

Fisioter Bras 2018;19(5Supl):S70-S74

ARTIGO ORIGINAL**Efeito do LED no processo de cicatrização em ratos Wistar lesados no dorso**
LED effect in the process of wound healing in Wistar rats injured on the back

Lidiane Gonçalves da Silva*, Lucas Santos Alves*, Ericka Raiane da Silva**, Aline de Sousa Alves**, Aucélia Cristina Soares de Belchior***

Estudante de graduação do curso de Bacharelado em Fisioterapia das Faculdades Integradas de Patos – FIP, **Bacharel em Fisioterapia pelas Faculdades Integradas de Patos – FIP, *Professora Doutora do curso de Fisioterapia das Faculdades Integradas de Patos – FIP***Endereço para correspondência:** Lidiane Gonçalves da Silva, Rua Francisco Antônio do Nascimento, 195, Novo Horizonte 58704748 Patos PB, E-mail: lidiane.traumacg@gmail.com**Resumo**

O reparo tecidual de lesões é um processo fisiológico que se inicia com resposta inflamatória. O tratamento com o LED pode ajudar na cicatrização de lesões na pele. Objetivou-se avaliar os efeitos do LED no processo de cicatrização em ratos. Este estudo foi realizado no Núcleo de Pesquisa Experimental das FIP, com 8 ratos Wistar, divididos em 2 grupos, 4 animais em cada grupo. Um grupo recebeu tratamento com o LED e outro não recebeu. Foram anestesiados e tricotomizado no dorso. Cada ferida tinha um diâmetro de 10 mm. Após 24 horas, cada animal recebeu tratamento do seu grupo por 15 dias ininterruptos. O grupo tratado com LED apresentou melhora estatisticamente significativa ($p < 0,05$) a partir do 3º ($0,900 \pm 2,026$, $n=8$) em relação ao grupo controle ($1,074 \pm 2,026$, $n=8$). No 9º dia, o grupo LED continuou apresentando uma redução expressiva ($0,298 \pm 2,026$, $n=8$), não o grupo controle ($0,557 \pm 2,026$, $n=8$). No 12º dia, houve a total cicatrização do grupo LED ($0,009 \pm 2,026$, $n=8$), e o grupo controle ainda estava em processo cicatricial no 15º dia ($0,039 \pm 2,026$, $n=8$). O LED possui promissora aplicabilidade clínica em processos cicatriciais cutâneos reduzindo complicações funcionais e estéticas.

Palavras-chave: cicatrização, lesões cutâneas, LED.**Abstract**

The tissue repair of injuries is a physiological process that begins with inflammatory response. Treatment with the LED can help in the healing of skin lesions. The objective this study was to evaluate the effects of LED on wound healing in rats. The study was carried out in the Experimental research of the FIP with 8 Wistar rats, divided into 2 groups, 4 animals in each group, one group was treated with the LED and the other not. We anesthetized the rats which were trichotomized on the back. Every wound had a diameter of 10 mm. After 24 hours, each animal received treatment by 15 days uninterrupted. The group treated with LED showed statistically significant improvement ($p < 0.05$) from the 3rd (0.900 ± 2.026 , $n = 8$) in relation to group controle (1.074 ± 2.026 , $n = 8$), on the 9th day, the LED Group continued presenting a expressive reduction (0.298 ± 2.026 , $n = 8$), not the controle Group (0.557 ± 2.026 , $n = 8$), on the 12th day, we observed the total healing of LED Group (0.009 ± 2.026 , $n = 8$), the controle group was still in the healing process on the 15th day ($\pm 0.039 2.026$, $n = 8$). The LED has promising clinical applicability in skin scarring processes reducing functional and aesthetic complications.

Key-words: healing, skin lesions, LED.**Introdução**

As feridas são eventos que podem afetar fisiologicamente a pele, principalmente aquelas que acometem a camada dérmica. O processo de cicatrização se dá com finalidade de reparar o tecido lesado e pode ser dividido em três fases que se superpõem: inflamatória, proliferativa e de remodelação [1].

