

Artigo original**Efeitos do laser Arsenieto de Gálio (AsGa) na inflamação articular aguda induzida em ratos *wistar* através do adjuvante completo de Freund*****The effects of the Laser Gallium Arsenide(AsGa) in treatment of inflammation in the articulation in wistar rats through the Complete Adjuvant of Freund***

CristinaVincensi*, Paulo de Tarso Camillo de Carvalho**

.....

* Fisioterapeuta Graduada pela Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal – UNIDERP-MS, ** Mestre em Bioengenharia EESC/FMRP/IQSC – Universidade de São Paulo - USP, Professor Titular da disciplina de Fisioterapia Geral - Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal- UNIDERP - Campo Grande MS

Resumo

O presente estudo tem como objetivo verificar os efeitos do laser Arsenieto de Gálio no tratamento da inflamação aguda na articulação do joelho. Para tanto utilizou-se 24 *rattus novergicus albinos* da linhagem *wistar*, fêmeas, sem idade estabelecida, distribuídas em 2 grupos e 4 subgrupos. A análise foi realizada através dos resultados histopatológicos. A indução da inflamação foi realizada através da injeção 0,45 ml de solução de Soro Albumina Bovina (SAB) e Adjuvant Completo de Freund (ACF) no joelho direito, sendo que o contralateral serviu de testemunha. O grupo tratado foi composto por 12 animais, sendo estes subdivididos em 3 e 7 dias. O grupo induzido, mas não tratado foi enquadrado no mesmo protocolo. Após

Palavras-chave:

Laser de baixa intensidade, inflamação induzida, Adjuvante completo de Freund.

Artigo recebido em 1 de junho de 2002; aprovado em 20 de junho de 2002.

Endereço para correspondência: Prof. Paulo de Tarso Camillo de Carvalho, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal /Coordenação do Curso de Fisioterapia, Rua Alexandre Herculano, 1400, Parque dos Poderes, 79037-280 Campo Grande MS, E-mail: ptpaulo@enersulnet.com.br

eutanásia, coletou-se as peças que foram coradas pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE). Na análise estatística obteve-se $p < 0,5$, e nos resultados foi possível constatar diferenças significativas nos animais tratados nos subgrupos de 3 e 7 dias, quando comparados com o grupo controle, em relação aos parâmetros de mononucleares, congestão vascular e neoformação de vasos. Concluindo-se que o laser apresenta efetividade como antiinflamatório, antiedematoso e analgésico.

Abstract

The present study has as objective verifies the effects of the Laser Gallium Arsenide (GaAs) in the treatment of the sharp inflammation in the articulation of the knee, analyzed through histopathologic results. We used 24 *Rattus albino novergicus* of the lineage *Wistar*, females, without established age, distributed in 2 groups and 4 subgroups. The induction of the inflammation was induced through the injection of 0.45 ml of solution of Serum Bovine Albumin (SAB) and Adjuvant Complete of Freund (ACF) in the right knee, and the against lateral served as witness. The treated group was composed of 9 animals, being these subdivided in 3 and 7 days. The induced group, but non treated was framed in the same protocol. After euthanasia, it was collected the pieces that were red-faced for the technique of Hematoxilina-Eosina (HE). In the it analyzes statistics it was obtained $p < 0,5$, in the results were possible to verify significant differences in the treated animals in the subgroups of 3 and 7 days when compared with the group control, in the mononuclear parameters, vascular congestion and neo formation of vessels. It was concluded that the laser presents effectiveness as anti-inflammatory anti- swelling and analgesic.

Key-words: Low Intensity Laser Therapy, induced inflammation, Freund's Adjuvant



Introdução

As doenças inflamatórias que afetam as articulações, apresentam prevalência alta principalmente a osteoartrite e a artrite reumatóide. Estudos indicam uma previsão de que 59,4 milhões de novos casos aparecerão nas Américas até o ano 2020. Vale lembrar que estas doenças, além de serem incapacitantes, são de grande morbidade.

