

**UNIVERSIDADE DE CUIABÁ**  
**Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal**  
**Saúde Animal**



Universidade de Cuiabá

**MICHELE HENRIQUE ANTONIO BIZO**

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ARSENETO DE  
GÁLIO NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

Cuiabá, 2014

**MICHELE HENRIQUE ANTONIO BIZO**

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ARSENETO DE  
GÁLIO NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, da Universidade de Cuiabá – UNIC como requisito parcial para obtenção do título de mestre.  
Orientador Prof. Dr. Armando de Mattos Carvalho.

Cuiabá, 2014

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

---

B625a Bizo, Michele Henrique Antonio.

Avaliação da ação do laser de baixa potência arseneto de gálio na reparação de feridas cutâneas em ratos. / Michele Henrique Antonio Bizo. – Cuiabá, 2014.  
45 f. : il.

Dissertação apresentada à Universidade de Cuiabá, para obtenção do título de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Armando de Mattos Carvalho

1. Terapia a Laser. 2. Termografia. 3. Reparação Tecidual. 4. Histopatologia. I. Título. II. Universidade de Cuiabá.

**MICHELE HENRIQUE ANTONIO BIZO**

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ARSENETO DE  
GÁLIO NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Biociência Animal,  
da Universidade de Cuiabá - UNIC como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Armando de Mattos Carvalho  
Presidente da Banca (Orientador)

---

Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza

---

Prof. Dr. Werner Okano

---

Prof. Dra. Kelly Cristiane Ito Yamauchi

Cuiabá, \_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014.

Conceito Final: \_\_\_\_\_

Ao meu filho, Lucas ZaffanI Antonio Bizo,  
pela ternura de cada abraço, ao meus pais, pelo  
amor e carinho.

Ao meu marido, Getér Sinear Jesus Bizo, por  
ter sido companheiro em todos os momentos

Seja forte e corajoso. Não tenha medo ou aterrorizado por causa deles, porque o SENHOR teu Deus vai com você, nunca te deixarei nem te desampararei.  
Deuteronômio 31:6

## **AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ARSENETO DE GÁLIO NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

### **RESUMO**

O uso da terapia a laser de baixa potencia (TLBP) tem demonstrado resultados promissores quanto à modulação inflamatória durante a reparação tecidual. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar reparação com a TLBP com arseneto de gálio (GaAs) em feridas cutâneas, através da: (1) Mensuração da temperatura da superfície da ferida cutânea; (2) Leucograma; (3) Avaliação histopatológica. Foi realizada indução da lesão cutânea no dorso de vinte ratos Wistar, que foram divididos no grupo tratado (TLBP com GaAs), e o grupo controle. A termografia foi realizada em todos os animais diariamente até o término do experimento. No quarto dia após a indução da lesão, foi coletado o sangue total (leucograma), e realizada eutanásia e biópsia da lesão (histopatologia). Não houve diferença quanto ao número de leucócitos, e na avaliação histopatológica entre os grupos, no entanto, na avaliação termográfica foi observado aumento de temperatura no grupo tratado. Não foi confirmada ação antiinflamatória da TLBP com GaAs. O aumento de temperatura na superfície das lesões cutâneas após laserterapia requer novas investigações, já que este não pode ser justificado pela ação direta da TLBP.

**Palavras Chaves:** Laserterapia. Termografia. Reparação Tecidual. Inflamação. Histopatologia.

## **GALLIUM ARSENIDE LOW POTENCY LASER ACTION EVALUATION IN THE REPAIR OF SKIN WOUNDS IN RATS**

### **ABSTRACT**

The use of low-level laser therapy (LLLT) has demonstrated promising results in the inflammatory modulation during tissue repair. Therefore, the objective of this study was to evaluate in the repair LLLT with gallium arsenide (GaAs) in cutaneous wound through: (1) Measurement of the surface skin wound temperature; (2) White cell count (WBC); (3) Histopathologic. Induction of skin lesion was carried on the dorsum of twenty Wistar rats. They were divided in the treated group (LLLT with GaAs), and the control group. Thermography was performed in all animals daily until the end of the experiment. On the fourth day after induction of the lesion, the whole blood was collected for WBC and euthanasia and skin biopsy were performed (histopathology). There was no difference in the number of leukocytes, and on histopathological evaluation between groups. Increase of temperature was observed on thermographic evaluation in the treated group. It was not confirmed anti-inflammatory action of LLLT with GaAs. The temperature increase on the surface of the skin lesions after laser therapy requires further investigation, since this cannot be justified by the direct action of LLLT.

**Keywords:** Laser Therapy. Thermography. Tissue Repair. Inflammation. Histopathology.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
2.1	A PELE: CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA EPIDERME E DA DERME .....	12
2.1.1	Epiderme .....	12
2.1.2	Derme.....	13
2.1.3	Estruturas Anexas .....	14
2.2	O PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DAS LESÕES NO ORGANISMO VIVO .....	15
2.2.1	Fase Inflamatória ou Exsudativa .....	16
2.2.2	Fase Proliferativa ou Granulação .....	17
2.2.3	Fase de Maturação ou Remodelação.....	18
2.3	LASERTERAPIA.....	19
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>25</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO 1 .....</b>	<b>30</b>
	<b>AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ARSENETO DE GÁLIO NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS.....</b>	<b>30</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>31</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>31</b>
	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>32</b>
	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>38</b>
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>39</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>41</b>
	<b>Anexo A. Figura 1. Cronograma experimental.....</b>	<b>42</b>
	<b>Anexo B. Figura 2. Contenção física do rato. (A) Instituição da terapia a laser de baixa potência (TLBP) com Arseneto de Gálio (GaAs). (B) Termografia infravermelha da região da ferida pré e pós a TLBP com GaAs. ....</b>	<b>43</b>
	<b>Anexo C. Figura 3. Termografia infravermelha sobre área da lesão cutânea no quarto dia do experimento. (A) Avaliação termográfica do grupo controle. (B) Avaliação termográfica do grupo tratado. ....</b>	<b>44</b>
	<b>Anexo D. Tabela 1. Valores médios da avaliação histopatológica semiquantitativa entre o grupo controle e grupo tratado. ....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pele, maior órgão do corpo, é composta pela epiderme, derme subjacente e seus anexos, proporcionando a proteção, regulação da temperatura, recepção de sensações contínuas do ambiente através dos receptores, excreção a partir das glândulas sudoríparas e absorção da radiação ultravioleta (GARTNER; HIATT, 2007).

Por definição, ferida constitui uma interrupção da continuidade de tecido corpóreo, causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afecção clínica estimulando a defesa do organismo lesionado, iniciando a cicatrização. O processo cicatricial dessas lesões é, na maioria das vezes, eficaz e fisiologicamente dinâmico, tendo como finalidade a recuperação da estrutura tissular para manter sua funcionalidade, mesmo com a perda de tecido que ocorre no momento da instituição da lesão (MANDELBAUM; DISANTIS; MANDELBAUM, 2003). A cicatrização das feridas é classificadas em três fases independentes que são sobrepostas dinamicamente: inflamatória, proliferativa e remodelação (GARTNER; HIATT, 2007).

A fase inicial é definida como inflamatória, apresenta exsudação e migração celular, iniciando logo após a instituição da lesão com duração estimada entre 2 a 3 dias. Mediadores químicos provocam a vasodilatação, aumentam a permeabilidade dos vasos e favorecem a quimiotaxia de leucócitos para o local da remoção dos tecidos desvitalizados. Clinicamente a fase inflamatória é caracterizada pelo aparecimento dos sinais cardinais da inflamação: dor, calor, rubor, edema, e perda de função (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A fase proliferativa apresenta aspectos histológicos característicos: intensa proliferação de pequenos vasos sanguíneos e de fibroblastos bem com síntese de colágeno. Novos vasos sanguíneos são originados por brotamento de vasos preexistentes num processo conhecido por angiogênese ou neovascularização. O tecido de granulação apresenta-se edemaciado devido ao extravasamento de hemácias e proteínas pelo endotélio, que se acumulam nos espaços extravasculares. (CAVALHO et al., 2006).

A fase de remodelação ocorre quando os fibroblastos participam da reestruturação da matriz extracelular e do depósito de colágeno, ocorrendo a substituição do colágeno tipo III pelo colágeno tipo I. Nesta fase também ocorre absorção de água, diminuição do número de vasos, podendo durar entre 6 meses a 2 anos (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

Diversas metodologias terapêuticas são empregadas atualmente para a modulação da reparação tecidual nas diferentes fases da cicatrização, como o hidrogel, alginato de cálcio, filme de poliuretano, curativo de hidrocolóide, papaína, gaze impregnada de petrolato, gaze

impregnada de parafina, apósito absorvente, curativo com nanopartículas de prata, sendo que a maioria dessas alternativas possui alto custo financeiro e sua escolha depende de cada fase específica da cicatrização (FRADE et al., 2012).

A escolha da metodologia terapêutica deve ser baseada essencialmente em fatores como eficácia, segurança, fase da cicatrização, e custo, para que o paciente possa mantê-lo e assim conseguir resultado satisfatório durante a cicatrização (FRADE et al., 2012).

Os primeiros pesquisadores a estudar os efeitos da terapia a laser de baixa potência (TLBP) na cicatrização de feridas obtiveram resultados favoráveis em diversos tecidos. Ao comparar os efeitos dos lasers Argônio (514,5 nm) e Hélio Neônio (623,8 nm) no processo de reparação tecidual entre o 3º e 12º dia do pós operatório, observaram que o laser de HeNe apresentou resultados superiores, acelerando significativamente o processo de cicatrização (NISSAN et al., 1986).

O crescente interesse pelos efeitos da laserterapia tem sido demonstrado pela significativa quantidade de publicações científicas, por meio de experimentos controlados em animais e humanos (MESTER; MESTER; MESTER, 1985). Atualmente, é evidenciado que TLBP promove bioestimulação, provocando efeitos sobre processos moleculares e bioquímicos, favorecendo o reparo de feridas devido a ações analgésicas e antiinflamatória, além de acelerar o processo de reparação tecidual (FRADE et al., 2012).

Por definição, o laser ou *Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation* é um feixe estreito de luz coerente monocromática visível, infravermelho ou ultravioleta do espectro luminoso. Dentre os diferentes mecanismos de ação da laserterapia, destaca-se o potencial antiinflamatório, seja através da estabilização da membrana celular pela normalização das concentrações de cálcio, sódio e potássio, contribuindo com a reparação celular, seja através da vasodilatação tecidual que aumenta o transporte de oxigênio e nutrientes para as células danificadas e facilita a reparação e remoção dos restos celulares (MARTIN, 2003).

