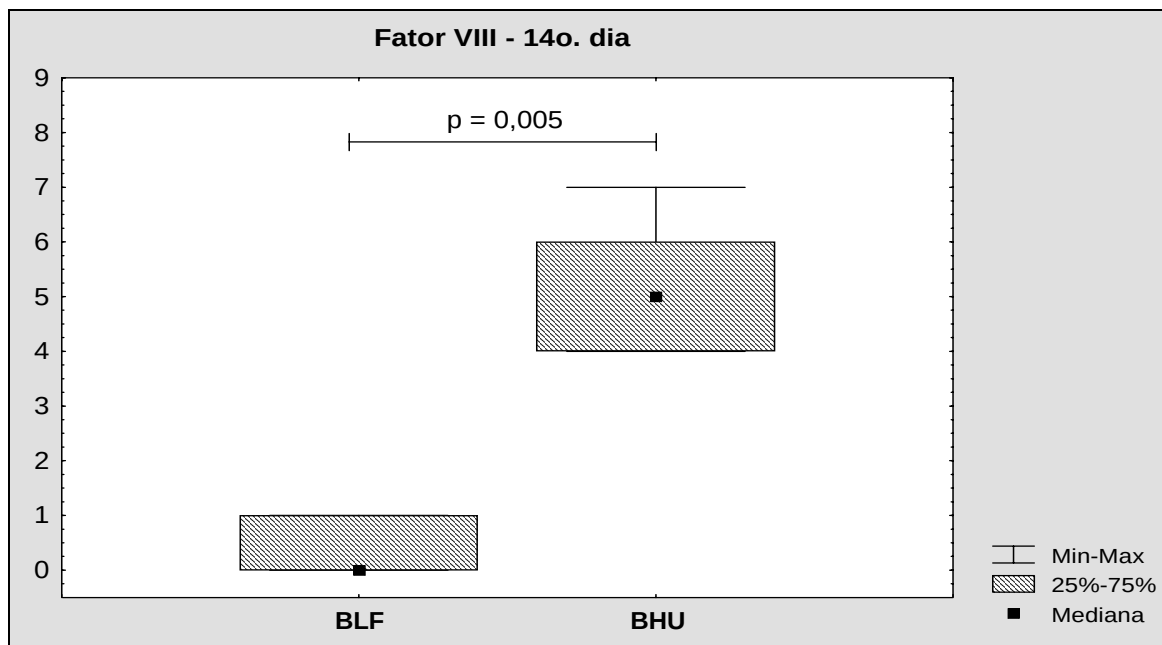


Figura 21 - Gráfico demonstrativo dos percentuais médios e dos desvios padrões com anti-fator VIII, na avaliação de quatorze dias, nas cicatrizes dos dois grupos

Nas figuras 22 e 23 pode-se ver a presença de vasos nas feridas feitas com o BLF e com o BHU.

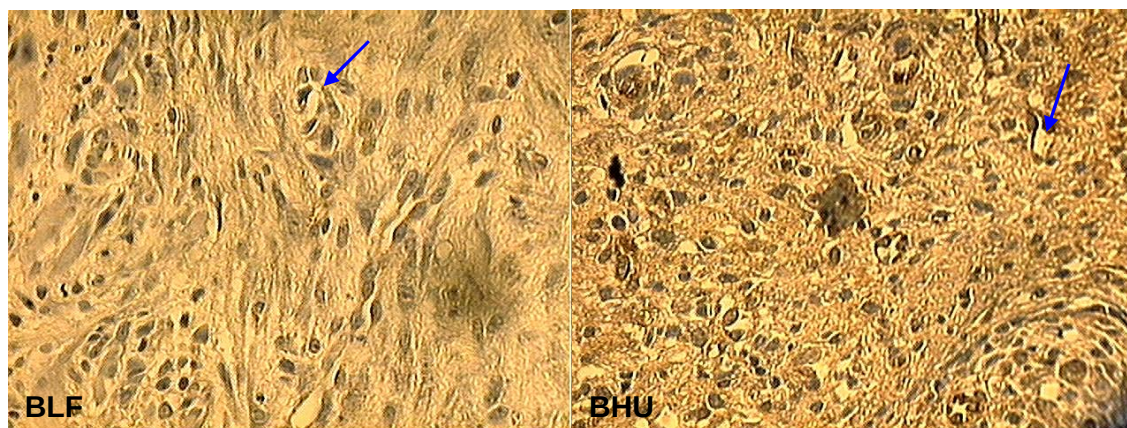


Figura 22 – Microfotografias de cortes histológicos de feridas resultantes de incisões feitas com BLF e BHU, avaliadas com sete dias (Imuno-histoquímica, anti-Fator VIII, 200X)

→neovasos nas feridas com BLF e BHU, conforme seta.

