



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

ALINE SANTOS VIECELI

INFLUÊNCIA DA FOTOBIMODULAÇÃO E DA RADIOFREQUÊNCIA NA  
CICATRIZAÇÃO DAS LESÕES POR PRESSÃO DE CAMUNDONGOS

Araranguá  
2020

Aline Santos Vieceli

INFLUÊNCIA DA FOTOBIMODULAÇÃO E DA RADIOFREQUÊNCIA NA  
CICATRIZAÇÃO DAS LESÕES POR PRESSÃO DE 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  
Coorientador: Prof. Paulo César Lock Silveira

Araranguá

2020

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

Vieceli, Aline Santos

Influência da fotobiomodulação e da radiofrequência em camundongos com lesões por pressão / Aline Santos Vieceli ; orientador, Alexandre Marcio Marcolino, 2020.

83 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Araranguá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação, Araranguá, 2020.

Inclui referências.

1. Ciências da Reabilitação. 2. Lesões por pressão. 3. Terapia por fotobiomodulação. 4. Cicatrização. 5. Radiofrequência. I. Marcolino, Alexandre Marcio . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Ciências da Reabilitação. III. Título.

Aline Santos Vieceli

**INFLUÊNCIA DA FOTOBIMODULAÇÃO E DA RADIOFREQUÊNCIA EM  
CAMUNDONGOS COM LESÕES POR PRESSÃO**

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 Okubo, Dr.  
Universidade do estado de Santa Catarina

Profa Elaine Caldeira de Oliveira Guirro, Dra  
Universidade de São Paulo

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) Alessandro Haupenthal  
Coordenador(a) do Programa

Prof. Dr. Alexandre Marcio Marcolino  
Orientador

Araranguá, 25 de setembro de 2020.

Dedico esse trabalho a todos aqueles que assim como eu, são apaixonados pelo saber. Nós podemos mudar o mundo através da pesquisa e da educação.

## AGRADECIMENTOS

A gratidão quase nunca pode expressada completamente, tamanha a importância de um gesto de apoio no momento em que se recebe. Os agradecimentos por essa jornada são inicialmente a Deus pela vida e aos meus pais, por toda educação, tempo, dedicação e amor dispensados a mim. Ao meu marido Eduardo, meu apoiador e incentivador, pela ajuda física (viagens de Caxias a Araranguá não são nada fáceis) e emocional em todos os momentos, desde o início quando decidi fazer o mestrado me apoiando, incentivando e durante o processo fazendo o que pode para me ajudar.

Ao meu super orientador Alexandre Marcio Marcolino, que recebeu uma aluna desconhecida e abraçou o projeto comigo, sempre incentivando e apoiando, sendo humano e parceiro em todos os momentos. Aos professores do PPGCR, obrigada pela oportunidade e por todo ensinamento. Ao professor Paulo César Lock Silveira, pelo auxílio como coorientador. A UFSC pela oportunidade de estudar em uma universidade tão conceituada e respeitada e também a Capes.

A Ketlin Hendler que por muitas vezes, me pegou pela mão, e orientou com um empenho e paciência que raramente pude ver durante minha vida pessoal e profissional. Não tenho palavras para descrever toda a ajuda recebida.

As minhas colegas que se tornaram amigas. Catiane, você foi peça fundamental no trajeto (todo ele, não somente durante as viagens), obrigada pela amizade e por todas as viagens juntas. Ana Maria Santos, quantos momentos fantásticos, enlouquecedores e maravilhosos nesse ano. E Vanessa Pereira Correa, você não faz ideia do quanto foi importante para mim nesses últimos anos. Gratidão por tua amizade, pela ajuda e ensinamentos, pelo teu tempo e companhia, por cada momento especial que vivemos nesse período, você é uma pessoa iluminada e eu sou muito feliz em ter sua amizade.

Obrigada a Jaqueline Canever por toda dedicação e ajuda durante a pesquisa, sem você eu não teria conseguido. E a Lais Fontanela por toda a ajuda nesse período.

E a minha gratidão aos amigos e familiares que entenderam e respeitaram a ausência, durante esse período.

Muito obrigada a todos.

Tenha coragem de seguir seu coração e sua intuição. Eles de alguma forma já sabem o que você realmente quer se tornar. O resto é secundário. (Steve Jobs, 2005)

## RESUMO

**Introdução:** Embora avanços tenham sido verificados na compreensão dos processos de cicatrização, torna-se importante buscar novas alternativas de tratamento para as lesões por pressão, pois se trata de um problema de saúde pública recorrente. O objetivo desse estudo foi verificar a eficácia da fotobiomodulação e da radiofrequência na cicatrização das lesões por pressão de camundongos. **Métodos:** pesquisa experimental com noventa camundongos swiss machos, divididos em 9 grupos (Naive, Sham, FBM 830nm, FBM 660nm, FBM placebo, FBM 830nm+Radiofrequência, FBM 660nm+Radiofrequência, Radiofrequência, Radiofrequência Placebo). Para a indução das lesões, utilizou-se 2 imãs na região dorsal dos animais, por 12 horas (isquemia) e 12 horas (reperfusão) durante 3 dias. As intervenções foram realizadas diariamente, a avaliação da área da lesão comparada através de fotos e a temperatura da lesão avaliada pela câmera termográfica. Os dados apresentaram distribuição normal e para análise estatística, utilizou-se o teste ANOVA de medidas repetidas, com post-hoc teste de Bonferroni, valor de  $p < 0,05$  e o programa Graphpad prism 8.0. **Resultados:** houve redução da área da lesão na última avaliação ( $p < 0,05$ ) nos grupos FBM 660nm, 830nm, FBM 660nm+radiofrequência e radiofrequência quando comparados ao grupo placebo; diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos FBM 660nm, FBM 660nm+radiofrequência e radiofrequência comparados ao grupo controle; o grupo FBM 660nm e o grupo radiofrequência foram estatisticamente diferentes do grupo radiofrequência placebo. Todos os grupos apresentaram  $p < 0,05$  comparando-se o antes e depois das intervenções, tanto na área macroscópica quanto na temperatura da lesão (exceção do grupo controle); o naive apresentou diferença significativa nas três avaliações termográficas. **Conclusão:** a FBM 660nm, 830nm, a radiofrequência e a terapia combinada FBM 660nm+radiofrequência podem estimular a cicatrização das lesões por pressão em camundongos sem causar aumento exacerbado do processo inflamatório.

**Palavras-chave:** Lesões por pressão. Pele. Cicatrização. Radiofrequência. Terapia por fotobiomodulação.

## ABSTRACT

Introduction: Although advances have been made in understanding the healing processes, it is important to seek new alternatives to treat pressure injury once it is a recurring public health issue. The goal of the present study was to verify the efficacy of photobiomodulation and radiofrequency in the healing of pressure injuries of mice. METHODS: Experimental research with 90 Swiss male mice, divided into nine groups (Naive, Sham, photobiomodulação 830nm, photobiomodulação 660nm, photobiomodulação placebo, photobiomodulação 830nm+radiofrequency, photobiomodulação 660nm+radiofrequency, Radiofrequency, Radiofrequency Placebo). For the injuries' induction, two magnets were used in the dorsal region of the animals, during 12 hours for ischemia and 12 hours for reperfusion, for three days. The interventions were daily, the evaluation of the injury areas was compared through photos, and the thermographic camera evaluated the temperature of the lesion. The data showed normal distribution, and for statistical analysis, an ANOVA test of repeated measures was performed, with Bonferroni's posthoc test, p-value <0.05, and the Graphpad Prism 8.0 program. Results: There was a reduction of the injury area in the last evaluation (p <0.05) in the groups PBM 660nm, 830nm, PBM 660nm + radiofrequency, and radiofrequency, when compared to the placebo group. There was also a significant difference (p <0.05) between the 660nm photobiomodulation, 660nm PBM + radiofrequency, and radiofrequency groups when compared to the control group. Finally, the 660nm PBM and the radiofrequency groups were statistically different from the placebo radiofrequency group. All groups were statistically significant (p <0.05) when comparing before and after interventions in both the macroscopic area and injury temperature (except for the control group). The Naive group presented differences in the three thermographic evaluations. Conclusion: The PBM 660nm, 830nm, radiofrequency, and combined therapy PBM 660nm + Radiofrequency effectively stimulate the healing of pressure lesions in mice, not causing an exacerbated increase in the inflammatory process.

**Keywords:** Pressure Injuries. Skin. Healing. Radiofrequency. Photobiomodulation Therapy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma dos grupos experimentais descritos por nome e número.....	42
Figura 2 - Colocação e posicionamento de imãs para induzir lesão por pressão .....	44
Figura 3 - Aplicação FBM 660nm.....	45
Figura 4 - Aplicação da radiofrequência com manopla bipolar .....	46
Figura 5 - Imagem da caixa de posicionamento utilizada para avaliação e intervenções .....	47
Figura 6 - Padronização da distância (20cm) entre o animal e a câmera para análise macroscópica e termográfica .....	49
Figura 7 - Imagem feita com a câmera termográfica Flir Tools.....	49
Figura 8 - Análise macroscópica através de imagens.....	52
Figura 9 - Dados obtidos nos três tempos de avaliação.....	53
Figura 10 - Gráfico referente a mensuração da temperatura na área da lesão.....	54
Figura 11 - Diferença entre os grupos quanto a temperatura da área da lesão, verificado através da câmera termográfica. G1 * ( $p < 0,05$ ).....	55

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Resumo do passo a passo da coleta de dados.....	47
Quadro 2 - Correlação entre as variáveis Termografia (T) e área da lesão (A) analisadas no tempo 1 .....	55
Quadro 3 - Demonstra a correlação entre as variáveis Termografia (T) e área da lesão (A) analisadas no tempo 2.....	56
Quadro 4 - Demonstra a correlação entre as variáveis Termografia (T) e área da lesão (A) analisadas no tempo 3.....	56

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Parâmetros da fotobiomodulação com comprimento de onda 660 nm e 830 nm ...45

## LISTA DE ABREVIATURAS

AlGaInP	Alumínio, Gálio, Índio e Fósforo
Cm	Centímetros
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
ECM	Matriz extracelular
GaAlAs	Arseneto de Gálio Aluminizado
°C	Graus Celcius
J	Joules
J/cm <sup>2</sup>	Joules por centímetro quadrado
LARAL	Laboratório de Avaliação e Reabilitação do Aparelho Locomotor
LBI	Laser de baixa intensidade
LLLT	Low-Level Laser Therapy (Terapia a laser de baixa intensidade)
LP	Lesões por pressão
RF	Radiofrequência
FBM	Fotobiomodulação
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.2	PROBLEMA.....	16
1.3	HIPÓTESES .....	17
1.4	OBJETIVOS .....	17
1.4.1	Objetivo Geral .....	17
<b>1.4.2</b>	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
2.1	TECIDO TEGUMENTAR.....	18
2.2	CICATRIZAÇÃO.....	20
<b>2.2.1</b>	<b>Hemostase .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Fase inflamatória .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Fase proliferativa .....</b>	<b>23</b>
2.2.3.2	Repitelização .....	24
2.2.3.3	Angiogênese.....	25
2.3	LESÕES POR PRESSÃO .....	26
<b>2.3.1</b>	<b>Definição .....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Classificação .....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Fatores de risco .....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Epidemiologia.....</b>	<b>29</b>
<b>2.3.5</b>	<b>Abordagem terapêutica para o tratamento de lesões por pressão .....</b>	<b>30</b>
2.4	FOTOBIMODULAÇÃO .....	32
<b>2.4.1</b>	<b>Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo tecidual.</b> .....	<b>33</b>
2.5	RADIOFREQUÊNCIA .....	35
<b>2.5.1</b>	<b>Mecanismo de ação .....</b>	<b>35</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Classificação das radiofrequências .....</b>	<b>37</b>
<b>2.5.3</b>	<b>Efeitos.....</b>	<b>38</b>
<b>2.5.4</b>	<b>Indicações e contra-indicações.....</b>	<b>39</b>
<b>2.5.5</b>	<b>Dosagem.....</b>	<b>39</b>
<b>2.5.5</b>	<b>Ações da radiofrequência no colágeno.....</b>	<b>40</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>41</b>
3.1	DESENHO DO ESTUDO .....	41

3.2	LOCAL DO ESTUDO .....	41
3.3	POPULAÇÃO DO ESTUDO .....	41
<b>3.3.1</b>	<b>Delineamento experimental .....</b>	<b>41</b>
<b>3.3.2</b>	<b>CrITÉrios de exclusão.....</b>	<b>43</b>
3.5	PROCEDIMENTOS .....	43
<b>3.5.1</b>	<b>Procedimento experimental .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Procedimento cirúrgico .....</b>	<b>43</b>
<b>3.5.1</b>	<b>Intervenções.....</b>	<b>44</b>
3.6	INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS .....	47
<b>3.6.1</b>	<b>Avaliação cicatricial.....</b>	<b>48</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Termografia.....</b>	<b>48</b>
3.7	EUTANÁSIA .....	50
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50
3.9	ASPECTOS ÉTICOS .....	50
3.10	VARIÁVEIS .....	50
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>51</b>
4.1	COMPARAÇÃO INTRAGRUPOS .....	52
4.2	ANÁLISE TERMOGRÁFICA.....	53
4.3	CORRELAÇÃO DAS DUAS ANÁLISES NOS TRÊS TEMPOS .....	55
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
5.1	ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	58
5.2	TEMPERATURA DA LESÃO VERIFICADA PELA CÂMERA TERMOGRÁFICA . .....	62
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>
	<b>APÊNDICE A: ESTUDO PILOTO .....</b>	<b>76</b>
	<b>ANEXO A: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....</b>	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Quando ocorre alguma lesão na pele, o organismo busca corrigi-la através do reparo tecidual processo fisiológico e esperado, porém algumas lesões que acometem esse tecido e/ou tecidos adjacentes são consideradas crônicas, pois apresentam alterações na cicatrização, não fechando espontaneamente ou apresentando um fechamento lento, como as úlceras venosas crônicas, úlceras diabéticas, úlceras de insuficiência arterial e as escaras ou úlceras de decúbito, atualmente denominadas lesões por pressão (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

De acordo com NPUAP (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2016), as lesões por pressão são danos localizados na pele e tecidos próximos, normalmente sobre uma proeminência óssea, sendo resultado da pressão que pode ser isolada ou combinada com forças de fricção ou cisalhamento e que normalmente estão sobre uma proeminência óssea, e a prevalência no Brasil ainda é alta como demonstrou um estudo realizado por Brito, Generoso e Correia (2013), em que a prevalência de tais lesões em hospitais brasileiros foi de 16,9%.

Devido à dificuldade de compreender a fisiopatologia e desenvolver novos tratamentos para as lesões por pressão, pela escassez de modelos animais adequados, Garzea-Rodea *et al.* (2011) avaliaram a utilização de um modelo de lesão por pressão em camundongos, induzida pela aplicação de dispositivos magnéticos (ímãs) na pele dorsal dos animais, gerando isquemia localizada. A extensão das lesões e a taxa de cicatrização foram quantificadas e os autores supracitados, concluíram que isquemia gerada nos tecidos dos camundongos, têm muitas características em comum com as lesões por pressão em humanos, sendo este modelo experimental recomendado para pesquisas pré-clínicas, devido à sua semelhança mecanicista e clínica com as úlceras em humanos e a simplicidade de desenvolver esse modelo (GARZA-RODEA; KNAÄN-SHANZER; BEKKUM, 2011).

Nas lesões crônicas da pele, o processo de cicatrização não ocorre adequadamente, ou acontece de forma mais lenta que o esperado devido a múltiplos fatores (DELAVARY *et al.* 2011). Para auxiliar o reparo dessas lesões, algumas condutas podem ser utilizadas como os tratamentos através de agentes eletrofísicos, entre eles a fotobiomodulação (QASEEM *et al.*, 2015).

A fotobiomodulação (FBM) utiliza luz vermelha ou infravermelha para reparar, restaurar e estimular uma série de efeitos fisiológicos em células, tecidos, animais e seres humanos sendo que essa luz pode ser proveniente de lasers ou de LEDs (HEISKANEN; HAMBLIN, 2018). Segundo Machado, Viana e Sbruzzi (2017), o laser de baixa potência é

descrito como uma luz amplificada de baixo poder de radiação, capaz de promover efeitos bioquímicos, bioelétricos e bioenergéticos, acelerando o estímulo de cicatrização, resultando no aumento da microcirculação, analgesia, ação anti-inflamatória e anti-edema. Esse processo que ocorre a nível celular, intensifica a reabsorção de fibrina, a quantidade de tecido de granulação, diminui a liberação de mediadores inflamatórios e promove o aumento do metabolismo, estimulando assim a proliferação, maturação e locomoção de fibroblastos e linfócitos. (MACHADO; VIANA; SBRUZZI, 2017). Os fibroblastos, são responsáveis pela produção de colágeno, principal e mais abundante proteína que compõe o tecido conjuntivo, sendo essa uma substância fundamental na reparação tecidual (YANG *et al.*, 2015).

Além da FBM, outros agentes eletrofísicos podem estimular as fibras de colágeno, dentre eles a radiofrequência (RF), que gera calor no tecido subcutâneo mantendo a epiderme resfriada e protegida, provocando um dano térmico que ativa os fibroblastos (BOCK; NORONHA, 2013).

A radiofrequência atua pelo aumento da temperatura, que diminui a distensibilidade e aumenta a densidade do colágeno, provocando sua desnaturação e promovendo a contração de suas fibras, gerando processo inflamatório e síntese de colágeno pelos fibroblastos, levando à reorganização das fibras e o subsequente remodelamento do tecido, sugerindo-se que tal atividade poderia estimular a cicatrização de feridas (BRAVO *et al.*, 2013; BORGES; SCORZA; JAHARA, 2010; BOCK; NORONHA, 2013). Alguns estudos investigaram sobre o uso da radiofrequência nas disfunções da pele e tecidos adjacentes (BRAVO *et al.*, 2013; BOCK; NORONHA, 2013; CARVALHO *et al.*, 2011). Porém, conforme Cepeda *et al.* (2016), ainda se observa uma carência de informações sobre os seus efeitos no processo de cicatrização.

Apesar do contínuo desenvolvimento de novas alternativas para o tratamento das lesões teciduais crônicas, dentre elas as lesões por pressão, essas disfunções ainda constituem um grande desafio, representando um alto custo para a saúde pública e sofrimento para os pacientes e familiares (FERRIS; PRICE; HANDING, 2019). Dessa forma, esse estudo teve como finalidade, verificar a influência da fotobiomodulação e da radiofrequência, na cicatrização das lesões por pressão em camundongos, buscando investigar a ação da radiofrequência para o reparo das lesões crônicas da pele, bem como ampliar o conhecimento da fotobiomodulação para esse fim pois trata-se de um agente bastante discutido na literatura.

## 1.2 PROBLEMA

Diante do exposto acima, formulou-se a seguinte questão problema: A radiofrequência influencia na cicatrização de lesões por pressão em camundongos tanto quanto a fotobiomodulação? Dada esta conjuntura, o estudo torna-se necessário para investigar os efeitos das duas intervenções visando observar a eficiência dos tratamentos para esse modelo experimental.

### 1.3 HIPÓTESES

A radiofrequência influencia para acelerar o fechamento de lesões por pressão em camundongos, tanto quanto a fotobiomodulação.

### 1.4 OBJETIVOS

#### 1.4.1 Objetivo Geral

Verificar a eficácia da fotobiomodulação e da radiofrequência na cicatrização das lesões por pressão em camundongos.

#### 1.4.2 Objetivos Específicos

Verificar a influência da fotobiomodulação e da radiofrequência na diminuição da área das lesões por pressão através de imagem termográfica e tamanho da lesão.

Correlacionar a temperatura e a área da lesão em cada grupo experimental.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

A fundamentação teórica contida neste capítulo busca nortear o leitor dentro da temática que será abordada neste estudo, além de contribuir no desenvolvimento e organização da pesquisa. Inicialmente, serão apresentados os principais tópicos sobre a pele e o processo de cicatrização, seguidos dos apontamentos mais importantes sobre as lesões por pressão e por fim será dado ênfase ao estudo dos agentes eletrofísicos fotobiomodulação e radiofrequência.

### 2.1 TECIDO TEGUMENTAR

O tecido tegumentar é constituído pela pele e seus anexos: pelos, unhas, glândulas sebáceas, sudoríparas e mamárias, sendo que a pele é considerada a camada mais externa do corpo, servindo como uma barreira entre os órgãos internos e os agentes externos, apresentando uma estrutura forte para manter sua integridade e flexível para permitir a maleabilidade dos movimentos (ARDA; GÖKSÜGÜR; TÜZÜN, 2014; HSU *et al.*, 2018; NGUYEN; SOULIKA, 2019).

As duas principais camadas anatômicas da pele, da superfície para a profundidade, são denominadas epiderme e derme, e alguns autores consideram ainda uma terceira camada denominada hipoderme, que seria a mais profunda e composta por tecido adiposo subcutâneo, tendo como função fornecer reserva de energia à derme, bem como suprir a camada adjacente com fatores de crescimento (RODRIGUES *et al.*, 2019; WATT; FUJIWARA, 2011).

De acordo com Nguyen e Soulika (2019), a epiderme é constituída principalmente por tecido estratificado queratinizado, que forma uma barreira na pele e é subdividida em camadas celulares denominadas: estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso e estrato basal. As principais células que constituem a epiderme são os queratinócitos, que atuam como blocos de construção formando uma barreira protetora, a menos que ocorram lesões ou inflamação, condição na qual, se tornam móveis (NGUYEN; SOULIKA, 2019). De acordo com os autores supracitados, o estrato córneo contém queratinócitos diferenciados, que são continuamente reabastecidos por queratinócitos localizados no estrato basal. Uma camada fina de queratinócitos está contida no estrato lúcido, e o estrato granuloso é uma fina camada entre o estrato lúcido e o estrato basal que contém queratinócitos basais, células imunes, como células de Langerhans e células T, e melanócitos que fornecem pigmentação à pele (NGUYEN; SOULIKA, 2019).

