



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS, TECNOLOGIA E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO

Ketlyn Germann Hendler

Fotobiomodulação no tratamento da lesão cutânea com ferida aberta em camundongos

ARARANGUÁ

2019

Ketlyn Germann Hendler

Fotobiomodulação no tratamento da lesão cutânea com ferida aberta em camundongos

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do título de Mestre em Ciências da Reabilitação.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Marcio Marcolino

Coorientadora: Prof^a. Dr. Laís Mara Siqueira das Neves

Araranguá

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Hendler, Ketlyn Germann
Fotobiomodulação no tratamento da lesão cutânea com
ferida aberta em camundongos / Ketlyn Germann Hendler ;
orientador, Alexandre Marcio Marcolino, coorientador, Laís
Mara Siqueira das Neves, 2019.
69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Campus Araranguá, Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Reabilitação, Araranguá, 2019.

Inclui referências.

1. Ciências da Reabilitação. 2. Fotobiomodulação. 3.
Cicatrização. 4. Ferida Cutânea. 5. Histologia. I. Marcio
Marcolino, Alexandre. II. Mara Siqueira das Neves, Laís.
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação. IV. Título.

Ketlyn Germann Hendler

**FOTOBIMODULAÇÃO NO TRATAMENTO DA LESÃO CUTÂNEA COM FERIDA
ABERTA EM CAMUNDONGOS**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora
composta pelos seguintes membros:

Prof., Rafael Inácio Barbosa, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof., Rodrigo Paschoal Prado, Dr.
Universidade Federal de Goiás

Prof., Paulo Locks da Silveira, Dr.
Universidade do Extremo Sul Catarinense

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de mestre em Ciências da Reabilitação.

Prof. Dr.(a) Janeisa Franck Virtuoso
Coordenador(a) do Programa

Prof. Dr. Alexandre Marcio Marcolino
Orientador

Araranguá, 09 de julho de 2019.

Dedico este trabalho a minha família, amigos e todos aqueles que torceram pelo sucesso dessa pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Tão difícil quanto descrever um grande trabalho é encontrar as palavras para expressar o sentimento de gratidão.

Agradeço a Deus por todas oportunidades vividas durante minha trajetória. A minha mãe e meu pai, pelo incentivo a sempre ir mais longe e apoio incondicional, sem questionar minhas decisões mesmo que talvez elas não fossem as melhores. Ao meu irmão, por todo apoio em todos os momentos, me incentivando, tu sempre foi minha maior inspiração!

Ao meu namorado, por aguentar a barra comigo em muitos momentos cansativos, sem me deixar desistir, sempre me incentivando a fazer o que eu gosto. Por estarmos juntos em momentos bons e ruins.

A minha família pelo incentivo de voar cada vez mais alto! A meu pequeno príncipe Albert, que com sua chegada alegrou meu coração, fazendo com que essa dinda busque melhorar sempre em todos os aspectos.

A minha amiga Luana Gabriel de Souza, por sempre desabafar e no fim darmos boas risadas, estar ao meu lado na realização desta pesquisa como durante todo trajeto da graduação e pós-graduação, deixando tudo um pouco mais leve. Sou muito grata por compartilhar destes momentos com você. A Laura Rodrigues Alves que se tornou uma grande amiga, por todas as conversas até tarde para tornar o nosso dia tão cansativo e muitas vezes desanimador mais leve e feliz, por compartilharmos tantos momentos juntas, por sermos nosso ponto de apoio e incentivo.

Ao meu querido orientador Alexandre Marcio Marcolino, que me abriu caminhos e me fez gostar ainda mais deste incrível mundo (e também cansativo) da pesquisa. Obrigada por sempre me ouvir e me incentivar a continuar, você é uma inspiração!

Aos membros do LARAL, que de alguma forma estiverem presentes nessa jornada e contribuíram para isso, em especial a Jaqueline Betta Canever e Aline Santos Vieceli, e aos demais professores que compõe o laboratório, minha coorientadora Lais Mara Siqueira das Neves, Rafael Inácio Barbosa, Heloyse Uliam Kuriki e Aderbal Silva Aguiar Junior.

A professora Francielly Felipetti a qual cruzou meu caminho nesta reta final. Obrigada pela disponibilidade, atenção e auxílio nas análises histológicas, tornando tudo um pouco mais simples.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por tornar essa pesquisa uma realidade.

Aos demais amigos, que puderam entender minha ausência durante alguns momentos e torceram por mim.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)

RESUMO

Introdução: A ferida cutânea é caracterizada pela perda da continuidade do tecido, e pode ocorrer por múltiplos fatores. O processo de cicatrização é complexo e consiste em uma cascata de eventos celulares e moleculares. A falha de qualquer fase no processo de reparo pode alterar o processo ou impedir a cicatrização. **Objetivo:** Investigar o efeito da fotobiodomulação laser com comprimento de onda de 660 e 830 nm em diferentes pontos de aplicação na cicatrização de ferida aberta em camundongos. **Metodologia:** Foram utilizados 120 camundongos, divididos aleatoriamente em 10 grupos com 12 animais cada. Os animais foram submetidos ao modelo experimental de lesão tegumentar do tipo ferida aberta com 1,5 x 1,5 cm. Para a cicatrização foi utilizado a fotobiomodulação (FBM) com comprimento de onda de 660 nm e 830 nm, energia total de 3,6 J, aplicado em 1, 4, 5 e 9 pontos, durante 14 dias consecutivos. Os animais tiveram suas lesões fotografadas e a temperatura do local da lesão foi mensurada através da termografia com câmera FLIR C2 no pós operatório imediato, 7 e 14 dias pós procedimento cirurgico. Após a eutanásia, a pele da região da lesão foi retirada e avaliada por meio da análise histológica. **Resultados:** Na análise macroscópica, na terceira avaliação (14 dias PO) houve diferença estatística $p < 0,05$ dos grupos irradiados com a fotobiomodulação comparados ao grupo Sham, exceto o grupo fotobiomodulação 830 nm irradiado por 9 pontos. A mensuração da espessura da epiderme evidenciou a diferença do grupo 830 nm irradiado por quatro, cinco e nove pontos. Em relação a análise do número de vasos sanguíneos encontrou-se diferença entre os grupos FBM 830 nm 1 e 5 pontos e o grupo 660 nm 4 pontos em relação ao Naive. Na análise histológica referente a quantidade de fibroblastos, observou-se diferença significativa entre os grupos FBM 830 nm e grupo 660 nm (exceto aplicação em 9 pontos) em relação aos grupos Naive e Sham. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos avaliados na análise de temperatura da pele. **Conclusão:** Na comparação dos comprimentos de onda da fotobiomodulação o de 830 nm foi mais eficaz quando comparado aos grupos Naive, Sham e os grupos irradiados pelo laser 660 nm, com destaque para o grupo 5 pontos de aplicação da FBM, demonstrando melhora na análise macroscópica, espessura do epitélio, aumento no número de vasos e menor número de fibroblastos no 14º de lesão.

Palavras-chave: Terapia a Laser de Baixa Intensidade; Camundongos; Cicatrização; Histologia; Ferimentos e lesões.

ABSTRACT

Introduction: The skin wound is characterized by loss of tissue continuity, and may occur due to multiple factors. The healing process is complex and consists of a cascade of cellular and molecular events. Failure of any phase in the repair process may alter the process or prevent healing. **Objective:** To investigate the effect of 660 and 830 nm wavelength laser photobiomodulation at different application points on open wound healing in mice. **Methods:** 120 mice were randomly divided into 10 groups with 12 animals each. The animals were submitted to the experimental model of 1.5 x 1.5 cm open wound type cutaneous lesion. For healing was used photobiomodulation (FBM) with wavelength of 660 nm and 830 nm, total energy of 3.6 J, applied at 1, 4, 5 and 9 points for 14 consecutive days. The animals had their lesions photographed and the temperature of the lesion site was measured by thermography with FLIR C2 camera in the immediate postoperative period, 7 and 14 days after the surgical procedure. After euthanasia, the skin of the lesion region was removed and evaluated by histological analysis. **Results:** In the macroscopic analysis, in the third evaluation (14 days PO) there was a statistical difference $p < 0.05$ of the photobiomodulation groups compared to the Sham group, except for the 830 nm photobiomodulation group irradiated by 9 points. The measurement of epidermis thickness showed the difference of the 830 nm group irradiated by four, five and nine points. Regarding the analysis of the number of blood vessels, a difference was found between the FBM 830 nm 1 and 5 points groups and the 660 nm 4 points group in relation to Naive. In the histological analysis regarding the amount of fibroblasts, a significant difference was observed between the FBM 830 nm and 660 nm groups (except 9 point application) in relation to Naive and Sham groups. There was no statistical difference ($p > 0.05$) between the groups evaluated in the skin temperature analysis. **Conclusion:** The comparison of the wavelengths of the photobiomodulation at 830 nm was more efficient when compared to Naive, Sham and the groups irradiated by 660 nm laser, with emphasis on the group 5 application points of the FBM, demonstrating improvement in the macroscopic analysis, thickness of the epithelium, increase in the number of vessels and less number of fibroblasts in the 14th of lesion.

Key-words: Photobiomodulation Therapy; Mice; Healing; Histology; Wounds and injuries.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diferenças e semelhanças entre a pele de humanos e camundongos.....	20
Figura 2: Mecanismo de ação da fotobiomodulação, ativação de fatores de transcrição e vias de sinalização.....	31
Figura 3: Fluxograma dos grupos avaliados	33
Figura 4: A: Tricotomia por tração manual dos pelos e demarcação do dorso dos animais para retirada da pele. B: Gabarito desenvolvido para realização da ferida cutânea de 1,5 x 1,5 cm..	35
Figura 5: Modelo final da ferida aberta após retirada da pele de 1,5x1,5 cm.....	35
Figura 6: Aplicação de pontos da fotobiomodulação no dorso dos animais	37
Figura 7: Padronização da distância (20cm) entre o animal e a câmera para análise macroscópica e termográfica.	38
Figura 8: Imagem referente a análise de espessura do epitélio, objetiva 40 x.....	39
Figura 9: Análise da quantidade de vasos. A flecha indica um vaso sanguíneo. As grades ao canto esquerdo demonstram a forma utilizada para contagem.	39
Figura 10: Imagem para contagem de fibroblastos, a seta indica o local de uma célula.....	40
Figura 11: Imagem da câmera de termografia com distância de 20 cm.	40
Figura 12: Evolução da área da ferida durante as três análises realizadas no estudo. A: Pós operatório imediato. B: 7 dias pós o procedimento cirúrgico. C: 14 dias pós procedimento cirúrgico.....	43
Figura 13: Análise histológica referente a espessura do epitélio em todos os grupos.....	44
Figura 14: Análise histológica referente ao número de vasos sanguíneos em todos os grupos.	45
Figura 15: Análise histológica referente a quantidade de fibroblastos em todos os grupos.	46
Figura 16: Resultados da análise de temperatura através da câmera termográfica.	46
Figura 17: Fluxograma da divisão dos grupos em estudo.	62
Figura 18: Pontos de aplicação do laser.....	64
Figura 19: Análise maroscópica da evolução da cicatrização da ferida.	65
Figura 20: Dados do 14º dia pós-operatório da análise do local da lesão.....	66
Figura 21: Dados da termografia referente a todas avaliações (1ºPO, 7º e 14º dia pós procedimento cirúrgico).....	67
Figura 22: Análise termográfica referente ao 14º pós procedimento cirúrgico.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros dos estudos encontrados nas revisões sistemáticas de Da Silva et al. (2010) e Peplow, Chung e Baxter (2010).....	28
Tabela 2: Parâmetros da fotobiomodulação com comprimento de onda 660 nm e 830 nm.....	37
Tabela 3: Parâmetros do laser com comprimento de onda 660 nm	63

LISTA DE ABREVIATURAS

LLLT	Low-Level Laser Therapy (Terapia a laser de baixa intensidade)
LARAL	Laboratório de Avaliação e Reabilitação do Aparelho Locomotor
G	Gramas
Cm	Centímetros
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
GaAlAs	Arseneto de Gálio Aluminizado
AlGaInP	Alumínio, Gálio, Índio e Fósforo
°C	Graus Celcius
LBI	Laser de baixa intensidade
J	Joules
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
mW	MiliWatt
i.p	Intra-peritonal
s	Segundos
FBM	Fotobiomodulação
Mg/Kg	Miligrama/kilograma
µm	Micrômetro
nm	Nanômetro
ATP	Adenosina trifosfato
COX	Ciclooxigenase
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
NO	Oxido nítrico
HE	Hematoxilina-eosina
vs	Versos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	HIPÓTESE	16
1.2	JUSTIFICATIVA	16
1.3	OBJETIVOS	16
1.3.1	Objetivo geral.....	16
1.3.2	Objetivos específicos.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	TECIDO CONJUNTIVO	18
2.2	PELE.....	18
2.2.1	Epiderme	18
2.2.2	Derme.....	19
2.2.3	Hipoderme	19
2.2.4	Diferenças e semelhanças da pele do animal e dos humanos.....	19
2.2.5	Células do tecido conjuntivo	20
2.2.5.1	Fibroblastos.....	20
2.2.5.2	Miofibroblastos.....	21
2.2.5.3	Macrófagos	21
2.2.5.4	Mastócitos.....	21
2.2.6	Matriz extracelular	21
2.2.6.1	Fibras colágenas.....	21
2.2.6.2	Fibras elásticas	22
2.2.6.3	Fibras reticulares.....	22
2.2.7	Tecido adiposo.....	22
2.3	CICATRIZAÇÃO DO TECIDO TEGUMENTAR (PELE)	22
2.3.1	Fases da cicatrização	23
2.3.1.1	Fase inflamatória ou exsudativa	23

2.3.1.2	Fase proliferativa	23
2.3.1.3	Fase de maturação ou remodelagem do colágeno	24
2.3.2	Fatores que interferem na cicatrização	24
2.3.2.1	Fatores locais	24
2.3.2.2	Fatores sistêmicos	24
2.4	EPIDEMIOLOGIA.....	25
2.4.1	Lesões agudas	25
2.5	FOTOBIMODULAÇÃO LASER (FBM)	25
2.5.1	Efeitos e utilização da FBM	26
2.5.2	Estudos PBM x cicatrização	26
2.5.3	Parâmetros FBM	27
2.5.4	Mecanismo de ação da fotobiomodulação	30
3	METODOLOGIA.....	31
3.1	DESENHO DO ESTUDO	31
3.2	LOCAL DO ESTUDO	31
3.3	POPULAÇÃO EM ESTUDO: ANIMAIS	32
3.3.1	Tamanho da amostra.....	32
3.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	33
3.5	VIÉSES.....	34
3.6	VARIÁVEIS.....	34
3.7	PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS.....	34
3.7.1	Procedimento experimental	34
3.7.2	Procedimento cirúrgico: Ferida cutânea	35
3.7.3	Fármaco para dor	36
3.7.4	Fotobiomodulação.....	36
3.8	PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE	37
3.8.1	Análise macroscópica	37

3.8.2	Técnica histológica	38
3.8.3	Análise da temperatura	40
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
3.10	ASPECTOS ÉTICOS	41
3.11	DESFECHO FINAL HUMANITÁRIO – ENDPOINTS	41
3.12	EUTANÁSIA	42
4	RESULTADOS	42
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54
	APÊNDICE A: ESTUDO PILOTO	62
	ANEXO A: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	69

1 INTRODUÇÃO

As feridas cutâneas são caracterizadas como uma alteração anatômica na integridade da pele causadas por ruptura celular e ocorrem devido múltiplos fatores, como hipóxia, trauma ou pressão (Campos, A. C. L. *et al.*, 2007; Shah e Amini-Nik, 2017). As lesões do sistema tegumentar podem ser ocasionadas de forma aguda, tais como as feridas operatórias, lesões traumáticas e ferimentos corto-contusos, ou de forma tardia, destacando-se as lesões por pressão e as ocasionadas intencionalmente como os enxertos ou retalhos cutâneos que são utilizados nos procedimentos cirúrgicos. Independente de como são ocasionadas, todas essas lesões necessitam de manejo apropriado, para minimizar o risco de infecções, necrose tecidual e cicatrizes hipertróficas (Lanzafame *et al.*, 2013; Das Neves *et al.*, 2017).

A cicatrização tecidual pode ser prejudicada por fatores locais como isquemia, infecção, pressão tecidual elevada ou fatores sistêmicos, imunossupressão, diabetes melito, hipotireoidismo e tabagismo (Campos, A. C. L. *et al.*, 2007).

Os tratamentos de lesões teciduais tem como objetivo reduzir o tempo de cicatrização e melhorar o aspecto do resultado cicatricial. Como formas de tratamentos pode-se citar o desbridamento da ferida, uso de curativos, medicamentos (Zielins *et al.*, 2015; Norman *et al.*, 2016), suplementação nutricional para indivíduos desnutridos, alívio de pressão com as mudanças de decúbito (Reddy *et al.*, 2008), terapia a vácuo (Han e Ceilley, 2017), ondas de choque extracorpórea (Zhang *et al.*, 2017), estimulação elétrica de alta voltagem (Neves *et al.*, 2016; Bora Karsli *et al.*, 2017; Khouri *et al.*, 2017), ultrassom (Reddy *et al.*, 2008), radiofrequência (Chen *et al.*, 2017; Nicoletti *et al.*, 2017) e a fotobiomodulação (Dungel *et al.*, 2014; Machado *et al.*, 2017).

Em relação aos diversos tratamentos para as lesões teciduais a fotobiomodulação destaca-se como um aliado na cicatrização de feridas devido seu efeito fotobiomodulador, que acelera o processo de reparação do tecido, ocasionando a redução da reação inflamatória e melhora da velocidade no processo de reparo dos tecidos moles. Sua irradiação nos tecidos lesados desencadeia uma série de efeitos fisiológicos devido à absorção da energia dos fótons pelos fotorreceptores, como por exemplo, os cromóforos. Quando essa energia interage com as células, provoca a ativação de algumas funções, como o aumento na produção de ATP mitocondrial devido a absorção da luz pela citocromo c oxidase, acarretando na fotodissociação do óxido nítrico e a proliferação de diversas de células, promovendo efeitos anti-inflamatórios. Além disso, induzem os fatores de transcrição, dentre os quais estão o fator nuclear Kappa B (NF-κB), fator de ativação de transcrição (AMP-c) e fator de hipóxia redutível (HIF-1). Esses

fatores de transcrição irão desencadear o aumento da proliferação-migração e diferenciação celular, modulação de citocinas, produção de fator de crescimento e deposição de matriz extracelular (Karu *et al.*, 2005; De Oliveira *et al.*, 2008; Lins *et al.*, 2010; Andrade Fdo *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2015; De Freitas e Hamblin, 2016).

Diante do exposto, as perguntas de pesquisa são: (1) Qual comprimento de onda da fotobiomodulação laser irá acarretar em melhores resultados? (2) O número de pontos interfere na melhora cicatricial na lesão tegumentar aberta?

1.1 HIPÓTESE

A hipótese desta pesquisa é que a fotobiomodulação aplicada em quatro e cinco pontos será mais efetiva na cicatrização e a viabilidade do tecido tegumentar.

Um segunda hipótese é a maior efetividade da fotobiomodulação comprimento de onda de 660 nm.

1.2 JUSTIFICATIVA

Atualmente vários estudos são realizados com a finalidade de investigar a ação dos agentes eletrofísicos no processo cicatrização tecidual, dentre os recursos mais utilizados está a fotobiomodulação laser. Porém, existe uma variedade de pesquisas com diversos parâmetros no tratamento para a regeneração e viabilidade na cicatrização das lesões tegumentares sem que haja um consenso ou janela terapêutica descrita, além da falta de estudos relacionados a aplicação de número de pontos diferentes nas lesões. Assim, o presente estudo é necessário para investigar a fotobiomodulação com o intuito de observar a diferença no comprimento de onda e deposição de energia, além de investigar a ação de aplicação da fotobiomodulação em diferentes números de pontos no local da lesão.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Investigar o efeito da fotobiomodulação com diferentes comprimentos de onda e em diferentes maneiras de aplicação de pontos na ferida cutânea em camundongos.

1.3.2 Objetivos específicos

Verificar e comparar o efeito da FBM com comprimentos de onda 660 nm e 830 nm na cicatrização de ferida aberta em camundongos;

Avaliar e comparar os efeitos da aplicação de um, quatro, cinco ou nove pontos de aplicação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 TECIDO CONJUNTIVO

O tecido conjuntivo é composto por células e seu principal componente, a matriz extracelular, sendo suas principais funções a de sustentação estrutural e atuação na defesa e proteção do corpo, além de manter locais de armazenamento de gorduras importantes para regulação de temperatura (Woehl e Woehl, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011) .