Por ser um processo complexo, a cicatrização tem atraído a atenção de pesquisadores ao longo dos anos. A cicatrização envolve um processo complexo de interação entre as células

da epiderme, derme, matriz extracelular, proteínas do plasma coordenadas por citocinas e fatores de crescimento, sendo essa interação dinâmica e sequenciada [2].

Esse processo divide-se em cicatrização por primeira intenção, que ocorre após o fechamento primário da ferida e cicatrização por segunda intenção, que acontece quando a ferida fica aberta propositalmente, para fechamento espontâneo ou, em caso de deiscência, quando a ferida se abre mesmo após seu fechamento primário [3].

A cicatrização de lesões é um processo fisiológico que se inicia com resposta inflamatória, e é caracterizada por um aumento do fluxo sanguíneo, da permeabilidade capilar e migração de leucócitos para a região da lesão. A permeabilidade capilar é responsável por promover o extravasamento de plasma e seus componentes com formação de exsudato inflamatório [4].

O LED (Diodo Emissor de Luz) é um semiconductor submetido a uma corrente elétrica, que emite uma luz e que pode ser utilizado para fototerapia, tendo essa luz o comprimento de onda que variam de 405 nm (azul) a 940 nm (infravermelho). Não causam dano tecidual e sua ação ocorre através da estimulação direta intracelular, mais especificamente nas mitocôndrias estimuladoras, responsáveis por organizar as células, inibindo algumas ações e estimulando outras, na síntese de ATP e nas proteínas, como colágeno e a elastina, o que resulta na fotobioestimulação [5].

O LED também atua como antimicrobiano e anti-inflamatório, dependendo do comprimento de onda, age nas células com relação à sua absorvidade e acelera o processo de cicatrização influenciando as mitocôndrias estimuladoras, atuando na síntese de ATP, bem como na elastina e no colágeno [6].

Acredita-se que o tratamento terapêutico do LED pode ajudar na cicatrização de lesões na pele, onde a luz proporciona a normalização dos processos bioquímicos e fisiológicos das feridas [7].

Os efeitos terapêuticos são específicos e por ser uma tecnologia relativamente nova, ainda encontra-se em fase de investigação a respeito dos seus reais resultados. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar os efeitos do LED no processo de cicatrização em ratos Wistar.

Material e métodos

O presente estudo foi desenvolvido no Núcleo de Pesquisa Experimental das Faculdades Integradas de Patos-FIP. Em parceria com a Clínica Escola de Fisioterapia das FIP juntamente com o Laboratório de Patologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal da UFCG (Protocolo CEP nº 119-2013).

Foram utilizados 8 ratos Wistar, oriundos do biotério do Núcleo de Pesquisa Experimental das FIP, distribuídos em dois grupos experimentais. Grupo 1: 4 Animais que não sofreram nenhum tipo tratamento; Grupo 2: 4 Animais tratados com LED

Foram utilizados 4 animais para o grupo piloto. Os animais do segundo grupo realizaram o tratamento 24 horas após se fazer as lesões, durante 15 dias ininterruptos. Todos os animais estavam anestesiados com ketamina® e xilazina®, e após realizada a tricotomia da região dorsolateral de cada animal. No primeiro dia do experimento, foram feitas quatro feridas cirúrgicas no dorso de cada animal, com diâmetro de 10 mm cada, utilizando tesoura e pinça dente de rato. As distâncias entre as feridas eram de 10 mm.

A profundidade da ferida foi controlada pela remoção do tecido epitelial e fáscia muscular dorsal. Após realização dos procedimentos anteriormente descritos e 24h depois, utilizou-se LED 940 nm (infravermelho), feixe visível e comprimento de onda 940 nm no segundo grupo experimental. Os animais foram irradiados pelo LED durante 10 minutos. O aparelho foi posicionado em todo o dorso do animal contemplando toda área da lesão. Este procedimento não gera nenhum estímulo sensitivo, além disso, durante o tempo de aplicação, os camundongos estavam anestesiados com ketamina® e xilazina® para evitar a movimentação dos mesmos. O primeiro grupo passou pelo mesmo estresse, recebendo anestesia e realizando a mensuração do diâmetro das feridas, porém não era realizado o tratamento.