A segunda camada da pele é conhecida como derme, e contém a maioria da matriz extracelular (ECM) além de outros componentes como: linfócitos, macrófagos, mastócitos, células T e B, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, folículos pilosos, glândulas sudoríparas e os fibroblastos (responsáveis pela produção de colágeno e elastina) além de outras células mesenquimais (WATT; FUJIWARA, 2011). A derme é rica em fibras de colágeno, produzido pelos fibroblastos, principalmente os tipos I e III, sendo composta por duas camadas: a superficial, formada por tecido conjuntivo do tipo frouxo e a camada reticular (ou profunda) composta por tecido conjuntivo denso (WATT; FUJIWARA, 2011; WONG *et al.*, 2015).

No tecido conjuntivo, existe o predomínio da matriz extracelular, que tem em sua constituição proteínas, sendo as mais abundantes os colágenos, que são apresentados na derme como proteínas fibrilares que fornecem resistência à tração (HSU *et al.*, 2018). Outras proteínas da ECM incluem fibronectina e proteoglicanos, que tem como objetivo unir os tecidos criando conexão, preenchimento e sustentação, permitindo que ocorra absorção de impactos, resistência à tração ou tenha elasticidade (HSU *et al.*, 2018; HUMPHREY; DUFRESNE; SCHWARTZ, 2014). As principais células do tecido conjuntivo são: as células mesenquimais, os plasmócitos, os macrófagos, os mastócitos, as células adiposas e os leucócitos, sendo que as células mais predominantes desse tecido são conhecidas como fibroblastos (ROSS; PAWLINA, 2012).

Krafts (2010) descreveu que uma das funções do TGF- $\beta$  (fibroblast growth factor) após as lesões na pele, é estimular os fibroblastos fazendo com que essas células se proliferem e assim contribuam para a cicatrização e o reparo tecidual. Quando estimulados frente à lesão, sob a influência do fator de crescimento de transformação, os fibroblastos transformam-se em miofibroblastos altamente contráteis, caracterizados pela produção e ligação da  $\alpha$ -actina do músculo liso (SMA) e miosina II ao seu citoesqueleto e dessa forma, além de sintetizar colágeno, função primordial dentro do processo cicatricial, são capazes de se contrair, retraindo o tecido cicatricial (HSU *et al.*, 2018; LOWE; ANDERSON, 2015).

O colágeno, principal e mais abundante proteína que compõe o tecido conjuntivo, produzido pelos fibroblastos que são responsáveis pela produção de elementos fibrilares e não fibrilares, atuam na reparação tecidual e fornecem resistência à tração (YANG *et al.*, 2015).

Características como a resistência à tração e a compressibilidade das fibras, fazem do colágeno uma proteína onipresente no corpo humano e aproximadamente 28 tipos de colágeno foram identificados, sendo que os colágenos I e III, respectivamente, compõem 90% e 10% do total de colágeno presente na pele (TRACY; MINASIAN; CATERSON, 2016).

A tensão mecânica mediada pelas fibrilas de colágeno, que são entrelaçadas, formam um arcabouço estrutural na ferida que está em processo de cicatrização e permite a adesão

celular, a quimiotaxia e a migração, pois quando as fibras se alinham em diferentes orientações elas são capazes de produzir vetores de tensão mecânica dentro da pele (TRACY; MINASIAN; CATERSON, 2016).

Por outro lado, de acordo com os autores supracitados, a estimulação mecânica diminuída que é imposta pela matriz extracelular nos fibroblastos dérmicos, tem sido associada à produção reduzida de colágeno tipo I e III e associada à frouxidão dérmica característica do envelhecimento da pele. Trabalhos mais recentes mostraram que a expressão gênica de fibroblastos, como sua diferenciação em miofibroblastos, estão fortemente ligados à rigidez ou a frouxidão da matriz extracelular e algumas teorias sugerem que a redução da tensão nos fibroblastos da ferida, pela paralisação das fibras musculares locais, pode reduzir a proliferação de miofibroblastos e a produção de colágeno, diminuindo assim o processo cicatricial (TRACY; MINASIAN; CATERSON, 2016).

Após sofrer qualquer tipo de lesão, a resposta do organismo para restabelecer e restaurar a normalidade dos tecidos lesionados é definida como cicatrização e quando se trata da recuperação de lesões de pele, o colágeno é a substância fundamental desse processo (GONZALES *et al.*, 2016).

## 2.2 CICATRIZAÇÃO

A cicatrização das lesões da pele é um processo dinâmico e complexo que envolve coagulação sanguínea, inflamação, proliferação e remodelação tecidual (HU; LAN, 2016). A lesão tecidual desencadeia a cicatrização, que visa iniciar o reparo de um dano ao organismo e requer uma sincronização da ação de diferentes tipos de células em etapas sequenciais e também que se sobrepõe (RITTIÉ; FISHER 2015). Segundo Rodrigues *et al.* (2019), quando a pele está lesada, vários tipos de células precisam coordenar as fases com precisão para promover a cura, esses estágios são denominados hemostasia, inflamação e proliferação (subdividida em reepitelização, fibroplasia e remodelação).

A primeira resposta do organismo a uma ferida é a constrição dos vasos sanguíneos e a ativação de plaquetas para formar um coágulo de fibrina, esse coágulo então cessa o fluxo sanguíneo e fornece um suporte para células inflamatórias de entrada (RODRIGUES *et al.*, 2019). Os neutrófilos são imediatamente recrutados para o coágulo como a primeira linha de defesa contra bactérias e os monócitos, que se diferenciam em macrófagos, dentro de 48 a 96 horas após a lesão, podem ser encontrados em todas as fases do reparo tecidual (KLOSE; ZIGRINO; MAUCH, 2013; WILGUS; ROY; MCDANIEL, 2013).

Quando a fase inflamatória termina, inicia-se o processo de angiogênese, que envolve a proliferação e a migração de células endoteliais, bem como a ramificação dessas para formação de novos vasos sanguíneos; junto às células locais, circulam células da medula óssea que também auxiliam a formação de novos vasos sanguíneos durante a cicatrização (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Enquanto novos vasos sanguíneos emergem, os fibroblastos residentes proliferam e invadem o coágulo para formar um tecido de granulação contrátil e nesse momento, alguns fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos, desenhando as margens da ferida (RODRIGUES *et al.*, 2019). A divisão dos fibroblastos depositados na matriz extracelular, modifica o microambiente da ferida do estado inflamatório para o estado de proliferação; a reepitelização ocorre simultaneamente, sendo esta a última fase do processo cicatricial, responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema (DONATI *et al.*, 2017; WERNER; KRIEG; SMOLA, 2007).

De acordo com Landén, Li e Stahle (2016), ao ocorrer a modificação da fase inflamatória para a proliferativa, ocorre uma transição fundamental durante o processo de cicatrização. Os autores supracitados, descrevem que a fase inflamatória leva à hemostasia e ao recrutamento do sistema imunológico, que defende o organismo contra o ataque de patógenos invasores e ajuda a remover os tecidos mortos. No entanto, a inflamação prolongada é prejudicial podendo resultar em diferenciação e ativação desregulada dos queratinócitos, impedindo o progresso dos estágios normais da cicatrização de feridas, tendo sido associada também, a cicatrizes excessivas (LANDÉN; LI; STAHLÉ, 2016). O próximo passo do reparo tecidual, a proliferação, está intimamente ligado à resposta inflamatória e também desempenha um papel importante na resolução da inflamação (LANDÉN; LI; STAHLÉ, 2016).

### **2.2.1 Hemostase**

O primeiro estágio que marca o processo cicatricial é denominado hemostase e nessa fase o objetivo é interromper o sangramento após algum dano vascular a partir de três etapas: vasoconstrição, hemostasia primária e hemostasia secundária (RODRIGUES *et al.*, 2019). Os autores anteriormente citados, descrevem que a célula mais importante envolvida neste processo é a plaqueta e o componente da matriz extracelular de maior relevância, é o fibrinogênio. Quando a pele está ferida, a resposta imediata para parar o sangramento é a vasoconstrição das paredes dos vasos e em seguida ocorrem a hemostasia primária e secundária, que acontecem por duas vias diferentes e são mecanicamente interligadas (PERIAYAH,

HALIM, MAT SAAD, 2017).

De acordo com Rodrigues *et al.* (2019) a hemostasia primária envolve a agregação plaquetária e a formação de um plug plaquetário e a hemostasia secundária refere-se à ativação da cascata de coagulação onde o fibrinogênio solúvel é convertido em filamentos insolúveis que compõem a malha de fibrina. Os autores anteriormente citados descrevem que, o plugue plaquetário e a malha de fibrina se combinam para formar o trombo, que cessa o sangramento e complementos soltos associados a fatores de crescimento, fornecem uma estrutura provisória para células infiltrantes que auxiliarão como matriz provisória da ferida, para a infiltração de outras células nos estágios subsequentes.

Além das células inflamatórias e dos mediadores químicos, a fase inflamatória, conta com o importante papel da fibronectina que é sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais; simultaneamente aderindo à fibrina, ao colágeno e a outros tipos de células, a fibronectina age como uma cola para consolidar o coágulo de fibrina, as células e os componentes de matriz, além de organizar uma base para a matriz extracelular, possuindo também propriedades quimiotáticas e promovendo fagocitose de corpos estranhos e bactérias (RODRIGUES *et al.*, 2019; TRACY; MINASIAN; CATERSON, 2016).

### **2.2.2 Fase inflamatória**

Delavary *et al.* (2011) descreveram que a hemostasia e a liberação quimioativa atraem células fagocíticas e marcam o início da fase inflamatória, através do recrutamento de células imunes, processo que é facilitado por quimiocinas, vasodilatação e aumento da permeabilidade de vasos sanguíneos que se contraem inicialmente e depois dilatam, atingindo um pico em torno de 20 minutos depois da lesão. O principal fator responsável pela vasodilatação é a histamina, que faz com que as paredes dos vasos sanguíneos se tornem porosas, levando ao extravasamento de células inflamatórias na área da ferida e fornecem dessa forma, defesa contra patógenos, possibilitando a entrada posterior das primeiras células que irão se infiltrar na ferida: os neutrófilos (DELAVARY *et al.*, 2011).

Su e Richmond (2015) descreveram que os neutrófilos não são observados na pele normal, e são recrutados como “socorristas” em resposta a substâncias liberadas nas regiões da lesão ou infecção. Existem receptores de reconhecimento que auxiliam o neutrófilo na detecção de sinais de lesão e no dia seguinte ao dano, os neutrófilos constituem 50% de todas as células da ferida (SU; RICHMOND, 2015). A função dos neutrófilos é eliminar patógenos extracelulares e ameaças infecciosas, liberando grânulos tóxicos que produzem uma explosão

oxidativa, iniciando a fagocitose e a geração de armadilhas extracelulares (LANDÉN; LI; STAHL, 2016; PEROBELLI *et al.*, 2015).

Nas primeiras 24 a 48 horas após a lesão, acontece um acúmulo de macrófagos no local do dano e essa é considerada a célula mais importante da fase denominada inflamatória, sendo essencial para a cicatrização e a regeneração das feridas; permanece do terceiro ao décimo dia e suas funções gerais são: fagocitar bactérias, desbridar corpos estranhos e direcionar o desenvolvimento do tecido de granulação (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Estudos em que os macrófagos foram retirados de feridas de animais, demonstraram um fechamento tardio da lesão, pois a redução de neutrófilos induz à diminuição da angiogênese, do tecido de granulação, da deposição de colágeno e da liberação do fator de crescimento (GOREN *et al.*, 2009; MIRZA *et al.*, 2009).

Nos estágios iniciais da cicatrização de feridas, os macrófagos reconhecem e eliminam patógenos, e auxiliam na eliminação dos neutrófilos, pois a depuração inadequada de neutrófilos, leva ao persistente estado inflamatório (LANDÉN; LI; STAHL, *et al.*, 2016; SOROKIN, 2010). Pesquisas mostraram que o déficit da capacidade dos macrófagos na remoção de células inflamatórias, como os neutrófilos, é um componente crítico da cicatrização prejudicada (KOH; DiPIETRO, 2011).

Os macrófagos anti-inflamatórios contribuem para a formação de novos vasos e o metabolismo dessas células também afeta a neovascularização, determinando se os novos vasos são funcionais ou anormais (RODRIGUES *et al.*, 2019). Durante o estágio de proliferação, os macrófagos sinalizam ativamente para os fibroblastos dérmicos, para que esses se transformem em miofibroblastos e os macrófagos também possam se transformar em células fibróticas, depositando colágeno e outros componentes da matriz extracelular e contribuindo para a formação de cicatrizes (DARBY *et al.* 2014, PLOEGER *et al.*, 2013; SHOOK *et al.*, 2016; SUGA *et al.*, 2014).

### **2.2.3 Fase proliferativa**

Segundo Cañedo-Dorantes e Cañedo-Ayala (2019), a fase proliferativa, também conhecida como fase de granulação é responsável pelo "fechamento" da lesão propriamente dita e está subdividida em: (a) fibroplasia, quando ocorre a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos, deposição de matriz extracelular e contração da ferida; (b) reepitelização e interação entre queratinócitos e fibroblastos, (c) angiogênese, incluindo proliferação de células endoteliais e formação de novos vasos. Os macrófagos são as células inflamatórias dominantes

que orquestram a fase proliferativa do reparo de feridas na pele (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

### 2.2.3.1 Fibroplasia

Ao entrar em contato com o colágeno da matriz extracelular estruturas como fibrinogênio, fibronectina, proteoglicanos e plaquetas formam uma matriz provisória rica em fibrina (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019). Ainda conforme os autores supracitados, os fibroblastos são um grupo heterogêneo de células, com grande plasticidade e diferentes papéis nas diferentes camadas da pele e quando são ativados, começam a produzir colágeno. Cañedo-Dorantes e Cañedo-Ayala (2019) também relatam que o acúmulo de colágeno no local da ferida, forma uma cicatriz quase avascular e acelular, composta por 80-90% por fibras de colágeno tipo I, regularmente organizadas, e as demais fibras de colágeno são do tipo III. Os fibroblastos maduros migram para o tecido de granulação, iniciam a síntese de colágeno, substituem a matriz provisória de fibrina e diferenciam-se em miofibroblastos, aumentando a deposição de colágeno e iniciando a contração da ferida, ao mesmo tempo que detectam a força e a direção da carga mecânica e traduzem essas informações por meio de sinais de e produção de fator de crescimento (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

### 2.2.3.2 Repitelização

Segundo Delavary et al. (2011) a repitalização é a fase que promove o reestabelecimento da epiderme intacta sobre o tecido recém-formado. Na pele intacta a camada basal dos queratinócitos está ligada à lâmina basal, mas quando ocorre uma lesão, essas células se encontram desorganizadas e precisam ser restauradas e este processo de restauração inicia dentro de horas após o dano, sendo realizado pelos queratinócitos que se movem através do tecido de granulação e continua até que os lados opostos da ferida restabeçam contato (DELAVARY et al., 2011). A repitalização tem início 16-24 horas após a lesão e continua até a fase de remodelação do reparo da ferida e logo após a lesão, os queratinócitos se diferenciam e migram entre o coágulo de fibrina e a derme, e também proliferam para fornecer mais células para preencher a lacuna (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

Ainda de acordo com os autores supra-citados, a matriz extracelular desempenha um papel fundamental no processo de repitelização, onde uma interação entre queratinócitos, fibroblastos, neutrófilos, monócitos-macrófagos e células endoteliais, aumentam a quantidade

de citocinas, fatores de crescimento e outras biomoléculas, para promover a interação epitélio-mesenquimal entre queratinócitos e fibroblastos. Por fim, os fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos, aumentando a deposição de colágeno e iniciando a contração da ferida (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

### 2.2.3.3 Angiogênese

De acordo com Cañedo-Dorantes e Cañedo-Ayala (2019), a angiogênese é um processo contínuo, onde ocorre a proliferação de novos vasos sanguíneos e a remodelação tecidual, e as células sob condições hipóxicas após a lesão, recebem um estímulo nas células endoteliais vasculares, fibroblastos, queratinócitos e macrófagos, seguidos pela liberação dos fatores angiogênicos VEGF, FGF, PDGF e TGF-  $\beta$ 1 por essas células, desencadeando a neovascularização. Os autores acima citados, descrevem que o processo de regressão começa com a contração dos vasos sanguíneos, onde a redução do suprimento sanguíneo e o metabolismo acelerado das células que trabalham para reparar a lesão, fazem com que os tecidos da ferida se tornem hipóxicos, um grande estímulo para a angiogênese. Com o auxílio dos macrófagos, as estruturas das células endoteliais imaturas anastomosam-se com outros vasos sanguíneos preexistentes, os fibroblastos por sua vez sintetizam e depositam nova matriz extracelular que dá suporte às células e novos vasos sanguíneos formando o tecido de granulação da ferida (CAÑEDO-DORANTES; CAÑEDO-AYALA, 2019).

Durante a fase proliferativa da cicatrização, o tecido de granulação é formado concomitantemente com outros processos de reparo, incluindo a reepitelização, a fibroplasia e a remodelação (RODRIGUES *et al.*, 2019). O tecido de granulação é formado principalmente por fibroblastos, que sintetizam uma nova matriz extracelular e ajudam a contrair a ferida, assim esse processo também serve como base para outras células e componentes, incluindo a recém-sintetizada matriz extracelular, os novos vasos sanguíneos e as células (RODRIGUES *et al.*, 2019). O tecido de granulação e os vasos sanguíneos tem três funções principais: imunidade para proteger a superfície da ferida contra invasão microbiana; proliferativa afim de preencher a ferida com novos tecidos e vasculatura; tampão temporário com o objetivo de substituir o tecido necrótico, até a formação de novos vasos sanguíneos (ALHAJJ *et al.*, 2020).

Senger e Davis (2011) descreveram que as células endoteliais, iniciam a angiogênese por brotamento e vários outros receptores de células endoteliais desempenham um papel crítico na nessa fase. Na condição não tratada, as células endoteliais têm poucos receptores na sua superfície o que impede a ligação às plaquetas circulantes ou às células imunológicas

(SENGER; DAVIS 2011). Em resposta a ferimentos no microambiente, células endoteliais expressam receptores que permitem a adesão de leucócitos e sua infiltração na pele (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Os receptores de integrinas nas células endoteliais, particularmente o  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ , que é o receptor para fibrina, fibronectina e vitronectina, são de extrema importância para a angiogênese e nas células endoteliais, o  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  pode anexar substâncias liberadas por plaquetas durante o processo de coagulação, no estágio inicial de cura (RODRIGUES *et al.*, 2019).

Uma cicatriz com fechamento completo apresenta uma força tensil em torno de 80% da tensão da pele normal, não é volumosa e é plana, visto que com o passar do tempo a neovascularização diminui, e mais tarde a cicatriz é considerada avascular (XUE; JACKSON, 2015).

Na maioria dos casos, após o processo completo de cicatrização da pele, a função de barreira é restaurada assim como a resistência normal à tração; no entanto, ao contrário da cicatrização de feridas do período pré-natal, que é um processo regenerativo que recapitula a arquitetura original da pele, a cicatrização de feridas adultas resulta em uma cicatriz fibrótica que serve como um remendo rápido para a ferida (XUE; JACKSON, 2015).

A cicatrização é o processo fisiológico que visa restaurar as lesões do tecido tegumentar, porém, qualquer alteração em qualquer das dessas etapas, resulta em comprometimento do reparo tecidual, por exemplo, úlceras crônicas difíceis de curar ou cicatrizes excessivas, pois fatores extrínsecos e intrínsecos parecem influenciar em respostas inadequadas de cicatrização como no caso das lesões por pressão (EMING; MARTIN; TOMICCANIC *et al.*, 2014; LANDÉN; LI; STAHL, 2016).

### 2.3 LESÕES POR PRESSÃO

Algumas feridas que ocorrem na pele, podem se tornar crônicas, pois resultam de uma falha do processo natural de cicatrização ou seja, não curam espontaneamente ou apresentam fechamento notoriamente lento como as úlceras venosas crônicas, as escaras ou úlceras de decúbito (ZIELINS *et al.*, 2015).

Essas lesões além de requererem um tempo de tratamento considerável, serem dolorosas, apresentarem um impacto negativo sobre a qualidade de vida dos indivíduos e serem resistentes a muitas modalidades de intervenções, também resultam em altos custos econômicos e sociais para os pacientes, familiares e para saúde pública (MOORE, WEBSTER, SAMURIWO, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

### 2.3.1 Definição

Anteriormente conhecidas como úlceras de pressão, úlceras de decúbito ou escaras, as lesões por pressão são danos localizados na pele e tecidos próximos, normalmente sobre uma proeminência óssea, sendo resultado de pressão que pode ser isolada ou combinada com forças de fricção ou cisalhamento; os riscos para o desenvolvimento dessas lesões estão relacionados aos fatores predisponentes intrínsecos de cada indivíduo (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2016).

Com o objetivo de padronizar os termos utilizados entre os profissionais de saúde do mundo inteiro, ocorreu o programa internacional de 2014, em que várias organizações adotaram o termo lesão por pressão substituindo os termos antes utilizados como úlceras de pressão, úlceras de decúbito ou escaras (DELMORE *et al.*, 2019). Esta mudança, proposta e aceita por meio de reuniões de consenso, representa o fato de que a lesão por pressão dos estágios 1 e 2 não são úlceras, dermatologicamente falando (perda da epiderme com uma base dérmica ou profunda) (DELMORE *et al.*, 2019).

O estágio 1 representa uma mudança na cor da pele intacta e o estágio 2 trata-se de uma erosão (perda da epiderme com uma base epidérmica) ou uma bolha superficial, assim esses dois estágios de danos relacionados à pressão podem ser classificados como uma lesão e não como úlcera, assim em abril de 2016 o National Pressure Ulcer Advisory Panel-NPUAP (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANE, 2016) anunciou a mudança na terminologia “úlcera de pressão” para “lesão por pressão” que deve ser utilizado por todos os profissionais de saúde (DELMORE *et al.*, 2019, SOBEST, 2016).

### 2.3.2 Classificação

O NPUAP (2014) estabeleceu uma classificação baseada no comprometimento tecidual e então seis estágios foram propostos. As lesões por pressão de categoria/grau I apresentam eritema não branqueável e pele intacta com rubor não branqueável em uma área localizada, quase sempre sobre uma proeminência óssea (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014).

