



**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM MEDICINA - BIOFOTÔNICA**

ADRIANA CÁTIA MAZZONI

**AVALIAÇÃO TÉRMICA E HISTOLÓGICA DA INCISÃO CIRÚRGICA
NO FREIO LINGUAL COM LASERS DE DIODO (450 nm e 980 nm)
EM MODELO ANIMAL (RATOS WISTAR)**

**São Paulo, SP
2025**



ADRIANA CÁTIA MAZZONI

**AVALIAÇÃO TÉRMICA E HISTOLÓGICA DA INCISÃO CIRÚRGICA
NO FREIO LINGUAL COM LASERS DE DIODO (450 nm e 980 nm)
EM MODELO ANIMAL (RATOS WISTAR)**

Tese apresentada à Universidade Nove de Julho,
para obtenção do título de
Doutor(a) em Medicina - Biofotônica.
Orientador(a): Prof. (a) Lara Jansiski Motta

**São Paulo, SP
2025**

Mazzoni, Adriana Cátia.

Avaliação térmica e histológica da incisão cirúrgica no freio lingual com lasers de diodo (450 nm e 980 nm) em modelo animal (ratos wistar). / Adriana Cátia Mazzoni. 2025.

69 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2025.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Lara Jansiski Motta.

1. Laser de alta potência. 2. Freio lingual. 3. Termografia. 4. Frenectomia. 5. Infiltrado inflamatório.

I. Motta, Lara Jansiski.

II. Título.

CDU 615.831

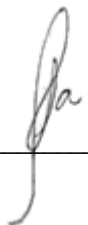
São Paulo, 10 de dezembro de 2025.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Adriana Cátia Mazzoni

Título da Tese: "Avaliação térmica e histológica da incisão cirúrgica no freio lingual com lasers de diodo (980nm e 450nm) em modelo animal (ratos Wistar)".

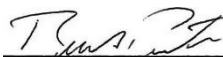
Presidente: PROF^a. DR^a. LARA JANSISKI MOTTA



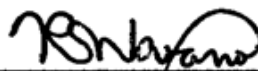
Membro: PROF^a. DR^a. SANDRA KALIL BUSSADORI



Membro: PROF. DR. RENATO ARAUJO PRATES



Membro: PROF. DR. RICARDO SCARPARO NAVARRO



Membro: PROF^a. DR^a. ANA PAULA TABOADA SOBRAL



FINANCIAMENTOS

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO (UNINOVE) - PROGRAMA DE BOLSAS PARA A FORMAÇÃO DO PESQUISADOR ADRIANA CÁTIA MAZZONI.

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES) – PROCESSO: 23038.006540/2022-99.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela presença constante na minha vida!

Agradecimento especial aos meus pais que me trouxeram ao mundo e acreditaram que eu fosse capaz!

À minha família, que sempre está ao meu lado e me incentiva a ser melhor, agradeço à minha filha Vitória, que é a presença mais forte e me apoia a cada passo!

Meus sinceros agradecimentos à minha orientadora, professora Lara Jansiski Motta, que esteve ao meu lado durante todo o processo, à professora Sandra Kalil Bussadori que me introduziu no mundo das pesquisas, à professora Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari que nos auxiliou na busca de soluções em análise histológica, e à Amanda Vieira que foi minha parceira em todos os experimentos desta pesquisa. Aos professores Aldo Brugnera Jr e Fátima Zanin pela generosidade em ceder sua clínica e todos os equipamentos de laser para viabilizar nosso estudo.

À UNINOVE que me aceitou como aluna e me deu a oportunidade de utilizar suas dependências para a realização de todos os passos da pesquisa.

Obrigada especial à Nurya Bustamante e Giu, pela presteza e atendimento no biotério, aos professores Rodrigo Labat Marcos, que me orientou sobre os trâmites do biotério e Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana pelas dicas para melhorar nossa prática no tratamento com os ratos.

Gratidão pelos ratos Wistar que tiveram suas vidas pela evolução da ciência!

À CAPES pelo apoio durante todo o estudo.

Lígia Jeronymo de Paula, minha gratidão por todas as vezes estar pronta para nos ajudar, trazendo o laser da DMC.

Obrigada a todos os amigos e parentes que entenderam todas as minhas faltas aos eventos importantes neste período em que eu estava estudando.

Gratidão a todos que colaboraram direta ou indiretamente para que nosso trabalho fosse concluído!

A resposta certa, não importa nada: o essencial é que as perguntas estejam certas...

Mário Quintana

RESUMO

Os instrumentos cirúrgicos térmicos são amplamente utilizados em cirurgias de tecidos moles pela capacidade de promover hemostasia e reduzir a necessidade de suturas, sendo indicados também para a liberação do freio lingual. Entretanto, os efeitos do aquecimento sobre o tecido e o reparo tecidual local ainda suscitam questionamentos. Este estudo, em duas etapas, teve como objetivo avaliar os efeitos térmicos e o reparo tecidual após incisões realizadas no freio lingual com diferentes instrumentos. Na primeira etapa, *ex vivo*, 60 línguas suínas foram submetidas a incisões com tesoura Íris, eletrocautério, bisturi eletrônico, laser de érbio (em diferentes parâmetros) e lasers de diodo de alta potência (450 nm e 980 nm, com diferentes parâmetros). A temperatura foi monitorada por termografia infravermelha (FLIR C5) registrando valores durante, ao final e 1 minuto após as incisões. Observou-se menor aquecimento no grupo tesoura (5,6 °C) e maiores médias no laser de diodo de alta potência 980 nm (22,6 °C) e no 450 nm (16,7 °C), sendo que o último apresentou o resfriamento mais rápido (13,6 °C em 1 minuto). Na segunda etapa, a escolha dos instrumentos foi realizada de acordo com os resultados da primeira etapa. Foram escolhidos dois instrumentos de laser de diodo de alta potência no modo pulsado, que apresentavam o mesmo tipo de ponta na fibra, com 600 micrometros de diâmetro, mas com comprimentos de onda diferentes. Esta etapa foi conduzida *in vivo* com 30 ratos Wistar jovens que se encontravam na faixa etária antes da puberdade, distribuídos em três grupos: tesoura (controle), laser de diodo 450 nm e laser de diodo 980 nm, ambos no modo pulsado. Foram realizadas análises termográficas e histológicas nos períodos imediato e pós-operatório (dias 0 e 7). O laser diodo 980 nm apresentou um caso de sangramento controlado durante o procedimento, enquanto o grupo laser diodo de 450 nm não apresentou nenhum caso de qualquer sangramento, entretanto, apesar de apresentarem resultado de reparação tecidual clínico semelhantes, no sétimo dia; o grupo laser 450 nm, apresentou menor quantidade de feixes de colágeno desorganizados com aspecto fibrosado em relação ao uso do laser 980 nm, e mais semelhante ao uso da tesoura cirúrgica. Ambos os instrumentos térmicos apresentaram características clínicas, térmicas e histológicas semelhantes e podem ser empregados de forma segura para incisões na região do freio lingual apresentando padrões semelhantes de aquecimento e de reparo tecidual. Espera-se que os resultados auxiliem na compreensão da segurança térmica e biológica desses lasers em cirurgia do freio lingual, entretanto é necessário mais estudos histológicos e clínicos que confirmem estes achados.

Palavras-chave: Laser de alta potência; freio lingual; termografia; frenectomia; infiltrado inflamatório.

ABSTRACT

Thermal surgical instruments are widely used in soft tissue surgeries due to their ability to promote hemostasis and reduce the need for sutures; they are also indicated for lingual frenectomy. However, the effects of heating on the tissue and local tissue repair still raise questions. This two-stage study aimed to evaluate the thermal effects and tissue repair after incisions performed on the lingual frenulum using different instruments.

In the first stage (ex vivo), 60 porcine tongues underwent incisions with Iris scissors, electrocautery, electronic scalpel, erbium laser (at different parameters), and high-power diode lasers (450 nm and 980 nm, at different parameters). Temperature was monitored via infrared thermography (FLIR C5), recording values during, at the end of, and 1 minute after the incisions. The lowest heating was observed in the scissors group (5.6 °C), while the highest averages were found in the 980 nm high-power diode laser (22.6 °C) and the 450 nm laser (16.7 °C); the latter showed the fastest cooling (13.6 °C within 1 minute).

In the second stage, the instruments were selected based on the results of the first stage. Two high-power diode laser instruments in pulsed mode were chosen, featuring the same fiber tip type (600 micrometers diameter) but different wavelengths. This stage was conducted in vivo with 30 young pre-pubescent Wistar rats, distributed into three groups: scissors (control), 450 nm diode laser, and 980 nm diode laser, both in pulsed mode. Thermographic and histological analyses were performed in the immediate and postoperative periods (days 0 and 7).

The 980 nm diode laser group presented one case of controlled bleeding during the procedure, while the 450 nm diode laser group presented no cases of bleeding. Although both showed similar clinical tissue repair results on the seventh day, the 450 nm laser group exhibited a smaller amount of disorganized, fibrotic-like collagen bundles compared to the 980 nm laser, appearing more similar to the surgical scissors group. Both thermal instruments presented similar clinical, thermal, and histological characteristics and can be safely employed for lingual frenulum incisions, showing similar heating and tissue repair patterns. It is expected that these results will aid in understanding the thermal and biological safety of these lasers in lingual frenulum surgery; however, further histological and clinical studies are necessary to confirm these findings.

Keywords: High-power laser; lingual frenulum; thermography; frenectomy; inflammatory infiltrate.

DESTAQUES

1. Avaliação do aquecimento tecidual gerado por diferentes instrumentos cirúrgicos: tesoura Íris, eletrocautério com ponta de níquel-cromo (1220 °C), bisturi eletrônico de alta frequência (6 W), lasers de diodo DMC e D-Storm (modos contínuo, pulsado e superpulsado) e laser de Érbio.
2. Investigação dos efeitos do aquecimento tecidual sobre o reparo no freio lingual em modelo animal jovem, controlando a influência da puberdade sobre a cicatrização;
3. Registro termográfico padronizado da temperatura durante a incisão e um minuto após, possibilitando mensurar o pico de aquecimento e o tempo de resfriamento local;
4. Avaliação histológica do processo inflamatório e do reparo tecidual em dois pontos de tempo (dias 0 e 7), correlacionando achados térmicos com resposta biológica;
5. Contribuição para a definição de protocolos clínicos mais seguros e eficazes no uso dos instrumentos térmicos em cirurgias do freio lingual, com potencial impacto na prática odontológica e médica.

HIGHLIGHTS

1. Evaluation of tissue heating generated by different surgical instruments: Iris scissors, electrocautery with a nickel-chromium tip (1220 C°), high-frequency electronic scalpel (6 W), DMC and D-Storm diode lasers (continuous, pulsed, and superpulsed modes), and Erbium laser.
2. Investigation of the effects of tissue heating on the lingual frenulum repair in a young animal model, controlling for the influence of puberty on healing
3. Standardized thermographic recording of the temperature during the incision and one minute after, making it possible to measure the peak heating and the local cooling time.
4. Histological evaluation of the inflammatory process and tissue repair at two time points (days 0 and 7), correlating thermal findings with the biological response.
5. Contribution to the definition of safer and more effective clinical protocols for the use of thermal instruments in lingual frenulum surgeries, with potential impact on dental and medical practice.

RESUMO PARA LEIGOS

O freio lingual, conhecido como “língua presa”, é uma pequena membrana que liga a língua ao fundo da boca. Quando é alterado, sendo muito curto ou grosso, pode atrapalhar funções importantes como falar, mastigar e, principalmente em bebês, durante a amamentação. Nessas situações, muitas vezes é preciso fazer uma pequena cirurgia para liberar a língua. Tradicionalmente, essa cirurgia é feita com tesoura, mas hoje existem outros instrumentos, como os térmicos, e especialmente os lasers, que ajudam a controlar o sangramento e podem evitar a necessidade de pontos pós cirurgia. Embora o laser seja considerado seguro e já usado em bebês e crianças, ainda existem dúvidas sobre se o calor que ele gera sobre o corte, afetar a cicatrização. Este estudo está sendo realizado com animais jovens em laboratório para entender melhor como diferentes instrumentos, a tesoura e dois tipos de laser podem influenciar a cicatrização depois da cirurgia no freio da língua. Numa primeira etapa foi realizado um estudo sobre língua de porco *ex vivo* para a escolha dos instrumentos e depois em animais de laboratório (ratos Wistar). Durante o procedimento, a temperatura do local foi medida e registrada, e as amostras de tecido, analisadas em dois momentos: logo após a cirurgia e uma semana depois. O objetivo foi verificar se o calor produzido pelo laser pode trazer algum efeito sobre a cicatrização. Observamos que a cicatrização das cirurgias realizadas com o uso da tesoura, o grupo apresentou integridade total dos tecidos na observação do sétimo dia após a cirurgia, apesar de, em três animais ter ocorrido sangramento excessivo durante o procedimento cirúrgico. Entretanto, com o uso dos lasers foi observado um reparo tecidual clínico com características semelhantes de tecido endurecido no local da incisão em 3 animais dos grupos do uso de laser; apesar de não haver sangramento excessivo em nenhum dos grupos, apenas no grupo do laser de diodo 980 nm houve um caso de sangramento controlado durante a cirurgia. Apesar destes resultados semelhantes, o grupo do laser 450 nm apresentou um resultado melhor em relação à avaliação do feixe de fibras colágenas desorganizadas com aspecto fibrosado quando comparado com o grupo do laser 980 nm no sétimo dia. Com os resultados deste estudo, espera-se oferecer informações mais seguras para orientar os profissionais de saúde e ajudar pais e famílias a terem mais confiança nos tratamentos que envolvem o freio lingual.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Procedimento experimental da etapa 1 e instrumentos utilizados	27
Figura 2 - Pinça clínica Dietrich Golgran	29
Figura 3 - Anestesia infiltrativa	34
Figura 4 - Língua sendo elevada com a pinça.....	34
Figura 5 – Incisão cirúrgica	36
Figura 6 – Retirada da amostra.....	36
Figura 7 – Gráficos de variação de temperatura durante os tempos.....	40
Figura 8 - Casos de sangramento excessivo	43
Figura 9 -7 dias após cirurgia.....	43
Figura 10- Peças incluídas no bloco	43
Tabela 1- Características dos instrumentos cirúrgicos térmicos	30
Tabela 2 - Grupo da tesoura- medição de temperatura em °C durante o início da incisão (temp incial) e um minuto após (temp final).....	39
Tabela 3 - Grupo da tesoura- medição de temperatura em °C durante o início da incisão (temp incial) e um minuto após (temp final).	41
Tabela 4 - Grupo do Laser diodo de alta potência 980 nm- medição de temperatura em °C durante o início da incisão(temp incial) e um minuto após (temp final).	40
Tabela 5 - Grupo do Laser diodo de alta potência 450 nm- medição de temperatura em °C durante o início da incisão(temp incial) e um minuto após (temp final).	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Grau Celsius
ARRIVE	Animal Research: Reporting of <i>In Vivo</i> Experiments
CEUA	Comissão (ou Comitê) de Ética no Uso de Animais
DIODO	Dispositivo semicondutor que emite luz laser quando é percorrido por uma corrente elétrica, utilizando um material semicondutor para criar o laser de material semicondutor, como o arseneto de gálio (GaAs)
EPIs	Equipamentos de proteção individual
Er:YAG	Erbium Yttrium Aluminium Garne
FBM	Fotobiomodulação
Hz	Hertz
IL-6	Interleucina-6
MEC	Matriz Extracelular
mm	Milímetros
MP	Milhões de pixels
mW	Miliwatts
N	Número
nm	Nanômetros
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Th1	linfócitos T helper
UNINOVE	Universidade Nove de Julho
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
W	Watts

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO	16
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
2.3 Hipótese Central	24
2.4 Hipótese Secundária.....	24
2.5 Justificativa	25
2.6 Desfecho primário	25
2.7 Desfecho secundário	25
3. METODOLOGIA.....	27
3.1 Desenho Do Estudo	27
3.1.1. 1º etapa do estudo	27
3.1.2. 2º etapa do estudo	31
3.2 Câmera.....	38
4. RESULTADOS.....	39
5. PERÍODICO PREVISTO PARA SUBMISSÃO DO(S)ARTIGO(S)CIENTÍFICO(S)	47
6. DISCUSSÃO	48
Tendências atuais	54
7. CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS.....	56
ANEXO 1: CHECAGEM ARRIVE:	61
ANEXO 2: CHECAGEM ARRIVE 2º ETAPA DA PESQUISA.....	63
ANEXO 3. APROVAÇÃO CEUA N.5822290523 1º ETAPA	64
ANEXO 4. APROVAÇÃO CEUA N. 2578060825 2º ETAPA.....	65
ANEXO 5: RELATÓRIO DE ANÁLISE DE LÂMINAS DE MICROSCOPIA	66
ANEXO 6: RELATÓRIO DE ANÁLISE DE LÂMINAS DE MICROSCOPIA	69

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Atualmente, os cirurgiões têm buscado cada vez mais o aprimoramento de técnicas que promovam maior eficácia, segurança e conforto ao paciente durante o procedimento cirúrgico.¹ Nesse contexto, o uso de instrumentos cirúrgicos térmicos, como lasers e bisturis elétricos e eletrônicos, para melhorar a hemostasia, capacidade de coagular pequenos vasos sanguíneos simultaneamente ao corte cirúrgico, tem se tornado uma alternativa promissora.² O uso desses instrumentos visa minimizar a perda sanguínea durante o procedimento, otimizar o campo operatório e, em muitos casos, eliminar a necessidade de suturas, reduzindo o tempo cirúrgico e o risco de infecções pós-operatórias.^{2,3}

A frenectomia/frenotomia lingual é um procedimento cirúrgico para liberação do freio lingual, uma estrutura que, quando alterada, pode restringir a mobilidade da língua. Tal condição, conhecida como anquiloglossia, quando afeta neonatos e lactentes, pode causar dificuldades na amamentação, no desenvolvimento orofacial e, futuramente, na fala.^{1,4,5} A frenectomia/frenotomia lingual é tradicionalmente realizada com tesoura, bisturi de lâmina fria, bisturi elétrico ou eletrônico.⁶ Além desses, podem ser utilizados instrumentos térmicos como os que utilizam laser.

