

Nathali Cordeiro Pinto

**Análise do efeito do laser de alta potência em valvas mitrais
cardíacas de suínos: estudo experimental**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cirurgia Torácica e Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Pablo Maria Alberto Pomerantzeff

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pinto, Nathali Cordeiro

Análise do efeito do laser de alta potência em valvas mitrais cardíacas de suínos : estudo experimental / Nathali Cordeiro Pinto. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cirurgia Torácica e Cardiovascular.

Orientador: Pablo Maria Alberto Pomerantzeff.

Descritores: 1.Estenose da valva mitral 2.Cordas tendinosas 3.Terapia a laser 4.Febre reumática 5.Insuficiência da valva mitral 6.Valva mitral 7.Valvas cardíacas 8.Suínos

USP/FM/DBD-163/14

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Flora e Edvard, que dedicaram suas vidas a minha formação e estudo e à minha preciosa irmã Samira, pelo carinho, amor e orgulho sempre demonstrados, tudo o que sou devo a vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, acima de tudo, fonte da vida e sabedoria, por permitir que eu realizasse este sonho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Flora e Edvard, pelo amor incondicional, que me ensinaram a ter força e fé, pelo exemplo de luta e determinação para conquista de nossos objetivos e por serem íntegros e corretos. Agradeço a imensa bondade e sabedoria nos momentos difíceis, obrigada pelo constante incentivo para nunca desistir.

À minha querida irmã Samira Cordeiro Pinto, pela amizade, pela alegria em conviver e felicidade em ter.

À minha querida Família, pelo afeto, e que esteve comigo em todos os momentos me apoiando: Tia Fimara C. Reiss, Tio Oscar R. Reiss e aos Primos “irmãos”: Bruno C. Reiss, Breno C. Reiss, Samir A.C. da Silva, Sami A.C. da Silva e Mikael C. da Silva, esta conquista também é de vocês.

Ao querido Marcelo Augusto da Silva, pela paciência, que manteve seu sorriso, otimismo e acima de tudo pelo amor e companheirismo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pablo Maria Alberto Pomerantzeff, pela fraternidade com que me acolheu, pela orientação e confiança em realizar este projeto, pela alegre convivência, exemplo de dedicação e humanismo com seus pacientes e que me faz acreditar a cada dia que tudo é possível. Minha eterna admiração pela vibração com que faz seu trabalho.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Chavantes, com quem tenho o privilégio da amizade e do convívio, por se mostrar sempre disponível e pela ajuda imprescindível, pelas primeiras oportunidades de trabalho, sem as quais não chegaria até aqui. Todas as homenagens seriam poucas diante de tanto amor e generosidade na busca constante de ajudar seus pacientes e ensinar seus alunos. Sem dúvida, uma das médicas que mais contribui para o crescimento da especialidade laser no Brasil e o reconhecimento do nosso trabalho em outros países.

À Profª Drª Vera Dermachi Aiello pela fundamental ajuda com os estudos histológicos e atenção a mim dispensada. A quem devemos grande mérito nos resultados deste estudo.

Aos Professores Dr. Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins e Dr. Rodrigo Labat Marcos por permitir o uso do laboratório, dos aparelhos e pelo enorme auxílio com as análises mecânicas realizadas.

À Banca de Qualificação: Prof. Dr. Luis Alberto de Oliveira Dallan, Prof. Dr. Roberto Costa e Profª. Drª. Elisabeth Mateus Yoshimura pela construtiva discussão que enriqueceram a qualidade desta tese.

À Drª. Daniela F. Teixeira da Silva, da Universidade Nove de Julho, pela ajuda com os cálculos dosimétricos do laser.

Aos amigos do Instituto de Física e IPEN-USP: Ana Carolina Magalhães, Marcelo Sousa, Caetano P. Sabino, Carolina Benetti e Tânia Mateus Yoshimura, pelo nosso capítulo SPIE-USP, Brasil, por mostrarem sempre solícitos e pelos bons momentos nas nossas reuniões e Congressos.

Aos colegas do IPEN-USP: Profª. Drª. Marta Ribeiro Simões, Profª. Drª. Denise Zezell, Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas e Dr. Alessandro Deana, por permitirem o uso do laboratório e dos aparelhos, além das importantes sugestões agregadas a este trabalho.

À Drª Luciana Almeida Lopes por acreditar no meu projeto desde o início e sempre atenciosa em me ajudar.

Aos queridos amigos e companheiros de pesquisa que acompanharam minha carreira profissional desde o início: Drª Mara Helena C. Pereira, Drª Carla Moreira Albhy, Drª Sueli Tomimura, Drª Ivany Machado de C. Baptista e Dr. Nelson F. Serrão Junior.

Aos Professores do Departamento de Cirurgia Torácica e Cardiovascular, pelas disciplinas que me propiciaram grande aprendizado.

À Joana Oleiro, secretária da Unidade Cirúrgica de Cardiopatia Valvar do InCor, pelos momentos de descontração, pela eficiência e ajuda no decorrer desta tese e à Juliana Lattari Sobrinho, competente funcionária da Pós-Graduação do InCor.

Ao Junior Falcetti, brilhante desenhista, responsável pelas ilustrações dessa tese.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“Se houver uma vontade, haverá um caminho”

(Witness Lee)

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2^a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Gráficos

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1.	Coração-Anatomia e Fisiologia	3
2.1.1.	Anatomia da Valva Mitral	4
2.1.2.	Estrutura da Corda Tendínea	7
2.1.3.	Estrutura da Cúspide	9
2.1.4.	Resistência Mecânica	10
2.2.	Prolapso da Valva Mitral	11
2.3.	Febre Reumática	12
2.3.1.	Estenose Mitral	13
2.3.2.	Insuficiência Mitral	13
2.4.	Correção Cirúrgica na Doença Reumática	14
2.5.	Laser – Aspectos Históricos e Conceito	17
2.5.1.	Características e Princípios do Laser	17
2.5.2.	Classificação dos Lasers	18
2.5.3.	Interação do Laser com os Tecidos	19
2.5.4.	Efeitos do Laser de Baixa Intensidade (LBI)	20
2.5.5.	Efeitos do Laser de Alta Potência (LAP)	20

2.5.6. Tipos de Lasers Cirúrgicos.....	22
2.5.7. Efeito Residual do Laser Cirúrgico.....	23
2.5.8. Parâmetros do Laser.....	23
2.5.9. Laser na Área Cardiovascular.....	24
2.5.10. Atuação do Laser de Alta Potência sobre o Colágeno.....	26
3 OBJETIVO.....	28
4 METODOLOGIA.....	29
4.1. Critérios de Seleção das Valvas Cardíacas.....	29
4.2. Aplicação do Laser de Alta Potência.....	30
4.3. Método de Mensuração Computadorizada das Cordas Tendíneas.....	32
4.4. Termografia.....	32
4.5. Tomografia por Coerência Óptica (Optical Coherence Tomography - OCT).....	33
4.6. Preparação das Amostras.....	34
4.7. Avaliação Histológica.....	34
4.7.1. Microscopia Óptica.....	34
4.7.1.1. Medida da área corada das cordas tendíneas.....	35
4.7.1.2. Análise da Birrefringência.....	35
4.7.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	36
4.8. Avaliação Mecânica.....	38
4.9. Imagem Fotográfica.....	39
4.10. Análise Estatística.....	39
5 RESULTADOS.....	40
5.1. Alterações encontradas na corda tendínea antes e após irradiação do laser.....	40
5.2. Estudo Termográfico.....	44
5.3. Estudo Microscópico das Cordas Tendíneas.....	46
5.3.1. Microscopia Óptica.....	46
5.3.2. Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	51
5.4. Estudo Microscópico das Cúspides.....	52
5.4.1. Medidas da Extensão do Corte com o Laser.....	54
5.5. Estudo da Corda Tendínea e Cúspide pela Tomografia por Coerência Óptica.....	57
5.6. Estudo Mecânico.....	58

6	DISCUSSÃO.....	59
7	CONCLUSÃO.....	64
8	REFERÊNCIAS.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ArF	Fluoreto de argônio
As-Ga-Al	Arsenieto-de-gálio-alumínio
As-Ga	Arsenieto-de-gálio
ATP	Adenosina trifosfato
CLA	Centro de Lasers e Aplicações
CW	Continuos wave
DE	Densidade de energia
DP	Densidade de potência
Desl máx	Deslocamento máximo
Fmáx	Força máxima
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FR	Febre reumática
HCl	Ácido clorídrico
HE	Hematoxilina-Eosina
He-Ne	Hélio-neônio
InCor-HC	Instituto do Coração do Hospital das Clínicas
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
IM	Insuficiência mitral
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
LAP	Laser de alta potência
LBI	Laser de baixa intensidade
LED	Light emitting diode
LLLT	Low level laser therapy
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
Nd:YAG	Neodímio: ítrio alumínio granada
OCT	Tomografia por coerência óptica
PGs	Proteoglicanos

RTML

TGF

USP

VEGF

XeCl

Revascularização transmiocárdica a laser

Fator de transformação de crescimento

Universidade de São Paulo

Fator de crescimento vascular endotelial

Cloreto de xenônio

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Percentual
°	Graus
mm	Milímetro
cm	Centímetro
nm	Nanômetro
μm	Micrômetro
μl	Micro litro
°C	Graus Celsius
Hz	Hertz
J	Joules
W	Watts
s	Segundos
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
W/cm ²	Watts por centímetro quadrado
mW	Miliwatts
CO ₂	Dióxido de carbono
N	Newton
λ	Comprimento de onda
<	Menor que
>	Maior que
=	Igual

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anatomia interna do coração humano (visão de um corte sagital).....	4
Figura 2 - Valva mitral do coração humano.....	7
Figura 3 - Modelo esquemático dos principais componentes da corda tendínea da valva mitral...9	
Figura 4 - Gráfico da absorção dos diferentes comprimentos de onda e cromóforos absorvedores.	20
Figura 5 - Laser de alta potência, diodo (a) e amostra posicionada sobre a bancada (b).....	31
Figura 6 - Durante aplicação do laser nas cordas tendíneas.....	32
Figura 7 - Aparelho de termografia conectado ao computador (a) e imagem térmica das cordas tendíneas da valva mitral na tela do computador (b).....	33
Figura 8 - Aparelho de OCT à esquerda (a); imagem da superfície e abaixo da corda tendínea na tela do computador em tempo real durante o experimento (b).....	34
Figura 9 - Corda tendínea com parte da cúspide e do músculo papilar (a); aparelho de teste mecânico (b) e corda tendínea fixada nas garras do aparelho (c).....	38
Figura 10 - Imagem térmica da corda tendínea durante a irradiação com o laser.....	44
Figura 11 - Curva tempo-temperatura mostra a temperatura máxima alcançada na corda tendínea (48°C).....	45
Figura 12 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno (grupo controle). Corte corado com Hematoxilina-Eosina (a); corte corado pelo Tricrômico de Masson, onde se nota coloração homogênea e azulada, como esperado para um tecido colagenizado normal (b); e corte corado pelo Picrosírius visualizado sob luz polarizada, onde se nota a birrefringência do colágeno (c).....	46
Figura 13 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno submetida ao laser (G1). Corte corado com Hematoxilina-Eosina, onde se observa área irregular hialina ocupando quase a totalidade da espessura da corda (a); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escura nas áreas centrais correspondentes ao aspecto hialino da figura (b); e	

corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se nota a birrefringência diminuída do colágeno nas mesma aéreas (c).....47

Figura 14 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno submetida ao laser (G2).

Corte corado com Hematoxilina-Eosina, onde se observa área irregular hialina ocupando quase a totalidade da espessura da corda (a); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escura nas áreas centrais correspondentes ao aspecto hialino da figura (b); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se nota a biorrefringência do colágeno pouco diminuída (c).....48

Figura 15 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno submetida ao laser (G3).

Corte corado com Hematoxilina-Eosina, onde se observa área irregular hialina ocupando as extremidades da corda (a); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escura correspondentes ao aspecto hialino da figura (b); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se nota áreas de menor birrefringência do colágeno nas mesmas áreas (c).....49

Figura 16 - Fotomicrografia eletrônica da ultraestrutura de uma corda valvar normal (grupo controle).

Notam-se fibras de colágeno adensadas e seccionadas transversalmente. Aumento original 10000 x (a) e 25000 x (b).....50

Figura 17 - Fotomicrografias eletrônicas da ultraestrutura de uma corda valvar submetida ao laser de alta potência.

Notam-se fibras de colágeno separadas e seccionadas em diversas orientações. Aparentemente as fibras de colágeno são menores em diâmetro, quando comparado com o grupo controle. Aumento original 10000 x (a) e 25000 x (b).....51

Figura 18 - Cortes histológicos da cúspide normal de suíno submetido ao corte com lâmina de bisturi (G5).

Corado com Hematoxilina-Eosina (a); corado com Tricrômico de Masson, onde nota-se aspecto histológico típico da cúspide e coloração azulada homogênea (b); e corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde observamos a birrefringência do colágeno (c).....52

Figura 19 - Cortes histológicos da cúspide normal de suíno submetido ao corte com laser (G6).

Aspecto basofílico hialino, focalmente em cortes corados pela Hematoxilina-Eosina (a,d); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escura nas bordas correspondentes ao aspecto hialino da figura (b,e); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se observa áreas de menor birrefringência do colágeno nas mesmas áreas

(c, f).....	53
Figura 20 - Distâncias a partir do corte com o laser, na coloração Tricômico de Masson (a); e na coloração Picrosírius vermelho visualizado sob luz polarizada (b).....	55
Figura 21 - Imagens da corda tendínea da valva mitral normal pelo método de OCT mostrando a viabilidade da técnica. As imagens foram realizadas em tempo real de forma não invasiva durante a aplicação do laser (a e b). A mesma imagem em 3D da corda tendínea da valva mitral (b).....	56
Figura 22 - Imagem da cúspide da valva mitral no momento em que foi cortada pelo laser. As imagens da OCT foram realizadas em tempo real de forma não invasiva e mostra a viabilidade da técnica.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas do comprimento inicial das cordas tendíneas nos 4 grupos (G1, G2, G3 e G4).....	40
Tabela 2 - Medidas do diâmetro inicial das cordas tendíneas nos 4 grupos (G1, G2, G3 e G4).....	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Medidas do comprimento inicial das cordas tendíneas (pré laser) e medidas finais (pós laser) nos grupos estudados, estatisticamente significantes.....	41
Gráfico 2 - Medidas do diâmetro inicial das cordas tendíneas (pré laser) e medidas finais (pós laser) nos grupos estudados.....	42
Gráfico 3 - Temperatura alcançada na corda tendínea durante aplicação do laser. Nota-se que o G2 obteve uma temperatura menor que nos outros grupos, considerado estatisticamente significativo ($p=0,019$).....	42
Gráfico 4 - Fração de área (porcentagem) de Masson vermelho na corda tendínea (microscopia óptica).....	43
Gráfico 5 - Correlação da temperatura e presença de Masson vermelho na corda tendínea.....	43
Gráfico 6 - Distâncias a partir do corte com o laser ($p=0,044$).....	55
Gráfico 7 - Média das distâncias avaliadas nas lâminas coradas pelo Tricômico de Masson e Picrosírius ($p=0,044$).....	56
Gráfico 8 - Tração mecânica das cordas tendíneas do grupo laser e grupo controle até a ruptura do tecido. Fmax para Força máxima e Desl max para deslocamento máximo.*Estatisticamente significativo ($p=0,05$).....	58

Pinto NC. *Análise do efeito do laser de alta potência em valvas mitrais cardíacas de suínos: estudo experimental* [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 2014.

Introdução e Objetivo: No Brasil, procedimentos valvares representam no mínimo 30% das cirurgias cardíacas realizadas no país. Em nosso meio ainda predominam as lesões valvares decorrentes da febre reumática e doenças degenerativas. Nos pacientes reumáticos, a valva mitral é a mais acometida, predominando a estenose devido à fusão comissural e lesões no plano subvalvar; porém espessamento e retração de cúspides também são comuns, determinando dupla lesão ou insuficiência desta valva. Em processos degenerativos, as cordas tendíneas podem se apresentar alongadas. Na tentativa de utilização futura do laser como método auxiliar na correção cirúrgica dessas valvopatias, iniciamos estudo experimental com o objetivo de comparar histologicamente o tecido valvar mitral de suínos (cordas tendíneas e cúspides) submetido com e sem o laser de alta potência (LAP). **Métodos:** Foram estudadas cordas tendíneas e cúspides mitrais de suínos jovens e saudáveis, divididos em 6 grupos: G1-Aplicação do laser em cordas tendíneas com o tempo de 15 s; G2- Aplicação do laser em cordas tendíneas com o tempo de 20 s; G3- Aplicação do laser em cordas tendíneas com o tempo de 30 s; G4- Grupo controle relacionado a G1, G2 e G3; G5- Grupo cúspide submetido a corte com lâmina de bisturi; G6- Grupo cúspide submetido a corte com laser. As cordas tendíneas dos grupos G1, G2 e G3 receberam tratamento com laser de diodo ($\lambda=980$ nm, $P=3,0$ W) e o grupo G6 com laser de diodo em outros parâmetros ($\lambda=980$ nm, $P=9,0$ W, $T=12$ s). Termografia e tomografia por coerência óptica foram utilizadas durante o experimento. Parte da amostra foi preservada em formaldeído e glutaraldeído para análise microscópica e a outra parte foi preservada em solução fisiológica 0,9% para análise mecânica. **Resultados:** Houve um decréscimo significativo no comprimento das cordas tendíneas após aplicação do laser quando comparado ao comprimento inicial ($p=0,005$ em G1 e G2 e $p=0,004$ em G3). À microscopia óptica, G1, G2 e G3 apresentaram áreas hialinas ocupando quase a totalidade da espessura da corda, quando coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE), áreas vermelho-escura na região central da corda quando coradas pelo Tricrômico de Masson e áreas com birrefringência diminuída quando coradas pelo Picrosírius vermelho. Na

avaliação mecânica, os grupos lasers apresentaram diminuição da rigidez do material, assim como na força máxima durante a ruptura, entretanto o deslocamento foi maior em relação ao grupo controle ($p=0,005$). No G5, evidenciamos ausência de qualquer alteração histológica. No G6 foram identificadas áreas de menor birrefringência do colágeno quando corado pelo Picrosírius vermelho, áreas estas que apresentavam aspecto basofílico hialino no HE e coloração vermelho-escura ao Tricrômico de Masson. **Conclusão:** As cordas tendíneas de valvas mitrais de suínos submetidas ao laser de alta potência apresentaram redução do seu comprimento final, diminuição na birrefringência e alteração na distribuição dos feixes de colágeno. Além disso, apresentaram queda da rigidez, maior fragilidade de rotura e maior deslocamento ao teste de tração mecânica quando comparada ao grupo controle. Com relação às cúspides, os danos térmicos encontrados no grupo corte com laser de alta potência foram maiores do que em relação ao bisturi de lâmina, quando evidenciados pela microscopia óptica.

Descritores: Estenose da valva mitral; Cordas tendinosas; Terapia a laser; Febre reumática; Insuficiência da valva mitral; Valva mitral; Valvas cardíacas; Suínos.

Pinto NC. *Analysis of high power laser effect in swine cardiac mitral valves: experimental study* [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2014.

Introduction and Objective: In Brazil, valvar procedures represent at least 30% of cardiac surgeries performed in the country. It still predominate valvar lesions resulting from rheumatic fever and degenerative diseases. In rheumatic patients, the mitral valve is the most affected, predominantly stenosis due to commissural fusion and lesions in the subvalvar plane, however, thickening and retraction of the leaflets are also common, causing double lesion or mitral insufficiency. In degenerative process, the chordae tendineae may present elongated. In an attempt to further use of the laser as an auxiliary method in the surgical correction of valvar heart disease, we started experimental study with the purpose of comparing the histological swine tissue mitral valve (chordae tendineae and cusps) with and without high-power laser (HPL) application. **Methods:** Normal porcine mitral valve chordae and cups were studied and divided randomly into the following 6 groups: G1- Laser in the chordae tendineae with time of 15s; G2- Laser in the chordae tendineae with time of 20s; G3- Laser in the chordae tendineae with time of 30s; G4- Control Group; G5- Cusp group cut with a scalpel blade; G6- Cusp group cut with laser. Chordae tendineae from G1, G2 e G3 received diode laser ($\lambda=980$ nm, P=3,0 W) and G6 diode laser with other parameters ($\lambda=980$ nm, P=9,0 W, T=12s). Termography and optical coherence tomography were included during the procedure. Part of the sample was preserved in formaldehyde and glutaraldehyde for microscopic analysis and another part was stored in 0.9% saline for mechanical analysis. **Results:** There was a significant decrease in chordae length after laser application when compared to the initial length (p=0,005 to G1 and G2; p=0,004 to G3). In laser groups, histological analysis revealed a typical hyaline areas occupying almost the entire thickness of the chordae, when stained with Hematoxylin-Eosin (HE); dark red central areas when stained with Masson Trichrome and a birefringence decrease when stained with Picrocirius red. In mechanical analysis, we found lower stiffness, maximum rupture force decrease and larger displacement compared with the Control Group (p=0,005). In G5, was evidenced absence of any histological abnormality and a homogeneous blue appearance, typical of the cusp.

However in G6, a basophilic hyaline aspect was found focally when stained with HE, dark red areas when stained with Masson Trichrome and a birefringence decrease when stained with Picrocirius Red. **Conclusion:** Chordae tendineae of normal porcine submitted to a high-power laser presented with reduced length, birefringence decrease and the collagen bundles organized into different orientations. Besides, presented lower stiffness, maximum rupture force decrease and larger displacement compared with the control group. Regarding cups, thermal changes were bigger in the cusp group cut with laser compared cusp group cut with scalpel blade, observed by optical microscopy.

Descriptors: Mitral valve stenosis; Chordae tendineae, Laser therapy; Rheumatic fever; Mitral valve insufficiency; Mitral valve; Heart valve; Swine.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 5 a 12 milhões de mortes anuais em países desenvolvidos e por 10 a 40 milhões de óbitos anuais em países em desenvolvimento¹.

A maioria das cirurgias cardiovasculares tem a capacidade de mudar a história natural da doença em evolução. As cirurgias cardíacas englobam o tratamento das doenças cardíacas coronarianas, enfermidades congênitas do coração, doenças das válvulas cardíacas e as cardiomiopatias². Um total de 2572 cirurgias cardíacas foram realizadas no InCor-HC, no ano de 2013, dos quais 609 foram para tratamento cirúrgico de cardiopatias valvares³.

A doença cardíaca reumática continua a ser um grave problema de saúde em países em desenvolvimento, levando a 233.000 mortes/ano. No Brasil, a incidência de febre reumática (FR) diminuiu 75% nos últimos 10 anos, entretanto a estatística da FR aguda ainda é alta, alcançando 5000 novos casos em 2002^{4,5}.

A lesão mais frequente da valva mitral com acometimento reumático é a estenose, traduzida por fusão comissural e alterações dos componentes anatômicos do plano subvalvar, tais como: espessamento das cordas tendíneas e sinequia papilovalvar dos músculos papilares. A técnica cirúrgica até hoje utilizada na resolução da estenose mitral consiste em secção da fusão comissural com bisturi de lâmina, e quando necessário a divisão dos papilares fusionados, assim chamadas de comissurotomia e papilarotomia mitral, respectivamente⁴. Em pacientes com insuficiência mitral de origem reumática, existem maiores dificuldades de se realizar a plástica mais adequada. No entanto, esses pacientes muito se beneficiam quando é possível a cirurgia conservadora. Esta técnica é mais complexa, incluindo anuloplastia, encurtamento das cordas, ressecção das cúspides, transposição de cordas e comissurotomia associada nos pacientes que apresentam dupla lesão da valva mitral (em até 28% dos casos)⁴.

Vários relatos demonstram a existência de reestenose tardia após a comissurotomia. A necessidade de reoperação varia de 11 a 27% no decorrer de oito anos. Nos pacientes que apresentam insuficiência mitral por degeneração mixomatosa, não é incomum a presença de

cordas tendíneas alongadas que necessitam de correção cirúrgica deste alongamento. Várias técnicas são utilizadas, porém não encontramos relatos na literatura de retração técnica com o laser de alta potência (LAP) dessas cordas para o encurtamento das mesmas. Sendo assim, a plástica da valva mitral na febre reumática é bastante discutida na literatura e os seus resultados são discordantes em várias publicações, pois a reconstrução valvar não é fácil e os resultados tardios sofrem a interferência de novos surtos da doença⁶.