A perda parcial da espessura da derme que se apresenta como uma ferida superficial (rasa) com leito vermelho-rosa sem tecido desvitalizado é característica da categoria/grau II a qual aparece como uma úlcera brilhante ou seca, sem tecido desvitalizado ou equimose (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014).

Na ocorrência de lesões por pressão de grau III ocorre a perda total da espessura dos tecidos; o tecido adiposo subcutâneo pode estar visível, mas os ossos, tendões ou músculos não estão expostos (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014).

Na categoria/grau IV nota-se a perda total da espessura dos tecidos com exposição óssea, dos tendões ou dos músculos e pode aparecer tecido desvitalizado ou necrose no leito da ferida (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014).

As lesões por pressão não graduáveis/inclassificáveis possuem uma profundidade indeterminada, pois a base da úlcera está coberta por tecido desvitalizado (amarelo, acastanhado, cinzentos, verde ou castanho) e/ou necrótico (amarelo escuro, castanho ou preto) no leito da ferida (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014).

Quando aparecem áreas vermelho escura ou púrpura na pele intacta, ou flictena preenchida com sangue, suspeita-se de lesão com profundidade indeterminada nos tecidos profundos (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014). A evolução pode incluir uma flictena de espessura fina sobre o leito de uma ferida escura, que pode evoluir através de uma fina camada de tecido necrótico e assim poderá ocorrer a rápida evolução expondo outras camadas de tecidos, mesmo que essas tenham recebido adequado tratamento (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, 2014).

Determinar a classificação da lesão por pressão assim como determinar os fatores de risco intrínsecos e extrínsecos são de extrema importância para que os profissionais e os familiares dos pacientes acometidos, possam tanto prevenir quanto propor o tratamento adequado para cada caso.

### **2.3.3 Fatores de risco**

Segundo Virani *et al.* (2011) os fatores de risco intrínsecos, que estão relacionados aos aspectos físicos dos indivíduos podendo influenciar o desenvolvimento de lesões por pressão, incluem: estado nutricional (desnutrição e desidratação), mobilidade reduzida ou imobilidade, síndrome do estresse (movimentos involuntários), postura e contraturas, comprometimento neurológico e sensorial, incontinência urinária e fecal, extremos de idade, nível de consciência, doença aguda, histórico de lesão por pressão, doença vascular, doença crônica ou terminal grave

e a dor. Outros fatores de risco para o surgimento das lesões por pressão incluem raça negra ou etnia hispânica, comprometimento cognitivo, deficiências físicas, e outras condições comórbidas que afetam a integridade e a cicatrização de tecidos moles como edema, microcirculação prejudicada e hipoalbuminemia (QASSEM *et al.*, 2015). Uma vez que a lesão se desenvolve, fatores que interferem na cicatrização, como alterações fisiológicas relacionadas a idade, diabetes, qualquer condição associada a uma baixa tensão do oxigênio e fluxo sanguíneo, doença vascular periférica, contraturas, espasticidade e perdas sensitivas, podem prejudicar o reparo dos tecidos moles (BHATTACHARYA; MISHRA, 2015).

Brink, Smith e Linkewichbrink (2006) constataram que pacientes com reduzida capacidade de realizar atividades de vida diária (AVDs) tiveram maior risco de desenvolver lesões por pressão em comparação àqueles sem limitação.

Fatores extrínsecos provenientes do ambiente como higiene, condições de vida, medicação, pressão, cisalhamento, fricção, vestuário, estilingues de transferência, uso de restrição e os sistemas de apoio utilizados para aliviar a pressão também podem influenciar o desenvolvimento de lesões por pressão (VIRANI *et al.*, 2011).

Assim como a prevalência e a incidência de lesões por pressão na população ainda são significativas, os fatores de risco para o aparecimento dessas lesões também precisam ser considerados visando o desenvolvimento de estratégias preventivas apropriadas para manter a dignidade e o conforto dos pacientes (FERRIS; PRICE; HANDING, 2019).

### **2.3.4 Epidemiologia**

A incidência de lesão por pressão é considerada um indicativo da qualidade dos cuidados, pois a presença desta é associada ao aumento do tempo de internação, a carga de trabalho para profissionais e ao aumento de custos, além de maior morbidade e mortalidade dos pacientes internados (LIMA; GUERRA, 2011). Jaul *et al.* (2018), descreveu uma pesquisa piloto europeia, realizada pelo Painel Consultivo para Úlceras por Pressão (EPUAP), que incluiu 5947 pacientes hospitalares localizados em vários países destacou uma prevalência geral de úlceras por pressão de 18,1%. Outro estudo, feito pelo International Pressure Ulcer Prevalence Survey, constatou que a prevalência de lesão por pressão hospitalar, variou de 8 a 14% nas unidades hospitalares e a incidência variou de 3 a 5% (JAUL *et al.*, 2018).

De acordo com estudo realizado por Brito, Generoso e Correia (2013) no Brasil, a prevalência de lesões por pressão em hospitais foi de 16,9% corroborando com dados encontrados nos estudos realizados em hospitais de outros dois países com critérios de inclusão

semelhantes; nessa pesquisa também não foi observada diferença significativa entre a prevalência de lesões por pressão nos sete estados brasileiros estudados, indicando que se trata de um problema de saúde pública (COELHO; SILVA, 2004; EDLICH *et al.*, 2004; SHAHIN; DASSEN; HALFENS, 2009). Em pesquisa realizada em três hospitais na cidade de São Paulo entre 2012 e 2013 a prevalência de úlceras de pressão anual média foi de 10,1% (MELLEIRO *et al.*, 2015).

Pesquisas realizadas anteriormente corroboram com os achados de Brito, Generoso e Correia *et al.* (2013) em que a localização mais freqüente de lesão por pressão foi a região sacral (82,5%), seguida pela trocanterica (37,5%), e depois pelo calcâneo (27,5%) (BARBUT *et al.*, 2006, INAN; OZTUNÇ, 2012; ROCHA; MIRANDA; ANDRADE, 2006).

Em outro estudo constatou-se o total de 23 lesões por pressão, localizadas principalmente em calcâneo (8-42,1%), sacro (7-36,8%) glúteo e trocânter (2-10,5%), áreas que correspondem aos pontos de maior pressão em pacientes na posição dorsal, comprovando que a ocorrência da maior parte das lesões ocorre na metade inferior do corpo, devido à presença de grandes proeminências ósseas e distribuição desigual do peso corporal nessa região (ROGENSKY; KURCGANT, 2012).

Uma revisão sistemática realizada por Ferris, Price e Handing, 2019 (2019), que teve como objetivo quantificar a prevalência e a incidência de lesão por pressão em pacientes que receberam cuidados paliativos, identificou os fatores de risco para o desenvolvimento dessas lesões e relacionou o fator tempo entre o aparecimento da lesão por pressão e a morte desses indivíduos, mostrando a prevalência global de 12,4% e a incidência de 11,3% nos artigos estudados. Quanto os tipos de lesão por pressão mais freqüentemente vistos na população estudada, os estágios 1 e 2 foram os mais comumente observados, representando 82% de todas as lesões e as áreas do corpo mais afetadas pelas lesões por pressão descritas nessa revisão sistemática foram observadas na região sacral 28% a 36% no calcâneo 23% a 30% e na região isquiática 17% a 20% (FERRIS; PRICE; HANDING, 2019, 2019).

Apesar de todo o desenvolvimento visando novas formas de tratamento para essa disfunção, a prevalência das lesões por pressão ainda é alta, constituindo um alto custo para a saúde pública e sofrimento para os pacientes e familiares (FERRIS; PRICE; HANDING, 2019, 2019).

### **2.3.5 Abordagem terapêutica para o tratamento de lesões por pressão**

Úlceras venosas da perna e lesões por pressão são as formas mais comuns de úlceras

cutâneas complexas não traumáticas, cada uma com prevalências de 0,05% e 1,52% nos EUA (RICE *et al.*, 2014).

Muitas das lesões descritas acima cicatrizam espontaneamente, porém para algumas pessoas esse processo é prolongado, e para outras, nunca totalmente resolvido. Um estudo recente com 247 pessoas que apresentavam úlceras venosas na perna relataram que 62% das lesões cicatrizaram dentro de 24 semanas, e os outros 38% permaneceram sem resolução por mais tempo (FINLAYSON *et al.*, 2017). Outro estudo sobre lesões de pele constatou um tempo médio de cura em torno de três meses de tratamento (ASHBY *et al.*, 2014).

O tratamento de diferentes graus de lesões por pressão, envolve diversas abordagens que incluem intervenções para prevenir as lesões por pressão (superfícies de suporte e suporte nutricional) e ações que visam promover a cicatrização de forma efetiva, tais como: curativos, aplicações tópicas e terapias adjuvantes, como estimulação elétrica, terapia de luz, dispositivos assistidos por vácuo e reparação cirúrgica (SMITH *et al.*, 2013). A escolha do tipo de tratamento deve ser dinâmica e se adaptar continuamente à modificação das características clínicas da lesão por pressão (SMITH *et al.*, 2013).

Segundo Bhattacharya e Mishra (2015) um dos métodos utilizados para o tratamento das lesões por pressão, o qual envolve a remoção da contaminação da superfície e a excisão de todo o tecido morto é o desbridamento, que tem como objetivo, converter a ferida crônica em aguda, para que ela possa progredir nos estágios normais de cura. Os autores anteriormente citados, descrevem que os curativos também são utilizados para proteger e acelerar o processo de cicatrização e incluem: hidrocolóides que estimulam o crescimento de novas células na lesão e mantém a área saudável próxima da pele seca; molhos de alginato que contêm sódio e cálcio e aceleraram o processo de reparo; pensos de prata com propriedade antibacteriana para limpar a úlcera; cremes e pomadas para evitar mais danos aos tecidos e ajudar a acelerar o processo cicatricial. A limpeza da lesão, mostra-se importante na redução da carga bacteriana da ferida, remoção de tecido necrótico, resíduos metabólicos e agentes tópicos que retardam o processo de cura das feridas (MARTINS, 2014).

De acordo com Bhattacharya e Mishra (2015) pressões que causam danos à pele e aos tecidos devem ser imediatamente eliminadas, através da ajuda de colchões especiais, almofadas e outros dispositivos de proteção que podem aliviar a pressão externa em áreas vulneráveis dos membros do corpo. Uma revisão sistemática realizada por Smith *et al.* (2013) avaliou as evidências sobre diferentes superfícies de suporte, incluindo leitos fluidizados a ar, leitos de pressão alternada e almofadas de cadeira e camas de baixa perda de ar e não foram encontradas diferenças significativas na cicatrização completa da ferida ao comparar os tipos de suporte.

Abordagens de fisioterapia também são promissoras para a cicatrização de feridas (GOULD *et al.*, 2015). O uso de agentes físicos conhecidos como ultrassom terapêutico, eletroestimulação, pressão negativa, fotobiomodulação e alta frequência, tem sido descritos como métodos terapêuticos adjuvantes para estimular a cicatrização de lesões da pele, inclusive as lesões por pressão, entretanto, a avaliação sistemática dos agentes estudados revelou que existe a necessidade de maior rigor metodológico, incluindo número amostral, padronização de aplicação, períodos e parâmetros de aplicação, pois a heterogeneidade dos dados dos estudos dificultam conclusões definitivas para o tratamento das lesões por pressão (ARORA *et al.*, 2020; KORELO *et al.*, 2013; MARTINS, 2014; NEVES *et al.*, 2016; PETZ *et al.*, 2020).

Quando os pacientes com lesões por pressão grave (Grau III ou IV) não respondem ao tratamento conservador, ou seja, a cicatrização não é alcançada, é indicado o tratamento cirúrgico para preencher a ferida e evitar mais danos aos tecidos, para pessoas que apresentam situação médica e nutricional estável (BHATTACHARYA; MISHRA, 2015). De acordo com Rodrigues *et al.* (2019), em pacientes com patologias que favorecem a cicatrização anormal de feridas, as intervenções disponíveis atualmente não mostram impacto positivo diante dessa problemática. As diferentes terapias disponíveis para o tratamento de lesões por pressão, se mostram apenas moderadamente eficazes, assim, existe a necessidade de terapias mais efetivas para a cicatrização de lesões por pressão e a padronização de parâmetros para as já existentes, como a fotobiomodulação (RODRIGUES *et al.*, 2019).

## 2.4 FOTOBIMODULAÇÃO

A fotobiomodulação (FBM) é um método de tratamento que utiliza luz vermelha ou infravermelha para reparar, restaurar e estimular uma série de efeitos fisiológicos em células, tecidos, animais e seres humanos sendo que essa luz pode ser proveniente de lasers ou de LEDs (HEISKANEN; HAMBLIN, 2018). Diferentes nomenclaturas foram utilizadas ao longo dos anos, para definir a irradiação com luz no tecido biológico como terapia com laser de baixa intensidade (Low-Level Laser Therapy – LLLT), terapia com luz de baixa intensidade (Low-Level Light Therapy – LLLT), laser terapia (Laser therapy – LT), e recentemente o termo LED terapia (ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015).

Para diferenciar as intervenções acima citadas das demais fototerapias, foi realizada uma conferência a fim de padronizar a nomenclatura utilizada e dessa forma, a Associação Norte Americana de terapia por luz, e a Associação Mundial de Terapia por Laser propuseram

o termo terapia de fotobiomodulação (TFBM/TFBM) aceito e reconhecido por essas instituições (ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015). Segundo os autores anteriormente mencionados, a FBM é uma terapia que utiliza formas não ionizantes de fontes de luz, incluindo LED (diodo emissor de luz) e laser (luz amplificada por emissão estimulada de radiação), no espectro visível e infravermelho. Essa nomenclatura foi proposta com o intuito de diferenciar esse tipo de intervenção, das demais fototerapias buscando um consenso referente a nomenclatura mais adequada (MALTA, 2017).

O laser é uma radiação eletromagnética não ionizante, com características de monocromaticidade, coerência, direcionalidade e focalização em pequenas áreas e são classificados em alta e baixa intensidade sendo que os mais utilizados para cicatrização compreendem o laser de HeNe (hélio-neônio), cujo comprimento de onda está em torno de 632,8nm, o AsGa (arseneto de gálio) e o AsGaAl (arseneto de gálio e alumínio) cujo comprimento de luz é, aproximadamente 780-830nm (LINS *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2017). Os LBI infravermelhos são considerados mais eficazes para analgesia, e os do espectro vermelho, para cicatrização (SILVA *et al.*, 2007).

Bernardi, Zeka e Continenza (2016) descreveram que os efeitos primários do laser são bioquímicos, bioelétricos e bioenergéticos, atuando pelo aumento do metabolismo, proliferação e maturação celular, aumento da quantidade de tecido de granulação e diminuição dos mediadores inflamatórios, induzindo o processo de cicatrização. Assim, a camada tecidual a ser atingida depende do tipo de laser, da potência, do comprimento de onda e do tempo de irradiação, e quanto menor o comprimento de onda, maior sua ação e poder de penetração (LINS *et al.*, 2010).

O efeito do laser terapêutico não é considerado diretamente curativo, e sim um agente antálgico, pois proporciona ao organismo uma melhor resposta a inflamação, reduzindo o edema e os sintomas de dor, além de favorecer a reparação tecidual da área lesada mediante a bioestimulação celular (PIVA *et al.*, 2011)

#### **2.4.1 Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo tecidual**

Os efeitos biológicos do laser de baixa potência consistem em energia luminosa, que se deposita sobre os tecidos e se transforma em energia vital, produzindo efeitos primários (diretos), secundários (indiretos) e terapêuticos gerais, os quais promovem ações analgésicas, anti-inflamatórias e cicatrizantes (TAHERI *et al.*, 2015; CASALECHI *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2018). Ao ser utilizado nos tecidos o laser não provoca aquecimento pois a energia dos fótons

absorvidos não é transformada em calor, e sim em efeitos fotoquímicos, fotofísicos e/ou fotobiológicos (TSAI; HAMBLIN, 2017). Ainda segundo os autores supracitados, ao interagir com os tecidos o laser estimula algumas funções celulares como a estimulação de linfócitos, a ativação de mastócitos, o aumento na produção de ATP mitocondrial e a proliferação de vários tipos de células que promovem efeitos anti-inflamatórios (ANDRADE *et al.*, 2014).

A fototerapia por lasers é considerada um bioestimulador para o reparo tecidual, aumentando a circulação local, a proliferação celular e a síntese de colágeno (ANDRADE *et al.*, 2014). A excitação seletiva de átomos e moléculas são provocadas pela monocromaticidade e pela intensidade do laser, assim a terapia eleva os níveis de ácido ascórbico nos fibroblastos, promovendo a produção de colágeno (LINS *et al.*, 2010).

Em um estudo realizado por Rocha, Miranda e Andrade (2006) que visou investigar o comportamento de feridas cutâneas na região dorsal de ratos Wistar, através de um laser de baixa intensidade foram observados aumento na neovascularização e na proliferação fibroblástica, e também redução da quantidade de infiltrado inflamatório nas lesões cirúrgicas submetidas à terapia a laser. O aumento do metabolismo celular que o laser provoca ocorre pela absorção molecular da luz e as ações anti-inflamatórias e antiedematosas acontecem pela aceleração da microcirculação, resultando em alterações na pressão hidrostática capilar e dessa forma o edema é reabsorvido e o acúmulo de metabólitos eliminado (LINS *et al.*, 2010).

Os efeitos bioestimulantes produzidos pelo laser de baixa potência no processo de reparo tecidual são a indução da atividade mitótica das células epiteliais e dos fibroblastos, o incentivo à produção de colágeno por estas células; a inibição secretória de alguns mediadores químicos, a modificação da densidade capilar e o estímulo à microcirculação local (LINS *et al.*, 2010).

O laser de baixa potência aumenta a atividade quimiotática e fagocitária dos leucócitos, aumenta a proliferação dos linfócitos que pela radiação pode torná-los mais responsivos aos mediadores nos tecidos injuriados e aumenta a atividade fagocitária dos macrófagos, elevando a secreção de fatores de crescimento de fibroblastos e intensificando a reabsorção tanto de fibrina quanto de colágeno (ANDRADE *et al.*, 2014).

Pesquisas *in vitro*, segundo Lins *et al.* (2010) demonstram que o laser terapêutico estimula a proliferação e a diferenciação fibroblástica, assim como a síntese de produtos da matriz extracelular por estas células e pode induzir fibroblastos, pois estimula a produção do fator de crescimento fibroblástico básico (FGFb). Estudos utilizando células da linhagem macrófagica mostram que, sob a radiação do laser de baixa potência, tais células liberam fatores solúveis promotores da proliferação fibroblástica, assim a maturação dos fibroblastos e a sua

locomoção através da matriz também são influenciadas pelo referido laser (LINS *et al.*, 2010).

Um estudo de Silva *et al.* (2007) que empregou lasers com comprimento de onda de 660nm e 780nm e densidades de energia 7,5 J/cm<sup>2</sup> e 15J/cm<sup>2</sup> avaliou histologicamente a resposta de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo submetidos à referida em um modelo experimental de reprodução alveolar realizada em *Rattus norvegicus albinus*; constatou-se que os tecidos epitelial e conjuntivo reagiram à estimulação da terapia a laser com renovação celular constante e no tecido ósseo, houve uma aceleração da neoformação óssea dentro dos padrões de normalidade.

O laser de baixo nível provou ser bem-sucedido em estimular a produção de colágeno em ensaios de cicatrização de feridas, como no estudo descrito por Cunha *et al.* (2019), que avaliou os efeitos de três protocolos de laserterapia de baixo nível (LLLT) na cicatrização de feridas abertas em ratos. Foram realizadas lesões com um bisturi na região mediana de 60 ratos Wistar, e após 7, 14 e 21 dias, cinco animais / dia foram sacrificados e as feridas analisadas histologicamente. O LLLT reduziu a inflamação e o depósito de colágeno aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) em todos os protocolos. Assim todos os protocolos induziram o aumento no depósito de colágeno, acelerou a maturação do colágeno e promovendo uma melhor arquitetura da cicatrização fibrosa final (CUNHA *et al.*, 2019).

## 2.5 RADIOFREQUÊNCIA

As fibras de colágeno podem ser estimuladas por agentes eletrofísicos, dentre eles, a radiofrequência (RF), que gera calor no tecido subcutâneo mantendo a epiderme resfriada e protegida, provocando um dano térmico que ativa os fibroblastos, sendo que a ativação dessas células é considerada essencial para o processo cicatricial (BOCK; NORONHA, 2013).

### 2.5.1 Mecanismo de ação

Segundo Bock e Noronha (2013), são consideradas radiofrequências (RF) as radiações eletromagnéticas entre 30 KHz e 3 GHz, e as frequências entre 0,5 MHz e 1,5 MHz são as mais utilizadas em equipamentos estéticos. A técnica consiste em gerar calor no tecido subcutâneo, mantendo a epiderme resfriada e protegida, sendo que o dano térmico ativa os fibroblastos, consideradas as células responsáveis pela produção das fibras de colágeno (BARBOSA; SILVA; ARAÚJO, 2018). As Radiofrequências atuam por conversão, e a passagem dessa onda pelo tecido do indivíduo, se converte em calor já que a aplicação de uma radiação

eletromagnética de comprimento de onda hectométrica gera um aumento da temperatura nos tecidos (CARVALHO *et al.*, 2011).

Bock e Noronha (2013) descreveram que quando a radiofrequência passa pelo tecido, pode produzir fenômenos devido ao aumento de temperatura, como a vibração iônica que consiste na atração e repulsão das cargas elétricas negativas dos íons, que estão presentes em todos os tecidos e ocorre quando a polaridade da corrente é modificada, isso gera um atrito iônico que irá resultar em conversão de calor de forma bastante eficaz; outro fenômeno que ocorre na passagem da RF é a rotação das moléculas dipolares, pois a composição do nosso corpo é em grande parte composta por moléculas de água, que quando expostas à RF, giram em torno do seu eixo aproximando as áreas de carga ao eletrodo de polaridade oposta, causando uma colisão entre os tecidos adjacentes; o último fenômeno consiste na distorção molecular, onde as moléculas e átomos eletricamente neutros e seus movimentos nulos, pois não possuem carga elétrica, faz com que ocorra uma conversão mínima de energia elétrica em calor. Dessa forma, a conversão é produzida pelos fenômenos físicos de movimento iônico, pela rotação das moléculas dipolares e através de distorção molecular (BOCK; NORONHA, 2013).

Segundo Bonjorno *et al.* (2019), a frequência é outro fator que influencia na profundidade da ação da RF, pois em frequências de ondas elevadas, a energia é rapidamente transferida através da superfície, enquanto em frequências baixas, a penetração da energia é mais profunda. Um estudo comparativo descrito por Bonjorno *et al.* (2019), entre RF capacitativa (possui um eletrodo com revestimento, isolando o corpo metálico da superfície da pele, formando assim um capacitor com os tecidos) e RF resistida (o eletrodo não é revestido e a energia da RF passa diretamente através do corpo e da placa neutra), encontrou diferenças relativas ao aumento e retenção da temperatura após 45 minutos de aplicação, medidos por um termômetro de pele. Os autores descreveram que embora o RF capacitativa tenha apresentado uma temperatura mais rápida, a RF resistiva obteve uma melhor retenção de temperatura 45 minutos após tratamento (60,3% resistiva vs 15,5% capacitativa).

Em geral, o aquecimento obtido pela RF diminui a distensão do tecido conjuntivo através da desnaturação do colágeno, que é produzido pelos fibroblastos, e a retração do tecido ocorre devido à desnaturação de uma tripla hélice; quando colágeno é aquecido, a proteína sofre uma transição, de estrutura cristalina e organizada para um estado de gel e o aumento dos colágenos tipos I e III na derme ocorrem de forma tridimensional, com continuidade por até três meses após o tratamento aleatório (BONJORNNO *et al.*, 2019).

De acordo com os autores supracitados, as reações dependem tanto do tempo como da temperatura, pois se o objetivo são as temperaturas elevadas, são necessários tempos de

exposição baixos, como temperaturas de 85°C durante um milissegundo ou 67°C durante três segundos são suficientes para produzir alterações estruturais ao colágeno, enquanto as temperaturas mais baixas devem ser utilizadas para prevenir queimaduras cutâneas, com tempos de exposição mais longos, tais como 43°C durante três a cinco minutos, repetidos quatro a seis vezes na mesma área, em intervalos de sete a dez dias entre sessões. Sabe-se também que a dosimetria de RF, para hipertermia, deve ser alcançada uma gama terapêutica entre 40°C e 45°C e durante a aplicação, a potência do equipamento pode ser regulada por movimentos de ida e volta, com o eletrodo pressionado contra a pele, em pequenas áreas, três vezes o tamanho do eletrodo ativo, até a temperatura desejada ser atingida (BONJORNIO *et al.*, 2019).

A condutividade elétrica depende de vários parâmetros, incluindo o tipo de tecido (em razão da vascularização do tamanho, da localização e da capacidade desse tecido receber radiação), a frequência da corrente elétrica assim como a temperatura do tecido, enquanto a distribuição de corrente elétrica, por outro lado, depende da geometria dos eletrodos (BELENKY *et al.*, 2012).

### **2.5.2 Classificação das radiofrequências**

As Radiofrequências que são utilizadas atualmente podem ser classificadas de acordo com o objetivo do uso, a quantidade de eletrodos, a forma que a radiação é transmitida ao paciente e a existência ou não de um sistema de esfriamento (MEYER; RONZIO, 2010). Quanto ao objetivo de uso, as técnicas podem ser ablativas quando sua aplicação é invasiva, sendo empregadas para o tratamento de dor crônica e câncer, ou não ablativas onde a aplicação não é invasiva, que é o caso da radiofrequência Newshape da Bioset utilizada nesse estudo (CARDOSO; RÉUS, 2016).

Quanto ao tipo de aparelho, existem duas formas de equipamentos de radiofrequência: capacitivo e resistivo e quanto aos tipos de eletrodos, estes podem ser classificados como monopolar, bipolar, tripolar, e multipolar (BONJOURNO *et al.*, 2019). A radiofrequência monopolar emite energia através de dois eletrodos, um deles é chamado de eletrodo ativo, que provoca uma grande densidade de corrente, gerando efeitos térmicos nos tecidos através de estimulação tecidual e o segundo eletrodo consiste em uma placa que fecha o circuito da corrente fazendo com que a energia retorne ao indivíduo (BORGES; SCORZA; JAHARA, 2010; MEYER; RONZIO, 2010).

O equipamento Newshape utiliza eletrodos bipolares, em que a corrente é limitada pela distância entre os dois eletrodos que podem estar separados ou contidos numa única ponteira

fixados a uma certa distância, um que desempenha o papel de dispersivo, também chamado de passivo (de maior área física) e o outro de eletrodo ativo (de menor área física) (BONJOURNO *et al.*, 2019). Na configuração tripolar e multipolar, existe um eletrodo monopolar associado a um bipolar, que cria dois pares ou mais de eletrodos bipolares (BONJOURNO *et al.*, 2019).

### 2.5.3 Efeitos

A Radiofrequência produz efeitos atérmicos e térmicos e o aumento da temperatura nos tecidos, pode gerar efeitos como: hiperemia cutânea profunda onde a dispersão da temperatura provoca um grande aumento na nutrição dos tecidos; aumento da elasticidade dos tecidos ricos em colágeno pois o incremento da temperatura promove a distensibilidade e diminui a densidade do colágeno (LOFEU, BRITO, BARTOLOMEI, 2015).

Agne (2009) observou que ocorre a neocolagenogênese e neoelastogênese pelo aumento da temperatura devido ao processo inflamatório controlado nos tecidos, com um aumento imediato de interleucina 1-Beta (IL-1b), fator de necrose tumoral alfa (TNF-a) e metaloproteinase de matriz 13 (MMP-13), esta última é marcadora pela desagregação da matriz extracelular, enquanto os níveis de metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1), proteína de choque térmico 47 e 72 (HSP47 e HSP72) e fator beta de crescimento transformador (TGF-b) mantêm-se elevados por dois dias. Substâncias que são responsáveis pela elasticidade como a tropoelastina e a fibrilina junto com o procolágeno I e III, são estimulados por 28 dias após o tratamento (AGNE, 2009).

A RF provoca a regulação positiva de certos genes de sirtuina (SIRT), favorecendo a deposição de novo colágeno e aumentando a longevidade dos fibroblastos (BONJOURNO *et al.*, 2019). Observou-se que o corpo responde a elevação da temperatura com a formação de uma substância denominada proteína de choque térmico (HSP), e o calor gerado pela RF estimula síntese de HSP no fibroblasto, provocando a expressão de TGF-beta1 que estimula o HSP-47 e HSP-72 a induzir fibroblastos para aumentar a produção de colágeno (BONJOURNO *et al.*, 2019).

Como efeitos biológicos da RF, considera-se o aumento da circulação arterial, o estímulo da drenagem venosa (pela reabsorção de catabólitos e redução de edemas nas áreas com processos inflamatórios), o incremento a vasodilatação e hiperemia na pele (ocorre um estímulo da oxigenação celular e também da acidez dos tecidos), o aumento da permeabilidade da membrana e o incentivo ao sistema imunológico e a redução dos radicais livres (BOCK; NORONHA, 2013; ULLMANN, 2008).

#### 2.5.4 Indicações e contra-indicações

As indicações relacionadas aos efeitos são inúmeras, entre elas: a melhora do aspecto da pele, incremento da elasticidade e textura da pele através do estímulo da neocolagênese, aumento da qualidade do colágeno e redução da flacidez tissular (BARBOSA; SILVA; ARAÚJO, 2018; TAGLIOLATTO, 2015).

O procedimento é contraindicado em indivíduos que apresentam alteração de sensibilidade cutânea local, telangiectasias, portadores de marca-passo cardíaco, processo inflamatório agudo, tuberculose ativa, infecção recente, aparelhos auditivos, neoplasias, gestantes, trombose venosa profunda, condições hemorrágicas ou probabilidade de esta ocorrer, diabéticos, doenças da tireoide, portadores de distúrbio vascular do colágeno, neoplasias malignas ativas ou recentes, ou qualquer histórico de doença que pode ser estimulada pelo calor. Além disso, o tratamento não é aconselhável sobre tatuagem ou maquiagem definitiva e enchimentos sintéticos (VIEIRA, 2016). O autor anteriormente citado, descreve que em processos inflamatórios agudos como pós-operatórios e acne ativas, a RF pode ser aplicada como terapia complementar tendo efeitos benéficos, porém a única cautela é que se deve estar atento é a temperatura máxima de aquecimento.

#### 2.5.5 Dosagem

Meyer *et al.* (2009) descreveram que através da promoção do aumento da elasticidade de tecidos ricos em colágeno, através de aumentos leves de temperatura da pele em torno de 5 a 6°C promovem o aumento da extensibilidade e reduz a densidade do colágeno favorecendo alterações como fibroedema gelóide e fibroses pós cirurgia plástica. No entanto o autor afirma que aumentos maiores de temperatura em torno de 40°C diminuem a extensibilidade e aumenta a densidade do colágeno, promovendo a diminuição da elasticidade em tecidos ricos em colágeno.

O colágeno liquefaz a temperaturas acima de 50°C, porém com aplicações de temperaturas que fiquem entre 40° e 45°C, a extensibilidade do tecido colagenoso aumenta (CARVALHO *et al.*, 2011).

### 2.5.5 Ações da radiofrequência no colágeno

Um estudo de Carvalho *et al.* (2011) que analisou os efeitos da radiofrequência em ratos wistar, demonstrou que até sete dias após as aplicações, o colágeno sofreu modificações tornando-se mais denso, com presença de neocolagêneses, porém após 15 dias não ocorreram mais evidências importantes na formação neocolágena, mas foi detectada a neoelastogêneses, que também esteve presente na análise de 21 dias, sugerindo que aplicações de radiofrequência devem ser feitas no mínimo com intervalo de sete dias e que há permanência de efeitos da radiofrequência no tecido colágeno até 15 dias.

A revisão realizada por Bock e Noronha (2013) conclui que os efeitos térmicos produzidos pela radiofrequência no tecido subcutâneo além de promover a contração das fibras colágenas, ativando os fibroblastos e produzindo novas fibras de colágeno (neocolagêneses), também promove a contração das fibras elásticas, levando a produção de neoelastogêneses.

Essa afirmação corrobora com outros estudos, nos quais observou-se que acomodações de temperaturas podem causar processos fisiológicos que melhoram a condição dos tecidos, estimulando a neoformação de colágeno e a formação de grande quantidade de vasos subepiteliais (FERNANDES; MENDONÇA 2009).

Um estudo realizado por Boisnic *et al.* (2017) investigou o uso da RF no processo de flacidez facial através de avaliações histológicas e bioquímicas. Os resultados demonstraram que a radiofrequência bipolar (RF), através de temperatura controlada, é capaz de aquecer as fibras de colágeno dérmico e induzir a remodelação do colágeno.

A radiofrequência mostrou-se eficiente na ativação de fibroblastos que são as células responsáveis pela produção de novo colágeno, condição essa, essencial para o fechamento adequado das lesões por pressão na pele.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 DESENHO DO ESTUDO**

Trata-se de um estudo do tipo experimental com intervenção em animal, randomizada. Os procedimentos foram aprovados pelo CEUA: n° 4017201117. Utilizou-se o checklist ARRIVE para a melhor descrição dessa pesquisa.

#### **3.2 LOCAL DO ESTUDO**

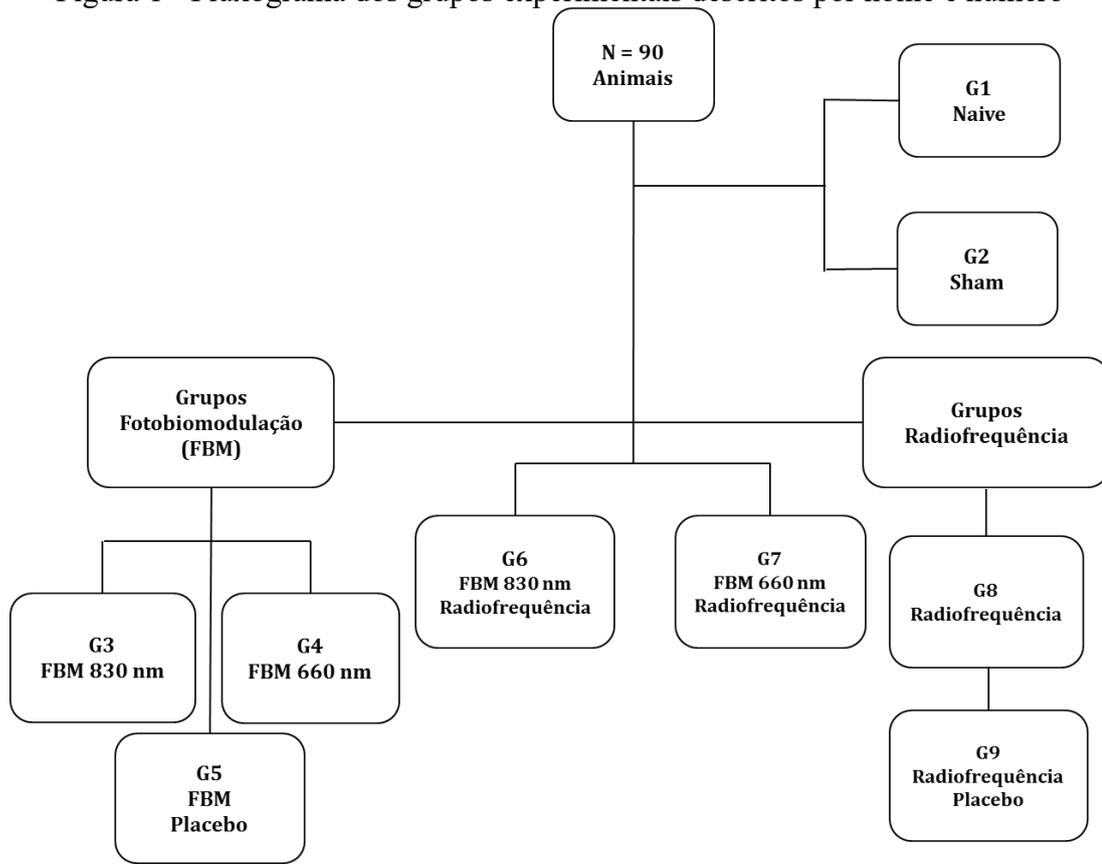
Os procedimentos experimentais foram realizados em uma sala anexa ao Biotério Setorial – Campus Araranguá, após a análise dos dados foi realizada no laboratório de avaliação e reabilitação do aparelho locomotor - LARAL, da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Araranguá.

#### **3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO**

##### **3.3.1 Delineamento experimental**

Foram utilizados 90 camundongos (45 animais para cada estudo independente) da espécie Swiss, de acordo com cálculo amostral (COHEN, 1988), adultos, com peso 20-35g, machos, adquiridos do biotério central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) localizado em Florianópolis. Os animais foram mantidos no Biotério setorial da cidade de Araranguá, por 24 dias. Os camundongos foram pesados e divididos randomicamente em 9 grupos, na primeira parte da pesquisa assim como na segunda parte, cada grupo contendo 10 camundongos conforme figura 1. Eles foram identificados por grupos e números.

Figura 1 - Fluxograma dos grupos experimentais descritos por nome e número



Fonte: autor.

Experimento – lesão por pressão em modelo experimental:

- G 1 – Naive (número animais 10)
- G 2 – lesão por pressão induzida (Sham; número animais 10)
- G 3 – lesão por pressão + FBM 830nm (Aplicação diária, número animais 10)
- G 4 – lesão por pressão + FBM 660 nm (Aplicação diária, número animais 10)
- G 5 – lesão por pressão + FBM placebo (Aplicação diária, número animais 10)
- G 6 – lesão por pressão + FBM 830 nm + radiofrequência (Aplicação diária, número animais 10)
- G 7 – lesão por pressão + FBM 660 nm + radiofrequência (Aplicação diária, número animais 10)
- G 8 – lesão por pressão + radiofrequência (Aplicação diária, número animais 10)
- G 9 – lesão por pressão + radiofrequência placebo (Aplicação diária, número animais 10)

No grupo naive não foram realizadas lesões e intervenções; no grupo sham foram realizadas as lesões mas não intervenções sendo que esse grupo foi utilizado como parâmetro

para a área da lesão; os grupos fotobiomodulação (FBM 830nm e FBM 660nm), radiofrequência e terapia combinada (FBM + Radiofrequência) receberam indução da lesão e as intervenções diariamente no mesmo horário por 14 dias. Foram 7 dias de adaptação dos animais no biotério, 3 dias de indução da lesão e 14 de intervenção, totalizando 24 dias de experimento.

### **3.3.2 Critérios de exclusão**

Animais com lesões prévias no local, que não atingissem o peso mínimo de 25 gramas ou que morressem ao longo do experimento.

### **3.4 VIÉS**

O risco de viés esteve relacionado à infecção na lesão dos animais.

## **3.5 PROCEDIMENTOS**

### **3.5.1 Acomodação dos animais**

Os camundongos foram mantidos em gaiolas isoladas respeitando-se o número máximo de animais permitidos em cada uma (4 em gaiolas pequenas e 10 em gaiolas grandes), com acesso a água e ração, ventilação, controle de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade (60–80 %) em ciclo de 12 horas claro-escuro. Os experimentos foram realizados durante a fase clara do ciclo (7 - 19 horas).

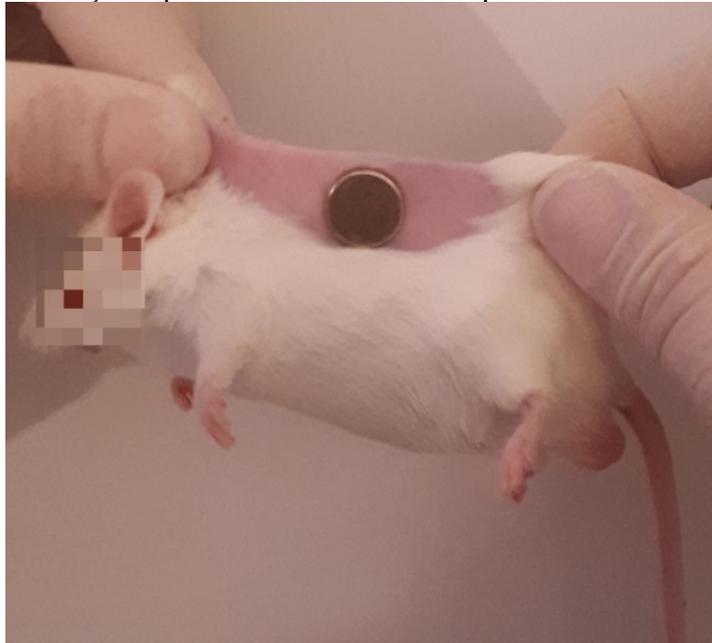
### **3.5.2 Procedimento de realização da lesão experimental**

Foram realizados dois estudos independentes com 45 animais em cada, sendo que os procedimentos foram realizados pelo mesmo pesquisador, exatamente da mesma forma para os dois estudos.

No primeiro dia do experimento, após os 7 dias de adaptação, os animais foram anestesiados via intraperitoneal com cetamina-0,1 mL/100g associado a xilazina-0,07mL/100g, e posicionados em uma prancha cirúrgica para realização da depilação por tração manual de pelos (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2013).

De acordo com estudo realizado por Garza-Rodea, Knaän-Shanzer e Bekkum (2011), com os animais ainda anestesiados, realizou-se uma prega no dorso dos animais e nessa região foram posicionados 2 ímãs, que realizaram compressão do tecido cutâneo (figura 2). Os ímãs tinham 12 mm de diâmetro e 0,5 mm de espessura com 1000 Gaus de força magnética (Magnetic Source, Castle Rock, CO) (GARZA-RODEA; KNAÄN-SHANZER; BEKKUM, 2011). Os ciclos de colocação dos ímãs, para o modelo experimental, foram de 12 horas com os ímãs para o período de isquemia, seguindo de retirada e repouso de 12 horas (reperfusão). Foram aplicados 3 ciclos em cada animal do experimento, ou seja 3 dias consecutivos até que o modelo experimental para lesão por pressão estivesse completo.

Figura 2 - Colocação e posicionamento de ímãs para induzir lesão por pressão



Fonte: autor.

### 3.5.1 Intervenções

Após os 3 dias de indução da lesão por pressão no dorso dos animais, iniciaram-se as intervenções. No Grupo Naive não foram induzidas lesões e não foram realizadas intervenções, esse grupo foi utilizado como parâmetro para temperatura. No grupo Sham as lesões foram induzidas com os ímãs, porém nenhuma intervenção foi feita.

O grupo experimental fotobiomodulação recebeu FBM diariamente desde o primeiro dia de intervenção até o 14 dia (figura 3). O equipamento utilizado, foi o FBM de diodo de Arseneto de Gálio Aluminizado (GaAlAs), da marca Ibramed® Equipamentos Médicos, que emite um comprimento de onda de 830 nm, feixe contínuo em um dos grupos e os parâmetros

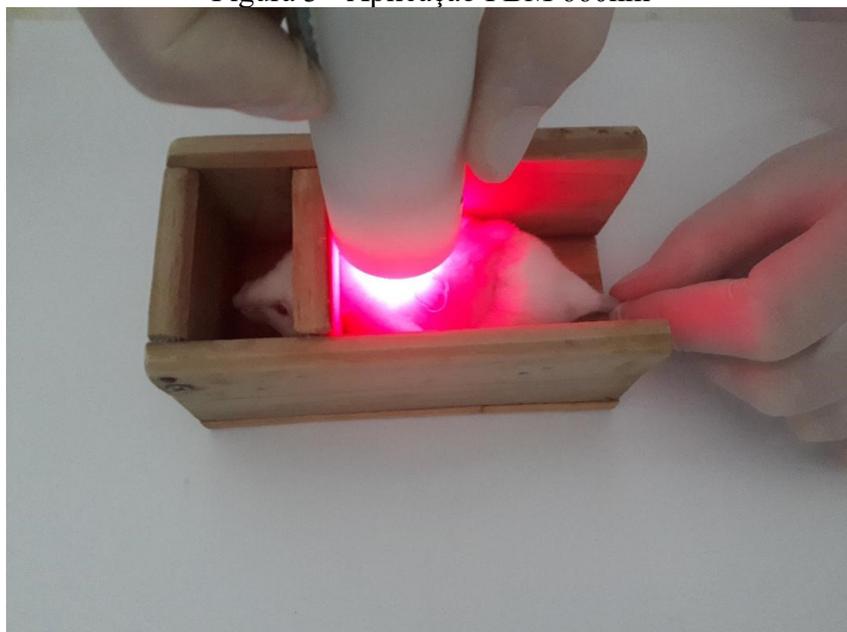
utilizados estão descritos da tabela 1. No outro grupo FBM, foi aplicado FBM de Arseneto de Gálio, Índio e Fósforo (AlGaInP) marca Ibramed® Equipamentos Médicos, 660nm, feixe contínuo e os parâmetros utilizados estão na tabela 1 e foram propostos de acordo com estudo realizado por Hendler (2019). O grupo placebo recebeu a intervenção da mesma forma, porém sem a emissão do FBM.

Tabela 1 - Parâmetros da fotobiomodulação com comprimento de onda 660 nm e 830 nm

FBM	660nm
Pontos de aplicação	5
Fluência por ponto (J/cm <sup>2</sup> )	12
Fluência total (J/cm <sup>2</sup> )	168
Tempo (seg)	24
Energia por ponto (J)	0.7
Energia Total (J)	9.8
Area do feixe (cm <sup>2</sup> )	0,06310
FBM	830nm
Pontos de aplicação	5
Fluência por ponto (J/cm <sup>2</sup> )	6.54
Fluência total (J/cm <sup>2</sup> )	91.56
Tempo (seg)	24
Energia por ponto (J)	0.7
Energia Total (J)	9.8
Area do feixe (cm <sup>2</sup> )	0,11600

Fonte: (HENDLER, 2019).

Figura 3 - Aplicação FBM 660nm



Fonte: autor.

No grupo experimental radiofrequência, os animais foram posicionados na caixa de posicionamento (figura 5) e a aplicação foi diária, o aparelho utilizado foi o New Shape da Bioset®, e o meio de contato do aparelho com a pele foi a glicerina. Utilizou-se os seguintes parâmetros: tempo 4 minutos, potência de 22 watts. Inicialmente a glicerina foi aplicada nas regiões das bordas das lesões por pressão e pele adjacente e a manopla bipolar foi deslizada nas bordas da ferida da região dorsal do animal através de movimentos lentos até no mínimo 38°C (figura 4). A temperatura foi mensurada através de termômetro com posicionamento a 90° em relação a pele e mantido por 2 minutos após alcançar a temperatura acima descrita. A aplicação da radiofrequência realizou-se sempre da mesma forma e de acordo com a análise do projeto piloto (APÊNDICE A) (CARVALHO *et al.*, 2011).

Figura 4 - Aplicação da radiofrequência com manopla bipolar

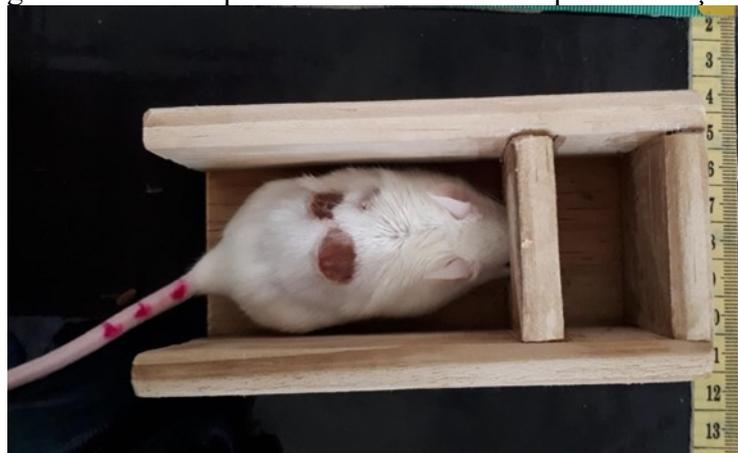


Fonte: autor

No grupo experimental, que recebeu radiofrequência + fotobiomodulação os protocolos de aplicação foram os mesmos descritos acima, a FBM (660nm e o 830nm) foi sempre aplicada antes da Radiofrequência, para que não houvesse interferência do meio de contato (glicerina), nas aplicações da FBM.

Nos grupos experimentais FBM placebo 660nm, 830nm e radiofrequência placebo, as intervenções ocorreram da mesma forma que os grupos FBM 660nm, 830nm e radiofrequência, porém sem emissão de onda e calor respectivamente.

Figura 5 - Imagem da caixa de posicionamento utilizada para avaliação e intervenções



Fonte: autor.

Quadro 1 - Resumo do passo a passo dos procedimentos experimentais e coleta de dados

Chegada dos animais no biotério e manutenção por 7 dias para adaptação
Dia 01: anestesia e remoção dos pêlos; após anestesia colocação dos imãs ( Fig. 2).12h isquemia/12 h reperfusão. Divisão dos animais em grupos de 4.
Dia 02: colocação dos imãs ( Fig. 2). 12h isquemia/12 h reperfusão.
Dia 03: colocação dos imãs ( Fig. 2). 12h isquemia/12 h reperfusão.
Dia 04: separação dos animais em grupos com 5; posicionamento caixa (Fig. 5) e avaliação 1 da lesão (máquina fotográfica e máquina termográfica). Após separados, cada grupo recebeu a intervenção proposta (primeiro dia de intervenção).
Dias 05, 06, 07, 08, 09, 10: aplicação da intervenção proposta para cada grupo.
Dia 11 avaliação 2: posicionamento caixa (Fig. 5) e avaliação 2 da lesão (máquina fotográfica e máquina termografia). Após, aplicação da intervenção proposta para cada grupo.
Dia 12,13,14,15,16, 17: aplicação intervenção proposta para cada grupo.
Dia 18: avaliação 3 posicionamento caixa (Fig. 3) e avaliação 3 da lesão (máquina fotográfica e máquina termográfica). Eutanásia por dose excessiva de medicação (cetamina e xilazina).

Fonte: autor.

### 3.6 INSTRUMENTOS E TÉCNICAS DE COLETA DE DADOS

Depois de 7 dias de adaptação no biotério e antes do início das intervenções, foi realizada a primeira avaliação com o primeiro grupo de 45 camundongos, 7 dias depois a segunda avaliação e 14 dias depois da primeira avaliação foi realizada a última. O mesmo foi feito para o segundo grupo de camundongos (45 animais) sendo que as mesmas também foram

cegadas, ou seja um avaliador independente que não participou dos outros procedimentos da pesquisa, avaliou os animais e dividiu-os aleatoriamente, por sorteio com envelope lacrado e para identificação dos grupos utilizou símbolos (por exemplo G1, G2) para os 9 grupos marcando os animais com cores e números diferentes para identificação dos mesmos, sem ter conhecimento de quais intervenções cada grupo receberia

### **3.6.1 Avaliação cicatricial**

A avaliação da área da lesão foi comparada através de análise computadorizada de fotos digitais padronizadas que foram feitas pela máquina “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 6), sendo posteriormente analisada por meio do software Image J®, da região onde foram aplicadas as intervenções (HENDLER, 2019).

### **3.6.2 Termografia**

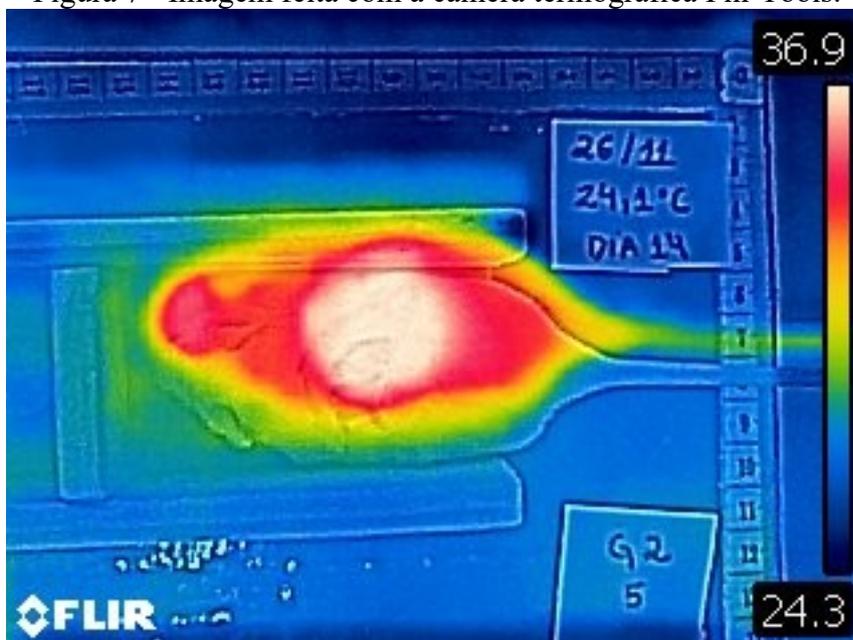
O uso da termografia infravermelha (TRI) na medicina, começou a ser utilizada, considerando-se que o aumento da temperatura corporal causa uma quantidade maior de radiação emitida (JOHN *et al.*, 2016). Portanto, um aumento na vascularização, que é uma marca registrada de muitas alterações patológicas, como inflamação ou neoplasias com aumento da atividade metabólica, leva ao aumento da temperatura, que pode ser detectado por uma câmera termográfica infravermelha (JOHN *et al.*, 2016). Para verificar a temperatura local, foram realizados os registros com o termógrafo da marca FLIR Tools C2 (figura 7), que pode estar alterada devido ao processo inflamatório ou pelo aumento da circulação nas lesões ou pelo aumento da circulação nessas áreas. O software para análise foi o Flir Tools™. e a área mensurada foi a região branca das imagens (figura 7). Para a avaliação os animais eram colocados em uma caixa de posicionamento e as imagens realizadas com uma régua de distância, para padronizar as fotos e as imagens do termógrafo (figura 6).

Figura 6 - Padronização da distância (20cm) entre o animal e a câmera para análise macroscópica e termográfica



Fonte: (HENDLER, 2019).

Figura 7 - Imagem feita com a câmera termográfica Flir Tools.



Fonte: autor

### 3.7 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).

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos a análise da normalidade pelo método estatístico Shapiro Wilk, e após essa análise verificou-se que os dados apresentaram distribuição normal. A análise estatística para a área da lesão e temperatura, foi realizada através do teste ANOVA de medidas repetidas, com post-hoc teste de Bonferroni e valor de  $p < 0,05$ . Utilizou-se o programa Graphpad prism 8.0 para o processamento de dados. Foi realizada a correlação das duas variáveis em 3 tempos, através da correlação de pearson. A análise estatística foi cegada, ou seja, um avaliador independente, que não participou dos outros processos do experimento, recebeu os dados com os códigos (G1, G2, G3...) e realizou a análise estatística.

### 3.9 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa está fundamentada na PORTARIA NORMATIVA Nº 67/2016/GR, de 11 de janeiro de 2016 a qual dispõe sobre o Regimento Interno da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Federal de Santa Catarina e diz que a CEUA-UFSC tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UFSC e nos limites de suas atribuições, o disposto na Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, em seu Decreto regulamentador 6.899, de 15 de julho de 2009, e nas resoluções normativas do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal), e foi aprovado pela CEUA sob número nº 4017201117 (ANEXO A).

### 3.10 VARIÁVEIS

O estudo teve como variáveis independentes o peso (g) e idade (meses) de natureza quantitativa contínua. Como variáveis dependentes utilizou-se a análise macroscópica/foto da lesão (cm<sup>2</sup>), e a termografia (°C), todos de natureza quantitativa discreta.

## 4 RESULTADOS

Para esse estudo, foram utilizados 90 camundongos Swiss machos, idade média de 60 dias. Não houve perdas amostrais, portanto cada grupo conteve 10 camundongos, totalizando 9 grupos. O experimento foi dividido em 2 blocos de 45 animais, onde os 9 grupos continham 5 animais cada. Os resultados do experimento baseiam-se nas avaliações macroscópicas da área da ferida realizadas por um avaliador cego, através de imagens de uma câmera digital e na temperatura da área da lesão, realizadas através de registro pela câmera termográfica Flir tools.

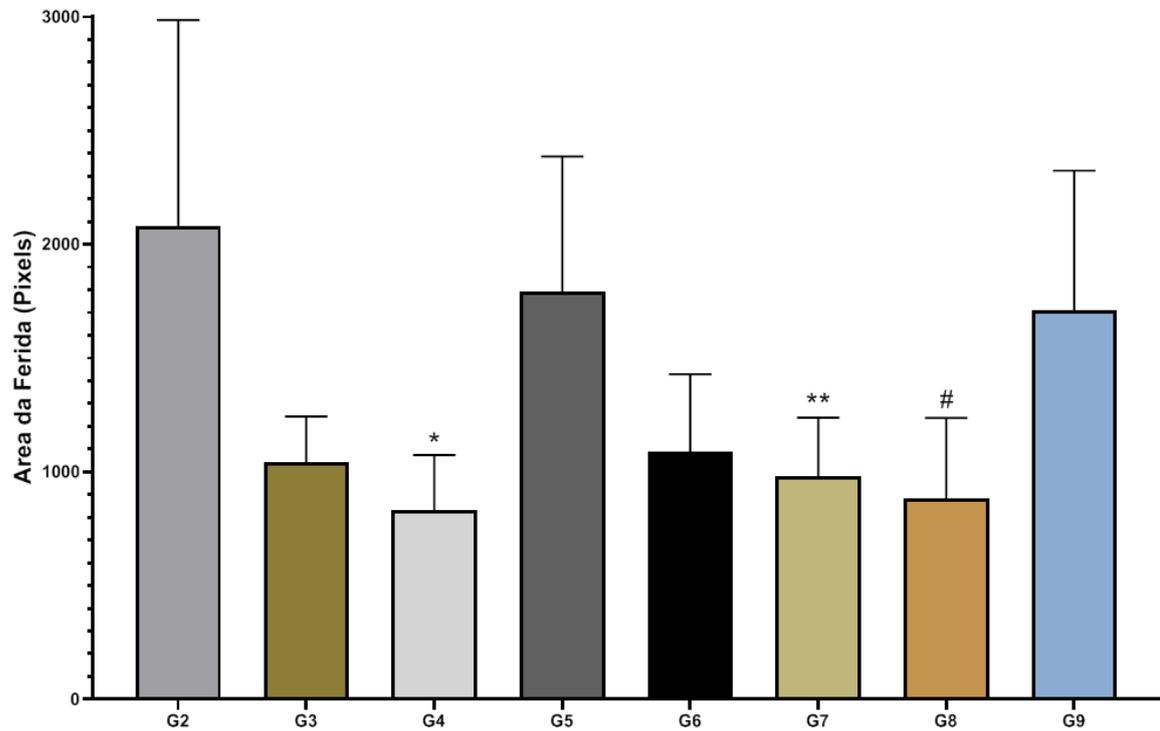
### 4.1 COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS DA ANÁLISE MACROSCÓPICA

Quanto a análise macroscópica da área das feridas, na primeira e segunda avaliações não houve diferenças significativas entre os grupos. Considerando-se a última avaliação, o grupo FBM 660nm, o grupo FBM 660 + radiofrequência e o grupo radiofrequência apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo Sham (figura 8).

Entre o grupo (FBM 830 e o grupo FBM placebo, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ); da mesma forma o grupo FBM 660nm que apresentou diferença significativa do grupo FBM placebo e do grupo radiofrequência placebo (figura 8).

Os grupos FBM 660nm + radiofrequência e o grupo radiofrequência foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) do grupo FBM placebo. E o grupo Radiofrequência apresentou diferença significativa do grupo radiofrequência placebo (figura 8).

Figura 8 - Análise macroscópica através de imagens



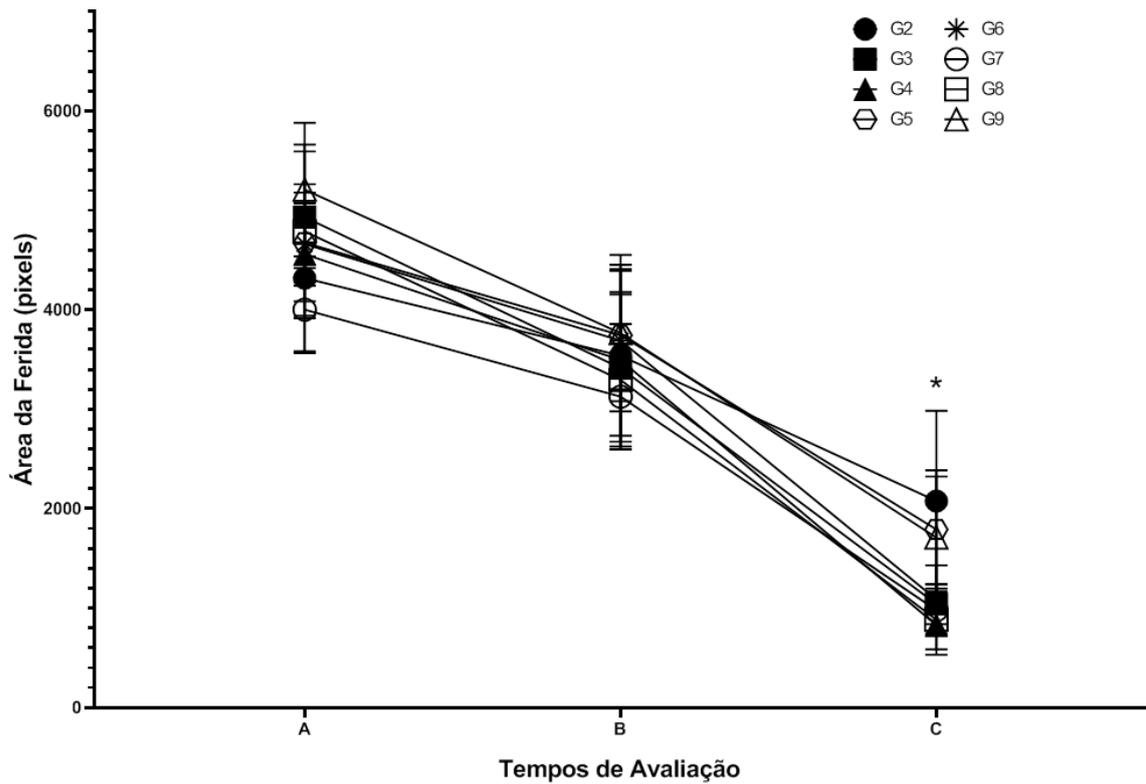
Comparação entre os grupos (\*, \*\*, # = valor  $p < 0,05$ ). Grupo 3 (FBM 830nm) está sem símbolo, embora tenha apresentado diferença significativa.

Fonte: autor.

#### 4.2 COMPARAÇÃO INTRAGRUPOS DA ANÁLISE MACROSCÓPICA

Na figura 9, observa-se que entre a primeira avaliação e a segunda, não houve diferenças significativas. Já na comparação entre a primeira avaliação e a última (todos os grupos foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) na comparação intragrupos, ou seja comparando-se início e fim de cada intervenção).

Figura 9 - Dados obtidos nos três tempos de avaliação



Os dados obtidos nos três tempos de avaliação demonstraram a redução da área de lesão durante as três análises realizadas no estudo. A: Primeira avaliação pós indução da lesão experimental. B: 7 dias após a primeira avaliação. C: 14 dias após a primeira avaliação.

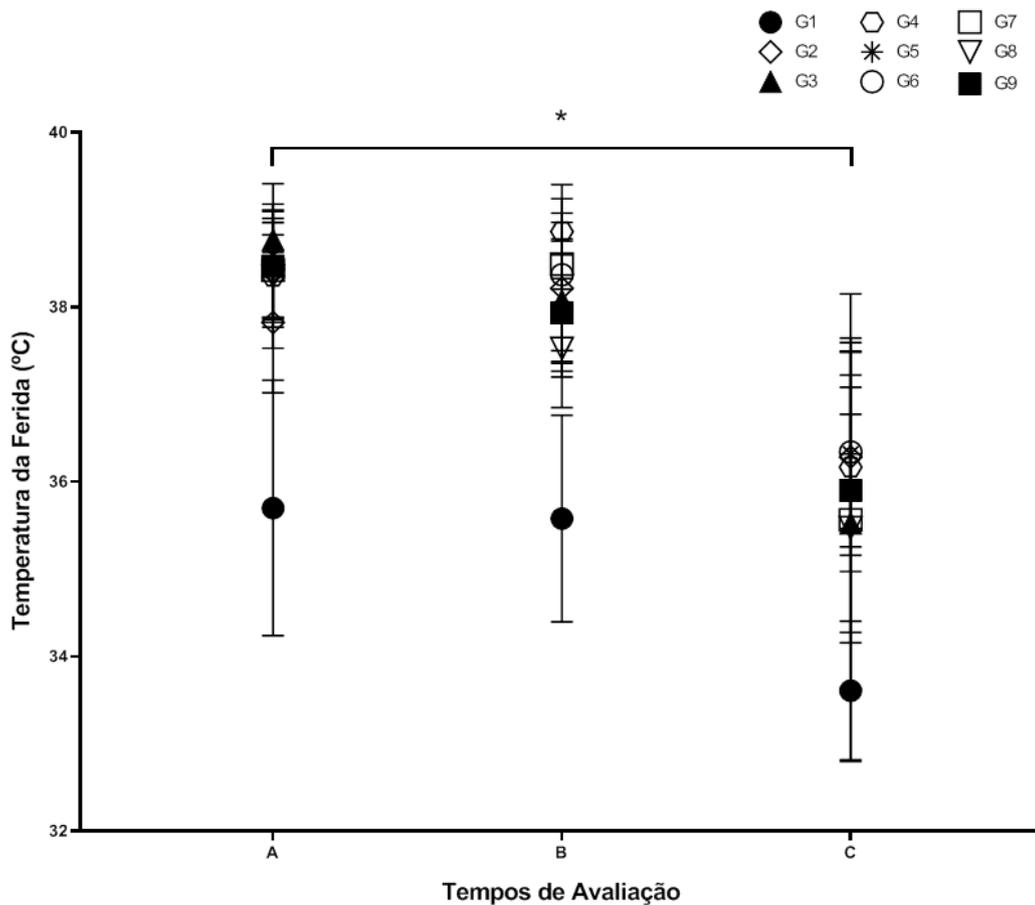
\*  $p < 0,05$ , todos os grupos comparando-se A e C.

Fonte: autor.

#### 4.3 ANÁLISE TERMOGRÁFICA

De acordo com a figura 10, na análise inicial e final nos grupos estudados, houve diferença em todos os grupos, exceto no grupo Sham que não obteve  $p < 0,05$ .

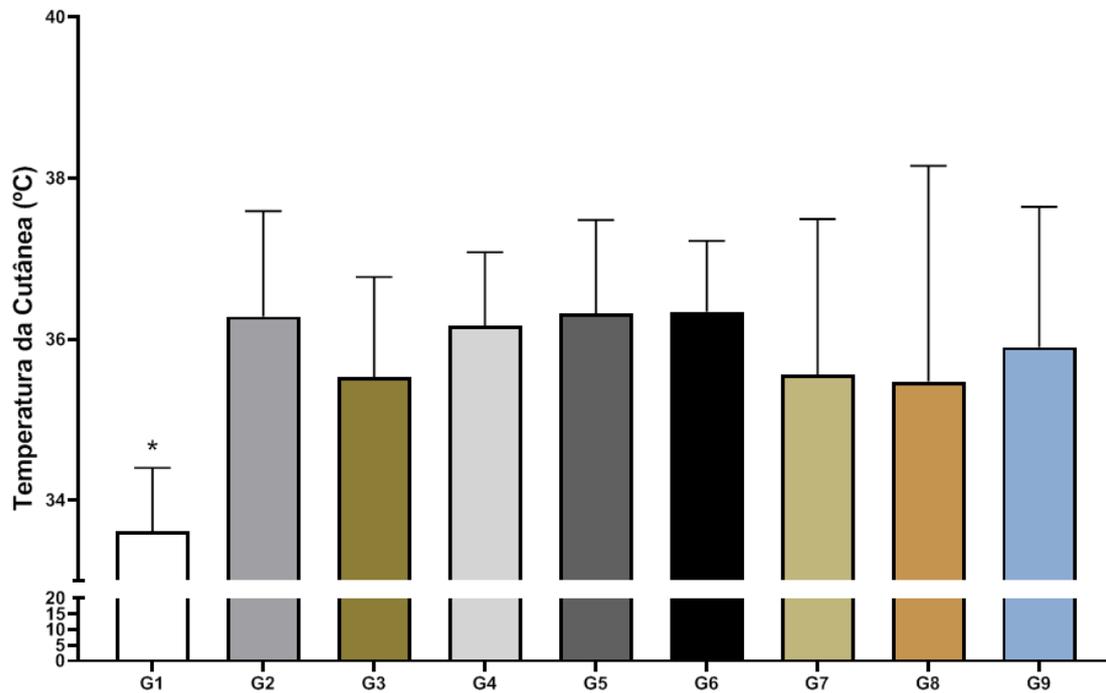
Figura 10 - Gráfico referente a mensuração da temperatura na área da lesão



A: Primeira avaliação pós indução da lesão por pressão. B: apresenta os dados referentes ao 7º dia após a primeira avaliação. C: Demonstra a última avaliação realizada no 14º dias após a primeira avaliação.  
 \*  $p < 0,05$ , todos os grupos apresentaram diferença significativa, com exceção do grupo 2.  
 Fonte: autor.

Quanto a temperatura da área da lesão, na comparação entre os grupos (figura 11), o grupo Naive foi diferente de todos os outros nos três tempos. Os outros grupos avaliados não apresentaram diferença significativa entre si.

Figura 11 - Diferença entre os grupos quanto a temperatura da área da lesão, verificado através da câmera termográfica. G1 \* ( $p < 0,05$ )



Fonte: autor.

#### 4.4 CORRELAÇÃO DAS DUAS ANÁLISES NOS TRÊS TEMPOS

Quanto a correlação de Pearson de duas análises, identifica-se que na avaliação 1, a área da lesão e a temperatura da lesão do grupo sham apresentam uma correlação moderada, enquanto os outros grupos apresentam correlação fraca ou inexistente (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JUNIOR, 2009).

Quadro 2 - Correlação entre as variáveis Termografia (T) e área da lesão (A) analisadas no tempo 1

	A Sham	A FBM 830	A FBM 660	A FBM placebo	A FBM 830 + Radio-frequência	A FBM 660 + Radio-frequência	A Radio-frequência	A Radio-frequência placebo
T SHAM	0,35							
T FBM 830		0,06						
T FBM 660			-0,41					
T FBM placebo				0,25				
T FBM 830+Radiofrequência					0,21			
T FBM 660+Radiofrequência						0,09		
T Radiofrequência							0,16	
T Radiofrequência placebo								-0,25

Fonte: autor.

Na segunda avaliação (avaliação 2), todos os grupos apresentaram correlação inexistente (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JUNIOR, 2009).

Quadro 3 - Demonstra a correlação entre as variáveis Termografia (T) e área da lesão (A) analisadas no tempo 2

	A Sham	A FBM 830	A FBM 660	A FBM placebo	A FBM 830 + Radio-frequencia	A FBM 660 + Radio-frequencia	A Radio-frequencia	A Radio-frequencia placebo
T SHAM	-0,06							
T FBM 830		-0,25						
T FBM 660			-0,30					
T FBM placebo				-0,12				
T FBM 830 + Radiofrequencia					0,10			
T FBM 660 + Radiofrequencia						-0,42		
T Radiofrequência							-0,37	
T Radiofrequencia placebo								-0,08

Fonte: autor.

Na avaliação 3, os grupos FBM 660, FBM placebo, e FBM 660+radiofrequência não apresentaram correlação entre a área da lesão e a temperatura da lesão; o grupo Sham, FBM 830 e radiofrequência mostraram fraca correlação, o grupo radiofrequência placebo correlação média e o grupo FBM 830+radiofrequência apresentou grande correlação. O grupo FBM 830nm + radiofrequência, apresentou forte correlação entre a área de lesão e a temperatura da lesão (FIGUEIREDO FILHO; SILVA JUNIOR, 2009).

Quadro 4 - Demonstra a correlação entre as variáveis Termografia (T) e área da lesão (A) analisadas no tempo 3

	A Sham	A FBM 830	A FBM 660	A FBM placebo	A FBM 830 + Radio-frequencia	A FBM 660 + Radio-frequencia	A Radio-frequencia	A Radio-frequencia placebo
T SHAM	0,24							
T FBM 830		0,22						
T FBM 660			-0,07					
T FBM placebo				-0,18				
T FBM 830+Radiofrequencia					0,80			
T FBM 660+Radiofrequencia						-0,68		
T Radiofrequência							0,29	
T Radiofrequencia placebo								0,43

Fonte: autor.

## 5 DISCUSSÃO

Esse estudo teve como objetivo, verificar a eficácia da fotobiomodulação e da radiofrequência na cicatrização das lesões por pressão em camundongos. Existem diferentes formas para se avaliar as lesões por pressão, como por exemplo, a análise da área da lesão, onde através de imagens, é possível realizar a avaliação clínico-fotográfica, quantificar as áreas superficiais e as modificações teciduais durante o tratamento, o que permite demonstrar e quantificar a evolução dinâmica da cicatrização de lesões cutâneas (MINATEL *et al.*, 2009). Outra maneira para avaliação de tais lesões é a termografia, que tem demonstrado ser um método eficiente para investigar a temperatura da pele e a circulação periférica e tem sido utilizada para medir a radiação infravermelha emitida pelos tecidos, pois uma temperatura elevada pode estar relacionada a uma reação enzimática mais forte, sugerindo um aumento do fluxo sanguíneo local, ou lesões crônicas isquêmicas, que podem apresentar uma temperatura mais baixa pela diminuição do fluxo sanguíneo (LEITE *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2020; NEVES *et al.*, 2016).

A pesquisa experimental incluindo modelos animais, visa reproduzir a cicatrização de lesões de pele em humanos, desempenhando um papel fundamental na compreensão dos mecanismos celulares e fisiológicos envolvidos na cicatrização de feridas e no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, bem como no aprimoramento das já existentes, como por exemplo os agentes eletrofísicos, que podem ser utilizados para a cicatrização de feridas crônicas (KWAN *et al.*, 2019; PELOW *et al.*, 2010). Estudos demonstraram que abordagens de fisioterapia são promissoras para a cicatrização de feridas, como o uso de agentes eletrofísicos e entre os mais utilizados de acordo com o American College Of Physician, destacam-se a fotobiomodulação, o ultrassom terapêutico e a eletroestimulação, que dentre outras ações, atuam no processo inflamatório e estimulam a produção adequada de colágeno que é extremamente necessário para o reparo tecidual (BARNES *et al.*, 2014; CULLUM *et al.*, 2011; GOULD *et al.*, 2015; PETZ *et al.*, 2020). Neste contexto foram eleitos dois agentes eletrofísicos para esse estudo: a FBM, agente bastante conhecido para o reparo tecidual mas com grandes lacunas quanto a parâmetros utilizados; e a radiofrequência, técnica utilizada na prática clínica para alterações de pele, mas que pouco se sabe sobre sua ação no processo de cicatrização (CEPEDA *et al.*, 2016; PELOW *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2010).

## 5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Kwan *et al.* (2019), realizaram uma avaliação sistemática, sobre a eficácia de agentes eletrofísicos (descritos como biofísicos no estudo) na cicatrização de úlceras nos pés diabéticos (tipo de lesão de pele crônica), através de estudos de células e pesquisas experimentais em animais. Os agentes eletrofísicos incluídos na revisão foram: estimulação elétrica, campo eletromagnético pulsado, ondas de choque extracorpóreas, fotobiomodulação e ultrassom, comparados à simulação, controle ou outros agentes eletrofísicos, onde foram avaliadas as medidas objetivas de cicatrização e tecidos. Com base na análise macroscópica da porcentagem do tamanho original da ferida, o campo eletromagnético pulsado e a fotobiomodulação com FBM de baixa intensidade (LBI) demonstraram um benefício clínico significativo na cicatrização de úlceras diabéticas, em comparação ao controle ou o placebo.

Os dados do estudo de Kwan *et al.* (2019), corroboram com os encontrados no presente estudo, que através das medidas da área da lesão, demonstraram a eficácia de dois agentes eletrofísicos: fotobiomodulação e radiofrequência. Quando comparados aos grupos placebos, a FBM 830nm, a FBM 660 nm, a radiofrequência e a terapia combinada da FBM 660 + radiofrequência demonstraram ser mais eficazes que o placebo na cicatrização do reparo tecidual, ou seja, na redução da área da lesão, assim como a FBM 660nm, FBM 660 + radiofrequência e a radiofrequência, que também demonstraram ser mais eficientes que grupo controle.

Os agentes eletrofísicos têm como objetivo, entre outras ações, estimular o processo de cicatrização. A escassa literatura descreve a utilização da radiofrequência para o tratamento de alterações da pele, pois estudos demonstraram que além de promover a contração das fibras colágenas, ativando os fibroblastos e produzindo novas fibras de colágeno (neocolagênese), a RF também promove a contração das fibras elásticas, levando a produção de neolastogênese (BOCK; NORONHA, 2013; BOISNIC *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2011; FERNANDES; MENDONÇA, 2009).

Assim, justifica-se pesquisar o uso da radiofrequência para fins como o reparo tecidual como uma nova opção para a cicatrização de lesões crônicas da pele, visto que existe uma enorme lacuna na literatura quanto ao tema. No presente estudo, dados macroscópicos demonstraram uma redução significativa da área da lesão nos animais, com a utilização da radiofrequência comparando-se a mesma com o grupo placebo e o grupo controle. Esses dados corroboram com estudo de Carvalho *et al.* (2011), pela redução do tamanho da área da lesão, e

esses autores explicam tal diminuição, pelo fato de que a RF age estimulando os fibroblastos promovendo consequentemente neocolagenase e neoelastogenase.

A pesquisa descrita a seguir, teve como objetivo identificar os efeitos de 3 sessões da Radiofrequência na cicatrização da pele de ratos. A última avaliação macroscópica mostrou fechamento de 90% das feridas no grupo controle enquanto no grupo que recebeu Radiofrequência 60% das feridas foram reepitalizadas com uma diferença significativa ( $p = 0,018$ ), demonstrando que a RF produziu efeitos que retardaram a cicatrização, especulando-se que a mesma poderia produzir efeitos negativos no processo cicatricial (CEPEDA *et al.*, 2016).

Os achados do nosso estudo piloto, demonstraram que apenas 3 aplicações de RF também apresentaram um menor fechamento macroscópico das lesões, que o grupo controle. Porém, resultados contrários ao estudo de Cepeda *et al.* (2016) foram encontrados e foram verificados resultados promissores quando aplicadas sessões diárias de RF por 14 dias, demonstrando um fechamento macroscópico das lesões por pressão mais eficiente com relação ao grupo controle e com diferença significativa entre a primeira e a última avaliação ( $p < 0,05$ ).

Essas divergências podem ser explicadas tanto pela utilização do tipo de aparelho, que nesse estudo foi a RF bipolar e no outro estudo unipolar, quanto a frequência de aplicações que foi diária nesse estudo e no de Cepeda *et al.* (2016) foram 3 sessões. Observou-se também nesse estudo, que houve uma redução significativa da área macroscópica da lesão no grupo radiofrequência, no grupo radiofrequência combinado a fotobiomodulação 660nm, comparados aos grupos placebos e controle, e na avaliação do antes e depois das intervenções, divergindo dos achados de Cepeda *et al.* (2016).

No presente estudo, além da RF, a fotobiomodulação foi utilizada como intervenção para o reparo tecidual, destacando-se o uso do FBM como agente eletrofísico estudado. A FBM de baixa intensidade é considerada útil para auxiliar no tratamento das lesões de pele, no entanto, a determinação de parâmetros de irradiação, como comprimento de onda, energia, fluência, potência, irradiação, duração do pulso, tempo de tratamento, e as características clínicas individuais estão diretamente relacionadas à eficácia dessa terapia no processo de reparo tecidual (PETZ *et al.*, 2020).

A fotobiomodulação com diferentes parâmetros, de acordo com Kwan *et al.* (2019) mostrou ser eficiente no fechamento de feridas, através de fatores como produção de colágeno, aumento da migração celular, viabilidade tecidual, fatores de crescimento e expressão gênica e a análise histopatológica, e também mostrou uma redução nas células inflamatórias e um aumento na vascularização, após a irradiação em comparação ao grupo controle.

Um estudo de Rodrigo *et al.* (2009), avaliou o reparo de feridas no dorso de ratos tratados com FBM vermelho, infravermelho, ou ambos, aplicados direta ou indiretamente nas feridas, utilizando análise histológica e efeitos sistêmicos. A aplicação da FBM em comprimentos de onda de 830 ou 685nm apresentou efeitos sistêmicos sobre o processo de reparação de feridas cutâneas, sendo encontrado um efeito sistêmico do FBM nas feridas localizadas mais distantes do ponto de aplicação do FBM. A aplicação combinada de FBMs vermelhos e infravermelhos resultaram em efeitos sistêmicos mais evidentes na reparação de feridas cutâneas produzidas em ratos, do que a aplicação de apenas um comprimento. Nosso estudo realizou avaliação macroscópica e termográfica e nesse sentido houve uma superioridade da FBM 660 nm em relação ao 830nm, pois o 660nm e o 660 nm combinado com RF, foram superiores aos grupos placebo e o controle, divergindo do estudo acima descrito, embora sem diferença significativa entre os grupos e sem análise histológica para determinar as alterações celulares em cada grupo.

O estudo de Ramos *et al.* (2018) avaliou a ação da terapia a FBM de baixa potência, do tipo arseneto de galio aluminizado (InGaAlP), comprimento de onda de 660 nm, modo de emissão contínuo, no processo de cicatrização de feridas, em cinco grupos de ratos, que receberam uma incisão dorsal. Os grupos 1 e 3 foram tratados com FBM 660 nm, os grupos 2 e 4 receberam uma e duas aplicações FBM placebo, respectivamente e o grupo 5 era o controle. A avaliação macroscópica da área de lesão revelou uma maior diminuição da área ferida nos grupos tratados quando comparados ao placebo, assim, a utilização do FBM influenciou o processo de reparo a nível macroscópico dos grupos tratados, quando comparados com os grupos placebo, mostrando a eficácia do FBM na modulação inflamatória e na cicatrização de feridas. O estudo acima descrito corrobora com os achados do presente estudo, onde três dos quatro grupos que foram irradiados com a fotobiomodulação, apresentaram diferença significativa quando comparados ao grupo placebo, e dois quando comparados com o grupo controle na avaliação macroscópica, ou seja na redução da área das lesões.

Diferentes resultados podem ser encontrados no que se refere a utilização da fotobiomodulação na cicatrização de lesões crônicas, como mostra uma revisão sistemática realizada por Peplow *et al.* (2010), que revisou estudos experimentais com FBM para cicatrização de feridas em camundongos e ratos, para avaliar os possíveis efeitos cicatrizantes desse tratamento em animais de experimentação. A maioria dos estudos empregou comprimentos de onda dentro do espectro vermelho visível (630-685 nm) e relatou benefícios significativos da irradiação FBM na cicatrização de feridas. Um estudo demonstrou resultados superiores com irradiação FBM 820 nm comparado com 635, 670 ou 720 nm; outro estudo

reportou melhores resultados com irradiação de 633 nm, e outros três estudos indicaram que foram encontrados os melhores resultados com irradiação utilizando 660 nm nas fases iniciais da cicatrização, enquanto o tratamento com irradiação 780 nm apresentou resultados positivos em todas as fases do reparo tecidual. Os dados corroboram com os do presente estudo, em que a fotobiomodulação 660nm foi superior a 830nm na redução macroscópica das lesões dos camundongos, embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre os dois grupos.

As células denominadas fibroblastos, são um dos elementos-chave no processo de cicatrização de feridas, encontradas no tecido conjuntivo, que é responsável por sintetizar a matriz extracelular e o colágeno durante a fase de proliferação (SOLMAZ *et al.*, 2017). Os autores supracitados realizaram um estudo utilizando a fotobiomodulação, em modelo celular *in vitro* e na cicatrização de feridas *in vivo* com animais experimentais, utilizando duas irradiações diferentes: 635 e 809 nm. As células foram examinadas em três momentos por meio de exames histológicos após as irradiações a FBM, e posteriormente as feridas cutâneas de ratos albinos foram expostas às mesmas fontes de FBM.

As amostras de feridas foram examinadas nos 3º, 5º e 7º dias de cicatrização, por meio de testes mecânicos de resistência à tração e exames histológicos e os resultados dos experimentos mostraram que, o FBM de 635 nm teve efeitos estimulantes em termos de proliferação celular *in vitro* e resistência mecânica de incisões *in vivo*, no entanto, as irradiações FBM de 809 nm não produziram qualquer efeito positivo (SOLMAZ *et al.*, 2017). Os resultados do presente estudo divergem do acima citado, pois não houve diferença significativa entre as duas irradiações de FBM (830nm e 660nm), embora o 660nm mostrou resultados significativos quando comparado ao placebo e ao grupo controle, e o 830nm apresentou diferença significativa quando comparado ao controle.

Outro estudo apresentou resultados semelhantes aos encontrados em nosso estudo, mostrando resultados superiores para a FBM 660nm, porém no presente estudo a FBM 830nm mostrou-se superior ao placebo, divergindo do estudo descrito a seguir. O objetivo de Taradaj *et al.* (2013), foi avaliar a eficácia da terapia com FBM em diferentes comprimentos de onda: 940, 808 e 658 nm no tratamento de úlceras por pressão. A avaliação incluiu a redução percentual da área superficial da úlcera através de análise macroscópica e a porcentagem de feridas completamente cicatrizadas após um mês de terapia (taxa de cicatrização da úlcera) e a taxa de cicatrização da úlcera na avaliação de acompanhamento, 3 meses após o final do estudo. O FBM de diodo (GaAlAs) foi aplicado uma vez ao dia, 5 vezes por semana durante 1 mês em quatro grupos 940 nm (grupo I), 808 nm (grupo II) e 658 nm (grupo III) e placebo (grupo IV).

A terapia a FBM no comprimento de onda de 658 nm foi mais eficaz na cicatrização de úlceras por pressão, enquanto os comprimentos de onda de 808 e 940 nm não apresentaram efeitos (TARADAJ *et al.*, 2013).

## 5.2 TEMPERATURA DA LESÃO VERIFICADA PELA CÂMERA TERMOGRÁFICA

De acordo com Li *et al.* (2020), as imagens termográficas podem ser usadas para medir a radiação infravermelha emitida pelos tecidos, pois a emissividade está proporcionalmente relacionada à temperatura do objeto, dessa forma a temperatura da pele da região da ferida, pode ser determinada através de uma imagem colorida. Com base no fato de que as reações inflamatórias aumentam a temperatura, a difusão térmica do tecido lesionado, pode ser quantificada usando imagens térmicas para refletir a extensão e o estágio da cicatrização da ferida. Uma temperatura mais alta pode estar relacionada a uma reação enzimática mais forte, que pode ser usada como um indicador de uma fase inflamatória prolongada ou aumento do fluxo sanguíneo local, por outro lado, feridas crônicas isquêmicas podem possuir uma temperatura mais baixa devido à diminuição do fluxo sanguíneo (LI *et al.*, 2020).

De acordo com análise realizada no presente estudo, a área da temperatura inicial no local onde foram induzidas as lesões por pressão, estava menor que o restante do dorso, predominando uma redução do fluxo sanguíneo, uma região hipóxia, com predomínio de coloração característica. Na segunda avaliação foi possível observar uma melhora da circulação sanguínea, através do aumento da temperatura nas bordas da lesão, porém sem diferença significativa tanto entre os grupos quanto entre a primeira e a segunda avaliação. Entretanto na terceira avaliação da área lesionada, após as intervenções serem finalizadas, pode-se observar um aumento da temperatura, demonstrando uma diferença significativa entre a primeira e a última avaliação em todos os grupos. Assim, houve um aumento significativo da temperatura entre a primeira e a última intervenção em todos os grupos e não apenas naqueles que receberam as intervenções com fotobiomodulação, radiofrequência e as duas terapias combinadas.

Sugere-se que não houve um processo inflamatório indesejado em tais grupos, mas um aumento do fluxo sanguíneo em todos. O grupo naive, que não recebeu indução de lesão nem intervenções, apresentou uma diferença significativa em relação aos outros grupos na terceira avaliação, o que pode indicar que como não houve a indução da lesão, a temperatura inicial de tal grupo já estava aumentada, porque essa área não estava isquêmica, e dessa forma a temperatura final quando comparada aos outros grupos, mesmo esses tendo recebido intervenções, estava aumentada\*.

Na avaliação 3, os grupos placebos, apesar de não apresentarem diferença significativa em relação aos outros grupos (exceção naive), apresentaram uma variação menor da temperatura, isso pode ser explicado pelo fato de que embora os grupos que receberam FBM, RF e terapia combinada não tenham causado um processo inflamatório indesejado, houve a influência dessas intervenções no aumento do aporte sanguíneo local, podendo ser explicado pela comparação entre os grupos intervenção e os placebos, os quais apresentaram menor variação de temperatura comparando-se a primeira e a última intervenção.

Achados semelhantes foram observados no trabalho de Mercer, Nielsen e Hoffmann (2008) em que o dispositivo wIRA, foi utilizado no tratamento de pacientes com úlceras venosas crônicas das pernas com acompanhamento termográfico. Os autores anteriormente citados descrevem que na maioria dos casos, o centro das úlceras tendia a secar durante o processo de tratamento com os radiadores ativos do wIRA, mas a temperatura do tecido no centro da úlcera ainda permanecia mais baixa do que na borda da úlcera e isso corresponde ao fato de que o centro da úlcera é tipicamente hipóxico (pressão parcial de oxigênio próxima de zero) e, portanto, pobre em energia e com um metabolismo muito lento, apresentando dessa forma uma temperatura mais baixa (diferença de temperatura de 5 ° C) e em alguns indivíduos absolutamente hipotérmica (por exemplo, 29,2 ° C) (MERCER; NIELSEN; HOFFMANN, 2008).

Um estudo realizado por Neves *et al.* (2016), teve como objetivo determinar o efeito da estimulação elétrica de alta voltagem (HVES) no retalho transversal do músculo reto abdominal em ratos. Esse estudo avaliou a porcentagem da área necrótica e o fluxo sanguíneo através da termografia infravermelha, onde foi possível observar uma redução da área necrótica, também conhecida como isquêmica. Os autores observaram melhorias na circulação das regiões isquêmicas relacionadas com o aumento da temperatura após a aplicação do HVES, corroborando com o presente estudo, onde observou-se uma relação entre o aumento da temperatura e a aplicação dos agentes eletrofísicos, que embora não tenham apresentado diferença significativa dos grupos placebos, apresentaram aumento de temperatura comparando-se a esses.

No presente estudo pode-se observar que todos os grupos apresentaram aumento da temperatura local, comparando-se o antes e depois das intervenções, sugerindo um incremento da circulação, visto que por causa da indução da lesão por pressão, a área apresentava-se inicialmente isquêmica. Um estudo de Chaves *et al.* (2015), teve como objetivo verificar se a termografia poderia ser usada como método para avaliar a cicatrização de úlceras por pressão.

Dois grupos receberam tratamento padrão por um período de quatro semanas e o grupo B recebeu fototerapia com diodo emissor de luz (LED) além do tratamento padrão, três vezes por semana, resultando em um total de 12 sessões, e como método de avaliação foram utilizadas fotografias e termografias as úlceras por pressão. O grupo B que recebeu LED além do tratamento padrão, apresentou aumento na temperatura das lesões em cerca de 7,6%, verificada através da termografia. O autor sugere que quando algum tipo de intervenção, como o LED nesse caso, é aplicado, a termografia capta esse aumento da temperatura, sugerindo um incremento da circulação local, o que auxilia no processo cicatricial de lesões cutâneas crônicas; a área da lesão final foi significativamente menor no grupo que recebeu o LED do que no controle, o que comprova o estímulo à cicatrização com o uso desse agente, corroborando com os achados do presente estudo.

Quando consideramos as úlceras por pressão, onde temos um tecido com características isquêmicas, o FBM pode promover neovascularização apresentando um importante efeito angiogênico (PETZ *et al.*, 2020). Um estudo clínico randomizado, cego e controlado foi realizado por Pedreira *et al.* (2016) com uma amostra de conveniência de 24 pacientes, para avaliar pela termografia por infravermelho a eficácia de um FBM infravermelho de arseneto de alumínio e gálio de alumínio (AlGaAs) 808 nm, após a extração de terceiros molares.

Os pacientes foram divididos em quatro grupos: o I e o III receberam terapia a FBM placebo enquanto o II e o IV receberam irradiação FBM e foram avaliados dor, trismo e edema bem como padrões circulatórios através da termografia infravermelha, que exibiu coeficiente de temperatura local em diferentes períodos pós-operatórios. A FBM teve influência significativa na circulação local, na área próxima à articulação temporomandibular, conforme determinado pela termografia infravermelha. Assim, a FBM conseguiu alterar a circulação local, embora não tenha influenciado significativamente nas outras variáveis durante o período pós-operatório ( $p < 0,05$ ) (PEDREIRA *et al.*, 2016). No estudo supracitado, os achados quanto a termografia, corroboram com os achados do presente estudo, em que a análise termográfica foi capaz de identificar alterações circulatórias através do aumento da temperatura, antes e depois da intervenção com FBM.

A maioria dos estudos supracitados, apresentaram resultados semelhantes ao nosso estudo, em relação a redução macroscópica da área da lesão nas lesões por pressão e também quanto a alteração circulatória observada pela análise termográfica. Algumas limitações devem ser consideradas como a não realização das análises microscópicas, como as histológicas e bioquímicas.



## **6 CONCLUSÃO**

Os achados dos dados obtidos através da amostra utilizada neste estudo, demonstraram que a fotobiomodulação, a radiofrequência e a associação delas, pode influenciar os processos de cicatrização das lesões por pressão em camundongos. Ao comparar os grupos estudados, os grupos radiofrequência, FBM 660nm, FBM 830nm e a combinação da Radiofrequência e FBM 660nm apresentaram melhores resultados no fechamento das lesões de pele em camundongos.

## REFERÊNCIAS

- AGNE, J. E. **Eu sei eletroterapia**. 1. ed. Santa Maria: Pallotti, 2009.
- ALHAJJ, M.; BANSAL, P.; GOYAL, A. Physiology, Granulation Tissue. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL), Jan 2020.
- ANDERS, J. J.; LANZAFAME, R. J.; ARANY, Praveen R.. Low-Level Light/Laser Therapy Versus Photobiomodulation Therapy. **Photomedicine And Laser Surgery**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 183-184, abr. 2015.
- ANDRADE, F. S. S. D.; CLARK, R. M. O.; FERREIRA, M. L.. Effects of low-level laser therapy on wound healing. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 129-133, abr. 2014.
- ARDA, O.; GÖKSÜGÜR, N.; TÜZÜN, Y.. Basic histological structure and functions of facial skin. **Clinics In Dermatology**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 3-13, jan. 2014.
- ARORA, M. *et al.* Electrical stimulation for treating pressure ulcers. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, [S.L.], p. 1-1, 22 jan. 2020.
- ASHBY, R. L. *et al.* VenUS IV (Venous leg Ulcer Study IV) – compression hosiery compared with compression bandaging in the treatment of venous leg ulcers: a randomised controlled trial, mixed-treatment comparison and decision-analytic model. **Health Technology Assessment**, [S.L.], v. 18, n. 57, p. 1-294, set. 2014.
- BARBOSA, V. Q.; SILVA, L. C. G.; ARAÚJO, J. B. B. Radiofrequência no tratamento da flacidez. **Rev. Conexão Eletrônica**, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 1954-1961, 2018.
- BARBUT, F. *et al.* Escarres dans un hôpital universitaire de court séjour. **La Presse Médicale**, [S.L.], v. 35, n. 5, p. 769-778, maio 2006.
- BARNES, R. *et al.* Electrical stimulation vs. standard care for chronic ulcer healing: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **European Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 44, n. 4, p. 429-440, 12 mar. 2014.
- BELENKY, I. *et al.* Exploring Channeling Optimized Radiofrequency Energy: a review of radiofrequency history and applications in esthetic fields. **Advances In Therapy**, [S.L.], v. 29, n. 3, p. 249-266, 29 fev. 2012.
- BERNARDI, S.; ZEKA, K.; CONTINENZA, M.A. Application of Low Level Laser Therapy in Dentistry: Laser Biostimulation. **JSM Oro Facial Surg**, [S.l.], v.1, n.1, p. 1002, 2016.
- BHATTACHARYA, S.; MISHRA, R.K. Pressure ulcers: Current understanding and newer modalities of treatment. **Indian J Plast Surg**, [S.l.], v. 48, n. 1, p. 4-16, 2015.
- BOCK, V.; NORONHA, A. F. Estimulação da neocolagênese através da radiofrequência. **Rev eletrônica Saúde e Ciência**, Dianópolis, v. 3, n. 2, p. 7-17, 2013.

BOISNIC, S., *et al.* Split-face histological and biochemical evaluation of tightening efficacy using temperature- and impedance-controlled continuous non-invasive radiofrequency energy, **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, [S.l.], v. 19, n. 3, p. 128-132, Jun 2017.

BONJORNO, A. R. *et al.* Radiofrequency therapy in esthetic dermatology: A review of clinical evidences. **J Cosmet Dermatol**, [S.l.], v. 19, n. 2, p. 1–4, Oct 2019.

BORGES, F. S.; SCORZA, F. A.; JAHARA, R.S. **Modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas**. 2. ed. SãoPaulo: Phortes, 2010.

BRAVO, B. S. F. *et al.* Tratamento da lipodistrofia ginóide com radiofrequência unipolar: avaliação clínica laboratorial e ultrassonográfica. **Surg Cosmet Dermatol**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 138-144, 2013.

BRINK, P.; SMITH, T. F.; LINKEWICH, B. Factors associated with pressure ulcers in palliative home care. **J Palliat Med**, [S.l.], v. 9, n. 6, p. 1369-1375, 2006.

BRITO, P. A.; GENEROSO, S. V.; CORREIA, M. I. T. D.. Prevalence of pressure ulcers in hospitals in Brazil and association with nutritional status—A multicenter, cross-sectional study. **Nutrition**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 646-649, abr. 2013.

CAÑEDO-DORANTES, L.; CAÑEDO-AYALA, M. Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review. **Int J Inflamm**, [S.l.] v. 2019, p. 1-15, Jun 2019.

CARDOSO, F. M.; RÉUS, M. **Estudo dos efeitos da radiofrequência, massagem modeladora e endermoterapia no tratamento fibroedemageloide grau II**. 2016 Artigo apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso Pós-Graduação em Estética e Bem estar. Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL.

CARVALHO, G.F. *et al.* Avaliação dos efeitos da radiofrequência no tecido conjuntivo. **Especial Dermatologia**, [S.l.], v. 68, p. 1-13, 2011.

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

CEPEDA, A.M.C. *et al.* Efeitos da radiofrequência na cicatrização de feridas cutâneas em ratos: análise por planigrafia digital e avaliação histológica. **Rev. Bras. Cir. Plást**, [S.l.], v. 31, n. 4, p. 554-560, 2016.

CHAVES, M. E. A. *et al.* Avaliação da cicatrização de úlceras por pressão por termografia: um estudo preliminar. **Res. Biomed. Eng.**, [S.l.], v. 31 n.1, 2015.

COELHO, S. C.; SILVA, R. C. Perfil dos pacientes hospitalizados com úlcera de pressão. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, [S.l.], v. 19, n. 2. p. 64–69, 2004.

COHEN, J. **Statistical power analysis for behavior science**. 2. ed. New York: Lawrence Erlbaum Associates, 1988. 567p.

CULLUM, N.; *et al.* Systematic reviews of wound care management: (5) beds; (6) compression; (7) laser therapy, therapeutic ultrasound, electrotherapy and electromagnetic therapy. **Health Technology Assessment**, [S.L.], v. 5, n. 9, p. 1-221, 2001.

CUNHA, J. L. S. *et al.* Effects of Different Protocols of Low-Level Laser Therapy on Collagen Deposition in Wound Healing. **Braz. Dent. J**, [S.l.], v.30, n.4, p. 317-324, July/Aug. 2019. ISSN 1806-4760

DARBY, I. A., *et al.* Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. **Clin Cosmet Investig Dermatol**. [S.l.] v. 7, p. 301-311, nov, 2014.

DELAVARY, B. M. *et al.* Macrophages in skin injury and repair. **Immunobiology**, [S.l.] v. 216, n. 7, p. 753-762, 2011.

DELMORE, B. *et al.* Survey Results from the Gulf Region: NPUAP Changes in Pressure Injury Terminology and Definitions. **Adv Skin Wound Care**, [S.l.], v. 32, n. 3, p. 131-138, mar 2019.

DONATI, G. *et al.* Wounding induces dedifferentiation of epidermal Gata6+ cells and acquisition of stem cell properties. **Nat Cell Biol**, [S.l.], v. 19, n. 6, p. 603-613, 2017.

EDLICH, R. F. *et al.* Pressure ulcer prevention. **J Long Term Eff Med Implants**, [S.l.], v. 14, n. 4, p. 285-304, 2004.

EMING, S. A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. **Sci Transl Med**, [S.l.], v. 6, n. 265, p. 265, dec 2014.

FERNANDES, A. S.; MENDONÇA, W. C. M. **Efeitos da Radiofrequência no tecido colágeno**. 2009. Trabalho de conclusão de curso. Rio Grande do Norte: Universidade Potiguar.

FERRIS, A.; PRICE, A., HARDING, K. Pressure ulcers in patients receiving palliative care: A systematic review. **Palliat Med**, [S.l.], v. 33, n. 7, p. 770-782, 2019.

FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JUNIOR, J. A. S. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, [S.l.] v. 18, n. 1, p. 115-146, 2009.

FINLAYSON, K. *et al.* Distinct Wound Healing and Quality-of-Life Outcomes in Subgroups of Patients With Venous Leg Ulcers With Different Symptom Cluster Experiences. **J Pain Symptom Manage**, [S.l.] v. 53, n. 5, p. 871-879, may 2017.

GARZA-RODEA, A.S.; KNAÄN-SHANZER, S.; BEKKUM, D.W.V. Pressure Ulcers: Description of a New Model and Use of Mesenchymal Stem Cells for Repair. **Dermatology**, [S.l.] v. 223, p. 266–284, 2011.

GOREN, I. *et al.* A transgenic mouse model of inducible macrophage depletion: effects of diphtheria toxin-driven lysozyme M-specific cell lineage ablation on wound inflammatory, angiogenic, and contractive processes. **Am J Pathol**, [S.l.], v. 175, n. 1, p.132-147, 2009.

- GOULD, L. *et al.* Chronic wound repair and healing in older adults: current status and future research. **Wound Repair Regen**, [S.l.], v. 63, n.3, p.427-438, Mar 2015.
- HEISKANEN, V.; HAMBLIN, M.R. Photobiomodulation: FBMs vs. light emitting diodes? **Photochem Photobiol Sci**, [S.l.], v. 17, n. 8, p. 1003-1017, ago 2018.
- HENDLER, K.G. **Fotobiomodulação no tratamento da lesão cutânea com ferida aberta em camundongos**. 2019. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da reabilitação) – Universidade Federal de Santa Catarina.
- HSU, C. K. *et al.* Mechanical forces in skin disorders. **J Dermatol Sci**, [S.l.], v. 90, n. 3, p. 232-240, 2018.
- HU, S. C.; LAN, C.E. High-glucose environment disturbs the physiologic functions of keratinocytes: Focusing on diabetic wound healing. **J Dermatol Sci**, [S.l.], v. 84, n. 2, p. 121-127, 2016.
- HUMPHREY, J.D.; DUFRESNE, E. R.; SCHWARTZ, M. A. Mecanotransdução e homeostase da matriz extracelular. **Nat Rev Mol Cell Biol**, [S.l.] v.15, n.12, p.802-812, 2014.
- INAN, D. G.; OZTUNÇ, G. Pressure ulcer prevalence in Turkey: a sample from a university hospital. **J Wound Ostomy Continen Nurs**, [S.l.], v. 39, n. 4, p. 409-413, jul-ago 2012.
- JAUL, E. *et al.* An overview of co-morbidities and the development of pressure ulcers among older adults. **BMC Geriatr**, [S.l.], v. 18, n. 1, p. 305, dec 2018.
- JOHN, H. E., *et al.* Clinical applications of dynamic infrared thermography in plastic surgery: a systematic review. **Gland Surg**, [S.l.], v.5, p.122-132, apr 2016.
- KLOSE, A.; ZIGRINO, P.; MAUCH, C. Monocyte/macrophage MMP-14 modulates cell infiltration and T-cell attraction in contact dermatitis but not in murine wound healing. **Am J Pathol**. [S.l.], v. 182, n. 3, p. 755-764, 2013.
- KOH, T.J.; DIPIETRO, L. A. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. **Expert Rev Mol Med.**, [S.l.], v. 13, n. 23, Jul 2011.
- KORELO, R. I. G., *et al.* Gerador de alta frequência como recurso para tratamento de úlceras por pressão: estudo piloto. **Fisioter. Mov**, [S.l.], v. 26, p. 715-724, 2013.
- KRAFTS, K. P. Tissue repair: The hidden drama. **Organogenesis**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 225-233, 2010.
- KWAN, R. L. *et al.* Efficacy of Biophysical Energies on Healing of Diabetic Skin Wounds in Cell Studies and Animal Experimental Models: A Systematic Review. **Int J Mol Sci**, [S.l.] v. 20, n. 2, p. 368, jan 2019.
- LANDÉN, N.X.; LI, D.; STAHL, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cell Mol Life Sci**, [S.l.], v. 73, n. 20, p. 3861-3885, 2016.

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

LEITE, G. P. M. F., *et al.* Photobiomodulation laser and pulsed electrical field increase the viability of the musculocutaneous flap in diabetic rats. **Lasers Med Sci**, [S.l.], v. 32, n. 3, p. 641-648, apr 2017.

LI S., *et al.* Imaging in Chronic Wound Diagnostics. **Tratamento de Feridas Adv (New Rochelle)**, [S.l.], v. 9, n. 5, p. 245-263, 2020.

LIMA, A. C. B.; GUERRA, D. M. Avaliação do custo do tratamento de úlceras por pressão em pacientes hospitalizados usando curativos industrializados. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 267-277, 2011.

LINS, R. D. A. U. *et al.* Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo. **An. Bras. Dermatol. [online]**, v. 85, n. 6, p. 849-855, 2010.

LOFEU, G. M; BRITO, L.R. A.; BARTOLOMEI, K. Atuação da radiofrequência na gordura localizada no abdômen: revisão de literatura. **Rev Uni Vale do Rio Verde**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 571-581, Jul 2015.

LOWE, J. S.; ANDERSON, P. G. **Stevens & Lowe's Human Histology**. 4. ed. Philadelphia: Elsevier, Mosby, 2015.

MACHADO, R.S.; VIANA, S.; SBRUZZI, G. Low-level laser therapy in the treatment of pressure ulcers: systematic review. **Lasers Med Sci**, [S.l.], v. 32, p. 937-944, 2017.

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

MARTINS, D. C. **O uso de agentes físicos no tratamento das úlceras de pressão**. 2014. Dissertação (Mestrado). Integrado em medicina. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

MELLEIRO, M. M. *et al.* Indicadores de prevalência de úlcera por pressão e incidência de queda de paciente em hospitais de ensino do município de São Paulo. **Rev. esc. enferm. USP [online]**. v.49, n.2, p.55-59, 2015.

MERCER, J. B.; NIELSEN, S. P.; HOFFMANN, G. Mercer JB, Nielsen SP, Hoffmann G. Improvement of wound healing by water-filtered infrared-A (wIRA) in patients with chronic venous stasis ulcers of the lower legs including evaluation using infrared thermography. **Ger Med Sci**. [S.l.], v. 6, Oct 2008.

MEYER, P. F. *et al.* Efectos de la transferencia eléctrica capacitiva en el tejido dérmico y adiposo. **Fisioterapia**, [S.l.], v. 31, n. 4, p. 131-136, Jul 2009.

MEYER, P. F; RONZIO, O. Radiofrequência. In: BORGES, F. S. **Fisioterapia dermatofuncional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas**. São Paulo: Phorte, 2010. Cap. 25, p. 601-620.

MINATEL, D. G, *et al.* Fototerapia (LEDs 660/890nm) no tratamento de úlceras de perna em pacientes diabéticos: estudo de caso. **An Bras Dermatol.**, [S.l.], v. 84, n. 3, jul 2009.

MIRZA, R.; DIPIETRO, L.A.; KOH, T. J. Selective and specific macrophage ablation is detrimental to wound healing in mice. **Am J Pathol**, [S.l.], v. 175, n. 6, p. 2454-2462, 2009.

MOORE, Z.E.; WEBSTER, J.; SAMURIWO, R. Wound-care teams for preventing and treating pressure ulcers. **Cochrane Database Syst Rev**, [S.l.], v. 9, sep. 2015.

NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL, European Pressure Ulcer Advisory Panel and Pan Pacific Pressure Injury Alliance. **Prevention and Treatment of Pressure Ulcers: Quick Reference Guide**. Emily Haesler (Ed.). Cambridge Media: Osborne Park, Australia; 2014.

NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL. **Pressure Injury Stages**. 2016.

NEVES, L. M. *et al.* Effects of High-Voltage Electrical Stimulation in Improving the Viability of Musculocutaneous Flaps in Rats. **Ann Plast Surg**, [S.l.], v.77, n.4, p.50-54, oct 2016.

NGUYEN, A.V.; SOULIKA, A.M. The dynamics of the skin's immune system. **Int J Mol . Sci**, [S.l.], v. 20, n. 8, p. 18-11, Apr 2019.

OLIVEIRA, A. *et al.* Therapeutic Advances in Wound Healing. **Journal of Dermatological Treatment**, [S.l.], p. 1-21, 2020.

PEDREIRA, A. A. *et al.* Thermographic and clinical evaluation of 808-nm laser photobiomodulation effects after third molar extraction. **Minerva Stomatol**, [S.l.], v. 65, n. 4, p. 213-222, 2016.

PEPLOW, P. V.; CHUN, T. Y.; BAXTER, G. D. Laser photobiomodulation of wound healing: a review of experimental studies in mouse and rat animal models. **Photomed Laser Surg**, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 291-325, jun. 2010.

PERIAYAH, M. H.; HALIM, A. S., MAT SAAD, A. Z. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. **Int J Hematol Oncol Stem Cell Res**, [S.l.] v. 11, n. 4, p. 319-327, 2017.

PEROBELLI, S. M. *et al.* Plasticity of neutrophils reveals modulatory capacity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S.l.], v. 48, n.8, p. 665-675, 2015.

PETZ, F.F.C., *et al.* Effect of Photobiomodulation on Repairing Pressure Ulcers in Adult and Elderly Patients: A Systematic Review. **Photochem Photobiol**, [S.l.], v. 96, n. 1, p. 191-199, 2020.

PIVA, J. A. A. C. *et al.* Ação da terapia com laser de baixa potência nas fases iniciais do reparo tecidual: princípios básicos. **An. Bras. Dermatol**, [S.l.], v. 86, n. 5, sep 2011.

- PLOEGER, D.T. *et al.* Cell plasticity in wound healing: paracrine factors of M1/ M2 polarized macrophages influence the phenotypical state of dermal fibroblasts. **Cell Commun Signal**, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 29, apr. 2013.
- QASEEM, A. *et al.* Treatment of pressure ulcers: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. **Ann Intern Med**, [S.l.], v. 162, p. 370-379, 2015.
- RAMOS, F. S. *et al.* The effects of transcutaneous low-level laser therapy on the skin healing process: an experimental model. **Lasers Med Sci**, [S.l.], v. 33, n. 5, p. 967-976, Jul 2018.
- RICE, J. B. *et al.* Burden of venous leg ulcers in the United States. **J Med Econ**, [S.l.], v. 17, n. 5, p. 347-356, may. 2014.
- RITTIÉ, L.; FISHER, G.J. Natural and sun-induced aging of human skin. **Cold Spring Harb Perspect Med**, [S.l.] v.5, n.1, jan. 2015.
- ROCHA, J. A.; MIRANDA, M. J.; ANDRADE, M. J. Abordagem terapêutica das úlceras de pressão: Intervenções baseadas na evidencia. **Acta Med Port**, [S.l.] v. 19, p. 29-38, 2006.
- RODRIGO, S. M. *et al.* Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair. **Photomed Laser Surg**, [S.l.], v. 27, n. 6, p. 929-935, 2009.
- RODRIGUES, M. *et al.* Wound healing: a cellular perspective. **Physiol Rev**, [S.l.], v. 99, n. 1, p. 665-706, 2019.
- ROGENSKY, N. M. B.; KURCGANT, P. Incidência de úlceras por pressão após a implementação de um protocolo de prevenção. **Rev. Latino-Am Enfer**, [S.l.], v. 20, n. 2, mar.-abr. 2012.
- ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia**: texto e atlas, em correlação com Biologia celular e molecular. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- SCHOELL, A. R. *et al.* Euthanasia method for mice in rapid time-course pulmonary pharmacokinetic studies. **J Am Assoc Lab Anim Sci**, [S.l.], v. 48, n. 5, p. 506-11, Sep 2009.
- SENGER, D. R.; DAVIS, G. E. Angiogênese. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, [S.l.] v. 3, n. 8, aug. 2011.
- SHAHIN, E. S. M.; DASSEN, T.; HALFENS, R. J. G. Incidence, prevention and treatment of pressure ulcers in intensive care patients: A longitudinal study. **Int J Nurs Stud**. [S.l.], v. 15, n. 2. p. 413-421, apr 2009.
- SHOOK, B. *et al.* CD301b\_ Macrophages Are Essential for Effective Skin Wound Healing. **J Invest Dermatol**, [S.l.], v. 136, n. 9, p. 1885-1891, set. 2016.
- SILVA, E. M. *et al.* Avaliação histológica da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo: estudo experimental em ratos. **Rev Sul-Bras odontol**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 29-35, nov. 2007.

SILVA, J. P. *et al.* Laser therapy in the tissue repair process: a literature review. **Photomed Laser Surg**, [S.l.], v. 28, n. 1, p. 17-21, feb 2010.

SMITH, *et al.* Pressure Ulcer Treatment Strategies A Systematic Comparative Effectiveness. **Anais da medicina interna**, v.159, n.1, p. 39-50, Jul 2013.

SOBEST. Classificação das Lesões por Pressão - Consenso NPUAP 2016 - Adaptada Culturalmente para o Brasil. Acesso em 08 ago 2016.

SOLMAZ, H.; *et al.* Photobiomodulation of wound healing via visible and infrared laser irradiation. **Lasers Med Sci**, [S.l.], v. 32, n. 4, p. 903-910, may 2017.

SOROKIN, L. The impact of the extracellular matrix on inflammation. **Nat Rev Immunol**, [S.l.], v. 10, n. 10, p. 712–723, 2010.

SOUZA, B. B. *et al.* Laser de Arseneto de Gálio com alta energia não promove alteração colágena da matriz extracelular no músculo esquelético: estudo experimental. **Fisioter. Mov.**, [S.l.], v.30, n.1, p.297-305, 2017.

SU, Y.; RICHMOND, A. Chemokine Regulation of Neutrophil Infiltration of Skin Wounds. **Adv Wound Care (New Rochelle)**, [S.l.], v. 4, p. 631–640, 2015.

SUGA, H. *et al.* Tracking the elusive fibrocyte: identification and characterization of collagen-producing hematopoietic lineage cells during murine wound healing. **Stem Cells**, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 1347-1360, May 2014.

TAGLIOLATTO, S. Radiofrequency: a non-invasive method for treating cutaneous sagging and the body contour. **Surg. cosmet. Dermatol**, [S.l.], v. 7, n.4, p.332-338, Out-Dez.2015.

TAHERI, Jamileh Beigom *et al.* Comparison of the Effect of Low-Level Laser and Phenytoin Therapy on Skin Wound Healing in Rats. **Journal Of Lasers In Medical Sciences**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 124-128, 28 jun. 2015.

TARADAJ, J.; *et al.* Effect of Laser Irradiation at Different Wavelengths (940, 808, and 658 nm) on Pressure Ulcer Healing: results from a clinical study. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2013, p. 1-8, 2013.

TRACY, L. E.; MINASIAN, R. A.; CATERSON, E. J. Extracellular Matrix and Dermal Fibroblast Function in the Healing Wound. **Advances in Wound Care**, [S.l.] v.5, n.3, p.119–136, 2016.

TSAI, S.R.; HAMBLIN, M.R. Biological effects and medical applications of infrared radiation. **J Photochem Photobiol B**, [S.l.], v. 170, p. 197-207, May 2017.

ULLMANN, D. Radiofrequência. In: CONGRESSO MUNDIAL DE MEDICINA ESTÉTICA, 16, 2008, Buenos Aires. **Anais [...]** . Buenos Aires: 2008.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. Laboratório de Técnica Operacional e Cirurgia Experimental. **Manual de normas do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental**. Florianópolis: UFSC, 2013.

VIEIRA, G. S. K. **Importância da radiofrequência em tratamentos estéticos: revisão da literatura.** 2016. Trabalho de conclusão (Especialização). Dermatofuncional. Pontifícia Universidade Católica –PUC. Goiânia.

VIRANI, T. *et al.* Risk Assessment & Prevention of Pressure Ulcers. Nursing Best Practice Guideline Shaping the future of Nursing, p. 1-131, Revised 2011.

WATT, F.M.; FUJIWARA, H. Cell-extracellular matrix interactions in normal and diseased skin. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, [S.l.], v. 3, n. 4, Apr 2011.

WERNER, S.; KRIEG, T.; SMOLA, H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. **J Invest Dermatol**, [S.l.], v. 127, n. 5, p. 998–1008, 2007.

WILGUS, T. A.; ROY, S.; MCDANIEL, J.C. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. **Adv Wound Care (New Rochelle)**, [S.l.], v. 2, p. 379–388, 2013.

WONG, R., *et al.* The dynamic anatomy and patterning of skin. **Exp Dermatol**, [S.l.] v. 25, n. 2, p.92-98, 2015.

XUE, M.; JACKSON, C. J. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. **Adv Wound Care (New Rochelle)**, [S.l.], v. 4, n. 3, p. 119-136, Mar 2015.

YANG, W. *et al.* On the tear resistance of skin. **Nat Commun**, [S.l.] v.6, n. 6649, mar. 2015.

ZIELINS, E. R. *et al.* Emerging drugs for the treatment of wound healing. **Expert Opin Emerg Drugs**. [S.l.], v. 20, n. 2, p. 235-246, jun 2015.

## APÊNDICE A: ESTUDO PILOTO

O estudo piloto foi aplicado no período de 27 de março de 2019 à 13 de abril de 2019.

Os principais objetivos deste estudo piloto foram:

- Preparar os pesquisadores para o manejo correto dos animais e instrumento de pesquisa radiofrequência;
- Prever qual a frequência mais eficiente para a aplicação da radiofrequência;
- Avaliar o tempo estimado para o fechamento da lesão;
- Observar potenciais fontes de viés na aplicação das intervenções e na coleta dos dados como tempo o fechamento das lesões nos grupos, colocação dos imãs nos animais,

Foram utilizados 24 camundongos adultos da espécie Swiss, machos com peso 20-35g, adquiridos do biotério central da UFSC Florianópolis. Os animais foram mantidos no Biotério setorial da cidade de Araranguá, com temperatura 22°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ), com ciclo claro-escuro de 12/12 horas, receberam comida comercial para roedores e água ad libitum, por 16 dias. Os camundongos foram divididos randomicamente em 8 grupos, cada grupo contendo 3 camundongos. O grupo 8 continha apenas 1 animal devido a duas perdas que ocorreram durante a indução da lesão por pressão.

Inicialmente, os animais ficaram por 7 dias em adaptação, no biotério setorial da cidade de Araranguá e no dia 27 de março de 2019 no primeiro horário da manhã (7 am) foram anestesiados via intraperitoneal com cetamina-0,1 mL/100g associado a xilazina-0,07mL/100g, e posteriormente foi realizada a tração manual dos pelos na região dorsal dos animais. Após anestesia foram colocados 2 imãs que realizaram a compressão do tecido cutâneo, através de uma prega no dorso dos animais, simulando uma lesão por pressão. Foram então divididos em grupos de 4 animais, onde ficaram em uma caixa divididos entre si para evitar a atração dos imãs. Passadas 12 horas de isquemia, os imãs foram retirados e os animais ficaram sem os mesmos por 12 horas (ciclo isquemia-perfusão). No dia seguinte, respeitadas às 12 horas de repouso, os imãs foram recolocados no dorso dos animais e foram mantidos por 12 horas e o mesmo ocorreu no dia subsequente, encerrando os três dias necessários para a formação da lesão por pressão.

No dia 4 foi realizada a primeira avaliação, onde os camundongos foram divididos randomicamente em 8 grupos de acordo com a tabela abaixo (tabela 2). Foi identificada a perda de dois animais após a indução de lesão por pressão com imãs. Os animais foram colocados em gaiolas, com 3 animais em cada uma e foram identificados através da marcação com cores

diferentes (ex.: Grupo 3- animal 1, animal 2 e animal 3). Para a avaliação, foram retirados individualmente da gaiola e colocados em uma caixa de madeira desenvolvida para posicioná-los tanto nas avaliações quanto nas intervenções e após o posicionamento as lesões foram registradas através de fotos digitais padronizadas, tiradas por máquina “Cyber-Shot DSC-P72” (Sony®, Estados Unidos da América), 5.1 mega pixels, Zoom 3.2 e mantida a distância constante de 20 cm (um posicionador para máquina foi utilizado para padronização das fotos).

Após a avaliação com a máquina digital, foram realizados os registros com a máquina de termografia FLIR, onde os camundongos foram mantidos na caixa de posicionamento e a câmera foi colocada no mesmo posicionador. As avaliações foram sempre realizadas da mesma maneira nos dias 30.03.2019 (avaliação 1), 02.04.2019 (avaliação 2), 09.04.2019 (avaliação 3) e 13.04.2019 (avaliação 4).

A radiofrequência utilizada no experimento foi o aparelho New Shape da Bioset®, com manopla bipolar e o meio de contato do aparelho com a pele foi a glicerina.

#### GRUPOS

Cada grupo foi composto por 3 camundongos.

Tabela 1 - camundongos divididos por grupos e dia de aplicação da radiofrequência

<b>GRUPOS</b>	<b>Cada grupo foi composto por 3 camundongos</b>
<b>GRUPO 1</b>	SHAM
<b>GRUPO 2</b>	Placebo
<b>GRUPO 3</b>	Dia 01/ dia 05/ dia 10
<b>GRUPO 4</b>	Dia 03/ dia 5/ dia 10
<b>GRUPO 5</b>	Dia 05/ dia 10
<b>GRUPO 6</b>	Aplicação de Radiofrequência diária desde o dia 01 até o dia 14
<b>GRUPO 7</b>	Aplicação de Radiofrequência diária desde o dia 03 até o dia 14
<b>GRUPO 8</b>	Aplicação de Radiofrequência diária desde o dia 05 até o dia 14

Cada grupo de camundongos que recebeu a intervenção da radiofrequência, conforme tabela 3, era separado antecipadamente. A radiofrequência foi programada com os seguintes parâmetros: tempo 4 minutos, potência de 22 watts. Então cada animal foi individualmente colocado na caixa de posicionamento e a glicerina aplicada nas regiões das bordas da lesão e pele adjacente. A manopla bipolar foi deslizada nas bordas das feridas na região dorsal do animal através de movimentos lentos até alcançar de 37 °C a 38°C e a temperatura mensurada através de termômetro a uma distância de 10 cm e mantida por 2 minutos após alcançar a temperatura acima descrita (CARVALHO et al., 2011).

A aplicação da radiofrequência ocorreu sempre da mesma forma respeitando-se os dias em que cada grupo (conforme tabela 2) deveria receber a intervenção até o último dia (dia 12.04.2019). No dia 13.04.2019 foi realizada a última avaliação e posteriormente ocorreu a eutanásia através de dose excessiva de medicação (cetamina e xilazina).

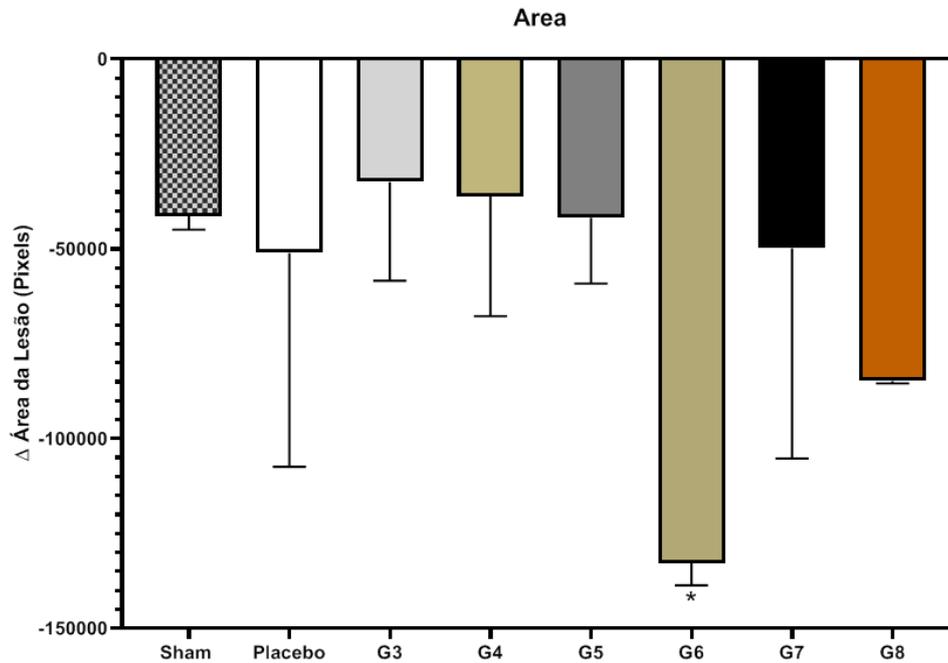
Tabela 2: Divisão dos grupos por data de aplicação da radiofrequência e data de avaliação

	<b>DATA</b>	<b>GRUPOS QUE RECEBERÃO</b>	<b>Avaliação</b>
<b>Dia 01 lesão</b>	27/03/2019 quarta-feira	Todos colocar 7 manhã retirar 19 noite	
<b>Dia 02 lesão</b>	28/03/2019 quinta-feira	Todos colocar 7 manhã retirar 19 noite	
<b>Dia 03 lesão</b>	29/03/2019 sexta-feira	Todos colocar 7 manhã retirar 19 noite	
<b>Dia 01 início experimento</b>	30/03/2019 sábado	Placebo Grupo 03 Grupo 06	Avaliar
<b>Dia 02</b>	31/03/2019 domingo	Placebo Grupo 06	
<b>Dia 03</b>	01/04/2019 segunda-feira	Placebo Grupo 04 Grupo 06 Grupo 07	
<b>Dia 04</b>	02/04/2019 terça-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07	Avaliar
<b>Dia 05</b>	03/04/2019 quarta-feira	Placebo Grupo 03 Grupo 04 Grupo 05 Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 06</b>	04/04/2019 quinta-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 07</b>	05/04/2019 sexta-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	

<b>Dia 08</b>	06/04/2019 sabado	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 09</b>	07/04/2019 domingo	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 10</b>	08/04/2019 segunda-feira	Placebo Grupo 03 Grupo 04 Grupo 05 Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 11</b>	09/04/2019 terça-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	Avaliar
<b>Dia 12</b>	10/04/2019 quarta-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 13</b>	11/04/2019 quinta-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 14</b>	12/04/2019 sexta-feira	Placebo Grupo 06 Grupo 07 Grupo 08	
<b>Dia 15</b>	13/04/2019 sábado		Avaliar

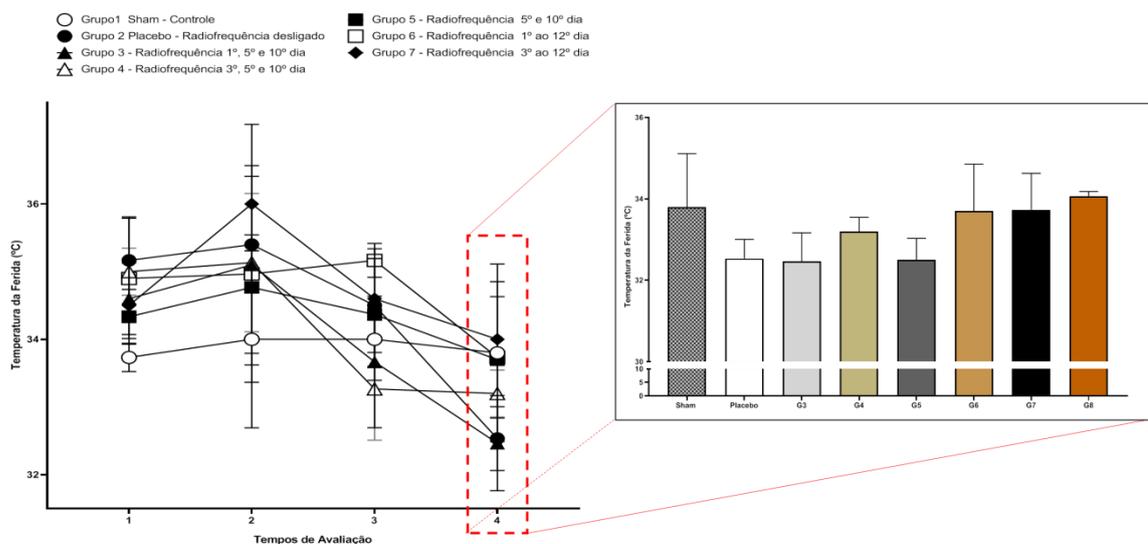
Os dados obtidos através da máquina de termografia FLIR foram analisados pelo software FLIR e posteriormente tabulados no Microsoft excel. Os dados obtidos através da máquina “Cyber-Shot DSC-P72” foram analisados pelo software Image J® e posteriormente tabulados no Microsoft Excel.

Figura 1: Diminuição do tamanho da lesão de acordo com a área avaliada através do programa Graphpad prism 8.0.



Na figura 1 que mostra a diminuição da área da lesão, pode se observar que o grupo G6, que foi o grupo que recebeu aplicações diárias de radiofrequência, desde primeiro dia pos indução da lesão até o dia 14. O segundo grupo que apresentou melhor redução macroscópica da lesão foi o G8, que recebeu aplicações diárias de radiofrequência desde o dia 05 até o dia 14.

Figura 2: Gráfico referente a temperatura da área da lesão



A figura 3, que traz o gráfico que mostra a redução da temperatura na área da lesão, pode-se identificar que o G8 que recebeu aplicações diárias de radiofrequência desde o dia 05

até o dia 14, apresentou melhor redução da área de calor no local da aplicação, seguido pelo grupo G4 que recebeu aplicações de radiofrequência nos dias 03, 05 e 10.

## RESULTADOS

De acordo com análise feita pelo programa Graphpad prism 8.0, o grupo que apresentou menor área de lesão, comparando-se a primeira e a última avaliação foi o G6 que recebeu aplicações diárias de radiofrequência. Dessa forma, foi possível constatar que a aplicação diária de radiofrequência desde o dia 01 até o dia 14 pós lesão, foi mais eficiente que as outras opções de aplicação para a redução macroscópica da área da lesão. Quanto a avaliação da temperatura no local da lesão, pode-se identificar que o G8, grupo que recebeu aplicações diárias de radiofrequência desde o dia 05 até o dia 14, apresentou maior alteração da temperatura local, seguido pelo grupo G4 que recebeu aplicações de radiofrequência nos dias 03, 05 e 10, porém sem diferença significativa entre os grupos

## 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