Para registros da evolução do processo de cicatrização a cada três dias realizavam-se fotografias das feridas, usando para isso câmera digital Sony, SDS de 10 mega pixels onde as imagens eram armazenadas no formato JPEG. Além disso, para mensuração das mesmas empregou-se um papel seda, onde as bordas eram demarcadas e escaneadas para serem analisadas pelo programa imageJ®.

Os dados foram submetidos à análise de variância para medidas repetidas (ANOVA), além do pós-teste de Tukey. Quanto as diferenças estatísticas entre os grupos utilizou-se o software GraphPad Prisma 5.0 (San Diego, CA, EUA) considerando estatisticamente relevantes ($P < 0,05$).

Resultados

Durante os 15 dias de tratamento ininterruptos, na qual a cada 3 dias foi realizada a mensuração das feridas, é possível analisar a evolução cicatricial através dos diâmetros.

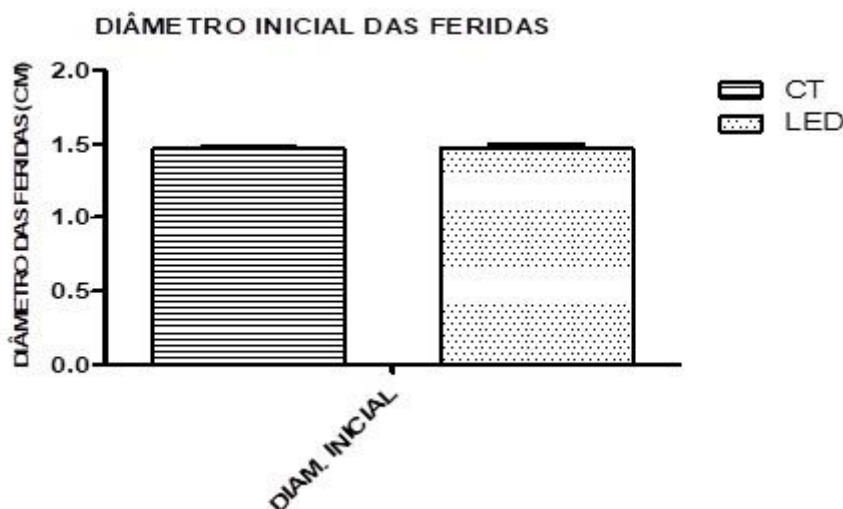


Figura 1 - Diâmetro inicial das feridas.

Pode-se observar que as feridas realizadas no dorso dos ratos apresentam diâmetros iniciais aproximados, sendo: CT ($1,468 \pm 2,02$, $n=8$) e LED ($1,476 \pm 2,02$, $n=8$). (figura1)

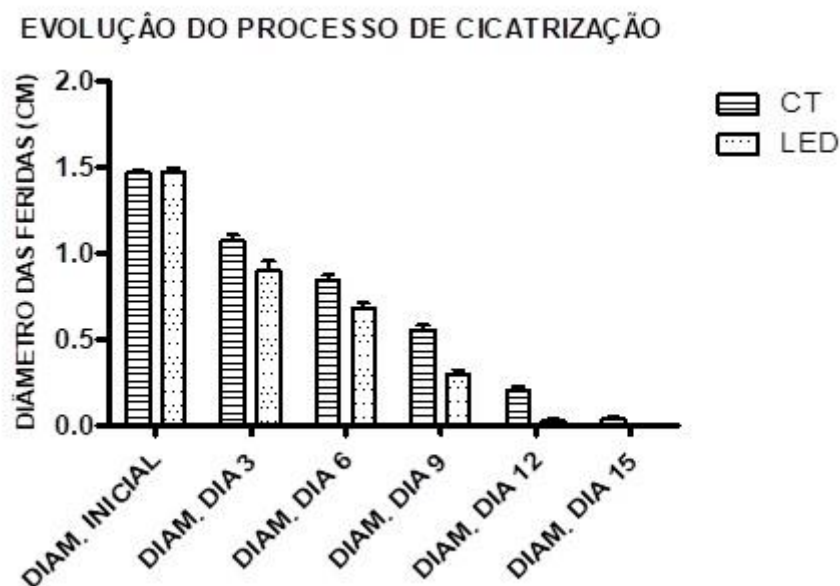


Figura 2 - Evolução do processo de cicatrização.

