

**UNIVERSIDADE BRASIL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA BIOMÉDICA - MESTRADO  
CAMPUS ITAQUERA**

**JULIANA NARCIZO KUAMOTO**

**COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASER NOS  
COMPRIMENTOS DE ONDA DE 660 NM E 808 NM EM QUEIMADURAS DE  
ESPESSURA TOTAL EM RATOS: ESTUDO PRÉ CLÍNICO**

*Comparison of the effects of laser photobiomodulation at wavelengths of 660 nm and  
808 nm in full-thickness burns in rats: A pre-clinical study.*

**São Paulo - SP**

**2024**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

**JULIANA NARCIZO KUAMOTO**

**COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASER NOS  
COMPRIMENTOS DE ONDA DE 660 NM E 808 NM EM QUEIMADURAS DE  
ESPESSURA TOTAL EM RATOS: ESTUDO PRÉ CLÍNICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica

Profa. Dra. Ana Laura Martins de Andrade  
**Orientadora**

**São Paulo – SP**

**2024**

## FICHA CATALOGRÁFICA

K97c KUAMOTO, Juliana Narcizo.

Comparação dos efeitos da Fotobiomodulação a laser nos comprimentos de onda de 660 nm e 808 nm em queimaduras de espessura total em ratos: estudo pré-clínico / Juliana Narcizo Kuamoto – São Paulo: Universidade Brasil, 2024.

50 f.: il. color.

Dissertação de Mestrado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Profa. Dra. Ana Laura Martins de Andrade.

• Fotobiomodulação. 2. Queimaduras. 3. Laser vermelho. 4. Laser infravermelho. I. Andrade, Ana Laura Martins de. II. Título.

CDD 615.83





## TERMO DE AUTORIZAÇÃO

### Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

**INTITULADO: COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASER NOS COMPRIMENTOS DE ONDA DE 660 NM E 808 NM EM QUEIMADURAS DE ESPESSURA TOTAL: ESTUDO PRÉ-CLÍNICO.**

Houve alteração do título da dissertação?

- Sim  
 Não

### Autores

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** JULIANA NARCIZO KUAMOTO  
Data: 16/12/2024 15:37:0300  
verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

assinatura do membro

Orientador(a): Ana Laura Martins de Andrade

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ANA LAURA MARTINS DE ANDRADE  
Data: 16/12/2024 11:04:13-0300  
verifique em <https://validar.itl.gov.br>



**UNIVERSIDADE  
BRASIL**

Título do documento 2/10

Coorientador:

---

assinatura do membro

São Paulo, 16 de dezembro de 2024.



## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho às minhas queridas filhas, cuja alegria e amor incondicional foram minha maior inspiração. Ao meu amado esposo, por seu apoio constante, paciência e encorajamento inabalável. E à minha família, por sempre acreditarem em mim e por serem a base sólida que me sustentou durante toda esta jornada. Cada um de vocês é parte essencial desta conquista.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por sua graça, força e orientação ao longo desta jornada. Sem Sua bênção, nada disso teria sido possível.

Agradeço profundamente à minha orientadora, Profa. Dra. Ana Laura, por sua orientação incansável, apoio e dedicação. Seu conhecimento e paciência foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo patrocínio que possibilitou a continuidade dos meus estudos, sou imensamente grata. Este apoio financeiro foi crucial para a concretização deste projeto.

Ao Professor João Tassinari, pela valiosa carta de indicação, minha sincera gratidão. Seu apoio foi decisivo para a minha admissão no programa de mestrado.

Agradeço também aos profissionais que admiro e que me incentivaram a seguir este caminho: Dra Livia Assis, por me incentivar a ingressar nesse curso , enxergando um potencial, até então desconhecido para mim. À Dra. Stela Santana e Dra. Silvana Godoi, suas palavras de encorajamento e exemplo profissional serviram de inspirações.

Ao Dr. Rodrigo Martins pela conversa esclarecedora que me ajudou a trilhar o raciocínio desta pesquisa.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta conquista, meu muito obrigado. Cada um de vocês teve um papel essencial na realização deste sonho.

## **DADOS DO PROJETO**

### **ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:**

Dissertação do Programa de Mestrado em Engenharia Biomédica relacionada a área de Reparação Tecidual

**LINHA DE PESQUISA:** Biofotônica, Fisioterapia Dermato Funcional, Terapias a Laser

**RELEVÂNCIA PARA ENGENHARIA BIOMÉDICA:** Este projeto é relevante para a bioengenharia porque integra princípios de engenharia e biologia para desenvolver e aperfeiçoar tecnologias médicas, promovendo avanços tanto no tratamento de queimaduras quanto no reparo tecidual.

# COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASER NOS COMPRIMENTOS DE ONDA DE 660 nm e 808 nm EM QUEIMADURAS DE ESPESSURA TOTAL EM RATOS: ESTUDO PRÉ CLÍNICO

## RESUMO

As queimaduras são definidas como lesões térmicas que afetam os tecidos orgânicos, e podem ser classificadas em grau, de acordo com sua gravidade, sendo as queimaduras de grau 3 a forma mais grave da lesão. A preocupação com relação à reabilitação de pacientes queimados está relacionada ao tempo de recuperação e a gravidade das sequelas da lesão. A terapia por fotobiomodulação (TFBM), tem ganhado destaque no tratamento de lesões de pele, porém a seleção e aplicação dos parâmetros ainda é controversa. Este estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da TFBM utilizando laser Vermelho (660 nm) e infravermelho (808 nm) na qualidade de reparação tecidual em queimaduras de 3º Grau de ratos. Foram utilizados 24 ratos machos *Wistar*, divididos aleatoriamente em 3 grupos (n=10): grupos controle (GC), com laser aplicado desligado, grupo laser vermelho (GLV), tratado apenas com a TFBM utilizando o laser vermelho de 660 nm e, grupo laser infravermelho (GLI), tratado com laser infravermelho de 808 nm. Os animais foram tratados três vezes por semana, durante 21 dias, totalizando nove aplicações, utilizando parâmetros sugeridos pela literatura (ANDRADE,2016). Foi realizada a documentação fotográfica no primeiro e último dia de tratamento para a análise de contração da ferida. No 21º dia, após o último tratamento, os animais foram eutanasiados, e foram realizadas a coleta de amostras do tecido para realização das análises histológicas. Após as análises foi possível verificar que o GIV, quando comparado com os GC e GV, apresentou uma fase avançada de recuperação e revascularização, mostrando uma epiderme com espessura diminuída, além de mínima quantidade de infiltrado inflamatório, e organização de colágeno bem estabelecida em quase toda a derme.

**Palavras chaves:** Queimaduras, Fotobiomodulação, laser vermelho, laser infravermelho

# **COMPARISON OF THE EFFECTS OF LASER PHOTOBIMODULATION AT WAVELENGTHS OF 660 nm AND 808 nm IN FULL-THICKNESS BURNS IN RATS: A PRE-CLINICAL STUDY.**

## **ABSTRACT**

Burns are defined as thermal injuries that affect organic tissues, and can be classified in degree, according to their severity, with grade 3 burns being the most serious form of the injury. Concern regarding the rehabilitation of burn patients is related to recovery time and the severity of the injury's sequelae. Photobiomodulation therapy (TFBM) has gained prominence in the treatment of skin lesions, but the selection and application of parameters is still controversial. This study aims to evaluate the effects of TFBM using Red (660 nm) and Infrared (808 nm) laser on the quality of tissue regeneration in 3rd Degree burns in rats. Thirty male Wistar rats were used, randomly divided into 3 groups (n=10): control groups (C), with laser applied turned off, red laser group (GLV), treated only with TFBM using the 660 nm red laser and, infrared laser group (GLI), treated with 808 nm infrared laser. The animals were treated three times a week, for 21 days, totaling nine applications, using parameters suggested in the literature (ANDRADE, 2016). Photographic documentation was carried out on the first and last day of treatment to analyze wound contraction. On the 21st day, after the last treatment, the animals were euthanized, and tissue samples were collected for histological analyses. After the analyses, it was observed that the GIV, when compared to the GC and GV, showed an advanced phase of recovery and revascularization, with a thinner epidermis, minimal inflammatory infiltrate, and a well-established collagen organization throughout almost the entire dermis.

**Keywords: Burns, Photobiomodulation, red laser, infrared laser**

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Dispositivo adaptado, com uma placa de alumínio em formato circular, com 3cm de diâmetro, acoplada a um ferro de solda e Multímetro Digital Et-1110a Minipa utilizado para aferição de temperatura.

Pág 27

**Figura 2** – Imagem Ilustrativa da queimadura A: imediatamente após o procedimento de lesão térmica e B: 48 horas após a lesão térmica.

Pág 27

**Figura 3** - Dispositivo THERAPHY XT®

Pág 29

**Figura 4:** Esquema de lesão de queimaduras e aplicação da terapia por FTBM.

Pág 30

**Figura 5** - Fotomicrografias representativas dos grupos experimentais no 21º dia após o modelo experimental de queimadura.

Pág 32

**Figura 6** - Gráfico comparativo da espessura da epiderme nos grupos experimentais após 21 dias.

Pág 33

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1-** Terminologia Básica para TFBM e interações entre tecidos

Pág 24

**Tabela 2** - Parâmetros a terapia por FTBM utilizados no estudo

Pág 32

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

**ATP** - Adenosina TriFosfato

**CCO** - Citocromo COxidase

**DNA** - ácido desoxirribonucleico

**RNA**- ácido riboxi

**NIR** - near Infra Red

**TFBM** - Terapia por fotobiomodulação

**LASER** - Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

**LED** - *Light Emitting Diode*

**GC** - Grupo controle

**GLV**- Grupo Laser Vermelho

**GLI** - Grupo Laser Infravermelho

**HE** - Análises Histológicas

**EP** - Epiderme

**DE**- Derme

**SPTBs** - Queimaduras artificiais de espessura parcial

**DPTBs** - Queimaduras profundas de espessura Parcial

**nm** - Nanômetros

**USP**- Universidade de São Paulo

**CETEC** - Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia Einstein

**CEUA** - Comitê de ética em Experimentação Animal

**OMS**- Organização Mundial da Saúde

**SCQ** - Superfície Corporal Queimada

**IGF- 1**- Fator de Crescimento Insulina-Sensível tipo 1

**PDGF**- Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

**ECM** - Matriz Extracelular

**EXO** - exossomos

**J** - Joules

**W**- Watts

**CW** - contínuo

**Hz** - Hertz

**mW**- miliWatts

**TGF B1** - Fator de transformação do crescimento Beta

**ROS** - Espécies Reativas de Oxigênio

**IWL** - camadas de água interfaciais nanoscópicas

**R-NIR** - Irradiação com luz vermelha próximo ao infravermelho.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.3 Objetivos Específicos	17
3. REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1 Queimaduras	18
3.2 Fotobiomodulação em Queimaduras	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Animais	29
4.2 Modelo experimental de queimaduras de espessura total	29
4.3 Grupos Experimentais	30
4.4 Intervenção	31
4.5 Eutanásia e coleta das amostras	33
4.6 Avaliações	33
4.6.1 Monitoramento Fotográfico	33
4.6.2 Análise Histológica	33
4.6.3 Análise morfológica de colágeno	34
4.7 Análise Estatística	34
5. RESULTADOS	35
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO	43
8. REFERÊNCIAS	44
ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL	
48	

## 1. INTRODUÇÃO

A pele, maior órgão do corpo humano, desempenha funções vitais como proteção contra infecções, regulação térmica, percepção sensorial e prevenção da perda excessiva de fluidos e eletrólitos. Estruturalmente, é composta por epiderme, derme, tecido subcutâneo e anexos como folículos pilosos e glândulas sebáceas, apócrinas e écrinas (KIERSZENBAUM et al., 2020). Além de suas funções fisiológicas, a pele exerce um papel essencial na percepção da imagem corporal e autoconfiança dos indivíduos (SHAH et al., 2023).

As queimaduras são definidas por injúrias térmicas que ocorrem quando a área entra em contato com agentes químicos, físicos ou biológicos, podendo ser de leve a alta gravidade, de acordo com a extensão da lesão. Classificar a queimadura com base em sua gravidade, considerando profundidade e extensão, é essencial para determinar o tratamento adequado e prever o prognóstico (JESCHKE, 2020). A classificação da gravidade da queimadura cutânea é dada em graus, assim lesões que atingem apenas a epiderme são consideradas queimaduras superficiais (primeiro grau), geralmente são tratadas com hidratação e analgesia e se resolvem em até 7 dias. As queimaduras de segundo grau podem ser classificadas como de espessura parcial superficial ou profunda. As superficiais de espessura parcial são dolorosas, exsudativas, seu tempo de reparo tecidual pode levar de 7 a 21 dias. Já as queimaduras profundas de espessura parcial apresentam menor sensibilidade devido à destruição parcial dos receptores de dor, têm aparência mais seca, requerem intervenção cirúrgica e frequentemente deixam cicatrizes. As queimaduras de espessura total afetam toda a derme e se estendem para o tecido subcutâneo e tecidos adjacentes, não são dolorosas devido aos danos causados nas terminações nervosas, porém necessitam de proteção contra infecções e frequentemente cirurgias (EVERS et al., 2010; JESCHKE, 2020). Por fim, o grau de maior gravidade das queimaduras inclui comprometimento de tecidos mais profundos como músculos e ossos, envolvendo frequentemente perda de tecido comprometido, necessitando de uma reabilitação mais complexa e prolongada (JESCHKE, 2020). Desta forma pode-se concluir que a gravidade da lesão está diretamente relacionada ao período necessário de cura e a incidência de sequelas (DALLA-CORTE, 2019).

Além da profundidade da lesão, a classificação das queimaduras leva em consideração a extensão da área total da superfície corporal afetada (TBSA) e

apresenta diferenças específicas entre grupos etários. Queimaduras leves geralmente envolvem menos de 10% da TBSA. No entanto, a definição de queimadura grave varia de acordo com a faixa etária, sendo mais rigorosa em crianças devido à sua maior vulnerabilidade. A presença de lesões profundas, associação com inalação de fumaça ou outros traumas, e a idade avançada do paciente são fatores que contribuem para a gravidade da lesão e demandam uma avaliação individualizada e um manejo multidisciplinar (DALLA-CORTE, 2019).

Segundo o boletim epidemiológico emitido em 2022 pelo Ministério da Saúde, no Brasil, entre os anos de 2015 e 2020, ocorreram 19.772 óbitos por queimaduras, mais de 50% dos casos foram causados por queimaduras térmicas, ocorridas em ambiente domiciliar ou peridomiciliar, sendo que houve um agravamento no período da pandemia.

Uma das principais complicações dessas lesões, que possui impacto direto na rotina de atividades diárias e na vida social do indivíduo acometido, são as contraturas cicatriciais. Estas podem afetar o paciente não somente de forma física, mas também psicológica, pois limitam a amplitude de movimento da área acometida, além de causar sequelas estéticas (OOSTERWIJK, 2017).

Outra grande complicação das queimaduras mais graves, é o impacto no sistema imunológico que agrava de forma sistêmica a condição do paciente (ADEREGIBE, 2018). A abordagem da reabilitação em queimados graves é considerada de alta complexidade e necessita de acompanhamento contínuo de uma equipe multidisciplinar, primeiramente realizado em um centro especializado seguido por atendimento ambulatorial no período seguinte, conforme determinado na Portaria N° 1.273, de 21 de novembro de 2021, emitida pelo ministério da Saúde.

A fotobiomodulação (FBM) é uma técnica terapêutica que utiliza luz de baixa intensidade e tem demonstrado grande potencial no tratamento de queimaduras de espessura total. Esse conceito foi inicialmente descrito em 1967 pelo médico-cientista húngaro Endre Mester, que observou que o uso de laser de baixa dosagem promovia a cicatrização de feridas e estimulava o crescimento capilar em camundongos. Posteriormente, Mester demonstrou sua eficácia em pacientes humanos com úlceras de pele, denominando esse fenômeno de fotoestimulação. Desde então, a FBM tem sido amplamente estudada e aplicada no tratamento de queimaduras, consolidando-se como uma abordagem promissora para acelerar a reparação tecidual (MOSCA et al., 2019).

Nas décadas de 1970 à 1990, Karu e colaboradores realizaram experimentos que elucidaram os mecanismos fisiológicos subjacentes à FBM. Eles demonstraram que a ativação do citocromo c oxidase eleva a produção de ATP mitocondrial, aumentando a atividade metabólica celular. Simultaneamente, a regulação do estado redox do microambiente intracelular promove a expressão de genes envolvidos na regeneração e reparação tecidual. Além disso, a modulação do sistema imunológico assegura um esforço regenerativo coordenado (GLASS, G. E., 2021).

Estudos utilizando comprimentos de onda entre 600 nm e 900 nm destacam-se no reparo de diversas alterações cutâneas (MEIRELLES et al., 2008; BAYAT et al., 2008; BRASSOLATTI et al., 2016; MOSCA et al., 2019). Embora a literatura e a prática clínica sejam consistentes quanto à eficácia da FBM na reparação tecidual, inclusive em lesões de difícil cicatrização como queimaduras, a falta de padronização na parametrização limita seu sucesso clínico (BRASSOLATTI et al., 2018).

Um dos parâmetros mais discutidos é o comprimento de onda. A maioria dos estudos utiliza lasers na faixa do vermelho (630–660 nm) (BRASSOLATTI et al., 2016; ANDRADE et al., 2016). No entanto, pesquisas recentes sugerem que comprimentos de onda maiores, como no infravermelho, podem oferecer vantagens adicionais, especialmente na modulação do processo inflamatório e na redução do tempo de cicatrização (TATMATSU-ROCHA et al., 2018).

Portanto, estudos que aprofundem os mecanismos e os efeitos de diferentes comprimentos de onda na recuperação do tecido cutâneo de difícil cicatrização, como nas queimaduras de espessura total (3º grau), são essenciais para otimizar a aplicação da FBM e ampliar sua eficácia clínica.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar os efeitos da terapia por TFBM com laser no comprimento de onda vermelho (630nm) e infravermelho (808nm) na queimadura de espessura total em ratos.

### **2.3 Objetivos Específicos**

- Avaliar a morfologia do tecido cutâneo após o tratamento com TFBM a laser
- Investigar as alterações morfométricas após o tratamento com TFBM a laser com diferentes comprimentos de onda.
- Avaliar a organização das fibras de colágeno após o tratamento com TFBM a laser com diferentes comprimentos de onda.
- Analisar o tempo de cicatrização após o tratamento com TFBM a laser com diferentes comprimentos de onda.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Queimaduras

A pele humana desempenha um papel vital como interface entre o corpo e o ambiente, sendo responsável por funções essenciais como proteção imunológica, percepção sensorial, controle térmico e barreira física contra lesões. Este complexo é formado por múltiplas camadas de tecidos, com uma rica diversidade celular, incluindo ceratinócitos, melanócitos, fibroblastos, células endoteliais e imunológicas, além de uma matriz extracelular densa que garante resistência e flexibilidade (DYRING-ANDERSEN et al., 2020).

As queimaduras representam um problema de saúde global significativo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estando associadas a altos índices de morbidade e mortalidade. Estima-se que milhões de pessoas em todo o mundo sofram queimaduras anualmente, resultando em cerca de 180.000 mortes anualmente, especialmente em países de baixa e média renda, onde ocorrem mais de 90% desses óbitos. Avanços nas últimas décadas, como melhorias na compreensão da fisiopatologia das queimaduras, técnicas de exercício de pele, controle de infecção e ressurreição com fluidos, aumentaram significativamente as chances de sobrevivência, mesmo em casos graves. Apesar disso, muitos sobreviventes enfrentam incapacidades físicas permanentes, sofrimento emocional (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013).

As lesões sofridas por pacientes vítimas de acidentes com queimaduras, não se restringem somente fisicamente. A saúde mental e a qualidade de vida são tão gravemente impactadas. Desta forma, a sua recuperação e reabilitação envolve uma série de desafios, podendo se estender por longos períodos de reabilitação em meio a uma equipe multidisciplinar (JESCHKE, 2020).

As queimaduras são lesões térmicas, que podem ocorrer por exposição da pele à agentes biológicos, físicos ou químicos que causam feridas abertas, e cujo processo de reparação ocorre por segunda intenção, resultando períodos de reabilitação mais longos associados a dores, infecções e eventualmente, até a morte, dependendo de sua gravidade e extensão da lesão (DE VASCONCELOS et al, 2015). De acordo com BOLGIANI et col (2010), a pele humana pode suportar temperaturas até 44°C sem causar lesões, porém acima destas temperaturas a

gravidade da lesão varia de acordo com o grau de temperatura e o tempo de exposição.

Elas podem ser categorizadas como superficiais, superficiais parciais, profundas parciais e de espessura total. Enquanto as queimaduras superficiais afetam apenas as camadas da pele, as queimaduras profundas podem atingir tecidos moles, como gordura e músculos, e até os mesmos ossos. A gravidade dessas lesões depende de fatores como tamanho, profundidade, localização da queimadura, idade do paciente e presença de condições sistêmicas subjacentes. Queimaduras menores, que abrangem menos de 10% da área total da superfície corporal, tendem a cicatrizar espontaneamente, enquanto queimaduras maiores, que afetam mais de 20% dessa área, geralmente envolvem intervenções cirúrgicas e estão associadas a maiores riscos de complicações, como lesões, sepse e cicatrização patológica (BURGESS et al., 2022).

A extensão de uma queimadura é avaliada pela área da superfície corporal queimada (SCQ), sendo estimada com o auxílio da regra dos nove de Wallace, amplamente utilizada em situações de urgência. Outra abordagem é o uso da superfície palmar do próprio paciente, que corresponde a aproximadamente 1% do SCQ, permitindo uma estimativa prática e rápida ao projetar o tamanho da palma sobre as áreas afetadas (DALLA-CORTE et al, 2019). A classificação das queimaduras está relacionada à profundidade da lesão, sendo o grau 1, de menor gravidade já que possui espessura superficial atingindo apenas a epiderme. Grau 2 com espessura parcial e sendo dividida em superficial e profunda, afetando a epiderme e a derme, e grau 3 de maior gravidade de espessura total, podendo até ultrapassar o subcutâneo, destruindo outras estruturas localizadas mais profundamente. Quanto maior o grau da queimadura, maior será o tempo de internação e reabilitação (DELLA-CORTE et al, 2019).

As queimaduras de primeiro grau, como as causadas pela exposição solar, são lesões superficiais que atingem apenas a epiderme, apresentando-se vermelhas e dolorosas, mas geralmente cicatrizadas completamente sem necessidade de tratamento intensivo. Queimaduras de segundo grau, por penetrarem na derme, são denominadas queimaduras de espessura parcial. Elas podem ser divididas em queimaduras superficiais de espessura parcial (SPTBs), que afetam totalmente a epiderme e parte da derme, e queimaduras profundas de espessura parcial (DPTBs) que atingem camadas mais profundas da derme. As queimaduras de segundo grau

são particularmente dolorosas devido à exposição das terminações nervosas sensoriais. A reepitelização depende da extensão do dano dérmico e do número de apêndices cutâneos afetados (MARKIEWICZ et al, 2022; DALLA-CORTE et al., 2019). Assim, queimaduras superficiais de primeiro e segundo grau cicatrizam por intenção primária, onde a reparação do epitélio ocorre com mínimo tecido de granulação, enquanto queimaduras de segundo grau mais profundas e de terceiro grau cicatrizam por intenção secundária, frequentemente resultando em cicatrizes e contraturas devido à perda de apêndices cutâneos essenciais. As queimaduras de terceiro grau destroem todas as camadas da pele, incluindo a gordura subcutânea, sendo classificadas como queimaduras de espessura total, e não apresentam dor ao toque por causa da destruição dos nervos do plexo dérmico. Queimaduras de quarto grau são as mais graves, estendendo-se por todas as camadas da pele até músculos, tendões e ossos, o que afeta as terminações nervosas. Devido à sua gravidade, o tratamento dessas queimaduras geralmente envolve desbridamento cirúrgico e enxertos (ORYAN et al, 2017).

Geralmente as queimaduras de 3º grau são menos comuns do que as demais, porém são as mais graves e estão relacionadas à alto estresse fisiológico, além de longos períodos de reabilitação (FLORIO et al, 2013). O processo de cicatrização dessas lesões é lento e complexo, pois envolve uma cascata coordenada de eventos divididos em fases, que ocorrem de forma simultânea e interdependentes (BRASSOLATTI et al, 2018).

A reação inflamatória desencadeada por uma queimadura tem um papel essencial na proteção da área lesionada contra patógenos, ativando uma resposta imune inata. Durante esse processo, as células inflamatórias eliminam detritos e células mortas, proporcionando o local para o reparo tecidual de queratinócitos e fibroblastos (BURGESS et al., 2022). Pacientes com queimaduras extensas permanecem em um estado persistente de ativação do processo inflamatório sistêmico (GREENHALGH et al., 2007). Queimaduras extensas, envolvendo mais de 20% da área total da superfície corporal, provocam uma resposta inflamatória e metabólica intensa, com impacto sistêmico significativo, o hipermetabolismo decorrente dessas lesões aumenta conforme as necessidades calóricas, chegando a um equilíbrio no gasto energético basal, enquanto a exposição contínua ao ambiente, devido à perda da barreira específica, favorece infecções e sepse. Esse quadro, aliado ao aumento da permeabilidade capilar, leva à perda de fluidos, ao

choque hipovolêmico e à evolução para a síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS), que frequentemente resulta em disfunção de múltiplos órgãos (MODS). Além disso, a inflamação prolongada pode gerar cicatrizes desfigurantes e restritivas, exigindo intervenções (GREENHALGH et al., 2007; BURGESS et al., 2022).

A resposta local à queimadura é um processo complexo e dinâmico que se divide em três zonas concêntricas: a zona de coagulação, a zona de estase e a zona de hiperemia. A zona de coagulação, o núcleo da lesão, sofre necrose irreversível devido ao calor, enquanto a zona de estase, uma região de transição, apresenta fluxo sanguíneo comprometido e inflamação intensa. A zona de hiperemia, a mais externa, é caracterizada por vasodilatação e aumento da perfusão. A evolução dessas zonas depende de diversos fatores, como a gravidade da queimadura, a resposta inflamatória, a reposição de volume e a presença de infecção (DEREK et al., 2021).

A reparação tecidual, resposta biológica à injúria tecidual, é um processo dinâmico e sequencial que se desenvolve em quatro etapas. A hemostasia inicial visa conter o sangramento e estabelecer um coágulo. Em seguida, a fase inflamatória é caracterizada pela chegada de células de defesa para limpar a área lesada e iniciar o processo de reparo. A fase proliferativa é marcada pela formação de novo tecido, com a proliferação de células e a produção de novos vasos sanguíneos. Por fim, a fase de remodelação consiste na reorganização do tecido cicatricial, com a deposição das fibras de colágeno tipo I entrelaçadas, garantindo resistência mecânica adequada (COOK et al., 2022).

A conversão de um coágulo em tecido de granulação depende de um equilíbrio preciso entre a deposição e a degradação de proteínas da matriz extracelular (ECM). Quando esse processo é desregulado, podem surgir alterações na cicatrização, como a formação de queloides ou cicatrizes hipertróficas, que são manifestações de uma reparação tecidual anormal (SCHMID et al., 1998). O fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) desempenha um papel central na formação de cicatrizes hipertróficas e queloides. Estudos têm mostrado que fibroblastos presentes em cicatrizes hipertróficas, especialmente após queimaduras, exibem uma expressão aumentada e sustentada de TGF- $\beta$  e de seus receptores. Essa hiperatividade do TGF- $\beta$  está diretamente relacionada à proliferação excessiva de fibroblastos e ao aumento da deposição de colágeno, características típicas dessas

cicatrices anômalas (SCHMID et al., 1998; GAUGLITZ et al., 2011). O tecido cicatricial hipertrofiado comparado com a pele normalmente contém níveis mais elevados de IGF-1 e PDGF. O IGF-1 aumenta a expressão de colágeno tipo I e III em fibroblastos dérmicos cultivados, enquanto o PDGF aumenta a rotina de fibroblastos e a produção de ECM (matriz extracelular). Esses fatores indicam um papel causador dos níveis elevados de IGF-1 e PDGF na patogênese da reparação tecidual (ORYON et al., 2017).

O tratamento de queimaduras tem sido um desafio médico complexo, com diversos métodos sendo estudados ao longo do tempo. Uma das abordagens recentes para prevenir e tratar infecções em feridas de queimadura é o uso de antimicrobianos, que atuam diretamente nos biofilmes, impedindo a infecção da ferida. Porém a resposta inflamatória crônica e de baixo grau desencadeada, compromete a epitelização e a reparação tecidual (ORYAN, 2017).

Os enxertos autólogos são amplamente considerados o padrão ouro para a reparação cutânea devido à sua eficácia na substituição de tecido perdido; entretanto, apresentam limitações importantes, como a escassez de áreas doadoras disponíveis e os riscos associados à coleta, incluindo infecções, dor e formação de cicatrizes, conforme destacado por SHEIKHOLESLAM et al. (2018). Essas restrições têm incentivado o desenvolvimento de alternativas terapêuticas que possam superar tais desafios, como os curativos bioativos à base de hidrogéis de alginato incorporados com exossomos (EXO), os quais demonstraram, segundo ADEREGIBE et al. (2018), benefícios significativos, incluindo aceleração no fechamento das feridas, maior reepitelização, deposição de colágeno e angiogênese. Uma alternativa promissora são os andaimes eletrofiados de seda, que oferecem biocompatibilidade e eficácia na cicatrização de feridas, embora enfrentem barreiras práticas, como os altos custos de produção e a necessidade de customização, dificultando sua aplicação em larga escala, conforme evidenciado por Safonova et al. (2021). Esses avanços ressaltam a importância de continuar investigando soluções acessíveis e eficientes que atendam à demanda clínica por substitutos cutâneos de alto desempenho.

Entre as terapias recentemente exploradas para esse propósito, a terapia com laser de baixa potência destaca-se por ser um método não invasivo, seguro e de baixo custo, com evidências científicas robustas que comprovam sua efetiva

contribuição nas fases do processo de cicatrização de tecidos (BRASSOLLATTI et al, 2018).

### 3.2 Fotobiomodulação em Queimaduras

Em 2014, A American Association for Light Therapy e a World Association for Laser Therapy chegaram a um consenso sobre a utilização do termo de FBM para descrevê-la com *“Uma forma de terapia de luz que utiliza formas não ionizantes de fontes de luz, incluindo lasers, LEDs e luz de banda larga, no espectro visível e infravermelho. É um processo não térmico envolvendo cromóforos endógenos que provocam eventos fotofísicos (ou seja, lineares e não lineares) e fotoquímicos em várias escalas biológicas. Este processo resulta em resultados terapêuticos benéficos, incluindo, mas não se limitando ao alívio da dor ou inflamação, imunomodulação e promoção da cicatrização de feridas e regeneração de tecidos.”* (ANDERS et al, 2015)

A FBM, uma técnica terapêutica baseada na aplicação de luz de baixa intensidade, tem mostrado grande potencial em peças teciduais de queimaduras de espessura total. Esse conceito foi inicialmente descrito em 1967 pelo médico-cientista húngaro Endre Mester, que recomendou que o tratamento com laser de baixa dosagem, promovia a cicatrização de feridas e estimulava o crescimento capilar em camundongos. Mester denominou esse aspecto de fotoestimulação e, posteriormente, demonstrou sua eficácia em pacientes humanos com úlceras de pele. Desde então, a FBM tem sido extensa e aplicada no tratamento de queimaduras, sendo considerada uma abordagem promissora para acelerar o processo de reparação tecidual (MOSCA et al., 2019).

A luz é uma forma de energia física, e compreender suas interações biológicas é essencial para explorar suas aplicações terapêuticas. Os efeitos da terapia com laser de baixa intensidade são influenciados por uma variedade de parâmetros, incluindo a comprimento de onda, frequência dos pulsos, potência máxima, duração do pulso/intervalo de repouso, irradiância, duração, energia e densidade energética, entre outros (GUPTA et al, 2014). Para facilitar esse entendimento, é apresentada uma visão geral da terminologia utilizada na terapia com luz (Tabela 1).



**Tabela 1** - Terminologia Básica para TFBM e interações entre tecidos

Parâmetro	Unidade	Descrição
Comprimento de onda	nm	É a medida da distância em que um fóton percorre durante um ciclo completo de onda.
Energia	J	Quantidade de energia ( E ) carregada por cada foton. Onde $E = h(\text{constante de Planck}) \cdot V$ (velocidade).
Fluência	J/cm <sup>2</sup>	Refere-se à densidade de energia, calculando a energia entregue E por área cm <sup>2</sup> .
Potência	W	Taxa de entrega de energia 1W = 1J
Irradiância	W/cm <sup>2</sup>	Refere-se a densidade de potência, calculando a potência (W) por área ( cm <sup>2</sup> ).
Onda Contínua	CW	A energia é transferida de modo contínuo
Ciclo de trabalho	%	A proporção do tempo em que a energia está "on". CW a energia está "on" 100% do tempo.
Pulsado	Peak Power (W), frequência de pulso (Hz), largura de pulso (s) intervalo de pulso (s), trem de pulso (s/min)	A energia transferida por um feixe pode ser fracionada ou dividida. O pico de potência é declarado em W. A frequência de pulso em Hz, e se refere ao número de pulsos por segundo, a largura do pulso é a duração em que o feixe transmite a energia em segundos, intervalo de pulso (s) é o tempo em que o feixe está off , e trem de pulso é uma série de larguras de pulsos e lacunas durante um tratamento. A potência média (W) de um feixe pulsado é calculada através do pico de potência (W), largura de pulso (s), e frequência de pulso (Hz), isso é importante na dispersão de energia térmica durante um tratamento para prevenção de intercorrências.
Frequência	Hz	Número de oscilações que uma onda realiza a cada segundo. Frequência e comprimento de onda são inversamente proporcionais. Quando a velocidade de propagação é constante, uma onda com maior frequência terá um comprimento de onda menor.

Cromóforo	-	Cromóforo é uma região molecular onde a diferença de energia entre dois orbitais atômicos está dentro do espectro visível.
Foton	-	Partícula elementar da radiação eletromagnética, que não possui massa mas pode transferir energia
Colimação	-	Todos os feixes são direcionados na mesma direção, e o diâmetro do feixe geral é pequeno.
Coerência	-	Fótons estão vibrando em fases semelhantes (espaço e tempo).

Fonte: adaptada Terapia de fotobiomodulação para tratamento de feridas: uma abordagem fotocênica potente e não invasiva - Avanços em cuidados com a pele e feridas 32(4):157-167, abril de 2019.

A fototerapia é uma técnica que utiliza luz monocromática emitida por lasers de baixa potência (inferior a 80 mW), abrangendo comprimentos de onda na faixa óptica do vermelho ao infravermelho próximo (~600–1000 nm). Essa abordagem é não térmica e não destrutiva, sendo aplicada no tratamento de diversas condições dermatológicas, de tecidos moles e neurológicos (KARU et al., 2005). Estudos indicam que as doses de energia mais eficazes para essa terapia estão abaixo de 5 J/cm<sup>2</sup>, seguindo o princípio da curva de Arndt-Schultz, que destaca os efeitos estimulantes de baixas doses de energia (CORAZZA, 2005).

A interação da luz com o tecido humano ocorre por meio de quatro processos principais: absorção, reflexão, dispersão e transmissão. Para que a luz tenha efeito terapêutico, é necessária a absorção de cromóforos biológicos, como melanina, hemoglobina e água, presentes nos tecidos. A reflexão e a dispersão também influenciam a eficácia, sendo a reflexão menor quando o feixe é perpendicular ao tecido, e a dispersão reduz a abrangência da luz, especialmente em tecidos mais heterogêneos, como a pele. A luz de comprimentos de onda mais curtos, como a ultravioleta e visível, é mais dispersa, enquanto os comprimentos de onda vermelhos (620 -750 nm) penetram mais profundamente devido à menor absorção por melanina e sangue. No infravermelho próximo, a água (750 - 950 nm) torna-se o principal cromóforo, determinando a absorção e, conseqüentemente, a profundidade de penetração. Quando não há cromóforos específicos para um determinado comprimento de onda, a luz transita pelo tecido sem gerar efeitos biológicos (MOSCA et al., 2019).

Biofísicamente, a capacidade do laser de penetrar no tecido está relacionada ao comprimento de onda utilizado. A luz na faixa de comprimento de onda de 700–1000 nm, que é invisível ao olho humano, penetra mais profundamente nos tecidos em comparação com a luz de comprimentos de onda vermelhos (600–700 nm). Enquanto a luz vermelha é limitada à penetração na camada superficial da pele, a luz nas faixas de comprimento de onda mais longas pode alcançar camadas mais profundas, como os músculos, permitindo uma ação terapêutica mais abrangente (GUPTA et al., 2014).

De acordo com Karu, 2010 a ação do laser baseia-se na absorção de luz por fotorreceptores específicos nos tecidos, sendo a citocromo c oxidase o mais conhecido. Após a absorção da luz, ocorrem mudanças significativas no metabolismo celular. Primeiramente, observa-se um aumento na produção de ATP celular, resultante da estimulação da cadeia de transporte de elétrons presente nas mitocôndrias. Em seguida, ocorre um incremento na síntese de DNA e RNA, que influenciam diretamente na regulação do ciclo celular e favorecem a síntese proteica e a proliferação celular.

Conforme citado por MOSCA e colaboradores em 2019, a terapia por TFBM atua em diferentes mecanismos celulares, incluindo a modulação de receptores e transportadores na membrana celular, como as opsinas, o receptor transitório V1 e o receptor de hidrocarboneto arila. A interação da luz com esses componentes regula o transporte de íons essenciais, como cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), prótons ( $\text{H}^+$ ) e sódio/potássio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ), entre o citosol e a matriz extracelular, desempenhando papéis críticos na fisiologia celular e contribuindo para efeitos analgésicos e anti-inflamatórios.

Além disso, em um estudo publicado por ARANY e colaboradores em 2014, que investigou o uso da TFBM como uma ferramenta minimamente invasiva para ativar o fator de crescimento transformador- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), que subsequentemente diferencia células-tronco hospedeiras para promover a reparação do tecido, identificou um terceiro mecanismo extracelular, que envolve a ativação do fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Nesse processo, espécies reativas de oxigênio (ROS) causadas pelo TFBM interagem com um sensor redox de metionina, promovendo uma alteração conformacional do TGF- $\beta$ 1 latente e sua subsequente ativação, influenciando as respostas ao contexto dos celulares.

Uma linha de pesquisa emergente destaca a interação dos fótons com a água intracelular estruturada (IWL) como um elemento-chave na elevação de ATP e na eletricidade celular causada pela luz R-NIR (SOMMER, 2019).

As primeiras aplicações da fototerapia, utilizando a luz laser como recurso terapêutico, ocorreram na década de 60, através das pesquisas realizadas pelo Dr. Mester. Muitas pesquisas realizadas, posteriormente, que a TFBM quando utilizado a faixa espectral entre o vermelho e infravermelho (600 a 1200nm) possui resultados terapêuticos benéficos na diminuição da dor e inflamação, além de atuar na cicatrização de feridas e reparação de tecidos através do mecanismo de imunomodulação (MOSCA et al, 2019).

A faixa vermelha do espectro óptico oferece potenciais modulações terapêuticas em tecidos vivos, com seus efeitos dependendo tanto do estado fisiológico do tecido no momento da irradiação quanto dos parâmetros ópticos do laser. Estudos indicam que células danificadas ou sob estresse respondem melhor à TFBM a laser do que células normais. A aplicação da TFBM em queimaduras é baseada em suas propriedades modulatórias da inflamação, aceleração do processo de cicatrização e melhora no reparo tecidual (ANDRADE et al., 2020)..

Um estudo conduzido por DEANA e colaboradores em 2021, demonstrou que a TFBM favorece a contração de feridas, neoangiogênese e deposição de fibras colágenas em queimaduras de 2 e 3 graus.

A literatura é concisa em discutir, que a TFBM a laser com comprimento de onda vermelho promove resultados eficazes no controle de alterações cutâneas e diversas causas e profundidades. Essa eficácia é observada em uma variedade de condições cutâneas, desde lesões superficiais até queimaduras de maior profundidade (GUPTA et al., 2014; ANDRADE et al., 2020).

Em um estudo realizado com a TFBM a laser de 660 nm, foi possível verificar que a área da lesão irradiada com energias entre 3J e 4J, apresentou melhor cicatrização devido a melhor deposição de colágeno na região. (OLIVEIRA et al, 2017).

Como discutido anteriormente a utilização da TFBM no comprimento de onda vermelho é extensamente explorada na literatura dentro do contexto de lesões cutâneas, porém, atualmente discussões importantes têm sido levantadas a respeito da utilização do comprimento de onda infravermelho com o objetivo de reparo de feridas e úlceras de pele (BRASSOLATTI et al., 2018).



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Para a realização do estudo foram utilizados 24 animais (*Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia Mammalia*), machos, da linhagem *Wistar*, pesando entre 250 – 300 gramas, provenientes do biotério central da Universidade São Paulo (USP – São Paulo). A execução do período experimental foi realizada no Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia Einstein (CETEC), em que os animais permaneceram em gaiolas apropriadas, de polipropileno padrão, individualizadas, no biotério, mantidos em condições ambientais controladas como, umidade do ar (45 e 60%), temperatura (20 e 24°C), sistema de exaustão e de renovação de 100% do ar ambiente, além de controle de ciclo de claro e escuro de 12 horas. Durante todo o experimento os animais tiveram livre acesso à água filtrada e alimento (ração padrão), exceto nos breves períodos do experimento. O estudo foi conduzido de acordo com as normas internacionais de ética na experimentação animal (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996) e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) sob o protocolo nº 5931/2024. Ao final do estudo os animais foram eutanasiados, e suas carcaças armazenadas em freezer apropriado até que sejam retiradas e descartadas por uma empresa competente.

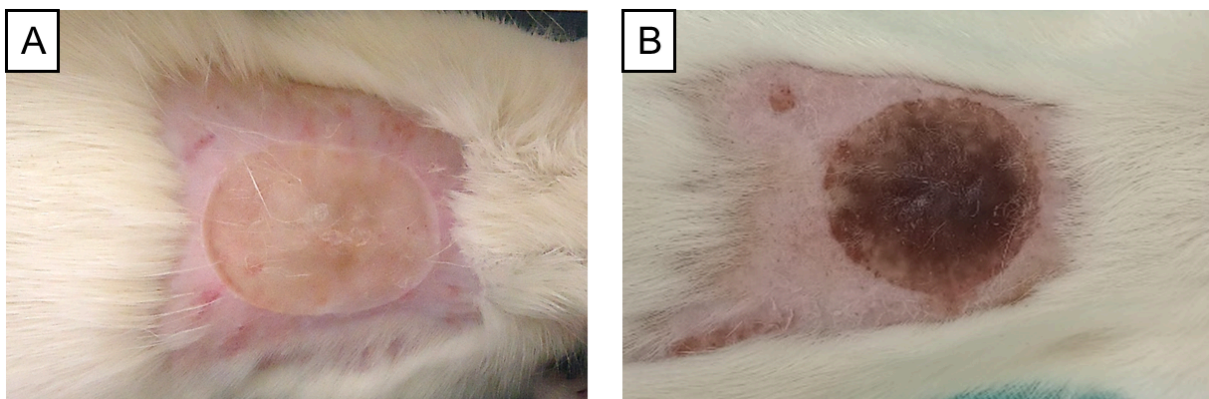
### 4.2 Modelo experimental de queimaduras de espessura total

Para realização do modelo experimental os animais foram inicialmente anestesiados com injeção intraperitoneal de Ketamina (95 mg/kg) e Xylazina (12 mg/kg) e posteriormente foram tricotomizados pela técnica digital, na região dorsal em uma área de 4cm X 5cm. Em seguida, foi realizada a lesão térmica com um dispositivo adaptado, com uma placa de alumínio em formato circular, com 3cm de diâmetro, acoplada a um ferro de solda com temperatura de 150°C. A placa foi posicionada em contato com a pele do animal, na região dorsal, por 5 segundos, sendo estes parâmetros já pré-estabelecidos na literatura por ANDRADE e colaboradores em 2016, totalizando uma área queimada de 7,1 cm<sup>2</sup>. Ressalta-se que o controle da temperatura foi realizado através de um termostato, conforme ilustrado na Figura 1.

**Figura 1 - Dispositivo adaptado para o estudo.** Placa de alumínio em formato circular, com 3cm de diâmetro, acoplada a um ferro de solda e Multímetro Digital Et-1110a Minipa utilizado para aferição de temperatura.



**Figura 2 – Imagem Ilustrativa da queimadura** A: imediatamente após o procedimento de lesão térmica e B: 48 horas após a lesão térmica.



Imediatamente após a realização do modelo experimental, a fim de promover analgesia, os animais receberam Meloxicam, 1-2 mg/kg de peso corporal, administrada por via subcutânea. Em seguida, os animais permaneceram em período de observação de 4 horas após este processo.

### 4.3 Grupos Experimentais

Na sequência da realização do modelo experimental, os animais permaneceram no Biotério do CETEC, sendo alocados em três grupos, com 8 animais em cada:

- **Grupo Controle (GC):** os animais foram tratados com a TFBM por 5 minutos, com o equipamento desligado.
- **Grupo laser vermelho (GLV):** os animais foram tratados através da TFBM a laser utilizando o comprimento de onda de 630nm, com os parâmetros estabelecidos pela literatura.
- **Grupo laser infravermelho (GLI):** os animais foram tratados através da TFBM a laser utilizando o comprimento de onda de 808nm, com os parâmetros estabelecidos pela literatura.

#### 4.4 Intervenção

Para a realização da TFBM a laser foi utilizado o equipamento THERAPHY XT® cedido gentilmente pela empresa DMC® (São Carlos, SP), utilizando o aplicador do tipo *probe* (ponteira) operando com os seguintes parâmetros, através de 5 pontos na queimadura, sendo 4 pontos ao redor da ferida e 1 ponto central.

**Figura 3 – THERAPHY XT®**, aplicador do tipo *probe*, cedido gentilmente pela empresa DMC®.

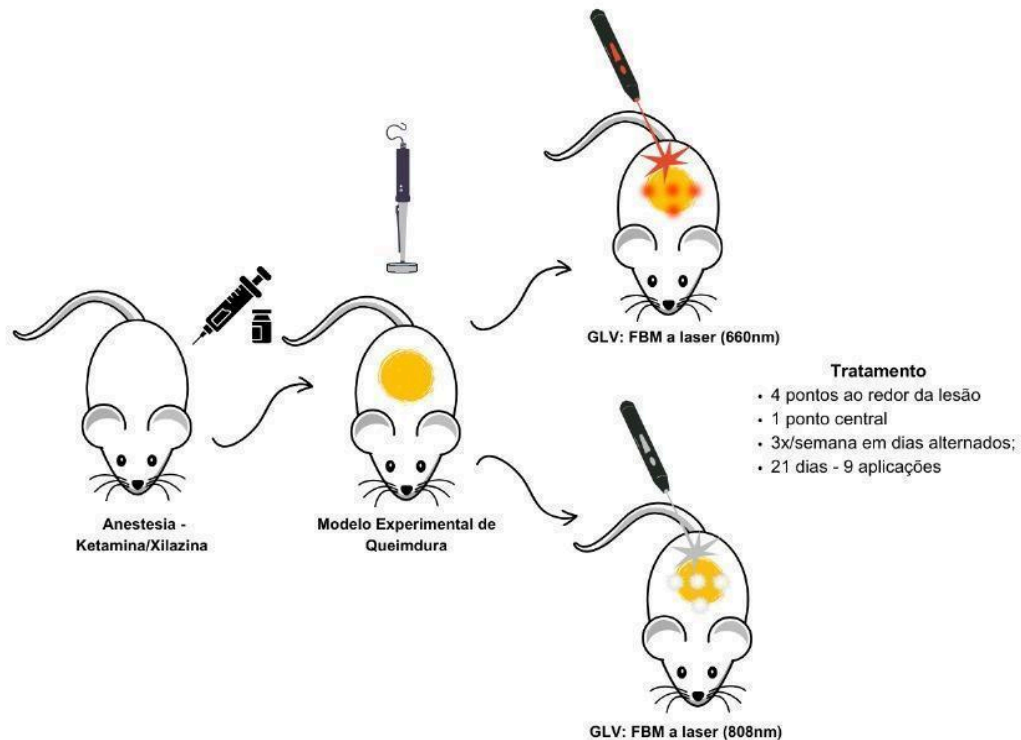


- **GV:** emissão contínua, comprimentos de onda 660 nm  $\pm$  10 nm, Potência 100 mW  $\pm$  20%,
- **GIV:** emissão contínua, comprimentos de onda 808 nm  $\pm$  10 nm, Potência 100 mW  $\pm$  20% de potência,

A aplicação foi realizada ao redor da lesão, com distância de 1 cm por ponto de aplicação, totalizando quatro aplicações ao redor. A técnica de aplicação ocorreu

por contato direto, da ponta da caneta laser com a borda da queimadura. A fim de evitar sujidade e contaminação, a mesma foi envolvida em filme plástico, sendo esse descartado a cada aplicação. Os animais foram irradiados três vezes por semana, durante 21 dias, totalizando 9 aplicações ao final do período experimental.

**Figura 4- Esquema de lesão de queimadura e aplicação da terapia por TFBM.**



**Tabela 2 - Parâmetros para a terapia por TFBM utilizados no estudo.**

<b>Quadro 1. Parâmetros da TFBM a Laser</b>	
Número de Lasers	1 <i>probe</i>
Comprimento de onda (nm) $\pm$ 2%	660 e 808
Potência (mW)	100
Densidade de potência (W/cm <sup>2</sup> ) $\pm$ 20%	3,57
Energia (J) - total	15
Energia (J) – por ponto	3
Densidade de energia – por ponto (J/cm <sup>2</sup> )	107
Diâmetro do feixe (cm)	0.028
Tempo (s) por ponto	30
Modo de aplicação	A <i>ponteira</i> foi aplicada perpendicularmente em contato ao redor da lesão.

## 4.5 Eutanásia e coleta das amostras

A eutanásia dos animais ocorreu 24h após a última irradiação, sendo coletadas amostras do tecido cutâneo, com aproximadamente 2cm<sup>2</sup> e abrangendo área de tecido saudável e área do tecido lesionado. Após as coletas, as amostras foram fixadas em formalina e armazenadas em álcool 70%, para posteriormente serem realizadas as análises histológicas e morfológicas (HE). Os animais foram eutanasiados com a técnica de anestesia letal, através de injeção intraperitoneal de Ketamina e Xylazina, seguindo o guia de eutanásia para animais de ensino e pesquisa CETEC.

## 4.6 Avaliações

### 4.6.1 Monitoramento Fotográfico

Para controle e acompanhamento da cicatrização, a análise clínico-fotográfica foi realizada através do cálculo da porcentagem de cicatrização das ulcerações, sendo observado a partir da captura e análise das imagens pelo programa Image J®, versão 1.3.1 (NHI, Estados Unidos).

A primeira captura de imagem ocorreu imediatamente após o desacoplamento da placa na área da lesão, e foi repetida no final do experimento (21º dia). Todas as fotos foram realizadas com uma câmera digital (Sony, com resolução de 5152 x 3864 pixels), a uma distância de 15 cm (altura entre o dorso do animal até o limite inferior da máquina). O grau de contração (GC) da área da ferida foi calculado por meio da fórmula adaptada de Oliveira et al., 2000:

$$\text{Porcentagem de cicatrização} = 100 - \frac{\text{área final da úlcera (pixel)}}{\text{área inicial da úlcera (pixel)}} \times 100$$

### 4.6.2 Análise Histológica

Após a coleta das amostras, estas foram imersas em uma solução de formaldeído a 10% para fixação durante 24 horas. Em seguida, foram submetidas a uma lavagem em água corrente por 24 horas, preparando-as para o processo de

desidratação. A desidratação ocorreu em três etapas, com uma hora para cada, nas concentrações de 70%, 90% e 100%, utilizando álcool etílico. As amostras passaram por diafanização em uma solução de álcool/xilol (na proporção de 1:1) em cada etapa de desidratação, e em seguida, por dois banhos em xilol puro. As amostras foram incorporadas em parafina e cortadas longitudinalmente em cortes de espessura padronizada de 5µm. Os cortes foram montados em lâminas histológicas e corados com hematoxilina e eosina, permitindo a avaliação da intensidade de infiltrado inflamatório, organização das fibras de colágeno e formação de novos vasos de forma qualitativa.

Ainda, foi realizada a análise da espessura da epiderme utilizando o software ImageJ. A média das espessuras foi calculada para cada grupo, permitindo uma comparação precisa entre os diferentes tratamentos ou condições experimentais.

As análises foram realizadas utilizando um microscópio óptico (Olympus CX23) com câmera acoplada, utilizando lente ocular de 10x e objetiva de 40x, proporcionando um aumento total de 400x. Ressalta-se que a análise foi cegada em relação aos grupos experimentais e foi realizada por dois revisores.

#### 4.6.3 Análise morfológica de colágeno

Para a análise morfológica de colágeno foi utilizada a coloração com *Picrosirius red*, que consiste em uma técnica seletiva amplamente utilizada para a análise qualitativa de tecidos conjuntivos, particularmente para avaliar as fibras colágenas presentes no tecido. Neste estudo, lâminas coradas com *Picrosirius Red* foram examinadas com o objetivo de observar a organização das fibras colágenas e quantificar a presença de colágeno tipos I e III, sem diferenciar entre eles. Foram capturadas três imagens por corte, utilizando um microscópio óptico convencional (OLYMPUS CX23) com aumento de 40x.

#### 4.7 Análise Estatística

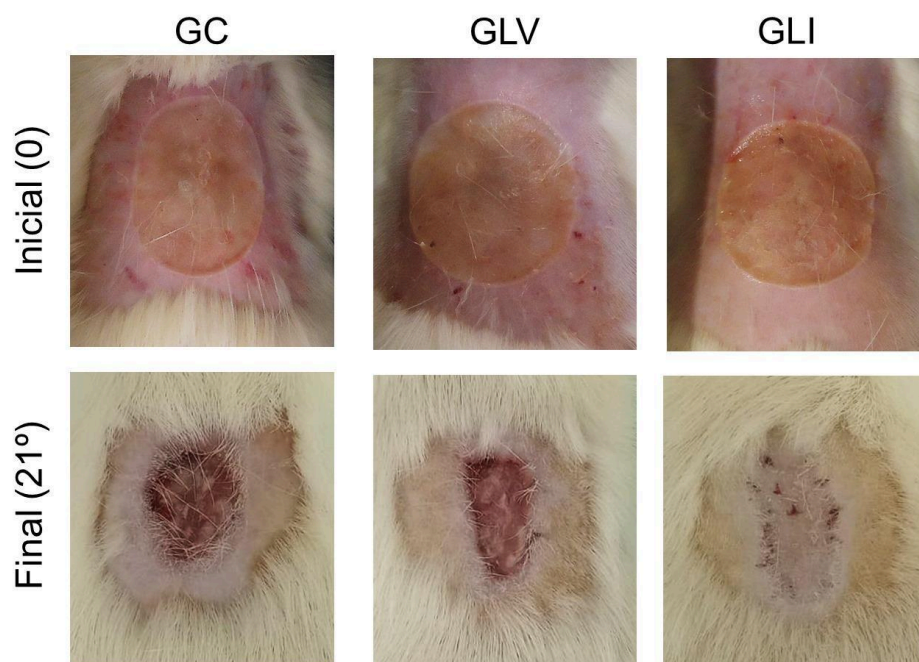
A análise estatística foi realizada pelo programa GraphPad Prisma®. Os dados foram apresentados em média e desvio padrão e por meio de técnicas descritivas, tais como gráficos e tabelas. Os dados foram analisados através do teste de normalidade de Shapiro Wilk, e da análise de variância dada pelo teste

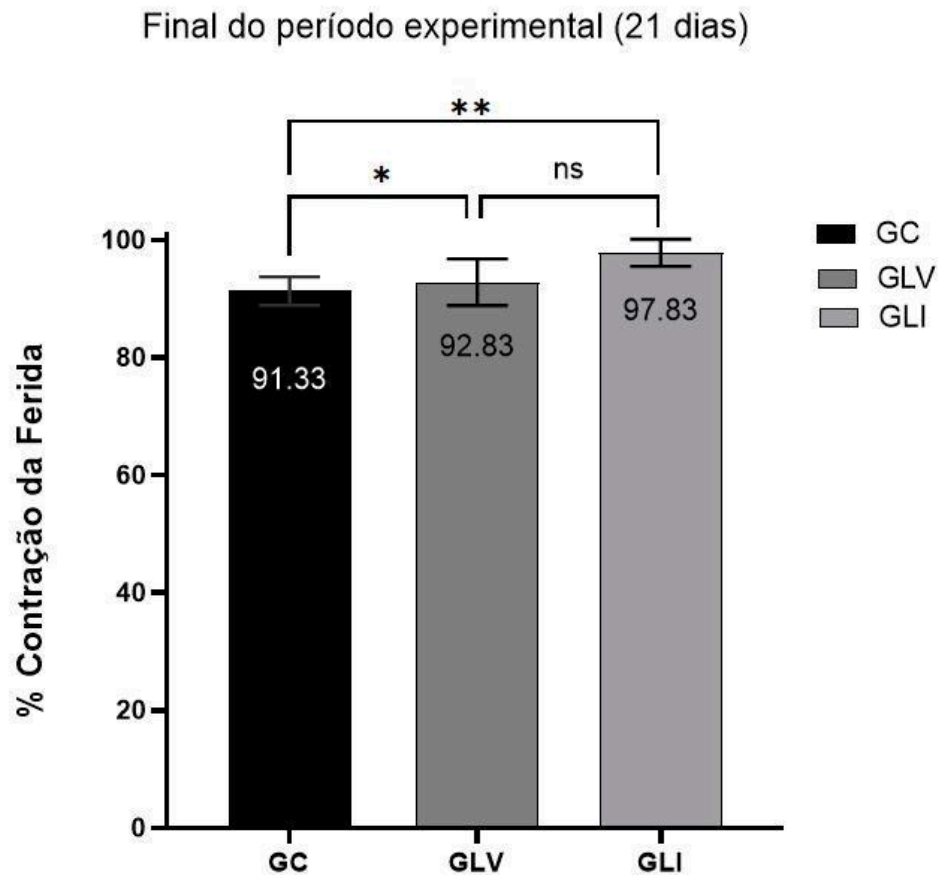
anova one-way. Na presença de diferença significativa ( $p < 0,05$ ) foi aplicado o teste de Bonferroni

## 5. RESULTADOS

Após a análise dos resultados da fotodocumentação e a avaliação da porcentagem de cicatrização, com base na contração da ferida,, foi possível observar que ao final do período experimental todas as lesões apresentaram fechamento superior a 90% da lesão inicial, porém o GLI (97.8%) apresentou maior percentual de contração da ferida estatisticamente significativa, quando comparado ao GC (91.3%) (Figura 5). Em contraste, não foram identificadas diferenças significativas na porcentagem de cicatrização entre os grupos GLI e GLV.

**Figura 5 - Imagem ilustrativa comparativa da contração da ferida após 21 dias da lesão inicial nos grupos experimentais. A= imagem fotográfica das lesões iniciais e finais nos grupos experimentais. (GC) Grupo Controle/ (GLI) Grupo tratado com o laser Infravermelho / (GLV) Grupo tratado com laser vermelho. B= Gráfico ilustrativo demonstrando a análise estatística de fechamento da ferida após período experimental de 21 dias.**





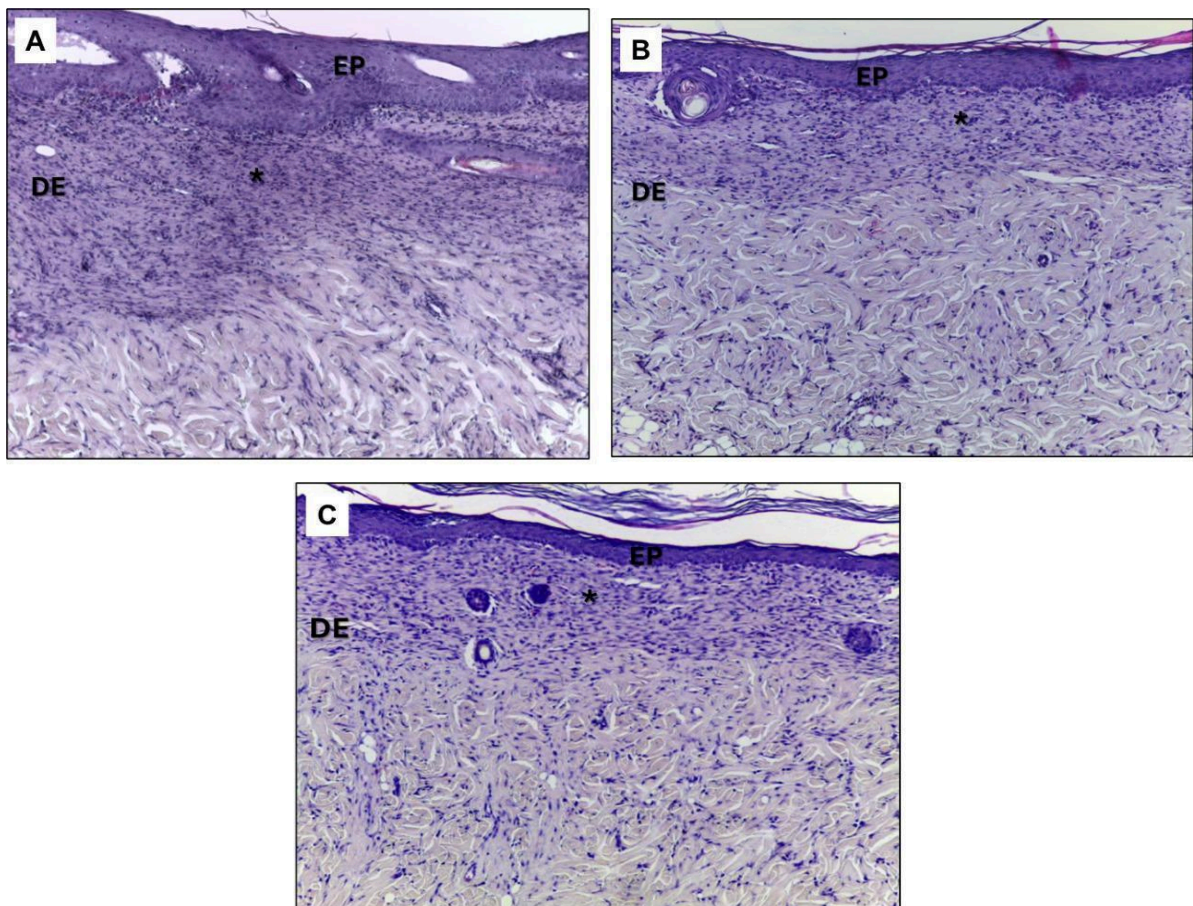
Para os resultados das análises histológicas, foi possível identificar que no grupo GC, a espessura média da epiderme foi de 85 micrômetros, indicando uma espessura aumentada (Figura 7). Observou-se uma quantidade significativa de infiltrado inflamatório na derme, além de um início na organização do colágeno na derme reticular. Esses achados sugerem que o grupo GC representa uma fase inicial do processo de cicatrização, com sinais de inflamação ativa e início da remodelação tecidual (Figura 6).

No grupo GLV, a espessura média da epiderme foi de 41 micrômetros, apresentando uma espessura reduzida em comparação com o grupo GC (Figura 7). O infiltrado inflamatório na derme foi observado em menor quantidade, e o colágeno exibiu uma organização mais avançada. Estes resultados indicam um progresso na fase de cicatrização, com redução da inflamação e melhoria na organização do colágeno (Figura 6).

No grupo GLI, a espessura média da epiderme foi de 31 micrômetros (Figura 7). A quantidade de infiltrado inflamatório foi mínima, e a organização do colágeno estava bem estabelecida em quase toda a derme. Além disso, observou-se a

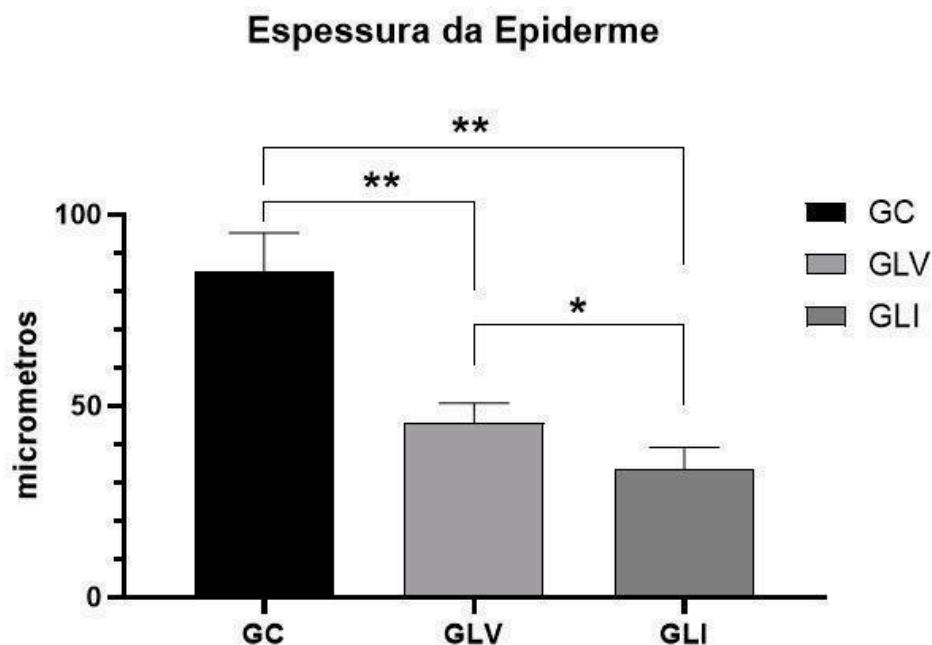
formação de novos vasos, sugerindo uma fase avançada de recuperação e revascularização. Estes achados refletem uma fase mais madura da cicatrização, com resolução da inflamação e completa recuperação estrutural da derme (Figura 6).

**Figura 6 - Fotomicrografias representativas dos grupos experimentais no 21º dia após o modelo experimental de queimadura. (A) Grupo controle (GC), (B) Grupo tratado com laser Vermelho (GLV) e (C) Grupo tratado com laser Infravermelho (GLI). (EP = Epiderme/ DE = Derme). Gráfico ilustrativo com a proporção da epiderme**



Na análise estatística das espessuras da epiderme, observou-se que tanto o grupo GLV quanto o grupo GLI apresentaram valores significativamente menores em comparação ao grupo controle (GC) ao final do período experimental. Além disso, o grupo GLI apresentou uma espessura epidérmica menor que o grupo GLV, diferença esta que também foi estatisticamente significativa (Figura 7).

**Figura 7 - Gráfico comparativo da espessura da epiderme nos grupos experimentais após 21 dias.** Exibição da espessura da epiderme, medida em micrômetros, comparando três grupos experimentais: GC (grupo controle), GLV (grupo com tratamento via laser vermelho) e GLI (grupo com tratamento via laser infravermelho). Os resultados indicam que o grupo controle (GC) apresentou uma espessura epidérmica significativamente maior do que os grupos tratados (GLV e GLI). A espessura da epiderme no grupo GLV foi significativamente maior do que no grupo GLI, mas menor do que no grupo controle. A significância estatística foi indicada por asteriscos: \*\* ( $p < 0,01$ ) e \* ( $p < 0,05$ ).



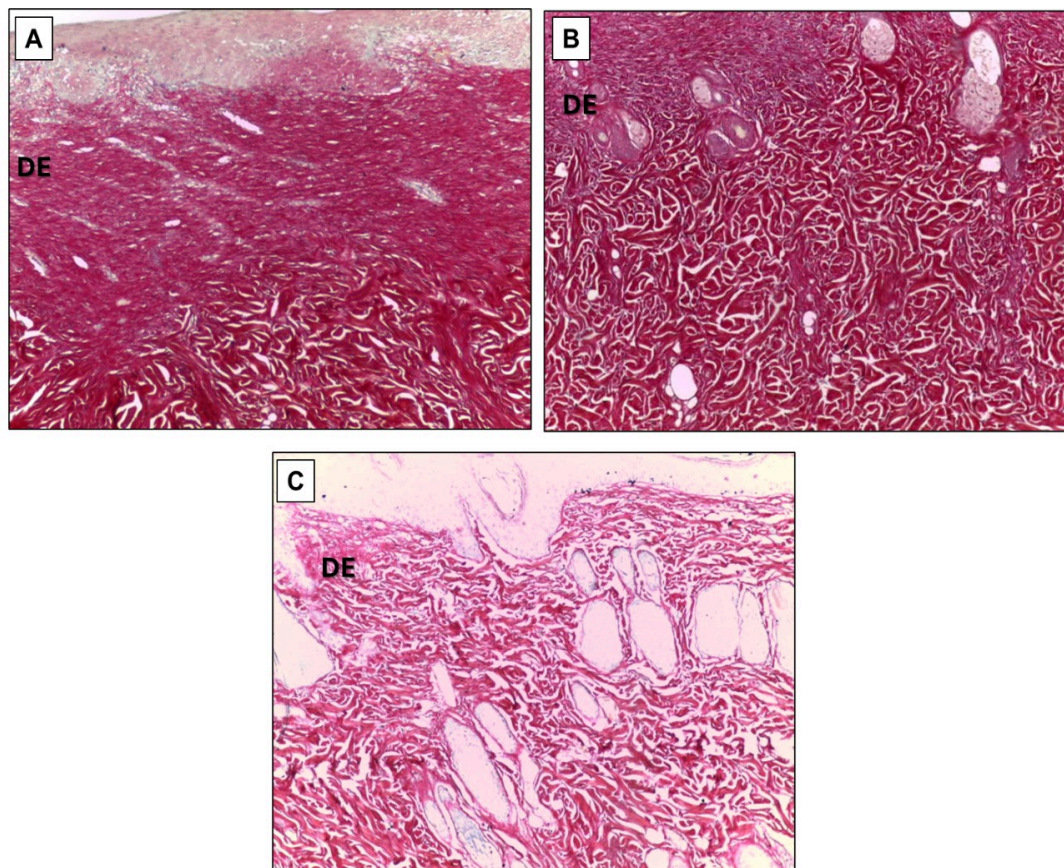
A análise qualitativa com a coloração de *Picosirius Red* revelou diferenças significativas na organização das fibras colágenas entre os grupos experimentais. No GC, a organização das fibras colágenas estava predominantemente restrita à derme reticular, com uma disposição mais dispersa e menos ordenada. Essa organização limitada sugere uma menor integridade estrutural do colágeno neste grupo (Figura 8A).

No grupo GLV, as fibras colágenas foram identificadas tanto na derme papilar quanto na derme reticular. No entanto, a organização dessas fibras foi menos definida quando comparada ao grupo GLI. Embora o colágeno estivesse presente

em ambas as camadas da derme, o padrão de arranjo era menos coeso e apresentava uma organização menos avançada (Figura 8B).

Por outro lado, o grupo GLI mostrou uma organização das fibras colágenas mais alinhada e estruturalmente integrada. As fibras exibiram um padrão de arranjo mais robusto e consistente em todo o tecido, indicando uma maior maturidade e estabilidade do colágeno. Esta observação sugere que o grupo GLI desenvolveu uma arquitetura colágena mais estruturada e eficiente, refletindo uma resposta tecidual mais avançada no processo de cicatrização (Figura 8C).

**Figura 8 - Imagem ilustrativa análise de Picrosirius realizada nos grupos experimentais após 21 dias da lesão. A = análise GC/ B= Análise do GV/ C = análise GLI. Pode-se verificar maior organização das fibras colágenas na imagem C (GLI), quando comparada aos demais.**



## 6. DISCUSSÃO

A terapia por fotobiomodulação (TFBM) tem se destacado como uma abordagem promissora devido à sua capacidade de processos modulares celulares essenciais, como a reparação tecidual. Neste estudo, avaliamos seus efeitos no contexto das peças de feridas de queimaduras de espessura total em ratos, comparando os comprimentos de onda de 660 nm e 808 nm. Embora os mecanismos de ação da TFBM ainda não sejam completamente compreendidos, a literatura ressalta sua relevância como recurso coadjuvante na cicatrização de tecidos. Nossos resultados indicaram que o uso do laser de 808 nm, com doses de 100 mW, aplicando 3J por ponto em quatro pontos ao redor da ferida e um ponto de aplicação no centro, promoveu maior contração da lesão e melhor organização das fibras colágenas em comparação a outros grupos avaliados. Esses achados reforçam os benefícios da TFBM como uma estratégia não invasiva no tratamento de feridas de queimaduras de espessura total.

Ao comparar os resultados deste estudo com um estudo anterior de Brassolatti e colaboradores, 2016, que avaliaram os efeitos da TFBM com 660 nm em queimaduras de terceiro grau em ratos, observa-se que ambos os estudos corroboram a eficácia da TFBM no processo de cicatrização de feridas. No presente estudo, com laser 808nm, foi observada uma maior contração da ferida e melhor organização das fibras colágenas, o que indica uma melhora significativa na qualidade da cicatrização. Esses achados estão em consonância com os resultados do estudo com laser 660 nm, que demonstrou que a aplicação de TFBM com 25 J/cm<sup>2</sup> promoveu uma diminuição do infiltrado inflamatório e uma maior expressão do VEGF, sugerindo uma melhora na angiogênese e, conseqüentemente, na restauração da microcirculação local

GUPTA e colaboradores verificaram em estudo realizado em feridas causadas por queimaduras em ratos, no ano de 2014 que, a utilização da TFBM através de um comprimento de onda NIR, (904nm, frequência de 100Hz e 90W de pico de pico de potência), apresentou uma contração mais rápida do que o grupo controle (não irradiado). Nos animais irradiados com uma potência de densidade de 0,4 mW/cm<sup>2</sup>, por 10 minutos, com uma entrega total de fluência de 0,2 J/cm<sup>2</sup>, houve redução significativa de na área da ferida (50%, p <0,05), no 8 dia após o ferimento, em comparação com os animais não irradiados (GUPTA et al., 2014). Esses resultados

sugerem que, apesar das diferenças nos comprimentos de onda e nas dosimetrias utilizadas, ambos os tratamentos TFBM são eficazes na modulação da resposta inflamatória e na promoção da reorganização tecidual, o que é crucial para a cicatrização adequada de feridas. No entanto, o estudo com laser 660 nm destacou a importância da redução da inflamação e da estimulação da angiogênese, enquanto o presente estudo com laser 808nm enfatizou a contração da ferida e a organização das fibras colágenas como principais mecanismos de ação.

Os resultados de PEREIRA et al. (2002) demonstraram que a irradiação com Laser de Baixa Potência, especificamente nas densidades de energia de 3 e 4 J/cm<sup>2</sup>, promoveu um aumento significativo no crescimento celular de fibroblastos cultivados, com elevação de três a seis vezes no número de células em comparação às culturas controle. No entanto, esse efeito foi observado dentro de uma faixa estreita de densidades de energia, uma vez que a aplicação de 5 J/cm<sup>2</sup> não produziu efeito sobre o crescimento celular. Notavelmente, a densidade de energia de 3 J/cm<sup>2</sup> foi eficaz em estimular o crescimento celular, mas sem impacto na síntese de pró-colágeno, como evidenciado pela análise de imunoprecipitação. Esses achados são congruentes com os resultados obtidos no presente estudo, reforçando a ideia de que a eficácia da TFBM pode ser altamente dependente da dosimetria aplicada, influenciando de maneira distinta o crescimento celular e a síntese de colágeno.

De acordo com o estudo realizado por DE BEM et al. (2010), que investigaram alterações histológicas e morfométricas em tecido sadio de 30 ratos Wistar divididos em cinco grupos experimentais, foi estabelecida uma média de espessura da epiderme de 29,25 µm nos animais do grupo controle (GC), irradiados com 0,0 W/cm<sup>2</sup> de ultrassom na região dorsal. Esse valor foi utilizado como referência para a normalidade do tecido epidérmico. Observa-se que, no presente estudo, as medidas de espessura epidérmica apresentadas pelo Grupo GIV, 31 µm, estão próximas a essa referência, sugerindo um comportamento morfológico semelhante ao tecido saudável, diferindo dos outros grupos experimentais. Essa similaridade reforça a hipótese de que as condições experimentais aplicadas ao GIV permitiram reparação tecidual mais próxima ao valor de referência de normalidade.

Ao comparar nossos resultados sobre o processo de peças teciduais com os estudos de SOMMER (2019) e ROSSI (1998), é possível levantar a hipótese de que a TFBM com R-NIR pode ter desempenhado um papel crucial na prevenção do

déficit de volume de líquidos, comuns em pacientes queimados. De acordo com Sommer (2019), a queda da consistência da água intersticial (IWL) mediada pela TFBM com R-NIR é um pré-requisito para a regulação positiva do ATP, uma vez que os fótons R-NIR poderiam reduzir a particularidades do envelope da IWL, impedindo a inibição da rotação normal do nanomotor mitocondrial em células submetidas ao estresse oxidativo. Essa redução da toxicidade pode ter contribuído para a manutenção do volume de líquidos, facilitando a recuperação tecidual e evitando complicações relacionadas à perda de fluido. Essa observação pode explicar, por outro lado, as peças teciduais observadas sem agravamento do quadro clínico, indicando que a TFBM pode ter ajudado a mitigar o impacto da perda de líquidos no processo de cicatrização.

Os achados do presente estudo reforçam o potencial terapêutico da TFBM no tratamento de queimaduras de espessura total, destacando a eficácia do comprimento de onda de 808 nm na promoção de contração das lesões e organização das fibras colágenas. Apesar das diferenças observadas em relação a outros comprimentos de onda, como o 660 nm e o 904 nm, os dados corroboram a ideia de que a TFBM modula importantes processos biológicos, como a resposta inflamatória, a angiogênese e a remodelação tecidual.

No entanto, ainda são necessárias investigações mais detalhadas que abordem a parametrização da técnica, incluindo a otimização das dosimetrias, comprimentos de onda e protocolos de aplicação. Estudos futuros também devem explorar os mecanismos celulares e moleculares envolvidos, especialmente em modelos humanos, para ampliar o entendimento sobre as interações entre a TFBM e os tecidos lesados.

## 7. CONCLUSÃO

Com base nos achados deste estudo, concluímos que a aplicação de FBM utilizando laser vermelho e Infravermelho, através de nove sessões, acelerou significativamente o processo cicatricial em feridas de queimadura de espessura total em ratos. Observou-se que o comprimento de onda de 808 nm (infravermelho) proporciona uma cicatrização de maior qualidade no tempo proposto. Estes resultados corroboram com a literatura internacional existente, que demonstra efeitos semelhantes da terapêutica experimental proposta na síntese e deposição de colágeno. Assim, o estudo reforça a eficácia da FBM como uma abordagem promissora para a aceleração da cicatrização de queimaduras, evidenciando a relevância do comprimento de onda de 808 nm na melhoria dos processos reparatórios.

## 8. REFERÊNCIAS

ADERIBIGBE, B. A.; BUYANA, B. Alginate in wound dressings. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, p. 42, abr. 2018. DOI: 10.3390/Pharmaceutics10020042. PMid: 29614804; PMcid: PMC6027439.

ANDERS, J. J.; LANZAFAME, R. J.; ARANY, P. R. Low-Level Light/Laser Therapy versus Photobiomodulation Therapy. **Photomed Laser Surg.**, v. 33, n. 4, p. 183-184, abr. 2015. DOI: 10.1089/Pho.2015.9848. PMid: 25844681; PMcid: PMC4390214.

ANDRADE, A. N. M. Efeitos da terapia laser de baixa intensidade (660nm) associada à células-tronco mesenquimais em queimaduras de terceiro grau: Estudo "in vitro" e "in vivo". São Carlos, 2016.

ARANY, P. R. et al. Photoactivation of endogenous latent transforming growth factor- $\beta$ 1 directs dental stem cell differentiation for regeneration. **Sci Transl Med.**, v. 6, n. 238, p. 238ra69, 2014. DOI: 10.1126/Scitranslmed.3008234.

BAYAT, M. et al. Effects of low-level laser therapy on mast cell number and degranulation in third-degree burns of rats. **J Rehabil Res Dev**, v. 45, p. 931–938, 2008. DOI: 10.1682/Jrrd.2007.07.0110.

BEM, D. Análise histológica em tecido epitelial sadio de ratos Wistar (in vivo) irradiados com diferentes intensidades do ultrassom. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 14, p. 10-15, 2010. DOI: 10.1590/S1413-35552010005000010.

BOLGIANI, A. N.; SERRA, M. C. V. F. Atualização no tratamento local das queimaduras. **Rev Bras Queimaduras**, v. 9, n. 2, p. 38-44, 2010.

BRASSOLATTI, P. et al. Comparative effects of two different doses of low-level laser therapy on wound healing third-degree burns in rats. **Microsc Res Tech.**, v. 79, n. 4, p. 313-320, abr. 2016. DOI: 10.1002/Jemt.22632.

BRASSOLATTI, P. et al. Comparative effects of two different doses of low-level laser therapy on wound healing third-degree burns in rats. **Microsc Res Tech.**, v. 79, n. 4, p. 313-320, abr. 2016. DOI: 10.1002/Jemt.22632.

BRASSOLATTI, P. et al. Evaluation of the low-level laser therapy application parameters for skin burn treatment in experimental model: A systematic review. **Lasers Med Sci.**, v. 33, n. 5, p. 1159-1169, jul. 2018. DOI: 10.1007/S10103-018-2526-5.

BURGESS, M. et al. The immune and regenerative response to burn injury. **Cells**, v. 11, n. 19, p. 3073, 2022. DOI: 10.3390/Cells11193073. PMid: 36231034; PMcid: PMC9563909.

COOK, K. A. et al. Hydrogels for the management of second-degree burns: Currently available options and future promise. **Burns Trauma**, v. 10, p. Tkac047, 2022. DOI: 10.1093/Burnst/Tkac047. PMid: 36518878; PMcid: PMC9733594.

CORAZZA, A. V. et al. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. **Photomed Laser Surg.**, v. 25, n. 2, p. 102-106, abr. 2007.

DALLA-CORTE, L. M. et al. Perfil epidemiológico de vítimas de queimaduras internadas em uma unidade no Distrito Federal do Brasil. **Rev Bras Queimaduras**, v. 18, n. 1, p. 10-15, 2019.

DEANA, N. F. et al. Photobiomodulation therapy in burn wound healing: Systematic review and meta-analysis of preclinical studies. **Photobiomodul Photomed Laser Surg.**, v. 39, n. 7, p. 439-452, jul. 2021. DOI: 10.1089/Photob.2020.4972. PMid: 34264767.

DYRING-ANDERSEN, B. et al. Spatially and cell-type resolved quantitative proteomic atlas of healthy human skin. **Nat Commun.**, v. 11, n. 1, p. 5587, nov. 2020. DOI: 10.1038/S41467-020-19383-8. PMid: 33154365; PMcid: PMC7645789.

EVERS, L. H.; BHAVSAR, D.; MAILÄNDER, P. The biology of burn injury. **Experimental Dermatology**, v. 19, p. 777-783, 2010.

FIÓRIO, F. B.; ALBERTINI, R.; LEAL-JUNIOR, E. C. P.; DE CARVALHO, P. D. T. C. Effect of low-level laser therapy on types I and III collagen and inflammatory cells in rats with induced third-degree burns. **Lasers in Medical Science**, v. 29, n. 1, p. 313-319, 2013. DOI: 10.1007/s10103-013-1341-2.

GAUGLITZ, Gg; KORTING, Hc; PAVICIC, T. et al. Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies. **Molecular Medicine**, v. 17, p. 113–125, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2119/molmed.2009.00153>.

GLASS, G. E. Photobiomodulation: The clinical applications of low-level light therapy. **Aesthetic Surgery Journal**, v. 41, n. 6, p. 723–738, 2021. DOI: 10.1093/Asj/Sjab025.

GREENHALGH, D. G. et al. American Burn Association Consensus Conference on Burn Sepsis and Infection Group. **J Burn Care Res.**, v. 28, n. 6, p. 776-790, nov.-dez. 2007. DOI: 10.1097/Bcr.0b013e3181599bc9. PMid: 17925660.

GUPTA, A. et al. Superpulsed (Ga-As, 904 nm) low-level laser therapy (LLLT) attenuates inflammatory response and enhances healing of burn wounds. **Journal of Biophotonics**, v. 8, n. 6, p. 489-501, 2014. DOI: 10.1002/Jbio.201400058.

JESCHKE, M. G. et al. Burn injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, p. 11, 2020. DOI: 10.1038/S41572-020-0145-5.

KARU, T. I. et al. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome C oxidase under near IR radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 81, n. 2, p. 98-106, 2005. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2005.07.002.

- KARU, T. Mitochondrial mechanisms of photobiomodulation in context of new data about multiple roles of ATP. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, p. 159–160, 2010.
- KIERSZENBAUM, A. I.; LL. E. TRES. Capítulo 11: Sistema tegumentar. In: KIERSZENBAUM, A. I.; LL. E. TRES (Orgs.). *Histologia e Biologia Celular: Uma introdução à patologia*. 5. ed. Filadélfia: Elsevier, 2020. p. 389–416.
- LOPES, D. C. et al. Manual de queimaduras para estudantes. Brasília: Sociedade Brasileira de Queimaduras, 2021. 178 p. Disponível em: <https://www.fepecs.edu.br/wp-content/uploads/2021/11/manual-de-queimaduras-para-estudantes-2.pdf>.
- MARKIEWICZ-GOSPODAREK, A. et al. Burn wound healing: Clinical complications, medical care, treatment, and dressing types: The current state of knowledge for clinical practice. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 3, p. 1338, 2022. DOI: 10.3390/ijerph19031338.
- MEIRELLES, G. C. et al. A comparative study of the effects of laser photobiomodulation on the healing of third-degree burns: A histological study in rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 26, p. 159–166, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/pho.2007.2052>.
- MESTER, E.; MESTER, A. F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 5, n. 1, p. 31-39, 1985. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/lsm.1900050105>.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria N° 1.273, de 21 de novembro de 2000. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2000/prt1273\\_21\\_11\\_2000.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2000/prt1273_21_11_2000.html). Acesso em: 11 ago. 2023.
- MOSCA, R. C. et al. Photobiomodulation Therapy for Wound Care: A Potent, Noninvasive, Photoceutical Approach. *Advances in Skin & Wound Care*, v. 32, n. 4, p. 157-167, abr. 2019. DOI: 10.1097/01.asw.0000553600.97572.d2.
- MOSCA, R. C. et al. Terapia de fotobiomodulação para tratamento de feridas: Uma abordagem fotocêutica potente e não invasiva. *Avanços em Cuidados com a Pele e Feridas*, v. 32, n. 4, p. 157-167, abr. 2019. DOI: 10.1097/01.asw.0000553600.97572.d2.
- OOSTERWIJK, A. M. et al. Prevalence of scar contractures after burn: A systematic review. **Burns**, v. 43, n. 1, p. 41-49, 2017. DOI: 10.1016/j.burns.2016.08.002.
- ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Burn wound healing: present concepts, treatment strategies and future directions. **Journal of Wound Care**, v. 26, p. 5–19, 2017.
- PEREIRA, A. N. et al. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 31, n. 4, p. 263–267, 2002. DOI: 10.1002/lsm.10107.

- ROSSI, L. A. et al. Déficit de volume de líquidos: Perfil de características definidoras no paciente portador de queimadura. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 6, n. 3, p. 85–94, 1998. DOI: 10.1590/S0104-11691998000300011.
- SAFONOVA, L. et al. Silk fibroin/spidroin electrospun scaffolds for full-thickness skin wound healing in rats. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 10, p. 1704, 2021. DOI: 10.3390/pharmaceutics13101704.
- SCHMID, P. et al. Enhanced expression of transforming growth factor-beta type I and type II receptors in wound granulation tissue and hypertrophic scar. **American Journal of Pathology**, v. 152, n. 2, p. 485-493, fev. 1998. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65696-4.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Óbitos por queimaduras no Brasil: Análise inicial dos dados do Sistema de Informações sobre Mortalidade, 2015 a 2020. **Boletim Epidemiológico**, v. 53, dez. 2022.
- SHAH, N. R. et al. The burn wound. **Surgical Clinics of North America**, v. 103, n. 3, p. 453-462, jun. 2023. DOI: 10.1016/j.suc.2023.01.007.
- SHEIKHOLESLAM, M. et al. Biomaterials for skin substitutes. **Advanced Healthcare Materials**, v. 7, n. 5, p. 10.1002/adhm.201700897, mar. 2018. DOI: 10.1002/adhm.201700897.
- SOMMER, A. P. Mitochondrial cytochrome C oxidase is not the primary acceptor for near infrared light-it is mitochondrial bound water: The principles of low-level light therapy. **Annals of Translational Medicine**, v. 7, suppl. 1, p. S13, mar. 2019. DOI: 10.21037/atm.2019.01.43.
- TATMATSU-ROCHA, J. C. et al. Mitochondrial dynamics (fission and fusion) and collagen production in a rat model of diabetic wound healing treated by photobiomodulation: Comparison of 904 nm laser and 850 nm light-emitting diode (LED). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 187, p. 41-47, out. 2018.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Fact Sheet. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>. Acesso em: 02 dez. 2024.

## ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL



São Paulo, 23 de fevereiro de 2024

À

Dra. Ana Laura Martins de Andrade

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do hidrogel esponjoso de gellan gum associado ou não a fotobiomodulação em queimadura de espessura total", protocolo CEUA nº 5931/2024, sob a responsabilidade da pesquisadora *Ana Laura Martins de Andrade* - que envolve a produção, manutenção, e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein (CEUA/Einstein) em 23/02/2024.

**Vigência da Autorização: Fevereiro/2024 a Abril/2025**

**Tipo e Características do animal a ser utilizado**

Espécie	Linhagem	Sexo	Idade/Peso	Total	Procedência
Rato	Wister	Macho	02 meses/ 250-300 gramas	72	Faculdade de Medicina da USP

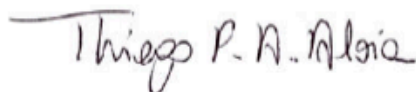
Aproveitamos a oportunidade para informar que:

- O projeto/treinamento de pesquisa deve ser desenvolvido conforme delineado no processo aprovado;



- A CEUA/Einstein deve ser informada de todos os fatos relevantes que alterem o curso normal do projeto/treinamento. É papel do pesquisador responsável assegurar medidas imediatas adequadas frente a eventos não previstos;
- Eventuais modificações ou emendas ao processo devem ser apresentadas à CEUA/Einstein de forma clara e sucinta, identificando a parte a ser modificada e suas justificativas;
- No caso de treinamento, esta aprovação tem validade de 12 meses a partir da data de aprovação pela CEUA/Einstein e para cada evento realizado nesse período, o pesquisador responsável deverá apresentar um relatório das atividades realizadas;
- No caso de projeto de pesquisa, esta aprovação tem validade de acordo com o cronograma proposto no protocolo. Os relatórios deverão ser enviados a cada 6 (seis meses), a partir da data de aprovação da CEUA/Einstein.

Atenciosamente,



---

**Dr. Thiago Pinheiro Arrais Aloia**  
Coordenador da Comissão de Ética  
no Uso de Animais – CEUA/Einstein