

EFEITO DA FOTOBIOESTIMULAÇÃO LASER NA CURA DAS FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS WISTAR

MAAGH, Francine Bastos¹; GARCIA, Cintia SNOVAES, Romualdo Dias
GONÇALVES, Reggiani Vilela⁴

¹ Centro de Desenvolvimento em Biotecnologia - Universidade Federal de Pelotas
franbmaagh@hotmail.com

² Centro de Desenvolvimento em Biotecnologia - Universidade Federal de Pelotas
cintia.s.garcia@hotmail.com

³ Departamento de Biologia Geral - Universidade Federal de Pelotas
romuonovaes@yahoo.com.br

⁴ Departamento de Morfologia - Instituto de Biologia - Universidade Federal de Pelotas
reggysvilela@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Atualmente existem no mercado aproximadamente 2.500 itens que se destinam ao tratamento de feridas agudas, isto se deve ao grande interesse no desenvolvimento de mecanismos que visem evitar gastos e promover uma melhora na qualidade de vida dos pacientes e, nesse contexto, entor não haja dados precisos sobre a incidência de lesões que este tipo de lesão já é considerada um problema social (Pereira et al., 2002). Este problema se agrava à medida que a população mundial que cerca de 3% da população mundial com mais de 65 anos de idade apresenta transtorno relacionado ao processo de reparo tecidual (Lubbers, 2006).

O processo de cicatrização pode ser dividido em três fases: inflamação, formação do tecido granulação e remodelação (Singer & Clark, 1999). Diante de um trauma tecidual, há o desencadeamento de eventos vasculares, celulares e bioquímicos que ocorrem em conjunto com a morte celular e a formação de tecido cicatricial (Thlammaz et al., 1996).

Contudo, para que o processo cicatricial ocorra de forma harmoniosa e dinâmica, deve ocorrer a formação de novos vasos e a deposição de colágeno. Um suprimento sanguíneo adequado é fundamental para a formação do tecido de granulação e a nutrição dos fibroblastos responsáveis pelas sínteses (Reddy, 2004). Se a vascularização de tecidos for comprometida os fibroblastos terão uma função deficiente na fase de remodelação do tecido cicatricial, sendo a redução direta da força e a qualidade do tecido cicatricial (Posteln et al., 2005).

Neste contexto a terapia laser surge como uma alternativa eficaz no sentido de acelerar a formação do tecido cicatricial em ambiente propício para o desenvolvimento de uma cicatriz forte e de qualidade (Xavier et al., 2010). Estudos recentes têm relatado que o laser aumenta a produção de colágeno, melhora a vascularização, estimula a proliferação e função dos fibroblastos (Vet et al., 2010a). Desta forma, o objetivo do presente estudo foi analisar o efeito cicatrizante do laser GaAsAl (30 e 90J/cm²) em relação à vascularização de feridas cutâneas em ratos Wistar.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados vinte e quatro ratos Wistar machos pesando aproximadamente 325,38±27,92, provenientes do Centro de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram alojados em gaiolas individuais, diariamente higienizadas, com condições ambientais controladas de temperatura (22°C), umidade relativa do ar e fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuridão *ad libitum*. Todos os procedimentos envolvidos no protocolo experimental foram aprovados pelo Comitê de Ética para o uso de animais de laboratório da UFV (registro 005/2008). Os animais foram anestesiados com Ketamina e Xylazina (60 mg/Kg de peso corporal) via injeção intraperitoneal na região da dorso-lumbar dos animais. Em seguida, a anestesia foi mantida com dióxido de carbono (CO₂) em um fluxo de 2 L/min. Quando as feridas foram previamente preparadas, a anestesia foi interrompida e imediatamente medida usando um micrômetro analógico (Mediágraf, São Paulo, Brasil).

Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos com 8 animais cada. O grupo controle (L30) teve a ferida limpa com álcool 70%; Grupo L90: feridas tratadas com laser GaAsAl 30 J/cm² (λ 830nm); Grupo L90: feridas tratadas com laser GaAsAl 90 J/cm² (λ 830nm). Todos os tratamentos foram realizados diariamente durante 21 dias. O laser usado foi o Quasar (Dietrich, São Paulo, Brasil) com potência de saída de 9 para a duração de 10 segundos. Fragmentos de pele foram coletados de feridas diferentes a cada sete dias. No 7º dia foi coletado material da primeira ferida, no 14º dia foi coletado material da segunda ferida e no 21º dia foi coletado material da terceira ferida. Os fragmentos de tecido foram fixados em Karnovsky, desidratados em etanol, diafanizados em xilol e embebidos em parafina. Cortes semi-seriados de 4 μm foram obtidos utilizando um micrótomo rotativo (Leica® Multicorte 2045, Reichert-Jung Products, Alemanha). Os cortes foram então montados em lâminas histológicas e corados com hematoxilina e eosina (H&E) para análise dos fibroblastos (Gonçalves et al., 2010b). Para cada corte foram obtidas, de forma randomizada, quinze imagens com resolução de 2048 pixels, com objetiva de 20x. A partir das imagens digitalizadas, foi realizada a contagem de pontos sobre vasos sanguíneos com o uso de uma grade de 216 interseções associada ao software de análise de imagens Image Pro-plus 4.5 (Media Cybernetics®, Silver Spring, USA). A análise estatística foi realizada com o software SPSS (versão 11.0). Os dados foram expressos em média ± desvio padrão, sendo a comparação entre os grupos realizada com o teste de Mann-Whitney U (Mann-Whitney U-test) e a análise de variância de Kruskal-Wallis. Em todas as análises foi considerado um nível de significância de p < 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da figura 1 mostra que não houve diferença significativa na proporção de vasos no tecido lesado (diagrama 1) entre os grupos. Nos dias 7, 14 e 21, o grupo L90 apresentou maior proporção de vasos sanguíneos significativamente em relação ao grupo controle (p < 0,05) (Fig. 2). No 14º dia, o grupo L90 apresentou maior quantidade de vasos sanguíneos quando comparado com o grupo controle. Não houve diferença significativa entre os grupos L30 e controle no tecido cicatricial (Fig. 1). Dados semelhantes foram encontrados por Gonçalves et al., 2010b que demonstrou a eficiência de altas doses de energia na indução da próliferação celular.

angiogênese. Estudos têm demonstrado que a terapia a laser induz a secreção de HGF (Hourel *et al.*, 2010) entre eles estão o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento fibroblástico (FGF) e fator de crescimento de células endoteliais (ECGF) que estimulam a regeneração e reparo do tecido e a proliferação celular e da angiogênese (Bal, 2005; Xavier *et al.*, 2010).

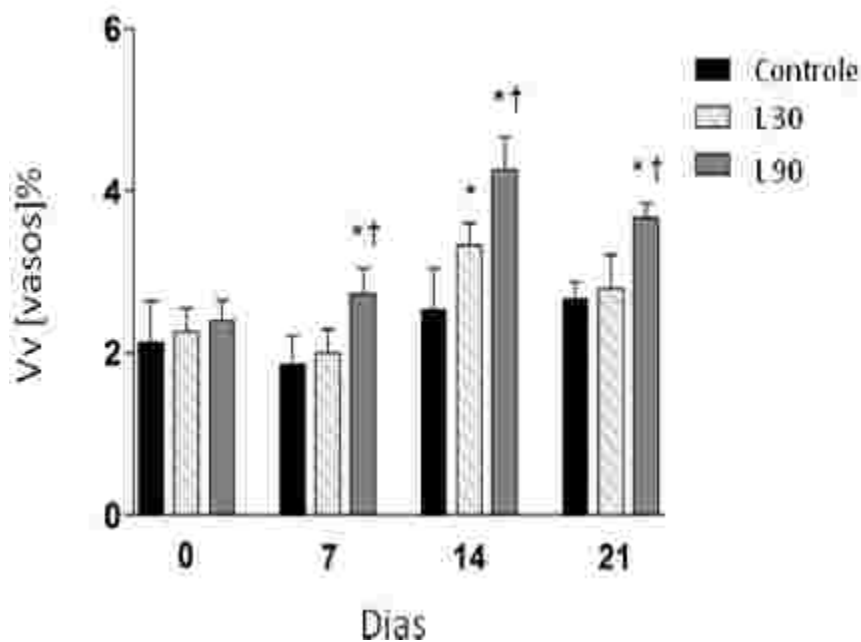


Figura 1. Efeito do laser (GaAsAl 30j/cm² e 90j/cm²) na quantidade de vasos sanguíneos em feridas cutâneas de ratos Wistar coletados a cada 7 dias, durante 21 dias de tratamento. Controle: solução salina 0,9%; L30: laser 30 J/cm²; L90: laser 90 J/cm². Dia 0 representa o tecido sem ferimentos. Os dados são apresentados com o erro padrão. *† Indicam diferenças estatísticas entre os grupos (p<0.05); * comparado ao grupo controle, † comparação entre os grupos L30 e L90.