Com relação aos resultados obtidos na pesquisa, evidenciou-se que o grupo tratado com LED apresentou uma melhora estatisticamente significativa ($p < 0,05$) a partir do 3º ($0,900 \pm 2,026$, $n=8$) em relação ao grupo CT que não recebeu nenhum tipo de tratamento ($1,074 \pm 2,026$, $n=8$). No 9º dia, o grupo LED continuou apresentando uma redução expressiva ($0,298 \pm 2,026$, $n=8$), não sendo para o grupo CT ($0,557 \pm 2,026$, $n=8$). No 12º dia, houve a total

cicatrização do grupo LED ($0,009 \pm 2,026$, $n=8$), já o grupo CT ainda estava em processo cicatricial no 15º dia ($0,039 \pm 2,026$, $n=8$). (figura 2).

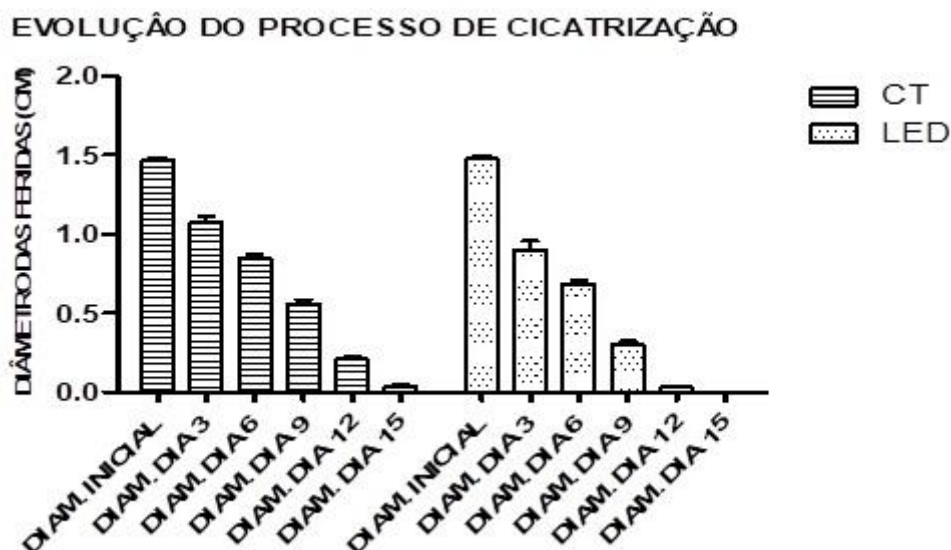


Figura 3 - Evolução do processo de cicatrização.

Discussão

A cicatrização engloba uma sequência coordenada de alterações bioquímicas, incluindo a interação de vários tipos diferenciados de células, os integrantes da matriz, as proteases e citosina. O LED apresenta uma relevante capacidade de reparação tecidual estimulando a reparação dos tecidos lesados [8].

A radiação do LED aumenta, significativamente, a neovascularização em tecido lesionado, acelerando o processo de reparo e diminuindo a área de necrose, indicando um aumento do fluxo sanguíneo em locais de lesão [9].

Segundo Pinheiro [10] após utilizar a terapia LED de baixa intensidade em edema induzido por carragenina em pata de camundongos, observou-se que: coerência e colimação não são fatores decisivos para induzir alterações nas funções celulares e sim, a monocromaticidade, por causar uma vascularização potencializada em fluências de baixa intensidade.