2.2 PELE

A pele é composta por três camadas, a epiderme (camada superior), a derme (camada intermediária) e a hipoderme (camada mais profunda). Apresenta funções cruciais como termorregulação, sensibilidade (a pressão, ao toque, vibração), auxílio na proteção contra agressões exógenas (seja de natureza química, física ou biológica) e proteção imunológica (Petri, 2009).

2.2.1 Epiderme

Trata-se de um epitélio estratificado, apresentando como célula mais abundante os queratinócitos. Entretanto, possui ainda mais três tipos de células: os melanócitos, as células de Langerhans e as de Merkel (Petri, 2009; Junqueira e Carneiro, 2011).

- Os melanócitos são células responsáveis pela pigmentação da pele. Sua cor resulta de vários fatores, dentre os quais estão o seu conteúdo de melanina e caroteno, quantidade de capilares na derme e a cor do sangue nestes capilares. A pigmentação da pele está relacionada com fatores genéticos, ambientais e endócrinos.
- As células de Langerhans localizam-se em toda extensão da epiderme e são capazes de captar antígenos, processando-os e apresentando-os aos linfócitos T, participando da estimulação destas células. Apresentam também um papel importante nas reações imunológicas cutâneas.
- As células de Merkel são mecanorreceptores, responsáveis pela sensibilidade tátil (Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.2 Derme

A derme está localizada entre a epiderme e a hipoderme, fazendo a união da pele ao tecido subcutâneo ou hipoderme. É um tecido conectivo fibroelástico, apresentando duas camadas, a papilar (superficial) e a reticular que é mais profunda. A camada papilar é composta por tecido conjuntivo frouxo, já a camada reticular é mais espessa e constituída por tecido conjuntivo denso. Apresenta três componentes básicos: os fibroblastos que são principais células da derme com importante papel no processo de cicatrização; as fibras, em especial colágenos e fibras elásticas e o terceiro componente é a substância fundamental, um gel de glicosaminoglicanos (Petri, 2009; Junqueira e Carneiro, 2011; Sant'anna *et al.*, 2011).

2.2.3 Hipoderme

É composta de tecido conjuntivo frouxo. Esta camada é responsável pelo deslizamento da pele sobre as estruturas as quais ela se apoia. A hipoderme pode apresentar uma camada variável de tecido adiposo, que desenvolvida, chama-se de pânículo adiposo, responsável por modelar o corpo, servir de reserva de energia e com função termorreguladora (protegendo contra o frio devido a gordura ser um bom isolante térmico) (Petri, 2009; Junqueira e Carneiro, 2011; Sant'anna *et al.*, 2011).

2.2.4 Diferenças e semelhanças da pele do animal e dos humanos

A pele humana e murina (camundongos) tem as mesmas camadas de células na derme e epiderme, porém diferem muito em espessura. A pele humana é relativamente mais espessa (em torno de 100 μm), mais firme e aderida aos tecidos subjacentes, enquanto a pele dos camundongos é mais fina (menos de 25 μm) e solta. A camada da epiderme murina contém somente duas ou três camadas celulares, o que diminui sua função de barreira e aumenta a absorção percutânea, enquanto a epiderme humana é composta por cinco a dez camadas celulares.

A espessura do tecido cutâneo e subcutâneo difere conforme o local, idade, sexo e nutrição, tanto em camundongos quanto em humanos. A derme murina é mais espessa e mais firme em machos quando comparado às fêmeas. Já a epiderme e o tecido subcutâneo são mais espessos nas fêmeas do que nos machos. Além disso, os camundongos contêm um pânículo

carneoso no tecido subcutâneo (camada muscular com importante potencial de contração), ausente em humanos, o que influencia a biomecânica da pele (figura 1).

As feridas excisionais dos camundongos são fechadas por contração em até 90% dos casos. Como a epiderme humana está firmemente aderida aos tecidos subcutâneos, a contração de ferida é altamente variável e menos pronunciada do que nos camundongos. Deste modo, as feridas cutâneas humanas cicatrizam por formação de tecido de granulação e reepitelização.

Apesar das diferenças em suas características, a cicatrização da pele é semelhante em humanos e camundongos quando se consideram as fases distintas e sobrepostas de eventos celulares e moleculares altamente complexos: homeostase, inflamação, proliferação e remodelação (Zomer e Trentin, 2018).

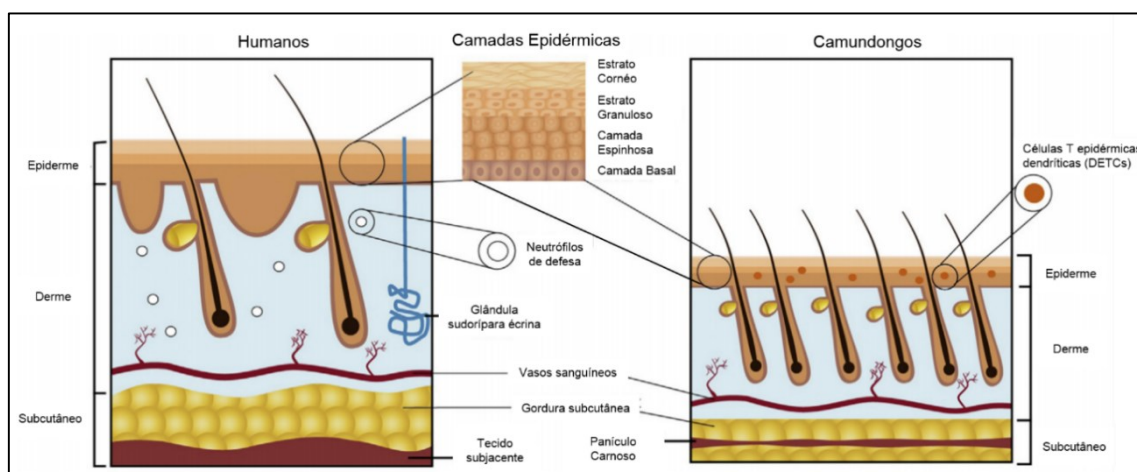


Figura 1: Diferenças e semelhanças entre a pele de humanos e camundongos

Fonte: Adaptado de Zomer e Trentin (2018)

2.2.5 Células do tecido conjuntivo

2.2.5.1 Fibroblastos

São as mais células mais importantes deste tecido, responsáveis pela síntese e secreção da matriz extracelular e também pelos processos de cicatrização dos tecidos lesados. Além disso, estão envolvidas na produção de fatores de crescimento que controlam a proliferação e a diferenciação celular. As células com intensa atividade de síntese são chamadas fibroblastos e as metabolicamente inativas são denominadas de fibrócitos (Isaac *et al.*, 2010; Woehl e Woehl, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.5.2 Miofibroblastos

Estas células são consideradas fibroblastos modificados. São abundantes em áreas de cicatrização de lesões e contém grande quantidade de actina e miosina, importantes na contração da lesão (Woehl e Woehl, 2010; Medeiros e Dantas-Filho, 2017).

2.2.5.3 Macrófagos

É a principal célula do reparo tecidual, degradando e removendo componentes do tecido conjuntivo danificado, como colágeno, elastina e proteoglicanas, fagocitando agentes infecciosos/corpos estranhos presentes na área da lesão e participam também da resposta imunológica, liberando citocinas e fatores quimiotáticos que participam da cascata inflamatória (Mendonça e Coutinho-Netto, 2009; Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.5.4 Mastócitos

Estas células colaboram com reações imunes, os grânulos do seu citoplasma contém histamina, citocinas e prostaglandinas. Sua degranulação acarreta aumento da permeabilidade vascular, ativação celular, deposição de colágeno, e remodelação dos tecidos em cicatrização (Pereira *et al.*, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011; Medeiros e Dantas-Filho, 2017).

2.2.6 Matriz extracelular

A matriz extracelular confere nutrição e substrato para organização e atuação das células do tecido conjuntivo que estão dispostas neste meio (Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.6.1 Fibras colágenas

A fibra colágena é o principal componente fibrilar da matriz extracelular, além de ser o principal tipo de fibra encontrado na maioria dos tecidos de sustentação. Os tipos de fibra colágena estão descritas abaixo:

- Colágeno I: É o tipo de colágeno mais abundante no tecido conjuntivo, sendo capaz de formar fibras espessas, as quais conferem resistência aos tecidos. Possui orientação e ligações cruzadas. Função: resistência a tensão.

- Colágeno II: fibrila estruturada em forma de corda, um dos principais tipos encontrados nos tecidos. Função: resistência a pressão.
- Colágeno III: forma delicadas fibrilas, sendo o principal constituinte das fibras reticulares. Função: manutenção da estrutura de órgãos expansíveis.
- Colágeno IV: não forma fibrilas, mas uma rede restrita à formação de membranas basais. Função: suporta estruturas delicadas (Woehl e Woehl, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.6.2 Fibras elásticas

As fibras elásticas são constituídas pela proteína elastina e a fibrilina, sendo esta última responsável por organizar a deposição da elastina secretada. Essas fibras são responsáveis por conferir elasticidade aos tecidos, permitindo que se retraiam e se estirem, sem comprometer sua forma original (Woehl e Woehl, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.6.3 Fibras reticulares

É constituído por fibras finas, formada predominantemente por colágeno tipo III. Forma uma delicada rede de sustentação reticular (Woehl e Woehl, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011).

2.2.7 Tecido adiposo

O tecido adiposo é um tecido conjuntivo especial formado predominantemente de células adiposas ou os adipócitos e é fortemente irrigado por uma rede de capilares. É considerado a maior reserva de energia do corpo (Woehl e Woehl, 2010; Junqueira e Carneiro, 2011).

2.3 CICATRIZAÇÃO DO TECIDO TEGUMENTAR (PELE)

A lesão na pele desencadeia diversos eventos bioquímicos que visam restabelecer as integridades vascular e celular. Durante o processo cicatricial, o tecido encontra-se vulnerável a diversos fatores que podem interrompê-lo. A falha de qualquer fase no processo de reparo pode alterar o processo ou impedir a cicatrização (Santos *et al.*, 2014).

A cicatrização é um processo fisiológico que consiste em uma cascata de eventos celulares e moleculares visando à restauração da continuidade dos tecidos. Faz-se necessário o conhecimento das fases da cicatrização para compreender os efeitos possíveis do tratamento em cada uma delas.

2.3.1 Fases da cicatrização

2.3.1.1 Fase inflamatória ou exsudativa

A primeira fase inicia-se após a lesão e ruptura de vasos sanguíneos, com liberação de substâncias vasoconstritoras, principalmente prostaglandinas, e extravasamento de sangue. A lesão de vasos sanguíneos é seguida pela ativação da cascata de coagulação estimulada pelo endotélio lesado e as plaquetas, as quais apresentam um papel fundamental na cicatrização. O coágulo é formado por colágeno, plaquetas e trombina, formando um reservatório proteico para produção de citocinas e fatores de crescimento, potencializando seus efeitos. Dessa forma, ocorre a quimiotaxia (migração de neutrófilos para a ferida), em resposta a inflamação com início da vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.

Durante a fase inflamatória ocorre o recrutamento de macrófagos e neutrófilos. Primeiramente ocorre a chegada dos neutrófilos ao local de lesão que irá produzir radicais livres para auxiliar na destruição bacteriana, sendo gradativamente substituídos por outras células de defesa denominadas de macrófagos. Estes apresentam papel fundamental no término do desbridamento iniciado pelos neutrófilos e sua maior contribuição é a secreção de citocinas e fatores de crescimento, além de contribuírem na angiogênese e síntese de matriz extracelular, essenciais na transição da segunda fase, a proliferativa (Balbino *et al.*, 2005; Campos, A. A. G. D. *et al.*, 2007; Campos, A. C. L. *et al.*, 2007).

2.3.1.2 Fase proliferativa

Esta fase é caracterizada por quatro etapas: epitelização, angiogênese, formação do tecido de degranulação e deposição de colágeno. A primeira etapa pode ocorrer de duas maneiras e está relacionada com a membrana basal, que se estiver intacta, as camadas normais da epiderme são restauradas e se estiver lesada, as células proliferam-se buscando o restabelecimento da barreira protetora. A segunda etapa, a angiogênese, é caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares. Durante as últimas fases, os fibroblastos são as principais células presentes e são responsáveis, após ativados, a produzirem

colágeno do tipo I e converterem-se em miofibroblastos, que proverão a contração da ferida (Balbino *et al.*, 2005; Campos, A. A. G. D. *et al.*, 2007; Campos, A. C. L. *et al.*, 2007).

2.3.1.3 Fase de maturação ou remodelagem do colágeno

É a fase final de cicatrização de uma ferida e tem como principal característica a deposição organizada do colágeno. Em um momento inicial, o colágeno produzido é mais fino e tem orientação paralela a pele. Com o passar do tempo ocorrem mudanças, o colágeno inicial é reabsorvido e substituído por colágeno mais espesso e organizado ao longo das linhas de tensão, refletindo no aumento da força tênsil da ferida. O sucesso da cicatrização ocorre quando há o equilíbrio entre a síntese da nova matriz e a lise da antiga matriz (Balbino *et al.*, 2005; Campos, A. A. G. D. *et al.*, 2007; Campos, A. C. L. *et al.*, 2007).

2.3.2 Fatores que interferem na cicatrização

O processo de cicatrização pode ser afetado por fatores locais, sistêmicos e por conduta inadequada.

2.3.2.1 Fatores locais

Está relacionada com a localização da ferida, infecção bacteriana local, profundidade da ferida, isquemia, edema, corpo estranho, trauma, ambiente seco, necrose tecidual, técnica cirúrgica e pressão tecidual aumentada (Campos, A. A. G. D. *et al.*, 2007; Campos, A. C. L. *et al.*, 2007).

2.3.2.2 Fatores sistêmicos

Esses fatores estão relacionados ao indivíduo como idade, nutrição (deficiência vitamínica), doenças crônicas associadas, insuficiências vasculares, lesão por pressão, hipotireoidismo, doenças hereditárias, queimaduras, trauma grave, sepse, tabagismo e uso de medicamentos sistêmicos, como antiinflamatórios, antibióticos, corticoesteróides e agentes quimioterápicos, uso de sabão tensoativo (detergente, por exemplo) na lesão cutânea aberta e soluções anti-sépticas, gerando ação citolítica e morte celular. (Campos, A. A. G. D. *et al.*, 2007; Campos, A. C. L. *et al.*, 2007).

2.4 EPIDEMIOLOGIA

2.4.1 Lesões agudas

Feridas agudas são àquelas ocasionadas de maneira traumática ou cirúrgica, evoluindo no processo cicatricial em tempo previsível, a partir do momento da lesão até o seu fechamento. Essas feridas correspondem à maioria das lesões da pele, conforme realização de mais de 110 milhões de incisões cirúrgicas por ano em todo o mundo. Feridas traumáticas ocorrem a uma taxa de 1,6 milhão de casos por ano (Santos *et al.*, 2014).

2.5 FOTOBIMODULAÇÃO LASER (FBM)

A fotobiomodulação compreende o laser (luz amplificada por emissão estimulada de radiação) e Led (diodo emissor de luz). Essa nomenclatura foi proposta em 2014 durante uma Conferência da Associação Norte Americana de terapia por luz e a Associação Mundial de terapia por Laser com o intuito de diferenciar esse tipo de intervenção das demais fototerapias buscando um consenso referente a nomenclatura mais adequada. Em 2015, o termo terapia de fotobiomodulação foi reconhecido. Esse nome faz referência aos efeitos causados pelo laser, de modulação celular através da luz (Malta, 2017).

Atualmente, os benefícios da fotobiomodulação (FBM) no processo de cicatrização de feridas tem ganho um grande espaço e atenção. A FBM estimula a atividade celular e desencadeia uma série de respostas biológicas que elevam o metabolismo celular, aumentam o potencial regenerativo e promovem um efeito anti-inflamatório, com analgesia e vasodilatação (Garcia *et al.*, 2012).

A fotobiomodulação estimula o crescimento do tecido de granulação, aumentando a secreção de prostaglandinas, melhorando a síntese de colágeno, atua reforçando a divisão dos fibroblastos, melhorando a fagocitose. Além disso, leva a ativação do sistema imunológico, melhorando a permeabilidade vascular. Esses efeitos promovem a aceleração da cicatrização de feridas por reduzir a duração da fase inflamatória, entrando mais rápido no estágio proliferativo (Ribeiro *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2014). Diversos estudos utilizam a fotobiomodulação com intuito de melhorar a cicatrização e a viabilidade do tecido cutâneo e para o reparo ou regeneração de outros tecidos (Lanzafame *et al.*, 2004; Takhtfooladi *et al.*, 2015; Andreo *et al.*, 2017; Leite *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2017; Mashhoudi Barez *et al.*, 2017; Yadav e Gupta, 2017).

2.5.1 Efeitos e utilização da FBM

A FBM pode gerar diversos efeitos terapêuticos e são utilizados em lesões cutâneas, reparação muscular e regeneração nervosa.

Efeito analgésico: Ação desde os receptores periféricos até o SNC, promovendo o alívio da dor (Casalechi *et al.*, 2014; Kerppers *et al.*, 2015; Heidari *et al.*, 2018);

Efeito anti-inflamatório: Redução da inflamação por estímulos de reabsorção de exudatos, modulação de citocinas e interferência na síntese de prostaglandinas que levam à redução da inflamação, e também agem na microcirculação que, reduz o edema (Assis *et al.*, 2012; De Moraes *et al.*, 2013; Zagatto *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2018);

Efeito cicatrizante: Através do aumento da produção e liberação de ATP nas células, indução de fatores de transcrição e aceleração da reparação tecidual através da proliferação celular do endotélio, contribuindo na angiogênese (Novaes *et al.*, 2014; Beigom Taheri *et al.*, 2015; Coca *et al.*, 2016; Munap *et al.*, 2018);

Reparação de lesão muscular: A lesão muscular ocasiona danos na estrutura celular do tecido e promovem o processo de inflamação no tecido muscular. A FBM é utilizada para esta reparação devido seus efeitos bioestimulatórios (Ferraresi *et al.*, 2012; Dawood *et al.*, 2013; Franca *et al.*, 2013; Felismino *et al.*, 2014; De Melo *et al.*, 2016; Pissulin *et al.*, 2017).

Regeneração de nervos periféricos: Nervos periféricos são alvo constante de lesões traumáticas que podem resultar em déficits sensoriais e motores e proporcionar complicações irreversíveis (Marcolino *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014; De Mattos *et al.*, 2015; Barez *et al.*, 2017; De Souza *et al.*, 2018).

2.5.2 Estudos PBM x cicatrização

A fotobiomodulação é muito pesquisada com diversas finalidades, dentre elas a cicatrização de lesões tegumentares. Diversos estudos são realizados e encontram resultados positivos, porém, existe divergência em relação aos parâmetros utilizados e a distribuição de pontos de aplicação nas lesões.

Garcia e colaboradores (2012) verificaram a influência da fotobiomodulação na cicatrização de feridas em ratos tratados com nicotina, utilizando como parâmetros: GaAIs, comprimento de onda 660 nm (visível), emissão contínua, potência 30 mW (0,42 W/cm²), energia 0,39 J, 13 segundos por ponto (tempo total de exposição de 117 segundos), energia total

3,51 J, densidade de energia 5,57 J/cm² (por ponto) e densidade de energia total 50,13 J/cm² (nove pontos). A FBM agiu como um agente coadjuvante bioestimulante, equilibrando os efeitos indesejáveis da nicotina na cicatrização do tecido da ferida .

Fathabadie e colaboradores (2013), realizaram um estudo com ratos diabéticos e não diabéticos e utilizaram como parâmetro para tratamento FBM de 890 nm, com frequência de pulso de 80 Hz e densidade de energia de 0,2 J/cm², aplicação em 18 pontos da ferida. Eles verificaram que o número total de mastócitos tratados com laser foi significativamente maior do que o dos placebos nos grupos não-diabéticos.

Dadpay et al. (2012), realizaram um estudo também com ratos diabéticos e saudáveis, utilizando como tratamento fotobiomodulação laser infravermelho de 890 nm, pulsado, com frequência de 80Hz e 0,03J/cm² para cada ponto no primeiro grupo saudável e 0,2J/cm² no segundo grupo saudável e os animais diabéticos receberam o mesmo tratamento a laser que o segundo grupo. Eles verificaram o laser a 0,2J/cm² aceleraram significativamente a ferida cicatrização tanto em ratos saudáveis como diabéticos.