O LAP é muito empregado com finalidade cirúrgica para ressecção de tumores, ablação de lesão, bem como corte delicado e preciso de tecido-alvo em estruturas nobres. Dependendo do coeficiente de absorção do tecido, pode-se ocasionar vaporização, carbonização, coagulação ou desnaturação de suas proteínas. Existem várias vantagens em se utilizar esse tipo de laser em distintas cirurgias, tais como: evitar e reduzir sangramento, infecção, dor e edema; além da precisão no corte cirúrgico⁷.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CORAÇÃO – ANATOMIA E FISIOLOGIA

O coração é um dos órgãos do mediastino, que se encontra situado no tórax, retroesternal, ladeado pelos pulmões, dentro do saco pericárdico. Na sua base encontram-se os grandes vasos, aorta e pulmonar. *In situ*, ocupa uma posição assimétrica, com o ápice apontando para diante, para baixo, e cerca de 60° para a esquerda. Suas quatro câmaras estão dispostas em dois pares funcionalmente semelhantes, separados um do outro pelo septo cardíaco. Cada par consiste em um átrio de parede delgada e um ventrículo de parede mais espessa⁸.

O átrio e o ventrículo direitos são separados um do outro pelo sulco atrioventricular (coronariano) direito, no qual se encontra a artéria coronária direita, inclusa em variável quantidade de gordura. A esquerda do ventrículo direito vê-se um pequeno segmento do ventrículo esquerdo, separado pelo sulco interventricular anterior⁸.

No átrio direito encontramos uma parte posterior de parede lisa, derivada do seio venoso embrionário, na qual desembocam as veias cavas superior e inferior, e outra trabeculada com parede muito fina. Estas são separadas pela crista terminal⁸.

A cavidade ventricular direita pode ser dividida em uma câmara de enchimento, pósteroinferior que contém a valva tricúspide, e uma câmara de esvaziamento, ântero-superior, da qual se origina o tronco da pulmonar que bifurca-se dando origem às artérias pulmonares direita e esquerda. Vários músculos papilares prendem as cúspides da valva tricúspide à parede ventricular direita por meio de alguns filamentos delgados, fibrosos, chamado cordas tendíneas⁸ (Figura 1).

O átrio esquerdo consiste em uma câmara de parede lisa, sendo esta nitidamente mais espessa do que a do átrio direito. Esta câmara recebe duas veias de cada pulmão. No ventrículo esquerdo estão as valvas mitral e aórtica, localizadas adjacentes uma à outra. Elas são separadas apenas por uma faixa fibrosa da qual se originam a maior parte da cúspide anterior (aórtica) da valva mitral e as porções adjacentes das cúspides esquerda e posterior da valva aórtica. A espessura média da parede ventricular esquerda é cerca de três vezes a espessura da parede

ventricular direita, sendo que, usualmente, se observam dois conjuntos de músculos papilares. A dupla origem embrionária de cada um deles é muitas vezes revelada por seus ápices bífidos, sendo que cada um destes recebe cordas tendíneas de ambas as cúspides da valva mitral⁸.

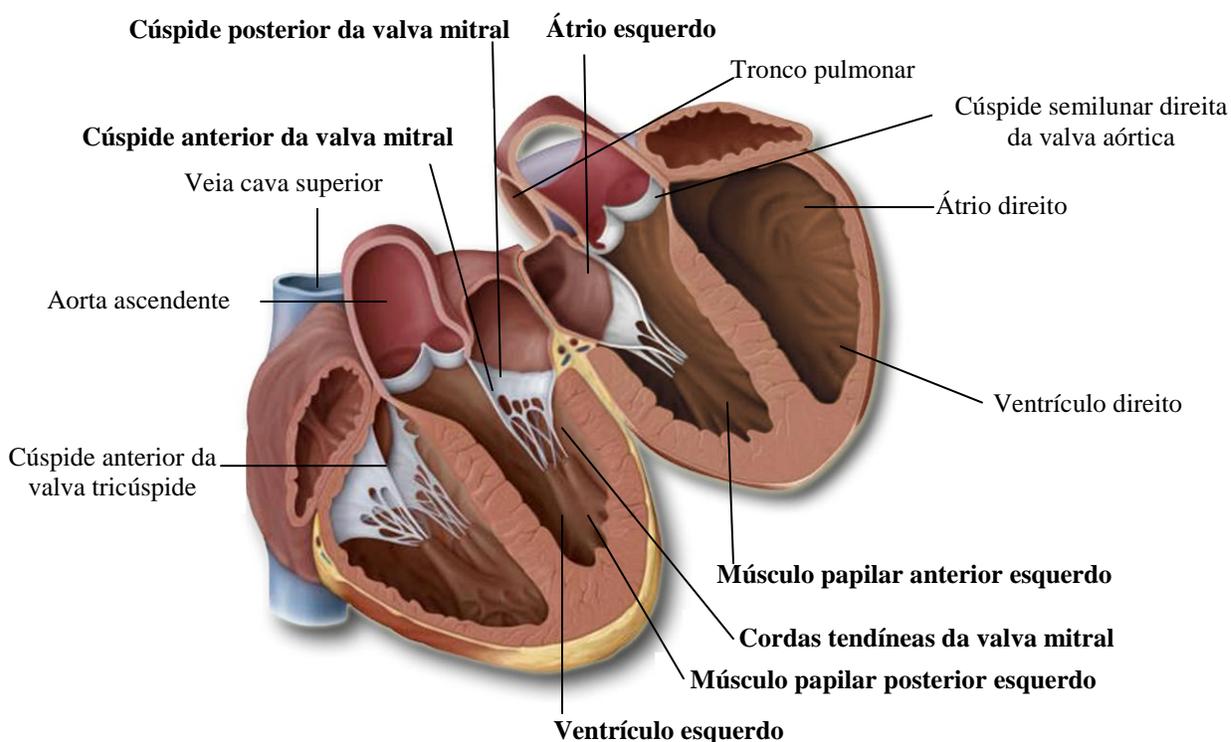


Figura 1 - Anatomia interna do coração humano (visão de um corte sagital).

2.1.1 ANATOMIA DA VALVA MITRAL

A valva atrioventricular esquerda é a estrutura anatômica que está posicionada entre o átrio esquerdo e o ventrículo esquerdo dos corações humanos normais. Foi chamada de Valva Mitral por Andréas Vesálius, anatomista belga do século XVI, por sua semelhança com a mitra papal⁹. O fluxo de sangue pelo óstio atrioventricular esquerdo é regulado pelo aparelho valvar mitral, composto de: anel valvar, 2 folhetos (cúspides), cordas tendíneas, que em conjunto formam a cordoalha, músculos papilares (Figura 2), bem como a participação da parede

ventricular esquerda e parede posterior do átrio esquerdo¹⁰. O funcionamento perfeito da valva mitral depende da ação coordenada desses elementos¹¹.

O anel valvar mitral ou anel fibroso mitral na sua porção anterior faz parte do esqueleto fibroso do coração, estando diretamente relacionado aos trígono fibrosos direito e esquerdo. As cúspides da valva mitral formariam uma “cortina” fixa à circunferência do anel mitral. A margem livre desta cortina se desprende na cavidade ventricular esquerda e é dividida por incisuras, as quais não atingem o anel. Alguns autores descrevem quatro cúspides na mitral: duas principais e duas acessórias, as comissuras, embora a maioria aceite a existência de apenas duas cúspides. A anterior, também chamada de direita, interna, maior, aórtica, septal ou ainda ântero-medial, e a posterior designada de esquerda, externa, menor, mural ou póstero-lateral¹⁰.

Os pontos anatômicos de união entre as cúspides anterior e posterior, isto é, as incisuras citadas acima, são conhecidas como comissuras. Nestes pontos encontramos 6 a 7 milímetros (mm) de tecido valvar¹⁰.

A cúspide anterior denota uma forma trapezoidal, cuja base é fixa à porção inicial da aorta e suas bordas laterais livres se prendem aos músculos papilares do ventrículo esquerdo através das cordas tendíneas. Seu corpo apresenta duas faces, a face atrial e a face ventricular. Na face atrial, acompanhando a margem inferior, a uma distância de 0,8 a 1,0 centímetros (cm) de sua borda livre, nota-se uma crista bem definida, constituindo a linha de fechamento valvar. Distalmente a esta, a cúspide é opaca à transluminação, apresentando um aspecto rugoso, áspero à palpação pelo que é chamada de zona áspera. Em forma decrescente, é mais larga na porção apical e se estreita em direção às comissuras, onde não é encontrada. Próxima a esta zona áspera, a cúspide apresenta-se lisa e translúcida, constituindo a chamada zona clara. O aspecto descrito de zona áspera é dado pela inserção das cordas tendíneas na face ventricular¹⁰.

A cúspide posterior é geralmente uma estrutura de 3 gomos ou lobos, o gomo central sendo o maior em 90% dos corações. Esta cúspide também apresenta zonas rugosa e clara além de uma zona basal. A cúspide posterior ocupa cerca de 65% da circunferência anular e a anterior aproximadamente 35%, embora com mais tecido funcionante¹⁰.

Existem dois músculos papilares principais; o ântero-lateral, único em 70% dos casos e o póstero-medial, que é múltiplo ou com 2 ou 3 pontas em 60% dos casos. Destes músculos, as cordas tendíneas se estendem em forma de leque até ao tecido da cúspide adjacente, as comissuras. As cordas identificam as comissuras com precisão, visto que a extensão de cada

comissura é definida pela inserção das cordas da comissura. Este é um ponto especialmente importante, visto que essas cordas raramente são alongadas, proporcionando um ponto de referência exato na operação, a fim de determinar o plano de fechamento correto das cúspides¹⁰.

Várias são as classificações das cordas tendíneas, de acordo com o seu ponto de inserção nas cúspides¹².

As cordas tendíneas se inserem nas zonas ásperas tanto na cúspide anterior quanto da posterior, assim como na zona basal da cúspide posterior. Cada corda da zona áspera divide-se em três outras logo após a sua origem no músculo papilar, uma das quais se insere na margem livre da cúspide, uma próxima à junção das zonas áspera e lisa, e outra entre as duas. Classicamente, duas das cordas da zona áspera anterior são grandes e espessas, conhecidas como cordas de reforço por causa de sua importância para a função da cúspide, sendo que uma surge no músculo papilar. Já a ântero-lateral é uma do músculo papilar póstero-medial. As cordas ásperas da cúspide posterior são um pouco mais curtas e delgadas do que as da cúspide anterior. Cordas basais da cúspide posterior são encontradas em cerca de 60% dos pacientes e são estruturalmente menos importantes que as cordas da zona áspera¹².

A valva mitral tem em média 25 cordas tendíneas, 9 na cúspide anterior, sendo 2 de reforço e 7 da região áspera; ademais 14 na cúspide posterior e 2 comissurais¹².

As diversas técnicas cirúrgicas empregadas na reconstrução da valva mitral não podem ser empregadas efetivamente a não ser que as estruturas anatômicas sejam perfeitamente reconhecidas e compreendidas¹².

A pressão transmitral exercida nas cúspides da valva mitral causa fechamento total durante a sístole, produzindo assim a tensão nas cordas tendíneas, as quais são inseridas em áreas diferentes da cúspide. A força exercida pelas cúspides nas cordas tendíneas é diretamente proporcional ao gradiente de pressão transmitral e para a área coberta pelas cúspides. Essas forças são transmitidas para os músculos papilares, os quais estão localizados na parede posterior do ventrículo esquerdo. Durante a sístole, uma mudança ocorre na configuração do anel mitral com sua redução excêntrica do tamanho. Assim, o movimento do ventrículo esquerdo produz um deslocamento na base do músculo papilar. O subsequente deslocamento e contração do músculo papilar, *per se*, afeta as distâncias entre as porções dos músculos papilares e o plano do anel mitral, que é um aspecto normal de movimento. Sabe-se o quanto é importante manter a integridade do músculo papilar, das cordas tendíneas e das cúspides da válvula mitral,

preservando o formato cônico do ventrículo esquerdo quando esta valva é substituída¹³.

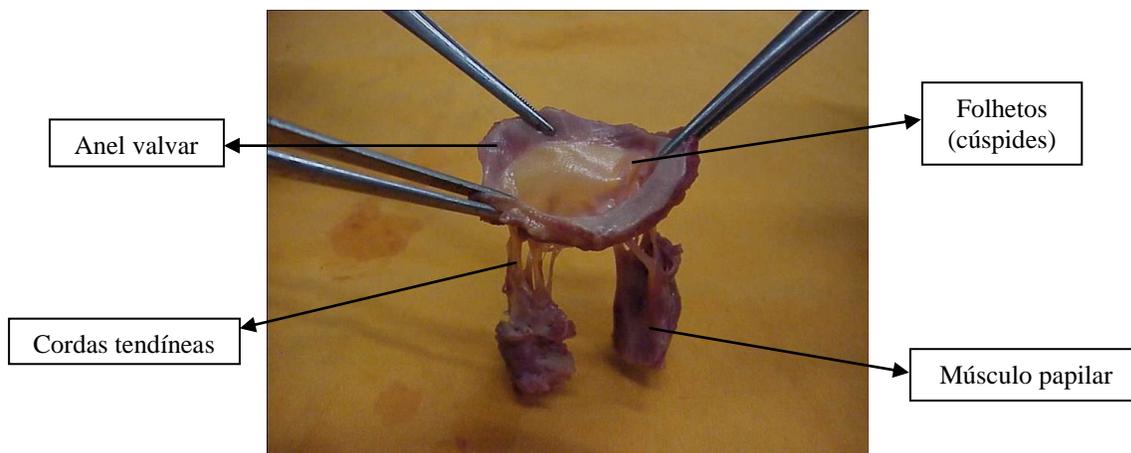


Figura 2 - Valva mitral do coração humano

2.1.2 ESTRUTURA DA CORDA TENDÍNEA

A corda tendínea da valva mitral, assim como o tendão patelar, é altamente especializada em tecido tendinoso que suporta e transmite as forças de tensão. Elas são compostas por fibrilas de colágeno, elastina, proteoglicanos (PGs), fibroblastos e água, dos quais os mais abundantes são as fibrilas de colágeno^{11,14}.

Certamente o colágeno é o maior e o mais importante componente de suporte de carga da valva mitral¹¹. Nesta encontram-se o colágeno tipo I, III e V. O colágeno tipo I, também encontrado em tendão, osso e pele, é o mais abundante na valva mitral, constitui 74% do colágeno da valva mitral^{11,16}. O colágeno tipo III, encontrado em pele, vasos e membranas fetais, constitui 24%, e o tipo V, 2 % do total de colágeno da valva mitral^{11,16}.

A corda tendínea possui duas camadas distintas de tecido conjuntivo. Um largo núcleo fibroso, composto por densos feixes colágenos e uma camada de fibras elásticas ao redor (Figura 3). Ambos, cúspide e corda tendínea são recobertos por uma simples e contínua camada de células endoteliais¹⁶. Na porção fibrosa da cúspide e da corda tendínea, as fibras colágenas estão intermixadas com fibras elásticas, ambas associadas com proteoglicanos^{11,16,17,18}. As cordas

tendíneas exibem uma quantidade de colágeno significativamente maior e menos elastina do que nas cúspides mitrais. Entretanto, nas cúspides há uma quantidade de água maior e mais glicosaminoglicanos¹⁹.

As cordas tendíneas de humanos e suínos revelam arquiteturas similares. Ambas cobertas pelo endotélio, com também as camadas internas compostas por feixes de colágeno longitudinais e oblíquos entremeados por fibras elásticas²⁰. Na junção músculo papilar-corda tendínea do coração humano, as bandas de colágeno mostram um arranjo mais organizado, formando uma malha com as fibras dispostas em ângulos ortogonais. Diferentemente, no coração de suínos as fibras neste local estão dispostas ao acaso²⁰.

A função das cordas é semelhante a dos tendões e ligamentos, exceto que as cordas estão sobre carga repetitiva contínua, com uma frequência relativamente alta (70 ciclos/minuto)¹⁴. Embora pressões maiores estejam presentes no ventrículo esquerdo no coração, não há diferenças no diâmetro das fibras de colágeno das cordas tendíneas quando comparado com o lado direito do coração de humanos²¹.

A configuração das fibrilas do colágeno varia com o tipo de corda e está associado com a condição de estresse na corda. Em estudo com suínos, as cordas marginais apresentaram diâmetros menores, mas com uma densidade de fibrila maior do que nas cordas basais e de suporte (principais)¹⁵.

Os PGs estão ligados a fibrilas de colágeno, perpendicularmente, em uma situação sem carga e tornam-se distorcidas quando as cordas estão com carga. O ângulo médio de assimetria acresce com a carga aplicada e, portanto, aumenta a tensão na corda. A observação na distorção das PGs com a aplicação da carga demonstra que em cordas tendíneas mitrais, ocorre o deslizamento interfibrilar e que as PGs desempenham um papel na interação fibrila a fibrila e provável transferência de força²².

Em estudo com corações humanos, o padrão de colágeno regular ondulado observado em indivíduos jovens muda gradualmente com a idade, pela deformação do padrão da onda. Em idosos, o núcleo denso de colágeno denota uma área de secção transversal reduzida que pode levar ao alongamento e eventual ruptura dessas cordas tendíneas²³.

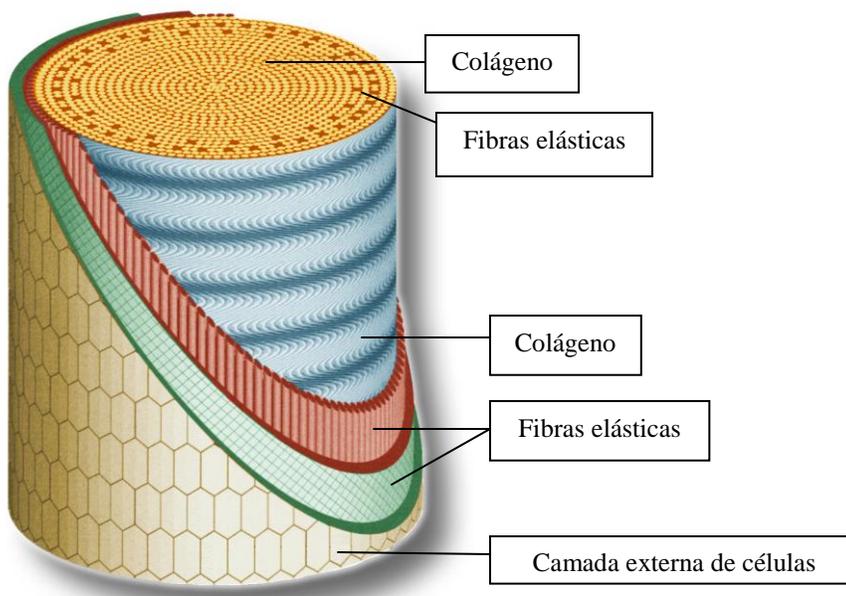


Figura 3 - Modelo esquemático dos principais componentes da corda tendínea da valva mitral.

2.1.3 ESTRUTURA DA CÚSPIDE

As cúspides anterior e posterior da valva mitral são constituídas por um núcleo fibroso denso, a lâmina fibrosa. Esta é contínua, próxima com o anel valvar e disposta distalmente das cordas tendíneas, que se inserem na superfície ventricular dos cúspides com exceção apenas da zona central da cúspide mitral anterior. Há uma quantidade variável de tecido conjuntivo frouxo no aspecto atrial da lâmina fibrosa, mais acentuada em tecidos jovens²⁴.

As cúspides são constituídas, principalmente, por feixes colágenos dispostos paralelamente, no sentido do maior eixo das valvas, cobertas pelo endocárdio atrial e ventricular. Estes feixes colágenos continuam-se no anel fibroso, constituindo, praticamente, uma única estrutura. Na região ântero-medial, onde o anel fibroso é incompleto, os feixes colágenos provenientes da cúspide anterior da valva mitral confundem-se com os do trígono intervalvar (região mitroaórtica). Observam-se também delgadas fibras elásticas no interior das cúspides valvares e a presença de feixes musculares no interior da cúspide anterior da valva mitral. Estes

feixes provenientes do miocárdio atrial possuem trajetória oblíqua, tendentes a longitudinal, em relação ao maior eixo da válvula, e se estendem da base da cúspide valvar até as proximidades de sua região central²⁵.

Os feixes colágenos, principal elemento fibroso das valvas, dispõem-se, predominantemente, em sentido longitudinal, em relação ao seu eixo maior, de modo que as cordas tendíneas de 2ª e 3ª ordens cruzam perpendicularmente os feixes colágenos da valva, formando uma espécie de rede de sustentação²⁴. Alguns autores citam a presença de fibras elásticas no interior das cúspides valvares e afirmam que essas fibras estão presentes em maior quantidade nas valvas mitrais prolapsadas²⁶.

2.1.4 RESISTÊNCIA MECÂNICA

O comportamento mecânico das cordas tendíneas da valva mitral está intimamente relacionada ao arranjo microestrutural dos componentes fibrosos^{20,27}. Como diferentes cordas se inserem em diferentes locais das cúspides, elas estão expostas a diferentes condições mecânicas, sendo assim, não é surpreendente que elas tenham estruturas internas diferentes^{27,28,29}. Cordas mais espessas são mais extensíveis que cordas finas. Em trabalho com cordas tendíneas de suínos, as mais finas apresentaram menores diâmetros médio de fibrilas, contudo com densidade média de fibrilas maiores²⁷.

Com relação às propriedades mecânicas das cordas tendíneas mitrais humanas normais e calcificadas, alguns autores observaram que as cordas normais são de 3 a 7 vezes mais rígidas ou mais resistentes do que as moderadamente calcificadas. Entretanto, não houve diferenças significantes com relação à tensão no momento da ruptura²⁹.

Não há estudos na literatura médica mundial abordando ou testando a resistência das cordas tendíneas após o uso do laser de alta potência. Apenas alguns estudos com interesses similares, como o estiramento máximo que as cordas tendíneas podem sustentar foi quantificado em um estudo realizado por JESEN et al (2001) com cordas tendíneas de suínos³⁰. Outro estudo evidenciou que a resistência das cordas tendíneas da valva mitral de humanos está relacionada com a sua espessura e o deslocamento no momento da ruptura durante o estiramento, sem relação

com o seu comprimento¹³.

RITCHIE et al (2006) desenvolveram uma técnica não-destrutiva para medir a tensão na corda da valva mitral de suínos, permitindo uma investigação no comportamento de tecidos biológicos sob condições de carga fisiológica¹⁸. As medições geométricas permitem concluir que as posições anatômicas da corda estão relacionadas com o ponto de inserção no músculo papilar, de modo que as cordas exercem as mesmas forças mecânicas de cada lado do folheto anterior. Um platô de tensão é atingido durante o fechamento da valva que suporta a hipótese que há um mínimo de deformação nas cordas durante o fechamento da valva. Embora a estrutura da corda ântero-lateral e pôstero-medial tenham significantes comprimento e diâmetro diferentes, eles expressaram a mesma tensão e taxa de deformação¹⁸.

2.2 PROLAPSO DA VALVA MITRAL

O prolapso da valva mitral é uma síndrome caracterizada pela proliferação mixomatosa da cúspide aumentando-a secundariamente de maneira a torná-la proeminente, para dentro do átrio, no momento da contração sistólica, podendo produzir um estalido. A principal etiologia é a presença de proliferação mixomatosa da valva na qual o tecido esponjoso, isto é, o componente frouxo da camada média, é proeminente e a quantidade de mucopolissacarídeo é aumentada secundariamente ao metabolismo anormal do colágeno³¹.

O prolapso da valva mitral decorrente da degeneração mixomatosa pode estar associado à calcificação do anel mitral, principalmente em pacientes idosos, e evolui com uma variedade de síndromes clínicas. Elas incluem a insuficiência mitral nos seus mais variados graus. O mecanismo mais freqüente desta insuficiência é o alongamento ou rotura de cordas³². Segundo SAVAGE et al (1983), a calcificação do anel mitral em valva mixomatosa é um processo degenerativo que envolve o esqueleto fibroso do coração, resultando em aumento do estresse no aparelho valvar mitral³³. Calcificação maciça do anel valvar mitral é encontrada em 0,2% de necropsias em pacientes com mais de 51 anos de idade, com incidência maior nas mulheres³⁴.

Para ALBUQUERQUE et al (2005), a degeneração mixomatosa representa 25,9% da etiologia dos pacientes submetidos à plástica da valva mitral, em uma experiência de 12 anos³².

2.3 FEBRE REUMÁTICA

A febre reumática (FR) é uma doença reumática, inflamatória, de origem autoimune e recidivante, como resposta do organismo a infecções pelo estreptococo (*Streptococcus pyogenes*) do grupo A de Lancefield. Existem cepas ditas reumatogênicas, o que se deve à virulência diferenciada desse subgrupo, rico em proteína M e ácido hialurônico na sua cápsula, determinando propriedades antifagocíticas³⁵. Esta condição caracteriza-se por um início febril, acompanhado de artrite grave, porém temporária e, sendo esta a característica mais comum, presente em 60%–80% dos pacientes. A cardite é a manifestação mais séria da doença, ocorre dentro de poucas semanas após uma infecção de garganta pelo *Streptococcus pyogenes* em 30%–45% dos pacientes⁴.

A febre reumática leva a uma pancardite, porém os seus efeitos são mais sentidos no endocárdio e nas valvas cardíacas (regurgitação mitral e aórtica)⁴. Quando submetidas à análise de sua espessura média, as valvas reumáticas revelam medidas superiores e uma quantidade acentuada de músculo e colágeno. Com o avançar da idade, há incremento de espessura, sem alteração significativa da composição valvar³⁵.

No Brasil, a doença reumática é um relevante problema de saúde pública, acometendo crianças e adolescentes e deixando como seqüelas lesões valvulares^{36,37}. A incidência da doença reumática em crianças, adolescentes e adultos jovens corresponde a 0,3% a 3% dos indivíduos⁶. O período etário mais atingido pela febre reumática está na faixa entre 3 e 15 anos³⁸. Para NETTER (1962), a frequência com que a FR se segue a uma infecção estreptocócica varia de 3% nas epidemias³⁹.

Realce-se que a FR apesar de contar com a profilaxia por antimicrobianos não possui vacina que solucionaria melhor sua profilaxia³⁸. Entretanto, em estudo de SAMPAIO et al (2007), os achados histológicos abrem possibilidades para um novo caminho de imunoterapia⁴. Neste foi demonstrado a presença de infiltrado inflamatório valvar denso e nódulos de Aschoff no miocárdio em 21% de pacientes com doença cardíaca. Infiltrados de células T foram principalmente o CD4+ em biópsias de tecido cardíaco de pacientes com atividade reumática. Além disso, infiltrados de células T, clone CD4+ e CD8+, reconhecem as proteínas do tecido cardíaco e peptídeos M estreptococos⁴.

2.3.1. Estenose Mitral

A estenose mitral é a lesão mais comum da febre reumática recorrente. Anatomicamente, constitui o resultado de crises recorrentes que deixam a valva altamente deformada e obstruída. À medida que as vegetações valvulares da FR aguda se curam, causam não apenas espessamento fibroso das cúspides, mas também alterações mais importantes, como interaderência entre as cúspides ao nível de comissuras e alterações nas próprias cordas tendíneas. A cura das vegetações sobre as superfícies das cordas é responsável por sua fusão, com obliteração dos espaços entre elas. Na valva mitral normal o sangue flui não somente através da parte do orifício que está entre os músculos papilares, como também através dos espaços entre as cordas, lateralmente aos músculos papilares. Após a aderência intercordal, as passagens secundárias para o fluxo sanguíneo são obliteradas³⁹.

Devido à inflamação recorrente, as cordas tendíneas se tornam encurtadas, sendo este o fator responsável pelo retesamento das cúspides, que são mantidas numa posição para baixo. As cordas relacionadas com cada comissura exibem a forma de um leque. A base do leque está presa às cúspides, e o ápice ao músculo papilar. À medida que as cordas se tornam encurtadas e tracionam as cúspides para baixo, trazem a base do leque no sentido do ápice. Isso tende a manter as cúspides unidas e favorece a aderência entre elas ao nível comissural, conforme ocorre a cura das vegetações valvares. O processo de encurtamento cordal, com a resultante fixação das cúspides constitui provavelmente o fator principal na reestenose após a realização de uma comissurotomia³⁹.

2.3.2. Insuficiência Mitral

A insuficiência mitral (IM) é uma das valvopatias de mais difícil abordagem, em decorrência da estrutura complexa do aparelho valvar mitral. Sua competência depende da integridade de seus componentes: lacíneas, cordas tendíneas, músculos papilares, ventrículo esquerdo, átrio esquerdo e anel valvar. Além disso, depende da pré-carga e pós-carga ventricular.

Geometria, diâmetro, função ventricular esquerda tem crucial importância na competência dessa valva⁴⁰.

A dilatação do anel mitral é a causa mais comum da insuficiência mitral. Ele é formado por uma parte anterior e posterior. A porção anterior está fixa pelos trígono fibrosos direito e esquerdo do coração e a posterior pela parede livre do ventrículo esquerdo. Durante a sístole ventricular o anel se contrai como um esfíncter, permanecendo com aspecto reniforme. Quando existe dilatação do anel mitral, a parte posterior se afasta da anterior, aumentando o diâmetro ântero-posterior⁴¹.

A insuficiência mitral pode ocorrer em situações de agressão inflamatória ou degenerativa da estrutura valvar, como febre reumática, degeneração mixomatosa, ou ainda, devido à doença isquêmica do coração⁴⁰.

O paciente pode ser assintomático, e/ou apresentar sintomas ou complicações, tais como: insuficiência cardíaca, fibrilação atrial ou endocardite infecciosa. Os sintomas podem ser, primeiramente, observados em situações de maior sobrecarga hemodinâmica como gestação, anemia ou infecção. No exame físico, encontra-se o clássico sopro sistólico apical, com irradiação para axila e abafamento da primeira bulha⁴⁰.

2.4 CORREÇÃO CIRÚRGICA NA DOENÇA REUMÁTICA

Quando se opta por um tratamento cirúrgico, resta-se a troca valvar (bioprótese ou prótese mecânica) ou uma plastia valvar⁴⁰.

Utiliza-se o termo plástica da valva mitral ou reconstrução da valva mitral quando é realizado procedimento cirúrgico conservador em valvas que apresentam refluxo, isto é dupla lesão ou insuficiência. Várias são as técnicas que podem ser utilizadas, destacando-se as anuloplastias. Os pacientes atingem muitas vezes um grau avançado de lesão sendo necessário na maioria deles, para a realização de uma plástica adequada, a escolha de um tipo de anuloplastia, com ou sem anel protético, além de técnicas associadas, como por exemplo, encurtamento de cordas tendíneas. Na literatura, os primeiros relatos referem-se a soluções para valvas estenóticas, seguindo-se as tentativas em valvas insuficientes¹⁰.

A insuficiência da valva advém de dilatação do próprio anel, alterações nos seus folhetos, alongamento ou rupturas de suas cordoalhas. Para a plastia da válvula mitral encontramos várias técnicas, desde pontos em X nas suas comissuras, levando a uma redução do anel mitral, passando por outras técnicas como a colocação de um anel protético de Carpentier e de Duran (técnicas que visam a uma diminuição do anel)⁴⁰.

Vários autores se interessam em reparar cordas tendíneas destacando-se FRATER et al (1983)⁴² que relatam cordas tendíneas confeccionadas com pericárdio bovino conservado em glutaraldeído, e a de GREGORI et al (1986)⁴³, em nosso meio, que criam novas cordas a partir da própria cúspide. Técnicas para encurtamento, fenestração, translocação e retirada de cordas tendíneas curtas na reconstrução da valva mitral foram descritas na literatura mundial^{10,44-46}.

Várias evidências clínicas e experimentais apóiam-se na manutenção da continuidade anulopapilar e não excisão de todas as cordas na troca valvar da mitral. Os relatos na literatura apontam mortalidade operatória que varia de zero a 9,5% para os grupos submetidos à troca valvar mitral com preservação de cordas. No estudo de DANCINI et al (2004)⁴⁷, os pacientes submetidos à plástica valvar tiveram melhor preservação da função ventricular, não havendo diferença significativa no desempenho cardíaco entre os grupos submetidos à troca valvar mitral com preservação das cordas.

As complicações causadas pelo implante de próteses valvares têm motivado grande interesse pela preservação das valvas nativas, através de diversas técnicas de valvoplastia. Além disso, a alta prevalência da doença reumática em nosso meio, principalmente na população menos favorecida, impõe, muitas vezes, uma indicação cirúrgica mais precoce, em pacientes mais sujeitos a atividade reumática recorrente ou persistente⁴⁰.

A plástica da valva mitral pode ser realizada em pacientes com doença reumática, mesmo em atividade. Nos pacientes que apresentam calcificação intensa do aparelho valvar, a plástica não é o método ideal¹⁰. Segundo estudo de SAMPAIO et al (2007), o procedimento cirúrgico durante a fase aguda da doença melhora a qualidade de vida de pacientes com doença cardíaca reumática⁴.

Avanços na técnica cirúrgica permitiram reduzir a mortalidade imediata após a cirurgia de correção de IM. Em pacientes com IM de origem reumática, existem maiores dificuldades de plástica adequada. No entanto, esses pacientes muito se beneficiam quando é possível a cirurgia conservadora. Um dos complicadores da cirurgia conservadora em jovens reumáticos é a

presença de atividade reumática persistente, encontrada em cerca de 30% dos casos. A técnica é mais delicada e inclui anuloplastia (com ou sem inserção de anel), encurtamento das cordas, ressecção de lacíneas, transposição de cordas e comissurotomia (em até 28% dos casos). A mortalidade operatória imediata varia de 2,6% a 4%; já a tardia é de 15%; e a necessidade de reoperação varia de 11 a 27% no decorrer de oito anos. A presença de cardite ativa tem efeito negativo sobre o reparo⁴⁰. No InCor, a anuloplastia posterior com tira de pericárdio bovino é uma técnica que tem sido largamente utilizada nas plásticas da valva mitral, com taxa de mortalidade em 3,3%⁴⁸.

A plástica da valva mitral, na febre reumática, é bastante discutida na literatura e os seus resultados são discordantes em várias publicações, pois a reconstrução valvar não é fácil. Os resultados tardios sofrem a interferência de novos surtos da doença, diferente da degeneração mixomatosa, onde os resultados da plástica já estão bem definidos. Isto, porém, não invalida a plástica valvar na febre reumática, pois, no geral, os resultados são superiores à troca⁴⁹. Além disto, os resultados também dependem do estado da valva no momento da reconstrução, ou seja, quanto maior for o seu acometimento, tanto piores os resultados a longo prazo⁴⁹.

Segundo POMERANTZEFF et al (1998), a incidência de reoperações no pós-operatório foi de 11,4% em 10 anos, sendo 14,7% no Grupo 1 (idade até 16 anos) e 9,8% no Grupo 2 (idade acima de 16 anos), sendo a mortalidade de 2%, bem abaixo dos valores da substituição valvar na literatura nacional e internacional. As causas de falência da plástica mitral são a indicação errônea, o emprego de técnicas inadequadas e a progressão da doença reumática, esta última relacionada ao grupo jovem⁴⁹.

No estudo de SILVA et al (2009), a necessidade de reoperação com indicação para troca valvar antes dos quatro anos ocorreu em 19% dos casos; muito elevada se comparada com os outros autores⁶. POMERANTZEFF et al (1999) relataram a sobrevida livre de reoperações em 70% após 17 anos⁵⁰. Pacientes com doença valvar reumática têm tido alta incidência de reoperação e a necessidade de nova cirurgia ocorre entre 8% e 10%⁵¹.

Em relação às complicações pós-operatórias, estas podem ocorrer sob a forma de endocardite bacteriana, tromboembolismo e hemólise. Estudos mostram que essas complicações são baixas e que a maioria dos eventos tromboembólicos ocorre no pós-operatório imediato⁴⁸. No estudo de POMERANTZEFF (1990), estes tipos de complicações não existiram¹⁰.

Até hoje não foram encontrados na literatura uniformidade de resultados da reconstrução valvar mitral em pacientes portadores de lesões decorrentes da febre reumática. A explicação poderia estar relacionada à interferência de novos surtos reumáticos na evolução desses pacientes⁵².

2.5 LASER - ASPECTOS HISTÓRICOS E CONCEITO

O desenvolvimento do laser só foi possível graças ao advento da Física Quântica, que possibilitou o trabalho com modelos de estrutura atômica e radiação eletromagnética. Em 1900, Max Planck realizou importantes descobertas e concluiu que os átomos podiam não irradiar continuamente, mas apenas em "quanta", Einstein postulou que a luz não eram "ondas contínuas", e sim "quanta", que ele cunhou de "fótons"⁵³.

Sendo assim, os princípios que tornariam possível, a tecnologia médica através do emprego de laser, foi introduzido em 1916 por Albert Einstein, como parte de seu trabalho em mecânica quântica. Cerca de 40 anos depois, Theodore Maiman desenvolveu pela estimulação de um cristal de Rubi o primeiro aparelho de **LASER** (**L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation). Desta forma, a palavra laser é um acrônimo e significa em português **Luz Amplificada pela Emissão e Stimulada da Radiação**. Pouco tempo depois, os pesquisadores de todo o mundo desenvolveram uma ampla gama de materiais, que foram capazes de criar diferentes tipos de Laser, abrindo caminho para o célebre desenvolvimento destes em aplicações médicas e afins, tendo sido aplicado na Medicina pela 1ª vez pelo Prof. Dr. Leon Goldman da University of Cincinnati em 1961⁵⁴.

2.5.1 Características e Princípios do Laser

Durante a aplicação do laser, vários eventos biofísicos ocorrem concomitantemente, como à reflexão, refração, transmissão, dispersão e absorção do feixe luminoso, resultando em efeitos

primários bioelétricos e bioenergéticos nos diversos tecidos-alvo, que são à base de sustentação do uso terapêutico deste tipo de irradiação⁵⁰.

O que diferencia o laser das demais formas de radiação de ondas eletromagnéticas é as suas características únicas. Sua luz é colimada, ou seja, todos os raios caminham para uma única direção, com pouco ou nenhuma divergência, conforme vão se distanciando⁵⁶. Ele também é monocromático, consistindo de uma única cor pura (um único comprimento de onda- λ), e coerente, com todos os raios caminhando em fase no tempo e no espaço. Além disso, possui uma alta concentração fotônica⁵⁷.

A radiação eletromagnética do laser interage com sistemas físicos e biológicos, tais como: átomos, moléculas, íons, células e diferentes tecidos biológicos, mediante transferência de energia entre esses sistemas. O funcionamento das fontes de laser baseia-se no princípio da emissão estimulada, descrita no artigo “*Zur Quantum Theorie der Strahlung*” postulado por Einstein (recebendo por isso o prêmio Nobel em 1924), inferindo que, quando um fóton incide sobre um átomo excitado, este pode absorvê-lo e emitir um fóton idêntico a ele, isto é, com a mesma energia do fóton incidente. Esses dois fótons emitidos estarão em fase e na mesma direção, com energias idênticas⁵³.

2.5.2 Classificação dos Lasers

Segundo CHAVANTES et al (2004) podemos classificá-los, de acordo com seus efeitos terapêuticos, em dois grupos principais⁵⁵:

Os equipamentos de laser que empregam uma alta potência (LAP), para fins médico-cirúrgicos são conhecidos como laser cirúrgico, ao passo que o laser empregando uma potência baixa, também conhecida como: laser terapêutico ou, simplesmente, por laserterapia⁵⁸.

Os lasers de alta potência utilizam o calor para coagular, cortar e/ou vaporizar o tecido. Não obstante, de forma diferente, os lasers empregando uma potência baixa, também conhecidos, como: laser de baixa intensidade (LBI) tem a capacidade de modular o comportamento celular através de uma resposta fotobiomolecular, sem exceder a 1° Celsius no tecido alvo. Estes Lasers (LBI) tem comprimento de onda específico que atuam a nível molecular, celular - tissular, através

da fotobiomodulação. O meio para produção de LBI pode ser gasoso (Hélio-Neônio ou He-Ne) ou eletrônico, baseado num diodo semiconductor (Arsenieto-de-Gálio ou As-Ga e Arsenieto-de-Gálio-Alumínio ou As-Ga-Al)⁵⁸.

2.5.3 Interação do Laser com os Tecidos

Toda luz que retorna da pele é proveniente de reflexão ou retroespalhamento. Cerca de 5% da luz que atinge a superfície da pele é refletida em decorrência da alteração súbita do índice de refração entre o ar ($n=1$) e a camada córnea ($n=1,55$). Uma vez no interior da pele, os 95% restantes da luz podem ser absorvidos, dispersos ou transmitidos através do tecido⁵⁵. A absorção é o efeito tecidual de importância clínica primária, como foi descrito na lei de Grothus-Draper, que estabelece que a absorção da luz seja sempre necessária para se obter um efeito químico (bioquímico)⁵⁷. Se não houver absorção não haverá o efeito clínico específico esperado (biológico). A luz laser é absorvida pelos componentes cromóforos do tecido-alvo, convertendo a energia luminosa em calor ou em formação de plasma⁵⁹.

Os equipamentos de laser de diodo de alta potência geralmente estão compreendidos em comprimentos de onda que variam desde o visível ($0,4 \mu\text{m}$) até a faixa do vermelho infravermelho próximo não ionizante ($\pm 0,9 \mu\text{m}$). Todos os comprimentos de onda de diodo lasers são altamente absorvidos por tecidos pigmentados. Os tecidos pigmentados podem possuir cromóforos absorvedores como a hemoglobina ou a melanina que promovem uma boa absorção dos comprimentos de onda dos lasers de diodo de alta potência (Figura 5)⁵⁹.

Uma vez que o corpo humano é constituído majoritariamente de água, a absorção da luz pela água é de fundamental importância para as aplicações biomédicas de lasers, como também para os danos biológicos envolvendo uma operação à laser. A luz laser que é absorvida pela água aquece o volume absorvedor que pode ser vaporizado ou este calor pode ser difundido determinando a coagulação do tecido⁵⁹.

No emprego do laser na medicina, o mecanismo de conversão da energia do fóton em energia térmica (calor), é o tipo de conversão mais frequentemente utilizada (ex.: ablação, corte, coagulação e vaporização de tumores). Já, o emprego de laser com potência baixa prevalece a absorção de energia pelos fotoceptores, na conversão de energia fotofísico-química⁶⁰.

Os efeitos fototérmicos conhecidos incluem: corte, vaporização, carbonização e coagulação tecidual⁵⁴. Os efeitos empregando sempre uma potência baixa, ou seja, do LBI, pode-se ocasionar alterações fotoelétrica, fotoenergética, fotoquímica, enfim, multifotônicos.

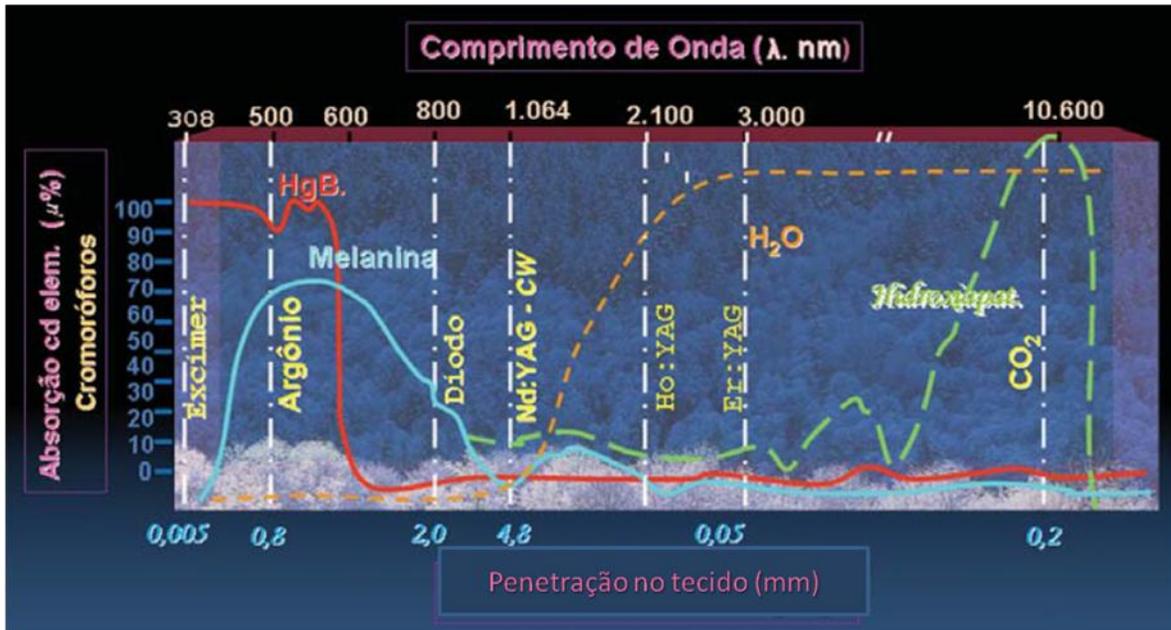


Figura 4 – Gráfico da absorção dos diferentes comprimentos de onda e cromóforos absorvedores (Autorizado por Chavantes MC, 2009)⁵⁷.

2.5.4 Efeitos do Laser de Baixa Intensidade (LBI)

Um dos pioneiros na pesquisa da aplicação da terapia a laser de baixa intensidade, nas áreas biomédicas, foi o Professor Dr. Endre Mester. As primeiras publicações sobre a terapia com LBI datam de mais de duas décadas⁶¹.

O LBI (em inglês conhecido como *Low Level Laser Therapy - LLLT*) denota sempre potência inferior a 1W e temperatura tem que ser menor que 1°C no tecido-alvo. Desta maneira, a ação biológica, afora ter o efeito cumulativo, não é decorrente de efeito térmico, apresentando um efeito fotofísicoquímico, sendo o laser mais empregado atualmente para tratamento clínico⁵⁸.

2.5.5 Efeitos do Laser de Alta Potência (LAP)

Segundo CHAVANTES et al (2009), podemos classificar o efeito fototérmico no tecido segundo a ação da temperatura no alvo biológico. Para um efeito de hipertermia, a temperatura atinge até os 45°C no tecido. Para um efeito de soldadura, a temperatura varia de 45 a 60°C. Para coagulação, de 60-100°C. Acima de 100°C, temos carbonização e acima dos 400°C vaporização do tecido sendo que acima de 1.500°C teremos um corte com alta precisão no tecido biológico⁵⁸.

O laser de alta potência determina ações no tecido-alvo podendo ser divididas em quatro tipos de efeitos: fototérmico, fotomecânicoacústico, fotoablativo e fotoionizante⁵⁸.

- Efeito Fototérmico

Os efeitos mais conhecidos por suas aplicações são de corte, vaporização e coagulação, consistindo na transformação da energia eletromagnética em térmica. Tais efeitos são obtidos apenas com o uso de aparelhos lasers de 1 a 100 W de potência. O que essas reações têm em comum é a destruição ou alteração permanente da estrutura do tecido. Os tipos de lasers mais utilizados são CO₂ (10.600 nm), Nd:YAG (1.060 nm), argônio (488-514 nm), rubi (694 nm) e diodo (810 nm), dentre outros.

- Efeito Fotomecânicoacústico

Este efeito é essencialmente não-térmico, sendo provocado por pulsos curtos de alta energia, com largura máxima de 10⁻⁶ segundos. Os altos níveis de energia do pulso laser resultam em processos de rápida expansão ou na formação de ondas de choque capazes de causar ruptura mecânica. A quebra da molécula, causada por uma onda de choque acústica, ocorre pela conversão de fótons de alta energia em energia vibracional. Esta provoca a remoção mecânica com alta velocidade do tecido sobre a lesão, em virtude de altíssima densidade de potência em um tempo muitíssimo curto, ocorrendo mínimo dano térmico à área. Temos como exemplo deste processo o Heart Laser empregado durante a revascularização transmiocárdica com CO₂ – 800 Watts (RTML)⁶².

- Efeito Fotoablativo

Este fenômeno gera a formação de plasma, e seu efeito é também essencialmente não térmico, incluindo a fotodisrupção e a fotodissociação das moléculas atingida por essa energia, o que produz as quebras estruturais do tecido. Observa-se a geração de um campo elétrico que provoca separações eletrônicas, causando localmente uma ruptura intermolecular. A desintegração do tecido a ser removido ocorre por meio de ondas de choque, produzindo quebra estrutural do tecido, como, por exemplo, no caso da quebra de pedras (litíase) dentro do sistema biliar ou urinário. Na dermatologia, esse efeito também é encontrado na remoção de lesões pigmentadas, tatuagem, epilação e depilação.

- Efeito Fotoionizante

Fotoionização é o resultado da quebra da ligação da cadeia quaternária do DNA, resultando em penetração extremamente superficial - cerca de 0,5 μm a 25 μm no tecido, dependendo do comprimento de onda empregado. Os lasers mais utilizados são os Excimer (dímeros excitados): ArF de 193 nm, XeCl de 308 nm, afora a terceira harmônica de Nd:YAG em 355 nm. Essa absorção seletiva produz-se nos comprimentos de onda situados no espectro entre 200 nm e 350 nm do ultravioleta, e esses comprimentos são absorvidos nos primeiros micrômetros do tecido, levando o corte a ser extremamente superficial e sem necrose.

2.5.6 Tipos de Lasers Cirúrgicos

De todos os tipos, os lasers semicondutores (diodo) são certamente os mais conhecidos, produzidos e utilizados, em razão da expansão das telecomunicações e da armazenagem de dados por meios ópticos, tendo também menor custo que os demais lasers. Existem vários arranjos, como em um LED (Light emitting diode), a junção é diretamente polarizada e a recombinação de cargas, que ocorre quando os elétrons passam da camada n para a camada p , produz fótons de luz visível ou infravermelha⁵⁸.