Além dessas propriedades, o laser também modula a ação dos leucócitos, aumentando a síntese de prostaglandina devido à conversão das prostaglandinas PGG<sub>2</sub> e PGH<sub>2</sub> periosídeos em prostaglandinas PGI<sub>2</sub>, que possuem ação vasodilatadora e antiinflamatória; reduzindo a interleucina I; aumentando a resposta dos linfócitos e afetando benéficamente toda a resposta linfática; estimulando a angiogênese de capilares linfáticos e sanguíneos por induzir o aumento de óxido nítrico e de fatores do crescimento que contribuem com este processo (MARTIN, 2003).

Há também o relato da ação antiinflamatória sistêmica da TLBP através da

estimulação das glândulas adrenais na síntese de cortisol, atenuando assim a resposta inflamatória (BASTER, 2003).

Embora o uso da TLBP tenha sido amplamente estudado nos últimos 30 anos, parâmetros como o tipo do laser, número de aplicações, duração da aplicação, tempo de tratamento e o tipo e a fonte de emissão da luz ainda são o foco das investigações nas pesquisas em busca de metodologias mais efetivas para a terapia em diferentes situações clínicas e experimentais (GONÇALVES et al., 2013).

A avaliação da ação antiinflamatória da laserterapia sobre as lesões cutâneas também tem sido abordada. Segundo Araujo et al. (2006), após a instituição da lesão no dorso de ratos wistar, aplicando a TLBP Hélio-Neônio em dias consecutivos pós lesão, sendo avaliado as características morfológicas e funcionais da lesão por microscopia eletrônica, imunohistoquímica e radiografia, observou-se a redução das células inflamatórias após o 5º dia, evidenciado pelo precoce desaparecimento de neutrófilos.

Em outro estudo, foi instituído uma lesão bilateral no maxilar de coelhos, seguido de sutura. Os grupos foram divididos em controle e tratados, sendo o tratamento padronizado a utilização da TLBP pulsado de Arseneto-Gálio-Alumínio de 830 nm no 3º, 7º e 14º dia pós cirúrgico. A avaliação dos grupos foi realizada através de análise histopatológica, onde observou-se redução da taxa de inflamação no grupo tratado (ALIPANAH; ASNAASHARI; ANBARI, 2011).

Vilela et al. (2012), avaliou a influência da aplicação da TLBP GaAlAs (670 nm), como tratamento nas lesões cutâneas no dorso de ratos Wistar. Após três dias de tratamento, os animais foram eutanasiados e avaliados por exames de imunohistoquímica, histologia e hemograma, onde foi observada redução do número de células inflamatórias.

Outra avaliação foi realizada através da mensuração do edema e da análise histopatológica da lesão de pele da pata de ratos Wistar. Após tratamento com TLBP GaAs nas intensidades de 660nm e 684nm, foi observada a eficácia de ambas as intensidades na redução do edema e migração de células inflamatórias durante as primeiras quatro horas do processo inflamatório (ALBERTINI et al., 2007).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da reparação com TLBP Arseneto de Gálio em feridas cutâneas experimentalmente induzidas no dorso de ratos Wistar utilizando análises termográficas, hematológicas e histopatológicas.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A PELE: CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA EPIDERME E DA DERME**

A pele consiste de duas camadas principais, epiderme, derme e seus derivados, os folículos pilosos, as glândulas sudoríparas, as glândulas sebáceas e as unhas conhecidas como o tegumento (GARTNER; HIATT, 2007).

A epiderme é estruturalmente é composta por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, considerada a camada mais externa e espessa da pele, composta de cinco camadas distintas de queratinócitos, entremeados com células como os melanócitos, as células de Merkel e células de Langerhans (REDHER et al., 2004).

A derme está situada diretamente abaixo e interdigitando-se com a epiderme. Sendo composta de tecido conjuntivo denso não modelado, contendo principalmente colágeno do tipo I e fibras elásticas (GARTNER; HIATT, 2007).

O tegumento, é composto pela pele e seus derivados, incluindo as glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas, os folículos pilosos e as unhas, apresentando funções que envolvem proteção, regulação da temperatura, recepção de sensações, excreção e absorção da radiação ultra-violeta (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A pele tem importante papel na regulação imunológica através dos tecidos linfóides associados à mesma, que consistem em linfócitos e células apresentadoras de antígenos (queratinócitos, células de langerhans, mastócitos e macrófagos), que se movimentam na pele através dos vasos linfáticos e da corrente sanguínea (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

Os queratinócitos epidérmicos produzem uma variedade de citocinas, a interleucina (IL)-1 $\alpha$ , 1- $\beta$  e eicosanóides, que medeiam a imunidade e a inflamação (REDHER et al., 2004).

#### **2.1.1 Epiderme**

A epiderme constitui o epitélio superficial da pele, sendo organizada em cinco camadas, classificadas de acordo com sua espessura em estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo (GARTNER; HIATT, 2007). A camada mais profunda da epiderme, o estrato basal, é constituída por uma camada de células cubóides e colunares baixas, mitoticamente ativas, pela presença de células de merkel, podendo servir como mecanorreceptores e melanócitos, que produzem o pigmento melanina. Esta camada

esta separada da camada papilar da derme por uma membrana basal bem desenvolvida (GARTNER; HIATT, 2007).

O estrato espinhoso é a camada mais espessa da epiderme, constituído por várias camadas de células polimórficas, mitoticamente ativas, onde estão presentes as células de langerhans, que possui a capacidade de reconhecer e processar os antígenos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O estrato granuloso apresenta um formato mais achatado, sendo constituído por 3 a 5 camadas de células (queratinócitos), contendo grânulos de querato-hialina (FITZPATRICK, 2005).

A quarta camada, o estrato lúcido, é formado por uma camada delgada e intensamente corada de queratinócitos, situada superficialmente ao estrato granuloso, estando presente apenas na pele da palma da mão e da planta do pé (GARTNER; HIATT, 2007).

A camada mais superficial da epiderme é o estrato córneo, constituído por várias camadas de células achatadas e intensamente queratinizadas, apresentando membrana plasmática espessada. Tais células são descamadas na mesma proporção em que vão sendo substituídas pela atividade mitótica dos estratos basal e espinhoso (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

A epiderme é composta por quatro tipos de células, os queratinócitos, derivados do ectoderma, responsáveis pela produção de cito-queratina; os melanócitos, derivados de células da crista neural, responsáveis pela produção de melanina, a qual é sintetizada em organelas denominadas melanossomas; as células de Langerhans (células dendríticas), derivadas da medula óssea, atuando na resposta imunológica e as células de Merkel, tendo função neurosecretora, conectada a um axônio mielinizado por meio de um axônio não mielinizado, tendo função de um mecanorreceptor tátil (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

### **2.1.2 Derme**

A derme consiste em uma organização complexa de tecido conjuntivo, situado abaixo da membrana basal e compõe-se predominantemente de fibras de colágeno tipo I e redes de fibras elásticas, no qual está embebida uma substância fundamental rica em ácido hialurônico (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

A derme é subdividida em uma camada papilar, de tecido conjuntivo frouxo, sendo uma região superficial que se interdigita com as cristas epidérmias, e uma camada reticular, mais profunda, densa e espessa, formada por tecido conjuntivo denso não modelado (SOUZA;

VARGAS, 2004).

A camada papilar contém fibroblastos, macrófagos, plasmócitos, mastócitos e outras células comuns do tecido conjuntivo, possuindo alças capilares onde estão localizados os mecanorreceptores especializados em regular a temperatura, chamados de corpúsculos de Meissner (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A camada reticular da derme é composta por espessos feixes de fibras colágenas, onde em sua parte mais profunda encontram-se células adiposas, células musculares lisas e células especializadas, chamadas de mecanorreceptores encapsulados como corpúsculos de Pacini, que corresponde à pressão e vibração e os corpúsculo de Ruffini, que respondem as forças de tensão (SOUZA; VARGAS, 2004).

Os derivados da pele são estruturas que se originam a partir de invaginações epidérmicas que crescem para dentro da derme, incluindo os folículos pilosos, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e as unhas (GARTNER; HIATT, 2007).

### **2.1.3 Estruturas Anexas**

Os derivados da pele incluem pêlo, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e unhas. Estas estruturas originam-se das invaginações da epiderme para a derme (GARTNER; HIATT, 2007).

O folículo piloso origina-se da epiderme e invadem a derme, onde formam os pêlos, que são estruturas queratinizadas e filamentosas. O conjunto de células que compõem o pêlo é denominado matriz e suas diferentes camadas são divididas em células centrais chamadas medula, em células periféricas chamadas de córtex da haste do pêlo e em cutícula do pêlo. Os músculos eretores dos pêlos são feixes de células musculares lisas que se estendem da metade do folículo piloso para a camada papilar da derme (GARTNER; HIATT, 2007).

As glândulas sebáceas secretam uma substância oleosa formada por colesterol, triglicerídeos e restos celulares secretados, estando sob influência dos hormônios sexuais. O produto de secreção é liberado em um ducto revestido por epitélio estratificado pavimentoso, contínuo com o canal do folículo piloso (FITZPAPRICK, 2005).

As glândulas sudoríparas desempenham uma importante função na integridade da pele, existem dois tipos de glândulas sudoríparas, as apócrinas, epitriquiaias ou paratriquiaias e as écrinas, merócrinas ou atriquiaias (GARTNER; HIATT, 2007).

As glândulas apócrinas são glândulas tubulosas, enoveladas e simples, que se localizam abaixo das glândulas sebáceas e abrem-se para dentro do folículo piloso, acima da

abertura do ducto sebáceo (FITZPAPRICK, 2005).

As glândulas écrinas são pequenas e localizadas na derme profunda dos coxins são constituídas de uma única camada de células epiteliais cubóides ou cilíndricas e também são circundadas por uma camada de células mioepiteliais fusiformes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

As unhas originam-se de células da matriz ungueal, formadas por células epiteliais fortemente queratinizadas dispostas em placas. Ela é delimitada lateralmente pelas paredes ungueais, um cuja base se formam os sulcos ungueais laterais (GARTNER; HIATT, 2007).

## 2.2 O PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DAS LESÕES NO ORGANISMO VIVO

Segundo Garzotto, Silverstein e Hopper (2009), o processo cicatricial é comum a todas as feridas, independentemente do agente que a causou, sendo um processo sistêmico e dinâmico, estando relacionado com as condições apresentadas pelo organismo. A ferida é dividida em duas zonas: a área central, que corresponde à solução de continuidade, onde se acumulam os exsudados, coágulos e corpos estranhos; e a área periférica, delimitada pelos bordos da ferida, sendo a zona onde se origina a reparação tecidual.