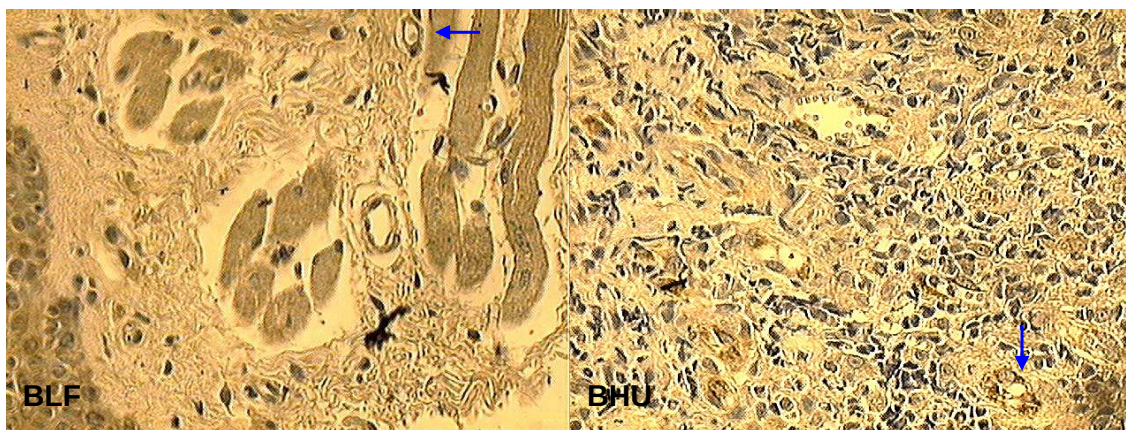


Figura 23 - Microfotografias de cortes histológicos de feridas resultantes de incisões feitas com BLF e BHU, avaliadas com quatorze dias (Imunohistoquímica, anti-Fator VIII, 200X)

→neovasos nas feridas com BLF e BHU, conforme seta.

5 DISCUSSÃO

5.1 HEMOSTASIA

O BHU é um instrumento de corte e hemostasia simultânea. Tem sido utilizado largamente em vídeo-cirurgia e em procedimentos otorrinolaringológicos. Suas propriedades são defendidas por vários autores (vide notas ⁶⁻¹⁶), embora Eman et al (2003)⁶. tenham chamado a atenção para a produção de fumaça com partículas em suspensão que podem comprometer a visibilidade, dificultando o ato operatório.

No estudo ora apresentado, confirmou-se a propriedade hemostática do BHU. As incisões feitas com BLF, não apresentaram sangramento importante de modo significativo, entretanto duas das 30 feridas apresentaram-no, e uma delas causou a morte do animal.

5.2 ASPECTOS MACROSCÓPICOS

Sinha et al. (2003)³, em um estudo feito em mucosa oral de *Guinea pig*, demonstraram que o uso do BHU, embora tenha permitido reepitelização mais precoce das feridas do que quando usaram bisturi a Laser ou eletrocautério, promoveu atraso quando compararam ao BLF.

Hambley et al. (1988)²⁶ relataram que as feridas feitas em pele de porcos com BLF cicatrizavam mais precocemente, mostrando-se completamente reepitelizadas em sete dias, enquanto o resultado semelhante com o BHU só foi atingido próximo ao décimo quarto dia.

Neste estudo confirma-se aquele dado, pois no terceiro dia, as feridas feitas com BLF eram mais finas e no sétimo dia já estavam reepitelizadas. Reepitelização essa que no décimo quarto dia ainda não era completa nas feridas feitas com BHU. Muito provavelmente o atraso do processo se deva ao fato de que, mesmo desenhando incisões de igual tamanho, após a feitura, as incisões feitas com o BHU resultam em feridas mais largas do que as feitas com o BLF.

5.3 ASPECTOS MICROSCÓPICOS

5.3.1 Análise Microscópica Morfológica

Sinha et al. (2003)³ demonstraram que, em mucosa oral de *Guinea pig*, o BHU promovia processo inflamatório prolongado e mais intenso.