Tal laser é extremamente versátil, já que possui equipamentos com potências de 1 Watt a 60 Watts, sendo aplicado em procedimentos cirúrgicos em virtude do efeito fototérmico. Tem

comprimento de onda de 810 nm, apresentando penetração de poucos milímetros no tecido-alvo (0,5 mm a 3 mm)⁵⁸.

2.5.7 Efeito Residual do Laser Cirúrgico

Quando um feixe de laser cirúrgico incide sobre o tecido observamos primariamente em sua região central uma zona de vaporização e carbonização em virtude da concentração de energia na região. À medida que nos afastamos da zona central em direção à periferia, a concentração de energia decresce. Nessa área periférica, temos um aumento ínfimo de temperatura, sem causar mudanças em nível macroscópico à estrutura do tecido. Porém, Oshiro e Calderhead demonstraram haver nessa região a fotoativação do tecido, denominada de *Efeito X* do laser, ou, simplesmente, efeito residual do laser, com alteração fotofísico-químico dessa zona, incorrendo em ativação fotobiomolecular do tecido com uma resposta de biomodulação⁵⁸.

2.5.8 Parâmetros do Laser

Os parâmetros, que segundo CHAVANTES et al (2009) devem ser levados em consideração, para o tratamento com LAP, são: comprimento de onda (λ), potência do aparelho de laser, densidade de potência ou irradiância, densidade de energia ou fluência, tipo de regime de operação do laser (CW ou Q-Switched) e dados ópticos do tecido-alvo, como características de absorção e espalhamento⁶³.

O comprimento de onda (λ), é quem define a profundidade de penetração no tecido biológico, é mensurado em nanômetro (nm). Diferentes comprimentos de onda denotam diferentes coeficientes de absorção para um mesmo tecido.

A densidade de potência (DP), também conhecida como irradiância é definida como sendo a potência de saída do laser em Watts, dividida pela área irradiada em cm^2 . É a grandeza física que avalia a possibilidade de dano microtérmico. Para intensidades superiores a 500 mW/cm^2 pode ocorrer dano celular.

A densidade de energia (DE) ou fluência é a grandeza física que avalia a possibilidade de estimulação, inibição ou a não manifestação dos fenômenos dos efeitos terapêuticos. É calculada multiplicando-se a irradiância pelo tempo de exposição dado em segundos, ou seja, refere-se à quantidade de energia por unidade de área transferida à matéria (tecido ou células em cultura), geralmente, medida em J/cm^2 .

Classifica-se os modos de operação dos diferentes tipos de laser de alta potência em 2 principais grupos⁴⁸:

- Laser Continuous Wave (CW) — Emissão contínua de energia, podendo haver, contudo, pulsos simples, de repetição, superpulsado e ultrapulsado. Podemos programar o tempo, o intervalo e a largura do pulso que desejarmos (variando geralmente de 0,1s até 9,9 s).
- Laser Q-switched (Quality-switch) — Emissão com um sistema de chaveamento, utilizando tempos extremamente curtos e potências elevadas. Conhecido também por chaveado (modulado tanto da forma eletróptica ou ópticoacústica) denota potências muito elevadas e fortes pulsos, vindo com a largura e o intervalo de pulso programados de fábrica, não sendo possível modificar tais parâmetros, geralmente pulsado em nanossegundos (10^{-9} s).

2.5.9 Laser na Área Cardiovascular

Historicamente, o primeiro emprego de laser nesta especialidade foi realizado no Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HC/FMUSP), pelo Prof. Dr. Radi Macruz, no final da década de 1970, em aortas usando laser de argônio. Novos aparelhos de laser foram usados à medida que foram surgindo inúmeros equipamentos distintos de laser, passando a se empregar esse novo método terapêutico⁵⁵.

Atualmente, em casos em que não se pode realizar angioplastia e/ou cirurgia clássica de revascularização do miocárdio, temos uma nova opção cirúrgica que foi iniciada no InCor em 1996, que é conhecida como revascularização transmiocárdica com laser de CO_2 . Em muitos casos, esse é o último recurso disponível para melhorar a intensa angina (dor precordial) de um grupo específico de pacientes com coronariopatia acentuada⁶². O laser de CO_2 , que possui altíssima potência (800 Watts), e vem sendo utilizado sobre o músculo cardíaco (miocárdio), é capaz de realizar pequenos pertuitos no músculo cardíaco isquêmico (pouco irrigado) e suprir

essa região com novo fluxo de oxigênio e nutrientes, como uma nova via alternativa, melhorando a angina e a qualidade de vida^{55,64}.

O laser a frio (atérmico) é empregado intraluminalmente em procedimentos de angioplastia coronariana desobstrutiva, sobretudo ao ocorrer oclusão de *stent* (prótese coronária), como também na remoção transvenosa de eletrodos defeituosos do marca-passo e desfibriladores, sem a necessidade de abrir cirurgicamente o tórax (toracotomia ou mesmo em esternotomia) para retirar os fios, que estariam dentro da cavidade cardíaca. Este laser de XeCl ($\lambda = 308$ nm) apresenta energia elevada e mínima variação de temperatura (cerca de 1,5° C), sendo sua penetração extremamente superficial de 0,5–50 μm no tecido-alvo. É fundamental que se saiba qual o tipo de laser a ser empregado nas patologias cardíacas⁵⁵.

O laser de baixa intensidade está sendo utilizado na prevenção de complicações pós-cirúrgicas na especialidade cardiovascular, revelando bons resultados e prevenindo eficazmente a temida deiscência. Os lasers de As-Ga e As-Ga-Al operam no comprimento de onda no vermelho e no infravermelho próximo, proporcionando, respectivamente, melhor cicatrização, por meio dos efeitos antiinflamatório, antiedematoso e antiálgico. KARU et al (2003) descreveu os efeitos primários, secundários e sistêmicos, induzidos mudanças na homeostase celular/tecidual por intermédio da produção de ATP pela mitocôndria, nas membranas celulares nas bombas de sódio e potássio, como também em canais de cálcio⁶¹. A laserterapia auxilia em uma regeneração tecidual rápida, reduzindo a morbidade cirúrgica e, dessa maneira, abreviação do tempo de hospitalização, tanto para o paciente quanto para a Instituição envolvida⁶⁵⁻⁶⁸. O laser de baixa intensidade age em nível de citosinas, prostaglandinas, COX-2 e tem uma ação anti-inflamatória. O LBI atua ainda aumentando a produção do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e facilitando a neoangiênese, bem como em fatores quimiotáticos, auxiliando a drenagem linfática (ação anti-edematosa). A ação em células sanguíneas, como em macrófagos, neutrófilos, plaquetas, linfócitos, é capaz de facilitar a fagocitose, e em nível de fibroblastos ajuda na produção de colágeno que serão utilizados durante o processo de reparação tissular, facilitando a cicatrização de lesões. Da mesma forma, inúmeros trabalhos relatam a ação analgésica do LBI, por meio da produção de endorfinas, dopaminas, serotoninas. Atualmente, os sinais de ação hemodinâmica e hemorreológicas já são identificados por meio da aplicação de LBI^{69,70}, abrindo uma nova fronteira utilizando o laser (LBI) no tratamento de diversas patologias em medicina.

2.5.10 Atuação do Laser de Alta Potência sobre o Colágeno

Lasers de diodo emitem luz no comprimento de onda vermelho e infravermelho, o qual é absorvido seletivamente pela melanina e hemoglobina da pele⁷¹. No estudo de DANG et al (2011), eles foram os primeiros a investigar o efeito do laser de diodo ($\lambda=800\text{nm}$) na síntese de novo colágeno e na histologia da pele utilizando um modelo animal. Eles observaram que este laser induziu a síntese de novo colágeno através da via de sinalização TGF-beta/Smad. Além disso, detectaram elevação do procolágeno tipo I e expressão IV na pele de ratos em níveis de proteína e mRNA na pele após a irradiação. Esses dados fornecem forte evidência que o laser diodo melhora a estrutura da pele e aumenta a espessura dérmica, sem causar danos epidérmicos, sendo assim efetivo para tratar rugas na pele⁷².

Estudos mais recentes⁷³ mostram um forte processo de remodelação do colágeno com uma distribuição e arranjo peculiares avaliado pela microscopia confocal em pacientes. Um tipo de colágeno recém-formado também estava presente, apresentando fibras longas e retas após o tratamento com laser de CO₂ fracionado na pele. A remodelação do colágeno ainda estava presente após os 3 meses, confirmando o efeito a longo prazo do tratamento. Outro estudo utilizando esse mesmo laser mostrou que em pacientes com cicatrizes de queimaduras maduras na pele tratados com laser foi encontrado semelhante perfil de subtipo de colágeno (colágenos tipo I e III) como de uma pele sem lesão⁷⁴.

Em estudo com laser em cultura de fibroblastos, WENG et al (2011) encontraram níveis elevados de hidroxiprolina (um marcador da síntese de colágeno) nos três grupos de lasers estudados (532 nm potassium–titanyl phosphate, 1064 nm Q-switched Nd:YAG e 1064 nm long-pulse Nd:YAG) quando comparado com os grupos controles não irradiados, indicando que os lasers foram efetivos em acelerar a produção de novo colágeno, sem induzir dano tecidual⁷⁵. Além disso, os níveis das enzimas antioxidantes superóxido dismutase glutathione peroxidase aumentaram, indicando melhora na capacidade antioxidante dos fibroblastos. Assim como houve diminuição no malondialdeído nos grupos irradiados, sugerindo uma inibição na peroxidação lipídica. Esta redução no estresse oxidativo pode contribuir para síntese de novo colágeno.

A relevância do tema, suas consequências e as poucas possibilidades terapêuticas ainda realizadas durante a intervenção cirúrgicas, faz se mister a busca de novos procedimentos

eficazes no combate de valvas mitrais degenerativa ou mixomatosa ou secundária á isquemia.

3 OBJETIVO

- 1) Comparar histologicamente cordas tendíneas de valvas mitrais de suínos com e sem aplicação do laser de alta potência, submetidas a variação de energia entregue ao tecido-alvo;
- 2) Comparar a resistência mecânica de cordas tendíneas de valvas mitrais de suínos com e sem aplicação do laser de alta potência;
- 3) Avaliar histologicamente as cúspides do tecido valvar mitral de suínos submetidas ao corte com bisturi de lâmina fria e com o laser de alta potência.

4 METODOLOGIA

O projeto deste estudo foi inicialmente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do InCor/HC número 343/12.

4.1 CRITÉRIO DE SELEÇÃO DAS VALVAS CARDÍACAS

Trata-se de um estudo experimental, descritivo, onde foram utilizadas 7 valvas mitrais de suínos jovens (6-12 meses de idade) e saudáveis, de ambos os sexos, provenientes de um abatedouro submetido à fiscalização do Departamento de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura e Departamento de Vigilância Sanitária da Secretaria de Saúde Estadual. Neste mesmo local, as valvas foram lavadas em solução fisiológica e conservadas imediatamente em um recipiente contendo glicerina líquida estéril à temperatura ambiente durante o período de 48 horas, segundo indicações de estudos anteriores⁷⁶⁻⁷⁸. Em prosseguimento, o material foi transportado ao Centro de Lasers e Aplicações (CLA) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-USP). Neste laboratório, as valvas mitrais foram reidratadas em 3 recipientes contendo solução fisiológica 0,9%, permanecendo 30 minutos em cada recipiente em temperatura ambiente.

Depois de reidratadas, 38 cordas tendíneas de primeira ordem^{13,79} e 4 cúspides destas valvas foram selecionadas aleatoriamente e divididas em 6 grupos, a saber.

Grupo 1 (G1) : Aplicação do laser na corda tendínea, tempo= 15 segundos (n=9)

G1a: cordas submetidas à avaliação mecânica (n=2)

G1b: cordas submetidas à microscopia óptica (n=6)

G1c: corda submetida à microscopia eletrônica (n=1)

Grupo 2 (G2) : Aplicação do laser na corda tendínea, tempo 20 segundos (n=9)

G2a: cordas submetidas à avaliação mecânica (n=2)

G2b: cordas submetidas à microscopia óptica (n=6)

G2c: corda submetida à microscopia eletrônica (n=1)

Grupo 3 (G3) : Aplicação do laser na corda tendínea, tempo 30 segundos (n=9)

G3a: cordas submetidas à avaliação mecânica (n=2)

G3b: cordas submetidas à microscopia óptica (n=6)

G3c: corda submetida à microscopia eletrônica (n=1)

Grupo 4 (G4) : Grupo controle : Corda tendínea sem aplicação do laser (n= 11)

G3a: cordas submetidas à avaliação mecânica (n=5)

G3b: cordas submetidas à microscopia óptica (n=5)

G3c: corda submetida a microscopia eletrônica (n=1)

Grupo 5 (G5) : Grupo cúspide cortado com lâmina de bisturi (n=4)

Cúspides submetidas à microscopia óptica (n=4)

Grupo 6 (G6) : Grupo cúspide cortado com laser (n=4)

Cúspides submetidas à microscopia óptica (n=4)

O grupo controle (G4) foi comparado com os grupos G1, G2 e G3. E o G5 foi comparado com o G6.

4.2 APLICAÇÃO DO LASER DE ALTA POTÊNCIA (LAP)

As cordas tendíneas dos grupos G1, G2 e G3 receberam tratamento com laser de diodo (DMC, São Carlos, SP, Brasil), modelo MediLaser, emitindo comprimento de onda (λ) de 980 nm, com uma potência de 3,0 W, área do spot de 0,0016 cm², diâmetro do spot de 0,0451 cm, modo de operação contínuo e empregando uma fibra de 400 μ m. O laser permaneceu perpendicular à amostra fixada, a uma distância de 1 mm da corda tendínea.

As cúspides cortadas com laser (G6) receberam tratamento com laser de diodo (DMC,

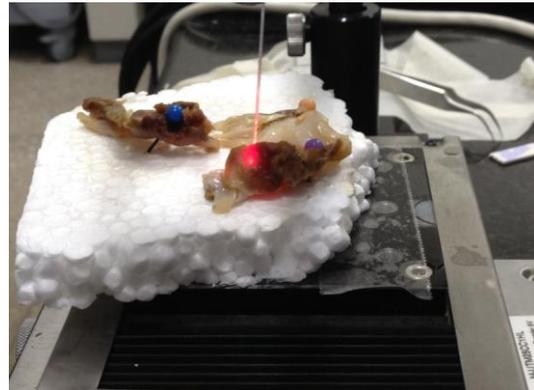
São Carlos, SP, Brasil), modelo MediLaser, emitindo comprimento de onda (λ) de 980 nm, com uma potência de 9,0 W, tempo de aplicação de 12 segundos, modo de operação contínuo e tamanho da fibra de 400 μ m. O laser foi sempre aplicado perpendicularmente à cúspide, através de modo contato.

A potência do laser foi aferida através do equipamento *Power Meter* (FieldMaster GS, Coherent Instruments, USA) a cada irradiação. O procedimento de aplicação do laser foi realizado por um único operador, juntamente com três auxiliares, todos utilizando óculos de proteção, específicos para o comprimento de onda do laser de diodo e demais equipamentos de proteção individuais.

A valva mitral juntamente com suas cordas tendíneas foram posicionadas sobre um isopor, que estava em uma superfície plana de uma bancada. A hidratação da valva mitral com solução fisiológica a 0,9% foi realizada sempre que necessário durante o experimento.



a



b

Figura 5 - Laser de alta potência, diodo (a) e amostra posicionada sobre a bancada (b)

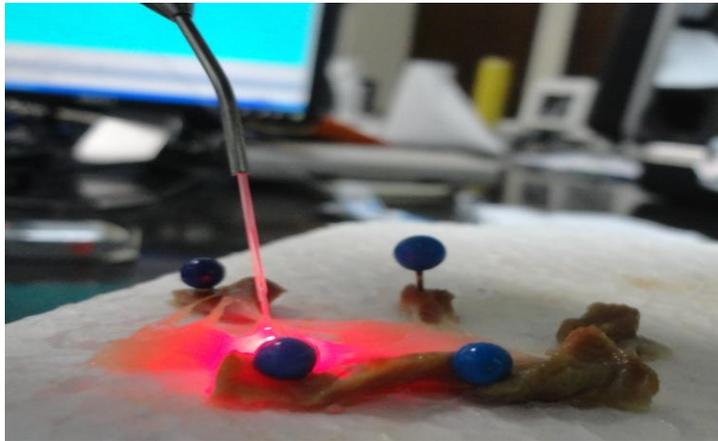


Figura 6 - Durante aplicação do laser nas cordas tendíneas

4.3 MÉTODO DE MENSURAÇÃO COMPUTADORIZADA DAS CORDAS TENDÍNEA

O software utilizado para a mensuração das cordas tendíneas foi o *Image J*, versão 1.6. Uma foto do paquímetro foi captada pela câmera termográfica em abertura de 10 mm. O programa calculou 111 pixels para a medida de 10 mm. Sendo assim, calculou-se que 1 pixel equivalia a 0,09 mm, tornando-se possível o cálculo do comprimento e diâmetro das cordas tendíneas.

Foi analisado o comprimento e a espessura das 38 cordas tendíneas antes da irradiação do laser de alta potência e após a aplicação foram analisadas essas mesmas medidas nos grupos G1, G2 e G3.

4.4 TERMOGRAFIA

Um aparelho de termografia (ThermaCam FLIR SC3000 Systems, USA) foi utilizado durante a aplicação do LAP para análise da temperatura sobre a corda tendínea. Neste equipamento, imagens no infravermelho foram gravadas a frequências de 60 Hz. A temperatura do laboratório manteve-se constante a 22°C durante todo o experimento. A emissividade da corda

tendínea foi considerada 0.98 para o ajuste da câmera térmica. A câmera estava conectada a um computador, sendo que as imagens foram capturadas e analisadas pelo software do fabricante, ThermaCAM Research (FLIR System, USA).

Para aquisição das imagens, a câmera foi posicionada a 0.1 m de distância das amostras, para obtenção do foco na corda tendínea. Como a irradiação do laser foi perpendicular à corda, a câmera foi posicionada na lateral da amostra a fim de que a temperatura do feixe do laser não pudesse interferir nas medições da análise de temperatura das amostras estudadas.

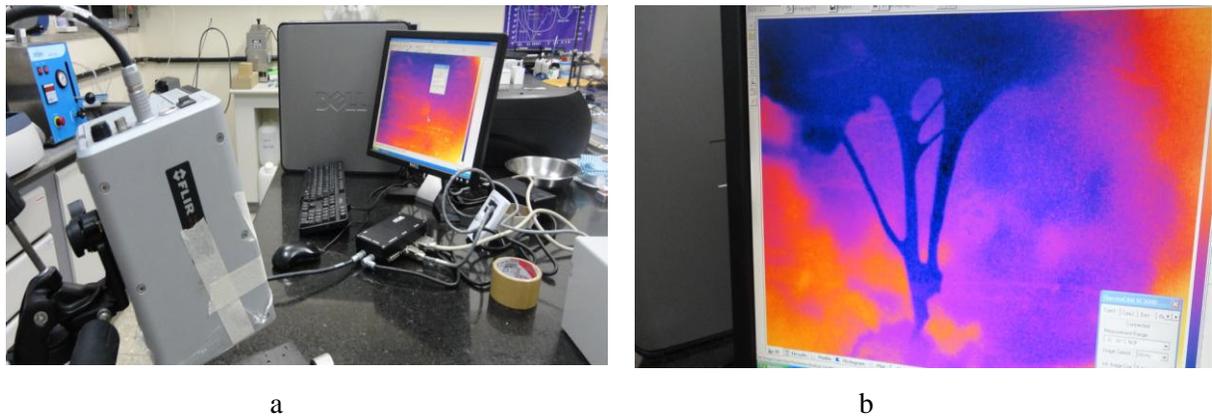


Figura 7- Aparelho de termografia conectado ao computador (a) e imagem térmica das cordas tendíneas da valva mitral na tela do computador (b)

4.5 TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA (OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY - OCT)

Um aparelho de tomografia por coerência óptica-OCT (OCS1000SS-Thorlabs, Inc USA) foi empregado durante a aplicação do LAP. Esta técnica de diagnóstico produz imagens de um corte transversal, com alta resolução espacial, de microestruturas internas de um tecido de forma não invasiva. O equipamento estava conectado a um computador e as imagens foram capturadas do sistema. O equipamento permite realizar imagens da secção transversal das amostras baseadas nas propriedades ópticas de espalhamento da luz e de polarização, onde os dois tipos de imagens foram adquiridas e armazenadas⁸⁰⁻⁸².

As imagens foram registradas antes, durante (em tempo real) e após a irradiação do

laser. Foram também geradas imagens tridimensionais antes e após aplicação do laser para análise *a posteriori*.

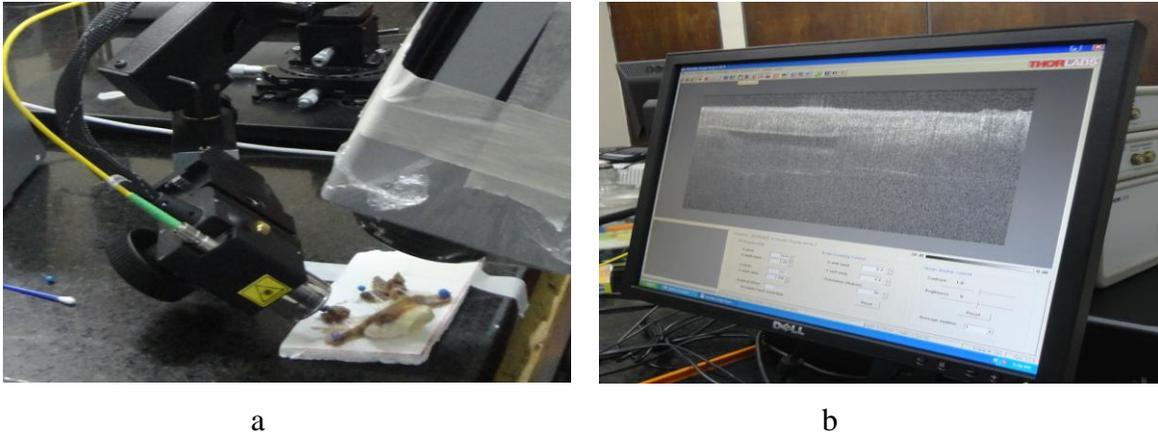


Figura 8 - Aparelho de OCT à esquerda (a); imagem da superfície e abaixo da corda tendínea na tela do computador em tempo real durante o experimento (b)

4.6 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Parte das amostras foram preservadas em formalina e glutaraldeído e encaminhadas ao Laboratório de Anatomia Patológica do InCor/HC-FMUSP para análise microscópica. A outra parte das amostras foi preservada em solução fisiológica 0,9% e encaminhada imediatamente ao Instituto de Ciências Biomédicas (ICB-USP) para análise mecânica.

4.7 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

4.7.1 Microscopia Óptica

As amostras foram mantidas em recipiente identificado contendo formalina a 10%. Em

seguida foram submetidas a processamento histológico convencional e após inclusão em parafina, foram obtidos cortes de cinco micrômetros (μm) de espessura, utilizando-se micrótomo (Leica RM 2145). Os cortes foram pescados em lâminas de vidro previamente tratadas com organossilano e levados à temperatura de 37°C para desparafinação e colagem. Para coloração foram utilizadas as técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE), Tricrômico de Masson e Picosírius vermelho.

A análise foi realizada em microscópico óptico (Nikon Eclipse 80i) onde foi feita uma análise qualitativa e semi-quantitativa dos cortes histológicos. Foram analisados a arquitetura das estruturas celulares e matriz de cúspides e cordas, bem como a presença ou ausência de áreas com alteração na coloração esperada para uma determinada estrutura ou tipo de tecido (áreas hialinas e acidofílicas nos cortes corados pela Hematoxilina-Eosina, áreas vermelhas nos cortes corados pelo Tricrômico de Masson e áreas de birrefringência pelo Picosírius vermelho).

4.7.1.1 Medida da Área Corada das Cordas Tendíneas e Cúspides

As medidas morfométricas foram realizadas por meio de um sistema computadorizado interativo de análise de imagens (Programa Axio Vision Rel.4.7, Zeiss). Uma câmara de vídeo (Zeiss) conectada ao microscópio óptico (Axio Imager A1, Zeiss) transmite ao sistema cada campo microscópico, que é então transformado em uma imagem digital binária. Uma seqüência de operações matemáticas e morfológicas permite identificar e quantificar todas as estruturas de interesse.