Os lasers operam em diferentes comprimentos de onda, cada um com características únicas. Ao interagir com o tecido, a luz laser pode passar por quatro fenômenos: absorção, penetração, transmissão e difusão. Na Odontologia, a absorção é o evento mais desejável, pois é ela que garante a interação efetiva com o tecido alvo para o tratamento.^{1-3,6,7} O laser de diodo de alta potência, em particular, é uma ferramenta segura, eficaz e capaz de realizar uma incisão que apresente sangramento mínimo, menor dor pós-operatória e recuperação mais rápida.⁸⁻¹⁰

Porém, a utilização de instrumentos térmicos levanta questões importantes sobre a geração de aquecimento tecidual local e o seu impacto biológico nos tecidos atingidos durante o procedimento cirúrgico.^{2,3,6,7} A resposta tecidual varia conforme o tipo de instrumento, tipo de tecido, a potência utilizada e o comprimento de onda do laser, tornando cruciais a compreensão e o conhecimento profundos sobre a sua utilização, dosimetria e parâmetros, além dos efeitos de cada dispositivo.¹¹

A medição e o registro da temperatura do tecido que sofre a incisão e que pode gerar o aquecimento pelo instrumento cirúrgico são uma das possibilidades de avaliar o aquecimento e assim controlar possíveis danos térmicos. Existem dois tipos de

avaliação termográfica: a passiva e a dinâmica. Na passiva são captadas imagens radiométricas com medidas estáticas da superfície em tempo real e em um determinado instante. Na dinâmica, a termografia mede a temperatura de uma superfície sujeita a mudanças de temperatura. A termografia passiva pode ser realizada pela câmera termográfica, um método pouco invasivo para medir a temperatura local.¹²

A similaridade genética existente entre os ratos e os seres humanos permite que estudos sejam realizados com estes animais, simulando a situação em humanos, e podendo viabilizar resultados potenciais nas pesquisas, em especial em áreas de saúde. Mas, deve ser sempre fundamentada em conceitos éticos, utilizando-se de todos os meios possíveis para minimizar a dor e sofrimento do animal. Os ratos pertencentes à linhagem Wistar (Ratonorvegico) são frequentemente escolhidos por serem de pequeno porte, de baixo custo de criação, possuírem prole numerosa e ciclo biológico curto, além de serem considerados dóceis e colaborativos à manipulação.^{13–15}

A língua humana, assim como a do rato, é um hidrostato muscular, composto por musculatura esquelética, e é dividido em três regiões: dorso, bordas laterais e ventre lingual. Normalmente, a língua apresenta 2/3 da região anterior livres e com mobilidade, enquanto a região posterior está inserida. A superfície ventral da língua do rato é composta por mucosa, freio lingual, e carúnculas sublinguais, e apresenta vascularização simples, uniforme e abundante, constituída por um plexo vascular superficial e veias raninas. A mucosa oral é bem desenvolvida para detectar vários estímulos químicos com sensibilidade considerável e requer um nível requintado de sensibilidade a estímulos mecânicos, térmicos e químicos, a fim de detectar as propriedades dos alimentos e prevenir a ingestão de materiais nocivos. Em ratos Wistar, foi descoberto que 46% das fibras são mecanorreceptores de baixo limiar não nociceptivos e 54% das fibras são classificadas como nociceptivas.¹⁶

O epitélio da mucosa ventral da língua do rato se mostra mais delgado que a mucosa do dorso e do ápice, é permeável, além da ausência de queratina.¹⁴

Mills *et al.* (2019) descreveram o freio lingual como uma estrutura tridimensional, com a base aderida ao assoalho bucal ou na crista marginal inferior, formado por tecido conjuntivo, recoberto por uma camada de fáscia que se estende por todo o assoalho da boca, o qual pode restringir os movimentos linguais.^{4,17}

O tecido conjuntivo correspondente ao ventre lingual (face inferior da língua)

apresenta uma camada muscular bem desenvolvida e formada por feixes de músculo estriado esquelético que se entrecruzam, composta pela fáscia, além da presença de células endoteliais, fibras espessas, da lâmina própria considerada normal. A lâmina própria contém fibras colágenas, que seguem um curso irregular entre os pontos de ancoragem e por isso a mucosa pode ser distendida com uma certa extensão, antes que tais fibras se tornem esticadas e possam limitar distensões posteriores.¹⁸

Na mucosa oral, o tecido conjuntivo pode ser caracterizado pela abundância de matriz extracelular, que consiste em diferentes combinações de fibras colágenas e de substância fundamental, apresentando grande variedade de fibroblastos, que são as células mais abundantes, além de ser recoberto pela mucosa de revestimento, sendo uma característica que permite ser flexível e capaz de suportar distensão.¹⁴

A liberação cirúrgica do freio lingual é um dos tratamentos propostos para os casos de diagnóstico de anquiloglossia com pacientes lactentes que apresentem quadros de dificuldades na amamentação.^{1,3,5} O procedimento considerado menos invasivo é o que proporciona menor sangramento e mais conforto nos momentos trans e pós-operatórios e que, de preferência, não necessite de sutura local, pois a sutura poderá tornar o momento pós-operatório muito desconfortável para o lactente e impactar negativamente no processo de aleitamento materno, podendo levar ao desmame precoce.^{1,3,19}

Não existe consenso sobre a melhor técnica cirúrgica e sobre os instrumentos cirúrgicos que apresentam o melhor resultado, especialmente quando se trata de pacientes que se encontram na faixa etária da primeiríssima infância (período da gestação até os 3 anos de idade).¹ Pensando na odontologia minimamente invasiva para estes pacientes, a realização de uma técnica que seja rápida, confortável, segura e não tenha a necessidade de sutura pós-cirurgia é o mais indicado.^{1,3}

Por meio do efeito fototérmico o laser de diodo de alta potência é capaz de cortar o tecido por ablação tecidual seletiva, promovendo o selamento de microvasos. Instrumentos térmicos são muito utilizados por apresentarem facilidade no manuseio e menor sangramento durante o período trans e pós-operatório, facilitando a visualização do campo cirúrgico, e por promoverem o aumento gradativo e controlado da temperatura, atingindo os limiares térmicos de alteração físico-química das estruturas celulares e teciduais, levando a modificações morfológicas microscópicas e macroscópicas dos tecidos. Danos térmicos locais, controlados e seguros, com o uso correto de instrumentos térmicos, como os lasers de alta potência, quando utilizados

para a realização de procedimentos cirúrgicos, facilitam os momentos pré e pós-cirúrgicos.¹¹

Os lasers apresentam variados comprimentos de onda, que determinam a sua classificação e aplicação clínica, e são classificados em baixa e alta potência. Os lasers cirúrgicos são de alta potência e, através do aumento da temperatura, conseguem remover tecidos duros e moles, possuindo efeito antimicrobiano associado à sua ação térmica. Entre os lasers de alta potência, podemos citar os de diodo, argônio, dióxido de carbono (CO₂), neodímio (Nd:YAG), érbio (Er:YAG), entre outros.¹⁹

O laser de diodo de alta potência é, atualmente, o instrumento térmico mais recomendado para a cirurgia de liberação do freio lingual, em pacientes da primeiríssima infância, por ser um instrumento de precisão de corte, que não necessita sutura local na maioria dos casos, menor ocorrência de sangramento no trans e pós-operatório, promovem efeito térmico de descontaminação local, apresentam baixa alteração nos tecidos adjacentes, além de não necessitar refrigeração por jatos de água. O laser diodo de alta potência atua por conversão de energia elétrica em luz monocromática, colimada e coerente, gerada em um semicondutor do tipo arseneto de gálio e alumínio (AsGaAl) e promove redução do tempo cirúrgico, maior precisão de corte, menor sangramento e dor, maior conforto pós-operatório pela dispensa de sutura e melhor reparo tecidual local.¹⁰

Este laser é um instrumento de custo acessível, prático e portátil, além de não utilizar jatos de água durante o procedimento, havendo melhor visualização do campo operatório e menor risco de aspiração em bebês e crianças de baixa idade. Lasers não visíveis de diodo infravermelho próximo (800 nm, a 1100 nm) apresentam absorção pelos cromóforos melanina, hemoglobina, proteínas, apresentando predomínio de espalhamento e absorção em profundidade nos tecidos moles bucais e pele, gordura, músculos, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, gânglios linfáticos, medula dos ossos, polpa, tecido cariado, dentina e osso.²⁰

A principal diferença entre usar um laser de diodo de alta potência no espectro azul e no infravermelho para corte de tecidos moles está na forma como a energia da luz é absorvida pelo tecido. O comprimento de onda e a potência do laser são parâmetros que influenciam a profundidade de penetração e o grau de aquecimento do tecido: grandezas relacionadas ao aquecimento e ao dano térmico. Os lasers podem operar em modos contínuo e interrompido (argônio, diodo vermelho e

infravermelho, dióxido de carbono) e pulsado ou pulsos ultracurtos (diodos, érbio) - repercussão direta no acúmulo de calor e dano térmico aos tecidos adjacentes. O laser pulsado (e superpulsado) pode alcançar picos de potência mais altos do que um laser contínuo, mas com uma entrada de calor total menor. A rápida ativação e desativação dos pulsos permitem a aplicação da quantidade certa de calor, sem um aumento excessivo da temperatura geral. Nos lasers de diodo de alta potência ou de neodímio:YAG, com sistemas de entrega com fibra ótica, a energia é depositada em contato ou quase contato em varredura no tecido-alvo, sendo condição muito importante ter essa intermitência para não gerar dano térmico.^{2,3,6,7,21-23}

Entretanto, alguns casos que utilizam o laser de alta potência, podem demonstrar uma cicatrização pós-operatória alterada, e com alto índice de recidiva, dependendo dos parâmetros que forem utilizados.³

Portanto, a recomendação é que para a utilização deste instrumento em cirurgia, o operador tenha um amplo conhecimento sobre os parâmetros do laser de diodo escolhido, a fim de obter o melhor resultado de reparação tecidual. A interação do laser diodo com os cromóforos do tecido-alvo e os parâmetros deve ser segura e efetiva, baseada em literatura prévia, além de conhecer o funcionamento do equipamento, realizar treinamentos, para dominar suas particularidades, modos de emissão (contínuo, interrompido/pulsado, superpulsado), modo de irradiação, riscos e normas de segurança.^{1,8,9,24,25}

O processo de reparação tecidual é uma organização celular equilibrada em constante mudança, é considerado bastante complexo e depende de vários fatores, como a idade do paciente, condição de saúde, metabolismo, medicamentos utilizados, nutrição, estresse, componentes da saliva, condição pessoal, além da assepsia local, escolha do instrumento cirúrgico, técnica e habilidade do operador e cuidados pós-operatórios, além de que o neonato ou lactente apresenta movimentos mais simples e básicos com a língua quando comparados a um adulto. Os hormônios sexuais influenciam as taxas de cicatrização de feridas, possivelmente por meio de seus efeitos moduladores na inflamação. Os estrogênios geralmente têm efeitos anti-inflamatórios, enquanto a progesterona pode promover inflamação e a testosterona impacta negativamente a cicatrização.^{8,25-28}

Algumas considerações devem ser analisadas quando se trata de infiltrado inflamatório e reparação tecidual, a saber: **Tecido Estromal** constitui o arcabouço de suporte estrutural para as células de um órgão, sendo caracterizado pela presença de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e ductos. No contexto da reparação tecidual, a infiltração de células inflamatórias (macrófagos) no estroma promove o debridamento da lesão e a secreção de fatores que culminam na angiogênese. A reconstrução do tecido é mediada pela ação dos fibroblastos, que são responsáveis pela produção e remodelamento do colágeno e demais proteínas da Matriz Extracelular (MEC), essenciais para a resistência cicatricial. Os miofibroblastos, não apenas sintetizam colágeno, mas também efetuam a contração da ferida.

Finalmente, a maturação do tecido cicatricial é alcançada pela apoptose do excesso celular (incluindo miofibroblastos e elementos inflamatórios), promovendo a transição para um estado de maior estabilidade. **Neutrófilos**, leucócitos (tipo de glóbulo branco) derivados da medula óssea, constituem a resposta imune primária contra infecções bacterianas e fúngicas. Sua função é migrar para o sítio da lesão, onde realizam a fagocitose de microrganismos e partículas, além de liberarem agentes químicos (enzimas e radicais livres) que promovem o desbridamento da ferida e iniciam a reparação. A presença neutrofílica deve ser autolimitada para evitar o comprometimento da cicatrização. Assim, entre 2 e 5 dias, sua população no ferimento é reduzida.

Segue-se a chegada de monócitos, que se convertem em macrófagos para realizar a limpeza remanescente e, iniciando a fase proliferativa mediante a secreção de fatores de crescimento. **Monócitos**, glóbulos brancos de defesa, são células circulantes que se transformam em macrófagos — células que combatem infecções e participam da reparação tecidual. Durante a resposta inflamatória, os macrófagos secretam citocinas e fatores de crescimento que recrutam outras células de defesa e aumentam a permeabilidade vascular, e ativam as fases de reparo tecidual como a angiogênese e a fibroplasia. Em uma etapa posterior, os **macrófagos** suprimem a inflamação, promovendo a apoptose de miofibroblastos (células contráteis da ferida) e restaurando a homeostase tecidual. Por sua função multifacetada, qualquer disfunção macrofágica pode levar a uma cicatrização deficiente. **Linfócitos Pequenos** são essenciais para a defesa imunológica. Morfologicamente, destacam-se pelo seu núcleo grande e denso, envolvido por um citoplasma escasso e azul-pálido. Na cicatrização, estas células (T e B) tem papel na modulação da resposta

inflamatória e no reparo tecidual. Inicialmente, os linfócitos T helper (Th1) desencadeiam a inflamação e a eliminação de patógenos através da produção de citocinas. A presença dessas células de defesa na área lesada é um evento normal que pode culminar na formação de tecido endurecido na cicatriz. **Plasmócitos** são células efectoras do sistema imune adaptativo, derivados de linfócitos B e dedicados à síntese de imunoglobulinas. O dano tecidual induzido pela incisão ativa o sistema imune inato e resulta na produção elevada da **citocina Interleucina-6 (IL-6)**. A IL-6 desempenha uma função crítica de sinalização, pois atua como um mensageiro que promove a diferenciação e proliferação de plasmócitos para o combate a ameaças, regula e ativa os mecanismos moleculares necessários à cicatrização e à reconstrução tecidual.^{18,29,30}

Angiogênese é o processo regenerativo pelo qual novos vasos sanguíneos são formados, sendo indispensável para a reparação de lesões cirúrgicas. O trauma cria um ambiente de hipóxia local, que age como gatilho para a liberação de fatores de crescimento, como o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF). O VEGF estimula a migração e proliferação de células endoteliais dos vasos próximos, que se organizam em brotos para formar uma nova microvasculatura sobre a ferida. A nova rede vascular fornece o aporte necessário de oxigênio e nutrientes para a proliferação celular, o crescimento do tecido de granulação e o sucesso na cicatrização da ferida.⁹

Ectasia Vascular define-se como a dilatação vascular anormal que se desenvolve depois de um procedimento cirúrgico. Embora seja observada em várias condições, sua relevância clínica reside no potencial de causar hemorragia ou coleções líquidas no sítio operatório. **Acantose pós-inflamatória** é uma condição benigna caracterizada por depósitos de glicogênio nas células da mucosa, que aparecem como placas brancas, discretas e levemente elevadas. Este efeito é uma resposta direta à inflamação e ao trauma tecidual inerentes ao processo de cicatrização pós-operatória. **Histiócitos** (macrófagos teciduais) são células indispensáveis no sucesso da cicatrização. Sua presença em um sítio cirúrgico reflete uma resposta inflamatória/reparadora normal, sendo responsáveis pela defesa imunológica e pela remoção de detritos celulares. Os histiócitos regulam a inflamação e estimulam o reparo ao secretarem fatores de crescimento que induzem a formação de colágeno e a angiogênese, componentes essenciais para a restauração tecidual. **Mastócitos**, células residentes do sistema imune, estão concentradas em tecidos conjuntivos e mucosas adjacentes a vasos e nervos e contém grânulos ricos em

mediadores como a histamina, sua ativação e degranulação desencadeiam respostas inflamatórias e reações de hipersensibilidade. No processo de reparo, exercem uma influência decisiva em todas as fases da cicatrização. Sua secreção de fatores facilita o recrutamento imune, estimula a angiogênese e a síntese de matriz extracelular pelos fibroblastos, contribuindo para o crescimento do tecido conjuntivo e o fechamento da ferida. A liberação de mediadores como a triptase e a histamina é, portanto, um fator que modula diretamente a contração tecidual e a maturação da cicatriz.

A reparação tecidual passa por processos complexos e deve se manter no máximo do equilíbrio celular por todo o período. A falta de oxigenação ou irrigação tecidual pode comprometer este processo. O excesso de aquecimento tecidual ou incisões grosseiras podem provocar um reparo tecidual comprometido e levar à recidiva e à necessidade de reabordagem cirúrgica. O profissional que realizará a cirurgia deve se preocupar com a reparação tecidual ao escolher o instrumento e técnica cirúrgica e portanto, se o profissional for utilizar o laser de alta potência, deve estar capacitado e escolher um instrumento conhecido, dominar a técnica cirúrgica e com instrumentos térmicos escolher os melhores parâmetros que poderão gerar o mínimo de dano térmico, isto é, promover o efeito fototérmico de incisão, coagulação, hemostasia, vaporização, de forma segura e efetiva para o tecido alvo e os tecidos adjacentes, buscando minimizar as condições desfavoráveis a fim de conquistar o melhor processo cicatricial possível para cada paciente.^{8,11,25,28,31-33}

O objetivo deste estudo foi de avaliar os efeitos fototérmicos do laser de diodo de alta potência com diferentes comprimentos de onda por meio de análise térmica do aquecimento e resfriamento, através de uma câmera termográfica, e a avaliação da reparação tecidual, através da análise histológica do tecido local.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a relação entre o aquecimento produzido durante a incisão cirúrgica por diferentes instrumentos (tesoura cirúrgica, laser de diodo 980 nm e o de diodo 450 nm) e os desfechos de reparo tecidual no freio lingual, por meio de termografia padronizada e análise histológica em tempos definidos.

2.2 Objetivos Específicos

- Etapa ex vivo: quantificar o aquecimento tecidual durante a incisão em línguas suínas com múltiplos instrumentos, e selecionar dois instrumentos térmicos e controle de lâmina fria para a fase in vivo;
- Etapa in vivo: comparar o perfil térmico (mesmas variáveis) entre tesoura × laser diodo 450 nm × laser diodo 980 nm (ambos no modo pulsado) no freio lingual de ratos Wistar pré-púberes;
- Correlacionar as variáveis térmicas com os desfechos histológicos (necrose/coagulação térmica, edema, infiltrado, organização de colágeno);
- Identificar parâmetros operatórios mais seguros, minimizando dano térmico sem perda de eficácia de corte/hemostasia.

2.3 Hipótese Central

A geração de aquecimento tecidual causada por instrumentos cirúrgicos térmicos, em especial pelo laser de diodo de alta potência, pode modificar o processo de reparação do freio lingual, refletindo-se em alterações nas características celulares da cicatrização, quando comparada à incisão realizada por instrumentos de lâmina fria, como a tesoura cirúrgica (controle).

2.4 Hipótese Secundária

A magnitude do dano térmico e a resposta tecidual variam de acordo com o comprimento de onda do laser de diodo utilizado. O laser de 450 nm (espectro azul),

por ser altamente absorvido pela hemoglobina e melanina e pouco absorvido pela água, tende a concentrar a energia em componentes sanguíneos, permitindo cortes precisos e com menor dano térmico aos tecidos adjacentes ricos em água. Já o laser de 980 nm (espectro infravermelho), mais absorvido pela água e com maior penetração tecidual, apresenta maior risco de aquecimento dos tecidos circundantes, podendo resultar em cicatrização mais lenta e aumento da dor pós-operatória. Ambos os instrumentos foram comparados à tesoura cirúrgica (lâmina fria) como grupo controle.

2.5 Justificativa

A absorção do calor pelo aquecimento do tecido, gerado durante procedimento cirúrgico, varia conforme a composição e vascularização do tecido, sendo maior em estruturas com elevado teor proteico. Temperaturas acima de 40 a 45 °C por períodos prolongados sobre o tecido, podem alterar o processo cicatricial, provocando enrijecimento tecidual, redução da oxigenação e irrigação local e desorganização da matriz extracelular, aumentando o risco de formação do tecido cicatricial fibrosado, espesso e/ou enrijecido, recidiva ou necessidade de reoperação.¹² O modo de emissão do laser (contínuo, pulsado ou super pulsado) impacta diretamente o depósito de energia e o efeito térmico nos tecidos, podendo modificar a resposta inflamatória e reparadora. Os resultados deste estudo poderão auxiliar na escolha de alguns parâmetros para a realização desta cirurgia em recém-nascidos e lactentes.

2.6 Desfecho primário

Medir a temperatura do aquecimento gerado pelo instrumento térmico inicial e de resfriamento durante a incisão sobre o tecido do freio da língua dos filhotes de ratos da linhagem Wistar, e avaliar a condição histológica do processo de cicatrização e possível inflamação imediatamente após a realização da incisão cirúrgica com laser de diodo de alta potência no dia 0 e do processo de reparação no 7º dia após a incisão.

2.7 Desfecho secundário

Na análise da medição de temperatura, os autores perceberam que a variação entre o momento inicial e o final não foi tão significativa na comparação entre os

instrumentos térmicos, entretanto a avaliação histológica apresentou diferenças celulares na utilização dos instrumentos e este fator pode impactar no reparo tecidual pós-operatório, além da avaliação clínica ter apresentado características significativas.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho Do Estudo

Este estudo experimental foi conduzido em duas etapas complementares: a primeira ex vivo, com a finalidade de analisar o comportamento térmico de diferentes instrumentos cirúrgicos, e a segunda in vivo, destinada a avaliar os efeitos térmicos e histológicos no tecido do freio lingual em modelo animal. As duas fases foram previamente aprovadas por Comitês de Ética no Uso de Animais (CEUA) e seguiram as diretrizes do checklist ARRIVE.

3.1.1. Etapa 1 – Estudo ex vivo (línguas suínas)

Aprovação ética: CEUA/UNINOVE nº 5822290523

Checklist ARRIVE: Apresentado no Anexo 1

Objetivo da etapa

Avaliar, em modelo ex vivo, o aquecimento tecidual promovido por diferentes instrumentos cirúrgicos térmicos e selecionar os mais apropriados para posterior aplicação em modelo animal in vivo.

Procedimento experimental

Foram utilizadas 60 línguas suínas obtidas de frigorífico certificado (“Entrepasto da Carne Rei do Boi LTDA”, Itapequerica da Serra, SP). As peças foram descongeladas, mantidas à temperatura ambiente (20 °C a 23,5 °C) e distribuídas aleatoriamente em 12 grupos (n = 5 por grupo), conforme o instrumento utilizado (vide figura 1).

A incisão foi realizada na região do freio lingual com angulação padronizada de 45° entre o instrumento e a superfície tecidual, utilizando movimentos de varredura. Os instrumentos testados incluíram:

Tesoura cirúrgica Íris (grupo controle – lâmina fria)

Eletrocautério com ponta de níquel-cromo (Cautermax – 1200 °C)

Bisturi eletrônico (Be 3000 – 6W)

Laser de érbio (LiteTouch, com e sem irrigação)

Lasers de diodo de alta potência (DMC – 450 nm e 980 nm, contínuo e pulsado)

Laser de diodo de alta potência D-Storm (modos contínuo, pulsado e super pulsado)

Os parâmetros de uso de cada instrumento foram escolhidos de acordo com a

recomendação do fabricante na maioria dos instrumentos e estão descritos na Tabela 1.

Registro termográfico

O aquecimento tecidual foi monitorado por meio de câmera termográfica infravermelha FLIR C5 (Teledyne FLIR Systems), operando na tecnologia MSX®, com resolução de 160×120 pixels, e a câmera ficou estática com o medidor principal sobre o local da incisão. As medições foram realizadas em três momentos:

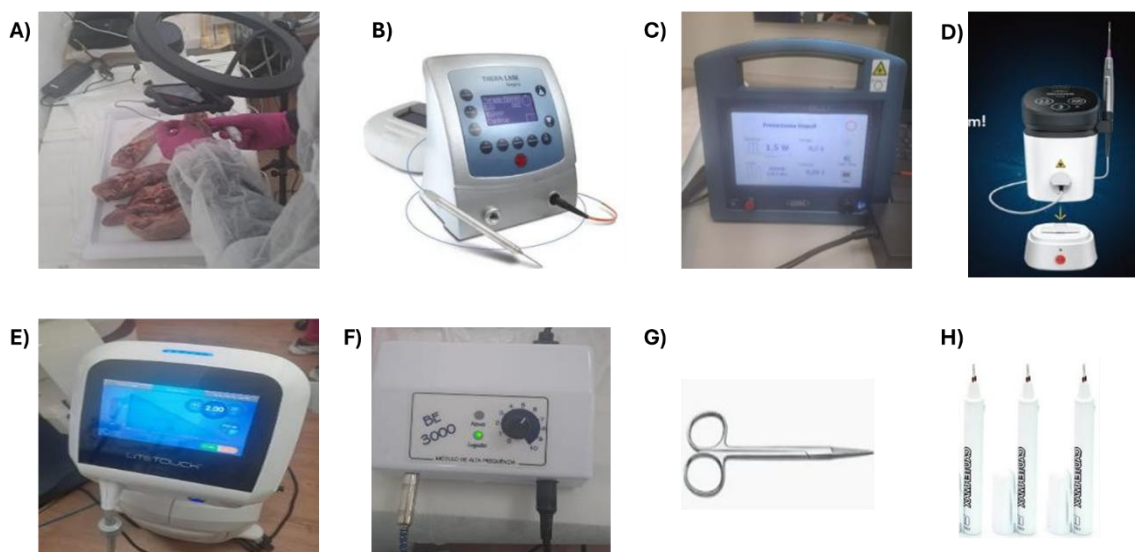
Durante a incisão

Imediatamente após o término

Um minuto após o término

As imagens foram registradas com câmera digital e armazenadas para análise comparativa.

Figura 1 - Procedimento experimental da etapa 1 e instrumentos utilizados



A) A incisão na língua de porco; **B)** Laser Diodo de alta potência 980 nm DMC; **C)** Laser Diodo de alta potência 450 nm DMC; **D)** Laser D Storm; **E)** Litetouch; **F)** Bisturi elétrico alta frequência Be 3000; **G)** Tesoura cirúrgica íris; **H)** Eletrocautério.

Fonte: Acervo Pessoal (2025).

No momento da incisão, as peças não foram manipuladas com a mão do operador, a fim de evitar transmitir calor para a peça, foi realizada com pinça. Os pesquisadores utilizaram todas as EPIs (equipamentos de proteção individual) e biossegurança, necessários para não interferir nos resultados. Ao manusear as peças, o cirurgião (que foi sempre o mesmo) não tocou nas peças sem pinça. A mucosa foi elevada com pinça clínica Dietrich Golgran (Figura 2) para a realização da incisão.

Figura 2 - Pinça clínica Dietrich Golgran



Fonte: Dental Speed

A incisão foi realizada com vários instrumentos conforme a tabela 1 abaixo. Os momentos de medição e registro de temperatura local foram padronizados com a medição realizada durante a incisão, ao final e um minuto após o término da incisão. A sala encontrava-se com a temperatura em torno de 20°C a 23,5°C. O aquecimento das peças incisionadas foi medido por uma câmera termográfica descrita abaixo e as

Duração do pulso [s]			90-95s		90-95s			25 microseg – 10 ms		
Intervalo do pulso [s]					5,0 ms					
Comprimento de pulso					10 – 100ms		50 Hz- 8 Hz	50 Hz- 8 Hz		
Período [s]										
Frequência de repetição do pulso (para fontes pulsadas)	10-50 Hz									60Hz Radiofrequencia
Frequência	20Hz		10 Hz,		10 Hz		8Hz	8Hz		-/~ 7 MHz
Exposição radiante [J/cm ²]										
Densidade de energia na abertura [J/cm ²]										
Energia radiante [J]										
Modo de irradiação		modo contato	modo contato	modo contato	modo contato	modo contato	modo contato	modo contato	modo contato	modo contato

Critérios para seleção dos instrumentos da Etapa 2

Com base nos dados térmicos obtidos na Etapa 1, foram selecionados dois lasers de diodo de alta potência com características idênticas de ponta (600 µm), modo pulsado, porém com diferentes comprimentos de onda:

450 nm (espectro azul): menor temperatura final e resfriamento mais rápido.

980 nm (espectro infravermelho): maior temperatura final.

Ambos foram comparados ao grupo controle (tesoura cirúrgica) na etapa in vivo.

Os instrumentos térmicos que foram utilizados na etapa 2 da pesquisa, foram selecionados por apresentarem a mesma ponta de emissão do laser, com diâmetro de 600 micrometros e mesma flexibilidade durante o uso, ambos de diodo, no modo pulsado, mas com comprimentos de onda diferentes. A comparação na utilização destes instrumentos térmicos, auxiliou na avaliação da ação dos diferentes comprimentos de onda no uso cirúrgico.

3.1.2. 2º Etapa do Estudo

Etapa 2 – Estudo in vivo (ratos Wistar)

Aprovação ética: CEUA/UNINOVE nº 2578060825

Checklist ARRIVE (2ª etapa): Apresentado no Anexo 2

Objetivo da etapa

Avaliar em modelo animal, os efeitos clínicos, térmicos e histológicos da incisão cirúrgica realizada com tesoura cirúrgica (controle), laser de diodo 450 nm e laser de diodo 980 nm, avaliando os efeitos do aquecimento tecidual e o reparo cicatricial em curto prazo (dias 0 e 7).

Modelo animal

Foram utilizados 30 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), de ambos os sexos, com idade entre 22 e 30 dias (fase pré-puberal). Os animais foram alojados em biotério certificado da UNINOVE, sob condições padrão de temperatura, luminosidade e alimentação ad libitum.

Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos (n = 10 por grupo):

Grupo 1: Tesoura cirúrgica Íris (controle – lâmina fria)

Grupo 2: Laser diodo 450 nm – 1,5 W, 20 Hz, modo pulsado

Grupo 3: Laser diodo 980 nm – 1,3 W, 20 Hz, modo pulsado

Anestesia e preparo cirúrgico

A anestesia geral/sedação foi realizada por via intraperitoneal com a associação de cloridrato de cetamina (100 mg/kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg) ajustados ao peso de cada animal. A anestesia local foi complementada com lidocaína 2% infiltrativa, por este ser o anestésico utilizado em pacientes da primeiríssima infância e para que o animal não sentisse dor ou qualquer sofrimento, sob o risco de produzir cortisol que pode impactar negativamente no processo de reparação tecidual. Os animais foram pesados previamente e manuseados com o uso completo de EPIs e cuidados de biossegurança (vide figura 3).

Procedimento cirúrgico

As incisões foram padronizadas com dimensão aproximada de 1 mm de diâmetro × 1 mm de profundidade, na região do freio lingual. A língua foi elevada com pinça clínica e a incisão realizada com angulação de 45° sobre o tecido estirado com movimentos de varredura para os instrumentos térmicos, aplicando o laser ou a tesoura conforme o grupo. Os procedimentos foram registrados por câmera termográfica FLIR C5, posicionada em pedestal fixo, com o localizador sobre o local da incisão.

Eutanásia e coleta de amostras

Dia 0: Cinco animais por grupo foram eutanasiados logo após o procedimento, com dose tripla do anestésico utilizado de acordo com o peso do animal, conforme o Guia

Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia (2020)⁴⁵. Foi retirada a amostra que contemplou toda a lesão, com a quantidade em torno de 1mm de diâmetro.

Dia 7: Os demais animais foram submetidos a nova eutanásia e coleta de tecido na região do reparo. A coleta foi retirada de toda a região da reparação tecidual, com a quantidade de 1 mm de diâmetro aproximadamente.

As amostras foram fixadas em formol 10% e encaminhadas ao laboratório Histocell para análise histológica.

Análise histológica

Foram realizados dois tipos de coloração:

Hematoxilina-eosina (HE): avaliação do infiltrado inflamatório.

Tricrômico de Masson (TM): avaliação da desorganização e aglomeração dos feixes colágenos.

As lâminas foram analisadas em microscópio Opticam 0300S com objetivas de 4×, 10× e 40× (aumentos totais de 40×, 100× e 400×, respectivamente).

Cuidados pós-operatórios

Foi administrado paracetamol diluído na água das gaiolas para analgesia, conforme orientação da veterinária responsável.

Um dos ratos do grupo tesoura que apresentou sangramento excessivo, ficou em gaiola separada por um tempo, pois mesmo depois de acordado após o efeito da sedação, não se encontrava em condições de normalidade de comportamento, e foi colocado junto aos outros animais somente depois de apresentar um comportamento esperado.

Este estudo foi submetido à publicação na revista “Photodiagnosis and Photodynamic Therapy”.

Os autores se basearam na pesquisa de Faria *et al.*⁴¹, no estudo de Nitz *et al.*³⁷, Masi *et al.*³⁹ e de Azevedo⁴⁶ para definição do sexo, número de animais por grupo e tempo de avaliação.

Os ratos eram pesados na balança do biotério antes da anestesia. Após a anestesia, foi realizada assepsia com soro fisiológico na região do freio lingual e aplicada anestesia infiltrativa local (Figura 3) com lidocaína a 2% de acordo com o peso de cada animal, no local da cirurgia. A anestesia infiltrativa tinha como objetivo evitar qualquer sofrimento animal ou estresse, para evitar sofrimento animal e liberação de cortisol que poderia impactar negativamente no processo de reparação tecidual. Os pesquisadores cumpriram todas as etapas de biossegurança.

Figura 3 - Anestesia infiltrativa



Fonte: Amanda Vieira

A dimensão da incisão, para cada grupo experimental foi padronizada em aproximadamente 1 mm de diâmetro por 1 mm de profundidade, na região do freio lingual, e foram realizadas com os instrumentos cirúrgicos de cada grupo: O grupo tesoura, foi o controle e utilizou a tesoura cirúrgica de lâmina fria Íris; grupo laser 980, utilizou o laser de diodo de alta potência com comprimento de onda de 980 nm, infravermelho, e o grupo laser 450, utilizou o com o laser de diodo de alta potência com comprimento de onda de 450 nm, azul. Em cada experimento, a língua foi elevada com uma pinça clínica, evitando que o calor da mão do operador fosse transmitido ao tecido (Figura 4).



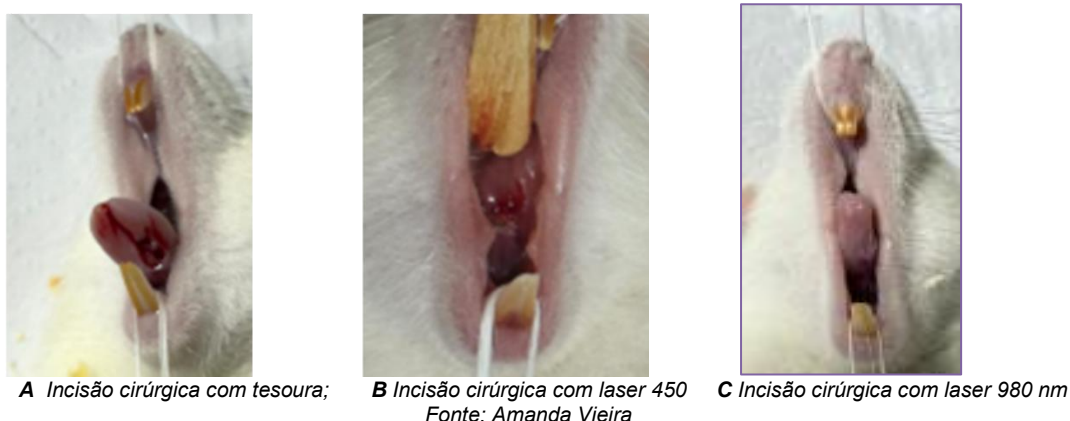
Figura 4 - Língua sendo elevada com a pinça

Fonte: Amanda Vieira

Durante o experimento, o operador contou com o auxílio de outro cirurgião-dentista calibrado, que o ajudou a segurar o espécime. A boca foi aberta com fio dental apoiado sobre os dentes do animal. Cada espécime foi colocado sobre uma bandeja para a realização do procedimento e foi padronizado um local na bandeja onde todos ficaram durante cada procedimento cirúrgico. A temperatura da sala ficou entre 20°C e 23,5°C. A língua foi elevada com uma pinça e depois era feita a incisão. A incisão cirúrgica no local do freio lingual foi realizada com o instrumento de cada grupo nos 30 animais no primeiro dia de intervenção (Figura 5). A ponta do instrumento era aplicada

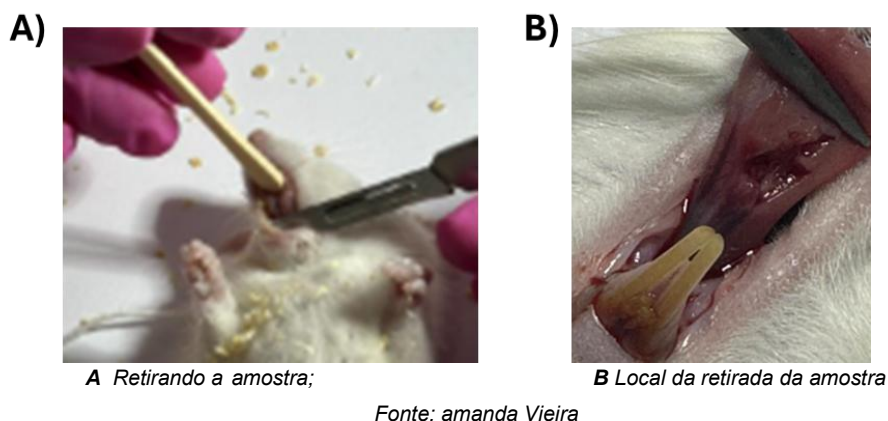
sobre o tecido esticado a aproximadamente 45° , e o corte era feito igualmente pelos lasers através de movimentos de varredura sobre o tecido.