Neste estudo confirmaram-se essas informações, pois o BHU levou a um processo inflamatório mais intenso com grande infiltrado de polimorfonucleares, nos momentos iniciais. Em todos os momentos o processo inflamatório foi mais intenso nas feridas resultantes do BHU. No décimo-quarto dia, enquanto as cicatrizes do BLF mostravam processo inflamatório discreto, as do BHU tinham infiltrado intenso, com muita neovascularização.

É perfeitamente compreensível que isso tenha ocorrido, basta verificar que enquanto as incisões feitas com o BLF resultaram em margens regulares e bem definidas, as resultantes do BHU, como consequência da agressão térmica, eram mais largas e com maior destruição tecidual. Segundo Hambley et al. (1988)²⁶ as lesões com BLF, além da própria linha de incisão nas feridas, são praticamente imperceptíveis. Eman et al. (2003)⁶ demonstraram que a hemostasia promovida pelo BHU leva a uma maior produção de calor com desnaturação de proteínas e coagulação de pequenos vasos. A dissipação do calor para os tecidos é dependente da intensidade utilizada. Koch et al. (2003)¹¹ demonstraram que a temperatura, próxima à lâmina fica em torno de 60 graus; a um milímetro, em torno de 40 graus; e a dois milímetros a temperatura cai para seis graus. Dessa forma fica evidente que é necessário um processo inflamatório mais intenso e prolongado para que ocorra a cicatrização.

5.3.2 Análise Microscópica Morfométrica

5.3.2.1 Densidade de colágeno

Considerando que a reação inflamatória se mostrou mais intensa e prolongada nas feridas feitas com o BHU era de se esperar que existisse atraso com relação a fibroplasia, representada especialmente pela deposição de

colágeno. Sinha et al. (2003)³, Liboon et al. (1997)¹⁷ e Hambley et al. (1988)²⁶ haviam relatado o atraso da fibroplasia.

No presente estudo verificou-se que a densidade de colágeno encontrada nos cortes histológicos foi maior nas feridas resultantes do BLF. Além disso, no décimo quarto dia encontrou-se maior quantidade de colágeno III nas resultantes do BHU, demonstrando que nelas, havia atraso de maturação cicatricial.

5.3.2.2 Imunistoquímica

A análise com anti-CD3 demonstrou uma maior quantidade de linfócitos T nas feridas produzidas pelo BHU no sétimo dia, e no décimo quarto dia a quantidade deles era semelhantes nos dois tipos de feridas.

Na avaliação com anti-Fator VIII o resultado foi uma grande quantidade de neovasos nas feridas resultantes do BHU tanto no sétimo como no décimo quarto dia de avaliação. Liboon et al. (1997)¹⁷ relataram a presença de maior quantidade de tecido de granulação nas feridas com eletrocautérios, laser e BHU em relação às feridas com o BLF, comprovando os resultados obtidos nesta pesquisa.

5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora as incisões realizadas com o BHU produzam um atraso no processo cicatricial em relação às produzidas com BLF e comparações confirmadas neste estudo pelas avaliações clínicas, microscópicos morfológicos e morfométricos, o BHU é um instrumento de corte e coagulação simultânea e baixa produção de energia térmica nos tecidos, proporcionando uma cirurgia limpa, devido a ausência de sangramento e mais rápida.

Devemos considerar seu uso, o BHU, em cirurgias otorrinolaringológicas e estudos ulteriores devem ser feitos com relação a *laser* e eletrocautérios

6 CONCLUSÕES

A análise dos resultados do presente estudo permite concluir que a utilização do BHU comparado ao BLF, em incisões feitas na mucosa jugal de ratas:

- proporciona hemostasia eficiente;
- leva a uma maior área de lesão no momento da incisão;
- atrasa o processo de regeneração;
- promove um maior processo inflamatório;
- prolonga a fase inflamatória;
- desenvolve maior atividade angiogênica;
- atrasa a fibroplasia demonstrada pela menor densidade de colágeno do tipo I e do tipo III no sétimo dia de avaliação;
- atrasa a maturação das cicatrizes demonstrada pela maior densidade de colágeno do tipo III, no décimo quarto dia de avaliação.

Finalmente, pode-se dizer que o BHU, embora promova boa hemostasia, atrasa o processo cicatricial tanto nas fases iniciais quanto na maturação da cicatriz.

REFERÊNCIAS

- 1- Rutkow IM. Moments in surgical history: Willian Stewart Halsted. Arch Surg. 2000; 135(12):1478.