Cortes histológicos das cordas tendíneas dos quatro grupos, corados pelo método de Tricrômico de Masson foram estudados. Este método cora caracteristicamente o colágeno em azul, os núcleos celulares em castanho-escuro enegrecido e os tecidos musculares em vermelho. Em nosso material, observamos que os tecidos submetidos ao laser apresentavam áreas de colágeno com alteração da cor esperada, ou seja, coradas em vermelho. A quantificação dessas áreas foi então realizada.

Utilizando o sistema computadorizado de análise de imagens citado acima, quantificou-se a fração de área de Masson vermelho através da cor, por meio da marcação prévia de uma

região sabidamente preenchida por esta proteína, de forma que o programa reconhecesse automaticamente todas as estruturas coradas no mesmo tom (vermelho) como “Masson vermelho”. Ajustes manuais fortuitos foram necessários a fim de adicionar ou remover áreas não marcadas ou reconhecidas incorretamente pelo sistema. Com lente objetiva de 1X e 2,5X, 49 campos foram analisados e o resultado expresso como porcentagem da área ocupada por Masson vermelho. Com relação às cúspides, foi realizada manualmente a medida do maior comprimento a partir da borda de corte até a periferia da área com coloração alterada (Masson vermelho).

4.7.1.2 Análise da birrefringência

Cortes histológicos das cordas tendíneas dos quatro grupos e das cúspides nos dois grupos, corados pelo método de Picrosírius vermelho foram estudados. Este método cora em vermelho as fibras colágenas, que se mostram birrefringentes à luz polarizada. Em nosso material, observamos que os tecidos submetidos ao laser apresentavam áreas de colágeno com menor birrefringência, ou seja, áreas menos brilhantes. A quantificação dessas áreas foi então realizada através do sistema computadorizado interativo de análise de imagens (Programa Axio Vision Rel.4.7, Zeiss) e com lente objetiva de 1X, citados anteriormente.

4.7.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Imediatamente após a coleta das amostras de tecidos, foram recortadas cortes transversais ao maior eixo da corda sobre uma gota de fixador glutaraldeído 3% (Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, EUA) preparado em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 e deixadas neste fixador por 3 horas a 4°C . Em seguida, o glutaraldeído foi retirado e as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% (Electron Microscopy Sciences , Hatfield, EUA) preparado em

tampão fosfato 0,1% pH 7,3 por 2 horas a 4°C. Após esse processo, as amostras foram lavadas em solução salina 0,9% contendo 1,78 % de sacarose pH 7,4 e deixados até o dia seguinte em acetato de uranila 0,5 % (Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, EUA) com 13,3 % de sacarose (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, EUA) a 4°C.

A desidratação foi realizada da seguinte forma: lavagem em solução salina 0,9% contendo 1,78% de sacarose pH 7,4. Desidratação em: 1) etanol 70% (3x 10 min); 2) 2,2-dimetoxipropano acidificado, 100 µl de HCl 1N em 100 ml de dimetoxipropano, (1x 5 min) e 3) acetona com a parte superior do sulfato de cobre anidro, 4 g de sulfato de cobre em 100 ml de acetona, (1x 2 min).

Após esse processo foi realizada a infiltração com uma mistura contendo acetona e resina previamente preparada na proporção de 1:1 por 30 min a temperatura ambiente. A seguir a mistura foi desprezada e os fragmentos emblocados em moldes flexíveis de silicone contendo resina preparada e deixados por 24 horas numa estufa a 60°C para a polimerização. No dia seguinte, as formas de silicone contendo o material incluído foram retiradas da estufa e deixadas sobre a bancada por 30 minutos para que a resina endureça. Posteriormente, os fragmentos foram cortados num ultramicrotomo (Sorvall- modelo MT2-B, EUA) numa espessura de 0,5 µm. Os cortes foram colocados em lâminas histológicas e corados com uma mistura 1:1 de Azul de Metileno a 1% (Merck, Germany) em Bórax 1% (Reagen ,Rio de Janeiro, Brasil) e Azur II a 1% em água destilada (Merck, Germany).

A partir da observação e análise ao microscópio óptico destes cortes semi-finos foram selecionados os blocos mais representativos para o corte ultra-fino a 60 -70 nm de espessura feitos em um ultramicrotomo Leica ,modelo Ultracut UCT-Áustria. Os cortes foram realizados com faca de diamante marca Diatome- Switzerland e colocados em telas de cobre 200mesh (Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, EUA).

A seguir as telas foram contrastadas com acetato de uranila a 5% (Sigma, St Louis, EUA) por 30 minutos a temperatura ambiente, lavadas com 3 passagens de água destilada e logo após contrastadas com citrato de chumbo (Sigma,St Louis, EUA) por 20 minutos. Depois as telas foram lavadas novamente em água destilada 3 vezes e secas com papel de filtro (técnica de Reynolds, 1963).

Posteriormente, as telas puderam ser observadas ao microscópio eletrônico de transmissão (Electron Microscope JEOL- JEM-1010).

4.8 AVALIAÇÃO MECÂNICA

Um aparelho de tração mecânica (EMIC linha DL-200 MF) foi utilizado para avaliar as propriedades mecânicas das cordas tendíneas. Foram analisados: força máxima ($F_{m\acute{a}x}$), deslocamento máximo ($Desl\ m\acute{a}x$) e rigidez.

O comprimento médio das cordas analisadas foi de 12 mm. Sendo assim, o material foi dividido em 3 regiões, deixando a parte central para fixação, permitindo alongar somente a corda tendínea, ao invés dos elementos conectados a elas (músculo papilar e cúspide). Foi utilizado 1/3 do total do comprimento da corda tendínea para fixação na parte superior da máquina e outro 1/3 para fixação na parte inferior da máquina, finalizando sempre com o valor exato de 4 mm (posição inicial ou L_0) para o comprimento do material em que foi realizado o ensaio mecânico. Neste tecido foi aplicado um teste monotônico de tração até a ruptura do material. Foi utilizado uma velocidade de tração de 5 cm/min até o momento da ruptura e parada do ensaio.

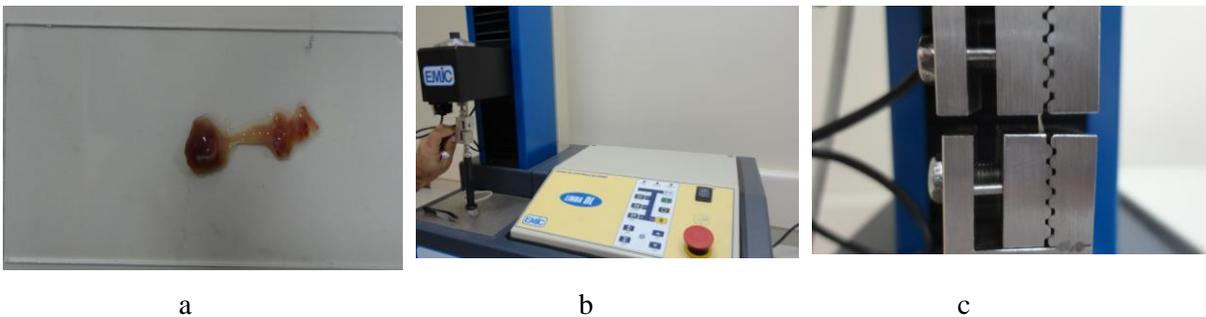


Figura 9- Corda tendínea com parte da cúspide e do músculo papilar (a); aparelho de teste mecânico (b) e corda tendínea fixada nas garras do aparelho (c).

4.9 IMAGEM FOTOGRÁFICA

As imagens da valva cardíaca e suas respectivas cordas, assim como as imagens dos aparelhos utilizados durante o experimento foram capturadas por uma máquina fotográfica digital (Sony, modelo *Cyber-shot* de 16.1 megapixels).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias, desvios-padrão e mediana. Para as variáveis qualitativas calculou-se frequências absolutas e relativas.

Para a comparação de médias de dois grupos foi utilizado o teste t de Student⁸³. Para a comparação de três ou mais grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis⁸³ com teste de Dunn⁸³, pois a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada.

Para se testar a homogeneidade entre as proporções foi utilizado o teste exato de Fisher⁸³ (pois ocorreram frequências esperadas menores de 5). Para a comparação dos momentos pré pós em cada grupo foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon⁸³.

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NA CORDA TENDÍNEA ANTES E APÓS IRRADIAÇÃO DO LASER

A potência utilizada nos grupos G1, G2 e G3 foi a mesma para os três grupos, 3W. Variou-se o tempo de aplicação em cada grupo. Para o G1, utilizou-se um tempo de 15 segundos, energia de 45 J, densidade de potência de 1875 W/cm^2 e densidade de energia de 28125 J/cm^2 . Para o G2, utilizou-se um tempo de 20 segundos, energia de 60 J, densidade de potência de 1875 W/cm^2 e densidade de energia de 37500 J/cm^2 . Em G3 utilizou-se um tempo de 30 segundos, energia de 90 J, densidade de potência de 1875 W/cm^2 e densidade de energia de 56250 J/cm^2 . Calcula-se que a energia total despendida na corda tendínea variou de 45 a 90J.

A potência utilizada no G6 foi de 9 W e o tempo de aplicação foi de 12 segundos, totalizando uma energia de 108 J na cúspide, densidade de potência de 5625 W/cm^2 e densidade de energia de 67500 J/cm^2 .

Com relação ao comprimento e diâmetro das cordas tendíneas, elas apresentaram medidas equivalentes entre si nos quatro grupos G1, G2, G3 e G4, não havendo diferenças estatisticamente significantes ($p=0,562$ e $p=0,542$, respectivamente) (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Medidas do comprimento inicial das cordas tendíneas nos 4 grupos (G1,G2,G3 e G4)*

GRUPO	MÉDIA (COMPRIMENTO)	MÍNIMO (COMPRIMENTO)	MÁXIMO (COMPRIMENTO)
G1	15,35	7,70	27,18
G2	15,04	4,63	25,60
G3	12,53	7,10	24,03
G4	12,93	6,79	15,35

* $p=0,562$

Tabela 2 - Medidas do diâmetro inicial das cordas tendíneas nos 4 grupos (G1,G2,G3 e G4)*

GRUPO	MÉDIA (DIÂMETRO)	MÍNIMO (DIÂMETRO)	MÁXIMO (DIÂMETRO)
G1	0,91	0,43	1,69
G2	0,76	0,27	1,60
G3	0,77	0,35	1,50
G4	0,88	0,50	1,41

*p=0,542

Houve um decréscimo significativo no comprimento das cordas tendíneas após aplicação do laser quando comparado ao comprimento inicial ($p=0,005$ em G1 e G2 e $p=0,004$ em G3) (Gráfico 1). Entretanto no diâmetro da corda a alteração não foi significativa para nenhum dos grupos ($p=1,00$ em G1, $p=0,345$ em G2 e $p=0,317$ em G3) (Gráfico 2).

As cordas tendíneas apresentaram medidas semelhantes entre si nos três grupos (G1, G2 e G3) após aplicação do laser, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. O G2 alcançou temperaturas significativamente menores com a aplicação do laser, quando comparado com os outros grupos (G1 e G3) (Gráfico 3).

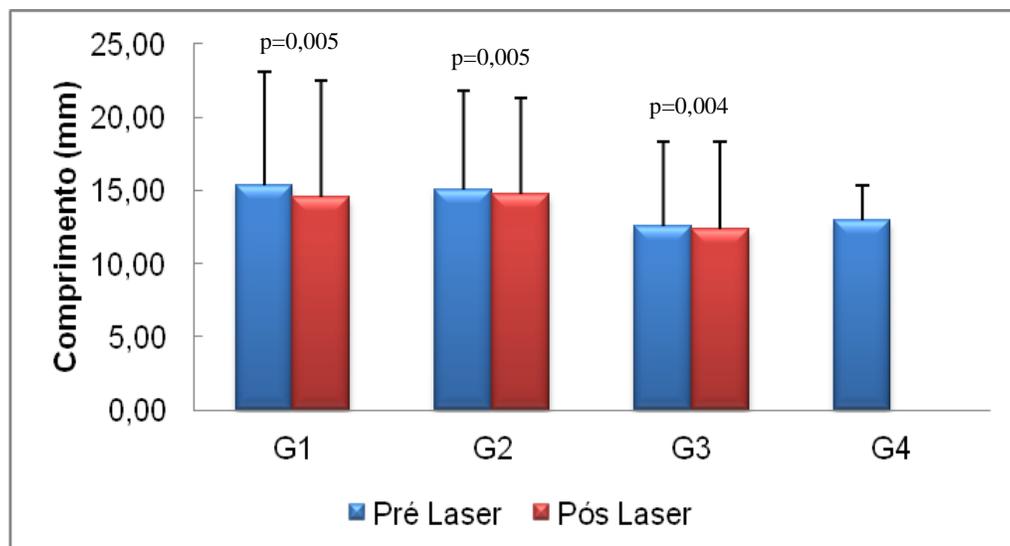
Gráfico 1 - Medidas do comprimento inicial das cordas tendíneas (Pré Laser) e medidas finais (Pós Laser) nos grupos estudados, estatisticamente significantes

Gráfico 2 - Medidas do diâmetro inicial das cordas tendíneas (Pré Laser) e medidas finais (Pós Laser) nos grupos estudados

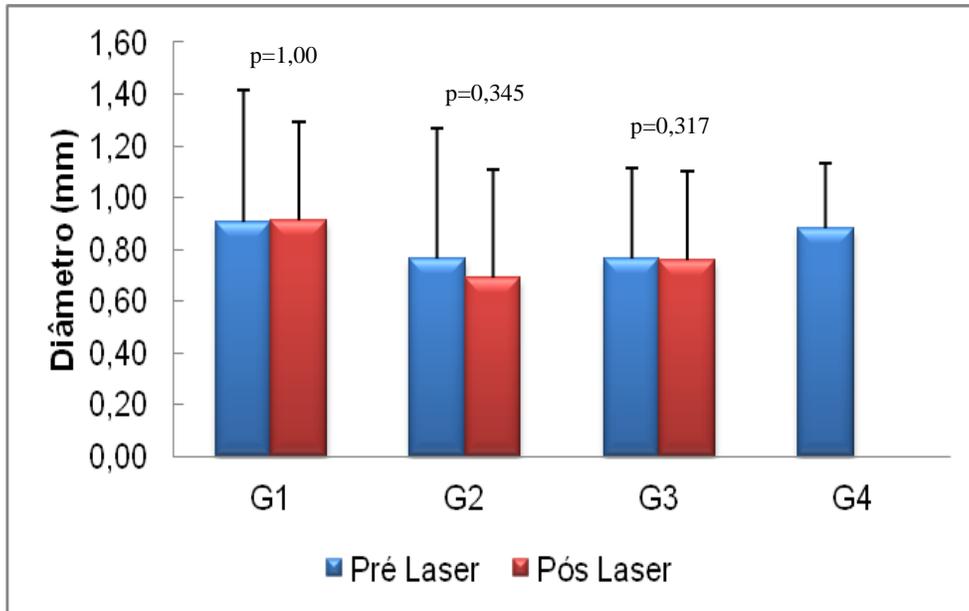
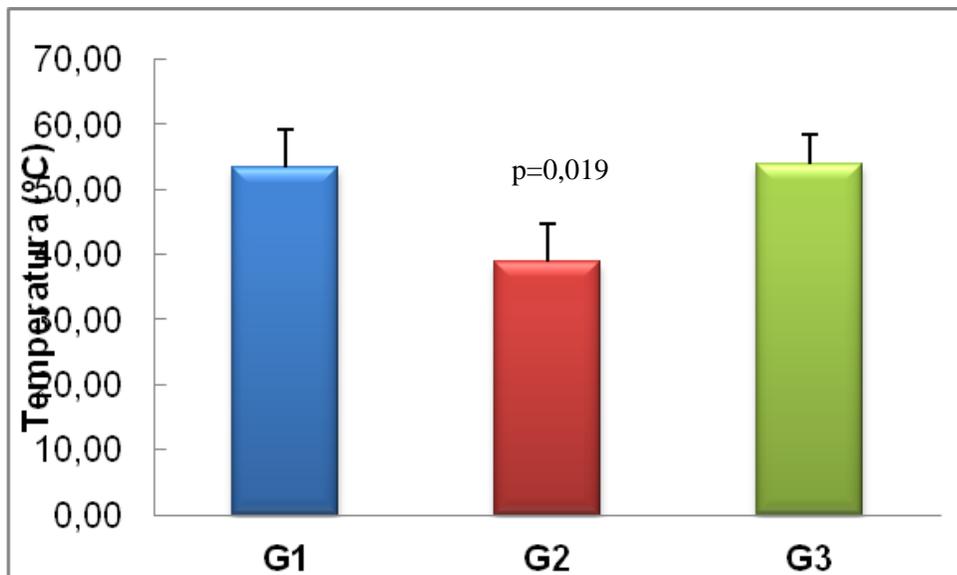


Gráfico 3 – Temperatura alcançada na corda tendínea durante aplicação do laser. Nota-se que o G2 obteve uma temperatura menor que nos outros grupos, considerado estatisticamente significativo



Uma grande porcentagem das amostras do G3 (60%) apresentaram áreas com maiores quantidades de Masson vermelho-escuro na corda tendínea quando comparadas com os outros

grupos em que foi aplicado o laser (G1 e G2), entretanto não foram estatisticamente significantes ($p=0,413$) (Gráfico 4). Observou-se fração de área maior de Masson vermelho nas cordas tendíneas em que a temperatura estava mais alta, porém também não podemos dizer que foram significativas ($p=0,055$) (Gráfico 5).

Gráfico 4 – Fração de área (porcentagem) de Masson vermelho na corda tendínea (microscopia óptica)*

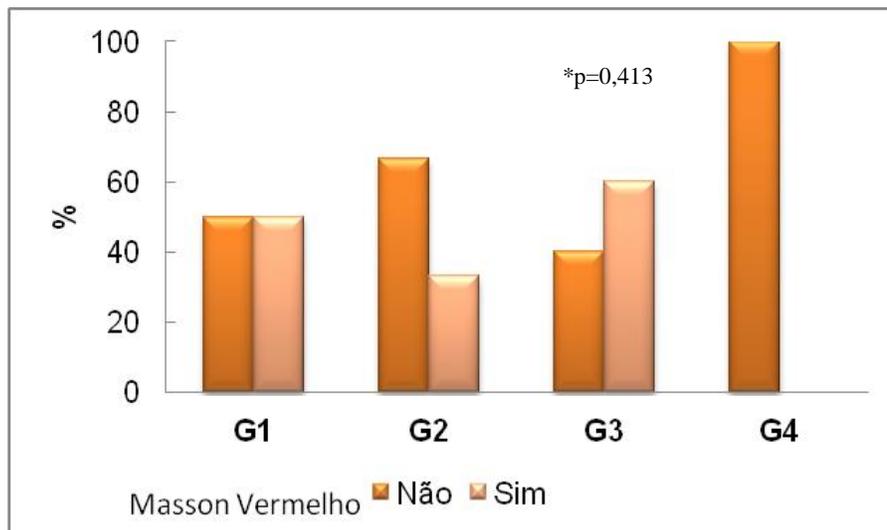
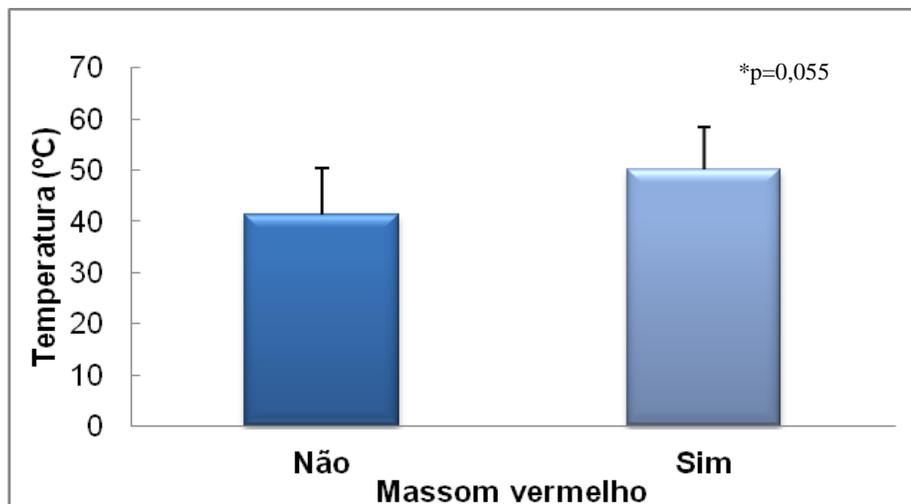


Gráfico 5 - Correlação da temperatura e presença de Masson vermelho na corda tendínea*



5.2 ESTUDO TERMOGRÁFICO

A figura 10 mostra uma imagem da câmera termográfica durante a irradiação com o laser. Para esta análise, a área da imagem da corda tendínea foi selecionada e a temperatura máxima desta região foi registrada durante o procedimento com o laser. Na figura 11, observamos que no intervalo de tempo de 30 segundos, a temperatura máxima alcançada na corda tendínea foi de 48°C.

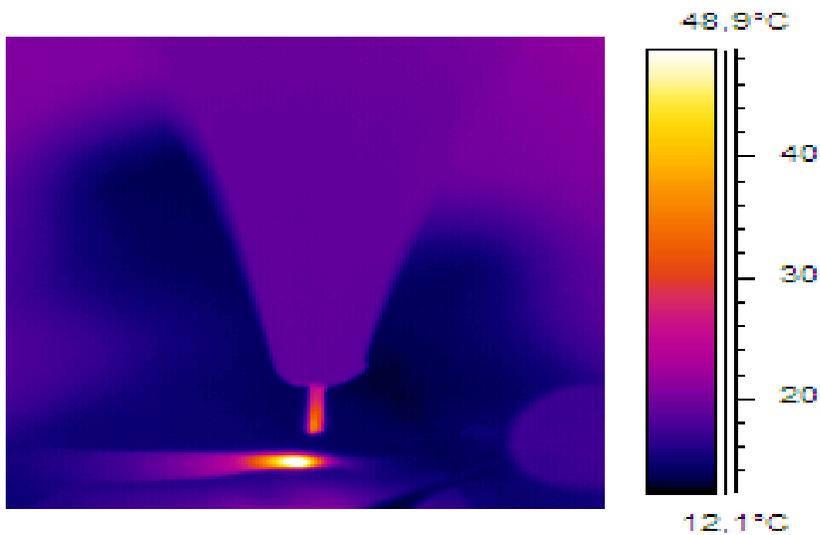


Figure 10 - Imagem térmica da corda tendínea durante a irradiação com o laser

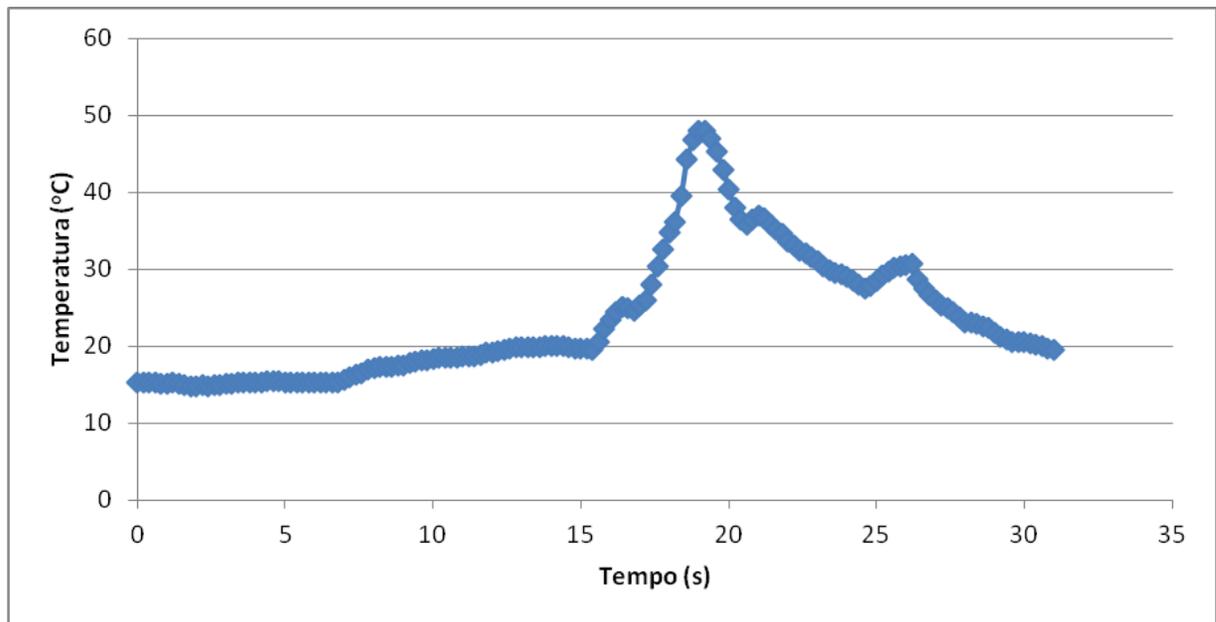


Figure 11 - Curva tempo-temperatura mostra a temperatura máxima alcançada na corda tendínea (48°C)

5.3 ESTUDO MICROSCÓPICO DAS CORDAS TENDÍNEAS

5.3.1 Microscopia Óptica

À microscopia óptica, encontramos as estruturas valvares preservadas no grupo controle como esperado para um tecido colagenizado normal quando coradas pela Hematoxilina-Eosina e de cor homogênea e azulada, quando submetidas à técnica do Tricrômico de Masson (Figura 12 a e b). Quando corado pelo Picrosírius vermelho, nota-se a birrefringência do colágeno, evidenciando os tipos I e III de colágeno (Figura 12 c). Entretanto, observou-se alteração na coloração para as cordas tendíneas nos grupos laser (G1, G2 e G3) que apresentaram áreas hialinas ocupando quase a totalidade da espessura da corda, quando coradas pela Hematoxilina-Eosina e áreas vermelho-escuro na região central da corda quando coradas pelo Tricrômico de Masson (Figuras 13 a e b, 14 a e b, 15 a e b). Para os grupos G1, G2 e G3 o colágeno mostrou-se com uma menor birrefringência (Figuras 13 c, 14 c, 15 c).



a

b



c

Figura 12 – Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno (grupo controle). Corte corado com Hematoxilina-Eosina (a); corte corado pelo Tricrômico de Masson, onde se nota coloração homogênea e azulada, como esperado para um tecido colagenizado normal (b); e corte corado pelo Picrosírius visualizado sob luz polarizada, onde se nota a birrefringência do colágeno (c).