Kilík e colaboradores (2014) realizaram um estudo com ferida aberta em ratos diabéticos e não diabéticos e utilizaram como parâmetros de laser: AlGaInP, comprimento de onda de 635 nm; dose diária de 5 J/cm², distribuindo as densidades de potência de 1, 5 e 15 mW/cm² três vezes ao dia. Como conclusão, encontraram que a fotobiomodulação confere um efeito protetor contra a resposta excessiva do tecido inflamatório; estimula a neovascularização e a formação precoce de fibras de colágeno.

Lacjaková e colaboradores (2010) analisaram os efeitos de doses diárias iguais por diferentes densidades de energia a laserterapia, com comprimento de onda de 670 nm em ferida aberta na pele de ratos normais e tratados com corticosteróides. Quatro feridas foram criadas e três feridas foram estimuladas diariamente com um laser de diodo (dose diária de 5 J/cm²) em diferentes densidades de potência (5, 15 e 40 mW/cm², respectivamente). Como conclusão eles relatam que LLLT melhorou a cicatrização de feridas em ratos não esteroides, mas não foi eficaz após o tratamento com corticosteroides.

2.5.3 Parâmetros FBM

Os estudos apresentam uma variedade de parâmetros utilizados. As revisões de literatura de Da Silva et al. (2010) e de Peplow, Chung e Baxter (2010) demonstram essa variedade de parâmetros, bem como a falta de dados relatados nos estudos encontrados (tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros dos estudos encontrados nas revisões sistemáticas de Da Silva et al. (2010) e Peplow, Chung e Baxter (2010).

Comprimento de onda	Potência	Densidade potencia	Densidade de energia/Fluência	Tempo
632.8 nm	5 mW	0,2 mW/cm ²	4J/cm ²	20 seg
632.8 nm	5 mW	x	4 J/cm ²	60 seg
632.8 nm	6 mW	6 mW/cm ²	1 J/cm ²	180 seg
632.8 nm	10 mW	6 mW/cm ²	1 J/cm ²	180 seg
632.8 nm	10 mW	x	1.2 J/cm ² 2.4 J/cm ²	120 seg 240 seg
632.8 nm	10 mW	180 mW/cm ²	0,14 J/cm ² 0,43 J/cm ² 1,43 J/cm ²	1 sseg 3 seg 10 seg
632.8 nm	11 mW	x	1.5 J/cm ²	300 seg
632.8 nm	15 mW	x	10 J/cm ²	17 seg
632.8 nm	23 mW	2.206 mW/cm ²	5 J/cm ² 16 J/cm ²	37 min 2 h
632.8 nm	33 mW	3.03 mW/cm ²	2.5 J/cm ² 5.0 J/cm ² 16.0 J/cm ²	13 min 45 seg 27 min 30 seg 88m 00s
632.8 nm	x	3 mW/cm ²	0.5 J/cm ² 2.5 J/cm ² 5 J/cm ² 10 J/cm ² 16 J/cm ²	2 minutos e 45 segundos 13 minutos e 45 segundos 27 minutos e 30 segundos 55 minutos 88 minutos
632.8 nm	x	x	4.8 J/cm ²	x
633 nm	5 mW	x	4 J/cm ²	12 seg
635 nm	40 mW	x	20 e 40 J/cm ²	x
635 nm	x	1 mW/cm ² 5 mW/cm ² 15 mW/cm ²	5 J/cm ²	1 hr 23 min
670 nm	9 mW	31mWcm ²	4 J/cm ²	124 seg
670 nm	9 mW	x	4 J/cm ² 8 J/cm ²	31 seg 62 seg
670 nm	15 mW	x	3 J/cm ²	x
670 nm	x	25 mW/cm ²	30 J/cm ²	8 min
685 nm	35 mW	x	2.5 J/cm ²	x
685 nm	35 mW	x	4 J/cm ²	x
685 nm	40 mW	x	20 J/cm ² 40 J/cm ²	x
685 nm	40 mW	x	20 J/cm ² 40 J/cm ²	x
HeNe	8.5 mW 17 mW	139 mW/cm ² 281 mW/cm ²	2,09 J/cm ² 4.21 J/cm ²	15 seg

780 nm	30 mW	x	112.5 J/cm ²	2.5 min
780 nm	35 mW	x	20 J/cm ²	x
810 nm	500 mW	x	6.368 J/cm ²	2 seg
830 nm	30 mW	x	36 J/cm ²	72 seg
830 nm	40 mW	X	16 J/cm ²	x
830 nm	60 mW	53 mW/cm ² 53 mW/cm ²	1.3 J/cm ² 3 J/cm ²	25 56
830 nm	77 mW	308 mW/cm ²	5 J/cm ²	16 seg
830 nm	100 mW	18.5 mW/cm ²	185 J/cm ²	10 seg
830 nm	x	35 mW/cm ²	6.3 J/cm ² 21 J/cm ²	3 a 10 min
870 nm	15 mW	x	3,8 J/cm ²	15 seg
904 nm	2.75 mW	x	47 J/cm ²	120 seg por ponto
904 nm	6 mW	x	1 J/cm ²	10 min
904 nm	7 mW	14 mW/cm ²	1	71 seg
904 nm	15-30 mW	x	x	x
904 nm	x	x	6 J / cm ² 50 J/cm ²	36 seg 2 seg
980 nm	5 mW 10 mW	x	55 J/cm ² 100 J/cm ²	1 seg
670 nm 685 nm	2 mW 15 mW 25 mW	x	10 J/cm ²	x
660 nm 780 nm	35 mW	1.11 mW/cm ²	5 J/cm ²	x
670 nm 685 nm	2 mW 15 mW 25 mW 2 mW 15 mW 25 mW	x	10 J/cm ²	x
685 nm 830 nm	35 mW 35 mW	1250 mW/cm ²	4 J/cm ²	3.25 seg
635 nm 632.8 nm 670 nm 720 nm 820 nm	x	80-100 mW/cm ² 2 e 1 mW/cm ² 0.59 mW/cm ² 0.79 mW/cm ² 0.86 mW/cm ²	1, 2, 10, e 50 J/cm ² 1 e 2 J/cm ² 1 J/cm ² 1 J/cm ² 1 J/cm ²	1000–2000 seg
685 nm 830 nm 685 e 830 nm 685 nm	35 mW 35 mW 35 mW 35 mW	x	20 J/cm ² 20 J/cm ² 20 J/cm ² 50 J/cm ²	x

830 nm	35 mW		50 J/cm ²	
685 e 830 nm	35 mW		50 J/cm ²	
904 nm	15 mW	x	3 J/cm ²	9 seg
670 nm	30mW			6 seg
				15 seg (904 nm + 670 nm)

Nm: nanômetros. mW: MiliWatt. J/cm²: Joule/centímetros quadrados. Seg: segundos.

2.5.4 Mecanismo de ação da fotobiomodulação

A luz emitida só promove alterações fotoquímicas se for absorvida pela estrutura irradiada. No tecido biológico essa absorção ocorre através dos cromóforos (moléculas ou partes delas que apresentam uma configuração atômica capaz de ser excitada pela irradiação de fótons) ou fotorreceptores. Dentre os principais cromóforos estão a hemoglobina, Ciclooxygenase (Cox), mioglobina, flavinas e flavoproteínas (Malta, 2017).

Através da absorção da célula ATP-dependente e conseqüentemente do átomo, ocorre o deslocamento da órbita dos elétrons que irá promover a excitação dos mesmos que, ao retornarem ao estado prévio liberam ATP, importante para as células desse tecido para o desenvolvimento de suas funções (Gomes e Schapochnik, 2017).

A Fotobiomodulação atua na mitocôndria levando ao aumento da produção de adenosina trifosfato (ATP), modulação das espécies reativas de oxigênio (ROS) e indução de fatores de transcrição (figura 2). Diversos fatores de transcrição são regulados por alterações no estado redox da célula, ocasionando a síntese de proteínas que desencadeiam efeitos como aumento da proliferação celular e da migração, modulação nos níveis de citocinas, fatores de crescimento de mediadores inflamatórios e aumento na oxigenação do tecido (Costa e Da, 2012).

O laser atua na pele aumentando a migração de fibroblastos e conseqüente formação de colágeno, promovidos pela vasodilatação, estimulando a síntese de DNA, e promovendo o aumento da atividade das células basais, favorecendo a cicatrização de feridas cutâneas (Marques *et al.*, 2003).

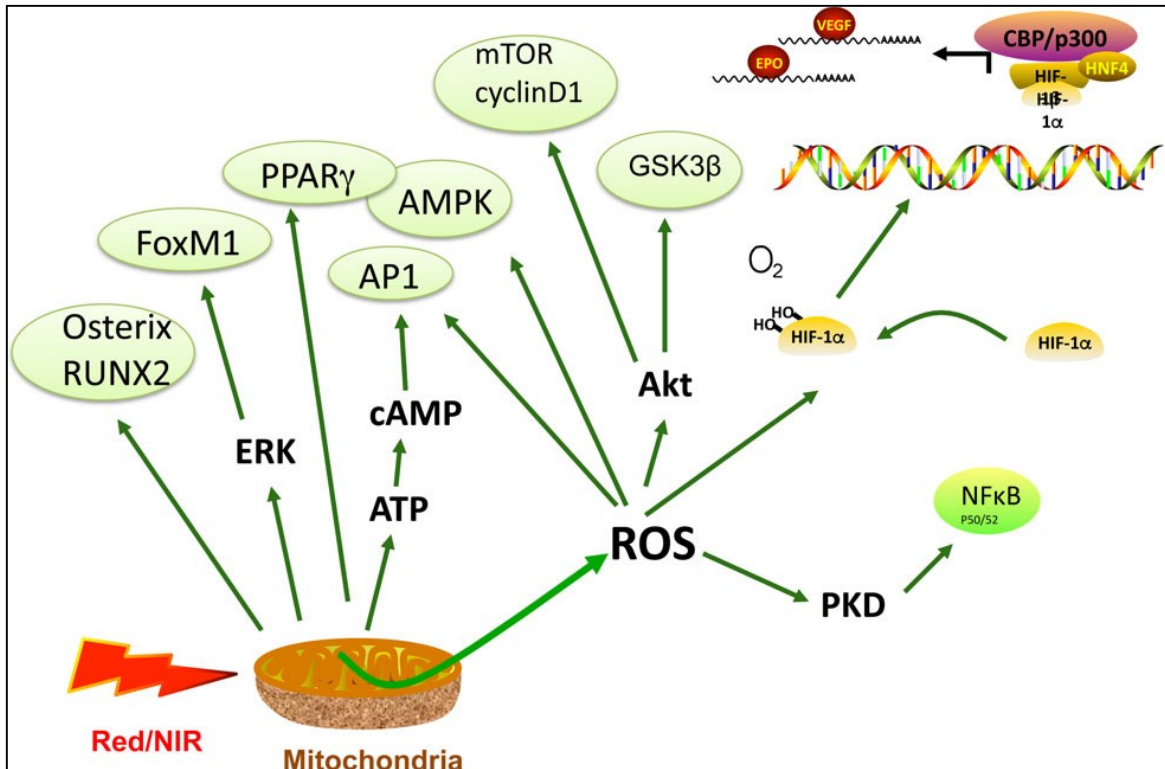


Figura 2: Mecanismo de ação da fotobiomodulação, ativação de fatores de transcrição e vias de sinalização.

Akt, proteína quinase B; AMPK, proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina; AP1, proteína ativadora 1; ATP, adenosina trifosfato; cAMP, monofosfato de adenosina cíclico; CBP, proteína de ligação a CREB; ciclina D1, coregulador de quinase ciclina-dependente; EPO, eritropoietina; ERK, regulador de quinase extracelular; FoxM1, forkhead box protein; GSK3b, glicogênio sintase quinase 3 beta; HIF1a, fator indutível por hipoxia alfa 1; mTOR, Proteína alvo mecanístico da rampamicina; osterix, fator de transcrição específico de osteoblastos; p300, co-ativador de CBP; PPARc, receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma; EROs, espécies reativas de oxigênio; RUNX2, Fator de Transcrição Runt-relacionado 2; VEGF, fator de crescimento endotelial vascular.

Fonte: Adaptado de Hamblin (2018).

3 METODOLOGIA

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo experimental com animais, contendo grupo intervenção e grupo controle.

3.2 LOCAL DO ESTUDO

O presente estudo foi realizado na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)-Campus Araranguá, em uma sala destinada à experimentação animal, seguindo todos os cuidados de ambiente preconizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e o

Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Antes do procedimento, o protocolo foi enviado e aprovado pelo CEUA sob número 4017201117.

3.3 POPULAÇÃO EM ESTUDO: ANIMAIS

Foram utilizados 120 camundongos, linhagem Swiss, machos (40-45 g), idade média 60 dias, os quais foram obtidos do Biotério Central da UFSC e mantidos no biotério setorial do Campus Araranguá- UFSC.

3.3.1 Tamanho da amostra

O cálculo estatístico para definir o tamanho da amostra baseou-se no teste de estimativas aplicado a fórmula descrita abaixo, definida nas literaturas de bioestatística. Assim, para o cálculo do número de animais necessários para cada grupo experimental temos que:

O teste baseia-se no cálculo do intervalo de confiança da diferença entre as médias ou entre proporções (σ), do desvio-padrão (s) do parâmetro alfa que é a probabilidade aceitável de achar uma diferença quando na verdade ela não existe (erro do Tipo I; falso verdadeiro; quanto menor for o alfa escolhido, maior será a amostra necessária) e do parâmetro beta que é o risco aceitável de estar perdendo uma diferença que realmente existe (erro do Tipo II). Assim sendo, partimos dos seguintes pressupostos para cálculo do número de animais:

1. O valor de alfa foi fixado em 0,05. Assim o valor de z alfa baseado na tabela de valores de z para distribuição bi-caudal (two tailed) é de 1,96;

2. O valor de beta foi fixado em 0,10. Assim o valor de z beta baseado na tabela de valores de z (distribuição unicaudal) é de 1,28;

3. O valor da diferença entre as médias dos grupos como sendo pelo menos 40% (baseado em dados experimentais do nosso grupo de pesquisa). Experimentos biológicos têm embutido um erro da ordem de 10 a 15% (resultantes de variações individuais, erro no procedimento cirúrgico, erros de dosagem, dentre outros), diferenças entre dois grupos que sejam menores que 20% do valor da média de cada grupo podem aumentar a probabilidade de cometer erros tipo I ou tipo II;

4. O valor do desvio padrão como sendo em média 21,12% do valor das médias (baseado em dados experimentais do estudo de Parente e colaboradores (2009)).

Assim, aplicando os valores a fórmula acima temos:

$$n = \{[(1,96 + 1,28) * 40] / 21,12\} 2 = 12 \text{ animais}$$

Definindo doze animais por grupo experimental nas metodologias citadas anteriormente.

3.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para realização dos experimentos foi necessário o uso de 120 camundongos, divididos aleatoriamente em 10 grupos com 12 animais cada, conforme com fluxograma abaixo (figura 3).

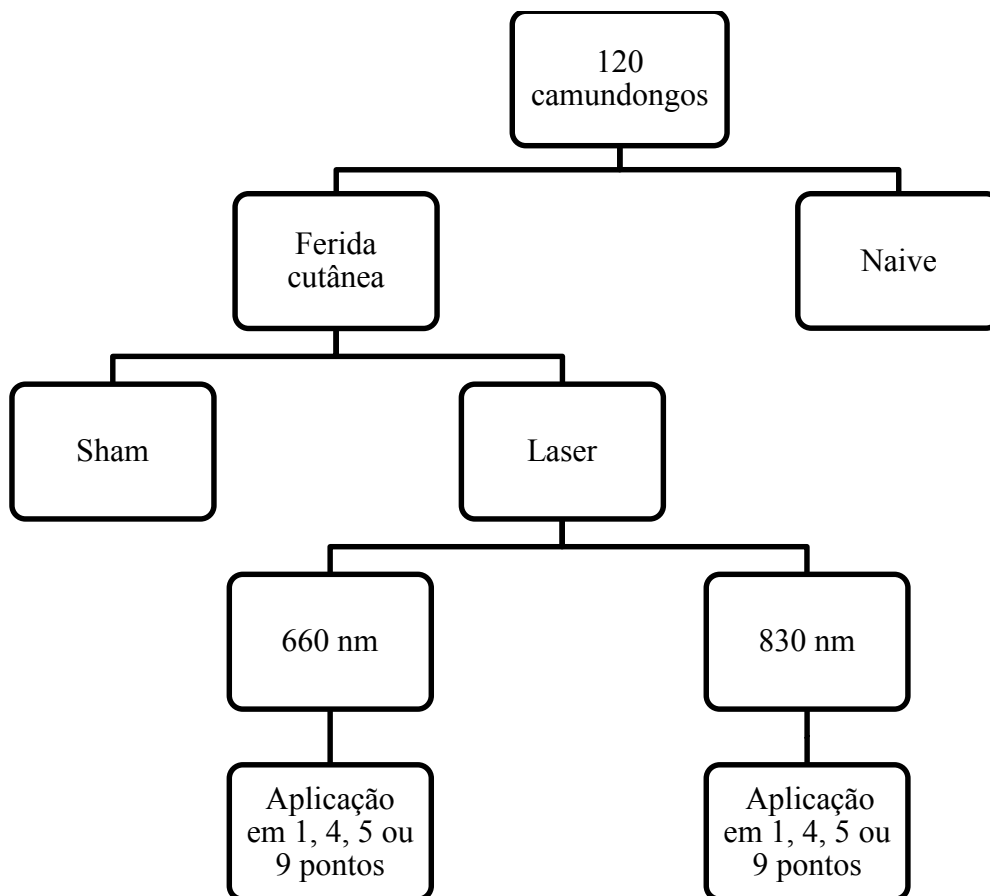


Figura 3: Fluxograma dos grupos avaliados

Fonte: O Autor.

Experimento – Ferida Cutânea

- G 1 – Naive
- G 2 – Ferida Cutânea (Sham)
- G 3 – Ferida Cutânea + Laser 660 nm (Energia de 3.6 J – 1 ponto de aplicação)
- G 4 – Ferida Cutânea + Laser 660 nm (Energia de 3.6 J – 4 pontos de Aplicação)
- G 5 – Ferida Cutânea + Laser 660 nm (Energia de 3.6 J – 5 pontos de Aplicação)
- G 6 – Ferida Cutânea + Laser 660 nm (Energia de 3.6 J – 9 pontos de Aplicação)
- G 7 – Ferida Cutânea + Laser 830 nm (Energia de 3.6 J – 1 ponto de aplicação)
- G 8 – Ferida Cutânea + Laser 830 nm (Energia de 3.6 J – 4 pontos de Aplicação)
- G 9 – Ferida Cutânea + Laser 830 nm (Energia de 3.6 J – 5 pontos de Aplicação)
- G 10 – Ferida Cutânea + Laser 830 nm (Energia de 3.6 J – 9 pontos de Aplicação)

3.5 VIÉSES

O risco de viés esteve relacionado ao estresse dos animais e o risco de autofagia (ato de nutrir-se de si próprio), podendo acarretar em perda amostral.

3.6 VARIÁVEIS

O estudo teve como variáveis independentes o peso (g) e idade (meses) de natureza quantitativa contínua. Já como variáveis dependentes estavam a análise macroscópica/foto da lesão (cm), análise histológica (fibroblastos- numeral, espessura do epitélio- μm , vasos-numeral) e termografia ($^{\circ}\text{C}$), todos de natureza quantitativa discreta.

3.7 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS

3.7.1 Procedimento experimental

Os animais foram mantidos em gaiolas isoladas obedecendo o número máximo de animais permitidos em cada compartimento, com ventilação, controle de temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade (60–80 %) em ciclo de 12 horas claro-escuro, com livre acesso à água e ração. Os experimentos foram realizados durante a fase clara do ciclo (7 - 19 horas) e os animais mantidos no laboratório para aclimatação por pelo menos 30 minutos antes da realização dos testes.