- 2- Schwartz SL, Shires GT, Spencer FC, Storer EH. Princípios de cirurgia. 4.ed, 2v, Cidade:Guanabara Koogan, 1987.

- 3- Sinha UK, Gallagher LA. Effects of steel scalpel, ultrasonic scalpel, CO2 Laser, and monopolar and bipolar electrocirurgy on wound healing in Guinea Pig oral mucosa. Laryngoscope. 2003; (113):228-36.

- 4- Vore SJ, Wooden WA, Bradfield JF, Aycock ED, Vore PL, Lalikos JF, Hudson SS. Comparative healing of surgical incisions created by a standard "Bovie", The utah medical epitome electrode, and a bard-parker cold scalpel blade in a porcine model: A Pilot Study. An Plast Surg. 2002; 49(6):635-45.

- 5- Chinpairoj S, Feldman M D, Saunders J C, Thaler E R. A comparison os monopolar electrosurgery to a new multipolar electrosurgical system in a rat model. Laryngoscope. 2001; 111(2):213-17.

- 6- Emann TA, Cushieri A. How safe is high-power ultrasonic dissection? Ann Surg. 2003; 237(2):186-91.

- 7- Metternich FU ,Sagowski C, Wenzel S, Jakel K. Tonsillectomy with the ultrasound activated scalpel. Initial results of technique with Ultracision Harmonic Scalpel. HNO. 2001; 49(6):465-70.

- 8- Sood S, Corbridge R, Powles J, Bates G, Newbegin CJR. Effectiveness of the ultrasonic harmonic scalpel for tonsillectomy. Ear Nose Throat J. 2001; 80(8):514-18.

- 9- Ramos FA, Ferreira RDP, Silva RHS, Prado EP, Corso R, Pinto JA. Comparative study between two tonsilectomy techniques: Ultracision harmonic scalpel and traditional dissection with cold scalpel. Rev Bras Otorrinol. 2004; 70(3):316-22.

- 10- Metternich FU, Wenzel S, Sagowski C, Jakel K, Koch U. Surgical treatment of rinophyma with the ultrasonic scalpel (Ultracision Harmonic Scalpel); Laryngorhinootologie. 2003; 82(2):132-7.
- 11- Koch C, Friedrich T , Metternich F, Tannapfel A, Reimann HP, Eichfeld U. Determination of temperature elevation in tissue during the application of the harmonic scalpel. Ultrasound Med Biol. 2003; 29(2):301-9.
- 12- Metternich FU, Wenzel S, Sagowski C, Jakel T, Koch U. The "Ultracision Harmonic Scalpel" ultrasound activated scalpel. Initial results in surgery of the tongue and soft palate. HNO. 2002; 50(8):733-8.
- 13- Metternich FU, Sagowski C, Wenzel S, Jakel T, Lewver R, Koch U. Preliminary results for superficial parotidectomy using the ultrasonically activated scalpel (Ultracision Harmonic Scalpel). Laryngorhinootologie. 2003; 82(7):514-9.
- 14- Haegner U, Handrock M, Schade H. "Ultrasound Tonsillectomy" in comparison with traditional tonsillectomy. HNO. 2002; 50(9):836-43.
- 15- Laszig R, Ridder GJ, Aschendorff A, Fradis M. Ultracision: an alternative to electrosurgery in revision cochlear implant surgery. Laryngoscope. 2002; 112(1):190-1.
- 16- Sherman JA, Davis HT. Ultracision: the harmonic scalpel and its possible uses in maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg. 2000; 38(5): 530-2.
- 17- Liboon J, Funkhouser W, Terris D J. A Comparison of mucosal incisions made by scalpel, CO2 laser, electrocautery, and constant-voltage electrocautery. Otolaryngol-Head Neck Surg. 1997; 116(3): 379-85.
- 18- Iushkin AS, Maistrenko NA, Andreev AL. Physical methods of dissection and coagulation in surgery. Khirurgia. 2003; (1):48-53.
- 19- Gaspar L, Toth J. Comparative study on wound healing in the oral cavity following experimental surgery using a scalpel, electrocauterization and CO2 laser beam. Matrix. 2001; 11 (3):190-6.