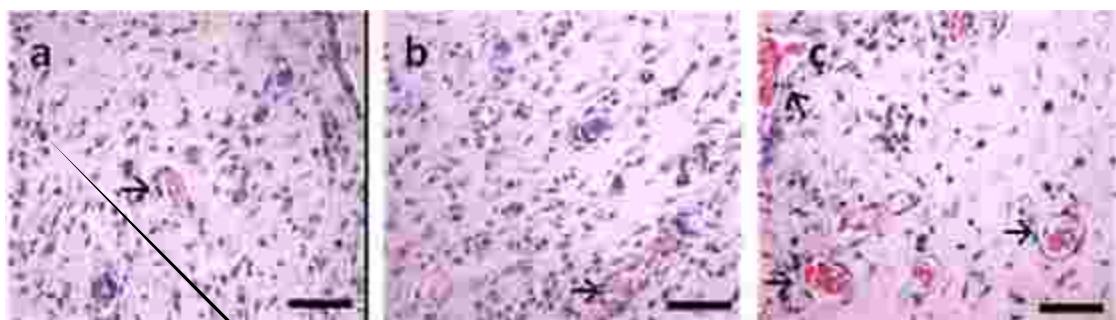


Figura 2. Fotomicrografia obtida em microscópio de lâmina de vasos no tecido cicatricial (Hematoxilina-Eosina, Barra= 30 µm). Fragmentos de tecidos coletados no 21º dia de experimento. a= Controle (Salina, 0,9%); b= L30: Laser 30 J/cm²; c= L90: Laser 90 J/cm². Setas indicam a presença de vasos.

4 CONCLUSÃO

No presente trabalho, ambas as doses de laser mostraram-se eficazes para promover a neovascularização no controle. Entretanto, os resultados mais expressivos encontrados durante todo o

experimento ocorreram no grupo tratado com laser $90\text{J}/\text{cm}^2$. Esses achados sugerem que a Laserterapia com el evadas densidades en er ét i c a s repara o tecido através do estímulo à neovascularização adicional por meio do qual a f otobiomodulação a ser ex e r c i c i o s iniciais do processo de reparo tecidual.

5 REFERÊNCIAS

BORTOT, B.V. **Análise do laser AlGaInP no processo de lesões cutâneas tratadas com terapia – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, 2005.**

GONÇALVES, R.; NOVAES, R.D.; MATTA, S.L.P.; BENEVIDES, G.P.; FARIA, F.R.; PINTO, M.V.M. Comparative study of the effects of gallium-aluminum-arsenide laser photobiomodulation and healing oil on skin wounds in Wistar rats: a histomorphometric study. **Photomed Laser Surg.** v.28, p.597-602, 2010a.

GONÇALVES, R.; SOUZA, N.T.A.; SILVA, P.H. Influência do laser de galium alumínio em feridas de rato. **Fisioter Mov.** v.23, p.381-388, 2010b.

HOURELD, N.N.; SEKHEJANE, P.R.; ABRAHAMSE, H. Irradiation at 830nm stimulates nitric oxide production and inhibits pro-inflammatory cytokines in diabetic wounded fibroblast cells. **Lasers Surg Med.** v.42, p.494-502, 2010.

LUBBERS, W. Wound healing: trick art or science. 15 th Annual meeting of the European tissue repair society. **Anais da sociedade europeia de reparo de pele**, 2006.

PEREIRA, G.F.M. Manual de condutas para úlceras neuróticas e traumáticas. **Caderno de reabilitação de condutas para úlceras**, Ministério da Saúde, 2002.

POSTEN, W.; WRONE, D.A.; DOVER, J.S.; ARNDT, K.A.; SILAPUNT, S.; ALAM, M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. **Dermatologic Surg.** v.31, p.334-340, 2005.

REDDY, G. K. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. **J Clin Photomed Laser Surg.** v.23, p.289-294, 2004.

SINGER, A.J.; CLARK, R.A. Cutaneous wound healing. **N Engl J Med.** v.341, p.738-746, 2005.

THOMAZ, J.B.; HERDY, C.D.C.; OLIVEIRA, J.C.P.; Fundamentos da cicatrização de feridas. **Arq Bras Med.** v.70, p. 65-72, 1996.

XAVIER, M.; DAVID, D.R.; SOUZA, R.A.; ARRIEIRO, A.N.; MIRANDA, H.; SANTANA, E.T.; SILVA, Jr. J.A.; SALGADO, M.A.C.; AIMBIRE, F.; ALBERTINI, R. Anti-inflammatory effects of low-level light emitting diode therapy on achilles tendinitis in rats. **Lasers Surg Med.** v.42, p.553-558, 2010.