Figura 5 – Incisão cirúrgica



Após a incisão, foi coletada a amostra de tecido retirada do local da cirurgia no freio lingual, em 5 animais de cada grupo, com a quantidade padronizada de aproximadamente 1 mm de diâmetro para estudo histológico (Figura 6), e em seguida estes animais foram eutanasiados, sobrando 15 animais restantes (5 de cada grupo) para a análise após sete dias do procedimento cirúrgico.

Figura 6 – Retirada da amostra



Durante o procedimento cirúrgico, a câmera termográfica ficou em uma posição estratégica e estática para marcar a temperatura do tecido que sofreu a incisão e um aparelho de celular da marca Apple, 14 pro-max, ficou em outra unidade estática filmando e fotografando todo o procedimento. No dia 7, após a incisão no local do freio lingual, os 5 ratos restantes de cada grupo, foram eutanasiados e então foi coletado mais um material no local da cicatrização com diâmetro de aproximadamente 1 mm para nova avaliação histológica. Após a eutanásia, os animais foram devolvidos ao biotério da UNINOVE (as carcaças foram acondicionadas

em sacos específicos para descarte de resíduo biológico e ficaram armazenadas em freezer no biotério, onde a coleta das carcaças foi realizada por empresa terceirizada (Loga), e o destino foi a incineração). O material foi retirado e coletado da região lesionada do freio lingual, com o auxílio do bisturi de lâmina fria com o cabo nº 3 e lâmina nº 11, foi enviado para o laboratório Histocell. As datas de retirada do material para análise histológica e verificação da cicatrização foram baseadas nos estudos de Azevedo,³⁴ que avaliou as amostras de tecidos retirados do dorso da língua de ratos nos dias zero, 3, 7 e 14 dias após as intervenções, do estudo de Masi *et al.*, que avaliaram a cicatrização em ratas no 3º, 7º e 10º dias após a incisão³⁵, e do estudo de Oliveira *et al.*, que avaliou o processo cicatricial clínico e histológico no dia da incisão e após 7 dias.^{34,36} No estudo presente, a avaliação clínica e histológica foi realizada nos dias 0 e 7 após a incisão, para verificar o impacto do aquecimento tecidual logo após a incisão e o efeito no reparo tecidual em sete dias.

Na avaliação clínica, no dia da incisão cirúrgica do freio lingual, foi observado clinicamente se houve ou não sangramento, e no 7º dia após a incisão, avaliado a condição clínica da reparação tecidual.

A medição e registro de aquecimento local no tecido, gerada pelo instrumento, foi realizada no momento da incisão, com uma câmera termográfica, modelo FLIR C5, tecnologia MSX® (Multi-Spectral Dynamic Imaging, fabricada pela Teledyne Flir), (Figura 1).¹²

Os riscos, durante os procedimentos cirúrgicos, foram controlados através dos cuidados necessários na utilização do laser. Foi colocada uma venda preta com lente apropriada sobre os olhos do rato que estava sob efeito de anestesia. A anestesia do rato foi realizada com auxílio da veterinária do Biotério, e a anestesia local foi realizada pelo cirurgião operador, com lidocaína 2% na quantidade adequada de acordo com o peso e orientação da veterinária para evitar o sofrimento do animal. O benefício deste estudo, é a verificação do aquecimento gerado sobre o tecido lesionado na região do freio lingual pelo uso do laser diodo de alta potência e a avaliação histológica tecidual no processo de reparação tecidual para auxiliar na escolha do instrumento mais apropriado em cada procedimento.

3.2 Câmera

A câmera termográfica utilizada nas duas etapas da pesquisa para o registro térmico apresentava as seguintes características:

Câmera termográfica: FLIR C5sc

- Precisão: 0 °C a 100°C: $\pm 3^{\circ}\text{C}$ / 100°C a 400°C: $\pm 3\%$
- Faixa de temperatura de objetos: - 20 °C a 400°C
- Resolução térmica: 160 x 120 (19.200 pixels)
- Tamanho da tela: 3,5"
- Dimensões da câmera (C x L x A): 138 x 84 x 24 mm
- Faixa de temperatura operacional: -10°C a 50°C
- Faixa de temperatura de armazenamento: -40°C a 70°C
- Paletas de cores: Iron, Gray, Rainbow, Arctic, Lava, Rainbow HC
- Câmera digital: 5 MP
- Foco da câmera digital: Fixo
- Ajuste da Imagem: Level/Span automático, Level/Span manual, 1-Touch Level/Span
- Frequência da imagem: 8,7 Hz.
- Modos de imagem: Imagem de infravermelho, Imagem visual, MSX (detalhes visuais realçados na imagem térmica), Picture-in-picture (área de infravermelho na imagem visual).
- Distância focal mínima: Térmico: 0,1 m, MSX: 0,3 m.
- Correção de medições: Emissividade;
fosco/semifosco/semibrilhante + valor personalizado,
Temperatura aparente refletida, Compensação atmosférica

4. RESULTADOS

Na primeira etapa do estudo, as peças anatômicas (língua de porco *ex vivo*) no grupo de 60 línguas, foram distribuídas em 12 grupos de 5 peças cada, sendo que um dos grupos utilizou a tesoura cirúrgica Íris como controle, por ser de lâmina fria e não apresentar aquecimento significativo sobre o tecido (Tabela 2). Os outros 11 grupos utilizaram instrumento cirúrgico térmico com os parâmetros escolhidos de acordo com a recomendação do fabricante para a realização desta cirurgia (Tabela 1). A incisão cirúrgica foi a mesma para todos os grupos e com a mesma angulação (45°) sobre o tecido local esticado, feita com todos os instrumentos térmicos, com movimentos de varredura, e na região do freio lingual do porco *ex vivo*, em todas as peças.

A temperatura do tecido foi medida por uma câmera termográfica FLIRC5, antes da incisão, no término e um minuto depois. Nos resultados desta etapa, os instrumentos cirúrgicos apresentaram variação de temperatura entre eles (vide tabela 3). Notou-se que com o uso da tesoura não houve diferença significativa entre as temperaturas pré, trans e pós-incisão. Os aparelhos que apresentaram maior aquecimento no tecido foram eletrocautério, bisturi elétrico, laser diodo D-Storm contínuo e long pulse e Thera Lase contínuo, enquanto os outros instrumentos laser diodo D-Storm super pulse, de érbio Lite Touch e laser diodo infra vermelho Thera Lase pulsado e laser de diodo azul Thera Blu apresentaram temperaturas semelhantes (Figura 10). No entanto, todos tiveram um resfriamento aceitável, chegando quase a estar próximos da temperatura inicial no minuto medido após a incisão. Na percepção clínica, notou-se que com o uso do equipamento laser de diodo azul Thera Blu, a área de aquecimento sobre o tecido apresentava um resfriamento tecidual da temperatura local mais rápido, apesar de no momento do procedimento parecer ter aquecido mais a região superficial.

Através destes resultados, o instrumento poderá ser utilizado em seres vivos, com maior conhecimento a respeito do aquecimento gerado sobre o tecido, e utilizado de acordo com as necessidades de cada caso.

Figura 6 – Gráficos de variação de temperatura durante os tempos (C°)

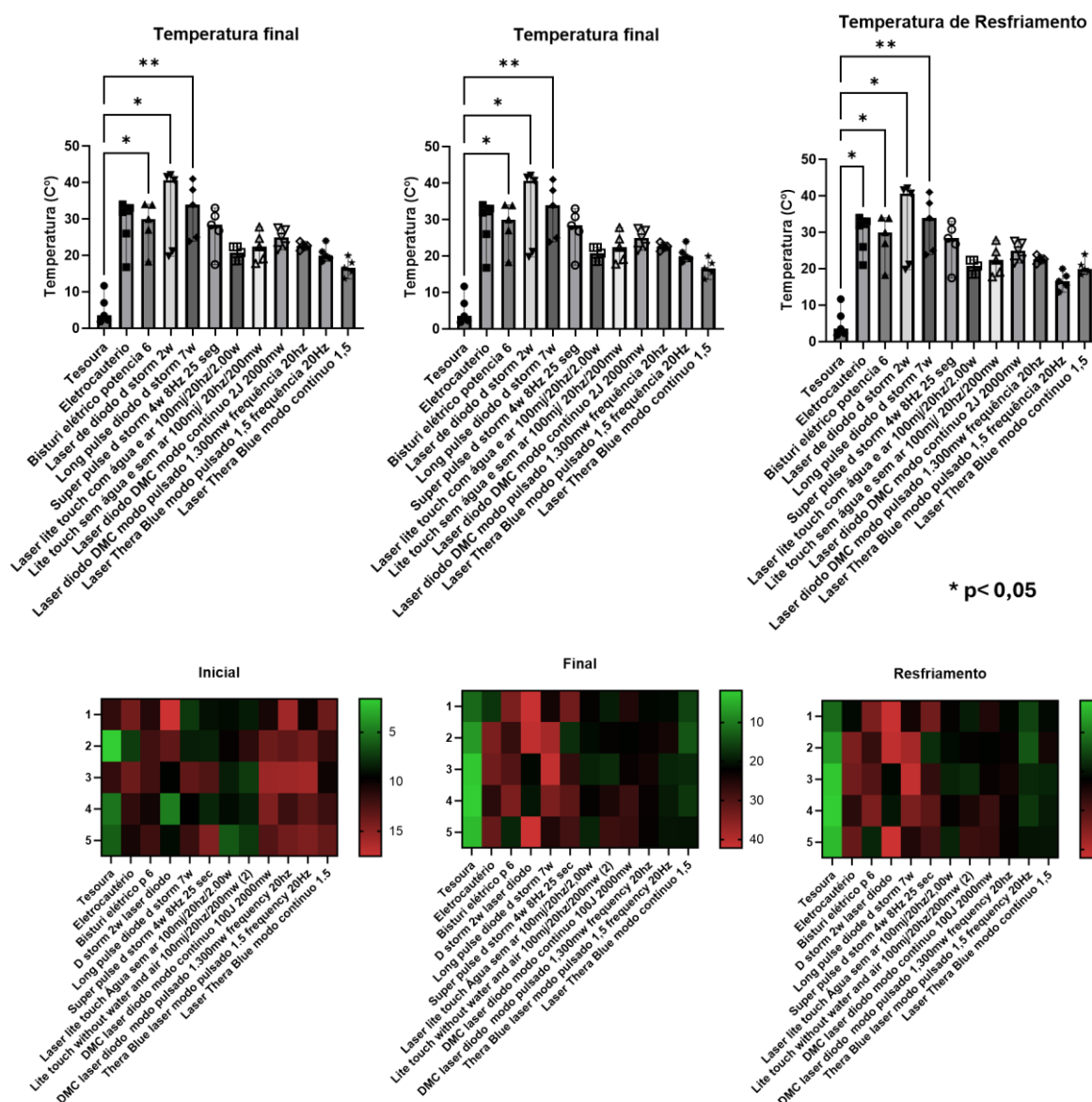


Fig 7. Gráfico de variação de temperatura durante os tempos

Na segunda etapa, os resultados foram avaliados quanto a variação de temperatura durante os procedimentos cirúrgicos com lasers de diodo de alta potência, realizando a mensuração da temperatura com a câmera termográfica FLIRC5 durante a incisão e 1 min depois; e avaliação histológica através da análise histológica após a realização da incisão com os instrumentos cirúrgicos escolhidos, em ratos Wistar, na região de freio lingual, com os espécimes na faixa etária entre 22 e 30 dias, antes da puberdade, no dia 0 e avaliação do processo de reparação tecidual em 7 dias após a incisão.

Na avaliação térmica, os pesquisadores observaram que não houve diferença

significativa de temperatura entre os instrumentos (Tabelas 2,3 e 4),e que mesmo com o uso da tesoura que é considerada um instrumento de lâmina fria, teve um pequeno aquecimento no início do procedimento cirúrgico. Os autores observaram que nenhum instrumento, conforme a utilização, gerou aquecimento acima de 40°C-42°C (que seria uma temperatura que poderia causar dano térmico ao tecido através da desnaturação e coagulação irreversível de proteínas citoplasmáticas).

Tabela 2 - Grupo da tesoura- medição de temperatura em °C durante o início da incisão (temp inicial) e um minuto após (temp final).

Animal	Peso	Temperatura inicial	Temperatura Final
Macho	90g	35.5	36.4
Macho	80g	34.7	34.1
Fêmea	75g	36	36.8
Macho	150g	36.7	37,2
Fêmea	80g	34.2	37
Fêmea	85g	35	35.9
Macho	95g	37	38.1
Fêmea	75g	36.8	39
Macho	90g	36.9	38.2
Fêmea	75g	37	37.6

Tabela 3 - Grupo do Laser diodo de alta potência 980 nm- medição de temperatura em °C durante o início da incisão(temp inicial) e um minuto após (temp final).

Animal	Peso	Temperatura inicial	Temperatura Final
Macho	80g	34.6	35.3
Fêmea	65g	25v	29
Macho	75g	27.7	29.1
Macho	70g	34.2	35
Fêmea	65g	27.2	27.5
Macho	85g	28	29
Macho	75g	35	37.6
Macho	70g	33.3	35.5
Fêmea	60	33	36.8

Tabela 4 - Grupo do Laser diodo de alta potência 450 nm- medição de temperatura em °C durante o início da incisão(temp inicial) e um minuto após (temp final).

Animal	Peso	Temperatura inicial	Temperatura Final
Fêmea	60g	34.4	35.1
Macho	70g	34.7	35.6
Macho	80g	34.9	35.7
Fêmea	75g	35	36.1
Fêmea	80g	34.1	35
Macho	60g	34.1	36
Macho	70g	34.1	35.9
Macho	60g	35.4	36
Fêmea	60g	34	35.7
Macho	50g	34.3	35.5

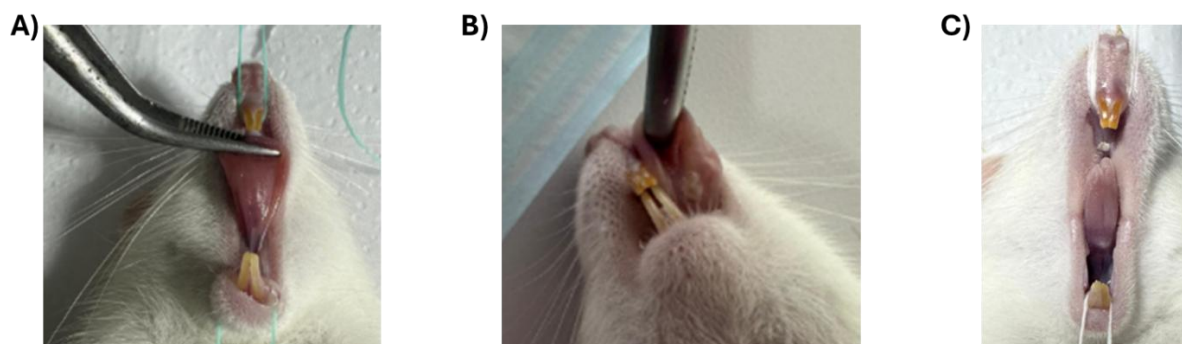
É importante ressaltar que todos os animais apresentaram comportamento dentro do esperado em normalidade nos dias seguintes à cirurgia. Em relação ao peso, todos apresentaram ganho de peso depois do procedimento, em torno de 20 a 30 g. Na avaliação clínica, os pesquisadores notaram que no grupo que utilizou a tesoura Íris como instrumento cirúrgico, houve três casos de sangramento excessivo (vide figura 8) e não controlado durante o procedimento, mas o reparo tecidual após sete dias encontrava-se dentro do padrão de normalidade tecidual em todos os casos, percebendo-se o local da incisão com pouca ou nenhuma alteração tecidual clínica. No grupo que utilizou o laser de diodo de alta potência de 980 nm, os pesquisadores perceberam que houve sangramento controlado em somente um dos casos durante o procedimento cirúrgico, e a cirurgia foi realizada em somente 9 animais, pois um dos animais não conseguiu ser sedado. No grupo laser diodo 980, na avaliação clínica da reparação tecidual, após sete dias do procedimento cirúrgico, 3 casos apresentaram reparo tecidual com aspecto fibrótico. No grupo que utilizou o laser diodo de alta potência 450 nm, não houve nenhum tipo de sangramento durante o procedimento cirúrgico, porém, na percepção clínica, durante o procedimento notou-se que este laser corta mais rápido, e com a sensação de maior destruição tecidual superficial; e após sete dias, entretanto, a reparação tecidual observada clinicamente, foi de 3 casos que apresentaram cicatrização alterada com aspecto fibrótico, muito semelhante ao grupo diodo 980(Figura 9).

Figura 8 - Casos de sangramento excessivo



Fonte: Adriana Mazzoni

Figura 9 - 7 dias após cirurgia



A) Cirurgia realizada com tesoura; B) Cirurgia realizada com laser 450; C) Cirurgia realizada com laser 980

Fonte: Adriana Mazzoni

As amostras foram retiradas do local na região do freio lingual que sofreu a incisão e foram colocadas na lâmina na sua totalidade, sem retirar nenhuma parte, conforme a figura 10, e o corte do bloco onde a peça foi incluída foi realizado de forma horizontal.