Assim que a integridade da pele é alterada, o processo de cicatrização da ferida envolve alterações tissulares dinâmicas, desenvolvendo mecanismos celulares para a reparação tecidual, como a migração celular, a organização e remodelagem da matriz extracelular (MEC), seguida de proliferação das células (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A cicatrização de feridas consiste em perfeita e coordenada cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que interagem para que ocorra a reconstituição tecidual. Os mecanismos da cicatrização foram sequenciados de forma ordenada em três fases, divididas em: fase inflamatória, fase de proliferação ou de granulação e fase de remodelamento ou de maturação. (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

O reparo de tecidos pode se dar de duas formas: (1) pela regeneração com a recomposição da atividade funcional do tecido ou (2) pela cicatrização com restabelecimento da homeostasia do tecido com perda da sua atividade funcional pela formação de cicatriz fibrótica (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).



### 2.2.1 Fase Inflamatória ou Exsudativa

Esta fase ocorre quase concomitante ao estímulo lesivo, devido à influência nervosa (descargas adrenérgicas) e ação de mediadores oriundos da desgranulação de mastócitos, ocorrendo vasoconstrição como primeira resposta. A injúria do endotélio (ruptura, fissura ou erosão) dispara uma sequência de eventos, iniciando-se com a deposição das plaquetas, prosseguindo com sua ativação e posterior recrutamento de novas plaquetas (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

Após a lesão, ocorre a liberação de substâncias vasoconstritoras pelas membranas celulares, principalmente tromboxanas e prostaglandinas. As células inflamatórias migram para o tecido alvo por quimiotaxia, induzidas por mediadores químicos como a histamina, prostaglandina (PGE<sub>2</sub>), leucotrienos (LTD<sub>4</sub>), interleucinas (IL1 e IL6) e óxido nítrico (ON) que se ligam a receptores celulares e endoteliais estimulando a resposta inflamatória. Em sequência, ocorre a ativação de outros mediadores, lipídicos (eicosanóides) e peptídicos (citocinas), fatores de crescimento (neuropeptídeos) e a externalização de proteínas de adesão para leucócitos nas células endoteliais na superfície da membrana voltada para a luz dos vasos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

As plaquetas ativadas liberam a cascata da coagulação fundamental na cicatrização, onde se inicia a liberação de grânulos pelas plaquetas, as quais contêm fator de crescimento de transformação beta (TGF- $\beta$ ), além do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), prostaglandinas e tromboxanas, que atraem neutrófilos à ferida (GARSOTTO; SILVERSTEIN; HOPPER, 2009).

Os neutrófilos são as primeiras células a chegar à ferida, tendo maior concentração 24 horas após a instituição da lesão. São atraídos por substâncias quimiotáticas liberadas pelas plaquetas, aderindo à parede do endotélio mediante ligação com as selectinas (receptores de membrana). Os neutrófilos produzem radicais livres que auxiliam na destruição bacteriana, sendo gradativamente substituídos por macrófagos (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

Os macrófagos migram para a ferida após 48 - 96 horas da lesão, e são as principais células antes dos fibroblastos migrarem e iniciarem a replicação. Têm papel fundamental no término do debridamento iniciado pelos neutrófilos e sua maior contribuição é a secreção de citocinas e fatores de crescimento, além de contribuírem na angiogênese, fibroplasia e síntese de matriz extracelular, fundamentais para a transição para a fase proliferativa (GARSOTTO;

SILVERSTEIN; HOPPER, 2009).

A inflamação aguda apresenta início brusco, com rápida evolução, promovendo a vasodilatação microvascular em poucos dias e conseqüentemente aumentando o fluxo sanguíneo local, promovendo a diapedese de leucócitos e seu acúmulo no local da lesão, resultando nos quatro sinais da inflamação aguda: dor, calor, rubor e edema (MANDELBAUM; DISANTIS; MANDELBAUM, 2003).

Aproximadamente seis a sete dias após a lesão, a quantidade de linfócitos que aparece na ferida é menor que na circulação. Eles secretam linfocinas importantes, como o fator de inibição da migração, interleucina-2, fator de ativação de macrófago e fatores quimiotáticos, além de aumentar o estágio inicial da cicatrização através da estimulação de macrófagos, células endoteliais e fibroblastos. Entretanto, sugere-se que os linfócitos T podem regular a atividade fibroblástica exuberante a qual poderia, caso esta regulação não existisse, ocorrer tardiamente na reparação cicatricial (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

### **2.2.2 Fase Proliferativa ou Granulação**

A fase proliferativa é constituída por quatro etapas fundamentais: epitelização, neovascularização, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Esta fase tem início ao redor do 4º dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana. A epitelização ocorre precocemente. Se a membrana basal estiver intacta, as células epiteliais migram em direção superior, e as camadas normais da epiderme são restauradas em três dias. Se a membrana basal for lesada, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar na tentativa de restabelecer a barreira protetora (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A angiogênese representa um sinal para o início dos mecanismos moleculares e celulares que resultarão no crescimento de novos vasos sanguíneos, sendo caracterizada pela degradação da membrana basal com formação de um botão vascular, migração de células endoteliais, maturação, formação e inibição de crescimento. Nessa fase, tem início o fenômeno de contração realizado pelos miofibroblastos, que aproximam as margens da ferida contra a tensão centrífuga constante dos tecidos ao redor, reduzindo de 0,60 a 0,75 mm por dia a área da ferida (FITZPATRICK, 2005).

A parte final da fase proliferativa é a formação do tecido de granulação, na qual os fibroblastos e as células endoteliais são as principais células dessa fase. Os fibroblastos dos tecidos vizinhos migram para a ferida, porém precisam ser ativados para sair de seu estado de quiescência. O fator de crescimento mais importante na proliferação e ativação dos

fibroblastos é o PDGF. Em seguida é liberado o TGF- $\beta$ , que estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I e a transformar-se em miofibroblastos, que promovem a contração da ferida (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

Ao final desta etapa, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação, a circulação é restabelecida pela neovascularização e a rede linfática está passando por regeneração. Lentamente o tecido de granulação é enriquecido com mais fibras colágenas, o que começa a dar à região lesada a aparência de cicatriz devido ao acúmulo de massa fibrosa (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

### **2.2.3 Fase de Maturação ou Remodelação**

A característica mais importante desta fase é a deposição de colágeno de maneira organizada. É onde ocorre a substituição do colágeno tipo III pelo tipo I, absorção de água, diminuição do número de vasos sanguíneos, reorientação das fibras ao longo de linhas de sobrecargas aplicadas à lesão, resultando desse modo em um tecido com maior força tensil. Esta fase pode levar de seis meses a dois anos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

Por volta do décimo dia, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação (GUIDUGLI-NETO, 1992), com uma rede capilar atravessando-o e a rede linfática em franca regeneração, devido a sua reconstrução ter início posterior ao da vasculatura. O tecido de granulação vai sendo enriquecido com mais fibras de colágeno e começa a adquirir a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz. Nesta etapa, surgem as primeiras fibras de colágeno tipo I. Com a evolução do processo, acentua-se a deposição de colágeno e a maioria das células desaparecem. Estas mudanças se refletem em aumento da força tênsil da ferida, sendo à reorganização da nova matriz um processo importante da cicatrização (SOUZA et al.; 2004).

O processo de remodelamento da cicatriz envolve etapas sucessivas de produção, digestão e orientação das fibrilas de colágeno. A degradação do colágeno se inicia precocemente e é muito ativa durante o processo inflamatório. A sua digestão ocorre em ambiente extracelular e é mediada por collagenases específicas. São conhecidos quatro tipos de collagenases, sendo três séricas (elastase, catepsina C e proteinase neutra) e as metaloproteinases. A atividade das collagenases é controlada por citocinas liberadas principalmente por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos. A formação da MEC é, pois, resultante de um balanço entre a deposição (síntese) e degradação de colágeno (ABBAS; KUMAR; MITCHELL, 2012).

Ao final desta etapa, os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas, sofrem regeneração limitada e a coloração da cicatriz permanece pálida, pois a regeneração dos melanócitos é deficiente e as cicatrizes são hipo-vascularizadas devido ao desaparecimento dos neocapilares (FITZPATRICK, 2005).

### 2.3 LASERTERAPIA

A sigla L.A.S.E.R., tem origem na língua inglesa, sendo um acrônimo “*light amplification by stimulated emission of radiation*”; que significa “amplificação da luz por emissão estimulada de radiação”. Já a palavra laser é consagrada pelo uso e define fonte de luz monocromática, intensa, coerente e colimada, cuja emissão de radiação se faz pelo estímulo de campo externo, com aplicações variadas e crescentes na indústria, na engenharia e na medicina (BUSNARDO; BIONDO-SIMÕES, 2010).

O laser representa um dispositivo constituído por substâncias de origem sólida, líquida ou gasosa que produzem um feixe de luz quando excitadas por uma fonte de energia (SILVA, 2010).

O princípio da emissão estimulada foi proposto primeiramente, sob forma teórica, por Einstein em 1917, mas foi somente em 1960 que Theodore Maiman produziu o primeiro disparo de luz de rubi no Hugles Laboratories, EUA. A emissão estimulada de radiação é causada pela presença de um fóton indutor interagindo com um átomo em seu estado excitado, resultando na liberação de dois fótons induzidos (HENRIQUES; CAZAL; CASTRO, 2010).

As propriedades da relativa baixa potência pela radiação de lasers atérmicos, é referida como lasers terapêuticos, de baixa potência. Um exemplo desta modalidade terapêutica é o Hélio Nêonio, que apresenta comprimento de onda de 633nm, ou seja, faixa de luz visível (luz vermelha). Outro exemplo é o Arseneto de Gálio, cujos comprimentos de onda variam entre 633 e 904nm, apresentando efeitos analgésicas, anti-inflamatórias e de bioestimulação. O laser de Alumínio-Gálio-Indico-Fósforo apresenta um comprimento de onda que varia entre 630 e 685 nm, e apresenta efeitos bioestimulantes, assim como o laser de Arseneto-Gálio-Alumínio, que apresenta comprimento de onda variando entre 780 e 870 nm (KREISLER; HAJ; WILLERSHAUSEN, 2003).

A potência do laser é o valor dado pelo fabricante em watts (W). A densidade de potência é a potência de saída de luz por unidade de área medida em watts por centímetro quadrado (W/cm<sup>2</sup>). A densidade de energia (dose) é a grandeza que avalia a possibilidade de

estímulo ou inibição dos efeitos do laser, ou seja, é a quantidade de energia por unidade de área transferida ao tecido, sendo geralmente expressa em joules por centímetro quadrado ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ) (ROCHA et al., 2006).

Segundo Rocha et al. (2006), o laser é uma radiação eletromagnética não ionizante, sendo um tipo de fonte luminosa com características bastantes distintas daquelas de uma luz fluorescente ou de uma lâmpada comum. Os lasers têm como propriedade a monocromaticidade, a coerência e a colimação.

A monocromaticidade se dá porque a luz emitida possui um único comprimento de onda que oscila na mesma frequência e conseqüentemente apresentam uma única cor, diferente da luz branca que é formada pela composição de várias cores, onde cada cor corresponde a uma frequência determinada. A radiação laser com comprimento de onda único é também chamada monocromática nas regiões infravermelha e ultravioleta, apesar de invisível (SILVA, 2010).

A coerência da emissão se dá devido ao alinhamento das ondas eletromagnéticas no tempo e no espaço, possuindo o mesmo comprimento de onda e também a mesma fase, ou seja, os picos e as depressões dos campos elétricos e magnéticos ocorrem ao mesmo tempo, o que é denominado de “coerência temporal”. Além disso, todos correm na mesma direção, o que é chamado de “coerência espacial”. À distância na qual os comprimentos de onda permanecem na mesma fase é chamada de “extensão da coerência”, variando de menos de um milímetro até centenas de metros (ROCHA et al., 2006).

A colimação, processo no qual os raios lasers permanecem em feixes paralelos, é consequência direta da coerência espacial dos mesmos. Como as radiações não divergem, a energia é propagada em distâncias muito longas. Essa propriedade torna o laser de grande valor para medições e localizações de alvos (SILVA, 2010).

A diferença entre os vários tipos de lasers é dada pelo comprimento de onda. Quanto menor o comprimento de onda, maior sua ação e poder de penetração. Os lasers podem ser contínuos ou pulsáteis, sendo sua potência expressa em watts (W), variando de deciwatts ( $10^{-1}$ ) a megawatts ( $10^6$ ) e a energia medida em joules por centímetro quadrado ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ), sendo igual a potência multiplicada pelo tempo de aplicação (ROCHA et al., 2006).

Para que se obtenha a resposta biológica adequada, é necessário atingir a dose ótima de radiação, o comprimento de onda correto e aplicações suficientes. O comprimento de onda, densidade de energia (dose), densidade de potência (intensidade), tipo de regime de operação do laser e número de sessões devem ser estabelecidos antes do tratamento (HENRIQUES; CAZAL; CASTRO, 2010).

Segundo Kreisler, Haj e Willershausen (2003), o laser, ao interagir com o tecido biológico, sofre absorção, quando a luz é absorvida pelos componentes do tecido, como água, hemoglobina e melanina; reflexão, onde parte da luz é refletida e perdida; e transmissão, quando parte da luz se espalha pelo tecido, perdendo sua potência e atravessando toda a espessura do mesmo.

Existe uma ampla variação de recomendações da energia ideal para diferentes propósitos terapêuticos, sendo a intensidade usual de 0,5 a 10 J/cm<sup>2</sup>. Segundo Demir et al. (2004) o comprimento de onda do laser mais utilizado em medicina física é entre 630 e 984 nm. Para Mester, Mester e Mester (1985), os lasers mais utilizados na terapia de cicatrização de úlceras são os emitidos na região do visível (380 a 780 nm).

A terapia a laser de baixa potência (TLBP) é um termo genérico que define a aplicação terapêutica de *lasers* e diodos superluminosos monocromáticos com potência relativamente baixa, na porção do espectro das ondas eletromagnéticas (ASSUNÇÃO et al., 2003). Existe uma ampla variação de recomendações da energia ideal para diferentes condições; a intensidade usual é a 0.5 a 10 J/cm<sup>2</sup>. Geralmente o comprimento de onda do laser mais utilizado em medicina física é entre 630 e 984 nm segundo Demir et al. (2004). Os lasers emitidos na região do visível foram os mais utilizados na terapia de cicatrização de acordo com Mester, Mester e Mester (1985).

A luz proveniente de um aparelho de laserterapia pode interagir com o tecido irradiado de duas maneiras diferentes. Primeiro através da dispersão da luz incidente durante a sua propagação através dos tecidos. A dispersão ocorre devido à variabilidade no índice de refração dos componentes do tecido com respeito à água. Este mecanismo resulta no alargamento do feixe à medida que esse passa através do tecido irradiado e resulta na perda rápida de coerência (BASTER, 2003). A segunda maneira ocorre através da absorção da luz incidente por um cromóforo, que através de sua configuração eletrônica ou atômica, é uma biomolécula capaz de ser excitada pelos fótons incidentes. A luz nos comprimentos de onda empregados na TLBP é prontamente absorvida por uma variedade de biomoléculas, incluindo melanina e hemoglobina. Deve-se salientar que a absorção e a profundidade de penetração dependem do comprimento de onda. Assim a interação e a absorção podem ser consideradas como a base fotobiológica mais importante da laserterapia (KREISLER; HAJ; WILLERSHAUSEN, 2003).

A TLBP constitui técnica capaz de acelerar o processo de reparação dos tecidos biológicos traumatizados. Os mecanismos que envolvem o processo de bioestimulação ocorrem em nível molecular (KARU, 1999).

Os mecanismos biomoleculares da TLBP têm como evento inicial a absorção da luz pelos cromóforos. Os citocromos, presentes na mitocôndria são responsáveis por converter ADP em ATP, que fornece energia para a célula e dirige o seu metabolismo (síntese de proteínas, replicação, motilidade celular, manutenção do potencial de membrana). Como os citocromos são fotossensíveis, a energia do laser é absorvida e convertida em energia para a célula (ATP) (MISERENDINO; PICK, 1995).

Com o aumento da produção de ATP causada pela aplicação da energia da TLBP, a velocidade de mitose é aumentada, estimulando os processos de reparação tecidual, o que ajuda a reparar as perdas de substância das úlceras de diversas origens (GUZARDELLA et al., 2002).

O laser controla a produção de substâncias liberadas nos fenômenos de dor e inflamação, como as prostaglandinas, prostaciclina, histaminas, serotoninas, bradicininas, leucotrienos, etc. O efeito bioelétrico da radiação do laser ajuda a normalizar o potencial de membrana, atuando sobre a mobilidade iônica da atividade funcional da célula (KARU, 1999).

A utilização do laser operando em baixa potência é estudada desde os anos sessenta e vários trabalhos atualmente vem sendo realizados para se verificar e elucidar os efeitos dessa radiação sobre os tecidos. A radiação laser apresenta efeitos primários (bioquímico, bioelétrico e bioenergético), que atuam a nível celular promovendo aumento do metabolismo, podendo aumentar a proliferação, maturação e locomoção de fibroblastos e linfócitos, intensificar a reabsorção de fibrina, aumentar a quantidade de tecido de granulação e diminuir a liberação de mediadores inflamatórios, acelerando assim o processo de cicatrização (RODRIGUES et al.; 2009).

Viegas et al (2007) sugerem que a TLBP promove ativação precoce da fase inflamatória do processo de reparo tecidual, causando exacerbação dos seus sinais.

Os efeitos do laser GaAs com comprimento de onda de 904 nm, em cicatrização de feridas no dorso de ratos, utilizando uma potência de 0.5 mW, irradiação pulsátil e frequência de 500 Hz, foi estudado por Anneroth (1988). Seus resultados histológicos não mostraram benefício da laserterapia no processo de cicatrização tecidual.

Os principais lasers utilizados são os de Hélio-Neônio (HeNe), Arseneto de Gálio (GaAs), Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP) e Arseneto-Gálio-Alumínio (AlGaAs), conhecidos como lasers terapêuticos, lasers de baixa intensidade ou de baixa potência, sendo os dois primeiros os mais empregados (GUIRRO; GUIRRO, 2002).

Para Pereira et al (2019), o tratamento de feridas cutâneas com LBP em 670 nm

resultou na participação dos mastócitos no recrutamento de células polimorfonucleares através da produção de várias citocinas contidas em grânulos citoplasmáticos. Observou-se também que as células recrutadas contribuem para a amplificação e progressão do processo inflamatório, em parte devido ao aumento local de células polimorfonucleares, além de mastócitos, estimulando a vasodilatação.

Araujo et al. (2006) investigaram as características morfológicas e funcionais da lesão da pele de ratos irradiados laser de HeNe. Observou que no quinto dia houve aparente redução da atividade inflamatória, evidenciado pelo precoce desaparecimento de neutrófilos.

Vários estudos indicam que a luz laser é capaz de promover um processo cicatricial mais rápido e de melhor qualidade. A laserterapia acelera a proliferação de células, aumenta a vascularização e melhora a organização de colágeno (SCHMITT et al., 1993).

Reddy, Stehno-Bittel e Enwemeka (2001) utilizaram o laser durante cinco dias por semana, por aproximadamente três semanas, em feridas cirúrgicas induzidas na pele de ratos diabéticos. Nesse estudo, o laser acelerou o processo de reparo tecidual, sendo evidente o incremento à síntese de colágeno.

O laser de HeNe é um laser gasoso cujo meio ativo, como o próprio nome sugere, é uma mistura de dois gases: Hélio e Neônio (na proporção de 5 a 12 vezes mais Hélio do que Neônio), emitindo radiação na região visível (vermelha) com um comprimento de onda de 632,8 nm e atingindo uma profundidade de 2-5 mm, fazendo com que o raio laser seja absorvido por tecidos, alterando o comportamento celular, sem promover o aumento da temperatura tecidual. Os efeitos não térmicos produzidos pela radiação da baixa potência são amplamente discutidos, pois não são conhecidos todos os mecanismos nem todos os elementos que participam da conversão da energia luminosa em energia bioquímica. Atribui-se à TLBP efeitos analgésico, antiinflamatório e estimulante da cicatrização, tornando amplo seu emprego terapêutico na medicina, fisioterapia e, mais recentemente, na medicina veterinária (VEÇOSO, 1993).

Em músculos esqueléticos lesionados de ratos e de sapos, a irradiação com HeNe melhorou eficientemente a regeneração muscular. Este resultado pode ser explicado pelo fato do laser HeNe ser capaz de induzir a expressão de proteínas reguladoras do ciclo celular e consequentemente acarretar na ativação das células satélites (responsáveis pela regeneração do músculo estriado esquelético) (BEN-DOV et al., 1999).

O GaAs é um laser infravermelho pulsado, possuindo comprimento de onda de 904 nm e atingindo uma profundidade de 1 a 2,5 cm. Devido ao seu comprimento de onda, o mesmo possui maior poder de penetração, quando comparado ao laser HeNe (624 nm)



(KREISLER; HAJ; WILLERSHAUSEN, 2003).

Em suma, a TLBP tem demonstrado ser capaz de modular a inflamação em vários tecidos e apresenta vantagens como sendo um método não-invasivo, não-farmacológico e com baixo índice de efeitos colaterais (MEDEIROS et al., 2010).

Estudos anteriores indicam a eficiência da TLBP, exercendo efeitos antiinflamatórios no processo inicial da cicatrização, como a redução de mediadores químicos e citocinas (BASTER, 2003), redução da migração de células inflamatórias (leucocitos, neutrofilos) e edema (MEDRADO et al., 2003; ARAUJO et al., 2006; ALBERTINI et al., 2007; ALIPANAH; ASNAASHARI; ANBARI, 2011; PEREIRA et al., 2009; SCHMITT et al., 1993; VEÇOSO, 1993; VILELA et al., 2012), assim como o incremento dos fatores de crescimento, contribuindo diretamente para o processo de reabilitação tecidual (ALIPANAH; ASNAASHARI; ANBARI, 2011).

Nos trabalhos analisados, a utilização de diferentes comprimentos de onda variou de 632,8 a 904 nm. O comprimento de onda mais empregado foi o de 830 nm, se comparado isoladamente. Em estudos utilizando ratos, observou-se maior variedade de doses (0,04 a 21 J/cm<sup>2</sup>), sendo a dose mais utilizada a de 7,5 J/cm<sup>2</sup>. Porém, a falta de padronização dificulta a escolha dos parâmetros a serem utilizados na aplicação da terapia (KARU et al., 1999; DEMIR et al., 2004; ALBERTINI et al., 2007; PEREIRA et al., 2009).

Em conjunto, os achados sugerem que os efeitos da laserterapia estão relacionados a ação analgésica, antiinflamatória, antiedematosa e cicatrizante, promovendo redução significativa do número de células inflamatórias, estimulando a reabsorção dos exsudatos, favorecendo a eliminação de substâncias alógenas através do estímulo a microcirculação. Este estímulo, por sua vez, garante o aporte de nutrientes e de células de defesa para região lesionada, permitindo a drenagem do plasma, que forma o edema.

Ainda não há consenso sobre o potencial antiinflamatório da laserterapia de baixa potência na terapia de lesões cutâneas. Os dados conflitantes de diferentes estudos clínicos resultam em dúvidas plausíveis, quanto à variação nos fatores de tratamento e limitações dos parâmetros de avaliação dos projetos experimentais. Baseado nestes dados é interessante a execução de novos estudos adequadamente delineados utilizando diferentes metodologias de avaliação quanto a real eficácia do efeito antiinflamatório desta modalidade terapêutica.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o avanço da medicina regenerativa, vem-se estudando novas tecnologias terapêuticas na tentativa de tratar enfermidades cuja eficácia dos tratamentos convencionais ainda é limitada. A terapia da lesão cutânea utilizando a laserterapia de baixa potencia (TLBP) com arseneto de gálio (GaAs) é um exemplo de terapia que pode ser utilizada com a finalidade de reparação de feridas cutâneas quanto à possibilidade da modulação da inflamação durante a regeneração tecidual. O processo inflamatório agudo quando exacerbado, assim como a continuação do processo inflamatório por longos períodos podem dificultar o processo de reparação tecidual, sendo assim de interesse a busca por métodos alternativos quanto à modulação do processo inflamatório, como por exemplo, a TLBP. Embora não tenha sido possível comprovar a ação antiinflamatória da técnica TLBP com GaAs nas condições experimentais utilizadas neste experimento, o aumento de temperatura na superfície das lesões cutâneas induzidas experimentalmente observada pela avaliação termográfica infravermelha nos instiga a pensar possíveis justificativas para este resultado. Vale ressaltar que ainda devem ser superados diversos obstáculos para o adequado uso da TLBP para a reparação tecidual, e o melhor conhecimento dos mecanismos de ação da laserterapia certamente poderá contribuir com o desenvolvimento de resultados terapêuticos cada vez mais promissores, tornando cada vez mais possível a regeneração dos tecidos.

## REFERÊNCIAS

- ABUL, K. et al. **Fundamentos de Patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 712 p.
- ALBERTINI, R. et al. Análise estrutura autoradiographical mostram um rápido reparação da pele em He-Ne feridas tratadas com laser. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, v. 89, n. 1, p. 50-5, 2007.
- ALIPANAH, Y.; ASNAASHARI, M.; ANBARI, F. The effect of low level laser (GaAlAs) therapy on the post-surgical healing of full thickness wounds in rabbits. **Medical Laser Application**, v. 26, n. 3, p. 133-8, 2011.
- ANNEROTH, G. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **Brit J Oral Maxillofac Surg.**, v. 26, p. 12-7, 1988.
- ARAÚJO, C. E. N. et al. Ultrastructural and autoradiographical analysis show a faster skin repair in He-Ne laser-treated wounds. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, p. 87-9, 2006.
- ASSUNÇÃO, D. et al. Tratamento fisioterapêutico da acne por meio do laser Fisioterapia em Movimento, v. 16, n. 4, p. 11-6, out./dez. 2003.
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Rev Bras Cienc Farm.**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- BASTER, D. Laserterapia de baixa intensidade. In: \_\_\_\_\_. **Eletroterapia: prática baseada em evidências**. 11. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 55-171.
- BEN-DOV, N. et al. Low-energy laser irradiation affects satellite cell proliferation and differentiation in vitro. **Biochim Biophys Acta.**, v. 1448, p. 372-380, 1999.
- BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. Wound healing: an overview. **Plast Reconstr Surg.**, v. 117, n. 7, p. 1-32, 2006. Supplement.
- BUSNARDO, V. L; BIONDO-SIMÕES, M. L. P. Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. **Rev. Bras. Fisioter.**, v. 14, n. 1, p. 45-51, 2010.
- CAVALHO, P. T. C. et al. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. **Acta Cir Bras.**, v. 21, n. 3, 177-183, 2006.
- CLARK, R. Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations. **Journal of the American academy of dermatology**, v. 13, n. 5, p. 701-24, 1985.
- COELHO, C. O. M.; REZENDE, C. M. F.; TENÓRIO, A. P. M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v. 2, p. 33-45, 1999.
- COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, T. **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 562-89.
- DÂNGELO, J. G.; FATTINI, C. A. Sistema tegumentar. In: \_\_\_\_\_. **Anatomia humana sistêmica e segmentar de medicina**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p. 173-175.

- DEMIR, H. et al. Comparison of laser and ultrasound treatments on experimental wound healing in rats. **Journal of Rehabilitation Research & Development**, v. 41, n. 5, p. 721-28, 2004.
- FITZPATRICK, T. B. **Tratado de dermatologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2005. p. 88-259.
- FRADE, M. A. C et al. The vegetal biomembrane in the healing of chronic venous ulcers. **An Bras Dermatol.**, v. 87, n. 1, p. 45-5, 2012.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. Atlas colorido de histologia. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kooogan; 2007.
- GARZOTTO, C.; SILVERSTEIN, D.; HOPPER, K. **Wound Management: Small Animal Critical Care Medicine**. Saunders: Elsevier, 2009. p. 676-86.
- GONÇALVES, V. R. et al. Comparative study of the effects of laser photobiomodulation and extract of Brassica oleracea on skin wounds in wistar rats: A histomorphometric study. **Research and Practice**, v. 209, n. 10, p. 648-53, 2013.
- GUIDUGLI-NETO, J. The effect of roentgen radiation on the capillary sprontsonal superficial loops of granulation tissue In: \_\_\_\_\_. Ultrastructural aspects. **Rev. Odontol. Univ**, v. 6, p. 66-71, 1992.
- GUIRRO, E. C. O.; GUIRRO, R. R. J. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos recursos e patologia**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2002, p. 350-6.
- GUZZARDELLA, G. A. et al. Laser stimulation on bone defect healing: an in vitro study. **Lasers Med. Sci.**, v. 17, p. 216-220, 2002.
- HENRIQUES, A. C. G.; CAZAL, C.; CASTRO, J. F. L. Ação da laserterapia no processo de proliferação e diferenciação celular. **Rev. Col. Bras. Cir**, v. 37, n. 4, p. 295-302, 2010.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 427.
- KARU, T. I. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near I-R radiation on cells. **J Photochem Photobiol**, v. 49, n. 1, p. 1-17, 1999.
- KITCHEN, S. Efeitos térmicos. **Eletroterapia: prática baseada em evidências**. 11. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 89.
- KREISLER, M. B.; HAJ, H. A.; WILLERSHAUSEN, B. D. Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, n. 4, p. 353-8, 2003.
- MANDELBAUM, S. H.; DISANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares-Parte I. **An Bras Dermatol**, v. 4, n. 78, p. 394-410, 2003.
- Martin R. Laser-accelerated inflammation/pain reduction and realing. **Practical Pain Management**. v. 6, n.3, p. 20-5, 2003.

- MAUCH, C.; KRIEG, T. H. Fibroblast-matrix interactions and their role in the pathogenesis of fibrosis. **Rheumatic Disease Clinics of North America**. V. 16, n. 1, p. 93-107, 1990.
- MEDEIROS, J. L. et al. Healing of surgical wounds made with lambda 970-nm Diode Laser associated or Not with laser phototherapy (lambda 655 nm) or polarized light (lambda 400-2000 nm). **Photomed Laser Surg**, v. 28, p. 489- 96, 2010.
- MEDRADO, A. R. et al. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. **Laser in Surgery and Medicine**, v. 32, n. 3, p. 239-44, 2003.
- MESTER, E.; MESTER, A. F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers Surg. Med.**, v. 5, n. 1, p. 31-9, 1985.
- MISERENDINO, L. J.; PICK, R. **Laser in dentistry**. Carol Stream: Quintessence Publishing, 1995. p. 341.
- NETO, J. C. L. **Considerações sobre a cicatrização e o tratamento de feridas cutâneas em equinos em 2003**. Disponível em: <<http://br.merial.com/pdf/arquivo8.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2013.
- NISSAN, M. et al. HeNe Laser irradiation delivered transcutaneously: its effect on the sciatic nerve of rats. **Lasers Surg. Med**, v. 6, n. 5, p. 435-8, 1986.
- PEREIRA, M.C.; PINHO, C.B.; MEDRADO, A.R.P.; ANDRADE, Z.A.; REIS, S.R.A. Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**. p. 188- 192 , 2009.
- PRETEL, H. **Ação de biomateriais e do laser de baixa intensidade na reparação de tecido ósseo: estudo histopatológico em ratos**. 2005. 165 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.
- REDDY, G. K.; STEHNO-BITTEL, L.; ENWEMEKA, C. S. Laser photostimulation accelerates wound healing on diabetic rats. **Wound Rep. Regen**, v. 9, n. 3, p. 248-55, 2001.
- REDHER, J. et al. Model of human epidermis reconstructed in vitro with keratinocytes and melanocytes on dead de-epidermized human dermis. **São Paulo Med J.**, v. 122, n. 1, p. 22-5, 2004.
- ROCHA, J. A. M. et al. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. **An Bras Dermatol**, v. 81, n. 2, p. 150-6, 2006.
- RODRIGUES, S. S. M. F. et al. Efeitos do Laser de Baixa Potência, sob Diferentes Protocolos, no Reparo de Feridas Cutâneas em ratos. **ClípeOdondo – UNITAU**, v. 1, n. 1, p. 31-7, 2009.
- ROSS, M. H.; ROMWELL, L. J. **Histologia: texto e atlas**. 2. ed. São Paulo: Médica Panamericana, 1993. p. 51-117.
- SCHMITT, I. et al. Os efeitos da radiação laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 30,

n. 2, p. 145-9, 1993.

SILVA, J. P. Laser therapy in the tissue repair process: a literature review. **Photomedicine and Laser Surgery, Larchmont**, v. 28, n. 1, p. 17-21, 2010.

SOUSA, M. A. J.; VARGAS, T. J. S. Anatomia, fisiologia e histologia da pele. In: \_\_\_\_\_. **Dermatologia estética**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 25-55.

STEFANELLO, T. D.; HAMERSKI, C. R. Tratamento de úlcera de pressão através do laser as ga de 904 nm: um relato de caso. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 10, n. 2, 2006.

TATIANA, M. et al. Aspectos histológicos da pele de cães e gatos como ferramenta para dermatopatologia. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 29, n. 2, p. 177-190, fev. 2009.

VEÇOSO, M. C. **Laser em fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993.

VIEGAS, V. N. et al. Effect of Low-Level Laser Therapy on Inflammatory Reactions during Wound Healing: Comparison with Meloxicam. **Photomed Laser Surg**, v. 3, n. 27, p. 467, 2007.

VILELA, D. D. C. et al. Influence of the HPA axis on the inflammatory response in cutaneous wounds with the use of 670-nm laser photobiomodulation. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology**, v. 116, p. 114-20, 2012.

**4 ARTIGO 1**

**AVALIAÇÃO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA ARSENETO DE GÁLIO NA REPARAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**

## **Avaliação da ação do laser de baixa potência arseneto de gálio na reparação de feridas cutâneas em ratos**

*Gallium Arsenide low potency laser action evaluation in the repair of skin wounds in rats*

M.H.A. Bizo<sup>1</sup>, H.S. Toma<sup>1</sup>, K.M.R. Guedes<sup>1</sup>, L.S. Muraro, C.R. Musis<sup>2</sup>, A.M. Carvalho<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá (UNIC), Cuiabá.

<sup>2</sup>Programa de pós graduação em Ciências Ambientais, UNIC, Cuiabá.

\*E-mail: armandodvm@gmail.com

### **RESUMO**

O uso da terapia a laser de baixa potencia (TLBP) tem demonstrado resultados promissores quanto à modulação inflamatória durante a reparação tecidual. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antiinflamatório da TLBP com arseneto de gálio (GaAs) em feridas cutâneas, através da: (1) Mensuração da temperatura da superfície da ferida cutânea; (2) Leucograma; (3) Avaliação histopatológica. Foi realizada indução da lesão cutânea no dorso de vinte ratos *Wistar*, que foram divididos no grupo tratado (TLBP com GaAs), e o grupo controle. A termografia foi realizada em todos os animais diariamente até o término do experimento. No quarto dia após a indução da lesão, foi coletado o sangue total (leucograma), e realizada eutanásia e biópsia da lesão (histopatologia). Não houve diferença quanto ao número de leucócitos, e na avaliação histopatológica entre os grupos, no entanto, na avaliação termográfica foi observado aumento de temperatura no grupo tratado. Não foi confirmada ação antiinflamatória da TLBP com GaAs. O aumento de temperatura na superfície das lesões cutâneas após laserterapia requer novas investigações, já que este não pode ser justificado pela ação direta da TLBP.

**Palavras-chave:** laserterapia, termografia, reparação tecidual, inflamação, histopatologia.

### **ABSTRACT**

The use of low-level laser therapy (LLLT) has demonstrated promising results in the inflammatory modulation during tissue repair. Therefore, the objective of this study was to evaluate the anti-inflammatory potential of LLLT with gallium arsenide (GaAs) in cutaneous wound through: (1) Measurement of the surface skin wound temperature; (2)



White cell count (WBC); (3) Histopathologic. Induction of skin lesion was carried on the dorsum of twenty Wistar rats. They were divided in the treated group (LLLT with GaAs), and the control group. Thermography was performed in all animals daily until the end of the experiment. On the fourth day after induction of the lesion, the whole blood was collected for WBC and euthanasia and skin biopsy were performed (histopathology). There was no difference in the number of leukocytes, and on histopathological evaluation between groups. Increase of temperature was observed on thermographic evaluation in the treated group. It was not confirmed anti-inflammatory action of LLLT with GaAs. The temperature increase on the surface of the skin lesions after laser therapy requires further investigation, since this cannot be justified by the direct action of LLLT.

**Keywords:** laser therapy, thermography, tissue repair, inflammation, histopathology.

## INTRODUÇÃO

O uso do laser para a terapia de feridas cutâneas tem se desenvolvido rapidamente na medicina. O baixo custo do equipamento associado a resultados promissores tem despertado grande interesse por parte dos pesquisadores na utilização deste para a modulação da reparação tecidual. São observados resultados positivos envolvendo a utilização da Terapia a Laser de Baixa Potência (TLBP) em feridas cutâneas com destaque para redução da atividade inflamatória (Araújo *et al.*, 2006), aumento da vascularização, melhora da organização do colágeno (Schmitt *et al.*, 1993), e aceleração do processo de reparação tecidual (Reddy *et al.*, 2001).

O processo de reparação tecidual é dividido em três fases distintas: inflamatória; proliferativa; remodelamento (Broughton *et al.*, 2006). No entanto, este é fisiologicamente dinâmico, com interação e sobreposição entre as diferentes fases de cicatrização. A fase inflamatória inicia concomitante ao estímulo lesivo, através da quimiotaxia de células inflamatórias promovidas por mediadores químicos como a histamina, prostaglandina (PGE<sub>2</sub>), leucotrienos, interleucinas e óxido nítrico (Balbino *et al.*, 2005). Os neutrófilos são as primeiras células a chegar à ferida, e tem como função o debridamento do tecido desvitalizado e destruição de bactérias (Broughton *et al.*, 2006). Os macrófagos migram para a ferida após 48 horas da lesão, atuando no término do debridamento e secreção de citocinas e fatores de crescimento que irão contribuir

para a angiogênese, fibroplasia e síntese da matriz extracelular (MEC) (Garsotto *et al.*, 2009).

A termografia é uma metodologia de imagem utilizada para a mensuração de calor emitida pela superfície sendo útil para inúmeros propósitos na medicina. Possui as vantagens de ser fácil de operar, método não invasivo, e seus equipamentos e manutenção possuem valor relativamente baixo. Como o tecido inflamado tem como característica aumento de temperatura, a termografia tem sido utilizada para a detecção da inflamação tecidual (Christensen *et al.*, 2012).

Laser é um acrônimo “*light amplification by stimulated emission of radiation*”, definido pela fonte de luz monocromática, intensa, coerente e colimada, cuja emissão de radiação se faz pelo estímulo de campo externo (Busnardo; Biondo-Simões, 2010). A TLBP pode ser desenvolvida com laser de Hélio-Neônio (HeNe), ou Arseneto de Gálio (GaAs), sendo capaz de modular a inflamação em vários tecidos, e apresenta vantagens como sendo um método não invasivo, não farmacológico e com baixos índices de efeitos colaterais (Medeiros *et al.*, 2010). A ação antiinflamatória na fase inicial da reparação tecidual exercida pela TLBP é relacionada à diminuição de células inflamatórias (Medrado *et al.*, 2008; Alipanah *et al.*, 2011; Vilela *et al.* 2012). No entanto também há estudos que não obtiveram diferença quanto ao número de células polimorfonucleares entre o grupo tratado com TLBP e o grupo controle, não confirmando a ação antiinflamatória (Viegas *et al.*, 2007).

Não há consenso quanto ao potencial antiinflamatório da TLBP em feridas cutâneas. Os dados conflitantes dos diferentes estudos, assim como as limitações dos parâmetros de avaliação empregados nos projetos experimentais deixam dúvidas quanto à ação da laserterapia na reparação de feridas. Baseado nestes dados o presente estudo objetiva a avaliação da inflamação em feridas cutâneas em ratos após a instituição da TLBP com GaAs através da termografia infravermelha focal, e do número de células inflamatórias presentes na ferida (histopatologia), e no sangue total (leucograma).

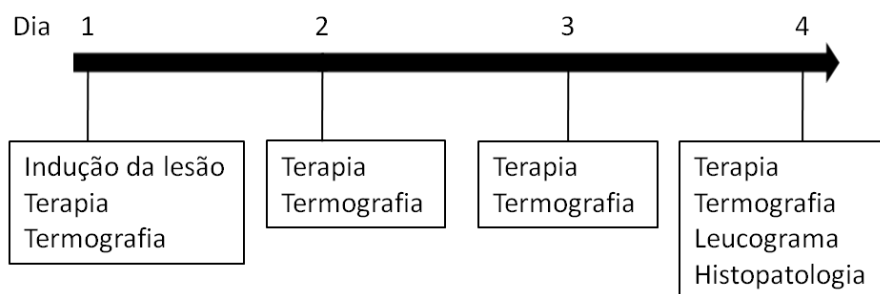
## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Vinte ratos *Wistar* machos, de doze meses de idade, com peso variando entre 318 a 469 g (média 379 g), provenientes do biotério da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Cuiabá (UNIC). Todos os animais tiveram acondicionamento prévio de sete dias em gaiolas individuais, mantidos a temperatura de 25° C, e recebendo ração

comercial (Presence® Ratos e Camundngos) e água *ad libitum*.

O delineamento experimental foi baseado na formação de dois grupos aleatórios, grupo tratado (GT) (lesão cutânea tratada com laserterapia, n=10) e grupo controle (GC) (lesão tratada com caneta do laser desativada, n=10). O experimento foi realizado durante quatro dias consecutivos iniciando com a indução da lesão cutânea (dia 1), seguido da termografia da lesão pré e pós-terapia e com TLBP na lesão cutânea diariamente, de acordo com o grupo experimental até o final do experimento (dia 4), em que foi realizada a punção cardíaca para a coleta de sangue para avaliação hematológica, e a biópsia da lesão cutânea para a avaliação histopatológica (Figura 1).

**Figura 1.** Cronograma experimental



Da região dorsal entre o tórax e a região cervical de todos os animais foram tricomicizada após anestesia intramuscular (0,1 mL/100 g de peso) de cetamina (50 mg) e xilazina a 2% (20 mg), seguido do bloqueio anestésico local com administração subcutânea de 150 µL de lidocaína 2% sem vasoconstritor no local a ser dissecado. Antes do procedimento cirúrgico foi realizada antissepsia com solução degermante de iodopolividona 10% (Vic Pharma, Taquaritinga, SP, Brasil) seguido de solução de álcool iodado 0,1% (Vic Pharma, Taquaritinga, SP, Brasil), e então com auxílio de um punch dermatológico estéril de 6 mm de diâmetro (Kolplastci LTDA, Itupeva, SP, Brasil) foi realizada a remoção de um fragmento circular do tecido cutâneo.

Após a indução da lesão, foram realizados curativos diários com solução de iodopolividona tópico diluído 0,1% (Vic Pharma, Taquaritinga, SP, Brasil) em todos os animais do experimento.

Os animais do GT receberam TLBP com GaAs sobre a região da ferida em área equivalente a 3 cm<sup>2</sup>, sendo uma única aplicação diária em horários equivalentes. Para isso se fez necessário a contenção física dos animais com auxílio de recipiente plástico tubular adaptado com perfuração dorsal passível de executar curativos, laserterapia e

avaliação termográfica nos animais. A TLBP com GaAs, com comprimento de onda de 904 nm, potência de pico 25 w, duração de pulso 200 ns, densidade de energia de 1 J/cm<sup>2</sup>, foi administrada durante 21 segundos (Physiolux Dual Vet Line, Bioset, Rio Claro, SP, Brasil). Os animais do GC foram manipulados de modo idêntico ao GT, no entanto a probe do aparelho de TLBP permaneceu desligado e foi posicionado no local da lesão, com pressão manual equivalente ao GT sobre a lesão cutânea e mantido durante 23 segundos.

Foi realizada avaliação termográfica infravermelha (FLIR, EUA), através de imagens com enfoque na ferida e a distância de 25 cm, sendo realizada diariamente após a adequada contenção física dos animais, pré e pós a instituição da TLBP.

No quarto dia do experimento, além da TLBP e termográfica foi realizada a avaliação hematológica e a biópsia da lesão do tecido cutâneo. Para isso, os animais foram anestesiados (dose 0,2 mL/100g) com 50 mg de cloridrato de ketamina associada a 20 mg de xilazina a 2%. Após a anestesia dos animais foi realizada a punção cardíaca com seringa de 3 mL e agulha 22G para coleta sanguínea, 2 mL das amostras foram imediatamente transferidas para tubo com 0,05 mL de solução aquosa de etilenodiamino-tetracético-dissódico (EDTA) a 10%, perfazendo adequada homogeneização. Todas as amostras foram encaminhadas para o laboratório clínico do hospital veterinário (HOVET) da UNIC e o hemograma foi processado no analisador hematológico veterinário (Sysmex pocH-100iV™, EUA). Imediatamente após a coleta sanguínea e com os animais ainda estando sobre os efeitos da anestesia dissociativa, foi realizada biópsia de cinco milímetros de diâmetro do tecido cutâneo exatamente na transição do tecido saudável com o tecido de cicatrização. O material foi imediatamente armazenado em solução de formol tamponado 10%. Ao término da biópsia cutânea, foi realizada eutanásia através da administração intraperitoneal de tiopental sódico, dose 150 mg/Kg.

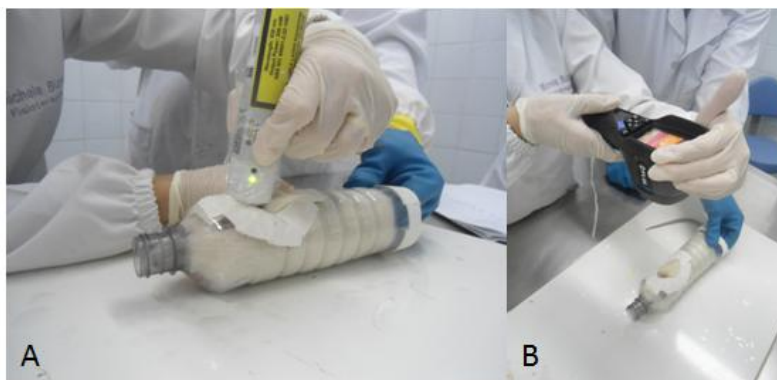
Rotineiramente para confecção de lâminas histológicas corados com hematoxilina e eosina (H&E) e examinados em microscópio óptico sem o conhecimento do grupo experimental e tratado. A avaliação semiquantitativa considerando-se os seguintes parâmetros morfológicos: infiltração polimorfonuclear, neovascularização. Os resultados foram organizados de acordo com as seguintes pontuações: 0 – ausente, 1 – leve, 2 – moderado, 3 – intenso (Pretel, 2005).

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o teste de Kruskal-Wallis, sendo que para cada parâmetro avaliado foi calculado a média dos valores  $\pm$  desvio padrão, sendo comparado o GT e o GC.

## RESULTADOS

O condicionamento prévio em gaiolas individuais assim como a contenção física dos animais sete dias antes do início do experimento foi essencial para o adequado desenvolvimento do experimento. O protocolo de dessensibilização e o uso do *punch* dermatológico para a indução da lesão cutânea mostrou-se eficaz. A instituição da TLBP assim como a avaliação macroscópica e termográfica foi adequadamente executada com o auxílio do recipiente adaptado manualmente para contenção dos animais (Figura 2).

**Figura 2.** Contenção física do rato. (A) Instituição da terapia a laser de baixa potência (TLBP) com Arseneto de Gálio (GaAs). (B) Termografia infravermelha da região da ferida pré e pós a TLBP com GaAs.



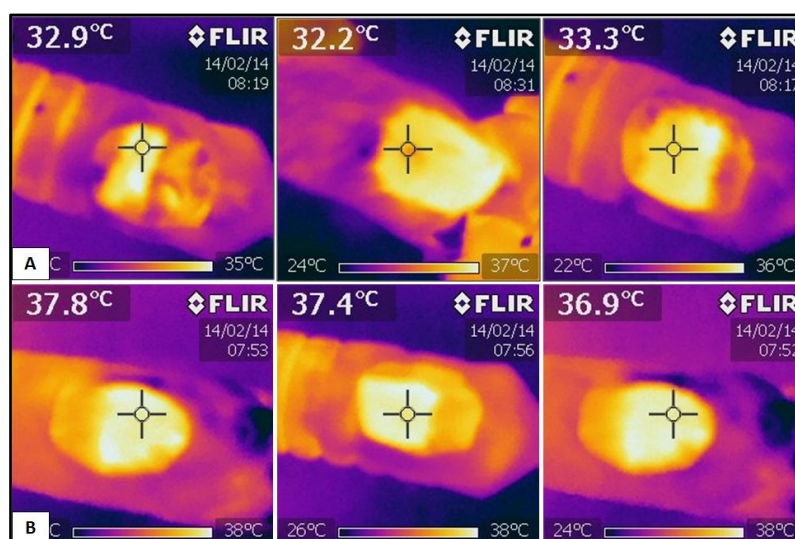
O número de leucócitos presentes no sangue total dos animais no quarto dia do experimento no GC apresentou variação entre 7.600 a 12.500 leucócitos/ $\mu$ L (média de 10.370 leucócitos/ $\mu$ L), enquanto que no GT houve variação entre 5.600 a 11.7000 leucócitos/ $\mu$ L (média de 9.920 leucócitos/ $\mu$ L), diferença não significativa. Também não houve diferença entre a avaliação histopatológica realizada nos diferentes grupos experimentais (Tabela 1). No entanto houve diferença (temperatura média  $P \leq 0,05$ ) entre os grupos na avaliação termográfica com o GC apresentando variação de temperatura entre 24,6°C a 35,9°C (média de 32,7°C), e o GT apresentando variação de temperatura entre 22,9°C a 37,8°C (média de 33,6°C) (Figura 3).

**Tabela 1.** Valores médios da avaliação histopatológica semiquantitativa entre o grupo controle e grupo tratado.

	Continuidade superfície epitélio	Infiltração polimorfonuclear	Fibroblastos	Neovascularização
GC	1,1	1,4	1,5	1,4
GT	0,9	1,2	1,1	1,4

Escore utilizado para avaliação histopatológica semiquantitativa: 0 – ausente, 1 – leve, 2 – moderado, 3 – intenso. Grupo controle (GC), grupo tratado (GT).

**Figura 3.** Termografia infravermelha sobre área da lesão cutânea no quarto dia do experimento. (A) Avaliação termográfica do grupo controle. (B) Avaliação termográfica do grupo tratado.



## DISCUSSÃO

A técnica de indução da lesão cutânea utilizando *punch* dermatológico de seis milímetros de diâmetro foi realizada com sucesso em todos os animais, promovendo a padronização de lesões idênticas nos animais experimentais de modo similar às técnicas descritas anteriormente (Kawalec *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2010).

A TLBP tem demonstrado ser capaz de modular a inflamação em vários tecidos e apresenta vantagens como sendo um método não invasivo, não farmacológico e com baixo índice de efeitos colaterais (Medeiros *et al.*, 2010). Ainda não há consenso quanto à ação antiinflamatória da TLBP, estudos anteriores indicam possível efeito antiinflamatório no processo inicial da cicatrização (Medrado *et al.*, 2008; Pereira *et al.*,

2010; Alipanah *et al.*, 2011; Vilela *et al.*, 2012), entretanto também há estudos com a não comprovação desta ação (Viegas *et al.*, 2007). Os resultados obtidos neste experimento quanto a avaliação do número absoluto de leucócitos e quanto a avaliação histopatológica semiquantitativa por escore (infiltração de polimorfonucleares) foi menor no GT comparado ao GC, entretanto este valor não foi significativo, não evidenciando a ação antiinflamatória da TLBP com o emprego do GaAs. A possível justificativa para a não comprovação da ação antiinflamatória neste estudo seria a não adequada padronização da técnica empregada utilizando TLBP com GaAs (Albertini *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2010). Embora a TLBP tem sido amplamente empregada nos últimos 30 anos, parâmetros como o tipo de laser, número de aplicações, duração da aplicação, tempo de tratamento, e o tipo e a fonte de emissão da luz ainda precisam ser estudados em busca da padronização de metodologias para maior eficácia terapêutica (Gonçalves *et al.*, 2013).

A avaliação termográfica infravermelha das lesões cutâneas evidenciou o aumento de temperatura significativo ( $P \leq 0.05$ ) na superfície da lesão cutânea do grupo tratado com TLBP. A aplicação terapêutica de *lasers* e diodos superluminosos monocromáticos com potência relativamente baixa, na porção do espectro das ondas eletromagnéticas (Assunção *et al.*, 2003). É definida pela aplicação terapêutica de lasers e diodos superluminosos monocromáticos com potencia relativamente baixa para promover o aquecimento detectável nos tecidos irradiados (Stefanello; Hamerski, 2006), sendo portanto improvável o aquecimento tecidual mediado pela ação direta da laserterapia. Uma possível explicação para este aumento de temperatura na lesão cutânea seria o aumento da vascularização local promovido pela laserterapia (Schmitt *et al.*, 1993), no entanto, não foi realizada avaliação do fluxo sanguíneo (power Doppler) neste experimento impossibilitando esta conclusão.

### CONCLUSÃO

Não foi confirmada a ação antiinflamatória da LTBP com GaAs no tratamento de lesões cutâneas através da avaliação hematológica, histopatológica neste estudo. No entanto, foi observado aumento de temperatura da superfície da ferida cutânea do grupo tratado com a LTBP com GaAs. Não temos conhecimento de estudo semelhante utilizando termografia infravermelha para mensuração da temperatura superficial de feridas cutâneas em ratos tratados com laserterapia, sendo assim, este trabalho é pioneiro

quanto à avaliação da temperatura de lesões cutâneas. Os resultados aqui obtidos merecem novas investigações, principalmente quanto a qual o efeito biológico gerado pela TLBP que justifique o aumento de temperatura na superfície da ferida cutânea.

#### REFERENCIAS

- ALBERTINI, R.; VILLAVERDE, A.B.; AIMBIRE, F.; et al. Análise estrutura autoradiographical mostram um rápido reparação da pele em He-Ne feridas tratadas com laser. *Journal. Photochemistry Photobiology Biology*, v.89, n.1, p. 50-55, 2007.
- ALIPANAH, Y.; ASNAASHARI, M.; ANBARI, F. The effect of low level laser (GaAlAs) therapy on the post-surgical healing of full thickness wounds in rabbits. *Medical Laser Application*, v.26, p.133-138, 2011.
- ARAÚJO, C.E.N.; RIBEIRO, M.S.; FAVARO, R. et al. Ultrastructural and autoradiographical analysis show a faster skin repair in He-Ne laser-treated wounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*, v.86, n.1, p.87-96, 2006.
- BALBINO, C.A.; PEREIRA, L.M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, v.41, n.1, p. 27-51, 2005.
- BROUGHTON, G.; JANIS, J.E.; ATTINGER, C.E. Wound healing: an overview. *Plast. Reconstr. Surg.*, v.117, n.7, p. 1e-S-32e-S, 2006. Supplement.
- BUSNARDO, V.L; BIONDO-SIMÕES, M.L.P. Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. *Rev. Bras. Fisioter.*, São Carlos, v.14, n.1, p. 45-51, 2010.
- CHRISTENSEN, J.; MATZEN, L.H.; VAETH, M. ET AL. Thermography as a quantitative imaging method for assessing postoperative inflammation. *Dentomaxillofacial Radiolog.*, v.41, p. 494-499, 2012.
- GARZOTTO, C.; SILVERSTEIN. D.; HOPPER, K. *Wound Management: Small Animal Critical Care Medicine*. Saunders: Elsevier, 2009. p. 676-686.
- GONÇALVES, V.R.; SARANDY, M.M.; MATTA, S.L.P. et al. Comparative study of the effects of laser photobiomodulation and extract of Brassica oleracea on skin wounds in wistar rats: A histomorphometric study. *Research and Practice*, n.10, p. 648-653, 2013.
- KAWALEC, J.S.; HETHERINGTON, V.J.; PFENNIGWERTH, T.C. et al. Effect of a Diode Laser on Wound Healing by Using Diabetic and Nondiabetic Mice. *The Journal of the Foot & Ankle Surgery*, v.43, p. 214-220, 2004.



MEDEIROS, J.L.; NICOLAU, R.A.; NICOLA, E.M. et al. Healing of surgical wounds made with lambda 970-nm Diode Laser associated or Not with laser phototherapy (lambda 655 nm) or polarized light (lambda 400-2000 nm). *Photomed Laser Surg*, v.28, p. 489- 96, 2010.

MEDRADO, A.P.; SOARES, A.P.; SANTOS, E.T. et al. Influence of laser photobiomodulation upon connective tissue remodeling during wound healing. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v.92, p.144-152, 2008.

PEREIRA, M.C.; PINHO, C.B.; MEDRADO, A.R.P. et al. Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*, v.98, p.188-192, 2010.

REDDY, G.K.; STEHNO-BITTEL, L.; ENWEMEKA, C.S. Laser photostimulation accelerates wound healing on diabetic rats. *Wound Rep. Regen.*, v.9, n.3, p.248-255, 2001.

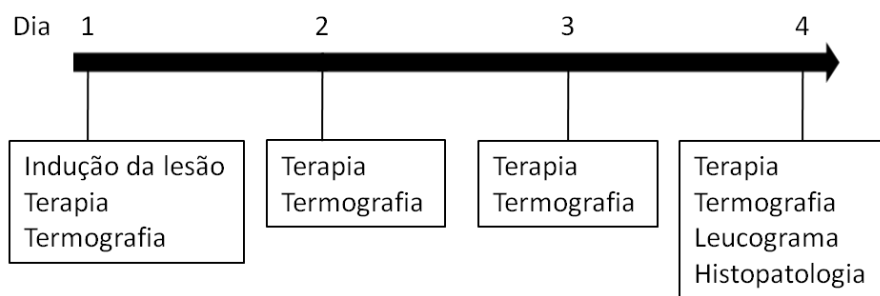
SCHMITT, I.; RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L. et al. Os efeitos da radiação laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.30, n.2, p.145-149, 1993.

STEFANELLO, T.D.; HAMERSKI, C. R. Tratamento de úlcera de pressão através do laser as ga de 904 nm - um relato de caso. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, v.10, n.2, 2006.

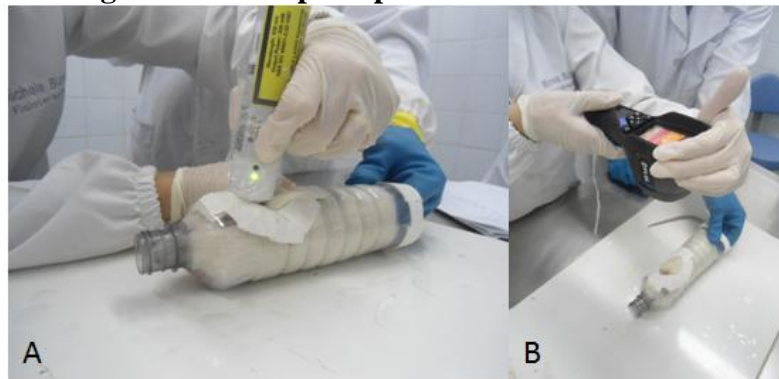
VIEGAS, V.N.; ABREU, M.E.; VIEZZER, C. et al. Effect of Low-Level Laser Therapy on Inflammatory Reactions during Wound Healing: Comparison with Meloxicam. *Photomed Laser Surg.*, v.3, n.27 p.467, 2007.

VILELA, D.D.C.; CHAMUSCA, F.V.; ANDRADE, J.C.S. et al. Influence of the HPA axis on the inflammatory response in cutaneous wounds with the use of 670-nm laser photobiomodulation. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*. n.116, p. 114-120, 2012.

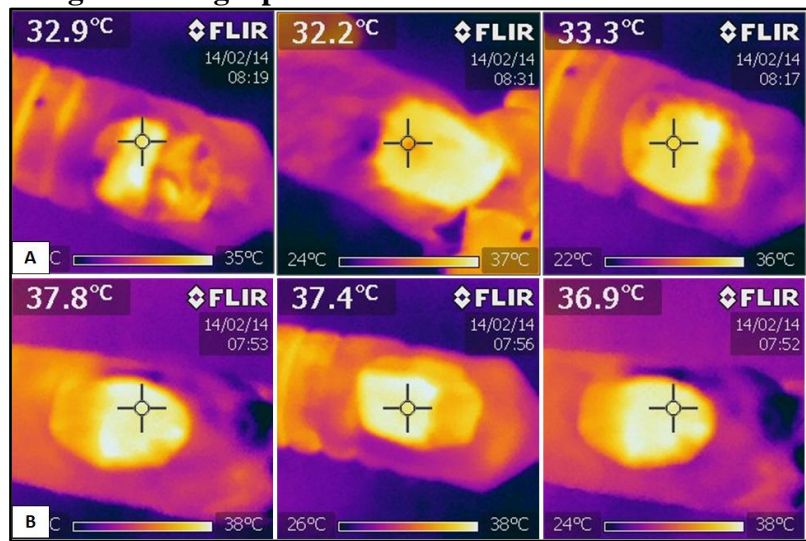
**ANEXOS**

**Anexo A. Figura 1. Cronograma experimental**

**Anexo B. Figura 2. Contenção física do rato. (A) Instituição da terapia a laser de baixa potência (TLBP) com Arseneto de Gálio (GaAs). (B) Termografia infravermelha da região da ferida pré e pós a TLBP com GaAs.**



Anexo C. Figura 3. Termografia infravermelha sobre área da lesão cutânea no quarto dia do experimento. (A) Avaliação termográfica do grupo controle. (B) Avaliação termográfica do grupo tratado.



**Anexo D. Tabela 1. Valores médios da avaliação histopatológica semiquantitativa entre o grupo controle e grupo tratado.**

	Continuidade superfície epitélio	Infiltração polimorfonuclear	Fibroblastos	Neovascularização
GC	1,1	1,4	1,5	1,4
GT	0,9	1,2	1,1	1,4

Escore utilizado para avaliação histopatológica semiquantitativa: 0 – ausente, 1 – leve, 2 – moderado, 3 – intenso. Grupo controle (GC), grupo tratado (GT).