3.7.2 Procedimento cirúrgico: Ferida cutânea

Os camundongos foram anestesiados com injeção intraperitoneal (i.p) de cloridrato de cetamina (Agener União[®]) 100 mg/kg associado a cloridrato de xilazina (Dopaser[®]) – 10 mg/kg (Manual de normas do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, 2013). Em seguida foi realizado a tricotomia por tração manual dos pelos no dorso dos animais (figura 4A), e então submetidos a incisão cirúrgica (figura 5). Foram removidos cirurgicamente 1,5 cm x 1,5 cm de pele, mediante gabarito (figura 4B) desenvolvido para o experimento.

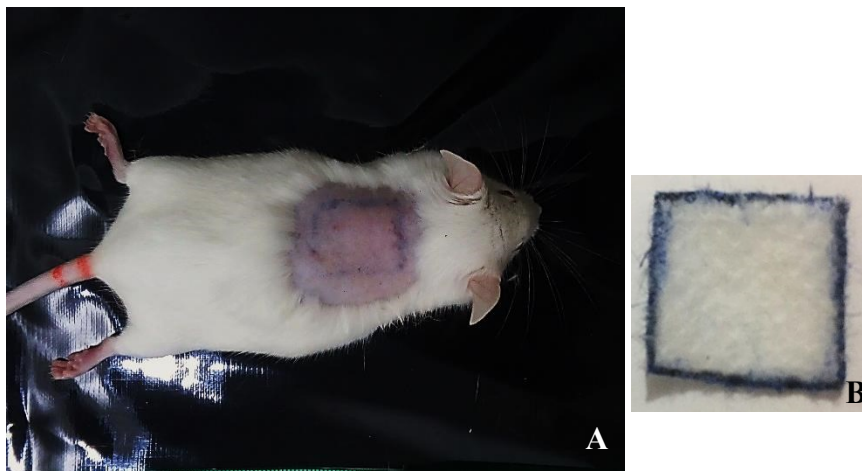


Figura 4: A: Tricotomia por tração manual dos pelos e demarcação do dorso dos animais para retirada da pele. B: Gabarito desenvolvido para realização da ferida cutânea de 1,5 x 1,5 cm

Fonte: O autor.

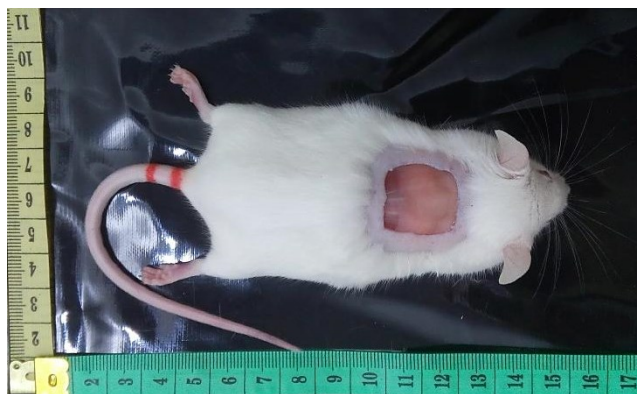


Figura 5: Modelo final da ferida aberta após retirada da pele de 1,5x1,5 cm.

Fonte: O autor.

3.7.3 Fármaco para dor

Após a operação, os animais dos experimentos receberam como analgésico o Tramadol com dose de 5-10 mg/Kg IP a cada 8 horas, durante 3 dias, conforme sugerido pela literatura (Guia anestesia e analgesia em animais de laboratório, 2017; Freitas *et al.*, 2017).

3.7.4 Fotobiomodulação

Foi utilizado o equipamento laser de Diodo de Arseneto de Gálio Aluminizado (GaAlAs), que emite um comprimento de onda de 830 nm e também foi utilizado o equipamento laser de Diodo de Alumínio, Gálio, Índio e Fósforo (AlGaInP), que emite um comprimento de onda de 660 nm, ambos com feixe contínuo, com potência de saída de 30 mW, da marca Ibramed® Equipamentos Médicos. A Energia emitida foi de 3.6 J. O local dos pontos de aplicação do laser podem ser conferidos através da figura 6. Os parâmetros bem como a forma de aplicação em número de pontos, foram escolhidos conforme ao estudo piloto (apêndice A).

A fluência para o laser com comprimento de 660 nm foi de 60 J/cm² quando aplicada em um ponto, 15 J/cm² em cada ponto quando aplicado em 4 pontos, 12 J/cm² em cada ponto quando aplicado em 5 pontos e 6,67 J/cm² quando aplicado em 9 pontos de aplicação. A fluência para laser com comprimento de onda de 830 nm foi de 32,72 J/cm² quando aplicada em um ponto, 8,18 J/cm² em cada ponto quando aplicado em 4 pontos, 6,54 J/cm² cada ponto quando aplicado em 5 pontos e 3,63 J/cm² quando aplicados em 9 pontos de aplicação.

O tempo de aplicação foi de 120 segundos para um ponto, 30 segundos cada ponto quando aplicado 4 pontos, 24 segundos cada ponto quando aplicado 5 pontos e 13 segundos cada ponto quando aplicado em 9 pontos. Todos os animais receberam o tempo total de aplicação de 2 minutos. Os animais do grupo Sham, receberam laser placebo conforme tempo estabelecido para os demais grupos. A intervenção foi realizada durante 14 dias consecutivos. Os parâmetros utilizados estão descritos na tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros da fotobiomodulação com comprimento de onda 660 nm e 830 nm

Irradiação laser	660 nm			
Potência	30mW			
Área do feixe	0,06 cm ²			
Pontos de aplicação	1	4	5	9
Fluência por ponto (J/cm ²)	60	15	12	6,67
Fluência total (J/cm ²)	840	210	168	93,38
Tempo (seg)	120	30	24	13
Energia por ponto (J)	3.6	0.9	0.7	0,4
Energia Total (J)	50,4	12,6	9,8	5,6
<hr/>				
Irradiação laser	830 nm			
Potência	30 mW			
Área do feixe	0,11 cm ²			
Pontos de aplicação	1	4	5	9
Fluência por ponto (J/cm ²)	32,72	8,18	6,54	3,63
Fluência total (J/cm ²)	458,08	114,52	91,56	50,82
Tempo (seg)	120	30	24	13
Energia por ponto (J)	3.6	0.9	0.7	0,4
Energia total (J)	50,4	12,6	9,8	5,6

Fonte: O autor.

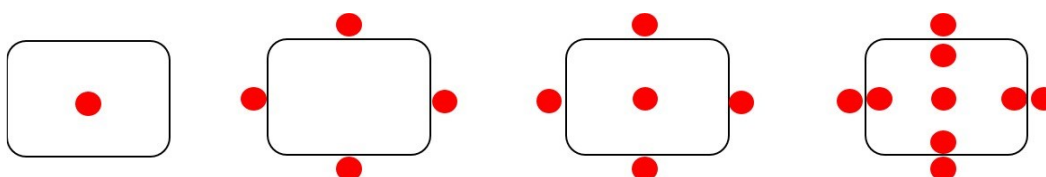


Figura 6: Aplicação de pontos da fotobiomodulação no dorso dos animais

Fonte: Do autor.

3.8 PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE

Os procedimentos de análise dos animais foram realizados no Biotério setorial e no laboratório de microscopia do Centro de Ciências, Tecnologia e Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Araranguá.

3.8.1 Análise macroscópica

As lesões foram avaliadas diariamente no momento da aplicação da fotobiomodulação. Todos os animais tiveram suas lesões fotografadas por câmara digital modelo “Cyber-Shot DSC-P72” (Sony[®], Estados Unidos da América), 5.1 mega pixels, Zoom 3.2 e mantida a distância constante de 20 cm (figura 7), sendo posteriormente analisada por meio do *software*

Image J[®]. As análises foram realizadas imediatamente após a cirurgia, no 7º e 14º dia após o procedimento cirúrgico.

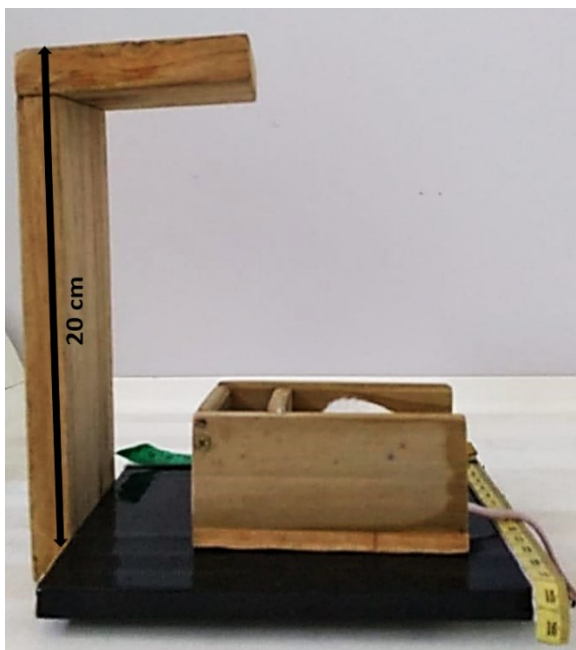


Figura 7: Padronização da distância (20cm) entre o animal e a câmera para análise macroscópica e termográfica.

Fonte: O autor

3.8.2 Técnica histológica

Após a eutanásia dos animais ocorrida no 14º dia após o procedimento cirúrgico, por dose excessiva de anestésico, as lesões foram removidas conforme gabarito desenvolvido de 1,5 x 1,5 cm para o estudo e imersas em um meio fixador de Formol 10%, e preparadas para análise histológica.

Os procedimentos realizados para preparação das amostras envolveram a fixação, desidratação, diafanização, embebição e a inclusão ou emblocagem. Na fixação, os segmentos de pele foram fixados em solução tamponada de formol a 10% por 48 horas. A desidratação constituiu na passagem da peça em concentrações crescentes de álcool etílico (50%, 70%, 90% e 100%) com o objetivo de eliminar toda a água contida do material. O processo de diafanização constituiu em três trocas de xilol para retirada do álcool da etapa anterior e preparo da peça para a imersão em parafina líquida. Na embebição a peça foi colocada em um recipiente com parafina líquida à temperatura de 56°C, e realizada três trocas para que a parafina se infiltre em todo o interior da peça e na inclusão ou emblocagem, realizada após a embebição, o material foi incluído em parafina líquida. Em seguida a peça foi encaminhada para microtomia e cortes não seriados com 5-6 µm de espessura foram corados por Hematoxilina-Eosina (HE).

Para aquisição das imagens histológicas foi utilizado o microscópio trinocular e câmera digital 14 mp ambos da marca Global Optics.

Para obtenção das medidas da espessura da epiderme de cada uma das amostras (figura 8), foi realizada uma análise quantitativa das imagens dos cortes histológicos, foi utilizado o *software* Image J[®]. As medidas obtidas estavam em micrômetros, e a objetiva utilizada foi de 40x.

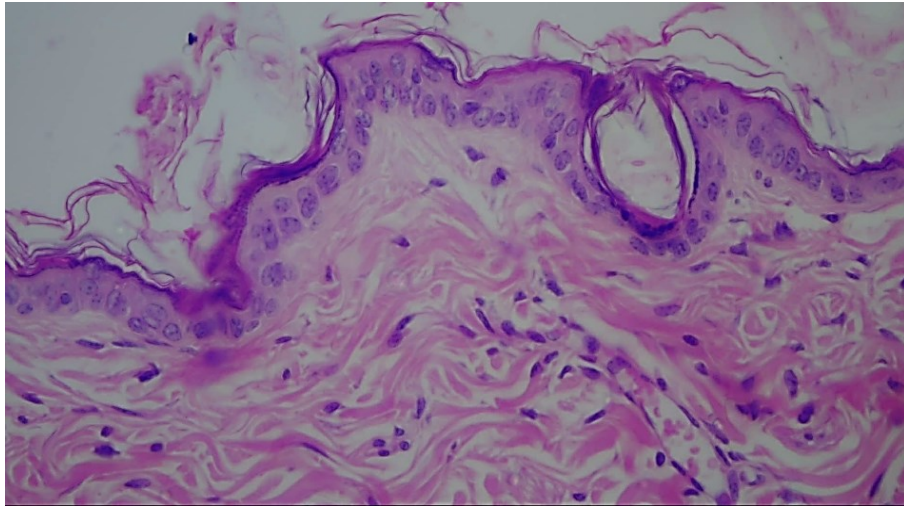


Figura 8: Imagem referente a análise de espessura do epitélio, objetiva 40 x

Fonte: O autor.

A quantidade de vasos sanguíneos foi mensurada através da imagem das amostras (figura 9), nas quais foram padronizadas para contagem uma grade com quadrados de 1,5x1,5 cm, totalizando 100 quadrados nos quadrantes inferiores. A objetiva utilizada para esta análise foi de 10x.

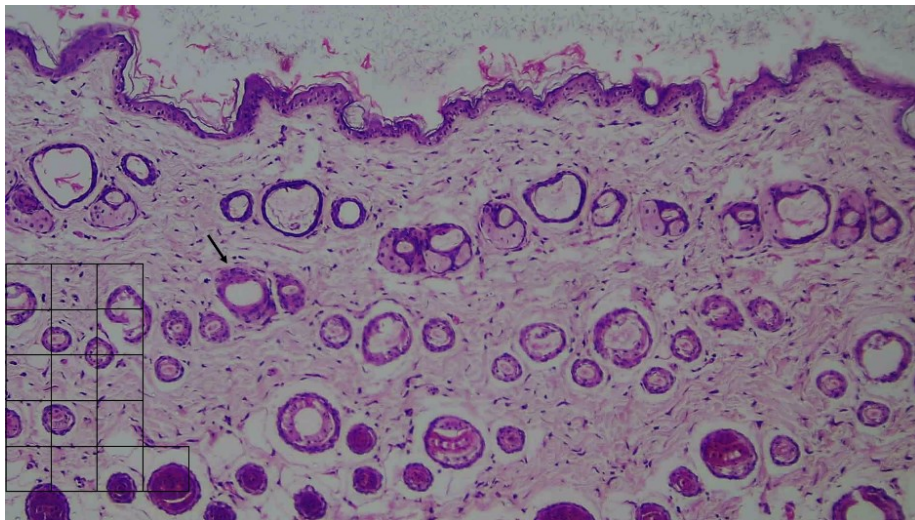


Figura 9: Análise da quantidade de vasos. A flecha indica um vaso sanguíneo. As grades ao canto esquerdo demonstram a forma utilizada para contagem.

Fonte: O autor.

O número de fibroblastos foi obtido através do *software* Image J[®] por meio da ferramenta *cell counter*, que realiza a contagem de células mediante da marcação manual, com a objetiva de 40x (figura 10).

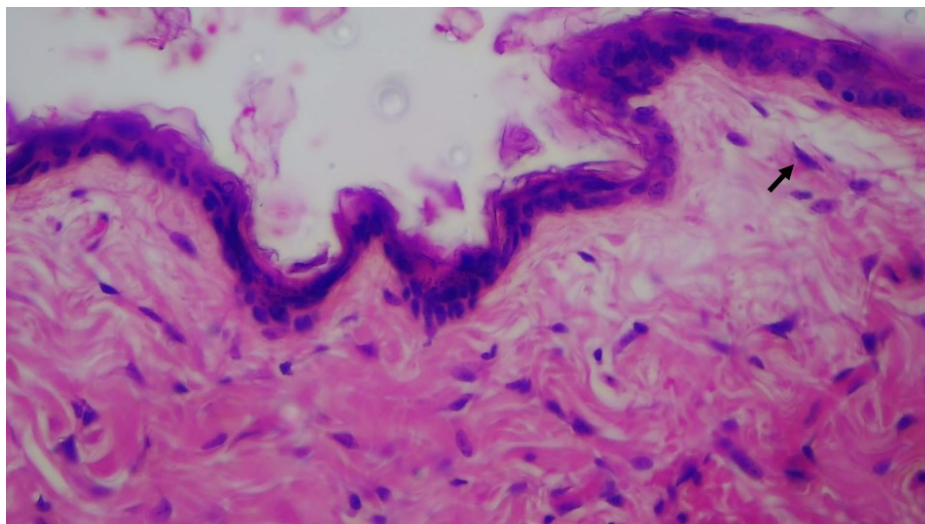


Figura 10: Imagem para contagem de fibroblastos, a seta indica o local de uma célula.

Fonte: O autor.

3.8.3 Análise da temperatura

A termografia é uma técnica que consiste na observação da temperatura através da tecnologia infravermelha de alta resolução. As avaliações foram realizadas no primeiro dia pós-operatório, 7 dias e 14 dias após a incisão cirúrgica (figura 11). O registro da temperatura era feito no dorso dos animais (local de lesão), com uma distância constante de 20 cm da ferida (figura 6). A análise foi realizada através da câmera do modelo FLIR C2 e posteriormente analisada no *software* FLIR Tools[™].



Figura 11: Imagem da câmera de termografia com distância de 20 cm.

Fonte: O autor.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, sendo que as variáveis apresentarem distribuição normal. A análise estatística para a área da lesão e temperatura, foi realizada através do teste ANOVA de medidas repetidas. A análise estatística para a histologia, foi realizada através do teste ANOVA one-way e post-hoc de Tukey. Os dados foram processados no GraphPad Prism 8.0.

3.10 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo está adequado conforme as normas preconizadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela CEUA sob número 4017201117 (ANEXO A).

3.11 DESFECHO FINAL HUMANITÁRIO – ENDPOINTS

O Guia Brasileiro de Criação e Utilização de Animais para Atividades de Ensino e Pesquisa, o qual contempla uma das competências do CONCEA, preconiza:

"Que a prevenção de dor e distresse potencial requerem conhecimento do controle e manuseio do animal, seu comportamento normal e o que pode ser esperado se os procedimentos utilizados causarem efeitos adversos nele."

“E que em protocolos experimentais que envolvem morte como desfecho provável, a escolha de um ponto final humanitário adequado é ainda mais importante para abreviar o sofrimento de animais que progredirão inexoravelmente para a morte. O uso de pontos finais humanitários contribui para o refinamento provendo uma alternativa aos pontos finais experimentais no caso de dor ou distresse grave nos animais.”

No caso da observação de lesão inicial em regiões anatômicas como cauda, orelha e pata o referido animal era separado dos demais. E se tais alterações representem o aumento da dor, automutilação e do distresse e/ou impossibilite a avaliação das variáveis do estudo, o animal será eutanasiado, para que esses fatores sejam prevenidos, aliviados ou finalizados (Dennis, 2000).

3.12 EUTANÁSIA

Após o encerramento do protocolo, para coleta dos dados, os animais foram eutanasiados através de hiperdosagem de anestésico: Cetamina (240 mg/Kg) e Xilazina (15 mg/Kg) via i.p (Schoell *et al.*, 2009). Diante disso, foi realizada a retirada da pele de 1,5 x 1,5 cm para análise histológica de vasos sanguíneos, espessura do epitélio e fibroblastos.

4 RESULTADOS

Para obter os dados referentes ao presente estudo, foi utilizado 125 Camundongos da raça Swiss, machos (40-45 g), idade média 60 dias. Durante o procedimento ocorreu algumas perdas amostrais, decorrentes de autofagia (2 animais) e logo após a anestesia (3 animais). Após as perdas totalizou 120 camundongos distribuídos em 10 grupos, sendo 9 grupos experimentais e um grupo Naive. Os resultados a seguir serão descritos de acordo com as análises realizadas nesta pesquisa.

A observação macroscópica foi realizada pela área da ferida, as fotos para avaliação foram realizadas em três tempos diferentes (pós-operatório imediato, 7 dias e 14 dias) e a análise da área foi realizada através do software Image J[®]. Na figura 12 demonstramos os dados referentes a área da ferida (cm²) nos três tempos avaliados, grupo Sham e nos grupos irradiados com a fotobiomodulação, com laser comprimento de onda 660 nm e 830 nm. As análises foram realizadas pelo método estatístico ANOVA de medidas repetidas com valor de $p < 0,05$, na primeira avaliação (pós-operatório imediato) e na segunda avaliação (7 dias PO), não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados. Na terceira avaliação (14 dias PO) houve diferença estatística $p < 0,05$ dos grupos irradiados com a fotobiomodulação comparados ao grupo Sham, exceto o grupo fotobiomodulação 830 nm irradiado por 9 pontos.