Em relação aos cortes histológicos, as amostras foram coradas com HE (hematoxilina-eosina) e analisadas em microscópio Opticam 0300S, objetivas 4x, 10x e 40x, aumentos totais de 40x, 100x e 400x para avaliação do infiltrado inflamatório (vide anexo 5).

Figura 10- Peças incluídas no bloco



Fonte: Histocell

Os pesquisadores notaram que no grupo da tesoura, no dia zero, as amostras

apresentavam presença de discreto e difuso edema extracelular, presença de preservação/integridade de epitélio superficial, presença discreta de angiogênese, com ectasia vascular, presença de raros monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos. Um caso apresentou pequenos linfócitos - infartando de maneira discreta a camada muscular. Dois casos apresentaram pequeno foco hemorrágico, e um caso apresentou ectasia vascular leve e tecido reacional, corroborando com a observação clínica de sangramento excessivo. Após sete dias, no reparo tecidual notou-se que quase todas as amostras apresentaram discreta angiogênese, poucos plasmócitos, monócitos e pequenos linfócitos, e duas amostras apresentaram a presença de angiogênese e ectasia vascular, além de poucos plasmócitos e discretos monócitos/histiócitos e pequenos linfócitos - raros mastócitos e infiltrado leve e difuso em camada muscular, e uma destas amostras apresentou presença de focos com perda parcial da integridade de epitélio superficial, com acantose corroborando com os casos percebidos clinicamente de sangramento durante o procedimento cirúrgico (vide anexo 5).

Com o uso do laser diodo de 980 nm percebeu-se que as amostras no dia zero, continham presença de tecido estromal com discreto edema extracelular, presença moderada de preservação de epitélio superficial, presença de discreta quantidade de neutrófilos, presença discreta de monócitos e pequenos linfócitos. Um caso apresentou presença de discreta hemorragia superficial, condizente com a observação clínica de um caso de sangramento controlado durante a incisão e após sete dias, no reparo tecidual, os pesquisadores observaram a presença de tecido estromal com moderado e difuso edema extracelular, presença de preservação de epitélio superficial, com ligeira acantose, presença discreta de angiogênese, presença de raros monócitos e pequenos linfócitos, e em três casos notaram a presença discreta de angiogênese e tecido reacional, focos superficiais de degeneração, que podem explicar os casos em que o reparo tecidual se apresentou clinicamente com aspecto fibroso.

Nas amostras do dia zero dos casos que utilizaram o laser diodo de alta potência 450 nm, observou-se que houve presença discreta de angiogênese, de poucos monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos, raros mastócitos em todos os casos, e em dois casos, além destas células, também notou-se que um caso houve e ectasia/ dilatação vascular e outro apresentou alguns vasos dilatados/ ectasiados e reatividade em estroma, e um terceiro mostrou congestão vascular (vide anexo 5).

Nas amostras do grupo laser 450 do sétimo dia, depois da cirurgia, os pesquisadores perceberam a presença discreta de angiogênese e dilatação vascular, presença de poucos monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos, com raros neutrófilos em todas as amostras, porém três amostras apresentaram a presença de degeneração celular, macrófagos e leve reatividade em estroma que atestava os casos de reparação tecidual com aspecto fibrosado (vide anexo 5).

Na avaliação clínica do sítio cirúrgico, os pesquisadores notaram que no grupo que utilizou a tesoura íris como instrumento cirúrgico, houve dois casos de sangramento excessivo e um caso de sangramento abundante controlado após o procedimento, mas o reparo tecidual após sete dias ficou próximo do padrão de normalidade tecidual em todos os casos. No grupo que utilizou o laser de diodo de alta potência de 980 nm, os pesquisadores perceberam que não houve sangramento excessivo em nenhum dos casos durante o procedimento cirúrgico e que somente um caso apresentou sangramento controlado durante a incisão. Entretanto, na reparação tecidual após sete dias, houve 3 casos que apresentaram reparo tecidual com aspecto fibrótico. No grupo que utilizou o laser diodo de alta potência 450 nm, não houve nenhum tipo de sangramento em todos os casos durante o procedimento cirúrgico. Após sete dias, a reparação tecidual observada clinicamente foi semelhante ao grupo laser 980, apresentando tecido com aspecto fibrótico em três casos.

Algumas intercorrências durante o experimento como, sangramento excessivo em três casos do grupo tesoura, e no grupo laser 980 nm sangramento controlado e um dos espécimes não conseguiu ser sedado e foi descartado.

Os autores perceberam que houve aparecimento de macrófagos somente em algumas lâminas do grupo laser 450 nm, diferente do observado em outros estudos, provavelmente porque este experimento foi realizado na mucosa do ventre lingual que se apresenta com epitélio pavimentoso não queratinizado, diferente do dorso da língua apresentado na maioria dos estudos que trata-se de um epitélio estratificado queratinizado.

Além da análise feita com HE (hematoxilina-eosina), os autores resolveram avaliar as amostras coradas com TM (Tricrômico de Masson) para a verificação do aparecimento de feixes de fibras colágenas desorganizados e com aspecto fibrótico que igualmente foram analisados em microscópio Opticam 0300S (objetivas 4x, 10x e 40x; aumentos totais de 40x, 100x e 400x) (vide anexo 6). Nesta avaliação foi considerado a presença de feixes de fibras colágenas desorganizadas e o parâmetro

associado ao maior potencial de fibrose tecidual, empregando os seguintes escores: ausente = 0; leve = 1; moderado = 2; acentuado = 3. Enfatizou-se que o foco da análise não é a detecção do colágeno, mas sim, o grau de desorganização das fibras colágenas, indicador de reparo cicatricial com características fibrosadas.

Os resultados por grupo e período de análise foram:

- Tesoura – No período inicial (dia zero), observou-se pequena quantidade de fibras colágenas desorganizadas (predominantemente escore 1). No sétimo dia, manteve-se o padrão leve (escore 1) na maior parte das amostras, com um único caso apresentando escore moderado (2).

- Laser diodo 980 nm – No dia 0, verificou-se predominância de escores leves (1), com um caso apresentando escore moderado (2). Após sete dias, a maioria das amostras manteve escore leve (1), porém foi identificado um caso com escore acentuado (3), compatível com aspecto fibroso observado macroscopicamente.

- Laser diodo 450 nm – No dia 0, os escores variaram entre ausência (0), leve (1), moderado (2) e acentuado (3). Entretanto, no sétimo dia, observou-se redução expressiva na desorganização colágena com aspecto fibrótico, com quatro amostras classificadas como leve (1) e uma amostra sem sinais de desorganização (0), caracterizando um padrão de reparo menos fibroso em comparação ao laser de diodo 980 nm, e mais próximo aos resultados com o uso da tesoura.

Assim, a quantificação da desorganização das fibras colágenas com aspecto fibrótico, demonstrou que, embora ambos os lasers apresentem capacidade de reparo tecidual com aspecto semelhante, o laser de diodo 450 nm apresentou tendência a menor fibrose, quando avaliada no sétimo dia depois do procedimento cirúrgico, evidenciada pela redução dos escores ao longo do tempo, aproximando-se do comportamento observado no grupo tesoura, porém sem os episódios de sangramento associados ao instrumento convencional. (vide anexo 6).

5. PERIÓDICO PREVISTO PARA SUBMISSÃO DO(S) ARTIGO(S) CIENTÍFICO(S)

A primeira etapa deste estudo foi convertida em artigo e submetido à publicação na revista "Photodiagnosis and Photodynamic Therapy" que está classificada como: Impact Factor: 2.6, 5-Year JIF: 3.1, SJR (SCImago Journal Rank): 0.724, Quartile: Q2.

6. DISCUSSÃO

Os instrumentos térmicos são muito utilizados atualmente por apresentarem facilidade no manuseio e menor sangramento durante o período trans e pós-operatório, facilitando a visualização do campo cirúrgico.^{10,32,33} A escolha do instrumento a ser utilizado em cada procedimento cirúrgico é sempre um desafio, uma vez que ainda é necessário que sejam feitas pesquisas mais robustas e objetivas sobre este tema. Esta pesquisa concorda com a sugestão do Documento Científico elaborado pela Sociedade de Pediatria de São Paulo sobre anquiloglossia em recém-nascidos e lactentes jovens sobre a necessidade de que o cirurgião operador conheça e domine a utilização do instrumento eleito para cada procedimento, a fim de que consiga um melhor resultado do procedimento executado.^{1,5,24}

No que diz respeito à utilização de laser, é fundamental que o operador tenha conhecimento profundo sobre este tema, para que execute um procedimento mais assertivo e com a escolha de parâmetros e dosimetria adequados para cada caso. Os instrumentos térmicos deste estudo apresentaram situações semelhantes em relação à geração de aquecimento tecidual. Os lasers de diodo de alta potência com comprimentos de onda de 450 nm e 810 nm - 980 nm têm se mostrado eficiente e confiável, tanto no modo contínuo, quanto no modo pulsado em cirurgias de tecidos moles.

Os procedimentos utilizando lasers cirúrgicos de alta intensidade apresentam inúmeros benefícios quando comparados a outros instrumentos cirúrgicos, o que é explicado pelas propriedades únicas inerentes ao laser. Cada tipo de laser deve ser utilizado de forma que seja absorvido ao máximo, garantindo sua efetividade ao mesmo tempo em que evite danos aos tecidos adjacentes. O laser de diodo não é o único recomendado como o principal laser para cirurgia de tecidos moles, porém sua adaptabilidade e características favoráveis à cirurgia na região do freio lingual em pacientes da primeira infância nos levaram a selecioná-lo para estudo.³⁹

O laser de diodo é um laser semicondutor e existe em diferentes comprimentos de onda: no espectro infra vermelho, de 810- 980 nm, que possui maior capacidade de corte e fibras que não precisam ser ativadas, e atualmente, em 450 nm, no espectro azul, que pode ser utilizado como cirúrgico. Esta pesquisa concorda com Derikvand N *et al.*,⁷ que o laser diodo de alta potência é bastante versátil na sua utilização podendo ser utilizado no modo contínuo ou pulsado; entretanto segundo Michalik *et*

*al.*⁴⁰ que ao testarem o laser de diodo nos modos contínuo e pulsado para procedimentos laringológicos e dermatológicos em pacientes, demonstraram que na utilização no modo pulsado houve maior conforto para o paciente e menor dano térmico no local da incisão, e Mazzoni *et al.*,²⁴, que notaram que o uso do laser diodo de alta potência no modo contínuo em cirurgia de liberação do freio lingual em pacientes de 0-3 meses de idade, favoreceu um processo de reparação tecidual desorganizado com aspecto fibrosado, e como consequência, a língua perdeu a movimentação conseguida no dia da cirurgia, levando a quadros de recidiva.³⁵

Os lasers de alta potência, estão diretamente relacionados com a maior energia entregue e absorvida pelas células e pelos tecidos, maior tempo de interação e maior potência, que consequentemente levam a um maior efeito térmico, atingindo temperaturas acima do limiar térmico dos tecidos biológicos, podendo gerar dano térmico e modificação permanente do tecido.⁴¹ Baseado nesta questão, o protocolo adotado nesta investigação buscou explorar o uso do laser diodo de alta potência no modo pulsado a fim de gerar o menor aquecimento possível sobre o tecido durante a incisão cirúrgica.

Para pacientes da primeiríssima infância que apresentam diagnóstico de anquiloglossia com indicação de tratamento através da cirurgia, o procedimento minimamente invasivo através dos instrumentos térmicos pode ser uma opção desejada.^{1,24,41} É necessário que o instrumento cirúrgico escolhido para esta cirurgia proporcione cortes delicados, e em pacientes recém-nascidos e até 3 meses de idade, que não necessite jato de água e/ou ar para resfriamento, uma vez que nesta faixa etária, estes pacientes possuem características especiais, como o fato de ainda não apresentarem seu sistema de deglutição amadurecido e não poderem se arriscar aos engasgos ou à aspiração de quaisquer objetos.

Em acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, na Nota Técnica 52/2023,⁵ em pacientes recém-nascidos e lactentes jovens, que se submetem à cirurgia de liberação do freio lingual, é necessário um resultado de reparação tecidual rápido no momento pós-cirúrgico, porque a função da língua com amplitude de movimentos, será necessária nos momentos seguintes para a amamentação⁴² para que o paciente consiga os movimentos linguais necessários ao realizar o aleitamento efetivo logo após a cirurgia e permanecer em seguida com a movimentação lingual conquistada.^{1,5,24}

Neste estudo, na primeira etapa, os autores optaram em realizar uma análise

descritiva dos instrumentos somente para escolha dos que seriam utilizados in vivo na segunda etapa. Notaram que apesar de alguns tipos de lasers gerarem aquecimento tecidual com alta temperatura, nenhum instrumento utilizado ultrapassou a temperatura acima de 40-42°C, que segundo os estudos de Uliana *et al*.¹² poderia causar dano térmico ao tecido através da desnaturação e coagulação irreversível de proteínas citoplasmáticas, carbonização e impactar negativamente no processo de reparação tecidual.^{43,44} É necessário afirmar que neste estudo, durante a utilização dos laser de diodo de alta potência não houve nenhum tipo de carbonização tecidual.

Nesta investigação, os autores perceberam que alguns instrumentos apresentaram alto aquecimento tecidual inicial e rápido resfriamento, como o laser de érbio com ar e com água e o laser de diodo no espectro azul com comprimento de onda de 450 nm no modo pulsado, entretanto, a opção do instrumento utilizado nos ratos Wistar, simulando a cirurgia em humanos, como instrumento cirúrgico térmico, foi o laser de diodo de alta potência, que atualmente é o instrumento de eleição utilizado em cirurgias de anquiloglossia em pacientes da primeiríssima infância, por não necessitar de jatos de água e ar para refrigeração; e no modo pulsado, pois este parâmetro pode gerar menor aquecimento tecidual local uma vez que a energia é fornecida em pulsos curtos e de alta intensidade, minimizando o tempo de exposição térmica e a zona afetada pelo calor, favorecendo um melhor reparo tecidual. O laser pulsado pode alcançar picos de potência muito mais altos do que um laser contínuo, mas com uma entrada de calor total menor. A rápida ativação e desativação dos pulsos permitem a aplicação da quantidade certa de calor, sem um aumento excessivo da temperatura geral.⁴¹

A taxa de aumento da temperatura desempenha um papel significativo no reparo tecidual pós-operatório e depende de diversos fatores, como o resfriamento do local cirúrgico e a capacidade do tecido circundante de dissipar o calor. Essa absorção determina a eficiência do corte, o aquecimento do tecido e o controle da hemorragia.⁴⁵

A principal diferença entre usar um laser de diodo de alta potência no espectro azul e no infravermelho para corte de tecidos moles está na forma como a energia da luz é absorvida pelo tecido.⁴⁶⁻⁵²

Os lasers azuis são altamente absorvidos pela hemoglobina e pela melanina. A água, que é o principal componente dos tecidos moles, não absorve muito a luz azul. A energia é focada nos componentes sanguíneos, permitindo um corte muito preciso

e minimizando os danos térmicos aos tecidos adjacentes, ricos em água. Por ser tão bem absorvido, o laser azul não penetra profundamente no tecido, e talvez seja esta a razão pelo rápido resfriamento percebido clinicamente no tecido lesionado.⁵³ Os autores optaram na utilização do laser pulsado no espectro infra vermelho, para a verificação da atuação do parâmetro de comprimento de onda diferentes. O laser infravermelho 980 nm é bem absorvido pela água e, em menor grau, pela hemoglobina, penetrando um pouco mais no tecido do que os lasers azuis. Embora também promova hemostasia, a energia não é tão focada na hemoglobina.^{18,31,54}

O laser azul promove maior precisão e controle de sangramento e pode ser usado em procedimentos que não necessitam de profundidade no corte cirúrgico, enquanto o laser infravermelho pode ser considerado uma opção para alguns procedimentos cirúrgicos que necessitam de aprofundamento durante o corte cirúrgico por apresentar maior penetração durante a incisão, mas com o risco de maior dano térmico.^{38,42,47,55,56} A variabilidade de parâmetros, pode modificar a resposta inflamatória e reparadora. Este conhecimento contribui para reforçar a importância do domínio técnico na seleção e ajuste de parâmetros.

A escolha entre os instrumentos depende do procedimento a ser realizado, do conhecimento do operador, do tipo de tecido, do estado geral de saúde e da idade do paciente. No caso da liberação cirúrgica do freio lingual, é possível utilizar um instrumento que não tenha um corte tão profundo, mas que possa promover a melhor reparação tecidual. Neste estudo os pesquisadores optaram pela utilização de dois lasers, ambos de diodo de alta potência, entretanto com comprimentos de onda diferentes, porém, apresentando característica do equipamento iguais, como o diâmetro da ponta de 600 micrometros e sua flexibilidade, pois a ponta da fibra pode alterar o resultado do corte. Os lasers escolhidos foram o diodo de alta potência no espectro azul e no espectro vermelho, conforme descritos anteriormente, ambos da mesma empresa e com as características da ponta da fibra iguais, além de atuarem no modo contato e serem pulsados; e como grupo controle, os autores mantiveram a escolha da tesoura cirúrgica. Para a verificação da resposta de reparação tecidual, a escolha da data de observação da análise histológica, e clínica do processo de reparação tecidual foi baseada nos estudos de Azevedo *et al.*³⁸, Oliveira, *et al.*³⁶, e Masi *et al.*³⁵ que avaliaram histologicamente o processo de cicatrização por 14 dias de áreas operadas por diferentes instrumentos em ratos e perceberam maior alteração

celular por volta do 7º dia e quase nenhuma alteração no 14º dia.³⁴

Kim *et al.* numa análise imunohistoquímica, encontraram maior concentração de monócitos e macrófagos entre o 7º e 14º dia de pós-operatório em ratos operados com laser diodo, quando comparado com incisões realizadas com lâmina fria de bisturi, porém neste estudo, os autores encontraram um resultado um pouco diferente, pois perceberam aparição de alguns macrófagos somente no dia zero das amostra do grupo do laser de diodo de alta potência 450 nm, em dois casos e no dia sete depois da cirurgia em 3 casos, além de uma presença discreta de tecido reacional e focos superficiais de degeneração, poucos monócitos, histiócitos e pequenos linfócitos que apareceram no dia zero e no sétimo dia igualmente nas amostras dos grupos de laser diodo 980 nm, 450 nm e da tesoura cirúrgica, sem nenhuma diferença entre os grupos (vide anexo 5).⁵⁷ Entretanto, em relação à avaliação do aparecimento dos feixes de colágeno desorganizados com aspecto fibrótico, os pesquisadores, no estudo atual, perceberam que nos grupos dos lasers 980 nm e 450 nm foram encontrados, a quantidade moderada e acentuada de feixes de colágeno desorganizados com aspecto fibrótico na avaliação do dia zero em várias amostras, e em contrapartida ao grupo laser 980, no sétimo dia do grupo laser 450 foi encontrado menor quantidade de feixes colágenos desorganizados com aspecto fibrosado nestas amostras em relação ao laser 980 nm e próximo ao que apresentou a tesoura Íris, denotando melhor organização celular na reparação tecidual quando comparado ao sétimo dia do grupo laser 980 (vide anexo 6). Esse achado pode estar relacionado ao fato de que o laser de 450 nm tende a produzir uma incisão mais superficial em comparação ao laser de 980 nm, mesmo que aparentemente, com aspecto clínico mais grosseira, resultando em menor aquecimento dos tecidos profundos durante o corte^{6,7,8,10,40,53}. A absorção do laser azul pode aquecer locais, valorizando a vascularização e aumento do fluxo sanguíneo, podendo apresentar efeitos fotônicos terapêuticos menos profundos, porém mais eficientes⁵³. Tais efeitos, podem representar uma possibilidade promissora na busca por instrumentos que favoreçam o reparo cicatricial com menor enrijecimento tecidual local.