O processo inflamatório conduz a níveis elevados de incapacidade que, se não resolvidos, podem apresentar quadros remissivos, que comprometem funcionalmente, tanto as atividades de vida diária como as atividades da vida profissional do paciente, principalmente no que tange ao quadro algíco, assim como a perda de amplitude de movimento.

Durante a década passada, houve crescente interesse sobre o que a reabilitação, principalmente a fisioterapia poderia oferecer a estes pacientes. Vários estudos foram publicados preconizando tratamentos, que se estendem desde a cinesioterapia e os já tradicionais recursos físicos, tais como termoterapia (superficial e profunda), crioterapia, eletroterapia analgésica, até a aplicação da laserterapia de baixa intensidade.

Apesar do uso do laser com fins terapêuticos já perfazer mais de 40 anos, muitos estudos experimentais ainda buscam elucidar seus mecanismos de atuação. As pesquisas dos efeitos biológicos e fisiológicos do laser abrangem três áreas principais; pesquisa celular, estudos em animais e estudos controlados em humanos. Os termos "laserterapia de baixa intensidade" e "laserterapia no nível baixo reativo", são usados para distinguir as aplicações de baixa energia usadas na fisioterapia, das aplicações de alta energia usadas terapêuticamente para destruição tecidual [1, 2, 3,4].

Diversos pesquisadores reportam que a radiação laser apresenta efeito antiinflamatório, analgésico, influencia no metabolismo do tecido conectivo (neoformador de colágeno), prolifera fibroblastos, induz a reepitelização e sintetiza proteoglicanas e DNA [1,5,3,6,2,4].

Os efeitos fisiológicos da laserterapia de baixa intensidade podem ser creditados a

incorporação da radiação laser, onde há liberação de substâncias pré-formadas como histamina, serotonina e bradicinina. Porém elas atuam na síntese de prostaglandinas, na lise da fibrina, proporcionando modificações estimulatórias ou inibitórias em reações enzimáticas, como na atividade da bomba sódio/potássio mantendo-a com maior eficiência. Para que esta reação aconteça faz-se necessário à produção de ATP, devido ao grande consumo de energia [6].

Processos inflamatórios articulares podem ser induzidos experimentalmente por vários agentes agressores entre eles o Adjuvante Completo de Freund. Esta droga provoca um processo inflamatório agudo, marcado pela proliferação, hiperplasia de células inflamatórias e infiltrado mononucleares na sinovia, podendo a longo prazo gerar erosão da cartilagem articular. Os problemas causados pelos processos inflamatórios articulares, sua morbidade e seu alto grau de incapacidade associado as lacunas deixadas na literatura, no que tange a laserterapia de baixa intensidade nos motivou a realizar este estudo [7,8].

Metodologia

Animais de experimentação

Para dar cumprimento ao trabalho utilizou-se 24 ratos *rattus norvegicus albinos* de linhagem *wistar*, fêmeas, com peso corpóreo variando de 200 a 300g e idade variada. Os animais permaneceram em boas condições de ambiente, luz, temperatura e higiene com alimentação controlada e água *ad libitum*.

Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos, contendo 12 animais cada um, que foram denominados Grupos A e B, sendo respectivamente A: animais tratados; B: animais controle ou não tratados.

Os grupos A e B ainda foram subdivididos em dois (2) subgrupos com 6 animais cada, que foram denominados A1 - animais tratados 7 dias, A2 - animais tratados 3 dias, B1- animais não tratados 7 dias e B2 -animais não tratados 3 dias.

Indução ao processo inflamatório

Os animais foram mantidos em plano anestésico, pela inalação de éter etílico. A partir de então, eram submetidos a injeções de 0,45 ml de solução SAB e ACF via intra-articular, no joelho direito. Foi realizada a tricotomia do membro posterior direito, pesagem de marcação na fontanela, conforme o grupo a que pertencia cada animal. Para haver inclusão dos animais no presente estudo, eles foram submetidos a uma avaliação prévia, na qual o animal deveria apresentar no mínimo três, dos cinco sinais inflamatórios, ou seja calor, rubor, tumor, dor e incapacidade funcional.

Tratamento

Os animais do subgrupo A1 receberam radiação por 7 dias consecutivos, e o subgrupo A2 por 3 dias consecutivos. O aparelho utilizado no experimento foi o laser semiconductor diodo AsGa LIV 973, fabricado pela KLD Biosistemas, com potência de 45 *Watts*, com densidade de energia 4 J/cm². O tempo de exposição foi fornecido pelo aparelho que é microprocessado. A energia foi depositada entre pontos cutâneos com 6 radiações, sendo 3 pontos na face lateral e 3 na face medial do joelho direito.

Eutanásia

Após as lesões, no terceiro e sétimo dia respectivamente, os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de éter etílico, em dose letal, até a parada cardiorrespiratória. Constatado óbito, foi seccionada a articulação fêmoro tíbio talar do membro posterior direito de cada animal e retirada em bloco (1 cm acima do fêmur e 1 cm abaixo da tíbia). As peças após identificação foram imersas em solução de formalina a 10 % tamponado por 48 horas. Após a retirada dos tecidos moles, as articulações foram descalcificadas em solução de EDTA durante 14 dias [9,10].

Análise histológica

As peças foram processadas pelas técnicas usuais de inclusão em parafina, e os cortes de 5 micrômetros obtidos foram corados pelo método de hematoxilina-eosina.

As lâminas foram submetidas a um exame histopatológico e analisadas em microscópio óptico comum semi quantitativamente Alphaphot - 2 YS2 Nikon

Análise estatística

Após a análise histopatológica, os dados foram encaminhados ao bioestatístico, que estipulou e comprovou os resultados através do Teste de Wilcoxon e Teste dos Sinais [6,11, 13,14].

Resultados

Nas observações clínicas dos sinais flogísticos, os animais induzidos com SAB e ACF apresentaram em análise macroscópicas alterações coesas. No primeiro dia após indução da solução responsável pelo comprometimento unilateral dos animais expostos, encontramos aumento na temperatura local, tumefação, quadro algico e perda da função, expressos na tabela I.

O exame histopatológico dos cortes longitudinais dos animais tratados, revelaram alterações características de reorganização celular nos animais submetidos à radiação laser, quando comparados aos animais não tratados.

No corte histológico do subgrupo B2, apresentou-se processo inflamatório agudo extenso, envolvendo sinóvia e tecidos moles adjacentes, com presença significativa de microabcessos, advindo da extensão dos número de neutrófilos, pequena quantidade de

Tabela I - Observações clínicas macroscópicas

	Dor	Calor	Rubor	Tumor	Perda da função
1+	0%	0%	0%	0%	0%
2+	0%	33,33	0%	0%	0%
3+	50%	66,67%	33,33%	50%	0%
4+	50%	0%	66,67%	50%	100%
DP	0,288675	0,319153	0,319153	0,288675	0,5

0 Ausente; + Leve; ++ Discreto; +++ Moderado; ++++ Severo
DP: Desvio Padrão

Tabela II: Alterações anátomo-patológicas no subgrupo B2 controle 3 dias.

	Processo Inflamatório	Neutrófilos	Mononucleares	Congestão Vascular	Neoformação
3 dias	4+	4+	2+	2+	0
Ntrat	3+	4+	2+	2+	0
	2+	3+	2+	1+	0
Média	3	3.67	2	1.67	0

0 Ausente; + Leve ; ++ Discreto; +++ Moderado; ++++ Severo

Tabela III: Alterações anátomo-patológicas no grupo induzido e tratado com radiação laser.

	Processo Inflamatório	Neutrófilos	Mononucleares	Congestão Vascular	Neoformação
3 dias	2+	2+	2+	1+	0
Ntrat	1+	1+	1+	1+	0
	3+	2+	2+	1+	1+
Média	2.0	1.67	1.67	1.0	0.33

0 Ausente; + Leve ; ++ Discreto; +++ Moderado; ++++ Severo

Tabela IV: Alterações anátomo-patológicas no grupo 3 induzido e não tratado, com 7 dias.

	Processo Inflamatório	Neutrófilos	Mononucleares	Congestão Vascular	Neoformação
7 dias	4+	2+	4+	0	1+
Trat	4+	2+	4+	0	1+
	4+	1+	4+	0	1+
	4+	2+	4+	0	1+
	4+	1+	4+	0	1+
	4+	1+	4+	0	1+
Média	4.0	1.5	4.0	0	1.0

0 Ausente; + Leve ; ++ Discreto; +++ Moderado; ++++ Severo

Tabela V: Alterações anátomo-patológicas no subgrupo A1 (7 dias).

	Processo Inflamatório	Neutrófilos	Mononucleares	Congestão Vascular	Neoformação
7 dias	1+	0	2+	0	3+
Trat	2+	1+	2+	0	3+
	1+	0	2+	0	3+
	2+	2+	2+	0	3+
	2+	1+	2+	0	4+
	1+	2+	2+	0	3+
Média	2.0	1.0	2.7	0	3.17

0 Ausente; + Leve ; ++ Discreto; +++ Moderado; ++++ Severo

mononucleares, com presença de congestão vascular, sem a formação de granuloma epitelióide, com ausência de células gigantes e de neoformação de vasos (tabela II).

Nos cortes histológicos dos subgrupo A2 - tratado com 3 dias, revelam processo inflamatório caracterizado como discreto, que se estende a tecidos moles, sinóvia ou ambos, presença de edema em tecidos moles. A

sinóvia apresenta neoformação de vasos, mononucleares e neutrófilos em pequena quantidade, caracterizado por leve congestão vascular, com neoformação de vasos oscilando entre ausente a leve formação, com ausência de granulomas epitelióides e células gigantes (tabela III).

Os cortes histológicos do subgrupos B1 - não tratado com 7 dia, apresentaram intenso processo inflamatório, que se estende desde a sinóvia a tecidos moles adjacentes, com presença acentuada de mononucleares, que esboçavam granulomas epitelióides, formando microabscessos advindo do excesso de neutrófilos. Em algumas circunstâncias, houve presença de células gigantes com neovascularização classificada como discreta, com ausência de congestão vascular (tabela IV).

Os cortes histológicos no subgrupo A1 - tratados com 7 dias, apresentam processo inflamatório de leve a discreto, em alguns casos na sinóvia, às vezes se estende a tecidos moles adjacentes a articulação ou em ambos. Apresentam em pouca quantidade neutrófilos, e moderados mononucleares, esboçando granuloma epitelióide em pequena quantidade, sem congestão vascular e grande quantidade de neoformação vascular (tabela V).

Discussão

Os animais objeto deste estudo, foram divididos em 2 grupos experimentais e subdivididos em subgrupos de 3 e 7 dias. Esta subdivisão se deu com o objetivo de acompanhar os principais eventos da inflamação, que apresenta uma fase aguda caracterizada pela curta duração de minutos a 72 horas [22, 23, 24, 16, 25, 17].

De acordo com os dados estatísticos, o trabalho apresentou evidências suficientes para comprovar a efetividade do laser no grupo de 7 dias. Houve diferença significativa do processo inflamatório entre os animais tratados com laser, quando comparados com os animais não tratados, em 3 e 7 dias. Constatamos, também, que há diferença significativa na neoformação vascular quando comparado aos animais tratados e não tratados em 7 dias.

Utilizou-se no experimento Adjuvante Completo de Freund e Soro Albumina Bovina. A indução do Adjuvante Completo de Freund foi responsável pela intensa reação inflamatória aguda - monoartrite. Portanto, esta substância é um pré-requisito para o desenvolvimento da doença, pois apresenta *Mycobacterium* em sua concentração, que é um material inanimado não degradável, como partículas de sílica, irritantes químicos e/ou mecânico e até auto-ímmunes, que em longo prazo pode gerar uma artrite reumatóide em cobaia experimental [16, 17, 18, 7, 19].

A injeção de Adjuvante Completo de Freund, apresenta histologicamente

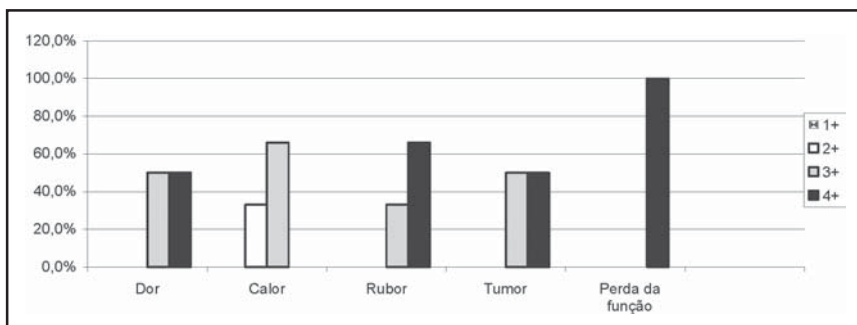


Fig. 1 - Gráfico comparativo das observações clínicas macroscópicas

proliferação e hiperplasia de células inflamatórias e infiltrados mononucleares na sinóvia, com abundância de polimorfonucleares e mononucleares, como células T e agregado de macrófagos em grande quantidade, pode ou não se estender a tecidos moles adjacentes a sinóvia, que em longo prazo podem gerar erosão da cartilagem articular e óssea [20, 21, 18, 19].

Neste estudo foi observado uma inflamação do tipo granulomatosa que é um processo caracterizado por agregado de macrófagos modificados designadas células epitelióides, ou células gigantes multinucleadas. Estas células são circundadas por leucócitos mononucleares, monócitos, linfócitos e estão associadas a micror-

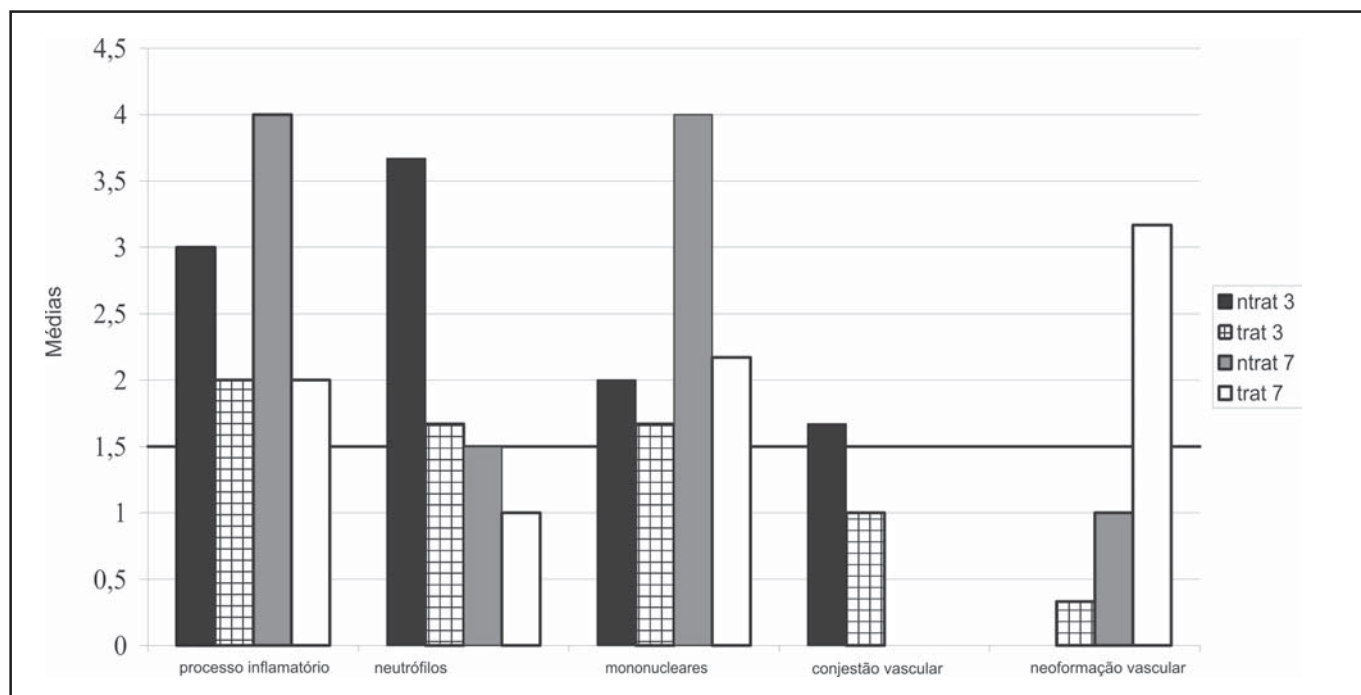


Fig. 2 - Gráfico Comparativo das Alterações Anátomo Patológicas.

ganismos e a outros agentes capazes de induzir a sensibilização dos linfócitos T. Nossos achados corroboram com vários estudos [16, 20, 17], pois os macrófagos não foram destruídos pelo agente agressor através da fagocitose, acabaram por perder sua motilidade e se fixaram no tecido onde originaram um granuloma.

A escolha do laser Arsenieto de Gálio se deu devido à vasta referência da literatura de seu efeito antiinflamatório, antiedematoso e analgésico [29, 30, 31, 2, 32, 6, 5].

Anneroth *et al.* [32] comprovaram, em seu experimento utilizando cobaias com Adjuvante Completo de Freund, que não há diferenças entre os grupos tratados e não tratados durante a transição fase da aguda, para subaguda representada pelos dias 3 e 7. Concluíram que no grupo controle de 7 dias, houve proliferação de capilares e células endoteliais para área adjacente à lesão, e o grupo controle não apresentou proliferação de células sangüíneas como leucócitos, linfócitos, polimorfonucleares, macrófagos e células plasmáticas.

A laserterapia reorganizou o processo inflamatório, tanto em células como em vasos sangüíneos. Alguns autores [27, 33, 19, 32] relatam que as células endoteliais são transformadas em capilares devido ao efeito neoformador do laser. O laser atua sobre o processo inflamatório modulando a neovascularização, que como conseqüência diminui a perda da função, incrementa a oxigenação tecidual, aumenta a microcirculação regional e estimula diversas reações durante o processo de reparação tecidual [32, 34, 27, 5].

Conclusão

Através dos resultados histopatológicos concluímos que: o laser apresentou efetividade nos grupos submetidos à radiação laser, pois propiciou um aumento na neoformação de vasos. E no grupo tratado com 7 dias não houve formação de granuloma epitelióide, com diminuição de neutrófilos, macrófagos, porém nos grupos não tratados obtivemos granulomas epitelióides e um processo inflamatório de grande extensão.

Referências

1. Petersen SL, Botes C, Olivier A, Guthrie AJ. The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses. *Equine Veterinary Journal* 1999;31(3):228-231.
2. Mendes C. Laserterapia de Baixa Intensidade. Disponível em [http://: www.forprestauradora.usp.com.br](http://www.forprestauradora.usp.com.br). acesso em julho de 2001.
3. Low J, Reed A. *Eletroterapia Explicada: princípios e prática*. 3. Ed. São Paulo: Manole: São Paulo, 2001. p.390-409.
4. Carvalho PTC, Mazzer N, Corazza AV, Raduam RM. Os efeitos do laser de baixa intensidade em feridas cutâneas induzidas em ratos diabéticos. *Fisioterapia Brasil* 2001;2(4): 241-245.
5. Brosseau L, Welch V, Wells G et al. Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *The Journal of Rheumatology* 2000; 27:1961-1969.
6. Veçoso MC. *Laser em Fisioterapia*. São Paulo: Lovise, 1993. 137 p.
7. Kapil A, Sharma S. Effect of oleanolic acid on complement in adjuvant- and carrageenan-induced inflammation in rats. *Journal Pharm Pharmacol* 1995;11:585-587.
8. Kleinau S, Erlandsson H, Klareskog L. Percutaneous exposure af adjuvant oil causes arthritis in da rat. *Clinical Experimental Immunological* 1994;96: 281-284.
9. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia Básica*. 8. Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. P.1-6.
10. Jones TC, Duncan R, King NW. *Patologia Veterinária*. 6. Ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415 P.
11. Beiguelman B. *Curso Prático De Bioestatística*. 4 Ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira De Genética, 1996. 254 P.
12. Centeno AJ. *Curso de Estatística Aplicada à Biologia*. 3. Ed. Goiânia: Goiânia, 1982, 188 P.
13. Spiecel MR, Silva JML. *Manual de Fórmulas, Métodos e Tabelas de Matemática*. 2. Ed. São Paulo: Makron Books Do Brasil, 1992. 419 P.

14. Triola MF. Introdução à Estatística. 7. Ed. Rio De Janeiro: Ltc, 1999. 410 P.
15. Amado B, Jancar S. Resposta Inflamatória ao Adjuvant Completo de Freund. Arquivo Biologia e Tecnologia 1986;29(4):611-319.
16. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Patologia Básica. 5. Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. P.21-50.
17. Montenegro MR, Franco M. Patologia: Processos Gerais. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 1999. P.109-133.
18. Botrel MA, Haak T, Legrand C, Concordel D, Chevalier R, et al. Quantitative Evaluation Of An Experimental Inflammation Induced Whit Freund's Complete Adjuvant In Dogs. Journal Of Pharmacological And Toxicological Methods 1994;32(2):63-71.
19. McDougall, JJ, Karimian SM, Ferrell. Prolonged Alterations Of Vasoconstrictor And Vasodilatador Responses In Rat Knee Joints By Adjuvant Monoarthritis. Experimental Physiology 1995;80:349-357.
20. Helfgott MH, Kieval RI, Breedveld FC, Brahn E, Young CT et al. Detection Of Arthritogenic Factor In Adjuvant Arthritis. The Journal Of Immunology 1988;140(6):1838-1843.
21. Donaldson LF, Seckl JR, Mcqueen DS. A Discrete Adjuvant-induced Monoarthritis In The Rat: Effects Of Adjuvant Dose. Journal Of Neuroscience Methods 1993;49:5-10.
22. Aires MM. Fisiologia. 2. Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. P. 125-150.
23. Filho GB. Bogliolo: Patologia Geral. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. P.22-50.
24. Guyton AC, Hall JE. Tratado De Fisiologia Médica. 9. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. P. 401- 413.
25. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins: Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. P. 45-83.
26. Correa WM, Correa CNM. Enfermidades Infecciosas Dos Mamíferos Domésticos. 2. ed. Rio De Janeiro: Medsi, 1992. P. 14-57.
28. Ross MH, Rowrell LJ. Histologia: Texto E Atlas. 2. Ed. São Paulo: Panamericana, 1993. P. 01-02.
27. Schimitt I, Raiser AG, Graça DL, Castagna CD, Gehver C et al. Os Efeitos da Radiação Laser Arseneto de Gálio (AsGa) Sobre a Regeneração de Tendões em Cães. Brazilian Journal Of Veterinary Research Animal Science 1993;30(2):145-149.
29. Abergel RP, Meeker CA, Lam TS, Dwyer RM, Lesavoy MA. Control Of Connective Tissue Metabolism By Lasers: Recent Developments And Future Propects. Journal Of The American Academy Dermatology 1984;11(6):1142-1149.
30. Alora MB, Anderson RR. Recent Developments In Cutaneous Lasers. Lasers In Surgery And Medicine 2000;26(2):108-118.
31. Borges DS, Moretti JA, Parizotto NA, Chagas EF. Influência do Laser de Arseneto De Gálio (AsGa) Sobre a Dor no Modelo Experimental de Contorção Abdominal em Camundongos. Revista Brasileira De Fisioterapia 1996;1(1):1-7.
32. Anneroth G, Hall G, Zetterqvist L. The Effect Of Low- Energy Infra-red Radiation On Wound Healing In Rats. British Journal Of Oral Maxilofacial Surgery 1988;26:12-17.
33. Mester E, Mester AF, Mester A. The Biomedical Effects Of Laser Application. Lasers In Surgery And Medicine 1985;5:31-39.
34. Matera JM, Dagli MLZ, Pereira DB. Efeitos da Radiação Sof-laser (Diodo) Sobre o Processo de Cicatrização Cutânea em Felinos. Brazilian Journal Of Veterinary Research Animal Science 1994;31(1):43-8.