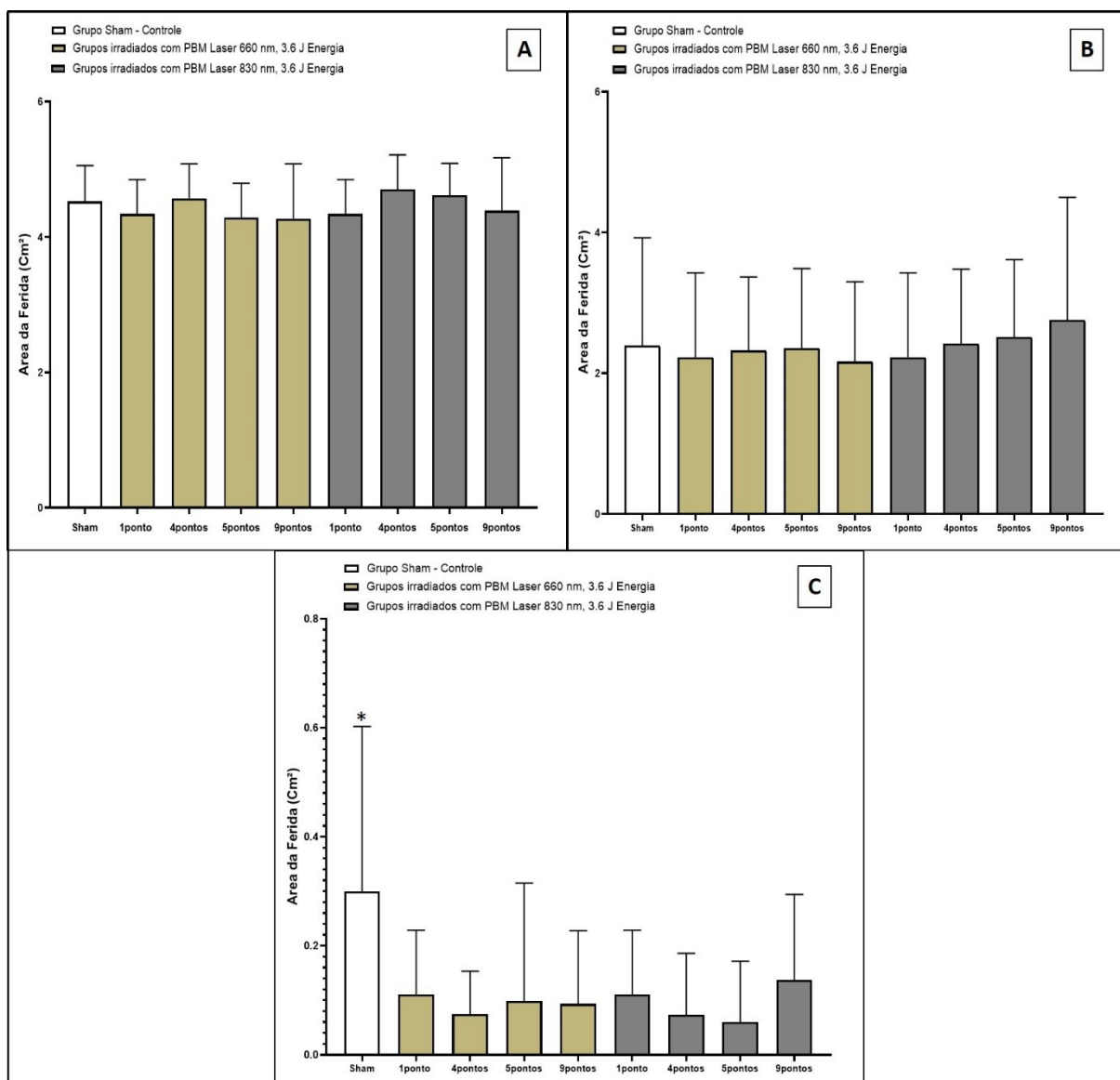


Figura 12: Evolução da área da ferida durante as três análises realizadas no estudo. **A:** Pós operatório imediato. **B:** 7 dias pós o procedimento cirúrgico. **C:** 14 dias pós procedimento cirúrgico.

* $p < 0,05$, 830 nm (1, 4, 5 pontos) e 660 nm (1, 4, 5, 9) vs Sham.

A análise histológica foi realizada através de uma amostra de tecido cutâneo retirado da região dorsal dos animais, o procedimento foi realizado no 14º dia após a eutanásia por excesso de anestésico. Na análise microscópica foi realizada a análise da espessura da pele, vasos sanguíneos permeados e número de fibroblastos, para a análise dos dados obtidos utilizamos o método estatístico *One-Way* ANOVA com valor de $p < 0,05$.

A mensuração da espessura da epiderme foi demonstrada em micrometros, ao analisar os dados obtidos foram observados diferença significativa com $p < 0,05$. Como resultados após análise estatística evidenciou a diferença do grupo 830 nm irradiado por cinco pontos comparado aos grupos Naive, Sham, 660 nm 1 ponto de aplicação, 660 nm 5 pontos e o grupo

830 nm irradiado apenas por um ponto, o grupo 830 nm irradiado por 4 pontos foi diferente dos grupos 660 um ponto e 830 irradiado por um ponto e o grupo 830 nm irradiado por 9 pontos foi diferente quando comparado com o 660 nm irradiado por um ponto, todos os dados estão dispostos na figura 13.

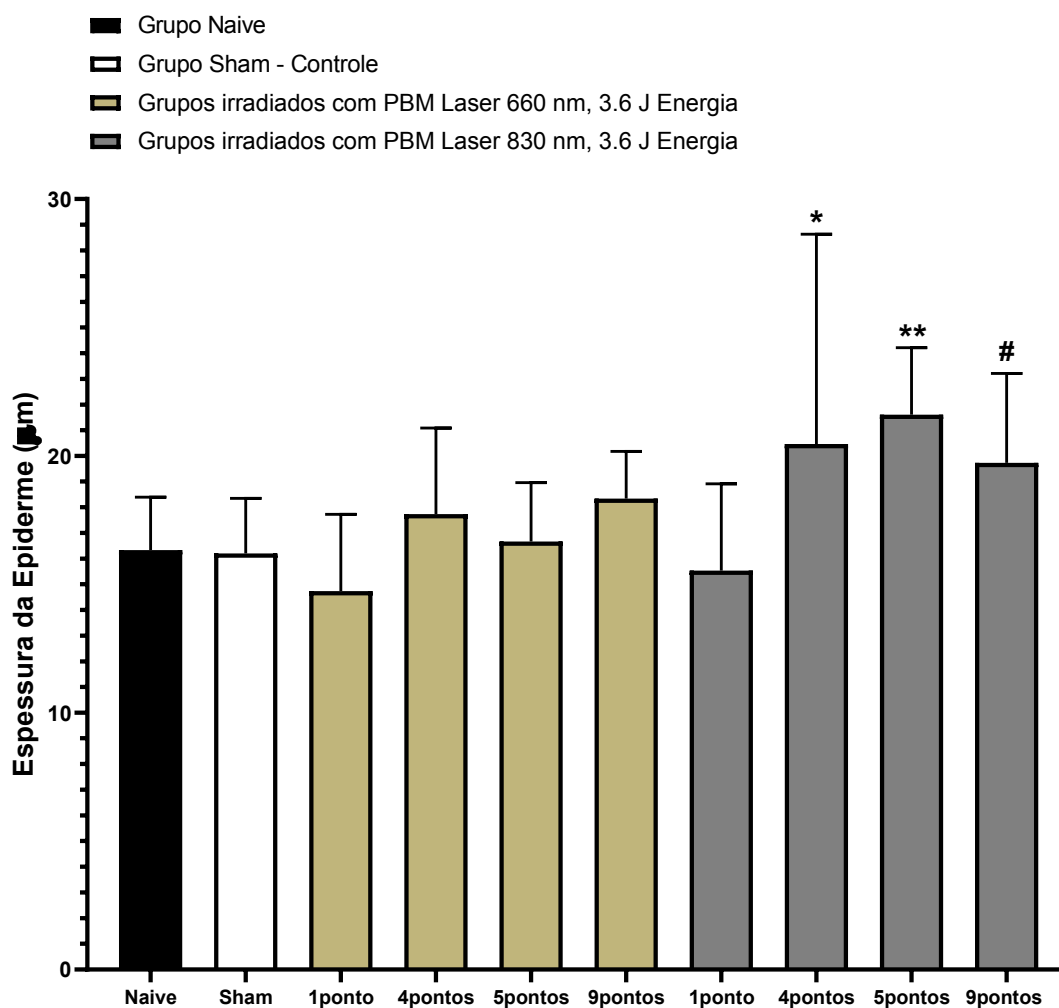


Figura 13: Análise histológica referente a espessura do epitélio em todos os grupos.

* $p < 0,05$, grupo 830 nm quatro pontos vs 660 nm um ponto e 830 um ponto de aplicao. ** $p < 0,05$, grupo 830 nm cinco pontos vs Naive, Sham, 660 nm um ponto e cinco pontos e 830 nm um ponto de aplicao. # $p < 0,05$, grupo 830 nm nove pontos vs 660 nm um ponto de aplicao.

A análise do número de vasos sanguíneos permeados foram realizados através de uma grade desenvolvida com quadrados de 1,5 x 1,5 cm, contendo 100 quadrados distribuídos no quadrante inferior da imagem, totalizando o número de vasos demonstrados na figura 14. Encontrou-se diferença entre os grupos FBM 830 nm 1 e 5 pontos em relao ao Naive e o grupo 660 nm 4 pontos em relao ao Naive.

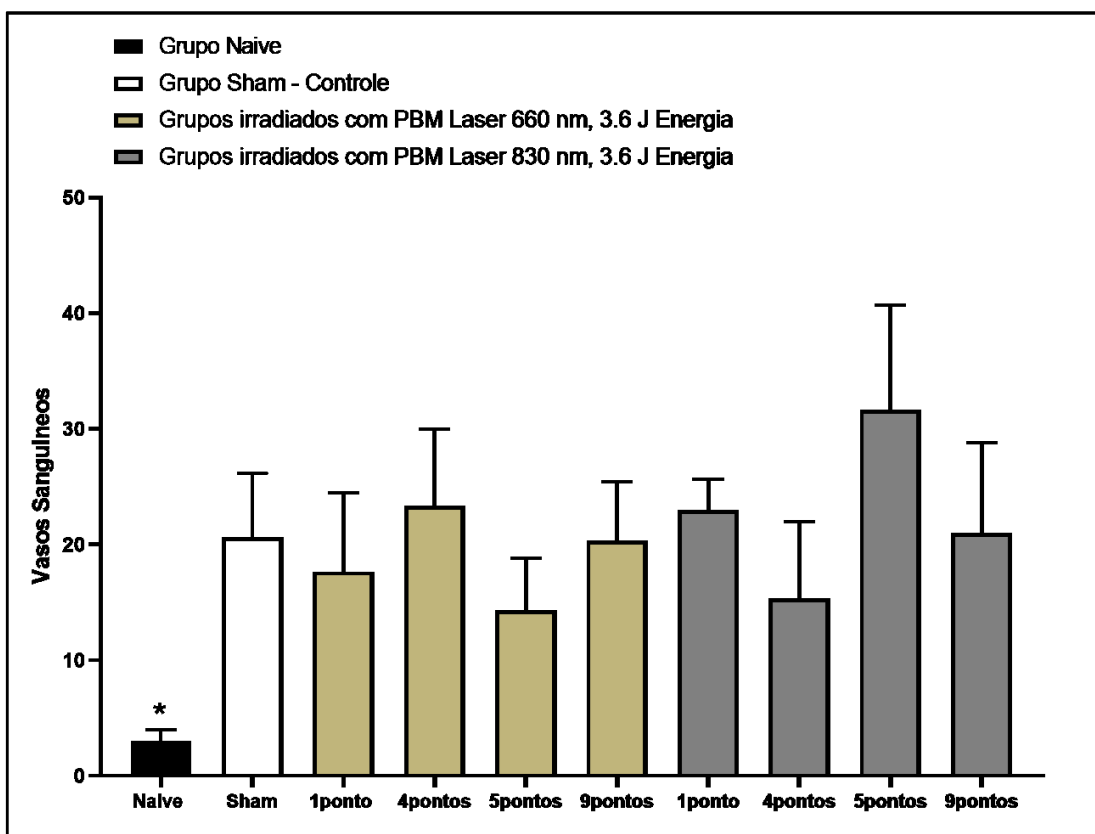


Figura 14: Análise histológica referente ao número de vasos sanguíneos em todos os grupos.

* $p < 0,05$. Grupo 830 nm um e cinco pontos e 660 nm quatro pontos vs Naive.

A análise histológica referente a quantidade de fibroblastos, é demonstrada na figura 15. Observa-se diferença significativa entre o grupo FBM 830 nm em todas as maneiras de aplicação dos pontos (1, 4, 5 e 9) em relação aos grupos Naive e Sham, grupo 660 nm 1, 4 e 5 pontos referente ao Naive e 660 nm em aplicação em 1, 4, 5 e 9 pontos em relação ao Sham. Também observa-se diferença entre os grupos 660 nm 1 ponto em relação ao grupo 660 nm 4 e 5 pontos.

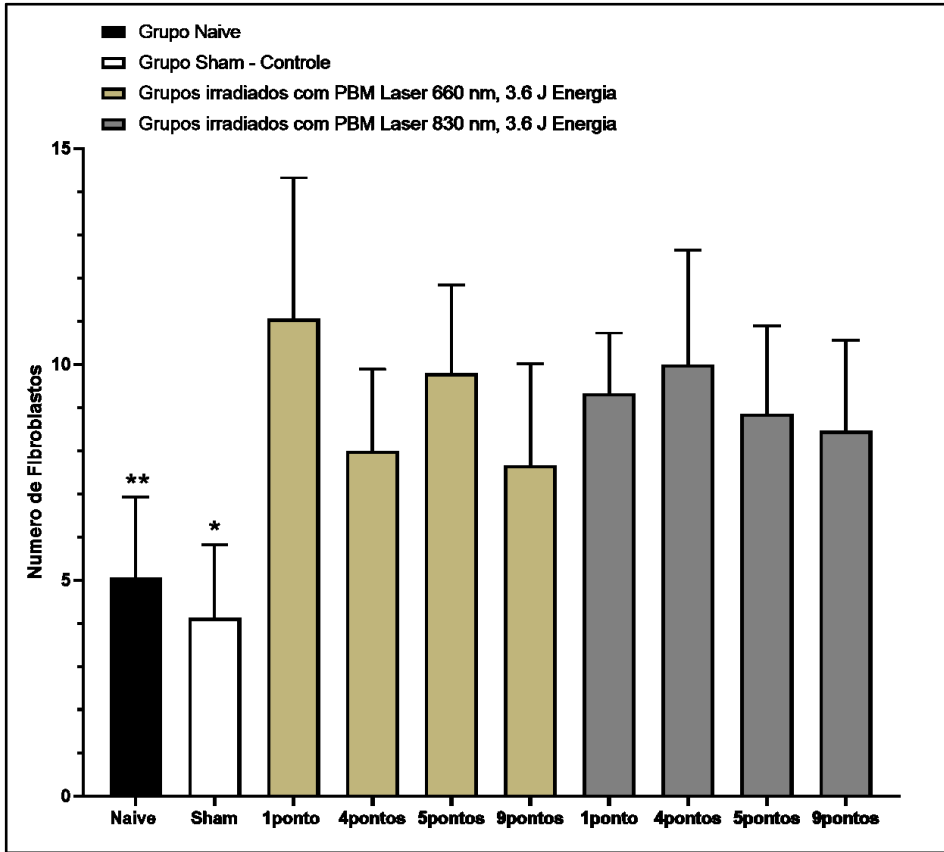


Figura 15: Análise histológica referente a quantidade de fibroblastos em todos os grupos.

* $p < 0,05$: Sham vs 830 nm (1, 4, 5, 9 pontos) e 660 nm (1, 4, 5, 9 pontos). ** $p < 0,05$: Naive vs 830 nm (1, 4, 5, 9 pontos) e 660 nm (1, 4, 5 pontos).

A análise de temperatura da pele é demonstrada na figura 16. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos avaliados.

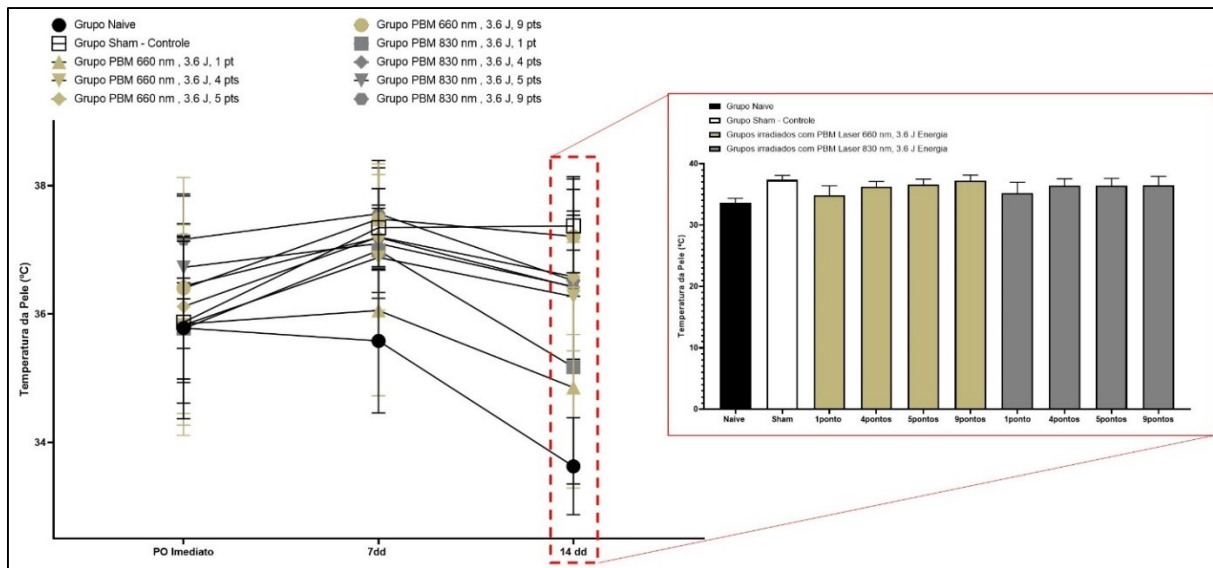


Figura 16: Resultados da análise de temperatura através da câmera termográfica.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo teve por objetivo investigar e comparar o efeito da fotobiomodulação laser com diferentes pontos de aplicação e diferentes comprimentos de onda na cicatrização de ferida cutânea aberta em camundongos.

Os animais descritos como Sham são aqueles que recebem a intervenção cirúrgica porém são tratados com FBM placebo (aparelho desligado) durante o tempo proposto para os animais que receberam a intervenção (120 segundos). Já os animais chamados de Naive não recebem intervenção cirúrgica e nenhuma forma de tratamento, sendo necessários para a análise de temperatura como controle e análise histológica.

Diversos estudos realizados com a fotobiomodulação em diferentes comprimentos de onda na cicatrização de lesão tegumentar encontraram efeitos positivos deste tratamento. Três dos estudos investigaram o efeito da fotobiomodulação no espectro vermelho (635-670 nm), e encontraram indícios de sua efetividade (Solmaz *et al.*, 2016; Uzeda *et al.*, 2016) e efeitos semelhantes ao comprimento de onda infravermelho (830nm), exceto em relação ao aumento de fibroblastos (Chiarotto *et al.*, 2014). A maioria dos estudos (seis) encontraram eficácia no tratamento para cicatrização com FBM 810-870 nm, tanto de maneira isolada como comparada a FBM infravermelha (Rocha Júnior *et al.*, 2006; Das Neves *et al.*, 2011; Neves *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2014; Rathnakar *et al.*, 2016; Das Neves *et al.*, 2017). Indo de encontro com a maioria dos estudos, encontramos superioridade dos efeitos da fotobiomodulação comprimento de onda 830 nm, porém em alguns aspectos, também observamos resultados positivos para o grupo 660 nm.

A lei de Arndt-Schultz sempre foi muito utilizada para descrever os efeitos de dose-resposta da fotobiomodulação. Essa lei relata que em determinadas doses o estímulo pode ativar ou inibir a atividade fisiológica, ou seja, em pouco estímulo não se tem ativação e com muito estímulo se tem uma inibição dessa atividade, e existe um estímulo ótimo, no qual apresentaria o melhor efeito (Sommer *et al.*, 2001; Hamblin, 2018). Esses efeitos seriam influenciados pela intensidade ou tempo de exposição. Carroll (2008) mostra em seu estudo um modelo de dose-resposta da FBM com gráfico em 3D no qual explica melhor o ponto ideal de estimulação combinando tempo e intensidade. Porém, ressalta que diversos fatores podem interferir na bioestimulação, como a profundidade do tecido alvo, atenuação, intervalo de tratamento e comprimento de onda.

