

Artigo original**Fototerapia acelera cicatrização de queimaduras em ratos desnutridos*****Phototherapy improves burn healing in undernourished rats***

Katiuscia Pereira da Silva, Ft.* , Marcel Nani Leite** , Samuel Straceri Lodovichi*** , Luciana Maria dos Reis, D.Sc.**** , Saulo Nani Leite, D.Sc.***** , Marco Andrey Cipriani Frade*****

.....
*Centro Universitário da Fundação Educacional de Guaxupé (UNIFEG), Guaxupé/MG, **Farmacêutico e Bolsista CNPq pela Narcissus Pesquisa Clínica Biotecnologia, RP, ***Especialista, Docente do curso de Fisioterapia do UNIFEG, ****Docente do Departamento de Enfermagem/Curso de Fisioterapia da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)/MG, ***** Docente do curso de Fisioterapia do UNIFEG, *****Docente do Departamento de Clínica Médica, Divisão de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo/SP

Resumo

Objetivo: Avaliar efeitos da fototerapia na cicatrização de queimaduras em ratos desnutridos. **Métodos:** Utilizou-se 24 ratos Wistar em controle dietético, doze selecionados para receber dieta normoproteica associada à proteína de baixa qualidade (gelatina) durante 30 dias. Para confirmação do estado nutricional foi realizada a medida da massa corporal e dosagem de albumina. Os animais nutridos (N) e desnutridos (D) foram distribuídos em grupos (n = 6) tratados com laser diodo desligado (Sham) e ligado (Laser): GNS, GNL, GDS e GDL. Queimaduras 2 x 2 cm foram realizadas no dorso dos animais e irradiadas (2 J, 660 nm, 100 mW), 3 vezes por semana, 21 dias. O programa Image J® foi utilizado para cálculo do índice de cicatrização das queimaduras (ICQs) no 2º, 7º, 14º e 21º dias. **Resultados:** Os ratos desnutridos apresentaram perda de massa corporal (p = 0,0001), porém não houve diferença nos níveis de albumina. Quanto à fototerapia houve diferença dos ICQs no 14º dia, GDS em relação ao GNS (p = 0,005) e GNL (p = 0,03); GDL em comparação ao GNS (p = 0,001) e GNL (p = 0,01). Já no 21º dia, GDL apresentou maiores ICQs que os demais grupos, GNL (p = 0,02), GNS (p = 0,0003), GDS (p = 0,02). **Conclusão:** O laser acelerou a cicatrização de queimaduras nos animais desnutridos, fato que não ocorreu com os animais nutridos.

Palavras-chave: queimaduras, fototerapia, desnutrição, análise de imagem assistida por computador.

Abstract

Objective: To evaluate the effects of phototherapy in the healing of burns in nourished and undernourished rats. **Methods:** We used 24 Wistar rats at dietary control, twelve were selected randomly with normal protein diet associated with low quality protein (gelatin) confirmed by weight loss, clinical signs and serum albumin. The animals nourished (N) and undernourished (D) were divided into groups (n = 6) treated with laser diode off (Sham) and connected (Laser), being designated GNS; LNG; GDS and GDL. A burn was performed in 2x2 cm back and irradiated (laser diode, 2 J, 660 nm, 100 mW), three times a week for 21 days. The program Image J® was used to analyze the images of burns to calculate the index of healing in the 2nd, 7th, 14th and 21st days. **Results:** The undernourished rats showed body weight loss after malnutrition, but there was no difference in the level of albumin between groups. The phototherapy proved significant difference at day 21, showing the laser effects on the healing of 3rd degree burns in rats undernourished. **Conclusion:** There was no evidence of malnutrition in the healing of burns, but with biostimulator effects of diode laser on wound healing.

Key-words: burns, phototherapy, malnutrition, image processing computer-assisted.

Recebido em 3 de outubro de 2013; aceito em 21 de novembro de 2014.

Endereço de correspondência: Saulo Nani Leite, Departamento de Clínica Médica – Divisão de Dermatologia, Avenida dos Bandeirantes, 3900 (4º andar do HC), 14048-900 Ribeirão Preto SP, E-mail: saulo1979@gmail.com

Introdução

Milhares de pessoas no mundo sofrem com as sequelas físicas, psicológicas e sociais causadas pelas queimaduras que podem permanecer por longo tempo ou serem definitivas [1,2]. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 300.000 mortes são estimadas por ano no mundo devido às queimaduras [3]. No Brasil, ocorre em torno de 1.000.000 de acidentes com queimaduras por ano e, destes, 2.500 mortes direta ou indiretamente de suas lesões [4]. Elas constituem uma forma grave de trauma, podendo resultar em complicações como, desnutrição, aumento da taxa de infecção, da permanência no hospital, do tempo de inatividade e maior taxa e mortalidade [1,5-7].

Queimaduras são lesões no tecido de revestimento do corpo, causadas por ação local do calor, entre outros, destruindo parcial ou totalmente a pele [6]. Elas podem ser classificadas como 1º, 2º e 3º grau de acordo com a profundidade. A queimadura de 3º grau estende através da epiderme, derme e tecido subcutâneo ocorrendo um aumento nos níveis metabólicos teciduais [7]. Mitsunaga *et al.* [8] mostraram por meio de revisão sistemática que a maioria dos estudos revisados utilizaram queimaduras de 3º grau para estudo da cicatrização de queimaduras em ratos. A reparação das queimaduras é um processo complexo e coordenado, e os fatores locais e sistêmicos podem alterar a reparação tecidual. Um dos fatores sistêmicos é a desnutrição, que pode ser definida como estado de deficiência de energia, proteína e/ou outro nutriente específico, que acarreta uma alteração na função corporal e que se associa à piora de doenças [9]. Além disso, a desnutrição pode estar associada à ingestão de proteínas de má qualidade como a gelatina. Ela se caracteriza por colágeno desnaturado, cuja composição aminoacídica corresponde à alta concentração de glicina, prolina e hidroxiprolina associada à baixa ou nula concentração de tirosina, isoleucina, cistina, histidina e triptofano [10,11]. O processo de desnutrição prolonga a fase inflamatória, altera a função imune e regeneração tecidual, causando atraso na cicatrização e maior risco de infecções [12-15].

Existem diversos tratamentos para cicatrização de queimaduras, e, nas últimas décadas, a fototerapia tem sido descrita como uma valiosa ferramenta no estímulo a reparação tecidual. Estudos têm demonstrado efeitos positivos no processo inflamatório [16,17], na proliferação celular [18,19], síntese de colágeno [20,21], e reepitelização de queimaduras em modelos animais [18,22,23]. Adicionalmente, alguns estudos *in vitro* e *in vivo* têm sugerido que a fototerapia em situações de estresse oxidativo (como diabetes, desnutrição, hipóxia, infecções) promove melhores efeitos que sob condições normais [24-26]. Apesar dos efeitos benéficos citados, ainda não há um consenso nos parâmetros de aplicação e dosagem na utilização da fototerapia. Além disso, há poucos modelos experimentais patológicos (diabetes, desnutrição, infecções) para mimetizar a interação desses distúrbios sistêmicos com a cicatrização tecidual e a fototerapia.

O objetivo deste estudo foi padronizar um modelo experimental patológico (desnutrição) para avaliar os efeitos da fototerapia na cicatrização de queimaduras em ratos.

Material e métodos

Tratou-se de estudo experimental, randomizado, comparativo, no qual foram selecionados aleatoriamente 24 ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus*), machos, pesando entre 120 e 130 g oriundos do Biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP). O estudo foi realizado no Centro Universitário da Fundação Educacional Guaxupé (UNIFEG), onde os animais receberam água *ad libitum* e ficaram alojados em gaiolas de polietileno com tampas de aço inoxidável com três animais cada. O ambiente foi mantido em temperatura de 22°C, umidade relativa do ar de 60% e luz artificial em um ciclo alternado de claro e escuro. Os procedimentos experimentais do estudo estavam de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Processo 115/2007).

Após período de adaptação de cinco dias, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de 12 ratos e receberam dieta fornecida pelo Departamento de Nutrição da FMRP-USP. O grupo nutrido recebeu dieta normoproteica, enquanto o grupo desnutrido recebeu dieta normoproteica associada à gelatina durante 30 dias [27] (Tabela).

Tabela I - Composição das dietas experimentais do grupo nutrido e desnutrido.

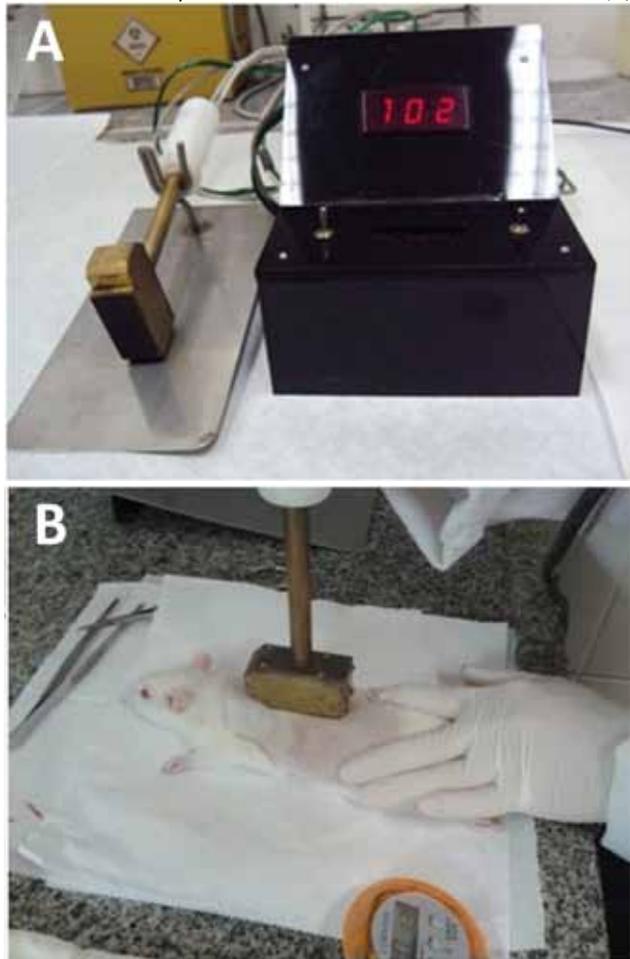
Nutrientes	Dietas experimentais (G/1000g de ração)	
	Nutridos	Desnutridos
Proteína (caseína)	200	50
Gelatina	-	150
Lípideo (óleo de soja)	70	70
Carboidrato (amido de milho)	532,5	532,5
Sacarose	100	100
Fibra (celulose)	50	50
Mix mineral	35	35
Mix vitamínico	10	10
Colina	2,5	2,5

Para confirmação do estado nutricional, foi realizada a medida da massa corporal e dosagem de albumina sérica no 30º dia. Os animais foram pesados em balança digital calibrada e a dosagem de albumina foi realizada a partir da punção da veia caudal dos animais na qual foi coletada uma amostra de sangue de 1ml realizada no Laboratório de Nutrição da FMRP - USP.

Quanto ao procedimento cirúrgico, os animais receberam anestesia intraperitoneal por meio do anestésico tribromoe-

tanol a 4%, 1 ml/100g do animal. Logo após, foi realizada tricotomia e depilação com creme depilatório no dorso dos animais e, após 5 minutos, o excesso de creme foi retirado e em seguida induzido uma queimadura térmica, 2 x 2 cm, a 100°C, durante 25 segundos por aparelho padronizado pela Oficina de Precisão da FMRP-USP (Figura 1).

Figura 1 - *Aparelho utilizado para indução das queimaduras (A). Procedimento da queimadura realizada no dorso dos animais (B).*



Após esse procedimento, os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n = 6), irradiados ou não, a saber:

- *Grupo Nutrido Sham (GNS)*: animais nutridos cujas áreas de queimaduras foram submetidas à fototerapia com aparelho desligado.
- *Grupo Nutrido Laser (GNL)*: animais nutridos cujas áreas de queimaduras foram submetidas à fototerapia com laser ligado.
- *Grupo Desnutrido Sham (GDS)*: animais desnutridos cujas áreas de queimaduras foram submetidas à fototerapia com aparelho desligado.

- *Grupo Desnutrido Laser (GDL)*: animais desnutridos cujas áreas de queimaduras foram submetidas à fototerapia com laser ligado.

Para a aplicação da fototerapia foi utilizado o aparelho *Flash Lase* (DMC equipamentos, São Carlos, Brasil), laser de diodo, comprimento de onda de 660 nm, potência de saída de 100 mW, dose de 2 J, fluência de 70 J/cm². A irradiação foi realizada em um único ponto no leito da queimadura a qual estava protegida por filme plástico PVC, sendo a primeira aplicação imediatamente após a cirurgia e, posteriormente, 3 vezes por semana, durante 21 dias.

As áreas de queimaduras, semelhante à metodologia aplicada à cicatrização de úlceras (cálculo de ICUs) [28,29], foram fotografadas com câmera digital (Sony DSC-93) fixada em suporte padronizado nos dias 0, 2, 7, 14 e 21 dias de tratamento. As áreas (A) das queimaduras foram avaliadas pelo programa Image J[®] e calculado os índices de cicatrização das queimaduras (ICQ) pela fórmula, Área inicial - Área final/Área inicial, onde ICQ = 0 representa área inalterada, ICQ > 0 diminuição da área, ICQ < 0 aumento da área e ICQ = 1 reepitelização total da queimadura.

A medida da massa corporal, dosagem da albumina sérica e análise dos ICQs foram analisadas pelo teste t student, considerando que os valores de p < 0,05 mostram evidências estatísticas de que há diferença entre os dados em questão.

Resultados

Após 30 dias de desnutrição, os animais do grupo desnutrido apresentaram menor massa corporal que os animais do grupo nutrido (p = 0,0001) (Figura 1). Já a albumina sérica foi semelhante entre os grupos nutrido e desnutrido (Figura 2). Além disso, por meio de observação clínica, notou-se que os animais desnutridos apresentaram sinais característicos da desnutrição como, diminuição do peso e crescimento, atrofia muscular, queda de pelos e pele atrófica.

Figura 2 - *Massa corporal dos animais nutridos e desnutridos após 30 dias de seguimento.*

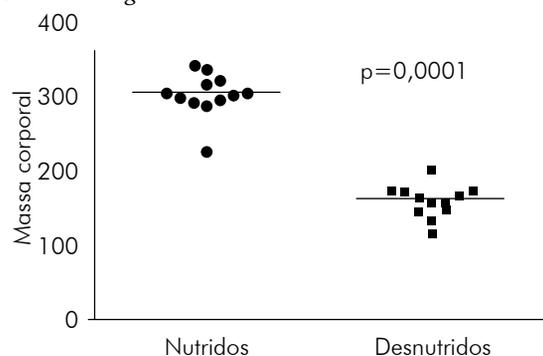


Figura 3 - Valores de albumina sérica (g/dL) dos animais nutridos e desnutrição após 30 dias de seguimento.



Quanto ao processo de cicatrização (reepitelização) por meio dos ICQs e clinicamente, no 2º dia pós-operatório não houve diferença entre os grupos. As áreas queimadas aumentaram de tamanho, comparadas ao dia inicial (Figura 4). No 7º dia, as áreas queimadas do GNS apresentaram-se maiores e consequentemente apresentaram menores ICQs em relação ao GDS ($p = 0,01$) e GDL ($p = 0,01$) (Figura 5). Nos grupos nutridos as áreas queimadas ainda estavam maiores em comparação às áreas iniciais e encontravam-se cobertas por crostas. Em contrapartida, as áreas de queimaduras dos grupos desnutridos apresentavam crostas menores (Figura 4). No 14º dia, os grupos desnutridos apresentaram maiores ICQs que os grupos nutridos, sendo que o GDS apresentou maiores ICQs em relação ao GNS ($p = 0,005$) e GNL ($p = 0,03$) e o GDL também apresentou diferença quanto ao GNS ($p = 0,001$) e GNL ($p = 0,01$) (Figura 4). As áreas de queimaduras dos GNS e GNL ainda apresentavam-se cobertas por crostas e nos GDS e GDL, as crostas já haviam caído e as lesões apresentavam predomínio de tecido de granulação (Figura 4). Já no 21º dia, o GDL apresentou maiores ICQs em relação aos grupos nutridos, GNS ($p = 0,0003$) e GNL ($p = 0,02$), e ao GDS ($p = 0,02$) (Figura 5). As queimaduras do GDL apresentaram estágio avançado de reepitelização, diferente dos demais grupos, nos quais a maioria das lesões ainda apresentava tecido de granulação (Figura 4).

Discussão

Queimaduras atingem o tecido de revestimento do corpo, podendo destruir parcial ou totalmente o tecido cutâneo e tecidos profundos [6]. A cicatrização dessas lesões é um processo complexo, e a presença de alguns fatores sistêmicos, como a desnutrição, podem atrasar o processo cicatricial e proporcionar complicações [8,13,14,17].

No presente estudo, a desnutrição foi induzida nos animais utilizando proteína de baixa qualidade (gelatina), com o intuito de analisar os efeitos da fototerapia por meio do laser diodo na cicatrização de queimaduras comparadas com animais eutróficos. A desnutrição foi confirmada por sinais clínicos apresentados pelos animais, como, perda de peso, déficit de crescimento, e queda de pelos. Além disso, os resultados da massa corporal dos animais desnutridos após 30 dias mostraram diferenças significativas ($p = 0,0001$) quanto aos nutridos. A gelatina apresenta ausência de triptofano,

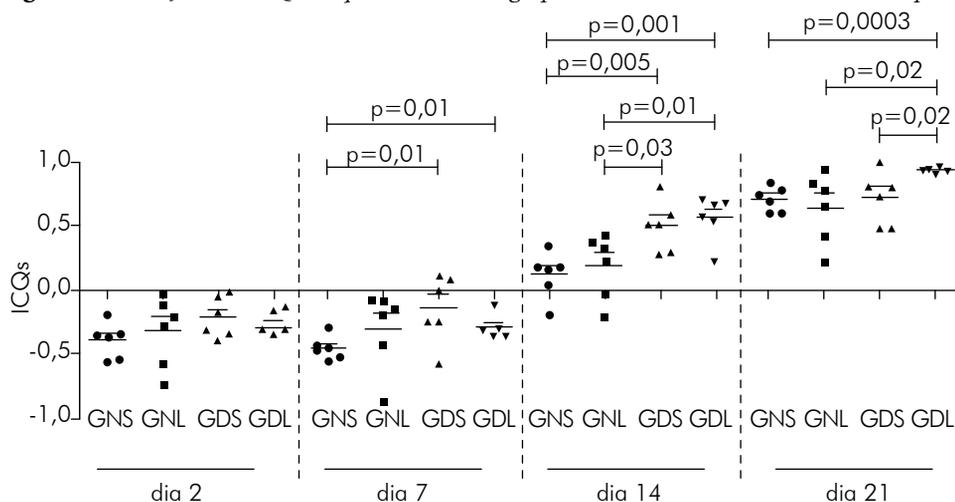
e com isso a conversão para niacina é diminuída, levando a supressão do crescimento [30,31]. Quanto à albumina sérica, que foram semelhantes entre os grupos, a ausência do triptofano na gelatina leva a uma supressão de niacina, sendo que o triptofano presente no organismo passa a ser utilizado na síntese de proteínas endógenas importantes (albumina). Portanto, a manutenção dos níveis de albumina nos animais desnutridos é provavelmente devido ao uso do triptofano endógeno para sua síntese [32].

Figura 4 - Evolução das queimaduras nos grupos experimentais durante 21 dias de acompanhamento.



São raros estudos que abordaram os efeitos da fototerapia em queimaduras em modelos patológicos. Alguns estudos mostraram efeitos positivos do laser em queimaduras em ratos normais e diabéticos [31,33], porém não há estudos em modelos de desnutrição.

Surpreendentemente, por meio dos ICQs, os resultados mostraram que no 7º e 14º dia o grupo desnutrido sham (GDS) apresentou maiores ICQs em comparação ao grupo nutrido sham (GNS), o que representa menor tempo de cicatrização. Provavelmente, tal fato se justifica pelo estado hipermetabólico gerado na pele desencadeado logo após lesão térmica [7], o que proporciona um grande influxo de células inflamatórias necessárias para o processo de reparação, provocando fase inflamatória exuberante. Simultaneamente, células

Figura 5 - Evolução dos ICQs das queimaduras nos grupos avaliados durante 21 dias de acompanhamento.

responsáveis pela fase de coagulação, iniciam a formação do coágulo (crosta) e posteriormente a formação do tecido de granulação [7,11]. Já nos estados de desnutrição, esse influxo inflamatório e a proliferação celular ocorrem de maneira mais discreta inicialmente, porém o processo é prolongado, pois esses eventos dependem de alta demanda energética a que não é possível nos quadros de desnutrição devido a níveis inadequados de nutrientes [34,11,12]. Esse fato pode explicar um processo reparativo inicial mais rápido dos animais do GDS, por meio de estímulo inflamatório menos exacerbado e consequente queda precoce das crostas por volta do 14º dia. Porém, após uma semana, no 21º dia, os animais do GDS já mostraram atraso no processo cicatricial com menores ICQs, enquanto os animais do GNS apresentaram melhora na cicatrização das áreas de queimaduras, consequentemente maiores ICQs.

Em relação aos grupos irradiados, o GNL não apresentou diferença em relação ao GNS em nenhum dos tempos avaliados. Na literatura, alguns estudos não apresentaram efeitos positivos do laser na cicatrização de lesões cutâneas em ratos normais comparados ao controle [33-38]. Noudeh *et al.* [38] avaliaram os efeitos do laser diodo (670 e 810 nm) na cicatrização de úlceras cutâneas em ratos. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os animais irradiados e controle em relação a diminuição das áreas ulceradas. Em contrapartida, no presente estudo, o GDL apresentou resultados significativos (menores ICQs) em relação ao GDS e aos grupos nutridos (GNS e GNL) no 21º dia, mostrando efeitos positivos da fototerapia nos animais com desequilíbrio metabólico (desnutrição), e alguns estudos têm relatado maior efetividade da luz na presença de déficit energético [24-26,33,40]. Parece que a resposta celular perante a fototerapia é fraca ou ausente quando o estado oxidativo celular é ótimo ou próximo disso [33-40]. No presente estudo os animais nutridos irradiados (GNL) não apresentaram efeitos positivos quando comparados ao grupo nutrido controle (GNS). Segundo Karu [24], a resposta celular perante

a fototerapia é mais significativa quando a célula alvo está em ambiente de estresse oxidativo como em certas condições patológicas (diabetes, infecção, desnutrição). Portanto, células em ambiente de estresse oxidativo respondem melhor à luz do que as células em ambiente normal [24-26,33,40]. No presente trabalho, os animais desnutridos irradiados (GDL) apresentaram efeitos benéficos em comparação com o grupo desnutrido controle (GDS) e com ambos os grupos nutridos (GNS e GNL).

Como foi relatado, não há na literatura estudos relacionando queimaduras, fototerapia e desnutrição. Porém, essa relação foi analisada em outros modelos patológicos como, por exemplo, modelo de diabetes. Al-Watban *et al.* [33] determinaram os efeitos da fototerapia por meio de LEDs em queimaduras de 3º grau em ratos diabéticos e não diabéticos. Os resultados apontaram efeitos positivos da fototerapia somente nos animais diabéticos, mas não houve diferença significativa entre os animais não diabéticos irradiados e o controle. Esses dados corroboram os resultados do presente estudo, no qual somente os animais desnutridos irradiados apresentaram efeitos positivos na cicatrização (maiores ICQs) diferente dos animais nutridos irradiados com menores ICQs e atraso na cicatrização.

Conclusão

No estudo foi padronizado um modelo experimental patológico (desnutrição) para o estudo da cicatrização de queimaduras. O laser diodo no comprimento de onda de 660 nm e dose 2 J acelerou significativamente o processo de cicatrização de queimaduras nos animais desnutridos, fato que não ocorreu com os animais nutridos. Esses achados preliminares sugerem que efeitos similares podem ser encontrados em pacientes com queimaduras e quadro de desnutrição por doenças crônico-degenerativas como Aids, câncer ou pacientes graves internados por longo período.

Referências

- Gonçalves N, Echevarría-Guanilo ME, Carvalho FL, Miaso AI, Rossi LA. Fatores biopsicossociais que interferem na reabilitação de vítimas de queimaduras: revisão integrativa da literatura. *Rev Latinoam Enferm* 2011;19(3):1-9.
- Robson MC, Burns BF, Smith DJ. Acute management of the burned patients. *Plast Reconstr Surg* 1992;89:1155-68.
- WHO. The Global Burden of Disease: 2004 update. Geneva: WHO;2008.
- Cruz BF, Cordovil PBL, Batista KMN. Perfil epidemiológico de pacientes que sofreram queimaduras no Brasil: revisão de literatura. *Rev Bras Queimaduras* 2012;11(4):246-50.
- Machado NM, Gragnani A, Ferreira LM. Burns, metabolismo and nutritional requirements. *Nutr Hosp* 2011;26(4):692-700.
- Vale ECS. Primeiro atendimento em queimaduras: a abordagem do dermatologista. *An Bras Dermatol* 2005;80:9-19.
- Silva APA, Freitas BJ, Oliveira FLC, Piovacari SMF, Nóbrega FJ. Terapia nutricional em queimaduras: uma revisão. *Rev Bras Queimaduras* 2012;11(3):135-41.
- Mitsunaga JK, Gragnani A, Ramos MLC, Ferreira LM. Rat an experimental model for Burns. A systematic review. *Acta Cir Bras* 2012;27(6):417-23.
- Allison SP. Malnutrition, disease and outcome. *Nutrition* 2000;16(7):590-3.
- Neuman RE. The amino acid composition of gelatins, collagens and elastins from different sources. *Arch Biochem* 1949;24:289-98.
- Sanahuja JC, Harper AE. Amino acid balance and imbalance XII. Effect of amino acid imbalance on self-selection of diet by the rat. *J Nutr* 1963;81:363-71.
- Kavaluk SL, Barbul A. Nutrition and wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2011;127(Suppl):38S-43S.
- Wild T, Rahbarnia A, Kellner M, Sobotka L, Eberlein T. Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition* 2010;26:862-6.
- Herndon DN, Tompkins RG. Support of the metabolic response to burn injury. *The Lancet* 2004;363:1895-902.
- Mackay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev* 2003;8:359-77.
- Moraes JM, Mendonça DEO, Moura VBL, Oliveira MAP, Afonso CL, Vinaud MC, et al. Anti-inflammatory effect of low-intensity laser on the healing of third-degree burn wounds in rats. *Lasers Med Sci* 2012;9:1-8.
- Garcia VG, Lima MA, Okamoto T, Milanezi LA, Júnior ECG, Fernandes LA, et al. Effect of photodynamic therapy on the healing of cutaneous third-degree-burn: histological study in rats. *Lasers Med Sci* 2010;25:221-8.
- Oliveira PC, Meireles GCS, Santos NR, Carvalho CM, Souza APC, Santos JN, et al. The Use of light photobiomodulation on the treatment of second-degree burns: a histological study of a rodent model. *Photomed Laser Surg* 2008;26(4):289-99.
- Grossman N, Schneid N, Reuveni H, Halevy S, Lubart R. 780nm low power diode laser irradiation stimulates proliferation of keratinocyte cultures: involvement of reactive oxygen species. *Lasers Surg Med* 1998;22(4):212-8.
- Whelan HT, Smits RL, Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, et al. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19(6):305-14.
- Enwemeka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed Laser Surg* 2004;22(4):323-9.
- Bayat AEM, Khoshvaghti A. Low-level laser therapy with a pulsed infrared laser accelerates second-degree burn healing in rat: a clinical and microbiologic study. *Photomed Laser Surg* 2010;8(5):603-11.
- Andrade AG, Lima CF, Albuquerque AKB. Efeitos do laser terapêutico no processo de cicatrização das queimaduras: uma revisão bibliográfica. *Rev Bras Queimaduras* 2010;9(1):21-30.
- Karu T. Low-power laser therapy In: *Biomedical Photonics Handbook*. Flórida: Tuan Vo-Dinh; 2003.
- Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MM. Comparison of the low level laser therapy effects on culture human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med* 2001;29(2):179-84.
- Lim J, Ali ZM, Sanders RA, Snyder AC, Eells JT, Henshel DS, et al. Effects of low-level light therapy on hepatic antioxidant defense in acute and chronic diabetic rats. *J Biochem Molecular Toxicology* 2009;23(1):1-8.
- Leite SN, Jordão Júnior AA, Andrade TAM, Masson DS, Frade MAC. Experimental models of malnutrition and its effect on skin trophism. *Ann Bras Dermatol* 2011;86(4):681-88.
- Minatel DG, Frade MA, França SC, Enwemeka CS. Phototherapy promotes healing of chronic diabetic leg ulcers that failed to respond to other therapies. *Lasers Surg Med* 2009;41(6):433-41.
- Caetano KS, Frade MA, Minatel DG, Santana LA, Enwemeka CS. Phototherapy improves healing of chronic venous ulcers. *Photomed Laser Surg* 2009;27(1):111-8.
- Ramarao PB, Norton HW, Johnson BC. The amino acids composition and nutritive value of proteins vs amino acid requirements as a pattern for protein evaluation. *J Nutr* 1964;82:88-92.
- Oliveira PC, Pinheiro ALB, Castro ICV, Junior JAR, Noia MP, Gurgel C, et al. Evaluation of the effects of polarized light (400–2000 nm) on the healing of third-degree burns in induced diabetic and no diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2011;29(9):619-25.
- Henderson LM, Koeppe OJ, Zimmermn HH. Niacin-tryptofan and efficiency resulting from amino acid imbalance in non-casein diets. *J Biol Chem* 1953;201:697-706.
- Al-Watban FAH, Andres BL. Polychromatic LED therapy in burn healing of non-diabetic and diabetic rats. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21:249-58.
- Holt B, Graves C, Faraklas I, Cochran A. Compliance with nutrition support guidelines in acutely burned patients. *Burns* 2012;38:645-9.
- Broadley C, Broadley KN, Disimone G, Reinish L, Davidson J. Low-energy helium-neon laser irradiation and the tensile strength of incisional wounds in the rat. *Wound Rep Reg* 1995;3:512-7.
- Lucas C, Criens-Poublon LJ, Cockrell CT, Haan RJ. Wound healing in cell studies and animal model experiments by low level laser therapy; were clinical studies justified? A systematic review. *Lasers Med Sci* 2002;17:110-34.
- Lucas C, Van Gemert MJ, De Haan RJ. Efficacy of low-laser therapy in the management of stage III decubitus ulcers: a prospective, observer-blinded multicenter randomized clinical trial. *Lasers in Med Sci* 2003;18(2):72-77.
- Brandon J, Erdle BS, Brouxhon S, Kaplan M, Vanbuskirk J, Pentland AP. Effects of continuous-wave (670-nm) red light on wound healing. *Dermatol Surg* 2008;34:320-5.
- Noudeh YJ, Shabani M, Vatankhah N, Hashemian SJ, Akbari K. A combination of 670nm and 810nm diode lasers for wound healing acceleration in diabetic rats. *Photomed and Laser Surg* 2010;28(5):621-7.
- Pinheiro ALB, Meireles GCS, Carvalho CM, Vieira ALB, Santos JM, Ramalho LMP. Biomodulative effects of polarized light on the healing of cutaneous wounds on nourished and under-nourished Wistar rats. *Photomed Laser Surg* 2006;24:616-24.