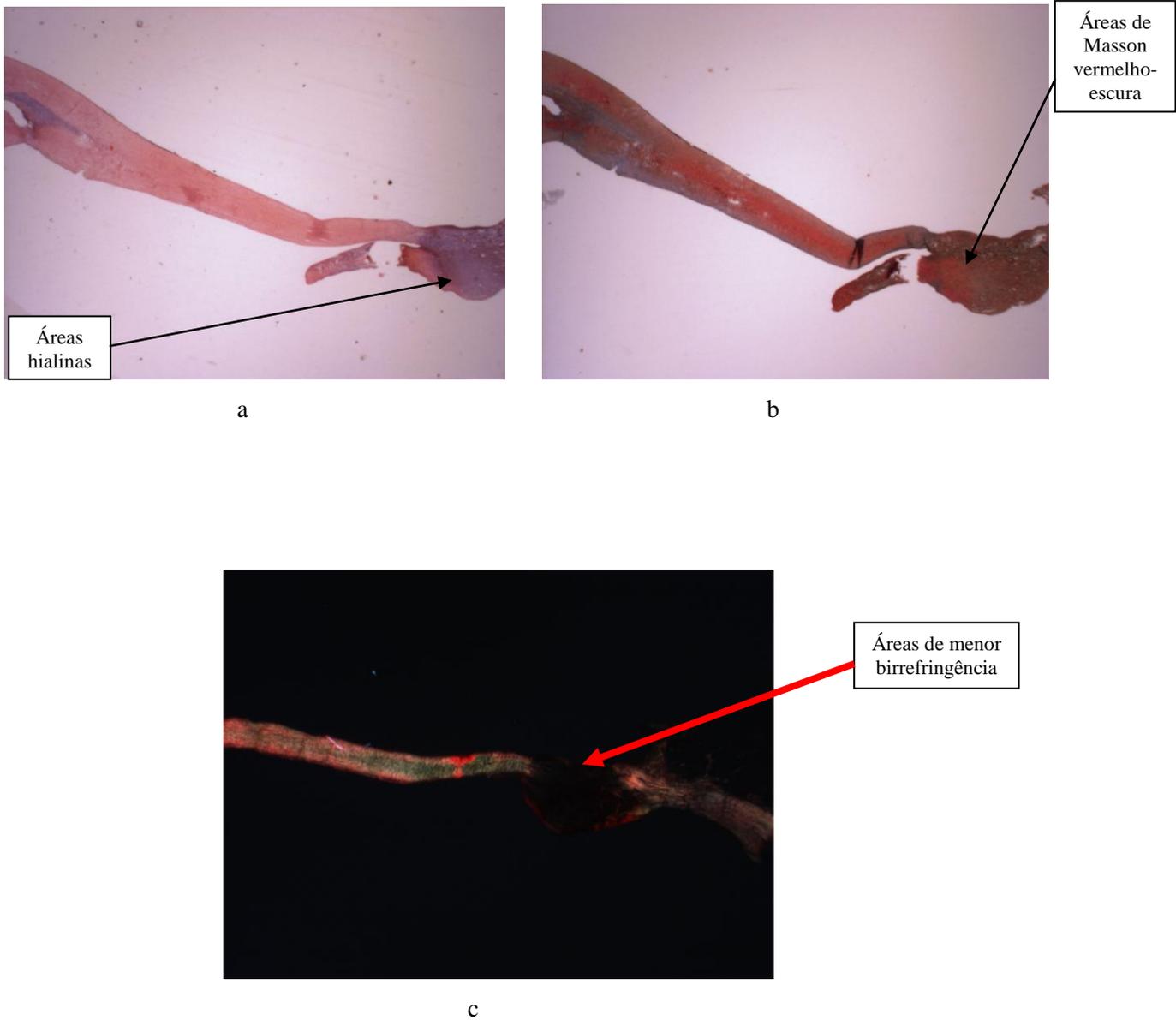


Figura 13 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno submetida ao laser (G1). Corte corado com Hematoxilina-Eosina, onde se observa área irregular hialina ocupando quase a totalidade da espessura da corda (a); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escuro nas áreas centrais correspondentes ao aspecto hialino da figura (b); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se nota a birrefringência diminuída do colágeno nas mesmas áreas (c).

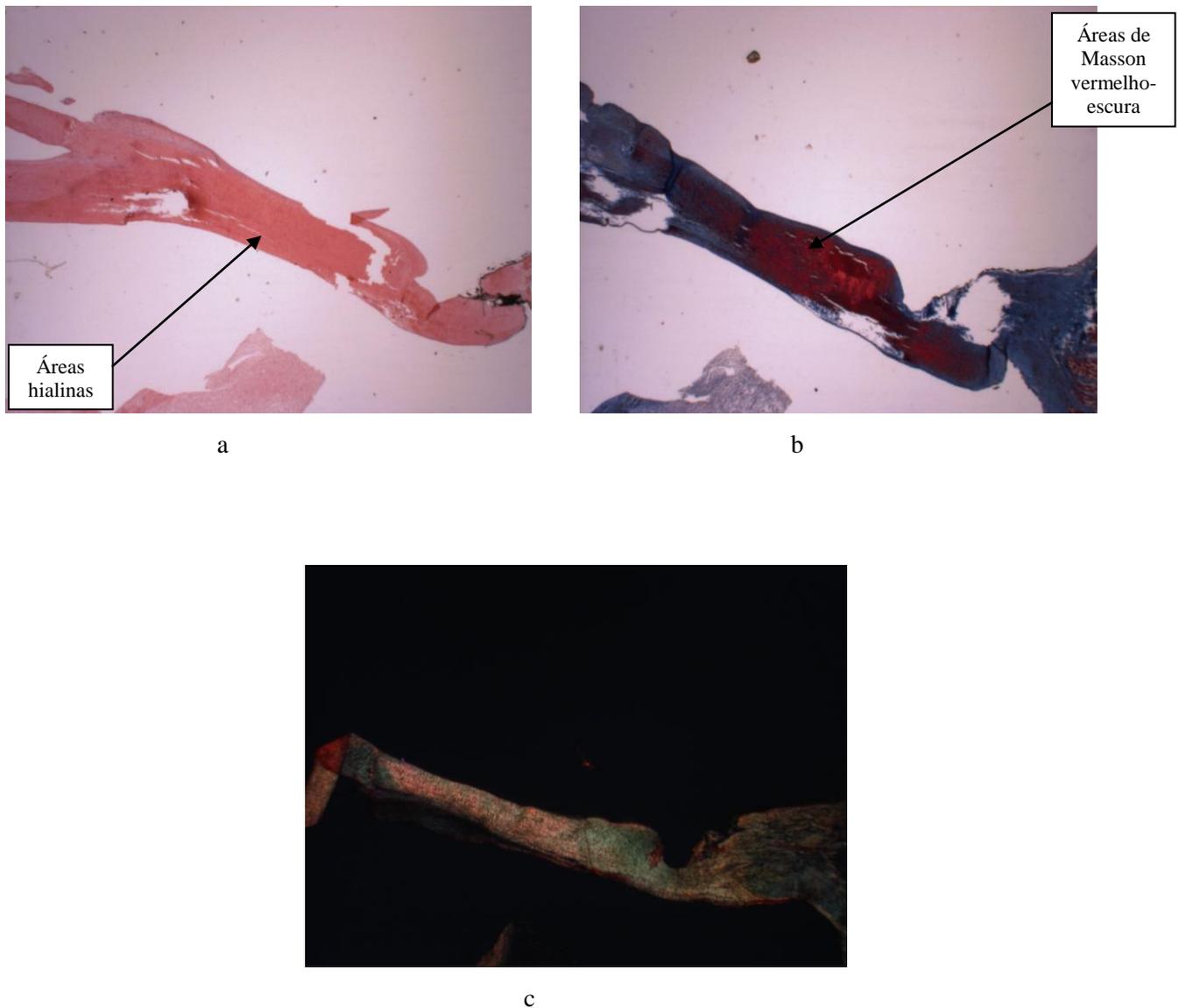


Figura 14 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno submetida ao laser (G2). Corte corado com Hematoxilina-Eosina, onde se observa área irregular hialina ocupando quase a totalidade da espessura da corda (a); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escuro nas áreas centrais correspondentes ao aspecto hialino da figura (b); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se nota a birrefringência do colágeno pouco diminuída (c).

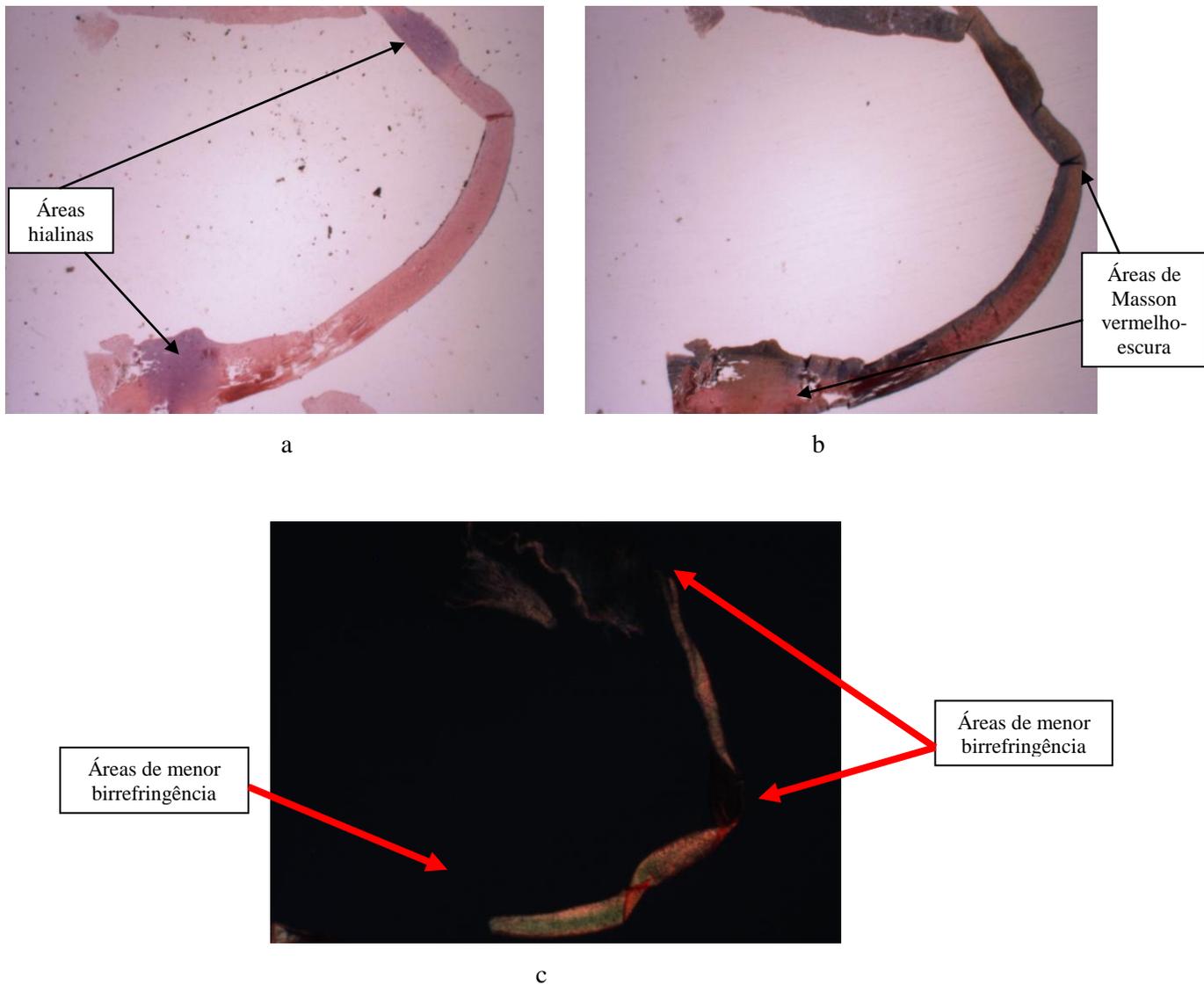


Figura 15 - Cortes histológicos da corda tendínea normal de suíno submetida ao laser (G3). Corte corado com Hematoxilina-Eosina, onde se observa área irregular hialina ocupando as extremidades da corda (a); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escura correspondentes ao aspecto hialino da figura (b); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se nota áreas de menor birrefringência do colágeno nas mesmas áreas (c).

5.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Na microscopia eletrônica, evidenciamos no grupo controle (G4), a ultraestrutura de uma corda tendínea com as fibras de colágeno adensadas e seccionadas transversalmente, como esperado para um tecido normal. Entretanto, nos grupos laser (G1, G2 e G3), as fibras de colágeno se mostraram separadas e seccionadas em diversas orientações. Aparentemente as fibras de colágeno tiveram diâmetros menores quando comparado com o grupo controle (Figuras 16 e 17).

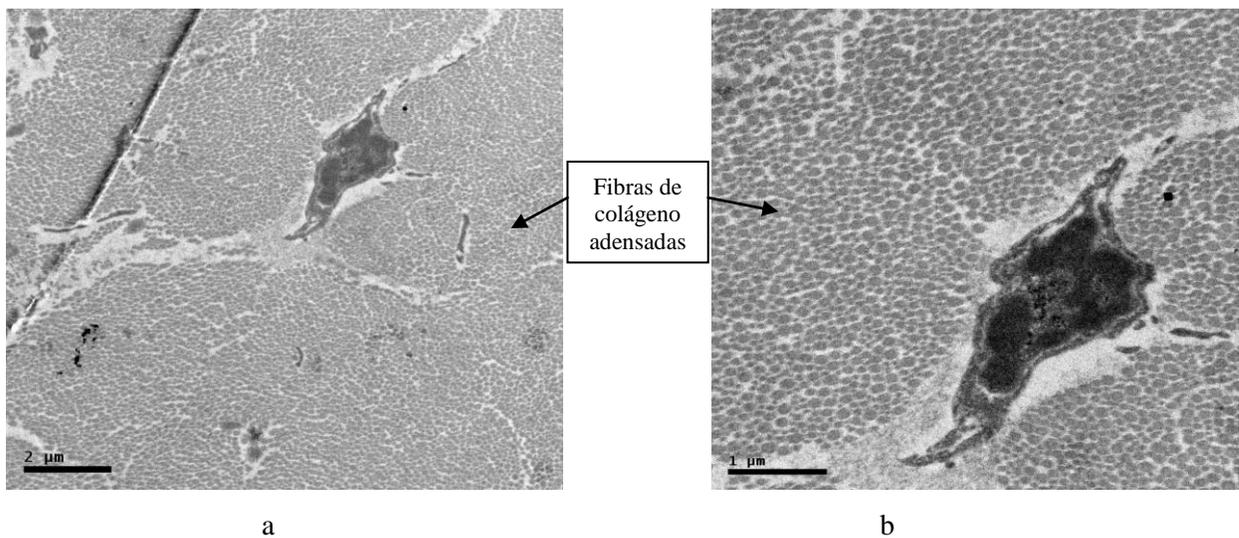


Figura 16 - Fotomicrografia eletrônica da ultraestrutura de uma corda valvar normal (grupo controle). Notam-se fibras de colágeno adensadas e seccionadas transversalmente. Aumento original 10000 x (a) e 25000 x (b).

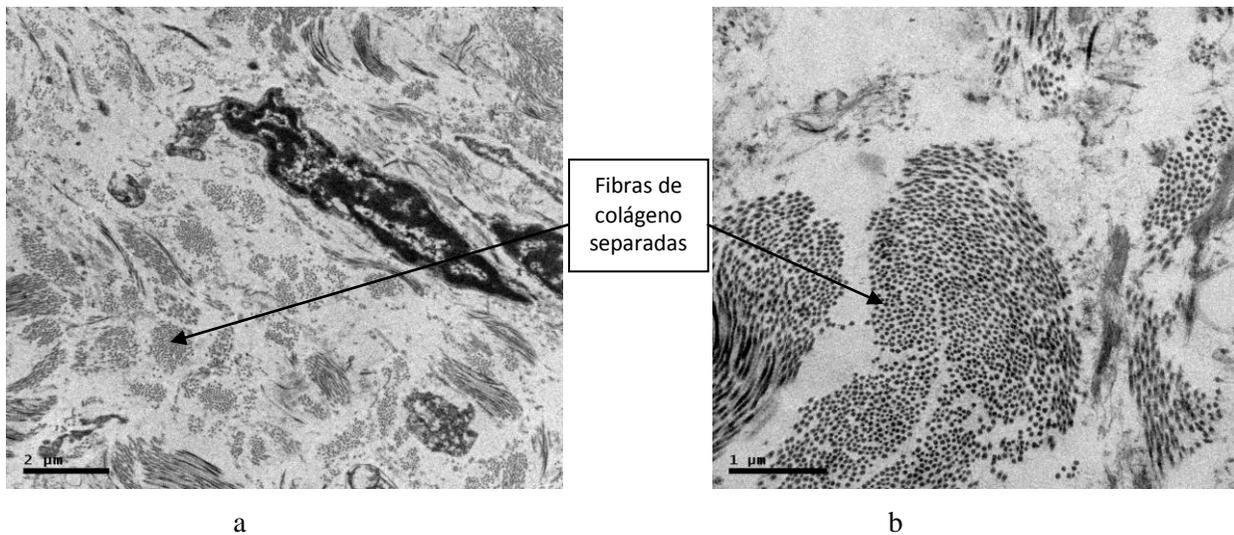


Figura 17 - Fotomicrografias eletrônicas da ultraestrutura de uma corda valvar submetida ao laser de alta potência. Notam-se fibras de colágeno separadas e seccionadas em diversas orientações. Aparentemente as fibras de colágeno são menores em diâmetro, quando comparado com o grupo controle. Aumento original 10000 x (a) e 25000 x (b).

5. 4 ESTUDO MICROSCÓPICO DAS CÚSPIDES

Com relação ao corte com bisturi de lâmina nas cúspides, evidenciamos pela coloração Hematoxilina-Eosina, pela coloração Tricrômico de Masson e coloração Picrosírius vermelho ausência de qualquer alteração histológica, ou seja, matriz extracelular valvar com colágeno frouxo na região central da cúspide e mais adensado na periferia, azulado e homogêneo ao Masson e com birrefringência usual (Figura 18). No grupo em que foi realizado o corte com laser nas cúspides, um aspecto basofílico hialino foi encontrado focalmente quando corados pela Hematoxilina-Eosina (Figuras 19 a, d). Quando corado pelo Tricrômico de Masson, se observa coloração vermelho-escura nas bordas e áreas de menor biorrefringência nas bordas do tecido quando corado pelo Picrosírius vermelho (Figuras 19 b, c, e, f).

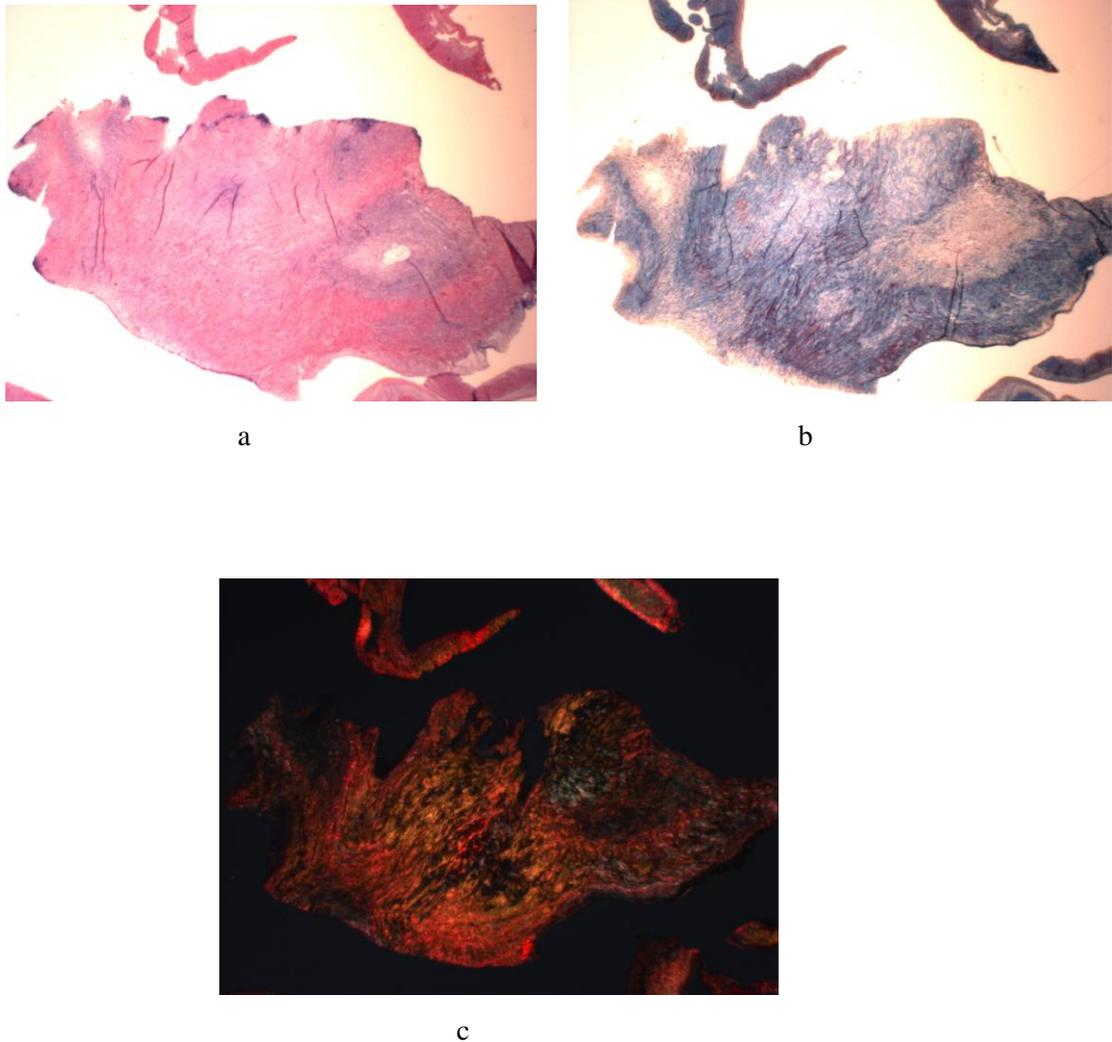


Figura 18 - Cortes histológicos da cúspide normal de suíno submetido ao corte com lâmina de bisturi (G5). Corado com Hematoxilina-Eosina (a); corado com Tricrômico de Masson, onde nota-se aspecto histológico típico da cúspide e coloração azulada homogênea (b); e corado com Picrosíríus e visualizado sob luz polarizada, onde observamos a birrefringência do colágeno (c).

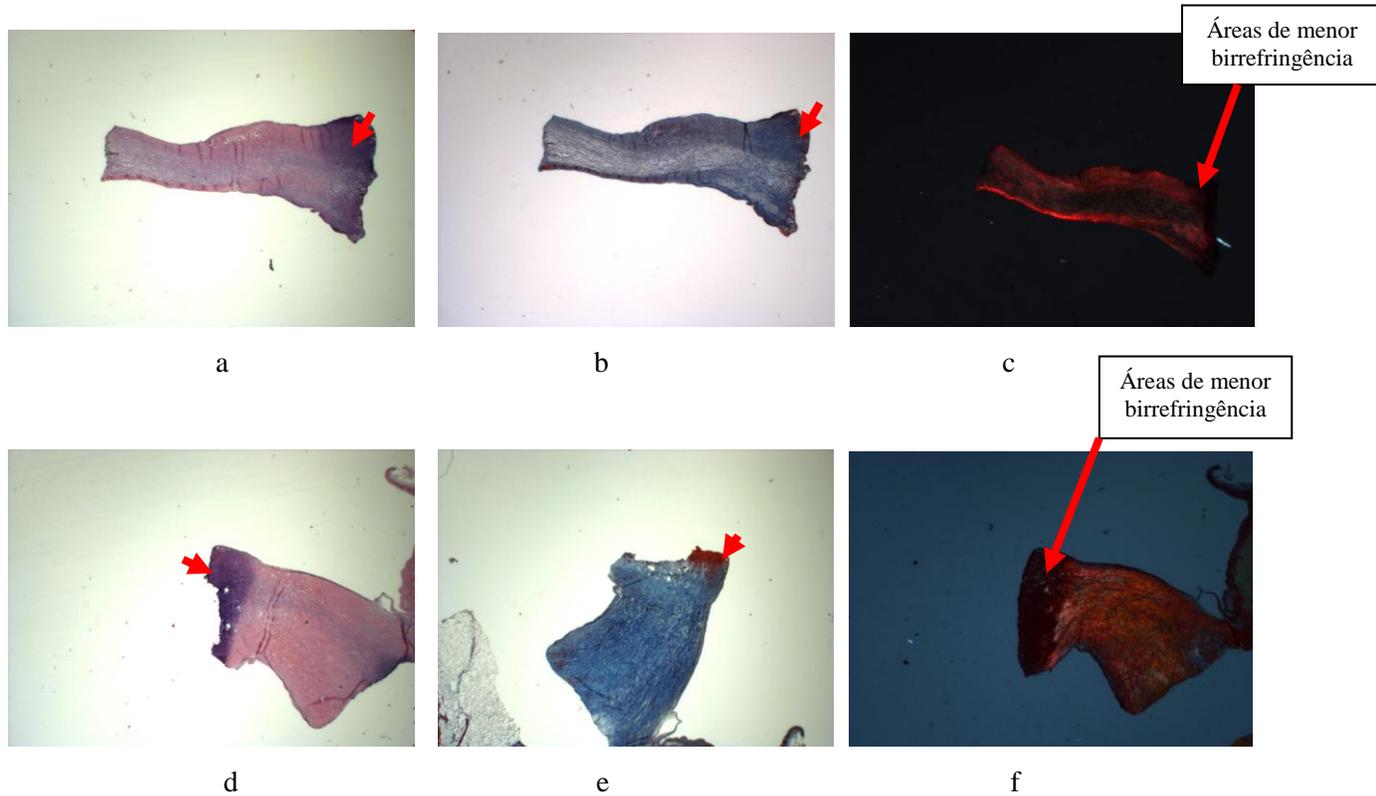


Figura 19 - Cortes histológicos da cúspide normal de suíno submetido ao corte com laser (G6). Aspecto basofílico hialino, focalmente em cortes corados pela Hematoxilina-Eosina (a, d); corte corado com Tricrômico de Masson, onde se observa coloração vermelho-escuro nas bordas correspondentes ao aspecto hialino da figura (b, e); e corte corado com Picrosírius e visualizado sob luz polarizada, onde se observa áreas de menor birrefringência do colágeno nas mesmas áreas (c, f).

5.4.1 Medidas da extensão do corte com o Laser

A aferição das distâncias entre o ponto inicial do corte da cúspide e o final da lesão demonstrada histologicamente, indicou uma maior extensão nas lâminas coradas com Picrosírius quando comparamos às coradas pelo Tricômico de Masson (Figura 20). No primeiro segmento da primeira cúspide (CU 1A) Tricômico de Masson e Picrosírius, mediram respectivamente, 381,5 μm e 742,7 μm e no segundo segmento (CU1B) mediram 240,4 μm e 268,7 μm . Na segunda cúspide (CU2) Tricômico de Masson e Picrosírius, mediram 355,9 μm e 612,3 μm ,

respectivamente. Na terceira cúspide (CU 3A) Tricômico de Masson e Picrosírius, foram respectivamente, 299,5 μm e 977,9 μm . No primeiro segmento da quarta cúspide (CU 4A) Tricômico de Masson e Picrosírius, foram respectivamente, 731,3 μm e 1285,1 μm . No segundo segmento da quarta cúspide (CU 4B) Tricômico de Masson e Picrosírius, foram respectivamente, 491,71 μm e 785,14 μm (Gráfico 6).

As distâncias médias medidas nos preparados corados pelo Tricômico de Masson e pelo Picrosírius a partir da borda de corte com a aplicação de laser foram respectivamente: 416,7 μm e 778,6 μm , consideradas estatisticamente significantes ($p=0,044$) (Gráfico 7).

A relação entre as distâncias pelo Masson e Picrosírius foi de 0,58, ou seja, a distância a partir da borda nos preparados corados pelo Masson foi 42% menor do que nos preparados corados pelo Picrosírius.

Gráfico 6 - Distâncias a partir do corte com o laser ($p=0,044$)

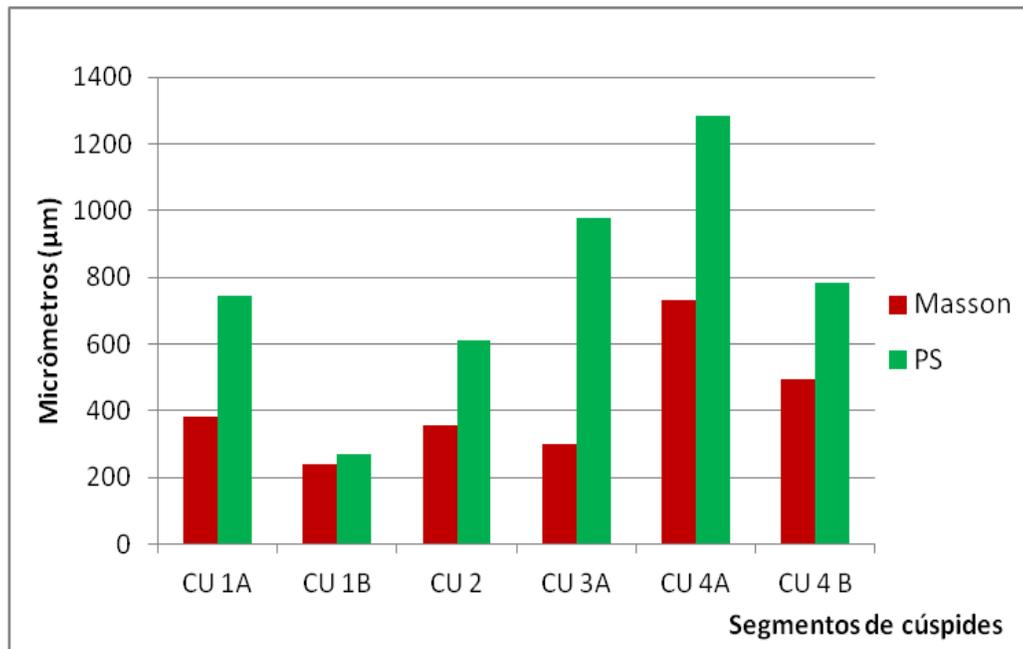
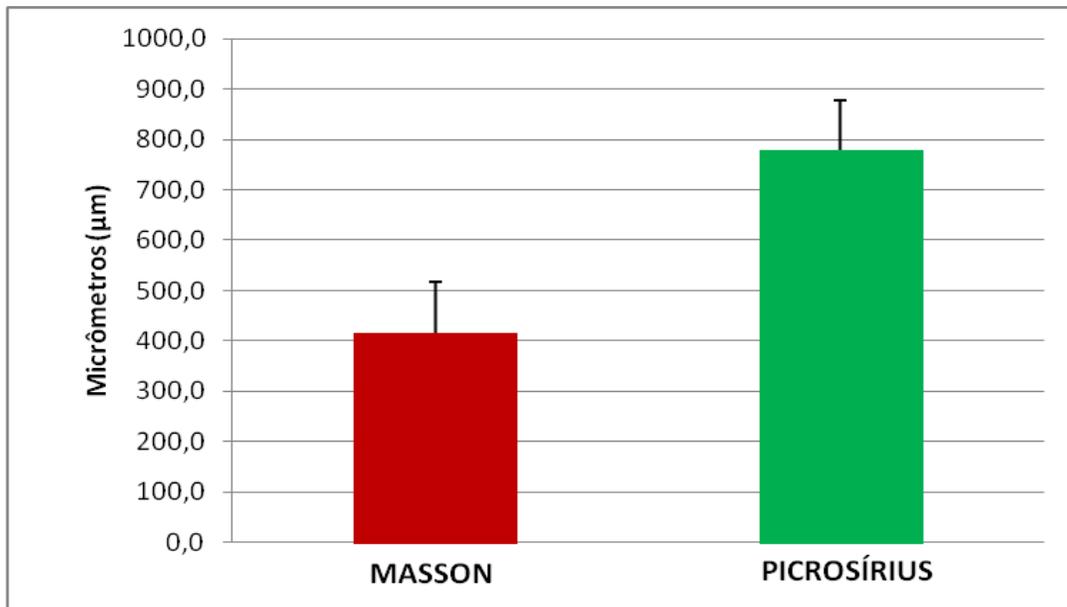


Gráfico 7 - Média das distâncias avaliadas nas lâminas coradas pelo Tricômico de Masson e Picrosírius ($p=0,044$)



a



b

Figura 20 - Distâncias a partir do corte com o laser, na coloração Tricômico de Masson (a); e na coloração Picrosírius vermelho visualizado sob luz polarizada (b).

5.5 ESTUDO DA CORDA TENDÍNEA E CÚSPIDE PELA TOMOGRAFIA POR COERÊNCIA ÓPTICA

Utilizando a técnica de tomografia por coerência óptica (OCT), mostramos imagens da corda tendínea e da cúspide durante a aplicação do laser, capturadas em tempo real, de forma não invasiva e sem irradiação ionizante (Figura 21 e 22). Durante o experimento, notamos alteração nas propriedades de birrefringência da corda tendínea (faixas claras e escuras) evidenciando o seu movimento que traduzia a sua provável retração.

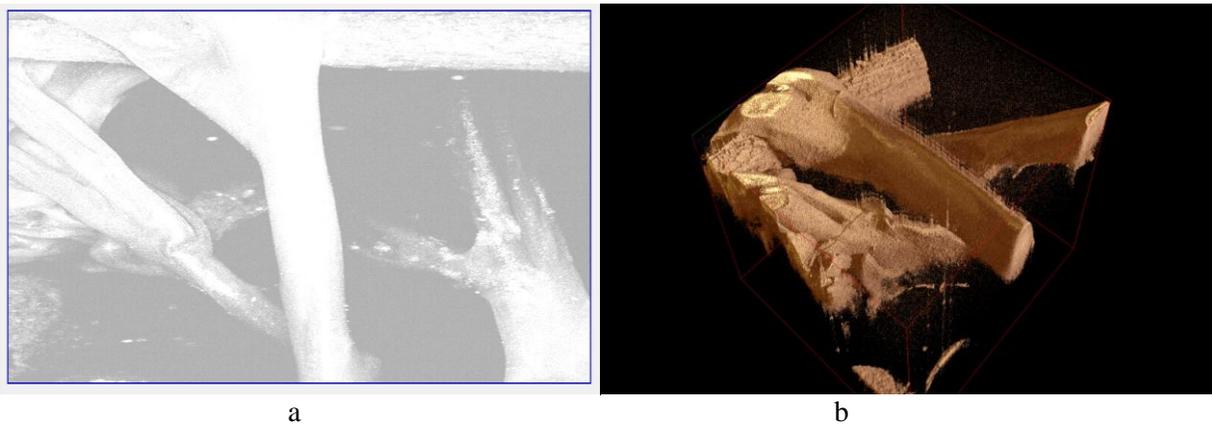


Figura 21 - Imagens da corda tendínea da valva mitral normal pelo método de OCT mostrando a viabilidade da técnica. As imagens foram realizadas em tempo real de forma não invasiva durante a aplicação do laser (a e b). A mesma imagem em 3D da corda tendínea da valva mitral (b).

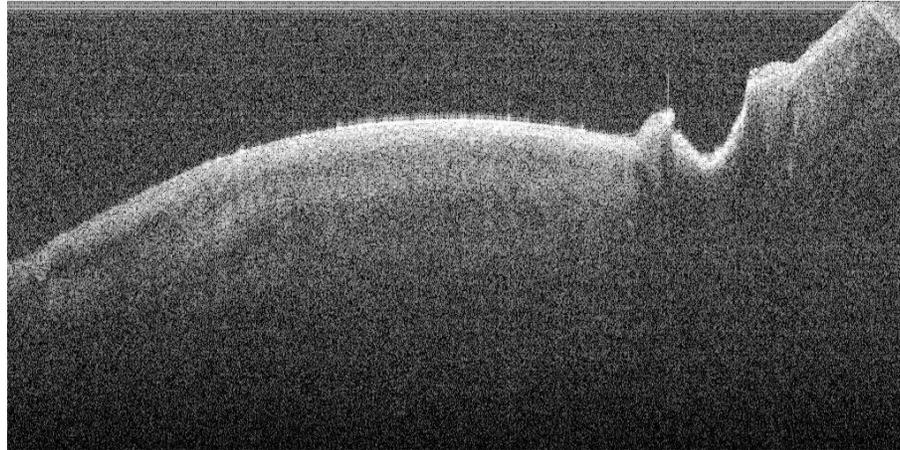
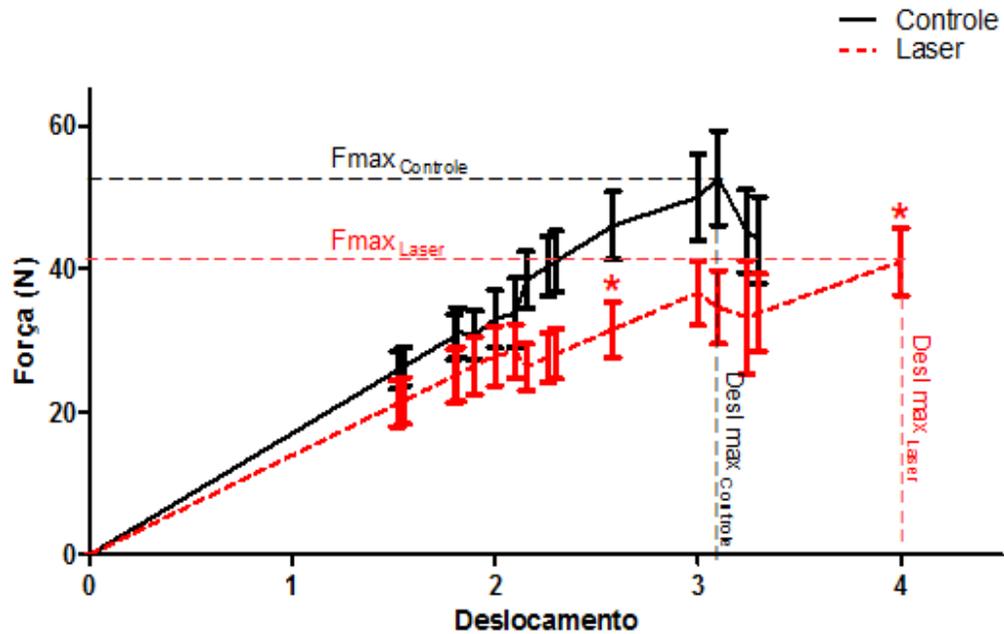


Figura 22 - Imagem da cúspide da valva mitral no momento em que foi cortada pelo laser. As imagens da OCT foram realizadas em tempo real de forma não invasiva e mostra a viabilidade da técnica.

5.6 ESTUDO MECÂNICO

No teste de tração, cada grupo foi representado por uma curva que expressa a média de 6 amostras do mesmo grupo. A curva geralmente denota uma região linear onde o ângulo (α) formado pelo eixo X e pela curva tem o valor máximo. Quanto maior este ângulo, mais rígido é o material. A medida espacial de cada corda tendínea foi levada em consideração e a distância inicial entre os fixadores metálicos do aparelho que determina a distância inicial antes do teste de tração ($L_0=4\text{mm}$) foi mantida a mesma para todas as amostras.

Gráfico 8 - Tração mecânica das cordas tendíneas dos grupos laser e grupo controle até a ruptura do tecido



Fmax para Força máxima e Desl max para deslocamento máximo. *Estatisticamente significativa ($p=0,05$)

O gráfico 8 representa o ensaio de tração mecânica das cordas tendíneas até seu ponto de ruptura. O Eixo Y representa a força em Newton (N) e nos permite avaliar qual material apresentou maior força até o momento da ruptura, descrevendo também o material mais resistente ao ensaio de tração. O ponto máximo representa a força máxima apresentada por cada material no momento de sua ruptura. O Eixo X representa o deslocamento do material em (mm) durante o ensaio de tração. A relação entre estes dois eixos (X e Y) ou Força e deslocamento permite avaliar determinadas propriedades mecânicas do tecido.

Este tipo de ensaio permite a observação de algumas características mecânicas do material. Os resultados apresentados neste gráfico demonstram algumas diferenças entre os grupos controle e laser. O grupo laser denotou valores menores no ângulo (α_2) que determina a rigidez do material, assim como na força máxima durante a ruptura. Ou seja, este se rompeu com uma força menor (menor resistência) e apresentou uma rigidez menor quando comparada ao grupo controle. Em relação ao deslocamento, o grupo laser apresentou valores maiores em relação ao grupo controle, isto é, a fibra sofreu maior distensão no grupo laser.

6 DISCUSSÃO

Na insuficiência mitral é comum a presença de cordas tendíneas alongadas que necessitam de correção cirúrgica, principalmente na doença mixomatosa e em algumas crianças acometidas pela febre reumática. Em relação à estenose mitral reumática, a fusão comissural é a principal característica e a reestenose é prevalente. A incorporação de inovação tecnológica e aprimoramento na técnica cirúrgica são imprescindíveis para melhoria de resultados.

Com a introdução do laser de alta potência na medicina, houve um avanço inimaginável em determinadas áreas médicas no último meio século de seu desenvolvimento. Além de cortes e vaporização de tumores, devido ao seu efeito fototérmico, sendo ainda capaz de proporcionar redução de infecção bacteriana e hemostasias ao mesmo tempo, permitiu sua disseminação em cirurgias urológicas, cardiovasculares, neurológicas, sobretudo em oftalmologia e dermatologia. O laser de diodo cirúrgico disponível comercialmente na década de 90 vem tomando espaço em suas aplicações devido à possibilidade de aplicação de fibra óptica em órgãos internos, por meio de endoscopias, de forma segura e menos invasiva.

O encolhimento térmico do colágeno tem sido utilizado há muitos anos na área da oftalmologia para tratar descolamento de retina e criar soldagem seletiva do colágeno na membrana de revestimento interna posterior, sem afetar o epitélio da córnea⁸⁴. Na ortopedia, estudos *in vitro* indicam uma diminuição precisa na frouxidão ligamentar de humanos reconstruídos, através do encurtamento do colágeno com o laser Nd:YAG. Esses autores observaram um local bem demarcado de desnaturação difusa e degeneração dos elementos do colágeno. Colágeno normal estava presente ao redor dessas mudanças térmicas⁸⁵. Além disso, em alguns estudos, o tratamento com laser na área cardíaca resultou em retração cicatricial evitando expansão do infarto e reduziu o volume após infarto agudo do miocárdio. No estudo de RAHMAN et al (2010), verificaram que houve uma redução sobre a estrutura rica de colágeno no anel valvar mitral quando utilizaram a radiofrequência *in vivo* sobre o anel valvar mitral com o propósito de tratar a regurgitação mitral⁸⁶. Entretanto, com relação à aplicação do laser sobre cordas tendíneas e cúspides cardíacas, não encontramos estudos na literatura a respeito do assunto.

No presente trabalho, o estudo histológico revelou que as cordas tendíneas submetidas ao laser apresentaram alterações na coloração, na birrefringência do colágeno e na distribuição nos feixes de colágeno. Nas cúspides cortadas com laser, aspecto basofílico-hialino no tecido, presença de Masson vermelho e diminuição da birrefringência também foram observados. O aspecto hialino do colágeno é um achado comum nos tecidos submetidos a trauma por temperatura, e nos encontrados em espécimes cirúrgicos de tecidos submetidos a bisturi elétrico. O aspecto Masson vermelho encontrado neste estudo é conhecido há alguns anos na literatura, como descrito por CHVAPIL et al (1984)⁸⁷. Eles notaram que as características azul-esverdeada do colágeno nativo da pele de suínos sofriam modificações para o vermelho, se o colágeno fosse afetado em trauma por temperatura⁸⁷. No estudo de WHITTAKER et al (2000), observaram que a birrefringência do colágeno diminuiu acima de 70°C e, que, acima de 80°C esteve associado com mudanças na organização nas fibras de colágeno de ondulado para estirado, após utilização da radiofrequência em corações de cães *in vitro* e *in vivo*⁸⁸. Eles sugerem que lesões causadas por temperaturas mais baixas poderiam não se estender devido ao colágeno não danificado resistir ao estiramento. Sendo assim, a coloração por Picrosírius vermelho associada à luz polarizada revelou uma assinatura histológica da temperatura correspondendo à desnaturação do colágeno.

Em doença humana, IGLÉSIAS (2007) descreveu na endomiocardiofibrose uma faixa de tecido colagenizado que evidenciava essa mesma característica de alteração tintorial do colágeno, sem, entretanto fornecer explicação para o fenômeno⁸⁹. É possível que esse achado morfológico seja um marcador de lesão tecidual ou apenas de desestruturação espacial das fibras de colágeno nas cordas tendíneas e cúspides do presente modelo experimental. No entanto, uma limitação deste trabalho é que não existiu reação vital, já que os tecidos-alvo foram submetidos ao laser após a sua retirada do coração do animal no abatedouro. Serão necessários estudos adicionais para se verificar qual o padrão de regeneração tecidual induzida pelo laser nas valvas cardíacas e suas cordas.

FURLANETTO et al (1984)⁹⁰ utilizaram laser de argônio ($\lambda=314-488\text{nm}$, potência de 0,5W a 2,5W, por 2 a 105 segundos) em cordas tendíneas mitrales de cadáveres com menos de 12 horas de óbito e obtiveram um encurtamento de 22,8% e uma resistência à tração que variou pouco, mas não significativamente, em relação às cordas não submetidas à ação do laser. No estudo histológico, observou-se necrose de coagulação do tecido conjuntivo das cordas. Entretanto neste estudo encontramos poucos dados relativos aos parâmetros dosimétricos do

laser. Já em nosso estudo foram utilizados comprimento de onda ($\lambda=980\text{nm}$), potência (3W) e tempos (15-30 segundos) diferentes, onde observamos um decréscimo significativo no comprimento das cordas tendíneas após aplicação do laser nos três grupos estudados (G1, G2 e G3) quando comparado ao comprimento inicial.

O comportamento mecânico do tecido está relacionado a três aspectos, sendo eles: carga, tipo do material e geometria do mesmo⁹¹ e estes são interpretados através da curva de força-deformação. Ao aplicar-se uma força, ou seja, um alongamento no tecido, este sofre também uma distensão. Esta representa a quantidade de deformação em relação à carga aplicada. A rigidez é uma resposta mecânica do tecido biológico que depende do estresse aplicado e da deformação ocorrida⁹².

Mudanças estruturais no tecido podem ocorrer devido à ação do laser de alta potência e essas alterações celulares podem influenciar na degradação de colágeno e na morte celular. Desta forma, a quantidade de colágeno, no caso da corda tendínea, colágeno tipo I e tipo III podem estar alterados ou ainda, suas fibras podem apresentar alterações em sua orientação. Todos estes fatores possuem grande influência na resposta mecânica do tecido.

Foi demonstrado neste trabalho que o modelo de lesão utilizado conseguiu alterar algumas propriedades mecânicas da corda tendínea, tais como a força máxima no instante da ruptura do tecido que foi menor nos grupos laser, assim como o ângulo que se formou na região linear de cada curva, indicando que os grupos laser apresentaram menor rigidez no tecido (Gráfico 6). Embora o grupo laser tenha evidenciado uma deformação maior com relação ao grupo controle, a corda tendínea se rompeu com uma força menor. Neste estudo foi aplicado apenas um modelo de ruptura de força máxima. Sendo assim, não é possível comentarmos sobre a elasticidade do tecido, pois para isso testes cíclicos deveriam ser empregados. É importante ressaltar que esses dados encontrados foram em cordas tendíneas de suínos saudáveis submetidas ao laser. Não podemos inferir que este comportamento mecânico estaria presente em cordas humanas acometidas por alguma doença valvar. Trabalhos anteriores demonstraram que tendões calcâneos de ratos após processo inflamatório agudo induzido por colagenase, apresentou aumento da rigidez do tendão⁹³. Neste aspecto, talvez a redução desta rigidez com o laser poderia contribuir para uma propriedade mecânica mais próxima do tecido original. Porém, mais trabalhos devem ser realizados para explicar estes aspectos.

Em estudo de LOBO et al (2006) foi demonstrado que a resistência da corda tendínea primária humana da valva mitral está relacionada com sua espessura e com o alongamento no momento da ruptura à tração, não estando relacionada ao seu comprimento¹³. Em relação ao alongamento no momento da ruptura, esta apresenta correlação com a resistência relativa à espessura e com a espessura da corda tendínea primária humana, não estando relacionada com o comprimento da mesma.

Durante o procedimento em que aplicamos o LAP nas cordas tendíneas foi possível identificar alterações estruturais da própria fibra e seu encurtamento através da técnica de tomografia por coerência óptica o que permitiu essa visualização em tempo real do tecido estudado. Além disso, pudemos controlar a temperatura do tecido através da termografia, já que o nosso intuito foi o de alcançar temperaturas mais baixas (<48°C).

No estudo de AZEVEDO (2005), ratos foram submetidos a dano tecidual com bisturi convencional, bisturi elétrico e laser de alta potência, observando-se dano tecidual significativamente menor (área de necrose) com o bisturi convencional⁹⁴. Entretanto, todos os instrumentos cirúrgicos geraram um processo reparacional semelhante. Outros autores⁹⁵ afirmam que o laser de alta potência tende a evidenciar um processo reparacional mais demorado em razão do efeito térmico gerado. Em nosso estudo, observamos algumas diferenças na estrutura da cúspide (pelas técnicas HE, Tricrômico de Masson e Picrosírius vermelho) quando comparamos o grupo cortado com bisturi de lâmina com o grupo cortado com laser e os danos térmicos encontrados com este último foram bem maiores do que em relação ao instrumento convencional de corte. Não é possível estabelecer com segurança se essa lesão descrita histologicamente corresponde a necrose irreversível do tecido ou apenas a alteração estrutural das proteínas da matriz extracelular decorrente da aplicação do laser. Verificamos que a distância da borda de corte do tecido quando avaliado através da coloração de Tricrômico de Masson foi 42% menor do que nos preparados corados pelo Picrosírius, indicando que este último nos revela maiores detalhes, aparentemente detectando de forma mais precisa o envolvimento da extensão causada pelo laser na amostra.

Além disso, as distâncias médias das áreas com lesão do colágeno (coradas pelo Tricrômico de Masson e Picrosírius) a partir da borda de corte a laser nas cúspides revelaram sempre valores menores que 1 mm (416,7 µm e 778,6 µm, respectivamente). Isto indica que, mesmo que essas áreas correspondam a necrose tecidual, a distância a partir da borda (sob as

condições de tempo e potência do laser descritos no presente estudo) foi sempre inferior a 1mm. Este achado deve guiar futuras investigações em animais vivos, quando se pretenderá estudar os aspectos locais de regeneração espontânea ou secundária a sutura local. Uma tese apresenta conclusões, mas abre espaço para muitas indagações. Bordas de cúspides após a comissurotomia com laser dificultariam uma fusão dessas estruturas em longo prazo? Postergariam o procedimento cirúrgico decorrente da reestenose mitral? Algum dia poderemos reduzir cordas tendíneas com laser transcateter?

7 CONCLUSÃO

- 1) A histologia das cordas tendíneas de valvas mitrais de suínos submetidas ao laser de alta potência com variação da energia demonstrou área irregular hialina, coloração vermelho-escuro, diminuição na birrefringência e alteração na distribuição dos feixes de colágeno. Quanto maior a energia aplicada maiores foram estas alterações.
- 2) As cordas tendíneas de valvas mitrais de suínos submetidas ao laser de alta potência apresentaram menor resistência mecânica, maior distensão e redução do seu comprimento final quando comparadas ao grupo controle.
- 3) Os danos térmicos encontrados no grupo corte com laser de alta potência foram maiores do que em relação ao bisturi de lâmina, quando evidenciados pela microscopia óptica. As distâncias médias de lesão do colágeno nas cúspides a partir da borda de corte com a aplicação do laser de alta potência revelaram valores menores que 1 mm.

8 REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial da Saúde. Taxas de mortalidade. [on line]. Disponível em URL: <http://apps.who.int>. Acesso em: 23 abril 2014.
2. Pereira MB, Barcellos CS, Kalil RAK, Santana JR, Prates PR, Nesralla JA. Toracotomia minimamente invasiva nas intervenções cirúrgicas valvares. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 1998; 13(3): 229-33.
3. Relatório Semestral de Atividades 2013. Instituto do Coração do Hospital das Clínicas. InCor-HC/FMUSP. São Paulo, Anual de 2013.
4. Sampaio RO, Fae KC, Demarchi LMF, Pomerantzeff PMA, Aiello VD, Spina GS, Tanaka AC, Oshiro SE, Grinberg M, Kalil J, Guilherme L. Rheumatic heart disease: clinical and immunological follow-up. *Vascular Health and Risk Management*. 2007; 3(6): 1007–1017.
5. Ministério da Saúde. Departamento de Informação e Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). Informações sobre mortalidade e informações demográficas. [on line]. Disponível em URL: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi>. Acesso em: 05 março 2012.
6. Silva AR, Herdy GVH, Vieira AA, Simoes, LC. Plastia mitral cirúrgica em crianças com febre reumática. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 92(6): 433-438.
7. Chavantes, M.C.; et al. Aplicación del Laser en Patología Cerebrovascular. In: Mendes, J; Leiguarda, R.C (ed.) Enfermedades Cerebrovasculares Isquemicas y Hemorragicas. Chile: Public. Tecn Mediterráneo. p.593-599. cap.53. 1994.

8. Netter FH. Coração. Seção I Anatomia. Átrios e Ventricúlos In: Ilustrações Médicas. The ciba collection of Medical Illustrations. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1962. v.5.
9. Almeida AFS. Estudo anatômico do aparelho subvalvar da valva atrioventricular esquerda de corações humanos. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2008.
10. Pomerantzeff PMA. Avaliação tardia de pacientes submetidos a plástica da valva mitral. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1990.
11. Hoçoya LM. Valva mitral de suínos: uma abordagem bioquímica e morfológica. [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2005.
12. Pomerantzeff PMA. Plástica da valva mitral com a técnica de duplo teflon. Análise dos resultados imediatos e tardios. [tese livre-docente]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1999.
13. Lobo FLL, Takeda FR, Brandão CMA, Braile DM, Jatene FB, Pomerantzeff PMA. Study of the traction resistance of mitral valve chordae tendineae. *Clinics*. 2006; 61(5): 395-400.
14. Liao J, Vesely I. Relationship between collagen fibrils, glycosaminoglycans, and stress relaxation in mitral valve chordae tendineae. *Annals of Biomedical Engineering*. 2004; 32 (7): 977–983.
15. Liao J, Priddy LB, Bo Wang¹, Joseph Chen¹, Ivan Vesely. Ultrastructure of porcine mitral valve chordae tendinea. *J Heart Valve Dis*. 2009;18 (3).
16. Tamura K, Fukuda Y, Ishizaki M, Masuda Y, Yamanaka N, Ferrans VJ. Abnormalities in elastic fibers and other connective-tissue components of floppy mitral valve. *Am Heart J*. 1995; 129: 1149-1158.

17. Akhtar S, Meek KM, James V. Immunolocalization of elastin, collagen type I and type III, fibronectin, and vitronectin in extracellular matrix components of normal and mixomatous mitral heart valve chordae tendineae. *Cardiovasc Pathol.* 1999; 8: 203-11.
18. Ritchie J, James N. Warnock, Ajit P. Yoganathan. Structural characterization of the chordaeTendineae in native porcine mitral valves. *Ann Thorac Surg.* 2005; 80:189 –97.
19. Chen L, Yin FCP, May-Newman K. The structure and mechanical properties of the mitral valve leaflet-strut chordae transition zone. *Journal of Biomechanical Engineering.* 2004; 126:244-251.
20. Gusukuma, WL, Prates JC, Smith RL. Chordae tendineae architecture in the papillary muscle insertion. *Int. J. Morphol.* 2004; 22(4):267-272.
21. Berkovitz & Rollinson. Ultrastructural quantification of collagen in human chordae tendina. *Br Heart J.* 1993; 69:246-249.
22. Liao J, Vesely I. Skewness angle of interfibrillar proteoglycans increases with applied load on mitral valve chordae tendineae. *Journal of Biomechanics.* 2007; 40: 390–398.
23. Millington-Sanders C, Meir A, Lawrence L, Stolinsky CJ. Structure of chordae tendineae in the left ventricle of the human heart. *Anat.* 1998; 192: 573-581.
24. Silver MM. Gross examination and structure of the heart. In: Silver MD. Cardiovascular Pathology. London: Churchill Livingstone, 1983. p.24.
25. Cavalcanti JS, Oliveira EL, Godoi ETAM, Santos LPF, Silva VXL, Oliveira ML. Estudo mesoscópico da valva mitral e do seu anel fibroso. *Arq Bras Cardiol.* 1997; 69 (4): 243-246.

26. Tamura K, Fukuda Y, Tshizati M, Masuda Y, Yamanaka N, Ferrans VJ – Abnormalities in elastic fibers and other connective-tissue components of floppy mitral. *Am Heart J.* 1995; 129: 1149-58.
27. Liao J, Vesely I. A structural basis for the size-related mechanical properties of mitral valve chordae tendineae. *Journal of Biomechanics.* 2003; 36:1125–1133.
28. Lomholt M, Nielsen SL, Hansen SB, Andersen NT, Hasenkam JM. Differential tension between secondary and primary mitral chordae in an acute in-vivo porcine model. *Journal of Heart Valve Disease.* 2002; 11(3): 337–345.
29. Casado JA, Diego S, Ferreño D, Ruiz E, Carrascala I, Méndez D, Revuelta JM, Pontón A, Icardo JM, Gutiérrez-Solana F. Determination of the mechanical properties of normal and calcified human mitral chordae tendineae. *Journal of the Mechanical Behavior of Medical Materials.* 2012; I3:1-13.
30. Jesen MOJ, Fontaine AA, Yoganathan AP. Improved in vitro quantification of the force exerted by the papillary muscle on the left ventricular wall: three-dimensional force vector measurement system. *Annals of Biomedical Engineering.* 2001; 29: 406–413.
31. Amato MCM. Prolapso da valva mitral. Amato MCM. *Cardiopatas valvares.* São Paulo: Roca, 1998. cap. 141, p.98-99.
32. Albuquerque JMAC, Pomerantzeff PY, Brandão CMA, Grinberg M, Pomerantzeff PMA, Oliveira SA et al. Plástica valvar mitral pela técnica de "Duplo Teflon" em pacientes com anel valvar calcificado e degeneração mixomatosa. *Rev Bras Cir Cardiovasc .* 2005, (20) 2: 129-133.
33. Savage DD, Garrison RJ, Devereux RB, Castelli WP, Anderson SJ, Levy D et al. Mitral valve prolapse in the general population. 1. Epidemiologic features: the Framingham Study. *Am Heart J.* 1983;106 (3):571-6.

34. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Monteiro ACM, Nersessian AC, Zeratti AE, Stolf NAG et al. Plástica da valva mitral: resultados tardios de doze anos de experiência e evolução das técnicas. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 1994;9(1):22-8.
35. Moura EB, Gomes MR, Corso RB, Faber CN, Carneiro FP, Pacheco YG. Amplificação dos genes que codificam a endotelina-1 e seus receptores em valvas mitrais reumáticas. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 95(1):122-130.
36. Barbosa PJB, Lopes AA, Feitosa GS, Almeida RV, Silva RM, Brito JC, Duarte ML, Almeida AJG. Fatores prognósticos da estenose mitral reumática durante o período da gravidez e puerpério. *Arq Bras Cardiol.* 2000; 75(3): 215-219.
37. Tuladhar SM, Punjabi PP. Surgical reconstruction of the mitral valve. *Heart.* 2006; 92:1373–1377.
38. Oliveira A. Febre reumática. Uma pesquisa de campo. Rio de Janeiro (1ªed.),1991.
39. Netter FH. Coração. Seção V. Doenças Adquiridas. In: Ilustrações Médicas. The ciba collection of Medical Illustrations. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1962. v.5.
40. Rossi EG. Insuficiência mitral. In: Grinberg M, Sampaio RO. Doença valvar. São Paulo: Manole, 2006. cap. 20, p.148-154.
41. Carvalho RG, Giublin PR, Lopes LR, Mulinari L, Loures DRR. Plástica da valva mitral com emprego do anel de Gregori-Braile: análise de 66 pacientes. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 1998; 13(4): 295-316.
42. Frater RWM, Gabbay S, Shoire D, Factor S, Strom J. Reproducible replacement of elongated or ruptured mitral valve chordate. *Ann Thorac Surg.* 1983; 35:14-00.

43. Gregori JR, Takeda RT, Silva SS, Façanha LA, Ribeiro JA, Aquino WF et al. Sete anos de experiência com plastia de valva mitral. *Arq Bras Cardiol.* 1986; 47 (4): 269-274.
44. Carpentier A. Cardiac valve surgery-the french correction. *J. Thoracic Cardiovasc Surg.* 1983; 86(3): 323-337.
45. Duran CG. Reconstructive procedures of the mitral valve including annuloplasty. Modern techniques in surgery cardiac thoracic surgery. 1979: 20-10.
46. Lessana A, Viet TT, Ades F, Kara SM, Ameer A, Ruffenach A et al. Mitral reconstructive operations: a series of 130 consecutive cases. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1983; 86 (4): 553-561.
47. Dancini JL, Pomerantzeff PMA, Spina GS, Pardi MM, Giorgi MCP, Sampaio RO et al. Valve replacement with chordal preservation and valvuloplasty for chronic mitral insufficiency. *Arq.Bras.Cardiol.* 2004; 82:235-42.
48. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Albuquerque JMA, Pomerantzeff PY, Takeda F, Oliveira SA. Mitral valve annuloplasty with a bovine pericardial strip. *Clinics.* 2005; 60(4): 305-10.
49. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Faber CM, Grinberg M, Cardoso LF, Tarasoutchi F, Stolf NAC, Verginelli G, Jatene AD. Mitral valve repair in rheumatic patients. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 1998; 13(3): 211-5.
50. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Faber CM, Fonseca MH, Puig LB, Grinberg M, et al. Plástica da valva mitral: resultado aos 17 anos de experiência. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 1999; 14 (3): 185-90.

51. Machado VHS, Gregori Jr F. Avaliação cardiológica tardia de crianças com insuficiência mitral reumática submetidas a cirurgia reconstrutora com anel de Gregori. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 85 (6): 403-11.
52. Pomerantzeff PMA, Brandão CMA, Leite Filho OA, Guedes MAV, Silva MF, Grinberg M, Stolf NAG. Plástica da valva mitral em pacientes com insuficiência mitral reumática. Técnicas e resultados de 20 anos. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2009; 24(4): 485-489.
53. Chavantes MC. Fundamentos do Laser. In: Chavantes MC. Laser em Bio-Medicina. São Paulo: Atheneu, 2009. cap.2, p.15-21.
54. Chavantes MC, Jatene AD. Aplicação do laser na área cardiovascular. *Arq Bras Cardiol.* vol 54/1: 63-68, 1990.
55. Chavantes MC, Tomimura S. Uso do Laser no Coração e Pulmão - Cirurgia Torácica e Cardíaca. In: Carvalho JJM. Laser em Medicina. Noções Básicas. São Paulo, 2004. p. 43-47.
56. Chavantes MC, Zamorano L. Aplicación del Laser en Patología Cerebro-Vascular. In: Mendes J, Leiguarda RC. Enfermedades Cerebrovasculares Isquêmicas y Hemorrágicas. Chile: Public. Teen. Mediterrâneo, 1994. cap 53, p. 593-599.
57. Itri R, Chavantes MC, Tomimura S. Interação do Laser com a Matéria Biológica. In: Chavantes MC. Laser em Bio-Medicina. São Paulo: Atheneu, 2009. cap.3, p. 29-34.
58. Chavantes MC, Tomimura S. Classificação dos Lasers. In: Chavantes MC. Laser em Bio-Medicina. São Paulo: Atheneu, 2009. cap.5, p.41-42.
59. Maldonado EP, Ribeiro MS, Zzell, DM. Interação da luz laser com tecidos biológicos. [Apostila de curso]. São Paulo: Mestrado Profissionalizante Laser em Odontologia – IPEN – FOU SP; 2000.

60. Pazos M. Fotobiologia da Interação do Laser com a Célula Animal. In: Laser em Biomedicina. Chavantes, M.C. Atheneu (ed). São Paulo, Brasil. Cap 6, p.73-100, 2009.
61. Karu TI. Cellular mechanisms of low power laser therapy: new questions. In: Lasers in Medicine and Dentistry, vol.3, Ed. Z. Simunovic, Vitgraf: Rieka, 2003, p. 79-80.
62. Dallan LAO, Oliveira S. Cirurgia de revascularização transmiocárdica a laser de CO₂. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2000; 15(2): 89-104.
63. Chavantes MC, Tomimura, S. Parâmetros Dosimétricos do Laser. In: Chavantes MC. Laser em Bio-Medicina. São Paulo: Atheneu, 2009. cap.4, p. 34-37.
64. Gowdak LH, Schetttert IT, Rochitte CE, Lisboa LA, Dallan LA, César LA, Krieger JE, Ramires JA, Oliveira SA. Cell therapy plus transmyocardial laser revascularization for refractory angina. *Ann Thorac Surg.* 2005; 80(2):712-4.
65. Luiz, MCRA. Análise do efeito do laser de baixa potência no processo de reabilitação pós-reconstrução do ligamento cruzado anterior. [dissertação]. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba; 2004.
66. Baptista IMC, Rigau J, Chavantes MC, Stolf NAG, Dallan LAO, Oliveira SÃO. Laser de baixa potência pode prevenir a síndrome da resposta inflamatória sistêmica, pós circulação extracorpórea, em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca? *Rev Soc Bras Laser.* 2006; 3(13): 10-16.
67. Pinto NC, Pereira MHC, Stolf NAG, Chavantes MC. Laser de baixa intensidade em deiscência aguda de safenectomia: proposta terapêutica. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular.* 2009; 24(1): 88-91.

68. Pinto FCG, Chavantes MC, Pinto NC, Alho E, Yoshimura EM, Krebs VLJ, Teixeira MJ. Novel treatment immediately after myelomeningocele repair applying low-level laser therapy in newborns: a pilot study. *Pediatric Neurosurgery*. 2010; 46:249 - 254.
69. Canal M, Conti FF, Sanches IC, Pinto NC, Assumpção B, Pinto M, Duarte I, Angelis K, Colombo FC, Chavantes MC. Hemodynamic changes post low level laser therapy in elderly obese rats: an experimental study. In: American Society for Laser Medicine and Surgery (ASLMS), 2013, Boston, MA. *Abstracts*. Boston: Wiley Periodicals, Inc. 2013, 93p. p.52.
70. Chavantes MC, Morais TL, Tomimura S, Assunção BP, Canal M, Pinto NC, Sanches IC, Lopes H, Colombo FC. Study's significance from arterial elasticity and variation in arterial blood pressure for normotensive and hypertensive patients applying pre and post lasertherapy: preliminary results. In: International Society for Optics and Photonics (SPIE), 2014, San Francisco, CA. *Proceedings of 2014 Photonics West*. San Francisco: 2014. 404 p. p.46.
71. Dang WY, Ye X, Liu N, Zhang Z, Ren Q. Investigation of irradiation by different nonablative lasers on primary cultured skin fibroblasts. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2011; 36: 655-660.
72. Dang Y, Liu B, Liu L, Ye X, Bi X, Zhang Y, Gu J. The 800-nm diode laser irradiation induces skin collagen synthesis by stimulating TGF- β /Smad signaling pathway. *Lasers Med Sci*. 2011; 26:837-843.
73. Longo C, Galimberti M, De Pace B, Pellacani G, Bencini PL. Laser skin rejuvenation: epidermal changes and collagen remodeling evaluated by in vivo confocal microscopy. *Lasers Med Sci*. 2012.
74. Ozog DM, Liu A, Chaffins ML, Ormsby AH, Fincher EF, Chipps LK, Mi QS, Grossman PH, Pui JC, Moy RL. Evaluation of clinical results, histological architecture, and collagen

- expression following treatment of mature burn scars with a fractional carbon dioxide laser. *Arch Dermatol*. 2012; E1-E8.
75. Weng Y, Dang Y, Ye X, Liu N, Zhang Z, Ren Q. Investigation of irradiation by different nonablative lasers on primary cultured skin fibroblasts. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2010; 36: 655-660.
76. Alvarenga J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: Daleck CR, Baptista LC, Mukai LS. (Ed.). Tópicos em cirurgia de cães e gatos. Jaboticabal: FUNEP-UNESP, 1992; 33-42.
77. Oliveira LL, Souza DB, Abílio EJ, Carvalho EC. Métodos de preservação de membranas biológicas para uso cirúrgico. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*. 2009; 2 (3): 175-188.
78. Leite JBF, Marques AF, Gomes OM, Pigossi N. A glicerina e a preservação de tecidos. *Revista Paulista de Medicina*. 1979; 93 (3-4):81-84.
79. ABP Fortuna, Gilson B, AM Camargo. Anatomia da valva atrioventricular esquerda: I. As cúspides. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 1988; 3(3): 201-209.
80. Pierce MC, Strasswimmer J, Park BH, Cense B, Boer JF. Advances in optical coherence tomography imaging for dermatology. *J Invest Dermatol*. 2004;123:458-463.
81. Freitas AZ. Caracterização de tecidos biológicos através de tomografia por coerência óptica. [tese]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2007.
82. Freitas AZ. Optical Coherence Tomography: development and application. Freitas AZ, Amaral MM, Raele MP. [on line]. Disponível em URL: <http://www.intechopen.com>. Acesso em: 10 maio 2012.

83. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics* - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986; 584.
84. Kanellopoulos AJ. Laboratory evaluation of selective in situ refractive cornea collagen shrinkage with continuous wave infrared laser combined with transepithelial collagen cross-linking: a novel refractive procedure. *Clin Ophthalmol*. 2012; 6:645-652.
85. Vangsness CT, Mitchell W, Nimni M, Erlich M, Saadat V, Schmotzer H. Collagen shortening. An experimental approach with heat. *Clin Orthop Relat Res*. 1997; 337:267-271.
86. Rahman S, Eid N, Murarka S, Heuser RR. Remodeling of the mitral valve using radiofrequency energy: review of a new treatment modality for mitral regurgitation. *Cardiovasc Revasc Med*. 2010; 11:249-259.
87. Chapvil M, Speer D, Owen J, Chapvil TA. Identification of the depth of burn injury by collagen stainability. *Plast Reconstr Surg*. 1984; 73:438-441.
88. Whittaker P. Laser-mediated reversal of cardiac expansion after myocardial infarction. *Lasers Surg Med*. 1999; 25:198-206.
89. Iglézias SDA. Endomiocardiofibrose: patologia e correlação clínica em material de ressecção cirúrgica. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2007.
90. Furnaleto BHS, Puig LB, Macruz R, Neto EALF, Mnitentag J, Verginelli G, Lopes EA, Jatene AD. Estudo experimental da ação do raio laser sobre as cordas tendíneas da valva mitral. *Arq Bras Cardiol* 1984; 43(2): 93-96.
91. Cordey J. Introduction: Basic concepts and definitions in mechanics. *Injury. International Journal of the Care of the Injured*. 31, S-B 1-S-B13, 2000.

92. Latash ML, Zatsiorski VM. Joint stiffness: Myth or reality? *Human Movement Science*. 1993;12: 653-692.
93. Marcos RL, Arnold G, Magnenet V, Rahouadj R, Magdalou J, Lopes-Martins RA. Biomechanical and biochemical protective effect of low-level laser therapy for Achilles tendinitis. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014; 29:272-285.
94. 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. [tese] São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2005.
95. Luomanen M, Lehto VP, Meurman JH. Myofibroblasts in healing laser wounds of rat tongue mucosa. *Arch Oral Biol*. 1988; 33(1):17-23.