Com base nisso, podemos notar que nossos resultados relacionados a aplicação em diferentes pontos na ferida cutânea podem ter sido influenciados pela maneira de aplicação

desses pontos, tendo interferência atenuação da luz pelo tecido, já que aplicação em novo pontos foi o menos efetivo e era aplicado em pontos na pele, enquanto outros pontos aplicados na lesão aberta. Isso pode ser pensado, já que os parâmetros finais recebidos para todos animais eram os mesmos para cada comprimento de onda.

Estudos realizados com comparação na aplicação de pontos divergem os seus resultados, pois, Pinfildi et al. (2005) pesquisaram a aplicação de diferentes número de pontos em Ratos Wistar submetidos a retalho cutâneo. Os autores utilizaram 3 grupos experimentais (um dos grupos foi irradiado na superfície em 27 pontos, outro grupo em torno do retalho cutâneo em 27 pontos, e outro grupo com 54 pontos irradiados dentro e fora do retalho), além do grupo controle, os autores observaram que todos os grupos experimentais tiveram diferença estatística quando comparado ao grupo controle e o grupo com aplicação de 54 pontos foi o melhor, quando comparado a todos os grupos do estudo.

O estudo de Prado e colaboradores (2009) utilizou a fotobiomodulação e dividiu ratos Wistar em 7 grupos (grupo 1: tratamento com FBM desligado; grupo 2: recebeu irradiação em 1 ponto a 5 cm da base craniana do retalho; grupo 3: irradiação em 2 pontos (5 e 7,5 cm da base do retalho); grupo 4: irradiação em 3 pontos (2,5, 5 e 7,5 cm da base do retalho); grupo 5: irradiação a 1 ponto a 2,5 cm da base do retalho; grupo 6: irradiação em dois pontos (2,5 e 5 cm da base do retalho); e grupo 7: irradiação a 1 ponto a 7,5 cm da base do retalho. Os animais foram submetidos a terapia a laser com densidade de energia de 36 J / cm² por 72 segundos imediatamente após a cirurgia e uma vez em cada um dos quatro dias subsequentes. Eles verificaram que a irradiação de um ponto a 2,5 cm da base craniana do retalho (grupo 5) foi a mais efetiva.

Pinfildi et al (2013) realizou um estudo com FBM e utilizou ratos wistar que foram divididos em 7 grupos (Grupo 1: tratamento com FBM simulada; grupo 2: 3 J/cm² em 1 ponto; grupo 3, 3 J/cm² em 24 pontos; grupo 4, 72 J/cm² em 1 ponto; grupo 5, 6 J/cm² em 1 ponto; grupo 6, 6 J/cm² em 24 pontos; e grupo 7, 144 J/cm² em 1 ponto). Como resultados eles encontraram que os grupos 3 e 5 tiveram um aumento nos níveis de vasos sanguíneos em comparação com outros grupos. A FBM em densidades de energia de 6 a 144 J/cm² foi eficiente para aumentar os níveis de angiogênese e VEGF e promover a viabilidade em retalhos TRAM em ratos.

Já o estudo realizado por Martignago e colaboradores (2018) realizaram a aplicação de FBM em três e doze pontos no retalho randômico de ratos e verificaram que aplicação em menos pontos foi mais efetiva em relação a redução da área de necrose.

Com base nisso, podemos verificar que o que pode influenciar o resultado das aplicações dos pontos são os parâmetros utilizados, já que em nosso estudo verificamos que a aplicação em quatro e cinco pontos foi mais efetiva, do que aplicada em um único ponto ou em nove pontos. O que difere nosso estudo dos apresentados, é que os outros utilizaram diversos pontos com a somatória dos parâmetros, sejam em diferentes tempo de aplicação ou energia, por exemplo, e em nossa pesquisa realizamos um controle para que os parâmetros finais fossem iguais a todos os grupos (tempo total, energia total, energia por ponto, fluência por ponto e fluência total).

Com relação a análise macroscópica, observamos diferenças significativas apenas no grupo 830 nm com aplicação em 4 e 5 pontos da fotobiomodulação, o que significa que estes grupos com tratamento foram mais efetivos. Todos os grupos apresentaram um processo de cicatrização em seu curso natural.

Gonçalves et al (2010) observou a redução extensão da ferida e estímulo da produção de colágeno tipo I e III, e em seu outro estudo (2013), a redução significativa do tamanho da ferida nos grupos irradiados em relação ao grupo controle, sugerindo que o laser é benéfico na cicatrização de feridas. Do mesmo modo, Andrade e colaboradores (2014) encontraram que a fotobiomodulação promove importantes efeitos fisiológicos, como resolução anti-inflamatória, neoangiogênese, proliferação epitelial e de fibroblastos, síntese e deposição de colágeno, revascularização e contração da ferida, acelerando o processo de cicatrização.

Já o estudo de Carneiro et al (2015) comparou os efeitos do laser 670 nm e 904 nm, e não encontrou diferença no tempo total de cicatrização das feridas tratadas com os lasers AlGaInP (670 nm) e AsGa (904 nm) quando comparadas ao grupo controle. Porém, quando observado a área na avaliação inicial e final nota-se uma tendência de melhora para o grupo tratado com 904 nm, apesar de não apresentar diferença estatística com os demais grupos. Do mesmo modo, não encontramos diferenças entre o laser AlGaInP (660 nm) com o grupo controle. Já o laser com comprimento de onda 830 nm foi efetivo em dois grupos, os grupos aplicados em quatro e cinco pontos.

O resultado encontrado no estudo pode estar relacionado a aplicação do tratamento nas bordas da ferida, o que estimula sua cicatrização e aproximação de bordas de maneira mais rápida. Em relação ao comprimento de onda, a FBM 830 nm parece ser mais efetiva. Uma revisão sistemática realizada por Yadav e Gupta (2017) constatou que a fotobiomodulação próximo ao infravermelho (800-830 nm) é a faixa de comprimentos de onda mais efetiva, seguido por luz superpulsada vermelha (630-680 nm) e 904 nm exibindo efeitos

fotobiomodulatórios benéficos na cicatrização da ferida cutânea, corroborando com nossos achados.

Na análise histológica, referente a espessura do epitélio tivemos resultados significativos da FBM 830 nm 5 pontos em relação ao Naive, Sham, 830 nm 1 ponto e 660 nm 1 ponto, e também uma diferença no 830 nm 4 pontos em relação do 660 nm 1 ponto.

GÁL et al (2006), avaliou o efeito da FBM na cicatrização da pele de ratos e verificou que a utilização do laser AlGaInP levou a um processo acelerado de regeneração da epiderme, reparação da derme e aceleração da cicatrização.

Leite e colaboradores (2017) investigaram o efeito do campo elétrico pulsado e da fotobiomodulação laser (PBM) sobre a viabilidade do retalho TRAM em ratos diabéticos e encontraram como resultado que a fotobiomodulação acarretou em um aumento da espessura da epiderme, além de outros resultados como redução da área de necrose e do número de leucócitos, aumento de mastócitos, aumento do fator de crescimento endotelial vascular, aumento do fator de crescimento de fibroblastos e aumento de vasos sanguíneos neoformados. Os estudos corroboram com nossos achados, no qual observamos aumento da espessura do epitélio.

Em relação ao número de vasos, notou-se diferença em três grupos em relação ao controle Naive, os grupos 660 nm com 4 pontos de aplicação e os grupos 830 nm com 1 e 5 pontos, destacando-se este último, com grande aumento no número de vasos.

Melo e colaboradores (2011), tiveram como objetivo avaliar o efeito da terapia laser de baixa potência comprimento de onda de 904 nm na cicatrização de feridas cirúrgicas em ratos. Como resultado encontraram uma redução da resposta inflamatória, melhor deposição de fibras colágenas e aumento do número médio de vasos neoformados.

Wagner et al (2016), avaliou os efeitos da fotobiomodulação (PBM) sobre os níveis de citocinas e angiogênese durante a cicatrização de feridas orais e concluíram que de modo geral, os achados como a modulação de citocinas e aumento da angiogênese estão entre os mecanismos básicos da PBM na melhora do reparo da ferida oral. Medeiros et al (2017), verificam os efeitos da LLLT na imunoposição da matriz metaloproteinase (MMP-2) na cicatrização de feridas e processos angiogênicos e encontraram que o laser melhorou a cicatrização de feridas, especialmente aos 14 dias, como evidenciado pela contração da ferida, atividade antiinflamatória, neocolagênese e aumento da quantidade de vasos formados (neoangiogênese). Em nossos achados também encontramos aumento do número de vasos sanguíneos, porém em apenas três grupos estudados em relação ao Naive.

Os resultados referentes a quantidade de fibroblastos demonstram diferenças estatística para quase todos os grupos em relação ao Naive e Sham, exceto quando comparado Naive com grupo 660 nm 9 pontos. Os fibroblastos estão relacionados a produção de colágeno e matriz extracelular, sendo um importante componente na cicatrização de feridas.

O estudo de Golçalves et al (2010) teve como objetivo comparar os efeitos do laser diodo de arsenieto de gálio-alumínio e do óleo cicatrizante em fibroblastos, vasos sanguíneos e maturação de colágeno de feridas cutâneas em ratos Wistar. Eles encontraram um aumento no número de vasos sanguíneos no grupo tratado com FBM 830 nm, além de um maior número de colágenos maturados, porém ao fazer a comparação dos grupos em relação aos fibroblastos, não foi observada diferença entre os grupos.

O estudo de Sampaio e colaboradores (2013) buscou estudar o efeito do laser $\lambda 660$ nm e do diodo emissor de luz $\lambda 700$ nm na proliferação de fibroblastos em feridas cutâneas em roedores e concluíram que LED causou a proliferação fibroblástica em ratos anêmicos e a irradiação a laser ($\lambda 660$) foi mais efetiva no aumento da proliferação em animais não-anêmicos.

Chaves et al (2014) realizou uma revisão sistemática com objetivo de determinar os efeitos biológicos que suportam o uso de Laser ou LED na cicatrização de feridas e encontraram semelhanças relacionadas aos efeitos biológicos promovidos por esses recursos terapêuticos que estão relacionados à diminuição das células inflamatórias, aumento da proliferação de fibroblastos, estimulação da angiogênese, formação de tecido de granulação e aumento da síntese de colágeno.

Solmaz, Ulgen e Gulsoy (2017) utilizaram a fotobiomodulação com comprimento de onda de 635 nm e 809 nm na cicatrização de feridas em análises in vivo e in vitro e encontraram que a FBM 635 nm teve efeito de estimulação na viabilidade de células de fibroblastos in vitro e formação epitelial ao longo de feridas cutâneas incisionais in vivo, a irradiação de 809 nm não teve efeito tanto in vitro quanto in vivo. Os estudos citados, encontraram resultados positivos em relação a formação de novos vasos sanguíneos e/ou proliferação fibroblástica e, indo de encontro aos resultados encontrados neste estudo.

Observando a temperatura conforme as avaliações, não observamos diferenças significativas entre os grupos. Porém, é possível observar uma tendência de menor temperatura do grupo Naive, que pode ser explicado pela ausência do processo inflamatório que ocorre em uma lesão, influenciado apenas pela variação de temperatura corporal normal, seguido dos grupos tratados e por último o grupo Sham.

Dentre as pesquisas que utilizaram a avaliação termográfica os autores Christensen e colaboradores (2012), objetivaram avaliar as diferenças na temperatura da pele entre o lado operado e controle após uma cirurgia do terceiro molar mandibular usando termografia e verificaram que a termografia parece ser útil para avaliação da inflamação entre o lado da intervenção e o lado do controle. Porém, enfatizam que a termografia não pode ser usada para avaliar mudanças absolutas de temperatura devido a variações normais na temperatura da pele ao longo do tempo, sendo uma avaliação complementar.

Neves et al (2016), avaliaram a temperatura no retalho e obtiveram como resultado o aumento da temperatura no 4º dia pós-operatório nos dois grupos avaliados (controle e tratamento com estimulação elétrica de alta voltagem).

Dostalova e colaboradores (2017) utilizaram a termografia após extração do terceiro molar e não encontraram mudanças significativas de temperatura. O estudo de Carvalho et al. (2017) teve como objetivo avaliar o potencial antiinflamatório do arseneto de gálio (904 nm) na cicatrização de feridas cutâneas através de medição da temperatura na superfície da ferida cutânea e exame histopatológico e observaram um aumento da temperatura do grupo tratado, sem observar uma ação anti-inflamatória da FBM.

Conforme podemos observar, os estudos utilizam a termografia para avaliação e acompanhamento durante a fase inflamatória de alguma lesão/procedimento, e não com um acompanhamento de maior prazo, como realizado neste estudo. Por conseguinte, isso explicaria os resultados encontrados no estudo, com ausência de diferença significativa entre os grupos, com base na cicatrização das feridas quase fechadas, sem ausência de infiltrado inflamatório.

Algumas limitações devem ser consideradas. As limitações foram a não quantificação de miofibroblastos e fibras de colágeno, a falta de análise de citocinas e fatores de crescimento importantes no processo de cicatrização de feridas, que poderiam acrescentar informações relevantes para o estudo.

6 CONCLUSÃO

Através da amostra estudada podemos concluir que, na comparação dos comprimentos de onda da fotobiomodulação o de 830 nm foi mais eficaz quando comparado aos grupos Naive, Sham e os grupos irradiados pelo laser 660 nm, na análise comparativa do número de pontos destacamos a aplicação em quatro e cinco pontos na lesão aberta, com destaque para o grupo 5 pontos de aplicação da FBM, demonstrando melhora na análise macroscópica, espessura do epitélio, aumento no número de vasos e menor número de fibroblastos no 14º de lesão.

REFERÊNCIAS

ANDRADE F, S.; CLARK, R. M.; FERREIRA, M. L. Effects of low-level laser therapy on wound healing. **Rev Col Bras Cir**, v. 41, n. 2, p. 129-33, Mar-Apr 2014. ISSN 0100-6991.

ANDREO, L. et al. Effects of photobiomodulation on experimental models of peripheral nerve injury. **Lasers Med Sci**, Oct 23 2017. ISSN 0268-8921.

ASSIS, L. et al. Low-level laser therapy (808 nm) reduces inflammatory response and oxidative stress in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. **Lasers Surg Med**, v. 44, n. 9, p. 726-35, Nov 2012. ISSN 0196-8092.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 03/2005 2005. ISSN 1516-9332.

BAREZ, M. M. et al. Stimulation Effect of Low Level Laser Therapy on Sciatic Nerve Regeneration in Rat. **J Lasers Med Sci**, v. 8, n. Suppl 1, p. S32-s37, Summer 2017. ISSN 2008-9783

BEIGOM TAHERI, J. et al. Comparison of the Effect of Low-Level Laser and Phenytoin Therapy on Skin Wound Healing in Rats. **J Lasers Med Sci**, v. 6, n. 3, p. 124-8, Summer 2015. ISSN 2008-9783

BORA KARSLI, P. et al. High-Voltage Electrical Stimulation Versus Ultrasound in the Treatment of Pressure Ulcers. **Adv Skin Wound Care**, v. 30, n. 12, p. 565-570, Dec 2017. ISSN 1527-7941.

CAMPOS, A. A. G. D.; MORE, L. F.; ARRUDA, S. S. D. **Protocolo de cuidados com feridas**. Florianópolis: IOESC 2007.

CAMPOS, A. C. L. et al. Cicatrização de feridas. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, p. 51-58, 2007.

CARNEIRO, C. et al. **Efeito de lasers de baixa potência no reparo de lesões cutâneas**. 2015.

CARROLL, J. A 3D dose model for low level laser / led therapy biostimulation and bioinhibition. p. 3, 03/01 2008.

CARVALHO, A. et al. **Effect of gallium arsenide low-level laser therapy on the inflammatory phase of skin wound healing in rats**. 226-230. 2017.

CASALECHI, H. L. et al. Analysis of the effect of phototherapy in model with traumatic Achilles tendon injury in rats. **Lasers Med Sci**, v. 29, n. 3, p. 1075-81, May 2014. ISSN 0268-8921.

CHAVES, M. E. et al. Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED. **An Bras Dermatol**, v. 89, n. 4, p. 616-23, Jul-Aug 2014. ISSN 0365-0596.

CHEN, B. et al. Complementary Effects of Negative-Pressure Wound Therapy and Pulsed Radiofrequency Energy on Cutaneous Wound Healing in Diabetic Mice. **Plast Reconstr Surg**, v. 139, n. 1, p. 105-117, Jan 2017. ISSN 0032-1052.

CHEN, C. et al. Phototherapy for treating pressure ulcers. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 7, p. Cd009224, Jul 11 2014. ISSN 1361-6137.

CHIAROTTO, G. B. et al. Effects of laser irradiation (670-nm InGaP and 830-nm GaAlAs) on burn of second-degree in rats. **Lasers Med Sci**, v. 29, n. 5, p. 1685-93, Sep 2014. ISSN 0268-8921.

CHRISTENSEN, J. et al. Thermography as a quantitative imaging method for assessing postoperative inflammation. **Dentomaxillofac Radiol**, v. 41, n. 6, p. 494-9, Sep 2012. ISSN 0250-832X.

COCA, K. P. et al. Efficacy of Low-Level Laser Therapy in Relieving Nipple Pain in Breastfeeding Women: A Triple-Blind, Randomized, Controlled Trial. **Pain Manag Nurs**, v. 17, n. 4, p. 281-9, Aug 2016. ISSN 1524-9042.

COSTA; DA, T. A. **Pb x laserterapia: mecanismos envolvidos na cicatrização de lesões cutâneas**. 2012. Dissertação de mestrado em Genética e Biologia Molecular Universidade Estadual de Campinas

DA SILVA, J. P. et al. Laser therapy in the tissue repair process: a literature review. **Photomed Laser Surg**, v. 28, n. 1, p. 17-21, Feb 2010. ISSN 1549-5418.

DADPAY, M. et al. Effects of pulsed infra-red low level-laser irradiation on open skin wound healing of healthy and streptozotocin-induced diabetic rats by biomechanical evaluation. **J Photochem Photobiol B**, v. 111, p. 1-8, Jun 4 2012. ISSN 1011-1344.

DAS NEVES, L. M. et al. Laser photobiomodulation (830 and 660 nm) in mast cells, VEGF, FGF, and CD34 of the musculocutaneous flap in rats submitted to nicotine. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 2, p. 335-341, Feb 2017. ISSN 0268-8921.

_____. Low-level laser therapy on the viability of skin flap in rats subjected to deleterious effect of nicotine. **Photomed Laser Surg**, v. 29, n. 8, p. 581-7, Aug 2011. ISSN 1549-5418.

DAWOOD, M. S.; AL-SALIHI, A. R.; QASIM, A. W. Laser therapy of muscle injuries. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 3, p. 735-42, May 2013. ISSN 0268-8921.

DE FREITAS, L. F.; HAMBLIN, M. R. Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. **IEEE J Sel Top Quantum Electron**, v. 22, n. 3, May-Jun 2016. ISSN 1077-260X.

DE MATTOS, L. H. et al. Effect of phototherapy with light-emitting diodes (890 nm) on tendon repair: an experimental model in sheep. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 1, p. 193-201, Jan 2015. ISSN 0268-8921.

DE MEDEIROS, M. L. et al. Effect of low-level laser therapy on angiogenesis and matrix metalloproteinase-2 immunoexpression in wound repair. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 1, p. 35-43, Jan 2017. ISSN 0268-8921.

DE MELO, C. A. et al. Light-emitting diode therapy increases collagen deposition during the repair process of skeletal muscle. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 3, p. 531-8, Apr 2016. ISSN 0268-8921.

DE MORAES, J. M. et al. Anti-inflammatory effect of low-intensity laser on the healing of third-degree burn wounds in rats. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 4, p. 1169-76, Jul 2013. ISSN 0268-8921.

DE OLIVEIRA, R. F. et al. Comparison between the effect of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasonic irradiation in vitro. **Photomed Laser Surg**, v. 26, n. 1, p. 6-9, Feb 2008. ISSN 1549-5418.

DE SOUZA, L. G. et al. Comparative effect of photobiomodulation associated with dexamethasone after sciatic nerve injury model. **Lasers Med Sci**, v. 33, n. 6, p. 1341-1349, Aug 2018. ISSN 0268-8921.