No grupo tesoura, somente em um caso no momento pós-cirúrgico, os feixes de colágeno desorganizados com aspecto fibrótico estiveram numa quantidade moderada, enquanto em todas as outras amostras encontravam-se em leve quantidade (vide anexo 6). Nas amostras provenientes das incisões realizadas com tesoura, identificaram-se angiogênese, ectasia vascular, focos hemorrágicos, edema

extracelular, vasos congestos e reatividade do estroma, achados histológicos compatíveis com as observações clínicas, nas quais, três casos apresentaram sangramento excessivo durante o procedimento, enquanto nos grupos que utilizaram lasers não houve qualquer manifestação de sangramento excessivo, concordando com a pesquisa de Lizarelli R de FZ *et al*⁵³, que no caso do laser azul que opera em um comprimento de onda capaz de interagir, de forma muito eficaz, com a hemoglobina e outras proteínas, resulta em grande absorção de energia pelos tecidos moles, gerando vaporização e coagulação, o que permite cortes com alta precisão, baixo ou nulo sangramento e interação fototérmica/fotoquímica com os tecidos moles sem afetar os tecidos adjacentes, sendo ideal para procedimentos pouco invasivos.

Nos grupos lasers, os achados clínicos perceberam em 3 casos de cada grupo, um reparo tecidual com aspecto fibrosado. Nos achados da avaliação do infiltrado inflamatório, não notou-se quaisquer discrepâncias em relação às descrições encontradas em literatura, assim como em relação aos achados clínicos, onde foi observado ectasia vascular num caso do uso do laser 980 nm, compatível com um caso clínico de pequeno sangramento, e em ambos casos de laser, encontrou-se degeneração tecidual, células degeneradas, reatividade no estroma ou perda parcial de integridade do epitélio, compatível com a avaliação clínica do laser 450 nm que no dia zero apresentou uma incisão com aspecto grosseiro. Portanto, os autores resolveram investigar a presença de aglomerado de feixes de fibras colágenas desorganizado com aspecto fibrosado, onde percebeu-se que no dia zero, as lâminas com o grupo tesoura apresentaram um aspecto leve e um moderado, e no dia sete, todas apresentaram aspecto leve. No uso do laser diodo 980 nm as lâminas do dia zero apresentaram na maioria aspecto leve e um moderado, e no dia sete, apresentaram na maioria aspecto leve e um aspecto acentuado, entretanto com o uso do laser 450 nm no dia zero, três lâminas apresentaram aspecto leve, um moderado e um acentuado, compatível com a avaliação clínica, enquanto no dia sete apresentaram aspecto leve na maioria e uma lâmina aspecto ausente. Estes resultados confirmam a atuação do laser de diodo de alta potência no espectro azul, conforme o estudo de Lizarelli R de FZ *et al*,⁵³ e um resultado de reparação tecidual bastante satisfatório.

Tendências atuais

A biofotônica e a odontologia encontram-se em constante evolução, com o objetivo de ampliar o conforto do paciente e a eficiência dos tratamentos oferecidos. O profissional de saúde que realiza atendimentos utilizando a tecnologia laser deve revisar periodicamente os protocolos clínicos, conduzir o uso do equipamento com base em evidências científicas e manter-se atualizado de forma contínua. Essa postura é fundamental para garantir a qualidade dos serviços prestados, com foco em um atendimento eficiente, seguro e individualizado.

Faz-se necessário o desenvolvimento de estudos aprofundados sobre os parâmetros ideais a serem utilizados em cirurgias na região do freio lingual, de modo a identificar as melhores configurações do laser de alta potência para alcançar resultados clínicos satisfatórios, especialmente no que se refere ao reparo tecidual no pós-operatório. Observou-se, neste estudo, que o uso do laser diodo de alta potência promoveu maior segurança no controle do sangramento durante o procedimento cirúrgico, quando comparado ao uso da lâmina fria.

7. CONCLUSÃO

Com base nos achados deste estudo, conclui-se que instrumentos térmicos podem ser utilizados de forma segura para incisões na região do freio lingual, apresentando padrões semelhantes de aquecimento e reparo tecidual. Embora ambos os lasers de diodo de alta potência avaliados (450 nm e 980 nm, modo pulsado) tenham promovido cicatrização comparável, o laser de 450 nm evidenciou vantagens específicas, como a ausência de sangramento transoperatório e a menor presença de feixes colágenos desorganizados com aspecto fibrosado no dia sete de reparação tecidual. Esse padrão resultou em um reparo mais semelhante ao obtido com o uso da tesoura, porém sem o risco aumentado de sangramento. Considerando ainda a percepção clínica de resfriamento mais rápido observada na fase ex vivo, o laser de 450 nm, apesar de durante a incisão cirúrgica apresentar um corte com aspecto clínico grosseiro e de maior aquecimento, demonstra potencial como uma alternativa segura para procedimentos de liberação do freio lingual, contribuindo para o entendimento da segurança térmica e da resposta tecidual em cirurgias com instrumentos que promovem aquecimento tecidual local. É importante ressaltar que o diâmetro da fibra assim como a flexibilidade podem promover diferença no repao tecidual, sendo importante mais estudos sobre as características do instrumento e outros parâmetros para mais conhecimento sobre os aparelhos. No entanto, é possível afirmar que os três instrumentos utilizados na etapa in vivo, demonstraram eficácia na incisão, sem carbonização tecidual ou dano térmico irreversível, e com um reparo tecidual considerado satisfatório, mas certamente os lasers apresentaram maior segurança na utilização uma vez que em nenhum caso houve sangramento excessivo. Este estudo destaca a importância da realização de novos estudos clínicos e histológicos para confirmação desses achados.

REFERÊNCIAS

1. Documento Científico: Anquiloglossia no Recém-Nascido e Lactente Jovem – Visão transdisciplinar | SPSP [Internet]. [cited 2024 July 30]. Available from: <https://www.spsp.org.br/documento-cientifico-anquiloglossia-no-recem-nascido-e-lactente-jovem-visao-transdisciplinar/>
2. Uraz A, Çetiner FD, Cula S, Guler B, Oztoprak S. Patient perceptions and clinical efficacy of labial frenectomies using diode laser versus conventional techniques. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2018 June;119(3):182–6.
3. Mazzoni A, Navarro RS, Fernandes KPS, Horliana ACRT, Mesquita-Ferrari RA, Motta PB, et al. Evaluation of the effects of high-level laser and electrocautery in lingual frenectomy surgeries in infants: protocol for a blinded randomised controlled clinical trial. *BMJ Open*. 2021 Nov 30;11(11):e050733.
4. Mills N, Keough N, Geddes DT, Pransky SM, Mirjalili SA. Defining the anatomy of the neonatal lingual frenulum. *Clin Anat*. 2019 Sept;32(6):824–35.
5. Nota Técnica Conjunta nº 52/2023-CACRIAD/CGACI/DGCI/SAPS/MS e CGSB/DESCO/SAPS/MS — Ministério da Saúde [Internet]. [cited 2024 July 30]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/notas-tecnicas/2023/nota-tecnica-conjunta-no-52-2023-cacriad-cgaci-dgci-saps-ms-e-cgsb-desco-saps-ms/view>
6. Melo AJB de, Santos GM, Júnior MB da S, Mendes VC de O, Melo PHB de. Lasers de alta potência na frenectomia, seus benefícios e limitações: revisão integrativa. *Research, Society and Development*. 2022 Sept 22;11(12):e506111234806–e506111234806.
7. Derikvand N, Chinipardaz Z, Ghasemi S, Chiniforush N. The Versatility of 980 nm Diode Laser in Dentistry: A Case Series. *J Lasers Med Sci*. 2016;7(3):205–8.
8. Jesus AO de. Comparação da eficácia e segurança do laser cirúrgico de diodo com o eletrocautério no tratamento da hiperplasia fibrosa inflamatória. 2018 July 12 [cited 2025 Nov 17]; Available from: <https://hdl.handle.net/1843/ODON-B3MJKQ>
9. Brugnera Júnior A. Aplicação Do Laser Na Odontologia. Santos; 2009.
10. Lago ADN. Laser na odontologia: conceitos e aplicações clínicas. São Luís, MA: Universidade Federal do Maranhão; 2021.
11. Amaral MBF. Eficácia do laser cirúrgico de diodo no tratamento da hiperplasia fibrosa inflamatória. 2014;117–117.
12. Uliana JH. Monitoramento de temperatura tecidual por meio de imagens fotoacústicas durante tratamento de hipotermia [Internet] [dissertação]. Universidade de São Paulo; 2016 [cited 2025 Nov 17]. Available from: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59135/tde-24102016-141623/>
13. Andreollo NA, Santos EF dos, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig*. 2012;25(1):49–51.
14. Cella HR dos SD, Fortuna T, Dantas JB de L, Santana RC, Neri BP, Martins GB. Caracterização Histológica Da Mucosa Oral Normal De Ratos Wistar: Estudo Comparativo Com Mucosa Oral De Humanos. *Revista Ciências e Odontologia*. 2024 Feb

1;8(1):48–58.

15. Our Story [Internet]. The Wistar Institute. [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://www.wistar.org/about-wistar/our-story/>
16. Angioarchitecture of the ventral surface of the tongue from Wistar rats - PubMed [Internet]. [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18615461/>
17. Mills N, Geddes DT, Amirapu S, Mirjalili SA. Understanding the Lingual Frenulum: Histological Structure, Tissue Composition, and Implications for Tongue Tie Surgery. *Int J Otolaryngol*. 2020;2020:1820978.
18. Campos ACL, Borges-Branco A, Groth AK. Cicatrização de feridas. *ABCD, arq bras cir dig*. 2007 Mar;20(1):51–8.
19. Costa EF dos S. Frenectomia lingual em neonatos: quando realizar? Uma revisão de literatura. 2020 July 8 [cited 2025 Nov 17]; Available from: <https://repositorio.bahiana.edu.br:8443/jspui/handle/bahiana/4570>
20. Gabri D, Bago I, Filipovi I, Sui M, Katanec D, Milenovi A, et al. Application of Diode Laser in Oral and Maxillofacial Surgery. In: Kalantar Motamedi MH, editor. *A Textbook of Advanced Oral and Maxillofacial Surgery* [Internet]. InTech; 2013 [cited 2025 Nov 23]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/a-textbook-of-advanced-oral-and-maxillofacial-surgery/application-of-diode-laser-in-oral-and-maxillofacial-surgery>
21. Fioravanti M, Zara F, Voza I, Polimeni A, Sfasciotti GL. The Efficacy of Lingual Laser Frenectomy in Pediatric OSAS: A Randomized Double-Blinded and Controlled Clinical Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 June 6;18(11):6112.
22. Rosa anielia S, Cavalcant PV. Guia: Anestesia e Analgesia em animais de laboratório [Internet]. Andressa Cristina Santana Ferruzzi Márcia Carolina Millán Olivato; 2023 [cited 2025 Nov 17]. Available from: <https://site.unifesp.br/ceua/material-de-apoio/guias-e-artigos>
23. Puccini FRS, Berretin-Felix G. Refluxo gastroesofágico e deglutição em recém nascidos e lactentes: revisão integrativa da literatura. *Rev CEFAC*. 2015 Oct;17(5):1664–73.
24. Mazzoni A, Navarro RS, Fernandes KPS, Mesquita-Ferrari RA, Horliana ACRT, Silva T, et al. Comparison of the Effects of High-Power Diode Laser and Electrocautery for Lingual Frenectomy in Infants: A Blinded Randomized Controlled Clinical Trial. *J Clin Med*. 2022 June 30;11(13):3783.
25. Suter VGA, Altermatt HJ, Sendi P, Mettraux G, Bornstein MM. CO2 and diode laser for excisional biopsies of oral mucosal lesions. A pilot study evaluating clinical and histopathological parameters. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2010 Jan 1;120(8):664–71.
26. Leite DFBM, Vieira CA. Características morfológicas encontradas na cavidade oral de neonatos: revisão de literatura. *Rev da Fac de Odontologia, UPF* [Internet]. 2018 Aug 15 [cited 2025 Nov 17];23(1). Available from: <http://seer.upf.br/index.php/rfo/article/view/8507>
27. Valério P. Forma e Movimento / Shape and Movement: Bases Fisiológicas da Ortopedia Funcional dos Maxilares / Physiological Basis of Functional Jaw Orthopedics. Ribeirão Preto, SP: Livraria Tota Editora; 2022. 268 p.

28. Seoane J, González-Mosquera A, García-Martín JM, García-Caballero L, Seoane-Romero JM, Varela-Centelles P. Pseudoepitheliomatous hyperplasia after diode laser oral surgery. An experimental study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015 Sept 1;20(5):e554-559.
29. Bennett JM, Reeves G, Billman GE, Sturmberg JP. Inflammation–Nature’s Way to Efficiently Respond to All Types of Challenges: Implications for Understanding and Managing “the Epidemic” of Chronic Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2018 Nov 27;5:316.
30. Medeiros AC, Dantas-Filho AM. Cicatrização das feridas cirúrgicas. *JOURNAL OF SURGICAL AND CLINICAL RESEARCH*. 2016;7(2):87–102.
31. Fisher SE, Frame JW, Browne RM, Tranter RM. A comparative histological study of wound healing following CO2 laser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. *Arch Oral Biol*. 1983;28(4):287–91.
32. Bernacchio, Rosa M.G. Quantificacao de mofibroblastos em tecido cutaneo de ratos submetidos a incisao cirurgica com lasers de Cosub(2) e diodo, bisturi eletrico e convencional [Internet]. 2007 [cited 2025 Nov 23]. Available from: https://www.oasisbr.ibict.br/vufind/Record/IPEN_dd64604d485e44f1ef95cd461e29db01
33. Suter VGA, Altermatt HJ, Dietrich T, Warnakulasuriya S, Bornstein MM. Pulsed versus continuous wave CO2 laser excisions of 100 oral fibrous hyperplasias: a randomized controlled clinical and histopathological study. *Lasers Surg Med*. 2014 July;46(5):396–404.
34. Azevedo LH. Processo reparacional em tecido cutâneo e oral de ratos submetidos à incisão cirúrgica com lasers de CO2 e diodo, e com bisturi elétrico e convencional. Uma análise morfométrica [Internet] [tese]. Universidade de São Paulo; 2005 [cited 2025 Nov 23]. Available from: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23139/tde-11112005-103846/>
35. De Masi ECDJ, Rocha SL, Mocellin M, Faria JLG de. Wound healing in the jugal mucosa of rats with a cold blade scalpel and an ultrasonic harmonic scalpel. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2009;75(3):362–6.
36. Oliveira R. Combinação da cetamina e da xilazina para reduzir a dor durante a eletroejaculação em cães. *Pubvet* [Internet]. 2021 July 26 [cited 2025 Nov 23];15(08). Available from: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/248>
37. CHAVES-BORGES F, MINEO J. Medidas de biossegurança em laboratórios. Uberlândia: gráfica da Universidade Federal de Uberlândia, 55pp. 1997;
38. Laboratory biosafety manual, 3rd edition [Internet]. [cited 2025 Nov 23]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9241546506>
39. Malcangi G, Patano A, Trilli I, Piras F, Ciocia AM, Inchingolo AD, et al. Therapeutic and Adverse Effects of Lasers in Dentistry: A Systematic Review. *Photonics*. 2023 June 5;10(6):650.
40. Michalik M, Szymańczyk J, Stajnke M, Ochrymiuk T, Cenian A. Medical Applications of Diode Lasers: Pulsed versus Continuous Wave (cw) Regime. *Micromachines (Basel)*. 2021 June 17;12(6):710.
41. Littman MG, Wang X. Pulsed Lasers. In: *Experimental Methods in the Physical Sciences*.

- Elsevier; 1997. p. 137–69.
42. SILVA SAM, Dayana PM. Uma revisão de literatura sobre as fibroses e aderências teciduais. Goiás; 2013.
 43. Kamamoto F, Ferrari O, Reis JOG, Santos CEC, Miliou T. Thermoguided technique of lipolysis and skin retraction with 980nm diode laser. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica (RBCP) – Brazilian Journal of Plastic Surgery* [Internet]. 2021 [cited 2025 Nov 18];36(1). Available from: <http://www.rbc.org.br/details/2880/thermoguided-technique-of-lipolysis-and-skin-retraction-with-980nm-diode-laser>
 44. Thermal conditions to produce skin burns [Internet]. Portal de Periódicos da CAPES. [cited 2025 Nov 18]. Available from: <https://www.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscar.html?task=detalhes&id=W2051144953>
 45. Kripal K, Sirajuddin S, Rafiuddin S, Mp R, Chungkham S. Iatrogenic Damage to the Periodontium Caused by Laser: An Overview. *Open Dent J*. 2015;9:210–3.
 46. Cavalcanti TM, Almeida-Barros RQD, Catão MHCDV, Feitosa APA, Lins RDAU. Conhecimento das propriedades físicas e da interação do laser com os tecidos biológicos na odontologia. *An Bras Dermatol*. 2011 Oct;86(5):955–60.
 47. Pirnat S. Versatility of an 810 nm diode laser in dentistry: an overview. *J Laser Health Acad*. 2007;4(2):1–9.
 48. de Luca DN, Guerra RC, Lopes LA, Pretel H. Comparison of photocoagulation with 450 and 980 nm diode lasers in vascular lesions of the lip. *Latin American Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2021;1(1):14–7.
 49. Jiang W, Liang Y, Long Z, Hu M, Yang H, Qin X. Endovenous radiofrequency ablation vs laser ablation in patients with lower extremity varicose veins: A meta-analysis. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord*. 20240203rd ed. 2024 Sept;12(5):101842.
 50. Fornaini C, Merigo E, Rocca JP, Lagori G, Raybaud H, Selleri S, et al. 450 nm Blue Laser and Oral Surgery: Preliminary ex vivo Study. *J Contemp Dent Pract*. 2016 Oct 1;17(10):795–800.
 51. Sousa GR de, Souza FM de, Soares BM, Ferreira MVL, Silveira L de B, Gomes Junior SC. Avaliação do efeito térmico do laser de diodo de alta potência e do bisturi elétrico após incisões em mandíbula de porco. *Full dent sci*. 2016;20–5.
 52. Jorge ACT, Cassoni A, Rodrigues JA. Aplicações dos lasers de alta potência em odontologia. *Saúde-UNG*. 2010;4(3):25–33.
 53. Lizarelli R de FZ, Kabariti DH, Bagnato VS. Apresentando o laser azul nos tratamentos orofaciais: um novo ganho em eficiência e aplicações. *Aesthetic Orofacial Science*. 2025;6(1):61–75.
 54. Tahergorabi Z, Khazaei M. A review on angiogenesis and its assays. *Iran J Basic Med Sci*. 2012 Nov;15(6):1110–26.
 55. CHAVES-BORGES F, MINEO J. Medidas de biossegurança em laboratórios. Uberlândia: gráfica da Universidade Federal de Uberlândia, 55pp. 1997;
 56. Cavalcanti TM, Almeida-Barros RQ de, Catão MHC de V, Feitosa APA, Lins RDAU.

Conhecimento das propriedades físicas e da interação do laser com os tecidos biológicos na odontologia. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2011;86:955–60.

57. Kim HR, Son K, Son YT, Kim YG, Lee KB, Lee SC, et al. A Comparative Immunohistochemical Study of Wound Healing after Dental Diode Laser Treatment in the Rat Oral Mucosa. *Bioengineering (Basel)*. 2022 Sept 13;9(9):466.

ANEXO 1: CHECAGEM ARRIVE:

1° etapa:



26.04.25.
submissão.
preench

Experimental procedures

What is done and how is it done, when and how often.

Procedures:	This preclinical experimental study was conducted using 60 ex vivo porcine tongues from Moura breed (various sexes, approximately 45 kg, aged around six months). The tongues were randomly divided into twelve groups of five specimens each. The groups were categorized as follows: reference group: Iris surgical scissors; thermal surgical instrument groups: Electrocautery, Electronic scalpel, D-Storm continuous mode (2W), D-Storm pulsed mode, D-Storm super-pulsed mode, Lite Touch with air and water, Lite Touch without water, DMC continuous laser, DMC pulsed laser, Thera Blu continuous laser, Thera Blu pulsed laser.
Surgical procedures:	A standardized incision technique was applied across all specimens. The surgical instruments were positioned at an approximately 45° angle to the fascia of the tongue belly, which was stretched using forceps. Each incision measured ~1 cm in length and 3–4 mm in depth, with seven pendulum strokes per incision, each lasting less than one second. The incisions on all carcasses were performed by the same operator
Anaesthesia:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses
Analgesia:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses
Locations:	UNINOVE Laboratory
Acclimatisation period:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses

Animal care and monitoring

Adverse events:	No adverse events		
Humane endpoints:	only the incision event with the instruments and temperature measurement with thermographic camera		
Welfare monitoring:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses	Attached clinical assessment form:	No
Changes in housing and husbandry	It wasn't necessary because they were porcine carcasses		
Restrictions in veterinary care:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses. The necessary care was taken.		

Experimental procedures

What is done and how is it done, when and how often.

Procedures:	This preclinical experimental study was conducted using 60 ex vivo porcine tongues from Moura breed (various sexes, approximately 45 kg, aged around six months). The tongues were randomly divided into twelve groups of five specimens each. The groups were categorized as follows: reference group: Iris surgical scissors; thermal surgical instrument groups: Electrocautery, Electronic scalpel, D-Storm continuous mode (2W), D-Storm pulsed mode, D-Storm super-pulsed mode, Lite Touch with air and water, Lite Touch without water, DMC continuous laser, DMC pulsed laser, Thera Blu continuous laser, Thera Blu pulsed laser.
Surgical procedures:	A standardized incision technique was applied across all specimens. The surgical instruments were positioned at an approximately 45° angle to the fascia of the tongue belly, which was stretched using forceps. Each incision measured ~1 cm in length and 3–4 mm in depth, with seven pendulum strokes per incision, each lasting less than one second. The incisions on all carcasses were performed by the same operator.
Anaesthesia:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses.
Analgesia:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses.
Locations:	UNINOVE Laboratory
Acclimatisation period:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses.

Animal care and monitoring

Adverse events:	No adverse events		
Humane endpoints:	only the incision event with the instruments and temperature measurement with thermographic camera		
Welfare monitoring:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses	Attached clinical assessment form:	No
Changes in housing and husbandry 	It wasn't necessary because they were porcine carcasses		
Restrictions in veterinary care:	It wasn't necessary because they were porcine carcasses. The necessary care was taken.		

ARRIVE

Section 1

Potential risk to personnel: There was no risk to the researchers.

Personnel involved in the experiment

Adriana Cátia Mazzoni	surgeon who performed the incision	Trained and competent ☒
Lara Jasinski Motta	surgeon who assisted in making the incision	Trained and competent ☒

ANEXO 2: CHECAGEM ARRIVE 2º ETAPA DA PESQUISA

Section 1

ARRIVE study plan

Phases 61 in all sections of the ARRIVE study plan.

Study details

Study title:	Thermal evaluation of surgical incision of the lingual frenulum performed with double laser (580 nm and 450 nm) in an animal model (Wistar rats)	Grant code:	Error
Start date:	30/09/2025	End date:	30/11/2025
Project license or permit number:	CBLA nº 2578006025	Project lead:	Adriane Caisa Mazzoni
Protocol numbers:	List protocols and steps being used	Expected severity:	Details of the severity classification
Primary responsible:	Adriane Caisa Mazzoni	Contact details:	adriane.mazzoni@uel.br 55 11 959725258
Secondary contact:	Lara Jaeniski Motta	Contact details:	Lm.jaeniski@gmail.com/ 55 11 998226111

Experimental animals

Species	Strain/Genotype	Sex	Age	Weight	Source	Number
Wistar rats	Rattus norvegicus	N/A	22-30 days age	55-150mg	Biotério de UNINOVE	30
Total number						30

Page 1 of 8

Section 1

ARRIVE

Experimental procedures

What is done and how it is done, when and how often.

Procedures

The practical experimental. Evaluation of the heating generated by the use of a high power double laser of different wavelengths during surgical incision on the lingual frenulum in Wistar rat pups - Pre-clinical study - during 30th September 2025 (Friday) and tomorrow, present number CBLA-2578006025-00-004040, under the responsibility of Adriane Mazzoni and Lara Jaeniski Motta - which involves the production, maintenance and use of animal housing in the Biotério Cheboks, neighborhood Vinte e Nove (except human beings), for scientific research purposes involving - as is accordance with Law.

Surgical procedures:

Thirty healthy Wistar rats, between 22 and 30 days old, will be used and distributed among the 3 groups. Group 1: Control, surgery with surgical scissors. Group 2: Surgery with a 580 nm double laser. Group 3: Surgery with a 450 nm double laser. The surgical incision at the lingual frenulum site will be performed by elevating the tongue with a spatula. With the frenulum stretched, the incision will be made with the instrument designated for each group in at 30 animals on the first day of the intervention. Thermographic analysis will be performed with the FLIR C560 thermal imaging camera before and after the incision in the lingual frenulum tissue. Immediately after the incision, a tissue sample will be collected from the surgical site in the lingual frenulum of 5 animals from each group. The standardized sample size will be approximately 1 mm in diameter for histological study, and these animals will then be euthanized. On day 7 after the lingual frenulum incision, the remaining 5 rats from each group will be euthanized, and a new sample will be collected from the healing site, with a depth of approximately 1 mm, for a new histological evaluation.

Anesthesia:

Inhalative: Isoflurane (2% according to the weight of each animal)

Analgesics:

Ketamine and xylazine according to the weight of each animal

Locations:

UNINOVE laboratory animal facility

Acclimatization period:

The animals living in a UNINOVE laboratory animal facility

Animal care and monitoring

Adverse events:

No adverse events

Human endpoints:

The incision count with the instrument and temperature measurement with thermographic camera and the lingual tissue will be dissected at both time points and returned for histological analysis

Page 2 of 8

Section 1

ARRIVE

Welfare monitoring

The animals living in a UNINOVE laboratory animal facility and the Veterinarian of the place laboratory of the case file.	Attached clinical assessment form:	No
---	------------------------------------	----

Changes in housing and husbandry

They live in special cages for this species under the care of the animal facility.

Restrictions in veterinary care:

Penicillin was only added to the water so that they would not feel pain.

Risks

Emergency procedures:

The stages were performed on the same day with all the instruments described in the study

Potential risk to personnel:

There was no risk to the researchers.

Personnel involved in the experiment

Adriane Caisa Mazzoni	surgeon who performed the incision	Trained and competent
Lara Jaeniski Motta	surgeon who assisted in making the incision	Trained and competent

Page 3 of 8

Section 2

ARRIVE

Study design and sample size

Experimental groups:

Group 2: surgery with a 580 nm double laser. Group 3: surgery with a 450 nm double laser. The surgical incision at the lingual frenulum site will be performed by elevating the tongue with a spatula. With the frenulum stretched, the incision will be made with the instrument designated for each group in at 30 animals on the first day of the intervention.

Experimental units:

Group 2: surgery with a 580 nm double laser. Group 3: surgery with a 450 nm double laser. The surgical incision at the lingual frenulum site will be performed by elevating the tongue with a spatula. With the frenulum stretched, the incision will be made with the instrument designated for each group in at 30 animals on the first day of the intervention.	Sample size per group:	10 rats per group
--	------------------------	-------------------

Justification for sample size:

The study provides information related to the temperature generated by the aforementioned thermal instruments, guiding and facilitating the choice of instrument by the surgeon who will have more knowledge about the action of the instrument, to choose the most suitable one according to the needs of each clinical case.

EDA: read only diagrams:

Link to EDA read only diagram

Access code: Error

Inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria:

Animals with a good health and that have a 22-30 days age.

Exclusion criteria:

Animals that present any alteration, wound, or disease, and that are outside the health normally standard.

Expected attrition:

We didn't have any losses.

Randomization and blinding/masking

Method of allocation to groups:

non-randomized, contemporary control, the groups were brought from each other

Strategy to minimize confounders:

does not apply

Blinding strategy:

does not apply

Page 4 of 8

Section 2

ARRIVE

Outcome measures and statistical methods

Outcome measures:

The selected instruments were from the DMC brand, both high-power double lasers with different wavelengths, because they generated the most heat during the tissue incision and because the blue spectrum laser exhibited better coagulation. The study's hypothesis is that the high heat generated by the thermal surgical instrument during the procedure can alter local tissue organization, therefore with the cellular control, and negatively impact the tissue repair process in the reduced lesion in the lingual frenulum.

Primary outcome measures:

We analyzed the use of surgical instruments during incisions in the exsanguinated, used with different parameters, creating three groups. The incisions were performed in animals, and the vital temperature did not show significant differences between the instruments.

Analysis plans:

The data in this study was analyzed using non-parametric methods due to the lack of normal distribution, verified using the Shapiro-Wilk test. Comparisons between the groups and Dunn's test with Bonferroni correction were used for post-hoc multiple comparisons. Statistical significance was established with a 5% confidence level ($p < 0.05$).

Page 5 of 8

Section 3

ARRIVE

Sign off

Primary responsible:	Adriane Caisa Mazzoni	30/09/2025	(1) I confirm I am aware of my responsibilities as the primary responsible (e.g. conditions of the animal facility) and my training and competency record is up to date.
Project lead:	Lara Jaeniski Motta	30/09/2025	(2) I confirm I am aware of my responsibilities as a project lead/science holder and the work is in line with the project.
Internal sign off:	None	Date	None, e.g. NACVD

Page 6 of 8

ANEXO 3. APROVAÇÃO CEUA N.5822290523 1º ETAPA

1) CEUA Nº 5822290523

CRONOGRAMA: 01/2024 a 03/2024

Histórico do Protocolo (clique aqui)

DEFINIR ORDEM DE VISUALIZAÇÃO


opções

Título: "Avaliação da temperatura de absorção no ventre da língua de porco (ex vivo)"

Responsável: Adriana Mazzoni

1) Termo de Compromisso	2) Projeto de Pesquisa	3) FormConceia_29.05.2023
4) FormConceia_29.06.2023	5) Termo de Compromisso do Pesqui	6) FormConceia_06.11.2023
7) FormConceia_17.11.2023	8) FormConceia_16.01.2024	9) carta de procedência
10) FormConceia_25.03.2024		

Adriana Mazzoni

PROPOSTA INICIAL
RECEBIDO EM
02/06/2023

O pesquisador incluiu a carta de procedência devidamente assinada. Como foi sanada todas as pendências, o projeto foi considerado aprovado.
(26/03/2024) ... (CLIQUE AQUI)

APROVADO
(CLIQUE AQUI)

RELATÓRIO FINAL
RECEBIDO EM
19/03/2025

A pesquisadora respondeu à pendência, realizando as retificações no relatório. Em reunião do CEUA 28/05/25, o relatório foi considerado aprovado.
(28/05/2025) ... (CLIQUE AQUI)

APROVADO
(CLIQUE AQUI)

ANEXO 4. APROVAÇÃO CEUA N. 2578060825 2º ETAPA

5) CEUA N° 2578060825

CRONOGRAMA: 09/2025 a 11/2025

Histórico do Protocolo (clique aqui)

DEFINIR ORDEM DE VISUALIZAÇÃO

OPÇÕES

Título: "Avaliação do aquecimento gerado pela utilização do laser de diodo de alta potência de diferentes comprimentos de onda, durante a incisão cirúrgica no freio lingual em filhotes de ratos Wistar – Estudo pré-clínico "

Responsável: Adriana Mazzoni

Adriana Mazzoni

Adriana mazzoni

Certificado de curso de capacPDF

Comprovante de titulação acadPDF

Certificado de curso de capacPDF

Comprovante de titulação acadPDF

Autodeclaração de experiênciaPDF

1) Termo de Compromisso do PesquPDF

2) Projeto de PesquisaPDF

3) FormConcea_06.08.2025PDF

4) FormConcea_10.08.2025PDF

PROPOSTA INICIAL
RECEBIDO EM:
06/08/2025

O projeto foi analisado em reunião CEUA 27/08/2025, sendo aprovado. (27/08/2025).....(CLIQUE AQUI)

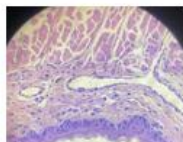
APROVADO
(CLIQUE AQUI)

ANEXO 5: RELATÓRIO DE ANÁLISE DE LÂMINAS DE MICROSCOPIA

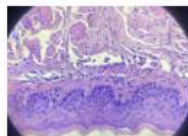
Responsável pela análise das lâminas: M.V. Priscila Sarkozi Pereira da Silva (CRMV-SP: 35737)

Os cortes histológicos de amostras retiradas de região de freio lingual, foram corados com HE (hematoxilina-eosina) e analisadas em microscópio Opticam 0300S, objetiva 4x, 10x e 40x, aumento total 40, 100 e 400x.

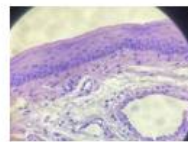
Amostras da cirurgia realizada com a tesoura Íris (grupo controle) dia zero



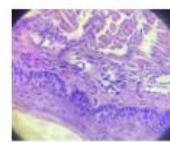
Amostra J: Presença de discreto e difuso edema extracelular. Presença de preservação/integridade de epitélio superficial. Presença discreta de angiogênese, com **ectasia vascular**. Presença de raros monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos.



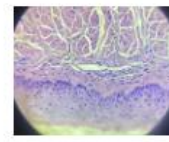
Amostra K: Presença de discreto edema extracelular. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial, com ligeira acantose. Presença discreta de angiogênese. Presença de poucos plasmócitos e discretos monócitos/histiócitos e pequenos linfócitos.



Amostra L: Presença de tecido estromal com moderado edema extracelular. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial. Presença discreta de angiogênese e discreto **foco hemorrágico**. Presença de poucos plasmócitos, monócitos, histiócitos e pequenos linfócitos.

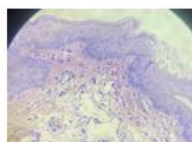


Amostra M: Presença de discreto edema extracelular. Presença de preservação de epitélio superficial, com acantose. Presença discreta de angiogênese, **ectasia vascular leve e tecido reacional**. Presença de discretos monócitos, histiócitos e pequenos linfócitos - raros mastócitos.

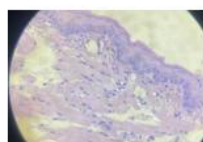


Amostra N: Presença de preservação, integridade de **epitélio superficial, com acantose**. Presença discreta de **tecido reacional**. Presença de monócitos, plasmócitos, histiócitos e pequenos linfócitos - infartando de maneira discreta camada muscular.

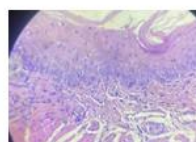
Amostras do dia 7 após a cirurgia com tesoura Íris (grupo controle)



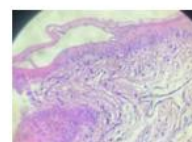
Amostra O: Presença de moderado e difuso edema extracelular, em estroma. Presença de preservação/integridade de epitélio superficial. Presença discreta de angiogênese. Presença de poucos monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos.



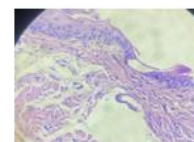
Amostra P: Presença de discreto edema extracelular. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial. Presença de angiogênese e **ectasia vascular**. Presença de poucos plasmócitos e discretos monócitos/histiócitos e pequenos linfócitos - raros mastócitos.



Amostra Q: Presença de tecido estromal com discreto edema extracelular. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial, **com acantose**. Presença discreta de angiogênese. Presença de poucos plasmócitos, monócitos e pequenos linfócitos.

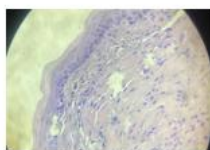


Amostra R: Presença de tecido estromal com moderado edema extracelular. Presença relativa de preservação de epitélio superficial, com acantose. Presença discreta de angiogênese, **alguns vasos congestos e reatividade em estroma**. Presença de poucos plasmócitos, monócitos e pequenos linfócitos.

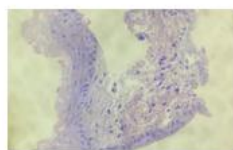


Amostra S: Presença de focos com perda parcial da integridade de epitélio superficial, com acantose. Presença discreta de **tecido reacional**, marcado edema extracelular. Presença de monócitos, plasmócitos, histiócitos e pequenos linfócitos, raros mastócitos - infiltrado leve e difuso em camada muscular.

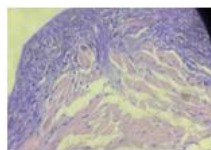
Amostras do dia zero com a cirurgia realizada com laser diodo de alta potência comp de onda de 980 nm (Grupo laser 980 nm)



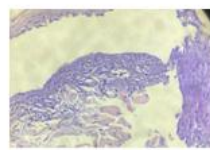
Amostra A: Presença de tecido estromal com discreto edema extracelular. Presença moderada de preservação de epitélio superficial. Presença de discreta quantidade de neutrófilos. Presença discreta de monócitos e pequenos linfócitos.



Amostra B: Presença de tecido estromal com discreto edema extracelular e com **focos de degeneração**. Presença de **discreta hemorragia** superficial. Presença de discreta quantidade de neutrófilos. Presença discreta de monócitos e pequenos linfócitos.



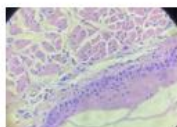
Amostra C: Presença de tecido estromal com marcado edema extracelular e com foco extenso de **degeneração tecidual**. Presença discreta de foco com preservação de epitélio superficial. Presença de discreta quantidade de neutrófilos. Presença discreta de monócitos e pequenos linfócitos.



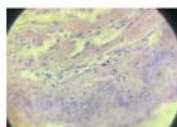
Amostra D: Presença de tecido estromal com moderada edemaciação e com foco moderado de **degeneração tecidual**. Presença discreta de focos com preservação de epitélio superficial. Presença de discreta quantidade de neutrófilos. Presença discreta de monócitos e pequenos linfócitos.

Neste grupo, um dos espécimes não conseguiu ser anestesiado, sendo excluído da investigação

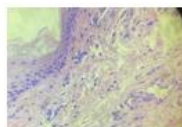
Amostras da reparação tecidual 7 dias depois da cirurgia com laser diodo de alta potência, comp de onda de 980 nm (Grupo laser 980 nm).



Amostra E: Presença de tecido estromal com moderado e difuso edema extracelular. Presença de preservação de epitélio superficial, com ligeira acantose. Presença discreta de angiogênese. Presença de raros monócitos e pequenos linfócitos



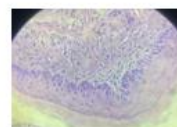
Amostra F: Presença de tecido estromal com moderado e difuso edema extracelular. Presença de preservação de epitélio superficial, com ligeira **acantose**. Presença discreta de angiogênese. Presença de raros mastócitos e discretos monócitos e pequenos linfócitos.



Amostra G: Presença de tecido estromal com moderado e difuso edema extracelular. Presença de preservação de epitélio superficial, com **acantose**. Presença discreta de angiogênese e **tecido reacional**. Presença de raros neutrófilos e discretos monócitos, histiócitos e pequenos linfócitos.

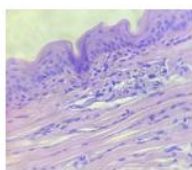


Amostra H: Presença de tecido estromal com moderado e difuso edema extracelular. Presença de preservação de epitélio superficial, com acantose. Presença discreta de angiogênese, **ectasia vascular e tecido reacional**. Presença de discretos monócitos, histiócitos e pequenos linfócitos.

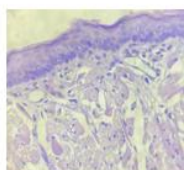


Amostra I: Presença de tecido estromal com discreto e difuso edema extracelular. Presença de preservação de epitélio superficial, com **acantose**. Presença discreta de **tecido reacional e focos superficiais de degeneração**. Presença de monócitos, histiócitos e pequenos linfócitos.

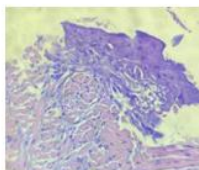
Amostras do dia zero com a cirurgia realizada com laser diodo de alta potência comp de onda de 450 nm (Grupo laser 450 nm)



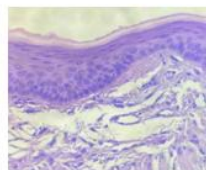
Amostra T: Presença de discreto edema extracelular, em estroma. Presença de preservação/ integridade de epitélio superficial. Presença discreta de angiogênese. Presença de poucos monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos, raros mastócitos.



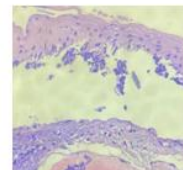
Amostra U: Presença de discreto a moderado e difuso edema extracelular, em estroma. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial. Presença de angiogênese e **ectasia/ dilatação vascular**. Presença de plasmócitos e monócitos/ **macrófagos** e pequenos linfócitos - raros mastócitos dispersos.



Amostra V: Presença de tecido estromal edema extracelular, focos de **degeneração tecidual**. **Perda difusa da preservação, integridade de epitélio superficial**. Presença discreta de angiogênese. Presença de poucos plasmócitos, monócitos/ **macrófagos** e pequenos linfócitos, além de esparsos neutrófilos e

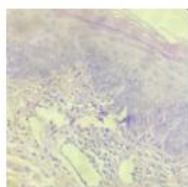


Amostra W: Presença de tecido estromal com moderado, difuso edema extracelular. Presença relativa de preservação de epitélio superficial, com **acantose**. Presença relativa de preservação de epitélio superficial, com acantose. Presença discreta de angiogênese, alguns **vasos dilatados/ ectasiados e reatividade em estroma**. Presença de poucos plasmócitos, monócitos e pequenos linfócitos, raros mastócitos.

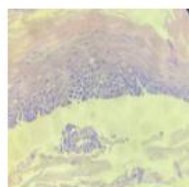


Amostra X: Presença de focos com **perda parcial da integridade de epitélio superficial, com degeneração**. Presença discreta de tecido reacional, com edema extracelular. Presença de angiogênese e congestão vascular. Presença de monócitos, plasmócitos, histiócitos e pequenos linfócitos, raros mastócitos - raros neutrófilos.

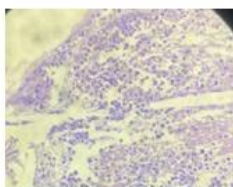
Amostras do dia 7 com a cirurgia realizada com laser diodo de alta potência comp de onda de 450 nm (Grupo laser 450 nm)



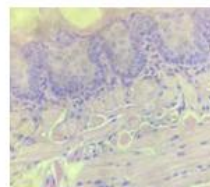
Amostra Y: Presença de discreto edema extracelular, em estroma. Presença de preservação/ integridade de epitélio superficial, com **acantose**. Presença discreta de angiogênese e dilatação vascular. Presença de poucos monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos, com raros neutrófilos



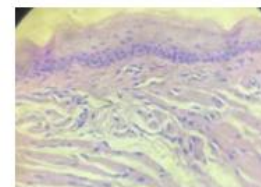
Amostra Z: Presença de discreto a moderado e difuso edema extracelular, em estroma. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial, com **acantose**. Presença de plasmócitos e monócitos/ **macrófagos** e pequenos linfócitos.



Amostra Z1: Presença de tecido estromal edema extracelular, **focos de degeneração tecidual**. Presença de preservação, integridade de epitélio superficial, com marcada **acantose**. Presença discreta de angiogênese, com **dilatação vascular**. Presença de plasmócitos, monócitos/ **macrófagos** e pequenos linfócitos, além de neutrófilos e **células degeneradas**.



Amostra Z2: Presença de tecido estromal com discreto/ moderado, difuso edema extracelular. Presença relativa de preservação de epitélio superficial, com **acantose**. Presença discreta de angiogênese e **leve reatividade em estroma**. Presença de poucos plasmócitos, monócitos/ **macrófagos** e pequenos linfócitos



Amostra Z3: Presença relativa de preservação de epitélio superficial. Presença discreta de edema extracelular. Presença de monócitos, plasmócitos e pequenos linfócitos.

Anexo 6: Relatório de Análise de lâminas de Microscopia

Coloração: Tricrômico Masson – verificação da quantidade de fibras colágenas

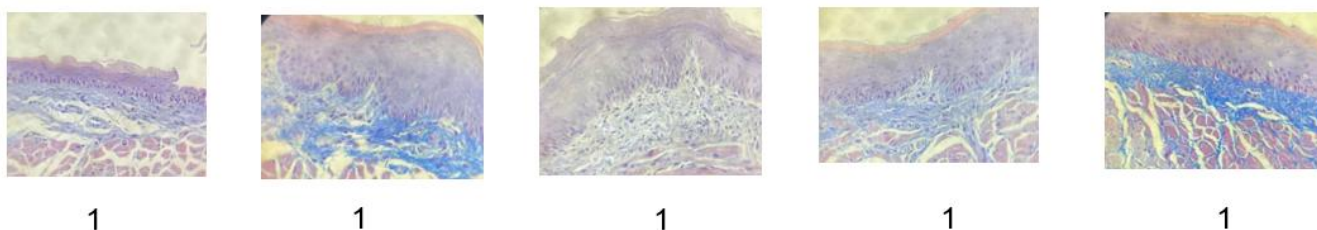
Responsável pela análise: M.V. Priscila Sarkozi Pereira da Silva (CRMV-SP: 35737) Os cortes histológicos de amostras retiradas de região de freio lingual, foram corados com TM (Tricrômico Masson) e analisadas em microscópio Opticam 0300S, objetiva 4x, 10x e 40x, aumento total 40, 100 e 400x.

Obs. Para corar colágeno para análise histológica, utilize métodos tricrômicos como o de Masson ou Van Gieson, que tingem especificamente as fibras de colágeno (geralmente de verde ou azul no Masson e vermelho no Van Gieson) e outros componentes teciduais. Outra técnica comum é o uso do corante Picrosirius Red, que cora o colágeno de vermelho e pode ser observado tanto em microscopia de campo claro quanto de polarização.

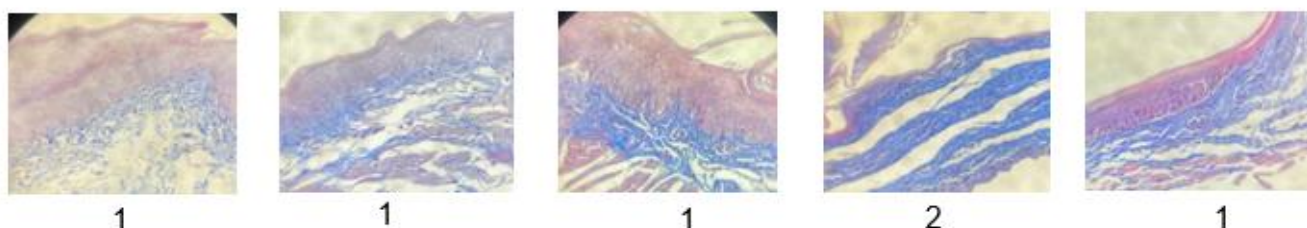
Características de tecido conjuntivo com feixes de fibras de colágeno desorganizadas (aspecto fibrosado): Pontuação: Ausente = 0; Leve = 1; Moderado = 2; Acentuado = 3

Legenda: A classificação de tecido fibrótico baseou-se mediante a deposição exagerada/ espessamento de colágeno, formação excessiva do mesmo, desorganização de arquitetura e desregularidade. Todas as peças apresentaram presença de colágeno, mas especificamos apenas o colágeno que se encontrava depositado de forma irregular.

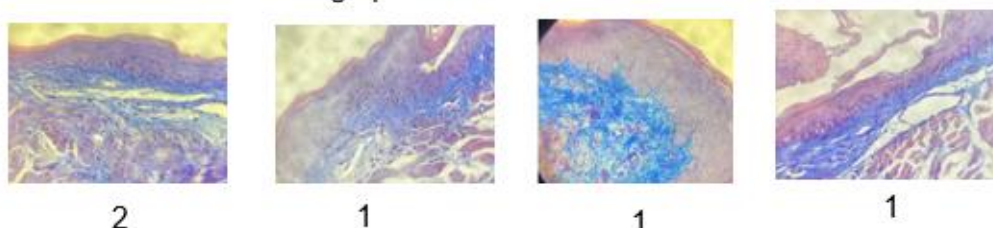
Amostra grupo **tesoura** dia **zero**



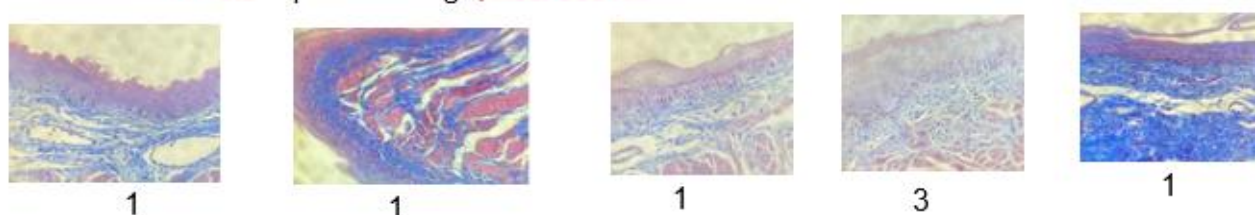
Amostra do grupo **tesoura** no **7° dia** depois da cirurgia



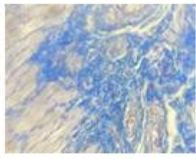
Amostras do dia **zero** do grupo **laser 980 nm**



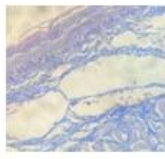
Amostras do **7° dia** depois da cirurgia, **laser 980 nm**



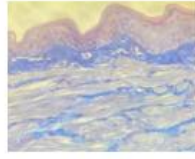
Amostras do dia zero do laser 450 nm



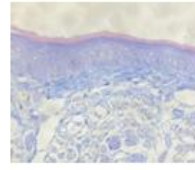
1



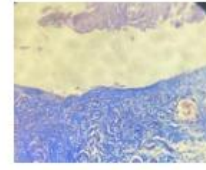
1



2

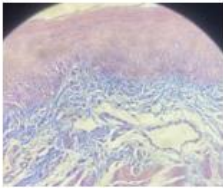


1



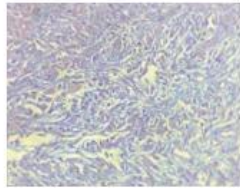
3

Amostras do dia 7 do laser 450 nm



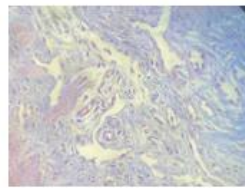
1

Amostra Y



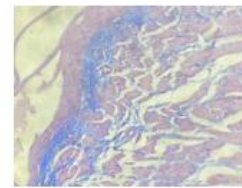
1

Amostra Z



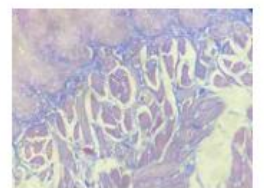
1

Amostra Z1



0

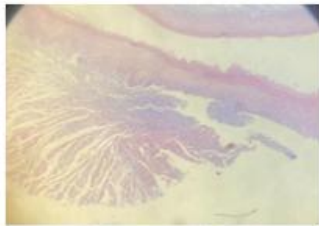
Amostra Z2



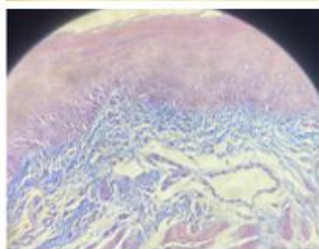
1

Amostra Z3

Amostra Y:

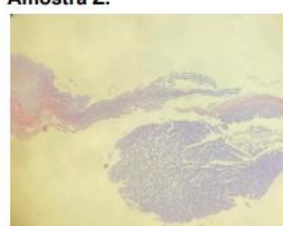


10x

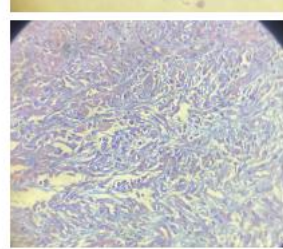


40x

Amostra Z:

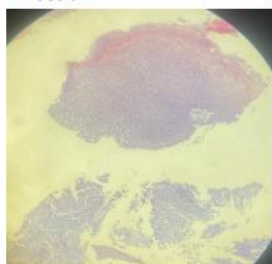


10x



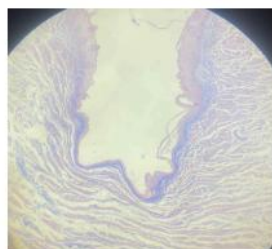
40x

Amostra Z1:



10x

AmostraZ2

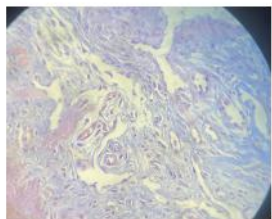


10x

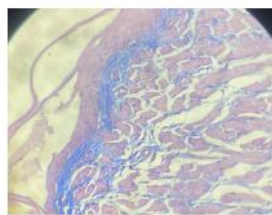
AmostraZ3



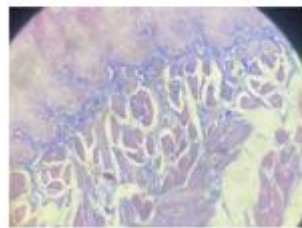
10x



40x



40x



40x

OBS: Para garantir maior precisão e padronização na localização da área de interesse nas amostras do sétimo dia do grupo laser diodo 450 nm, optou-se por ajustar a lente de aumento utilizada durante a análise. Dessa forma, os cortes histológicos provenientes da região de freio lingual, corados com TM (Tricrômico de Masson), foram examinados em microscópio Opticam 0300S, utilizando objetivas de 4x, 10x e 40x (aumentos totais de 40x, 100x e 400x), conforme demonstrado acima para fins de comparação.