Dall Agnol *et al.* [11] realizou um estudo similar, porém em ratos diabéticos. Na diabetes mellitus os principais fatores que contribuem para a deficiência cicatricial são a diminuição da produção de fatores de crescimento e da angiogênese. Neste estudo os resultados mostraram que o diâmetro da ferida foi significativamente menor nos grupos tratados com LED. Os autores concluíram que o LED produz efeitos similares de proliferação celular, sugerindo que a coerência da luz é o principal requisito para estimular eventos bioquímicos. Além disso, também se observou que, em apenas 72h pós-lesão, os animais diabéticos tratados com LED apresentaram uma significativa redução no tamanho da ferida.

Em 2015, Catão *et al.* [21] realizaram um estudo comparativo com o LED e um grupo controle no processo de cicatrização de ratos Wistar. Os autores verificaram que até o 14º dia de aplicação da fototerapia, o grupo tratado pelo LED teve um maior índice de cicatrização, com menor diâmetro da ferida quando comparados ao grupo controle.

Esses resultados estão de acordo com o estudo realizado por Casalechi *et al.* [22], sobre os efeitos do LED no reparo tecidual, evidenciando que o tratamento com potências mais elevadas, apresentam resultados efetivos na otimização da qualidade de remodelamento do tecido lesado.

Conclusão

O presente estudo mostra que a fototerapia LED possui promissora aplicabilidade clínica em processos cicatriciais cutâneos, sugerindo que este recurso possa se constituir em uma ferramenta fisioterapêutica valiosa, reduzindo complicações funcionais e estéticas.

Certamente, o sucesso em roedores pode ser considerado o primeiro passo no desenvolvimento de uma abordagem terapêutica para um futuro uso clínico. No entanto, é evidente a necessidade de estudos adicionais em seres humanos a fim de definir estratégias seguras e efetivas para o uso da fototerapia em pacientes.

Referências

1. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.303.
2. Cha J, Falanga V, Stem cells in cutaneous wound healing. Clin Dermatol 2007;25:73-8.
3. Vasconcellos LS, Alberti LR, Petroianu A, Trivelato LP. Efeito da hidrocortisona sobre a resistência cicatricial da pele em camundongos. Rev Col Bras Cir 2008;28:438-43.
4. Modolin M, Bevilacqua RG. Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes. Rev Bras Clin 1985;14(6): 208-13.
5. Failache H, Geido D. Fuente de fototerapia em base a LEDs. Montevideo: Facultades de Ingeniería y Medicina Universidad de la República O. del Uruguay; 2006. [Acesso 2017 nov 15]. Disponível em URL: <http://uruguayescribe/fuente-de-luz-azul-para-el-tratamiento-de-lhiperbilirrubinemia-neonatal>.
6. Abramovitis W, Arrozalap AGK. Light emitting diode-based therapy. Derm Clin 2005;12(3):163-7.
7. Meyer PF, de Araújo HG, Carvalho MGF et al. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. Fisioter Bras 2010;11(6):428-32.
8. Siqueira CPCM et al. Efeitos biológicos da luz: Aplicação de terapia de baixa potência empregando LEDs (Light Emitting Diode) na cicatrização da úlcera venosa: relato de caso. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde 2009;30(1):37-46.
9. Reed MJ, Corsa A, Pendergrass W, Penn P, Sage EH, Abrass IB. Neovascularization in aged mice: delayed angiogenesis is coincident with decreased levels of transforming growth factor beta 1 and type I collagen. Am J Pathol 1998;(23):152-63.
10. Pinheiro ALB, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. Photomed Laser Surg 2006;24(2):169-78.
11. Dall Agnol MA, Nicolau RA, De Lima CJ, Munin E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. Lasers Med Sci 2009;24(6):909-16.
12. Vasconcelos Catão MH, Nonaka CF, de Albuquerque RL Jr, Bento PM, de Oliveira Costa R. Effects of red laser, infrared, photodynamic therapy, and green LED on the healing process of third-degree burns: clinical and histological study in rats. Lasers Med Sci 2015;1(30):421-8.
13. Casalechi HL, Nicolau RA, Casalechi VL, Silveira-Júnior L, Paula AMB, Pacheco MTT. The effects of low level light emitting diode on the repair process of Achilles tendon therapy in rats. Lasers Med Sci 2009;24(4):659-65.