DENNIS, M. B., JR. Humane endpoints for genetically engineered animal models. **Ilar j**, v. 41, n. 2, p. 94-8, 2000. ISSN 1084-2020.

DOSTALOVA, T. et al. Low-Level Laser Therapy After Wisdom Teeth Surgery: Evaluation of Immunologic Markers (Secretory Immunoglobulin A and Lysozyme Levels) and Thermographic Examination: Placebo Controlled Study. **Photomed Laser Surg**, v. 35, n. 11, p. 616-621, Nov 2017. ISSN 1549-5418.

DUNGEL, P. et al. Low level light therapy by LED of different wavelength induces angiogenesis and improves ischemic wound healing. **Lasers Surg Med**, v. 46, n. 10, p. 773-80, Dec 2014. ISSN 0196-8092.

FATHABADIE, F. F. et al. Effects of pulsed infra-red low level-laser irradiation on mast cells number and degranulation in open skin wound healing of healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. **J Cosmet Laser Ther**, v. 15, n. 6, p. 294-304, Dec 2013. ISSN 1476-4172.

FELISMINO, A. S. et al. Effect of low-level laser therapy (808 nm) on markers of muscle damage: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Lasers Med Sci**, v. 29, n. 3, p. 933-8, May 2014. ISSN 0268-8921.

FERRARESI, C.; HAMBLIN, M. R.; PARIZOTTO, N. A. Low-level laser (light) therapy (LLLT) on muscle tissue: performance, fatigue and repair benefited by the power of light. **Photonics Lasers Med**, v. 1, n. 4, p. 267-286, Nov 1 2012. ISSN 2193-0635.

FRANCA, C. M. et al. Effect of laser therapy on skeletal muscle repair process in diabetic rats. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 5, p. 1331-8, Sep 2013. ISSN 0268-8921.

FREITAS, A. P. P. D.; ANTIORIO, A. T. B.; SEABRA, D. I. **Anestesia e analgesia em animais de laboratório**: UNICAMP 2017.

GAL, P. et al. Histological assessment of the effect of laser irradiation on skin wound healing in rats. **Photomed Laser Surg**, v. 24, n. 4, p. 480-8, Aug 2006. ISSN 1549-5418.

GARCIA, V. G. et al. Influence of low-level laser therapy on wound healing in nicotine-treated animals. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 2, p. 437-43, Mar 2012. ISSN 0268-8921.

GOMES, C.; SCHAPOCHNIK, A. O uso terapêutico do LASER de Baixa Intensidade (LBI) em algumas patologias e sua relação com a atuação na Fonoaudiologia. v. 29, p. 570, 2017.

GONCALVES, R. V. et al. Time-dependent effects of low-level laser therapy on the morphology and oxidative response in the skin wound healing in rats. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 2, p. 383-90, Feb 2013. ISSN 0268-8921.

_____. Comparative study of the effects of gallium-aluminum-arsenide laser photobiomodulation and healing oil on skin wounds in wistar rats: a histomorphometric study. **Photomed Laser Surg**, v. 28, n. 5, p. 597-602, Oct 2010. ISSN 1549-5418.

GONÇALVES, R. V. et al. Effect of gallium-arsenide laser, gallium-aluminum-arsenide laser and healing ointment on cutaneous wound healing in Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, p. 350-355, 2010. ISSN 0100-879X.

Guia anestesia e analgesia em animais de laboratório. (CEUA), 2017.

GUPTA, A.; DAI, T.; HAMBLIN, M. R. Effect of red and near-infrared wavelengths on low-level laser (light) therapy-induced healing of partial-thickness dermal abrasion in mice. **Lasers in medical science**, v. 29, n. 1, p. 257-265, 2014. ISSN 1435-604X

HAMBLIN, M. R. Mechanisms and Mitochondrial Redox Signaling in Photobiomodulation. **Photochem Photobiol**, v. 94, n. 2, p. 199-212, Mar 2018. ISSN 0031-8655.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. **Adv Ther**, v. 34, n. 3, p. 599-610, Mar 2017. ISSN 0741-238x.

HEIDARI, M. et al. Evaluating the effect of photobiomodulation with a 940-nm diode laser on post-operative pain in periodontal flap surgery. **Lasers Med Sci**, v. 33, n. 8, p. 1639-1645, Nov 2018. ISSN 0268-8921.

ISAAC, C. et al. **Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica.** 2010.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** Guanabara-Koogan, 2011.

KARU, T. I.; PYATIBRAT, L. V.; AFANASYEVA, N. I. Cellular Effects of Low Power Laser Therapy Can be Mediated by Nitric Oxide **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 36, p. 307-314, 2005.

KERPPERS, II et al. Effect of light-emitting diode (627 nm and 945 nm) treatment on first intention healing: immunohistochemical analysis. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 1, p. 397-401, Jan 2015. ISSN 0268-8921.

KHOURI, C. et al. Hierarchical evaluation of electrical stimulation protocols for chronic wound healing: An effect size meta-analysis. **Wound Repair Regen**, v. 25, n. 5, p. 883-891, Sep 2017. ISSN 1067-1927.

KILIK, R. et al. Effect of equal daily doses achieved by different power densities of low-level laser therapy at 635 nm on open skin wound healing in normal and diabetic rats. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 269253, 2014.

LACJAKOVA, K. et al. Effects of equal daily doses delivered by different power densities of low-level laser therapy at 670 nm on open skin wound healing in normal and corticosteroid-treated rats: a brief report. **Lasers Med Sci**, v. 25, n. 5, p. 761-6, Sep 2010. ISSN 0268-8921.

LANZAFAME, R. J. et al. Temperature-controlled 830-nm low-level laser therapy of experimental pressure ulcers. **Photomed Laser Surg**, v. 22, n. 6, p. 483-8, 2004/00 2004.

_____. Preliminary assessment of photoactivated antimicrobial collagen on bioburden in a murine pressure ulcer model. **Photomed Laser Surg**, v. 31, n. 11, p. 539-46, Nov 2013. ISSN 1549-5418.

LEE, J. H. et al. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy on human periodontal ligament cells: in vitro study. **Lasers Med Sci**, v. 33, n. 3, p. 469-477, Apr 2018. ISSN 0268-8921.

LEITE, G. P. et al. Photobiomodulation laser and pulsed electrical field increase the viability of the musculocutaneous flap in diabetic rats. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 3, p. 641-648, Apr 2017. ISSN 0268-8921.

LINS, R. et al. Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo. **An Bras Dermatol**, p. 849-855, 2010.

MACHADO, R. S.; VIANA, S.; SBRUZZI, G. Low-level laser therapy in the treatment of pressure ulcers: systematic review. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 4, p. 937-944, May 2017. ISSN 0268-8921.

MALTA, E. D. S. **Efeito da terapia de fotobiomodulação sobre a recuperação muscular após sessões de treinamento intervalado de sprint**. 2017. Dissertação de mestrado em Ciências da Motricidade (Mestrado). Universidade Estadual Paulista

Manual de normas do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental. UFSC 2013.

MARCOLINO, A. M. et al. Assessment of functional recovery of sciatic nerve in rats submitted to low-level laser therapy with different fluences. An experimental study: laser in functional recovery in rats. **J Hand Microsurg**, v. 5, n. 2, p. 49-53, Dec 2013. ISSN 0974-3227

MARQUES, C. M.; MOREIRA, D.; ALMEIDA, P. N. D. Atuação fisioterapêutica no tratamento de úlceras plantares em portadores de hanseníase: uma revisão bibliográfica. **Hansenologia Internationalis (online)**, v. 28, p. 145-150, 2003. ISSN 1982-5161.

MARTIGNAGO, C. C. S. et al. Comparison of two different laser photobiomodulation protocols on the viability of random skin flap in rats. **Lasers Med Sci**, Dec 19 2018. ISSN 0268-8921.

MASHHOUDI BAREZ, M. et al. Stimulation Effect of Low Level Laser Therapy on Sciatic Nerve Regeneration in Rat. **J Lasers Med Sci**, v. 8, n. Suppl 1, p. S32-s37, Summer 2017. ISSN 2008-9783.

MEDEIROS, A. C.; DANTAS-FILHO, A. M. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **JOURNAL OF SURGICAL AND CLINICAL RESEARCH**, v. 7, n. 2, 03/02 2017.

MELO, V. A. D. et al. Effect of low level laser on sutured wound healing in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 26, p. 129-134, 2011. ISSN 0102-8650.

MENDONÇA, R. J. D.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, p. 257-262, 2009. ISSN 0365-0596.

MUNAP, D. H. F. A. et al. Wavelength and dose-dependent effects of photobiomodulation therapy on wound healing in rat model. **Laser Physics**, v. 28, p. 115602, 11/01 2018.

NEVES, L. M. et al. Effects of High-Voltage Electrical Stimulation in Improving the Viability of Musculocutaneous Flaps in Rats. **Ann Plast Surg**, v. 77, n. 4, p. e50-4, Oct 2016. ISSN 0148-7043.

NEVES, L. M. S. D. et al. Laser 830nm na viabilidade do retalho cutâneo de ratos submetidos à nicotina. **Acta ortop. bras**, v. 19, n. 6, p. 342-345, 2011/00 2011.

NICOLETTI, G. et al. Scar Remodeling with the Association of Monopolar Capacitive Radiofrequency, Electric Stimulation, and Negative Pressure. **Photomed Laser Surg**, v. 35, n. 5, p. 246-258, May 2017. ISSN 1549-5418.

NORMAN, G. et al. Antibiotics and antiseptics for pressure ulcers. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 4, p. Cd011586, Apr 4 2016. ISSN 1361-6137.

NOVAES, R. D. et al. The energy density of laser light differentially modulates the skin morphological reorganization in a murine model of healing by secondary intention. **Int J Exp Pathol**, v. 95, n. 2, p. 138-46, Apr 2014. ISSN 0959-9673.

PARENTE, L. M. L. et al. Healing effect and antibacterial activity of *Calendula officinalis* L. cultivated in Brazil. **Rev. bras. plantas med.**, v. 11, n. 4, p. 383-391, 00/2009 2009. ISSN 1516-0572.

PEPLOW, P. V.; CHUNG, T. Y.; BAXTER, G. D. Laser photobiomodulation of wound healing: a review of experimental studies in mouse and rat animal models. **Photomed Laser Surg**, v. 28, n. 3, p. 291-325, Jun 2010. ISSN 1549-5418.

PEREIRA, M. C. et al. Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response of cutaneous injuries. **J Photochem Photobiol B**, v. 98, n. 3, p. 188-92, Mar 8 2010. ISSN 1011-1344.

PETRI, V. **Dermatologia prática**. Guanabara Koogan, 2009.

PINFILDI, C. E. et al. What is better in TRAM flap survival: LLLT single or multi-irradiation? **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 3, p. 755-61, May 2013. ISSN 0268-8921.

_____. Helium-neon laser in viability of random skin flap in rats. **Lasers Surg Med**, v. 37, n. 1, p. 74-7, Jul 2005. ISSN 0196-8092

PISSULIN, C. N. A. et al. Low-level laser therapy (LLLT) accelerates the sternomastoid muscle regeneration process after myonecrosis due to bupivacaine. **J Photochem Photobiol B**, v. 168, p. 30-39, Mar 2017. ISSN 1011-1344.

PRADO, R. P. et al. Effect of application site of low-level laser therapy in random cutaneous flap viability in rats. **Photomed Laser Surg**, v. 27, n. 3, p. 411-6, Jun 2009. ISSN 1549-5418.

RATHNAKAR, B. et al. Photo-biomodulatory response of low-power laser irradiation on burn tissue repair in mice. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 9, p. 1741-1750, Dec 2016. ISSN 0268-8921.

REDDY, M. et al. Treatment of pressure ulcers: a systematic review. **Jama**, v. 300, n. 22, p. 2647-62, Dec 10 2008. ISSN 0098-7484.

RIBEIRO, M. S. et al. Laser em baixa intensidade. In: (Ed.). **Técnicas e procedimentos terapêuticos**, 2011. cap. 66, p.946-947.

ROCHA JÚNIOR, A. M. et al. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, p. 150-156, 2006. ISSN 0365-0596.

SAMPAIO, S. C. O. et al. Effect of laser and LED phototherapies on the healing of cutaneous wound on healthy and iron-deficient Wistar rats and their impact on fibroblastic activity during wound healing. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 3, p. 799-806, May 2013. ISSN 0268-8921.

SANT'ANNA, A. L. G. et al. Protocolo para avaliação e tratamento em feridas utilizando o laser de baixa intensidade: uma proposta. **Revista Univap**, p. 133-144, 2011.

SANTOS, I. C. R. V. et al. Caracterização do atendimento de pacientes com feridas na Atenção Primária. **15**, 2014-10-13 2014.

SCHOELL, A. R. et al. Euthanasia method for mice in rapid time-course pulmonary pharmacokinetic studies. **J Am Assoc Lab Anim Sci**, v. 48, n. 5, p. 506-11, Sep 2009. ISSN 1559-6109.

SHAH, A.; AMINI-NIK, S. The Role of Phytochemicals in the Inflammatory Phase of Wound Healing. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 5, May 16 2017. ISSN 1422-0067.

SOLMAZ, H. et al. Laser biostimulation of wound healing: bioimpedance measurements support histology. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 8, p. 1547-1554, Nov 2016. ISSN 0268-8921.

SOLMAZ, H.; ULGEN, Y.; GULSOY, M. Photobiomodulation of wound healing via visible and infrared laser irradiation. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 4, p. 903-910, May 2017. ISSN 0268-8921.

SOMMER, A. P. et al. Biostimulatory windows in low-intensity laser activation: lasers, scanners, and NASA's light-emitting diode array system. **J Clin Laser Med Surg**, v. 19, n. 1, p. 29-33, Feb 2001. ISSN 1044-5471

SOUSA, R. C. et al. Action of AlGaInP laser and high frequency generator in cutaneous wound healing. A comparative study. **Acta Cir Bras**, v. 30, n. 12, p. 791-8, Dec 2015. ISSN 0102-8650.

TAKHTFOOLADI, M. A. et al. Effect of low-level laser therapy (685 nm, 3 J/cm²) on functional recovery of the sciatic nerve in rats following crushing lesion. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 3, p. 1047-52, Apr 2015. ISSN 0268-8921.

UZEDA, E. S. V. D. et al. Laser phototherapy improves early stage of cutaneous wound healing of rats under hyperlipidic diet. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 7, p. 1363-70, Sep 2016. ISSN 0268-8921.

WAGNER, V. P. et al. Photobiomodulation regulates cytokine release and new blood vessel formation during oral wound healing in rats. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 4, p. 665-71, May 2016. ISSN 0268-8921.

WANG, C. Z. et al. Low-level laser irradiation improves functional recovery and nerve regeneration in sciatic nerve crush rat injury model. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e103348, 2014. ISSN 1932-6203.

WOEHL, V.; WOEHL, O. Histologia. In: (Ed.): Biologia/EAD/UFSC, 2010. p.226.

YADAV, A.; GUPTA, A. Noninvasive red and near-infrared wavelength-induced photobiomodulation: promoting impaired cutaneous wound healing. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v. 33, n. 1, p. 4-13, Jan 2017. ISSN 0905-4383.

ZAGATTO, A. M. et al. Effects of low-level laser therapy on performance, inflammatory markers, and muscle damage in young water polo athletes: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. **Lasers Med Sci**, v. 31, n. 3, p. 511-21, Apr 2016. ISSN 0268-8921.

ZHANG, L. et al. Extracorporeal shock wave therapy for chronic wounds: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Wound Repair Regen**, v. 25, n. 4, p. 697-706, Aug 2017. ISSN 1067-1927.

ZIELINS, E. R. et al. Emerging drugs for the treatment of wound healing. **Expert Opin Emerg Drugs**, v. 20, n. 2, p. 235-46, Jun 2015. ISSN 1472-8214.

ZOMER, H. D.; TRENTIN, A. G. Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. **J Dermatol Sci**, v. 90, n. 1, p. 3-12, Apr 2018. ISSN 0923-1811.

APÊNDICE A: ESTUDO PILOTO

Foram utilizados 39 camundongos, divididos em 13 grupos (figura 17), machos, Swiss, pesando entre 40- 50 g, idade média de 60 dias, adquiridos no Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e transferidos para Biotério setorial da UFSC Araranguá.

Os experimentos foram realizadas durante o ciclo claro (das 7 às 19 horas). Todos os animais receberam analgésico Tramadol com dose de 5-10 mg/Kg intraperitonal a cada 8 horas, durante 3 dias.

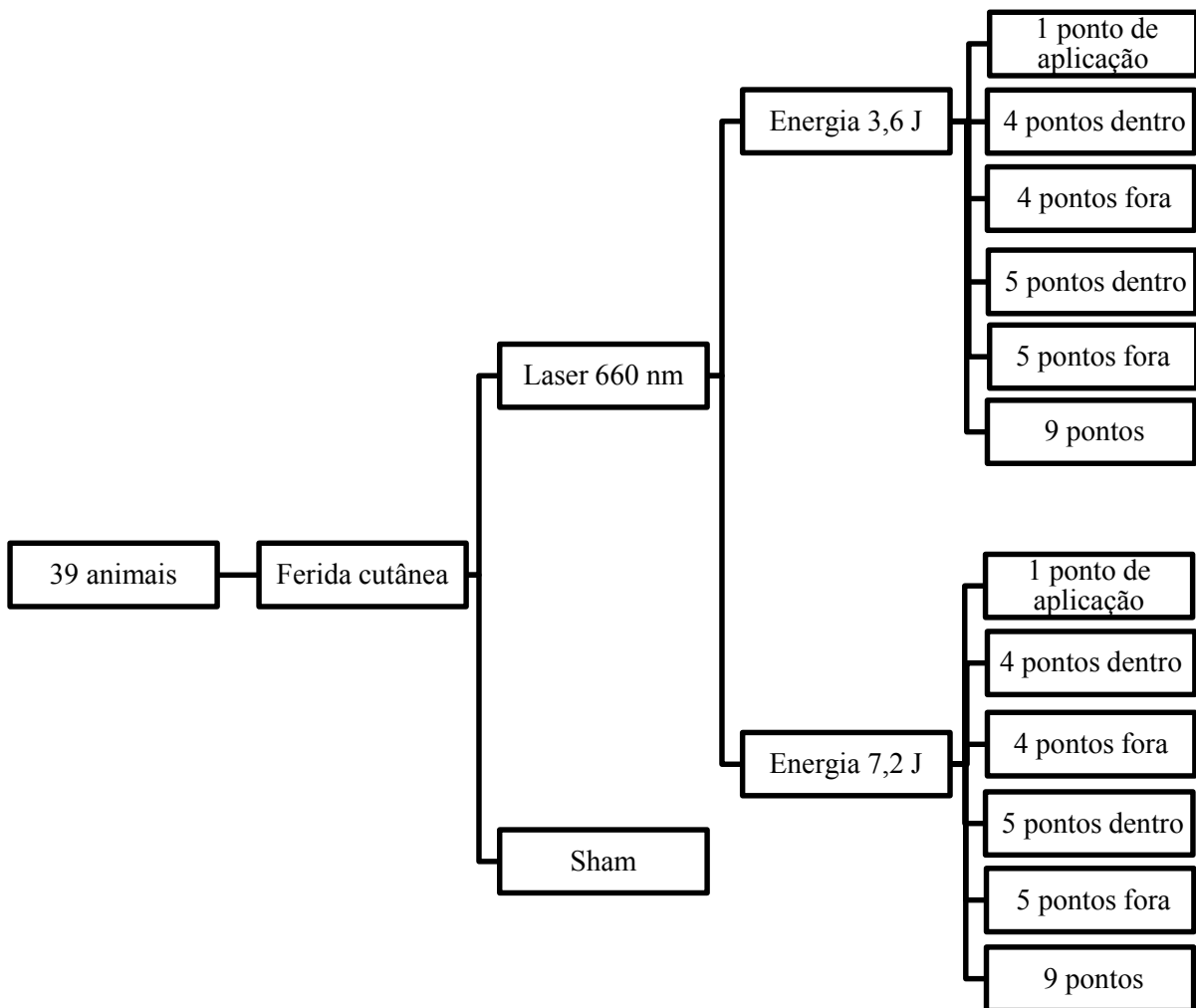


Figura 17: Fluxograma da divisão dos grupos em estudo.

Fonte: O autor.