- 20- Sharp PE. The Laboratory rat. New York CRC Press. 1998; 112.
- 21- Noronha L, Junior AOV, Scheffel DLH, Campos ACL. Influência da Cisplatina administrada no pré e pós-operatório sobre a cicatrização de anastomoses colônicas em ratos. J Brás Patol Med Lab. 2003; 39 (2) : 143-99.
- 22- Dakocytomation. Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, Tcell. DakoCytomation EnVision® and LSAB®2 Systems. 2004; 1-3.
- 23- Dakocytomation. Monoclonal Mouse Anti-bovine Vimentin. DakoCytomation EnVision® and LSAB®2 Systems. 2003; 1-3.
- 24- Dakocytomation. Polyclonal Rabbit Anti-Human Von Willebrand Factor. DakoCytomation EnVision® and LSAB®2 Systems. 2003; 1-2.
- 25- Dakocytomation. Monoclonal Mouse Anti-Human CD 68, Macrophage. DakoCytomation EnVision® and LSAB®2 Systems. 2003; 1-3.
- 26- Hambley R, Hebda PA, Abell E, Cohen BA, Jegasothy BV. Wound healing of skin incisions produced by ultrasonically vibrating knife, scalpel, electrosurgery, and carbon dioxide laser. J Dermatol Surg Oncol. 1988; 14: 1213-12

NORMAS ADOTADAS

BRASIL. Lei Federal nº 6.638 de 8 de maio de 1979. Estabelece normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais e determina outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, p.1, 10 mai.1979.

International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. Nomina anatômica veterinária. 3rd ed. New York: Ithaca; 1983.

International Organization for Standardization. Documentation: rules for abbreviation on title words of publication / Documentation: regles pour l'abbreviation des mots dans les titres et des publications. 2nd ed. Paris:ISO; 1984.

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Int Med 1977; 126(1):36-47.

Miranda JA. Normas de Vancouver. 1998 Fev 14:(69 ecrans). Disponível em [URL:http://homepage.esoterica.pt/~nx2fmd/Normas.html](http://homepage.esoterica.pt/~nx2fmd/Normas.html)

ANEXO

Parecer Consubstanciado de Projeto de Pesquisa /CEPA

Título do Projeto:	Estudo comparativo de psicoanálises de mulheres, legal de atos e incêndios feitos com burlas, conexões e burlas, hormônios ultracuriosos
Pesquisador Responsável:	Elen Goulart, Dona José De Mari
Data da Versão:	
Protocolo:	69
Data do Parecer:	
Categoria do experimento:	

Itens Metodológicos e Éticos	SITUAÇÃO		
	Adequado	Inadequado	Não se aplica
Folha de Rosto	X		
Introdução	X		
Objetivos	X		
Local de Origem da Instituição	X		
Projeto elaborado por patrocinador			
Local de realização			X
Origem dos animais	X		
Outras instituições envolvidas	X		
Condição para realização	X		X
Cálculo de tamanho de amostra	X		
Relação benefício/malefício	X		
Uso de placebo			X
Cronograma		X	
Orçamento		X	
Currículo Lattes		X	
Referências	X X (des.)		

Relator: Waldin Souza / Marcia Maria Kulczykki

PARECER

☐

Aprovado

☐

Retirado

☒

Aprovado com pendência

☐

Não aprovado

☐

Com pendência

OBS: Pág. 05 → especificar o manjé dos animais (descrever).
 Pág. 09 → adequar quantidade de quetamina
 Página 14 → o orçamento dev ser discriminado
 página 15 → especificar o cronograma (períodos pa-
 ra cada item).
 Pág. 16 → foram elencadas 13 obras e citados 3 obras.

R: Luamirade Conceição 1155 -

CEP 80215 901

Bloco Humanas Terres
 Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO:**7 DIAS:**

Variável	Bisturi	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Colágeno I	BLF	10	4,65	3,07	1,63	10,17	3,22
	BHU	10	0,89	0,79	0,65	1,39	0,28
Colágeno III	BLF	10	2,85	2,06	1,01	6,11	1,84
	BHU	10	1,44	1,28	0,8	2,49	0,54
Outros	BLF	10	92,5	94,96	84,32	97,36	5,04
	BHU	10	97,67	97,85	96,12	98,53	0,79

14 DIAS:

Variável	Bisturi	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
Colágeno I	BLF	9	2,71	2,59	0,83	5,18	1,69
	BHU	10	0,85	0,67	0,39	2,15	0,55
Colágeno III	BLF	9	1,3	0,68	0,33	3,26	1,04
	BHU	10	2,52	2,6	1,51	3,9	0,9
Outros	BLF	9	96,18	97,84	91,71	98,84	2,76
	BHU	10	96,66	96,73	94,93	98,23	1,29