Os camundongos foram anestesiados com injeção intraperitoneal (i.p) de cloridrato de cetamina (agener união®) 100 mg/kg associado a cloridrato de xilazina dopaser® – 10 mg/kg. Em seguida foi realizado a tricotomia por tração manual dos pelos no dorso dos animais, e então

submetidos a incisão cirúrgica. Foram removidos cirurgicamente 1,5 cm x 1,5 cm de pele, mediante gabarito desenvolvido para o experimento.

Foi utilizado o equipamento laser de Diodo de Alumínio, Gálio, Índio e Fósforo (AlGaInP), que emite um comprimento de onda de 660 nm, com feixe contínuo, potência de saída de 30 mW, da marca Ibramed[®] Equipamentos Médicos. A Energia emitida foi de 3.6 J, com tempo de aplicação de 120 segundos para um ponto, 30 segundos cada ponto quando aplicado 4 pontos (dentro e fora), 24 segundos cada ponto quando aplicado 5 pontos (dentro e fora) e 13 segundos cada ponto quando aplicado em 9 pontos. A outra energia utilizada foi de 7,2 J, com tempo de aplicação de 240 segundos para um ponto, 60 segundos cada ponto quando aplicado 4 pontos (dentro e fora), 48 segundos cada ponto quando aplicado 5 pontos (dentro e fora) e 26 segundos cada ponto quando aplicado em 9 pontos. Os pontos de aplicação do laser podem ser melhor visualizados conforme figura 18. Os animais do grupo Sham, receberam laser placebo conforme o tempo total aplicado em todos os grupos. A intervenção foi realizada durante 14 dias consecutivos. Os parâmetros de laser utilizados estão informados na tabela 2.

Irradiação laser	660 nm			
Potência	30mW			
Área do feixe	0,06 cm ²			
Pontos de aplicação	1	4	5	9
Fluência por ponto (J/cm ²)	60	15	12	6,67
Tempo por ponto (seg)	120	30	24	13
Energia por ponto (J)	3.6	0.9	0.7	0,4

Irradiação laser	660 nm			
Potência	30 mW			
Área do feixe	0,06 cm ²			
Pontos de aplicação	1	4	5	9
Fluência por ponto (J/cm ²)	120	30	24	13
Tempo por ponto (seg)	240	60	48	26
Energia por ponto (J)	7,2	1,8	1,44	0,8

Tabela 3: Parâmetros do laser com comprimento de onda 660 nm

Fonte: O autor.

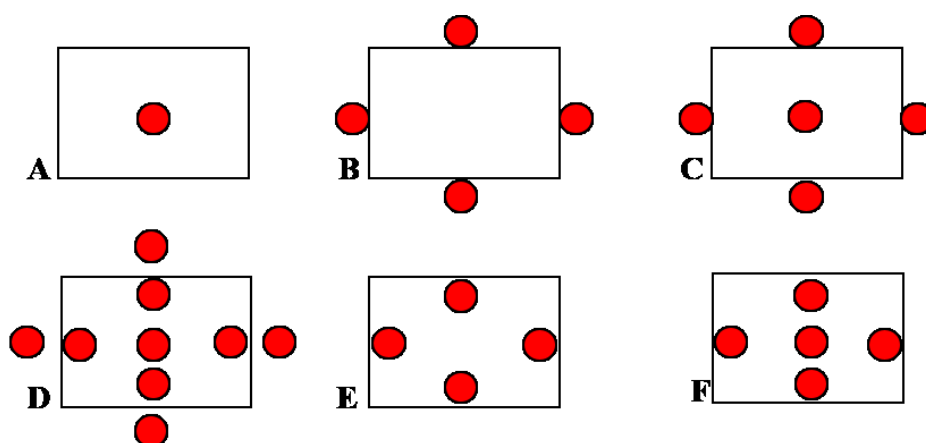


Figura 18: Pontos de aplicação do laser.

A: 1 ponto. B: 4 pontos fora. C: 5 pontos. D: 9 pontos. E: 4 pontos dentro. F: 5 pontos dentro.

Fonte: O autor.

As análises foram realizadas na sala de experimentação animal, e consistiram de análise macroscópica e termográfica.

As lesões foram avaliadas diariamente no momento da aplicação do laser. Todos os animais tiveram suas lesões fotografadas por câmara digital modelo “Cyber-Shot DSC-P72” (Sony®, Estados Unidos da América), 5.1 mega pixels, Zoom 3.2 e mantida a distância constante de 20 cm, sendo posteriormente analisada por meio do software Image J®. As análises foram realizadas no pós operatório imediato, no 7º e 14º dia após o procedimento cirúrgico.

A termografia é uma técnica que consiste na observação da temperatura através da tecnologia infravermelha de alta resolução. As avaliações foram realizadas no pós operatório imediato, 7 dias e 14 dias após a incisão cirúrgica. O registro da temperatura era feito no dorso dos animais (local de lesão), com uma distância constante de 20 cm da ferida. A análise foi realizada através da câmera do modelo FLIR C2 e posteriormente analisada no *software* FLIR Tools™.

As análises estatísticas foram realizadas usando o software GraphPad Prism 6.0. Antes da análise de cada grupo, a normalidade na distribuição dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Após o teste de normalidade, foi realizada uma análise ANOVA unidirecional para avaliar o campo aberto e a ANOVA two-way para análise da área da lesão. O coeficiente de significância considerado foi ($p < 0,05$), e um teste post-hoc de Bonferroni foi feito após a análise de variância.

Resultados

Todos os animais estavam saudáveis, com média de peso entre 40- 50 g. O grupo Fotobiomodulação (PBM) com energia de 3,6 J corresponde a 18 animais e o grupo PBM com energia de 7,2J a 18 animais, restando 3 para o grupo controle (sham). Sendo assim, os grupos tratamento correspondem a 36/39 animais.

Os resultados da análise macroscópica podem ser observados nas figuras 19 e 20, que correspondem, respectivamente, a evolução da cicatrização nos dias avaliados e a última análise (14 dia) de todos os animais.

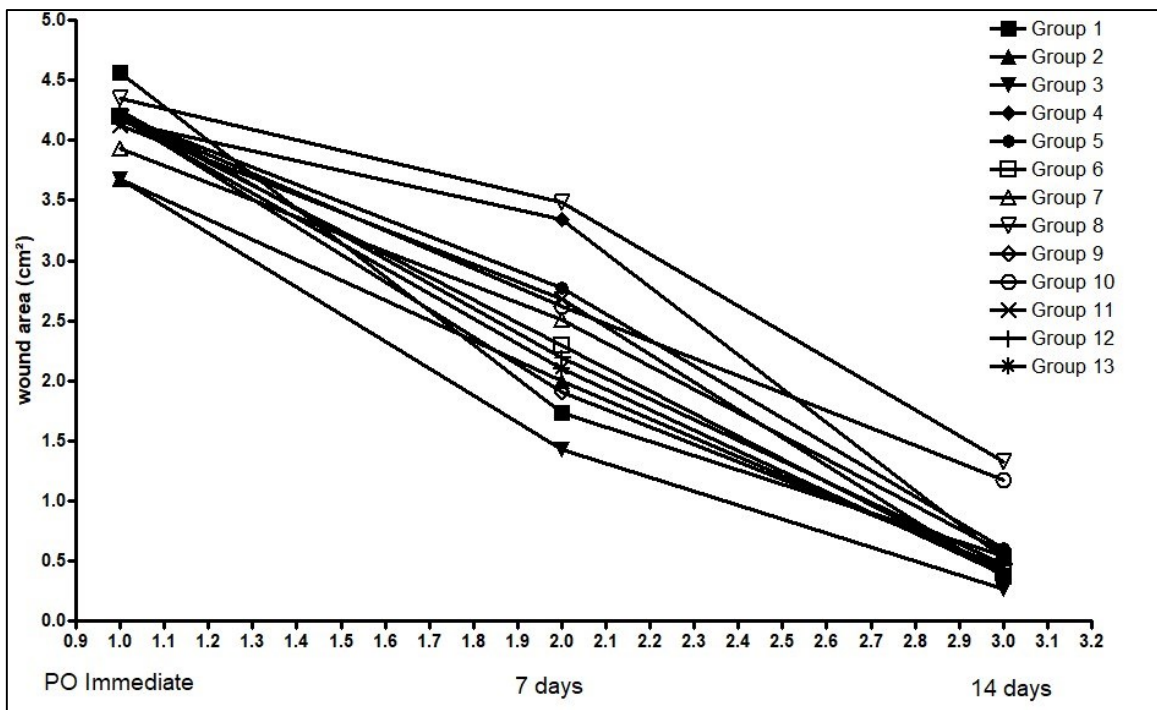


Figura 19: Análise macroscópica da evolução da cicatrização da ferida.

Conforme a figura 19, podemos observar que todos os animais apresentaram a cicatrização da ferida, em seu curso natural ou auxiliada pelo agente eletrofísico laser. Os grupos 8 e 10, correspondente respectivamente a aplicação de laser em 4 e 5 pontos, ambos da energia 7,2 J, apresentaram a cicatrização mais deficitária.

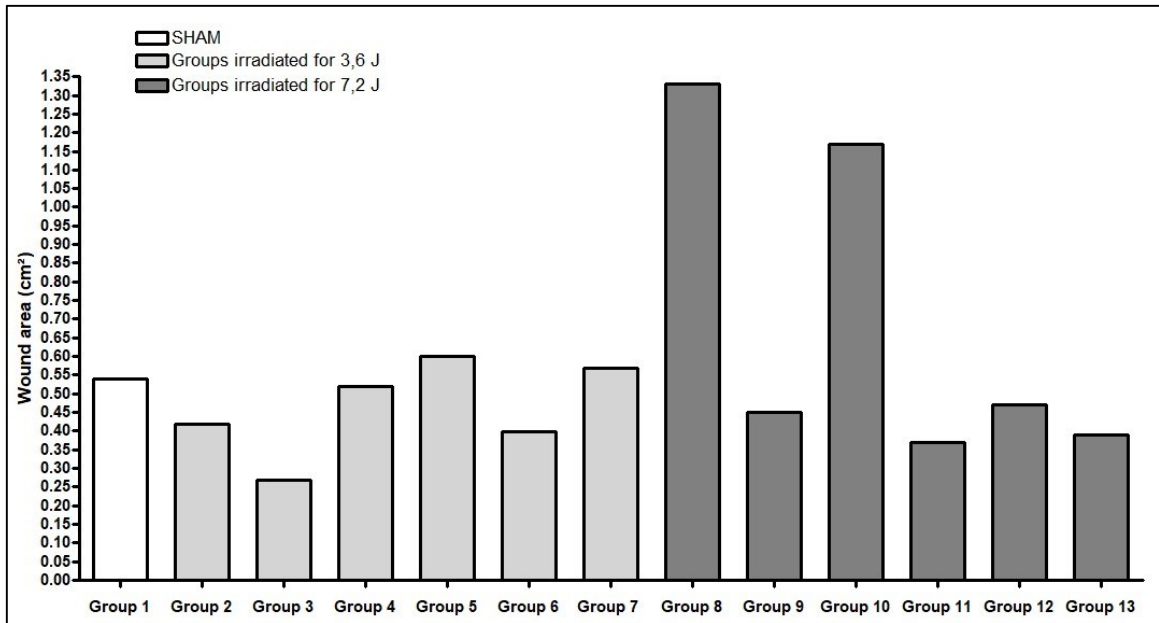


Figura 20: Dados do 14º dia pós-operatório da análise do local da lesão

A figura 20 apresenta os dados da última avaliação (14º dia). O grupo irradiado com energia de 3,6J parece ter apresentado melhores resultados de maneira geral, comparados ao grupo energia 7,2 J e semelhante ao grupo sham. O grupo irradiado com energia 3,6J no grupo 3 apresentou melhores resultados, correspondendo a aplicação em 1 ponto. Porém, não foi observado diferença significativa.

Os resultados referentes a análise de temperatura, estão demonstrados nas figuras 21 e 22.

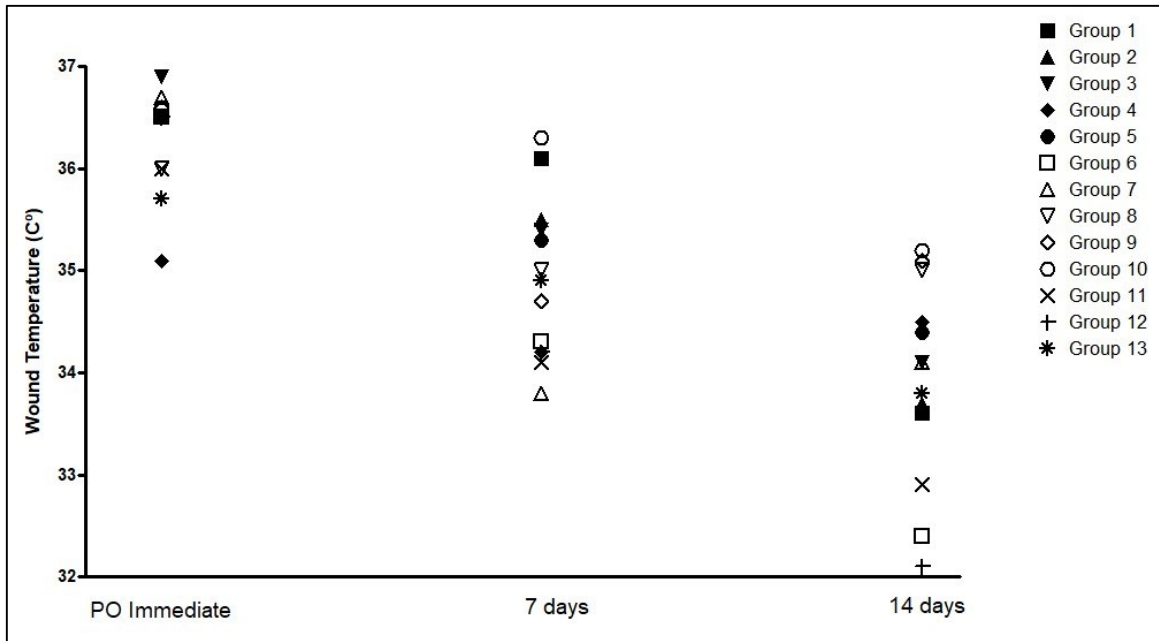


Figura 21: Dados da termografia referente a todas avaliações (1ºPO, 7º e 14º dia pós procedimento cirúrgico)

Com base na figura 21, observa-se os desfechos dos grupos quanto a análise termográfica. Ambos os grupos apresentaram uma queda na temperatura conforme a cicatrização. O grupo 4 (laser 3,6J) corresponde a aplicação de laser em 5 pontos, e conforme a figura, na segunda avaliação este grupo apresentou um aumento da temperatura e na terceira avaliação uma queda, porém semelhante a temperatura inicial. Os grupos em destaque por redução de temperatura são o de 9 pontos (3,6J), 4 pontos dentro e 9 pontos (ambos 7,2 J).

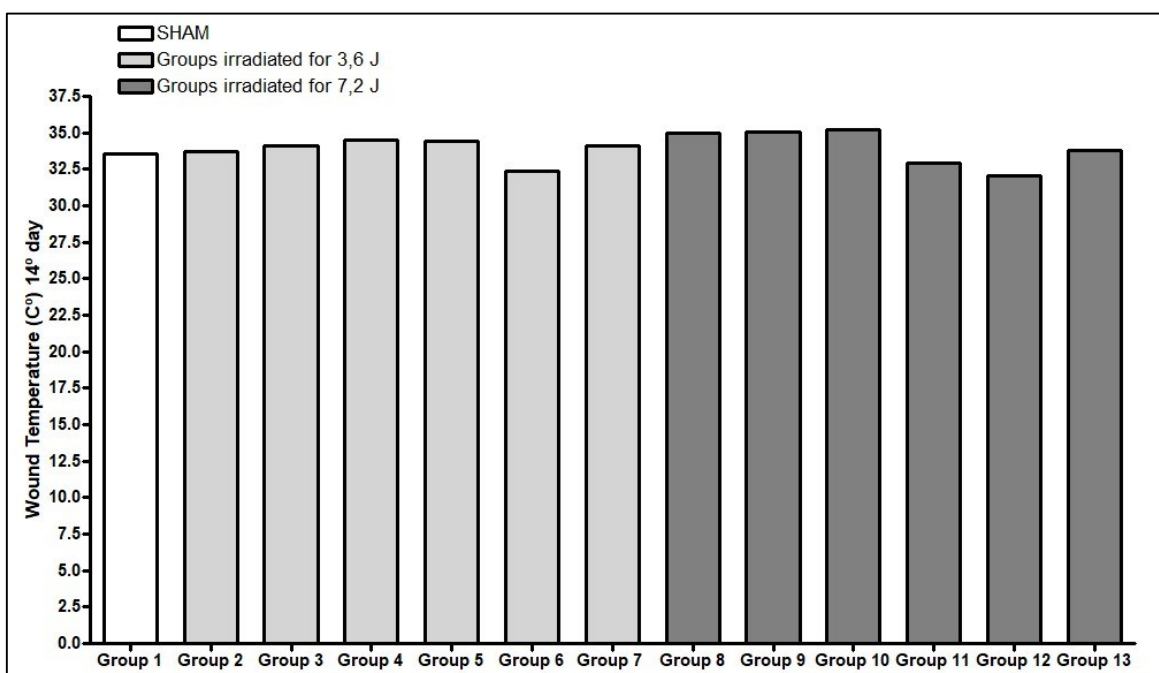


Figura 22: Análise termográfica referente ao 14º pós procedimento cirúrgico.

A figura 22 demonstra a semelhança de temperatura para todos os animais, sejam eles tratados com a Fotobiomodulação como também o grupo controle (Sham). Observa-se um pequeno destaque para o grupo 6 (9 pontos, 3,6J), e grupos 11 e 12 (4 pontos dentro e 9 pontos, 7,2J), porém sem diferença estatisticamente significativa.

Conclusão

Não observamos diferença estatisticamente significativas ($p>0,05$). Porém, observamos uma tendência para os animais que foram submetidos a 3,6 J e os animais que foram tratados com ponto fora na borda da ferida, os quais obtiveram melhores resultados.

Esses resultados apresentam uma tendência, já que o número de animais por grupo pode ser sido insuficiente para melhores conclusões.

ANEXO A: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



**Universidade Federal
de Santa Catarina**

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AGENTES ELETROFÍSICOS PARA O TRATAMENTO DAS LESÕES TEGUMENTARES EM CAMUNDONGOS", protocolada sob o CEUA nº 4017201117, sob a responsabilidade de **Alexandre Marcio Marcolino e equipe; Ketlyn Germann Hendler; Lais Mara Siqueira das Neves; Rafael Cypriano Dutra; Rafael Inácio Barbosa** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 04/12/2017.

We certify that the proposal "ELECTROPHYSICAL AGENTS TO TREATMENT OF TEGUMENTARY INJURIES IN MICE", utilizing 684 Heterogenics mice (males and females), protocol number CEUA 4017201117, under the responsibility of **Alexandre Marcio Marcolino and team; Ketlyn Germann Hendler; Lais Mara Siqueira das Neves; Rafael Cypriano Dutra; Rafael Inácio Barbosa** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 12/04/2017.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [04/2018](#) a [02/2021](#)

Área: [Ciências da Saúde](#)

Origem: [Biotério Central](#)

Espécie: [Camundongos heterogênicos](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [1 a 2 meses](#)

N: [684](#)

Linhagem: [Mus musculus/Swiss](#)

Peso: [20 a 35 g](#)

Resumo: As lesões do sistema tegumentar podem ser ocasionadas de forma aguda, tais como as feridas operatórias, as lesões traumáticas, ferimentos corto-contuso. Sobre as lesões tardias, podemos destacar as úlceras de Pressão e as lesões ocasionadas intencionalmente como os retalhos cutâneos que são utilizados nos procedimentos cirúrgicos, todas essas lesões necessitam de manejo apropriado, para minimizar o risco de infecções e as cicatrizes. Metodologia: Para os experimentos pré-clínicos serão utilizados 684 camundongos, Para realização de todos os experimentos será necessário o uso de 684 camundongos, divididos aleatoriamente com 12 animais em cada grupo. Os animais serão submetidos a modelos experimentais de lesão tegumentar. Para melhora da cicatrização serão utilizados agentes eletrofísicos.

Local do experimento: Universidade Federal de Santa Catarina Campus Araranguá SC no Laboratório de Autoimunidade e Imunofarmacologia (LAIF) e sala destinada a experimentação animal.

Florianópolis, 04 de dezembro de 2017

Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Alcina Martins de Castro
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina