



UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS ITAQUERA

NALDIANA CERQUEIRA SILVA

**EFEITOS DO BIOPOLÍMERO DE FIBRINA HETERÓLOGO E
FOTOBIMODULAÇÃO NO REPARO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM
RATOS**

**EFFECTS OF THE HETEROLOGIST FIBRINE BIOPOLYMER AND
PHOTOBIMODULATION ON THE REPAIR OF SKIN WOUNDS IN
RATS**

São Paulo

2021

NALDIANA CERQUEIRA SILVA

**EFEITOS DO BIOPOLÍMERO DE FIBRINA HETERÓLOGO E
FOTOBIMODULAÇÃO NO REPARO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM
RATOS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Profa. Dra. Carla Roberta Tim
Orientador(a)

Prof. Dr. Antônio Luiz Martins Maia Filho
Coorientador

São Paulo
2021

S581e SILVA, Naldiana Cerqueira.

Efeitos do Biopolímero de fibrina heterólogo e fotobiomodulação no reparo de feridas cutâneas em ratos / Naldiana Cerqueira Silva. -- São Paulo: Universidade Brasil, 2021.
70 f.: il.

Tese de Doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Profa. Dra. Carla Roberta Tim.

Coorientação: Prof. Dr. Antônio Luiz Martins Maia Filho.

1. Reparo cutâneo. 2. Feridas. 3. Biopolímero de fibrina heterólogo. 4. Fotobiomodulação. 5. LED. I. Tim, Carla Roberta. II. Maia Filho, Antônio Luiz Martins. III. Título.

CDD 620.82



UNIVERSIDADE
BRASIL

TERMO DE APROVAÇÃO

NALDIANA CERQUEIRA SILVA

“EFEITOS DO BIOPOLÍMERO DE FIBRINA HETERÓLOGO E FOTOBIMODULAÇÃO NO REPARO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS”.

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof(a). Dr(a) Carla Roberta Tim (presidente-orientadora)

Prof(a). Dr(a) Livia Assis Garcia (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Nivaldo Antonio Parizotto (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Luiz Henrique Gomes Santos (CENTRO UNIVERSITÁRIO DA FUNDAÇÃO EDUCACIONAL GUAXUPÉ)

Prof(a). Dr(a) José Carlos Tatmatsu Rocha (UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ)

São Paulo, 06 de outubro de 2021.
Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a) Carla Roberta Tim

Houve alteração do Título: sim () não (X):



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.

Título do Trabalho: "EFEITOS DO BIOPOLÍMERO DE FIBRINA HETERÓLOGO E FOTOBIMODULAÇÃO NO REPARO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS"

Autor(es):

Discente: **Naldiana Cerqueira Silva**

Assinatura: *Naldiana Cerqueira Silva*

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Carla Roberta Tim**

Assinatura: *Carla Roberta Tim*

Coorientador(a): **Prof.(a) Dr.(a)**

Assinatura: _____

Houve alteração do Título: sim () não (X):

Data: 06/10/2021

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese à Deus e Nossa Senhora meu alicerce maior!

Dedico ao meu amor de uma vida, aos meus filhos, ao meu pai, minha mãe (que sempre se fez presente!) Aos meus irmãos pelo apoio incondicional e constante incentivo.

Dedico também à minha orientadora Profa. Dra. Carla Roberta Tim pela confiança, paciência, incentivo e excelente orientação. Ao meu Coorientador Antônio Luiz Martins Maia Filho. Sem o apoio de ambos, este trabalho não teria sido realizado. A eles, meu muito, muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

O principal agradecimento vai à Deus, a Nossa Senhora e a espiritualidade que me conduziram nos momentos que quis fraquejar, segurando na minha mão e me erguendo dia após dia!

Agradeço aos meus pais, pela minha vida e pela paz nos momentos em que me encontrei incapaz de prosseguir. Mãe sinto sua presença todos os dias!

Ao meu amor de uma vida, meus filhos e irmãos que sempre me incentivaram e torceram pela minha vitória, e que sem eles tudo isso não faria nenhum sentido.

Filha obrigada pela imensa ajuda!

A minha orientadora, por seu apoio, dedicação e competência na orientação, que foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Ao meu Coorientador, Prof. Dr. Antônio Luiz Martins Maia Filho, que foi meu incentivo, antes mesmo de participar da seleção. Lembro dele dizendo: “vai lá, faz esse doutorado que eu te ajudo!”

Ao Professor Figueiredo pelo brilhante trabalho nas análises histológicas.

Aos funcionários e estagiários do Núcleo de inovação tecnológica da UESPI, que me acolheram e ajudaram na condução da pesquisa.

Aos Professores Rui Seabra Ferreira Jr e Benedito Barravieira, pela confiança em ceder o biopolímero para a realização da pesquisa.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, que me ajudaram de alguma forma no desenvolvimento desta tese.

À Universidade Brasil e CAPES, pela bolsa de estudos de doutorado.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica e demais profissionais da Universidade Brasil, que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Aos Gestores da Unifacid e Universidade Estadual do Piauí, que possibilitaram cursar o Doutorado.

Aos familiares e amigos, que sempre me apoiaram e incentivaram nessa jornada.

Essa vitória pertence a todos vocês!

“SE VI MAIS LONGE FOI POR ESTAR DE PÉ SOBRE OMBROS DE GIGANTES”

(Isaac Newton, 1675)

RESUMO

Feridas cutâneas no Brasil e no mundo são um problema de saúde pública, impactam de forma negativa na vida de milhares de pessoas, elevam os custos e dificultam a manutenção da sustentabilidade dos sistemas de saúde. O presente trabalho avaliou o efeito da terapia por fotobiomodulação a LED, associado ou não ao uso do biopolímero de fibrina heterólogo, no reparo de feridas cutâneas em ratos. Para isso, foram utilizados ratos *Wistar* machos divididos aleatoriamente em 4 grupos de 21 animais: grupo controle (GC), no qual a ferida foi tratada com soro fisiológico 0.9 %; grupo LED (LED), no qual a ferida foi irradiada com LED (660 nm, 166 mW, 60 s, 9,96 J); grupo biopolímero de fibrina heterólogo (BFH), em que a ferida foi tratada com BFH; grupo LED + biopolímero de fibrina heterólogo (LED + BFH), em que a ferida foi irradiada com LED e aplicado o BFH. Foram induzidas duas feridas com espessura total da pele no dorso de cada animal, sendo uma longitudinal de 3 cm de comprimento e uma ferida circular de 2 cm de diâmetro. As aplicações de LED e BFH foram realizadas imediatamente após a lesão e seguiram a cada 72 horas; nos grupos de 7 dias foram realizadas 2 aplicações; nos grupos de 14 dias foram realizadas 4 aplicações; e nos grupos de 21 dias, 6 aplicações. Os animais foram eutanasiados em três diferentes períodos: 7, 14 e 21 dias pós-operatório. Foram realizadas análise macroscópica, morfométrica do índice de reparo de feridas, histológica descritiva e histomorfométrica, quantificação do colágeno e análise da força de tração. Nos achados macroscópicos, foi possível observar a ausência de necrose, odor, presença de fibrose ou líquido na cavidade da lesão em todos os grupos experimentais. No grupo controle, houve discreta inflamação local, evidenciada entre o 5º e 6º dia após a realização da lesão, não manifestada nos demais grupos. A análise do índice de reparo de ferida demonstra que os grupos tratados apresentaram maior redução da ferida, nos três períodos avaliados. A análise histopatológica revelou que os tratamentos apresentaram melhor processo reparo quando comparado ao grupo controle. Entretanto, quando comparados os tratamentos, apenas foi observado que, no grupo BFH, a derme exibiu matriz extracelular mais densa após 21 dias. Da mesma forma, a avaliação de colágeno demonstrou que todos os tratamentos induziram maior deposição e maturação de colágeno quando comparado ao grupo controle. No entanto, com 14 e 21 dias, o grupo BFH apresentou maior deposição de colágeno tipo I e maturação do colágeno. Ao analisar a força de tração com 7 dias de experimento os grupos tratados apresentaram melhor desempenho, enquanto com 14 e 21 dias o grupo que utilizou BFH obteve maior resistência na região da sutura. Os resultados indicam que os tratamentos utilizando BFH e LED, quer seja isolado, quer seja associados, estimularam o processo de reparo de feridas em ratos.

Palavras-chave: Reparo cutâneo. Feridas. Biopolímero de fibrina heterólogo. Fotobiomodulação. LED.

ABSTRACT

Abstract Cutaneous wounds are a public health problem in Brazil and worldwide with a negative impact on the lives of thousands of people, that raise treatment costs and make it difficult to maintain the sustainability of health systems. The aim of the present study was to evaluate the effect of LED-mediated-photobiomodulation therapy associated or not with the use of heterologous fibrin biopolymer (HFB) on the repair of cutaneous wounds in rats. Male Wistar rats were randomly divided into 4 groups of 21 animals as follows: control group (CG) whose wounds were treated with 0.9% saline solution; LED group (LED) whose wounds were irradiated with LED (660 nm, 166 mW, 60 s, 9.96 J); heterologous fibrin biopolymer group (HFB) whose wounds were treated exclusively with HFB; group LED + heterologous fibrin biopolymer (LED + HFB) whose wounds were irradiated with LED and HFB was applied. Two full-thickness cutaneous wounds were created on the back of each animal: a longitudinal wound measuring 3 cm and a circular wound with the diameter of 2 cm. The applications of LED and HFB were performed immediately after injury and followed an interval period of 72 hours between the posterior applications as described: with 2 applications for the 7-day groups, 4 applications for the 14-day groups and 6 applications for the 21-day groups. Animal euthanasia occurred in three different time periods: 7, 14 and 21 days after surgery. Macroscopic analysis, morphometric analysis of the wound repair index, descriptive histological and histomorphometric analysis, collagen quantification and tensile strength analysis. In the macroscopic findings, it was possible to observe the absence of necrosis, odor, presence of fibrosis or fluid in the lesion cavity in all experimental groups. Particularly In the control group, there was mild local inflammation evidenced between the fifth and sixth day after injury, that did not manifest in the other groups. The analysis of the wound repair index demonstrated that the treated groups presented greater wound reduction in the three periods of evaluation. Histopathological analysis revealed that the treatments presented a better repair process in comparison to the control group. Comparing the applied treatments, it was observed that only in the HFB group the dermis exhibited a denser extracellular matrix after 21 days. The collagen evaluation demonstrated that all treatments induced greater collagen deposition and maturation when compared to the control group. However, at 14 and 21 days the HFB group presents greater deposition of collagen type I and collagen maturation. The analysis of the traction force at 7 days of experiment showed better performance of the treated groups, while at 14 and 21 days the group that used HFB had greater resistance in the suture region. The results indicate that treatments using HFB and LED, either isolated or associated, stimulated the wound repair process in rats.

Keywords: Cutaneous repair. Wounds. Heterologous fibrin biopolymer. Photobiomodulation. LED.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

A pesquisa em questão teve como objetivo geral avaliar o efeito do biopolímero de fibrina heterólogo e terapia de fotobiomodulação no reparo de feridas cutâneas em ratos. Os resultados relacionados aos tratamentos empregados, ou seja, LED, BFH ou LED associado ao BFH, desempenham papel eficaz na cicatrização. Nos testes realizados, pôde-se observar que os tratamentos atuam de forma satisfatória favorecendo a melhora em algum aspecto no processo de reparo tecidual. Os achados sugerem ainda que os tratamentos com biopolímero e fotobiomodulação, isolados ou associados, foram eficazes em reduzir o volume do edema e estimular o processo de reparo.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Representação da indução das feridas no dorso do animal	36
FIGURA 2	Esquema representativo da aplicação da terapia de fotobiomodulação a LED	38
FIGURA 3	Análise macroscópica da ferida nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 0, 7,14, e 21 de experimento	43
FIGURA 4	Índice de reparo de feridas nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento	44
FIGURA 5	Fotomicrografias representativas da análise histológica nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento	46
FIGURA 6	Classificação histopatológica nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento	47
FIGURA 7	Análise histopatológica para avaliação de Infiltrado Inflamatório nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento .	47
FIGURA 8	Quantificação de colágeno e índice de maturação nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento	50
FIGURA 9	Teste de resistência e força de tração nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Parâmetros do LED Tendlite® medicinal, modelo 204.....	37
TABELA 2	Escala para análise semi-quantitativa da avaliação histopatológica	41

LISTA DE SIGLAS

LED	<i>Light Emitting Diode</i> ; Diodo Emissor de Luz
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
ATP	Adenosina trifosfato
UnB	Universidade de Brasília
CEVAP	Centro de Estudo de Venenos e Animais Peçonhentos
CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
CEUA	Comitê de Ética para o uso de Animais
UESPI	Universidade Estadual do Piauí
GC	Grupo controle
BFH	Biopolímero de fibrina heterólogo
FMT	Força máxima de tração
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TGF- β	Fator de crescimento de transformação Beta
PDGF	Fator de crescimento derivado de fibroblastos
EGF	Fator de crescimento epidérmico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	REFERENCIAL DA LITERATURA	19
3.1	PELE	19
3.2	PROCESSO DE REPARO TECIDUAL	21
3.3	MODELOS EXPERIMENTAIS	24
3.4	TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO	25
3.5	BIOPOLÍMERO DE FIBRINA HETERÓLOGO	29
3.5.1	Preparação do biopolímero de fibrina heterólogo	31
3.5.2	Aplicações clínicas do biopolímero de fibrina heterólogo	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	ASPECTOS ETICOS	35
4.2	ANIMAIS	35
4.3	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	36
4.4	DESENHO EXPERIMENTAL	37
4.5	TRATAMENTO	37
4.6	EUTANÁSIA	38
4.7	ANÁLISE MACROSCÓPICA	39
4.8	ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO ÍNDICE DE REPARO DA FERIDA	39
4.9	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	39
4.10	ANÁLISE HISTOLÓGICA DESCRITIVA	40
4.11	ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	40
4.12	GRAU DE INFLAMAÇÃO	41
4.13	ANÁLISE DO COLÁGENO	41
4.14	ANÁLISE DA FORÇA DE TRAÇÃO	42
4.15	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
5	RESULTADOS	43
5.1	ANÁLISE MACROSCÓPICA	43

5.2	ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO ÍNDICE DE REPARO DAS FERIDAS	45
5.3	ANÁLISE HISTOLÓGICA DESCRITIVA	45
5.4	ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	46
5.5	GRAU DE INFLAMAÇÃO	48
5.6	QUANTIFICAÇÃO DO COLÁGENO	48
5.7	ANÁLISE DA FORÇA DE TRAÇÃO	50
6	DISCUSSÃO	52
7	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	57
	ANEXOS	

1 INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo que cobre toda a superfície do corpo. Ele fornece uma proteção, ou seja, uma barreira física entre o corpo e o meio ambiente. Qualquer situação que interrompe a integridade da pele, seja por acidentes, traumas, doenças ou cirurgias é definida como ferida cutânea (NGUYEN, SOULIKA, 2019). Quando uma lesão cutânea ocorre, o corpo inicia uma série de eventos complexos que envolve fenômenos fisiológicos, bioquímicos, acontecimentos celulares e moleculares que interagem para a reconstituição tecidual, com o intuito de restabelecer sua integridade. No entanto, em algumas situações, no processo de cicatrização, esses acontecimentos falham, dando origem à ferida de difícil reparo, que pode demorar anos para finalizar o processo de reconstrução tecidual, que muitas vezes pode não acontecer. Quanto mais complexa for a ferida, maior possibilidade de se tornar uma ferida crônica (VOWDEN, 2011).

As feridas podem cicatrizar por primeira, segunda ou terceira intenção. A cicatrização por primeira intenção é o tipo de cicatrização que ocorre quando as bordas são unidas ou aproximadas, havendo perda mínima de tecido, ausência de infecção, ocasionando o mínimo edema. Nesse tipo de cicatrização a formação de tecido de granulação não é visível. Na cicatrização por segunda intenção ocorre perda excessiva de tecido com a presença ou não de infecção, fazendo com que a aproximação primária das bordas não seja possível. As feridas se fecharão por meio de contração e epitelização. A cicatrização por terceira intenção designa a aproximação das margens da pele e subcutâneo após o tratamento inicial. Isto ocorre principalmente quando há presença de infecção na ferida, que deve ser tratada para então ser suturada posteriormente (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

Apesar dos indivíduos acometidos com feridas receberem tratamento de rotina, as denominadas crônicas não conseguem finalizar o processo de reparação de maneira adequada. Assim, além de onerar o paciente, feridas de difícil reparo têm um grande impacto econômico, pois sabe-se que os custos de saúde com seu tratamento, no Brasil e no mundo, são elevados e vêm aumentando rapidamente. A busca constante por tratamentos alternativos, que possam restabelecer a integridade da pele dos pacientes e ainda diminuir os custos, vislumbra uma alternativa nesse processo oneroso (SILVA et al., 2017).

Nesta perspectiva, diversas estratégias têm sido estudadas, com a finalidade de acelerar o reparo cutâneo. Entre eles, tem se destacado o uso do biopolímero de fibrina heterólogo (BFH), um agente hemostático que tem a capacidade de promover o reparo tecidual. BFH é constituído pela junção de fibrinogênio e fator XIII à trombina, simultaneamente. A união desses fatores leva à formação de um coágulo de fibrina estável, polimerizado pela ação do fator XIII (FERREIRA et al., 2017).

Sabe-se que a fibrina tem uma importante função no processo de reparo tecidual, pois, após a ocorrência do ferimento, inicia-se o extravasamento sanguíneo que preenche a área lesada com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas. A agregação plaquetária e a coagulação sanguínea geram um tampão, rico em fibrina, que além de restabelecer a hemostasia e formar uma barreira contra a invasão de microrganismos, organiza matriz provisória necessária para a migração celular. Essa matriz servirá também, como reservatório de citocinas e fatores de crescimento que serão liberados durante as fases seguintes do processo de reparo (REINKE; SORG, 2012).

Outro recurso que pode ser um aliado ao processo de reparo tecidual é o uso da terapia por fotobiomodulação, por meio da utilização do diodo emissor de luz, também conhecido pela sigla LED do em inglês *Light Emitting Diode*. O LED vem sendo estudado há décadas, e a evidência dos tratamentos de feridas se baseia na estimulação da diferenciação celular, proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno do tecido tissular. Outra vantagem para utilização é que os LEDs geralmente são baratos, fáceis de manusear e podem ser utilizados em conjunto, formando uma ponta aplicadora, os clusters, que abrange maior área de tratamento (CHAVES et al., 2014).

Apesar de a literatura demonstrar alguns dados encorajadores sobre os efeitos potenciais do LED e do BFH no reparo tecidual, pesquisas focadas no desenvolvimento de estratégias para acelerar e melhorar o processo de reparo são cada vez mais necessárias e valorizadas. Assim, avanços tecnológicos na utilização de novos produtos e procedimentos na realização de curativos vêm mostrando benefícios à população portadora de feridas, melhorando a qualidade de vida das pessoas (PRAZERES, 2009).

O efeito do LED associado ao BFH tem sido pesquisado de forma tímida, embora a utilização de forma isolada tenha sido observado com mais frequência, tendo

na literatura inúmeros trabalhos com a utilização do LED em estudos sobre cicatrização. Pesquisas com o BFH tem se mostrado eficazes em diversos campos inclusive no processo de reparação tecidual. Diante do exposto, o presente estudo hipotetizou que o uso de biopolímero de fibrina heterólogo e a irradiação LED, associado ou não, atuam de forma positiva no processo de reparo cutâneo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da terapia por fotobiomodulação a LED, associado ou não ao uso do biopolímero de fibrina heterólogo, no reparo de feridas cutâneas em ratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a involução das feridas, por método macroscópico do índice de reparo de feridas.
- Descrever as características das feridas macroscopicamente quanto às seguintes ocorrências: necrose, inflamação local, odor, presença de fibrose ou líquido na cavidade.
- Avaliar, por método histológico, as principais características relacionadas ao processo de reparo (presença de crosta, reepitelização, angiogênese e deposição de colágeno; processo inflamatório).
- Analisar a deposição de colágeno nas feridas, por método microscópico (histomorfométrico).
- Testar a resistência da cicatriz.

3 REFERENCIAL DA LITERATURA

3.1 PELE

A pele reveste toda a superfície corporal e protege os órgãos e sistemas corporais internos de lesões, infecções, perda de calor e fluidos, além de conter terminações nervosas periféricas que permitem a interação do ser humano com o ambiente que o cerca. Ela desempenha papel essencial no controle de temperatura, dissipando e conduzindo calor; produz suor e proporciona isolamento térmico por meio dos adipócitos presentes nas camadas dérmica e hipodérmica (CHAYAMITI, 2013).

Com o aprofundamento de pesquisas, a pele humana passou a ser entendida como um órgão neuroendócrino, uma vez que as interações neuroquímicas para manutenção da integridade estrutural e funcional interagem e interferem na homeostase sistêmica (COGINOTTI; REIS, 2016). É considerada o maior órgão humano, constituindo 15 % do peso corporal. A área de superfície corporal varia com o peso e a altura e é, aproximadamente, 1,8 m² para um homem de 70 kg e 1,70 m de altura (GALVÃO et al., 2017). Segundo Junqueira e Carneiro (2004), morfológicamente, a pele é dividida em duas principais camadas, a epiderme e a derme. A epiderme compõe a camada superficial e é composta por cinco subcamadas, a citar: estrato córneo, estrato granuloso, estrato espinhoso, estrato lúcido e estrato basal.

Sabe-se que o estrato córneo é formado por células desvitalizadas, queratinizadas que se agrupam de maneira estratificada, uma sobre as outras e, sequencialmente, separam-se ocorrendo a descamação. Abaixo dessa subcamada, encontram-se o estrato granuloso, o estrato espinhoso e o estrato basal. Essa camada se constitui, basicamente, de queratinócitos, células cuja nutrição provém pela camada dérmica. Vale ressaltar que a epiderme é avascularizada (FIGUEIRA, 2017).

A principal função dos queratinócitos é produzir queratina (seu principal produto), uma proteína fibrosa que faz da epiderme uma camada protetora. Os queratinócitos são ligados uns aos outros por desmossomas, que se formam na camada mais profunda da epiderme a partir de células que se encontram sempre em divisão. Eles por sua vez são empurrados para a superfície da pele devido à produção de novas células por baixo formando queratina, que eventualmente pode dominar o

conteúdo celular. Os queratinócitos são as células epiteliais mais abundantes da epiderme, constituindo cerca de 90% destas (KIERSZENBAUM; TRES, 2012).

Na epiderme, encontram-se as células de *Langherans*, que apresentam antígenos, os quais migram para os linfonodos regionais quando ativadas por patógenos externos, caracterizando a sua importância imunológica. Os melanócitos localizam-se na porção inferior da epiderme e contêm melanina caracterizada por pigmento escuro cuja concentração é determinada pela genética, exposição solar, lesões, reparo e controle hormonal (TASSINARY, 2019).

A epiderme é formada por uma rede de sulcos, visíveis a olho nu, na sua porção superficial, os quais tendem a serem profundos nas regiões de articulações ou de maior enrugamento da pele, como na região da face. Essa camada ainda possui diferentes profundidades, sendo mais vultosa em áreas de fricção, como na palma das mãos e planta dos pés. A epiderme é separada da camada tegumentar subsequente, a derme, pela membrana basal, e aderida a ela por meio de junções do tipo hemidesmossomos (BEGUERIE et al., 2016).

A derme superficial é composta por uma série de papilas, nas quais a epiderme é moldada, denominada derme papilar. A derme reticular, mais profunda, constitui-se de tecido conjuntivo denso e contém vasos linfáticos, nervos e uma quantidade abundante de tecido elástico. Na sua porção mais profunda, fibras colágenas e elásticas se emaranham. Entre as fibras dessa camada, encontram-se glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículos capilares e adipócitos. A subcamada reticular une-se com a camada celular subcutânea, sendo esta a mais profunda e menos aderente porção da pele humana (FIGUEIRA, 2017).

Situada abaixo da derme, há o tecido subcutâneo, de espessura variável, composta por tecido adiposo, formando lóbulos subdivididos por traves conectivo-vasculares. Relaciona-se, em sua porção superior, com a derme profunda, constituindo a junção dermo-tecido subcutâneo, em geral, sede das porções secretoras das glândulas apócrinas ou écrinas e de pelos, vasos e nervos. Funcionalmente, o tecido subcutâneo, além de depósito de nutrientes e reserva, participa no isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo às pressões e aos traumatismos externos facilitando a motilidade da pele em relação às estruturas subjacentes (RIVITTI, 2018).

A integridade da pele depende de estreitas adesões celulares na epiderme que

formam uma barreira impermeável. Também depende da intercessão das fibras de colágeno e fibras elásticas na derme. A descontinuação dessas camadas constitui situação patológica e aciona uma série de respostas inflamatórias e imunológicas que visam ao reparo da lesão e à restituição da função do órgão (SILVA; PINTO; BACELAR, 2018).

3.2 PROCESSO DE REPARO TECIDUAL

O reparo dos tecidos se refere à restauração da sua arquitetura e função após a lesão e é um processo orgânico complexo, cujas etapas são divididas didaticamente em três fases: inflamatória, fibroplasia e maturação (INGRACIO et al., 2011).

A fase inflamatória inicia-se imediatamente após a lesão. Nessa etapa, o colágeno exposto ativa a cascata da coagulação e o sistema complemento, proporcionando aderência plaquetária, de granulação e liberação de diversas substâncias vasoativas e quimiotáticas, entre elas, os fatores de crescimento celular (MELO, 2018).

No tecido lesado, as plaquetas estimulam a cascata da coagulação, que tem papel fundamental no reparo e que, buscando a hemostasia, é iniciada, e grânulos são liberados das plaquetas, as quais contêm fator de crescimento de transformação beta (TGF- β) e fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), prostaglandinas e tromboxanas, que atraem neutrófilos à ferida. O coágulo é formado por colágeno, plaquetas e trombina, que servem de reservatório proteico para síntese de citocinas e fatores de crescimento, aumentando seus efeitos de coagulação (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

O aumento da permeabilidade capilar leva ao extravasamento de líquido para o espaço extracelular e causa o edema proporcionando uma resposta inflamatória. Nessa etapa, mediadores químicos como prostaglandina, histamina, serotonina, leucotaxina e bradicina favorecem a exsudação plasmática de modo que os leucócitos e fibroblastos cheguem até a ferida. A prostaglandina é um dos mediadores mais importantes, pois, além de promover a vasodilatação, também induz a mitose e a quimiotaxia de leucócitos (MEDEIROS, 2016).

A ativação da cascata da coagulação leva à hemostasia da lesão. A

protrombina se converte em trombina, que, por sua vez, converte o fibrinogênio em fibrina. A fibrina é o produto final da cascata da coagulação e é derivado do fibrinogênio ou fator I. A rede de fibrina é a base para a migração dos macrófagos e fibroblastos, que se polimerizam pelas vias intrínseca ou extrínseca da coagulação. Sem a fibrina, o reparo é inibido e não consegue chegar à sua fase final (BRAYNER; SILVA; ALMEIDA, 2018).

Os Neutrófilos são as primeiras células a chegar à lesão, com maior concentração nas primeiras 24 horas. São atraídos por substâncias quimiotáticas liberadas por plaquetas. Os neutrófilos aderem à parede do endotélio mediante ligação com as selectinas, que são receptores de membrana. Neutrófilos produzem radicais livres que auxiliam na destruição bacteriana nesse primeiro momento sendo gradativamente substituídos por macrófagos (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

Por volta de 24 a 36 horas, os monócitos, que são os regentes do reparo e agem como células fagocitárias, realizando a limpeza local, migram dos vasos e transformam-se em macrófagos. São eles que coordenam a migração e a ação dos fibroblastos, como a angiogênese, a partir dos fatores de crescimento, iniciando a nova vascularização. Aproximadamente no terceiro ou quarto dia após o trauma, começa a fase de fibroplasia, também conhecida como proliferativa, ou de regeneração, cuja duração é de aproximadamente 14 dias (BORGES et al., 2016).

A neoangiogênese se caracteriza pelo processo de formação de novos vasos sanguíneos para manter o ambiente de reparo da ferida. Os novos vasos formam-se a partir de brotos endoteliais, que migram da periferia para o seu centro, sob a malha de fibrina depositada no leito da ferida. A neoangiogênese é responsável pela nutrição do tecido e aumento do aporte de células como leucócitos e fibroblastos para o local da ferida (PAZZINI, 2014).

Os fibroblastos surgem, atraídos por quimiotaxia, por meio de mediadores inflamatórios liberados por plaquetas, leucócitos e macrófagos, esse último responsável pelo recrutamento e ativação células necessárias para as etapas subsequentes no reparo de feridas. Assim se iniciam a síntese e a secreção de componentes da matriz extracelular e de fatores de crescimento que continuam a estimular o reparo (EBSERH, 2018).

Vale ressaltar que os fatores de crescimento são mediadores biológicos, que

apresentam efeitos locais e sistêmicos, que potencializam a quimiotaxia, proliferação, diferenciação e secreção celular; sendo capazes de estimular a angiogênese e promover crescimento vascular. Assim, ativam a proliferação de fibroblastos com consequente aumento da síntese de colágeno. São esses fatores de crescimento (deposição de matriz, quimiotaxia, proliferação celular, angiogênese e remodelamento) que, quando liberados pelas plaquetas, promovem o reparo dos tecidos lesados (OLIVEIRA JUNIOR, PORTELLA JUNIOR; COHEN, 2016).

Sabe-se ainda que a fase de maturação envolve a contração da ferida e a remodelação da cicatriz. A contração se estabelece no sentido da periferia em direção ao centro de toda a espessura da pele circundante, e a remodelação tem início durante a terceira semana e caracteriza-se por aumento da resistência. Nessa fase, há um equilíbrio de produção e destruição das fibras de colágeno favorecendo o fechamento da ferida (TAZIMA; VICENTE; MORIYA, 2008).

Característica importante do final dessa fase é a de recrutamento celular pelos miofibroblastos, responsáveis pela diminuição do tamanho da lesão e redução do tempo de epitelização promovendo a contração muscular por meio da ação da actinmiosina. Os miofibroblastos exibem características de células musculares lisas e são responsáveis pela aproximação das bordas da ferida por meio do avanço do tecido sadio, de maneira centrípeta à lesão (RIVITTI, 2018).

Nessa etapa de remodelação, ocorrem eventos bem distintos: a deposição, agrupamento e remodelação do colágeno e a regressão endotelial (OLIVEIRA JUNIOR; PORTELLA JUNIOR; COHEN, 2016). A síntese de colágeno inicia-se no terceiro dia, atingindo seu pico no tempo de três a seis semanas para só então entrar na fase de remodelação. Nesta fase, o colágeno tipo III é o primeiro a ser sintetizado e, à medida que ocorre maturação do tecido, este é gradativamente substituído pelo colágeno tipo I (COSTA; ALVES; SOUZA, 2018).

Essa fase de substituição do colágeno tipo III imaturo pelo colágeno tipo I maduro inicia-se em torno do oitavo dia e prolonga-se até o sexto mês ou mais. É nessa fase que a força tênsil da cicatriz aumenta até atingir seu pico de maturação, por volta de um ano de evolução. O colágeno é o principal componente estrutural da cicatriz e, apesar de ter a função de proporcionar tensão e integridade a todos os tecidos, a tensão de uma cicatriz jamais ultrapassará 80 a 85% da resistência do tecido não lesado (SILVA SANTOS; BARRETO; KAMADA, 2018).

A regressão endotelial, outra peculiaridade dessa etapa, acontece à medida que o metabolismo diminui e atenua o eritema da ferida. Dessa forma, a degradação e a remodelação do colágeno proporcionam a mudança de aparência, textura e elasticidade da cicatriz (PAVANI; FERNANDES, 2018). Por outro lado, quando não ocorre o processo de reaproximação por falha em algum dos mecanismos que a envolvem, pode-se ter uma ferida considerada crônica. Consideram-se feridas crônicas aquelas que não reparam no limite de três meses e que podem nunca cicatrizar ou demorar anos para fazê-lo (GASPAR et al., 2010).

Vieira e Araújo (2018) definem quatro fatores que podem induzir à cronicidade de uma ferida: corpos estranhos, isquemia, trauma físico repetido e/ou bioatividade elevada. Assim, as feridas sujeitas a fatores que podem induzir à cronicidade ficam estagnadas numa fase de reparo. Portanto, em uma fase inflamatória prolongada, existe um estímulo inflamatório constante, tornando-se prejudicial às feridas crônicas. Dessa forma as proteinases captam os fatores de crescimento, tornando-os indisponíveis para o processo de reparo. Assim, a bioatividade do exsudado das feridas crônicas é bioquimicamente diferente do das feridas agudas, inibindo a proliferação das células endoteliais, essenciais para a fase de angiogênese e fibroblastia, com impacto na formação de colágeno essencial para a proliferação de queratinócitos, responsáveis pela epitelização. Vale ressaltar que a fibroblastia se dá com a ativação dos fibroblastos, produção de colágeno e substituição por tecido conjuntivo, sendo um processo essencial para a recuperação tecidual (SALES et al., 2017).

3.3 MODELOS EXPERIMENTAIS

São vários os animais utilizados para o estudo de reparo, porém, os mamíferos são os que mais se assemelham ao homem na deposição de colágeno nas feridas (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007). Cohen e Mast (1990) afirmam que os roedores, principalmente os ratos, são seguidamente escolhidos devido ao baixo custo, facilidade de transporte e obtenção e pelo pouco espaço que ocupam. Kashyap et al. (1995) consideraram o dorso dos roedores o melhor local para a confecção das lesões, pois evita-se, dessa forma, a lambedura da ferida por outros animais, assim como a irritação por contato e o autocanibalismo.

As feridas lineares suturadas já foram descritas como as mais usadas em estudos de reparo cutâneo. Dorsett-Martin (2004) refere igualdade entre feridas incisional e excisional. No entanto, segundo Cohen e Mast (1990), feridas abertas que reparam por segunda intenção promovem um tecido cicatricial que permite melhor quantificação.

Experimentos em animais demonstram que a ferida contrai aproximadamente 0,6 a 0,75 mm por dia, independentemente do seu tamanho, pela capacidade contrátil dos miofibroblastos (DORSETT-MARTIN, 2004). Pesquisas sobre o reparo de feridas em ratos observam que a reparação da pele se completa em 18 dias, porém, após o período de 10 a 12 dias, a área de uma lesão com cerca de 1 cm se aproxima a zero (CROSS et al., 1995).

Cross et al. (1995) abordaram a diversidade de trabalhos publicados sobre o tamanho mais apropriado das lesões cutâneas, assim como sua profundidade e formato. Os autores explicaram que os estresses físico e metabólico causados por uma ferida muito grande em relação à área de superfície corporal total do rato pode influenciar nos resultados de reparo de uma pesquisa. Para minimizar o estresse dos animais, melhores diâmetros devem variar entre 1,5 cm à 2,0 cm de área.

McFarlane et al. (1965) afirmam que os vasos sanguíneos responsáveis pela irrigação da pele dos ratos são subdérmicos, assim como da pele humana, além de apresentarem as mesmas alterações de macro e micro vascularização. Nos estudos experimentais sobre reparo cutâneo em ratos, as avaliações macroscópicas e microscópicas das feridas ocorrem, de um modo geral, no 3º, 7º, 14º e 21º dias de pós-operatório, englobando, dessa forma, todas as fases de reparo (CROSS et al., 1995).

3.4 TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO

Por volta dos anos 60 do século passado, foram realizadas as primeiras aplicações clínicas da fotobiomodulação com laser de baixa intensidade, e essa terapia tem sido amplamente utilizada demonstrando sucesso no reparo de lesões, por promover efeitos fotobiológicos que estimulam este processo (PARIZOTTO; BARANAUSKAS, 1998; BRASSOLATTI et al., 2016). O pioneiro na utilização foi um médico húngaro chamado Mester, que descobriu, por acaso, o potencial fotobiológico

do laser de rubi. A partir de então, a terapia com laser, vem sendo um dos recursos terapêuticos mais utilizados na prática clínica para modular a inflamação e estimular o reparo de diferentes tecidos (PAULA, 2016).

No entanto, os mecanismos de ação da fotobiomodulação ainda não são totalmente conhecidos. Sabe-se que seu mecanismo biológico básico é descrito por meio da absorção de luz vermelha pelos cromóforos mitocondriais, em particular o citocromo C oxidase, que atua como um fotorreceptor, contido na cadeia respiratória localizada no interior das mitocôndrias e por fotorreceptores na membrana plasmática das células.

A fotobiomodulação tem demonstrado efetividade nos casos de reparação tecidual, devido a características como estimulação à proliferação de fibroblastos (FORTUNA et al., 2017), modulação da inflamação tecidual (GUIRRO et al., 2010), celeridade na síntese de colágeno (MELO, 2018), tendo como produto a aceleração do processo de reparo de feridas cutâneas (SILVA et al., 2018). Assim, pode-se afirmar que há mecanismos celulares facilitados pela fotobiomodulação devido à ação nos cromóforos mitocondriais aumentando a produção de ATP, promovendo mudanças primárias, como alterações nas propriedades redox dos componentes da cadeia respiratória das células, entre outros, e mudanças secundárias como a transdução (KARU, 2010).

Resultados satisfatórios com o uso do laser na faixa espectral do vermelho ao infravermelho (600-1200nm) têm sido comprovados em estudos experimentais e clínicos, indicando que esta terapêutica pode ter eficiente ação moduladora de inflamação e analgésica, além de aumentar a produção de adenosina trifosfato (ATP), facilitando o crescimento celular e a neovascularização e, conseqüentemente, promovendo rapidez e qualidade no processo de reparo de lesões cutâneas (SANCHEZ; ANDRADE; PARIZOTO, 2018).

Outras fontes de luz com objetivos semelhantes ao laser foram descobertas e exploradas, como o LED, sigla do inglês *Light-emitting diode*. Ambas as fontes de luz (laser e LED) não são ionizantes e são monocromáticas diferindo apenas na coerência, pois LED emite luz não coerente.

O Laser, age quando os elétrons ficam mais energizados, após absorver energia de uma corrente elétrica. Uma vez que esses elétrons excitados voltam ao seu estado normal, eles liberam essa energia como partículas de luz chamadas

fótons, que existem no mesmo comprimento de onda e são impulsionados na mesma direção, dando-lhes a coerência que permite aos lasers exercerem efeitos significativos na matéria. Assim o Laser concentra toda a luz em uma "linha" de emissão no ângulo de 1° , contendo uma coloração pura e definida, sendo colimado, coerente e monocromático.

Na prática, os aparelhos de laser são indicados para tratamentos pontuais, localizados e exigem uma experiência maior para a operacionalização. Já a terapia com LED envolve a exposição de tecidos à luz vermelha e infravermelha. Quando o LED entra em contato com as células, ele age na mitocôndria para aumentar a produção de trifosfato de adenosina (ATP). Esse aumento na produção de ATP pode levar a uma produção mais rápida de colágeno, estruturas vasculares, DNA, RNA e outros materiais essenciais ao processo de cicatrização e alívio da dor. O LED dispersa luz em um ângulo de 20° , policromática, podendo apresentar todas as tonalidades de uma cor específica, ou seja, ele é não colimado e não é coerente. Assim os LEDs permitem aplicação em regiões maiores (LINS et al., 2010).

O LED tem sido apresentado como uma abordagem alternativa ao alto custo da laserterapia. Nos últimos anos, a *National Aeronautics and Space Administration* (NASA) tem colaborado com diversas pesquisas sobre o uso do LED no reparo de ferimentos, demonstrando resultados seguros e promissores para o tratamento de diversas alterações dermatofuncionais (WHELAN et al., 2003).

Outro ponto divergente entre o laser e o LED está na formação da luz. O laser está inserido dentro de uma cavidade óptica e é provido de uma lente colimadora, proporcionando feixes de luz coerentes e colimados e uma ação pontual. No LED não existe esta cavidade óptica, desprovido a luz de coerência e colimação, produzindo uma luz com feixes incoerentes, cujas ondas não são alinhadas entre si com ação difusa, mas que produzem a banda de espectro eletromagnético próxima do laser e, portanto, mantêm os efeitos fisiológicos pretendidos pela fotobiomodulação e sua eficácia (PINHEIRO; ALMEIDA; SOARES, 2017).

Estudos investigaram a importância da coerência da luz nos efeitos terapêuticos e observaram que a coerência que difere a luz laser do LED não é o parâmetro de maior relevância, já que o LED, uma luz não coerente, também tem demonstrado efeitos positivos no tratamento dos tecidos (ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015; HAMBLIN, 2016).

Assim como o laser, uma das principais utilizações do LED como tratamento terapêutico é seu auxílio no reparo. Aplicação de LEDs é indolor e não causa desconforto no paciente. É, portanto, um tratamento não traumático, com boa resposta, que atua realizando estimulação natural a nível celular (VINCK et al., 2005).

Pesquisas demonstram que o LED em baixa potência não induz dano tecidual e pode atuar como antimicrobiano e modulador da inflamação, dependendo do comprimento de onda. Pesquisas apontam que a utilização terapêutica do LED pode ajudar no processo de reparo de feridas, em que a luz proporciona a normalização dos processos bioquímicos e fisiológicos (SILVA et al., 2018; EDUARDO et al., 2015; BORDINI; OLIVEIRA; MOREIRA, 2019).

Estudo realizado por Silva et al. (2018), aplicando-se LED luz azul (430 nm) e vermelha (660 nm) em lesões por pressão, demonstrou diminuição no tamanho e profundidade e observou o surgimento de ilhas de epitelização. Assim, os autores afirmam que foram obtidos resultados satisfatórios em vários aspectos no que diz respeito à reparo de feridas. Estudo realizado na Paraíba com sete pacientes utilizando o LED no comprimento de 650 nm pôde constatar que ele foi eficaz no tratamento de feridas diabéticas, não apresentando reações adversas e incômodos durante o tratamento (MINATEL et al., 2014).

O desenvolvimento da terapia LED vem se tornando uma opção para a estomoterapia, um componente para a reabilitação de pacientes, mostrando-se eficaz e de baixo custo. Estudo realizado por Silva (2013) aponta que a terapia por fotobiomodulação é uma estratégia terapêutica para reparo de tecidos. Pode-se observar que pesquisas com a utilização do LED estão em crescimento e demonstram que, após a irradiação da luz, há uma maior organização das fibras de colágeno e melhora na qualidade da remodelação tecidual.

Trabalhando nessa perspectiva, a Universidade de Brasília (UnB) em parceria com o Ministério Público, desenvolveu o equipamento Rapha, um *cluster* de LED utilizado no tratamento de pé diabético associado ao uso curativo de látex. O projeto visa ao autocuidado e tratamento. Assim, o paciente recebe um kit Rapha, composto pelo equipamento Rapha, algumas unidades de biomembrana de látex para curativo e outros itens básicos, como soro fisiológico, álcool, gaze e luvas. De posse disso, o usuário deve fazer o autocuidado em casa diariamente (ROSA et al., 2019).

Rosa et al. (2019) publicaram resultados parciais de um ensaio clínico randomizado, controlado e cego com 15 pacientes. Os resultados mostraram que o equipamento Rapha promoveu maior taxa de reparo quando comparado ao grupo controle que recebeu protocolo padrão. Eles concluíram que o equipamento Rapha provou ser um sistema de tratamento eficaz, mesmo quando auto aplicado). Estes resultados demonstram que a associação da fotobiomodulação e biomateriais é uma área em crescimento e potencial recurso para o tratamento de lesões cutâneas (MOTTA et al., 2019).

3.5 BIOPOLÍMERO DE FIBRINA HETERÓLOGO

O biopolímero de fibrina heterólogo foi desenvolvido em 1990 por um grupo de pesquisadores do Centro de Estudo de Venenos e Animais Peçonhentos (CEVAP), no Estado de São Paulo, Brasil, para se tornar um adesivo à base de fibrina sem o uso de sangue humano, impedindo a transmissão de doenças infecciosas. Após o desenvolvimento de pesquisas com o biopolímero de fibrina, comprovou-se sua capacidade adesiva, ação coagulante, ação adjuvante no reparo ósseo, cartilaginoso como também a possibilidade de utilização como arcabouço para células-tronco mesenquimais (LIMA, 2019).

Existem biopolímeros de fibrina homólogo e heterólogo. O biopolímero homólogo é produzido com o plasma de doadores da mesma espécie, entretanto, nesse processo, existe a possibilidade de transmissão de doenças infecciosas. Assim, a *Food and Drug Administration (FDA)*, dos Estados Unidos da América, publicou uma portaria proibindo o uso de biopolímero de fibrina em território norte-americano, seguindo o mesmo posicionamento a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que também proibiu a fabricação e comercialização no Brasil (LIMA, 2019).

Visando a uma produção de um biopolímero de fibrina sem qualquer tipo de contaminação, a CEVAP produziu um biopolímero de fibrina formado a partir do veneno da serpente *Crotalus durissus terrificus*, acrescido a um crioprecipitado, rico em fibrinogênio removido de *bubalinos*, e a um diluente de cloreto de cálcio. O biopolímero de fibrina heterólogo produzido pelo CEVAP caracteriza-se como uma serinoprotease. Este biopolímero distingue-se por apresentar inúmeras aplicações

médicas tópicas sem a possibilidade de transmitir doenças infecciosas, sendo o único com esses princípios ativos (BARROS et al., 2009).

Sabe-se que o biopolímero de fibrina heterólogo produzido pela CEVAP é preparado a partir do concentrado de fibrinogênio, fator XIII e fibronectina com a adição da trombina e ácido tranexâmico ou aprotinina, que são misturados no momento da aplicação. O acréscimo de aprotinina ou ácido tranexâmico contribui para a formação do coágulo de fibrina. O fibrinogênio, sendo precursor da fibrina, representa o elemento básico do coágulo. A transformação do fibrinogênio em fibrina estável ocorre a partir da ação da trombina e do fator XIII. O biopolímero de fibrina heterólogo mimetiza as etapas finais da cascata da coagulação, de maneira autônoma em relação ao mecanismo de coagulação, sendo também efetiva nos pacientes portadores de coagulopatias ou naqueles que estão fazendo uso de anticoagulantes ou heparina (OLIVEIRA et al., 2020).

Os demais componentes deste bioproduto são: crotamina, crotapotina, fosfolipase A2, convulxina e giroxina. A giroxina pertence ao grupo das enzimas trombina símile e também a um grupo maior de enzimas serinoproteases, que se caracterizam por apresentar um sítio catalítico comum por meio de um mecanismo que envolve um aminoácido ativo serina altamente reativo e presente na posição 195. No seu sítio ativo, existe uma tríade catalítica semelhante àquele presente na tripsina, a qual é formada pelo agrupamento dos aminoácidos Ser 195, His 57 e Asp 102 (BARROS et al., 2009).

A estrutura globular monomérica apresenta duas estruturas alfa-hélice, contendo os resíduos 146-152 e 215-227; duas estruturas β -barris formada por seis folhas antiparalelas e loops; cinco pontes dissulfeto e a tríade catalítica. Esta molécula é uma proteína de cadeia única, com massa molecular estimada em 34 kDa. A sua estabilidade depende do pH, sendo máxima no pH 8,0. Possui atividade máxima em pH 4,0. Não é alterada por congelamento e descongelamento ou tratamento térmico a 40 °C durante 15 minutos. Devido a sua atividade enzimática semelhante à trombina, o fibrinogênio humano e animal clivando a próxima ao N-terminal atuando sobre cadeia alfa. Os monômeros de fibrina resultantes polimerizam-se em uma rede intensa e estável, que difere da produzida tradicionalmente pela trombina (JUNIOR; BARRAVIERA, 2015).

Lima (2019) afirma que, após anos de pesquisas, pôde-se constatar que o biopolímero de fibrina heterólogo atua na formação de cicatriz mostrando resultado satisfatório para a área de adesão, sem apresentar efeitos tóxicos locais ou sistêmicos. Outro ponto positivo que se pode salientar é que o biopolímero de fibrina heterólogo, obtido a partir do veneno de serpente, tem menor custo de produção e é de fácil aplicação tornando-se viável para utilização em modelos animais.

Pesquisadores afirmam que este biopolímero é um produto biológico biodegradável, incapaz de transmitir doenças infecciosas, pois não contém sangue humano, e que possui boa capacidade adesiva e potencial de aplicação, como uma opção adicional nos procedimentos de sutura convencional (BARROS et al., 2009).

Pesquisa realizada com o produto comprovou que o biopolímero de fibrina heterólogo produzido pela CEVAP obteve resultados satisfatórios no tratamento de úlceras venosas. Em estudo conduzido por Lima (2019), pôde-se constatar que o biopolímero de fibrina heterólogo também pode ser utilizado como arcabouço para células-tronco em diversas necessidades, inclusive no reparo ósseo.

3.5.1 Preparação do biopolímero de fibrina heterólogo

Desde 1989, pesquisadores do CEVAP realizam estudos de um novo biopolímero de fibrina heterólogo a partir de veneno de serpentes do gênero *Bothropos* e *Crotalus*. A pesquisa iniciou utilizando o fibrinogênio extraído de sangue humano. No entanto, a utilização de sangue humano traria o risco de transmissão de doenças infecciosas para os pacientes. A partir dessa premissa, buscaram-se alternativas viáveis e lançou-se mão do fibrina de búfalos. Atualmente o biopolímero de fibrina é feito com enzimas do veneno de cascavel e com fibrinogênio de sangue de búfalos (CEVAP, 2018).

O Biopolímero de fibrina heterólogo é produzido a partir de um crioprecipitado rico em fibrinogênio de origem animal símile, a enzima serinoprotease trombina (SPase), 3/9 extraída da peçonha da serpente *Crotalus durissus terrificus*. O crioprecipitado consiste na fração insolúvel, precipitada a frio, do plasma fresco congelado. Vale ressaltar que esse crioprecipitado é formado pelo fibrinogênio, fator VIII (F VIII), fator de von Willebrand (F vW), fator XIII (F XIII) e fibronectina (JUNIOR; BARRAVIERA, 2015).

Neste biopolímero, os componentes são providos separadamente, sendo a fração I composta da serino protease (giroxina) e associada ao diluente cloreto de cálcio no momento do uso, e a fração II um crioprecipitado rico em fibrinogênio. Então, as frações polimerizam-se *in situ* após mistura e são aplicadas sobre a ferida cutânea simultaneamente (FERREIRA et al., 2017).

Para a utilização, o conteúdo do diluente é injetado no frasco com a serinoprotease, agitado e reservado. Em seguida, com outra seringa e agulha, todo o conteúdo do crioprecipitado é aspirado e, concomitantemente, realiza-se a aplicação tópica com as duas seringas em paralelo e biseis dirigidos para o local de interesse. Segundos depois, observa-se a formação de um coágulo translúcido, que corresponde ao biopolímero de fibrina heterólogo (BUCHAIM et al., 2014).

Os componentes são armazenados individualmente, em frascos separados, e congelados a -20°C até o seu uso. Para a utilização, os frascos devem ser retirados do freezer e mantidos à temperatura ambiente (entre 15 e 25°C), durante 10 a 20 minutos para descongelamento. A serinoprotease extraída do veneno de serpente está presente em uma concentração que varia entre 4,3 e 5,3 mg/mL. O crioprecipitado é extraído do plasma de bubalinos. Este produto é composto por fibrinogênio em concentração entre 0,7 e 1,4 dg/mL; fator V em concentração entre 70 e 200 UI/dL; fator VIII em concentração entre 100 e 700 UI/dL e fator de von Willebrand em concentração entre 50 e 500 UI/dL. O diluente utilizado é o cloreto de cálcio em concentração entre 20 e 30 mM, preferencialmente a 25 mM (BARROS et al., 2009).

Para testar a qualidade no processo de produção, após extraído, o crioprecipitado é analisado por eletroforese bidimensional, ferramenta responsável por isolar e identificar proteínas por meio das suas massas moleculares e pontos isoelétricos em gel de poliacrilamida (BUENO; MUNOZ; TORRES SAEZ, 2011). O perfil proteico do crioprecipitado extraído de bubalinos apresenta as diferentes formas de fibrinogênio, proteína responsável pela formação do coágulo estável de fibrina (FERREIRA et al, 2017).

Cuidados devem ser tomados na aplicação do biopolímero de fibrina heterólogo, pois ele pode ser desnaturado após contato com soluções contendo álcool, iodo, solução antisséptica ou metais. Logo, estas devem ser removidas antes da aplicação do produto (BUCHAIM et al., 2019).

3.5.2 Aplicações clínicas do biopolímero de fibrina

Inúmeras são as pesquisas utilizando o biopolímero de fibrina heterólogo produzido pela CEVAP. Testes realizados mostram que a aplicação do selante derivado do veneno de serpentes resulta em um reparo perfeito, esteticamente melhor do que a sutura convencional (CORRÊA, 2005). Outro estudo utilizando o biopolímero de fibrina heterólogo mostrou resultados satisfatórios em cirurgias de enxerto de gengiva se comparado com enxertos suturados, indicando que o biopolímero pode representar uma alternativa eficaz e segura às suturas convencionais em procedimentos gengivais (BARBOSA et al., 2007). Vicente et al. (2007) utilizaram o BFH em nervo fibular seccionados e tratados imediatamente com o biopolímero de fibrina heterólogo. Como resultados os autores constataram que o biopolímero foi capaz de reparar as fibras nervosas e promover a regeneração de mielina.

Estudo realizado com fêmeas de ratos *Lewis* constatou a eficiência do biopolímero na recuperação motora e na preservação sináptica após cirurgia reparadora de avulsão de raiz ventral, na interface do sistema nervoso central. Como achados dessa pesquisa, os estudiosos puderam afirmar que o biopolímero atua no auxílio para a neuroproteção e preservação da rede sináptica e que reduziu a reação astrogliar, aumentando os níveis de RNA mensageiro (RNAm) para as neurofinas e citocininas, substâncias que podem contribuir para a melhora da função motora (BARBIZAN et al., 2013).

Estudo realizado com pacientes com feridas venosas originadas em disfunções do sistema circulatório nos membros inferiores utilizou o biopolímero, que se mostrou eficaz e trouxe um tempo de reparo inferior, se comparado ao uso de tratamento convencional. Pesquisadores puderam constatar que a aplicação do BFH no leito da ferida teve efeito na diminuição da dor e aumento na vascularidade na região da aplicação, o que pôde acelerar o processo de cicatrização (GATTI, 2009). Goulart (2013) realizou estudo que apontou efeitos satisfatórios para a utilização do biopolímero de fibrina heterólogo quando aplicado em feridas de ratos Wistar diabéticos. Observou-se o aumento na vascularidade na região da aplicação, sugerindo que o produto pode acelerar o processo de reparo.

Estudo realizado em 2013 constatou a capacidade osteocondutora do biopolímero de fibrina heterólogo na reparação de defeitos no crânio em ratos Wistar

machos (IATECOLA et al., 2013). Outro estudo apontou para a utilização do biopolímero como arcabouço para células-tronco mesenquimais em neurocirurgia (ERENO, 2009). Partindo dessa premissa, Orsi et al. (2017) comprovaram em seu estudo que o BFH tinha a função de arcabouço para células tronco mesenquimais. Tal conclusão foi possível ao utilizar a técnica no processo de reparo ósseo de ratos com osteoporose.

Corroborando com o estudo de Ereno, realizado em 2009, Gasparotto et al., (2013) constataram que o BFH não afeta o microambiente biológico das células, não sendo constatado dano para o processo de aderência, proliferação ou diferenciação celular, permitindo a adesão e o crescimento de células tronco mesenquimais. Tais resultados sugerem que o BFH é um polímero biocompatível e adequado para carrear células-tronco em distintas situações, inclusive na engenharia de tecidos.

Esses estudos demonstram um promissor potencial para uso do biopolímero de fibrina heterólogo no tratamento de diversas situações, especialmente no que se refere à capacidade de promover o reparo tecidual em lesões de difícil cicatrização. Tal feito pôde ser comprovado em estudo em que BFH se mostrou capaz de realizar a reparação tecidual em úlceras venosas crônicas nas quais já haviam sido tentados inúmeros produtos e técnicas de curativo (GATTI, 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi realizado com os cuidados necessários para minimizar a dor e o sofrimento dos animais, em conformidade com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 (Lei Arouca) e com a resolução 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV).

Todos os procedimentos cirúrgicos foram executados sob anestesia, com cloridrato de ketamina e clorpromazina. A eutanásia foi realizada com sobredose de anestésicos, sem causar sofrimento aos animais, a partir da depressão do sistema nervoso central.

O Projeto de pesquisa foi encaminhado pelo Comitê de Ética para o uso de Animais (CEUA), da Universidade Estadual do Piauí (UESPI0, sendo aprovado pelo protocolo nº 0312/2019.

4.2 ANIMAIS

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados 84 ratos Wistar (*rattus norvegicus albinus*), machos adultos (com mais de 60 dias de vida), com média de 250 g de massa corporal, selecionados aleatoriamente do biotério do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Piauí. Os animais nasceram no local, não necessitando de período de aclimação.

Durante a fase experimental, todos os animais receberam ração padronizada para roedores e água *ad libitum*. Eles foram mantidos em caixas de polipropileno, autolaváveis e em ambiente ventilado, abrigando em cada caixa 7 animais. A temperatura foi mantida em 25°C, e a umidade controlada e com ciclo claro-escuro de 12 horas. Vale ressaltar que, durante o experimento, não foram detectadas brigas, ações de mutilação nem tampouco canibalismo entre os animais.

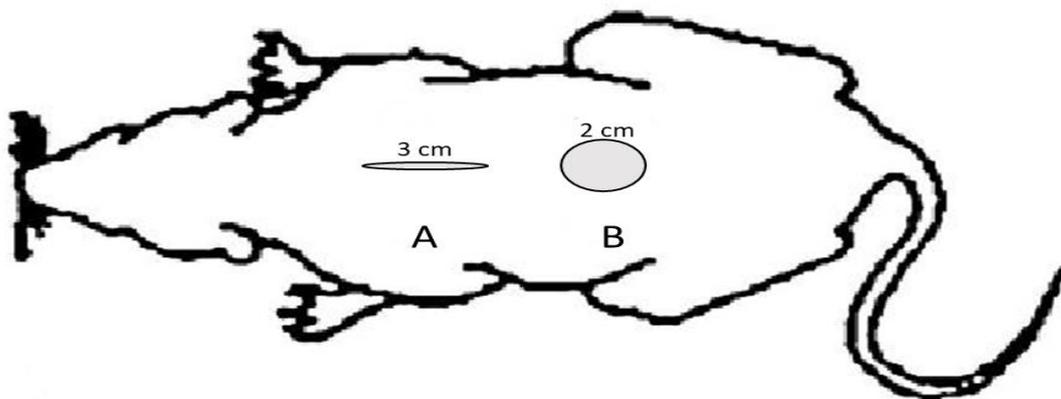
4.3 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os animais, após a pesagem, foram anestesiados com injeção intramuscular (IM) de cloridrato de ketamina, na dose de 60-80 mg/kg, e cloridrato de clorpromazina, na dose de 1,6-2,0 mg/kg, conforme normas e diretrizes éticas para pesquisa com animais da Resolução 879 de 15 de fevereiro de 2008, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2008).

Após a tricotomia da região dorsal, os animais foram posicionados em decúbito ventral, foi realizada assepsia com álcool a 70 % para a realização de duas feridas, uma longitudinal e outra circular, em cada animal. Para isso, foi demarcada no dorso dos animais abaixo das escápulas e realizada uma lesão linear de 3 cm e, em seguida, as bordas foram aproximadas com 3 pontos de sutura (Figura 1A). Essa lesão teve a finalidade de avaliar a qualidade da reparação por meio do teste de força de tração. Posteriormente, no mesmo ato cirúrgico, foi realizada a segunda lesão com um *punch* dermatológico, e uma área de 2 cm de diâmetro de todas as camadas da pele foi retirada (Figura 1B). A hemostasia foi feita por compressão digital, utilizando-se gazes esterilizadas.

Nos primeiros três dias de pós-operatório, foi administrado, como medicação analgésica, paracetamol 200 mg/ml de 8 em 8 horas. Os animais foram monitorados diariamente pela pesquisadora. A higienização das caixas, manutenção da alimentação e troca da água, foram realizadas regularmente por profissional habilitado.

FIGURA 1 - Representação da indução das feridas no dorso do animal



Legenda: A: indução da ferida longitudinal; B: indução da ferida circular.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

4.4 DESENHO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos contendo 21 animais cada.

- Grupo controle (GC): foi induzida a ferida no dorso dos animais e tratada com soro fisiológico 0.9%.
- Grupo LED (LED): foi induzida a ferida no dorso dos animais e aplicado LED após imediatamente o procedimento cirúrgico e a cada 72h.
- Grupo biopolímero de fibrina heterólogo (BFH): foi induzida a ferida no dorso dos animais e aplicado o BFH imediatamente ao procedimento cirúrgico e a cada 72h.
- Grupo LED associado ao biopolímero de fibrina heterólogo (LED + BFH): foi induzida a ferida no dorso dos animais sendo irradiado o LED e, em seguida, aplicado o biopolímero de fibrina heterólogo, procedimento repetido a cada 72h.

Posteriormente, os animais foram subdivididos em três períodos experimentais: 7, 14 e 21 dias.

4.5 TRATAMENTO

Foi utilizado o equipamento LED Tendlite® medicinal, modelo 204, comprimento de onda 660 nm, potência 166 mW (aferidas em potenciômetro), nos parâmetros descritos na tabela 1. Nos animais do grupo LED e LED + BFH, após a indução da ferida, foi realizada a hemostasia e, então, realizada a irradiação LED de forma pontual, com 1 cm de distância da lesão padronizados por meio de um suporte (Figura 2), sendo aplicado em cada animal os mesmos parâmetros de LED.

TABELA 1 - Parâmetros de aplicação da terapia por fotobiomodulação a LED

FABRICANTE	LUMINO®GROUP
MODELO	TENDLINE 204
ANO DE PRODUÇÃO	2011
COMPRIMENTO DE ONDA	660 nm
POTÊNCIA DE SAÍDA	0,166 W
TEMPO DE IRRADIAÇÃO	60 segundos
ENERGIA	9,96 J
ÁREA DE FEIXE	2 cm ²

TABELA 1 - Parâmetros de aplicação da terapia por fotobiomodulação a LED (cont.)

TÉCNICA DE APLICAÇÃO	Pontual a distância de 1 cm
NÚMERO DE PONTOS	1
FREQUÊNCIA DE APLICAÇÃO	Cada 72 horas, por 7, 14 ou 21 dias.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

FIGURA 2: Esquema representativo da aplicação da terapia de fotobiomodulação a LED

Fonte: Elaboração da pesquisadora

A aplicação do biopolímero de fibrina heterólogo foi realizada de forma tópica nas feridas dos grupos BFH e LED + BFH. Foram aplicados 2 g do biopolímero de fibrina heterólogo na área lesionada e espalhados com auxílio de uma espátula de forma que toda a área ficasse recoberta.

Ambos os tratamentos aconteceram imediatamente após a indução da lesão, e os procedimentos foram repetidos a cada 72 horas em todos os animais de acordo com os grupos aos quais pertenciam. Vale ressaltar que no grupo em que ocorreu a associação das terapias sempre aconteceu primeiro o tratamento com TFBM a LED e, em seguida, foi realizada a aplicação do BFH.

4.6 EUTANÁSIA

Os animais dos grupos experimentais foram anestesiados, conforme protocolo descrito anteriormente, e submetidos à eutanásia com sobredose de tiopental sódico na dose de 100 mg/kg, por via intraperitoneal, depois de decorridos 7, 14 e 21 dias de pós-operatório, conforme o grupo a que pertenceriam.

4.7 ANÁLISE MACROSCÓPICA

A análise macroscópica da ferida foi realizada diariamente, e a região da lesão era investigada quanto às seguintes ocorrências: necrose, inflamação local, odor, presença de fibrose ou líquido na cavidade.

4.8 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO ÍNDICE DE REPARO DE FERIDAS

A análise morfométrica do índice de reparo de ferida foi realizada por meio de registros fotográficos utilizando a câmera digital Canon PowerShot SX30 IS com 14 megapixels no dia 0 e no dia de eutanásia do animal (7, 14 ou 21 dias). Foi utilizada uma câmera digital no modo básico, sem flash, sem zoom. Para a padronização da distância da câmera à ferida utilizou um suporte de alumínio a 20 cm e perpendicular à ferida. Uma régua disposta ao lado dos animais e junto à ferida foi utilizada para a padronização da unidade de área das lesões em mm. As imagens foram analisadas pelo software ImageJ 1,45 (*Research Services Branch, Nacional Institutes of Health – NIH (Bethesda, Maryland, EUA)*). A área residual da lesão foi calculada com base nas imagens, utilizando a seguinte fórmula:

$$A_r = \frac{A_{dia}}{A_{inicial}} \times 100$$

Legenda: área residual (A_r) da lesão (%); A_{dia} representa a área medida diariamente; $A_{inicial}$ é a área inicial mensurada imediatamente após a indução da ferida.

4.9 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Após a análise macroscópica, foi realizada a coleta das amostras de pele em toda a extensão das feridas, com margem de 1 cm de pele íntegra. As amostras da ferida longitudinal foram destinadas ao teste de força de tração da cicatriz, foram retiradas e irrigadas com solução fisiológica a 0,9 % e, logo em seguida, foram submetidas ao teste força de tração.

As amostras da ferida circular foram destinadas às análises histológicas. Para isso, foram fixadas em solução tamponada de formalina a 10 % durante 24 horas e encaminhadas para o processamento histológico convencional, constando de

desidratação com álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina.

Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo, com cortes de 5 micrômetros de espessura, e submetidos à coloração com Hematoxilina e Eosina (HE) e Picosírius Red. Todas as lâminas foram codificadas de modo que o examinador não tenha conhecimento sobre a qual grupo pertencia.

4.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA DESCRITIVA

As amostras coradas com H.E foram utilizadas para avaliar alterações histopatológicas na pele. Assim, foi realizada a análise descritiva avaliando qualitativamente reepitelização, tecido de granulação, proliferação fibrobástica, vasos sanguíneos, infiltrado inflamatório e organização tecidual. Os espécimes foram examinados usando um microscópio óptico trinocular Olympus CX31, modelo YS100.

4.11 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

A avaliação histomorfométrica da lesão foi realizada por uma análise semi-quantitativa por meio de um escore descrito por Solmaz et al. (2016), sendo considerados valores de 0 a 4 pontos, como descrito na tabela 1.

TABELA 2 - Escala para análise semi-quantitativa da avaliação histopatológica

Escala	Epitelização	Fibroblastos	Colágeno	Vasos sanguíneos
0	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
1	Espessura das bordas cortas	leve ao redor do tecido	mínimo tecido de granulação	leve ao redor do tecido
2	Migração de células	leve tecido de granulação	leve tecido de granulação	leve tecido de granulação
3	conexão da incisão	moderado tecido de granulação	moderado tecido de granulação	moderado tecido de granulação
4	Queratinização	intenso tecido de granulação	intenso tecido de granulação	intenso tecido de granulação

Fonte: Solmaz et al. (2016)

As amostras serão comparadas com os escores apresentados na tabela 2 e, de acordo com sua apresentação, será atribuído escore para a avaliação histopatológica.

4.12 GRAU DE INFLAMAÇÃO

O grau de inflamação foi medido com as fases de resolução do processo inflamatório: grau 1, inflamação aguda (formação de membrana piogênica); grau 2, predomínio de inflamação aguda difusa (predomínio de tecido de granulação); grau 3, predomínio de inflamação crônica (fibroblastos começando a proliferar); grau 4, resolução e reparo (redução ou desaparecimento da inflamação crônica, embora células redondas ocasionais possam persistir). Os escores são utilizados realizando-se o comparativo da lesão do animal com o escore do grau de inflamação.

4.13 ANÁLISE DO COLÁGENO

Após microtomia que foram cortados a 10 μ m, os cortes histológicos foram submetidos à coloração pelo picrossírius red. Para identificação de colágenos maduro (tipo I) e imaturo (tipo III), analisaram-se os cortes histológicos por meio de microscópio óptico, em aumento de 400 vezes, com fonte de luz polarizada. As imagens foram captadas por uma câmera e transmitidas a monitor colorido, congeladas e digitalizadas por meio de placas. Finalmente, foi realizada a análise das imagens mediante o aplicativo Image Pro-Plus, versão 4.5 para Windows (Mídia Cibernética, São Paulo, SP).

No sistema RGB (Red, Blue, Green), foram considerados valores para tons de vermelho, amarelo e laranja (colágeno tipo I) e para tons de verde (colágeno tipo III). Todas as lâminas foram avaliadas sob as mesmas condições de regulagem, dentro dos parâmetros exigidos pelo referido aplicativo. Nos cortes histológicos, realizou-se a aquisição de 4 campos microscópio sobre a área da lesão onde foram obtidas medidas das áreas distintas. Em cada uma delas o “software” calculou a percentagem da área ocupada pelas fibras que continha colágeno dos tipos I e III em relação à área total examinada.

A partir da medida da percentagem de fibras colágenas foi calculado o índice de maturação de colágeno (IMaC), segundo descrito por Simões et al. (2019), sendo obtido por meio da razão percentual de colágeno tipo I pelo Percentual de colágeno tipo III, em que valores maiores do que 1 indicam que a percentagem de colágeno tipo I é maior do que a percentagem de colágeno do tipo III (colágeno tipo III/colágeno tipo I).

4.14 ANÁLISE DA FORÇA DE TRAÇÃO

A avaliação da força de tração seguiu o procedimento descrito por Trubian et al. (2007). Para o teste foi utilizado um aparelho universal de experimento mecânico com garras de pressão ajustável manualmente e sistema eletrônico de obtenção de dados (dinamômetro). As pontas da fração de pele, que continham a sutura em sua porção central, foram fixadas às presilhas, com ajuste manual. A tração ocorreu com velocidade constante, usando-se carga de 10 kg, com sensibilidade de 50 g, até a ruptura total do corpo de prova. A força de tração foi constantemente mensurada por meio de um computador anexo ao sistema de presilhas, considerando-se como variável a força máxima de tração (FMT) em kgf.

4.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

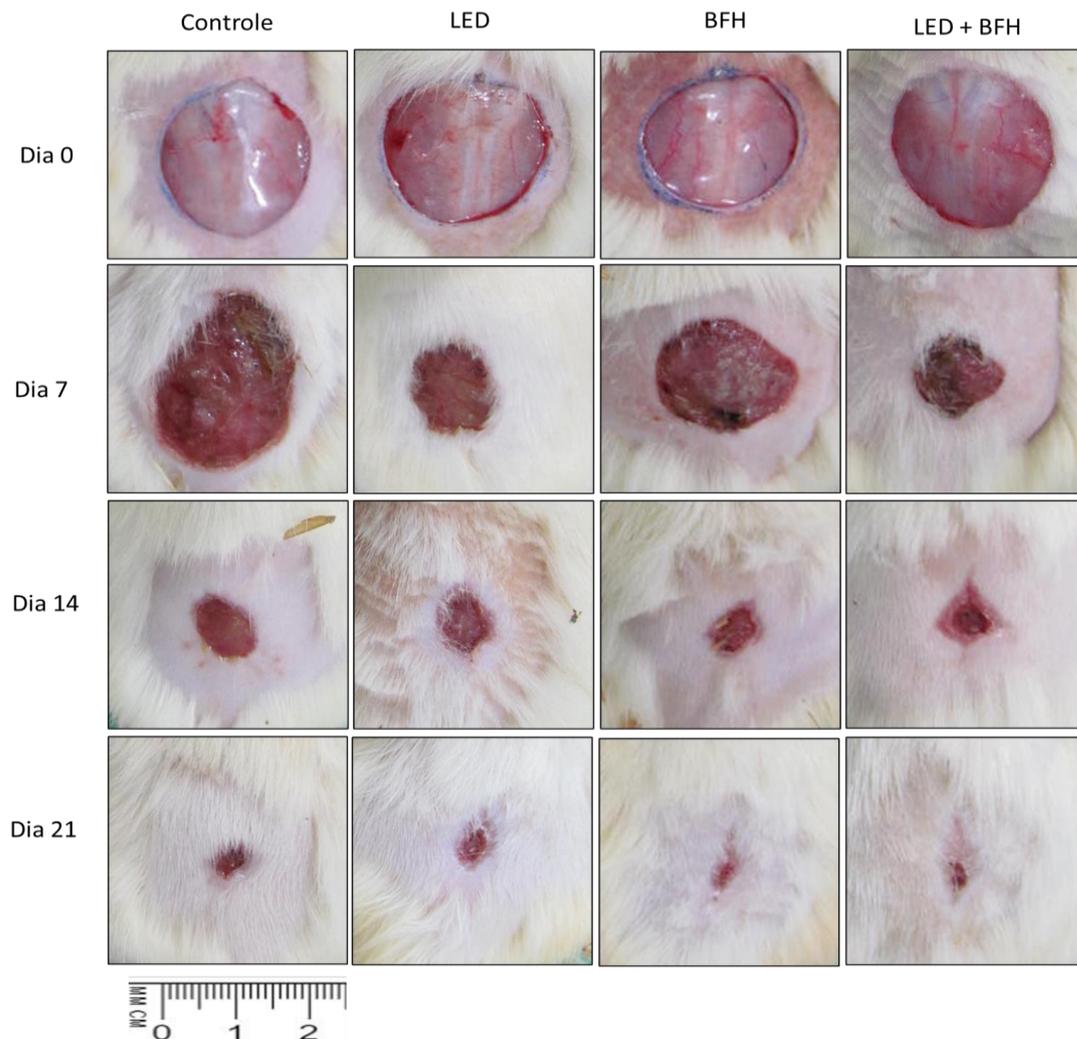
Os resultados estão descritos em valores de médias e desvio padrão e apresentados em tabelas e gráficos. A normalidade dos dados foi testada com o teste de KS e a Homogeneidade com o teste de Levene. Para as comparações entre grupos foi utilizado One-Way ANOVA com pós hoc de Tukey. Para a diferença estatística foi adotado um valor de significância de 5%. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa GraphPad Prism.

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Nos achados macroscópicos obtidos na análise qualitativa dos grupos experimentais, foi possível observar a ausência de necrose, odor, presença de fibrose ou líquido na cavidade da lesão em todos os grupos experimentais. No grupo controle, houve discreta inflamação local, evidenciada entre o 5º e o 6º dia, após a realização da lesão, não manifestada nos demais grupos conforme se observa na figura 3.

FIGURA 3 - Análise macroscópica da ferida nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 0, 7, 14, e 21 de experimento



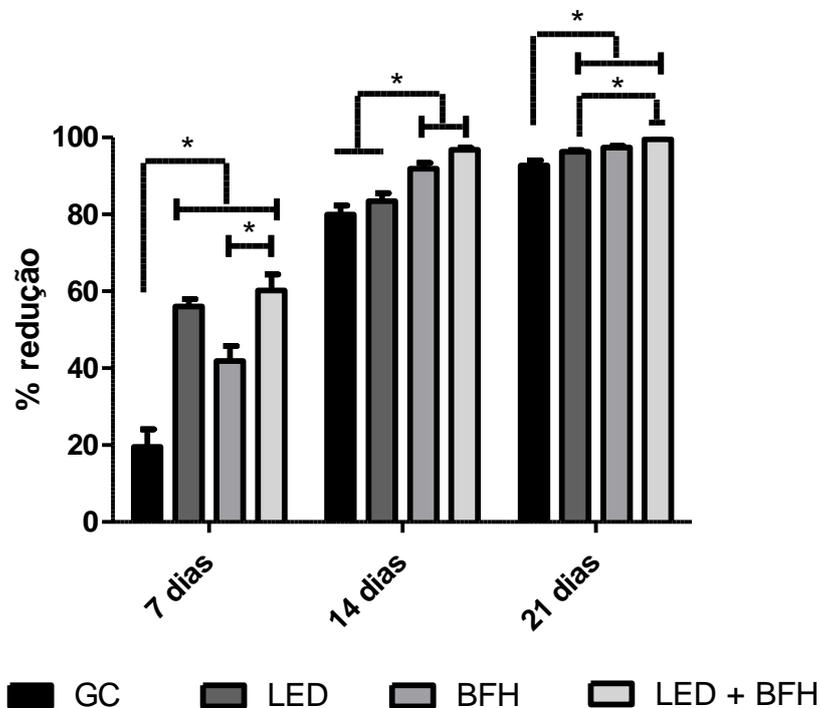
Legenda: Controle = sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

5.2 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO ÍNDICE DE REPARO DE FERIDAS

A análise do índice de reparo de ferida demonstra que o grupo controle apresentou estatisticamente menor porcentagem de redução da área lesionada comparado aos demais grupos após 7 dias. Ainda neste período, pôde-se observar que o grupo LED associado ao BFH mostrou maior índice de reparo, estatisticamente significante, comparado ao grupo que utilizou BFH de forma isolada. Após 14 dias, os grupos BFH e LED + BFH apresentaram maior redução da ferida quando comparados aos grupos controle e LED. Não foi observada diferença estatística entre os grupos CG e LED. No último período experimental, ou seja, de 21 dias, foi observado que os três grupos tratados tiveram um maior índice de reparo comparado ao grupo controle. Quando foram comparados os grupos tratados, notou-se que o grupo LED + BFH demonstrou maior redução da ferida comparado ao grupo que foi tratado apenas com LED, 21 dias pós-operatório.

FIGURA 4 - Índice de reparo de feridas nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento



Legenda: GC = controle sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

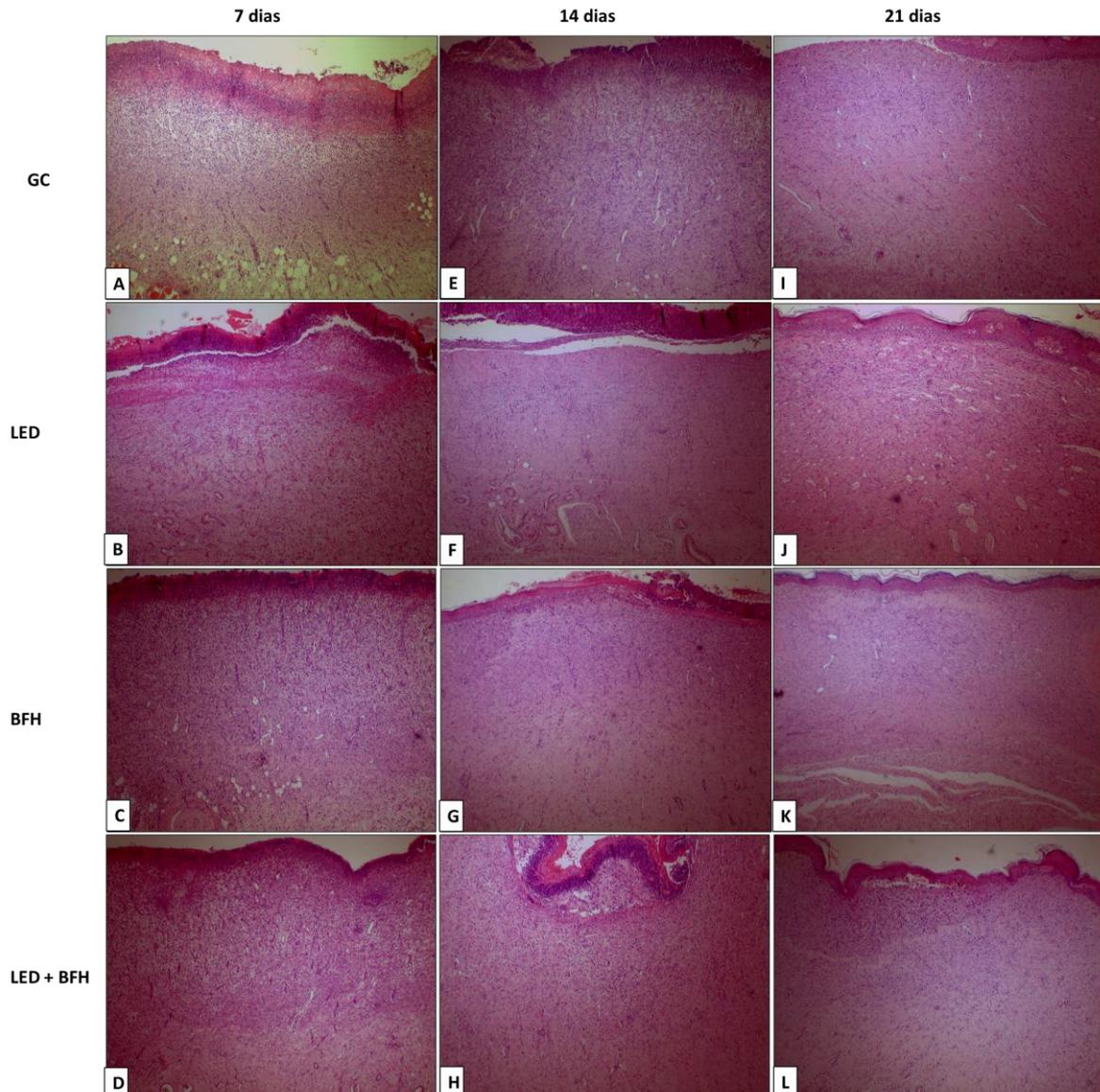
5.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA DESCRITIVA

Imagens histológicas representativas das feridas são apresentadas na Figura 5. A análise histológica descritiva revelou que as feridas de todos os grupos experimentais, 7 dias pós-operatório, estavam recobertas por crosta fibrino neutrofílica de espessura variável. A reepitelização era mais evidente apenas nas áreas periféricas das feridas dos grupos que receberam tratamento. No leito das feridas dos grupos tratados, foi observado tecido de granulação, fibroblastos, numerosos capilares sanguíneos com predomínio de inflamação crônica, quando comparados ao grupo controle. Quando comparados os tratamentos, observou-se que o grupo LED + BFH demonstrou tecido de granulação discretamente mais organizado.

Com quatorze dias de evolução, observou-se crosta fibrino neutrofílica ainda presente em todos os grupos, principalmente no grupo controle. Todos os grupos tratados apresentaram processo de reparo melhor que o grupo controle. A reepitelização se mostrou um pouco mais avançada, e o tecido de granulação se revelou mais organizado nos grupos BFH e LED + BFH comparados aos grupos controle e LED.

Com vinte e um dias de evolução, pôde-se observar que no grupo controle a reepitelização ainda não estava completa, notando-se área central lesionada ainda recoberta por crosta. Na derme superficial, a matriz extracelular era menos densa e continha inúmeros vasos sanguíneos e células inflamatórias. Nos demais grupos, as feridas apresentaram epiderme neoformada quase completamente. Os grupos tratados mostraram fibroblastos dispostos em feixes e redução acentuada da atividade inflamatória, que se resumiu a focos discretos de infiltrados de macrófagos. No grupo BFH, a derme exibiu matriz extracelular mais densa.

FIGURA 5 - Fotomicrografias representativas da análise histológica nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento



Legenda: GC = controle sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo. Coloração = H.E. Aumento: 20x

Fonte: Elaboração da pesquisadora

5.4 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

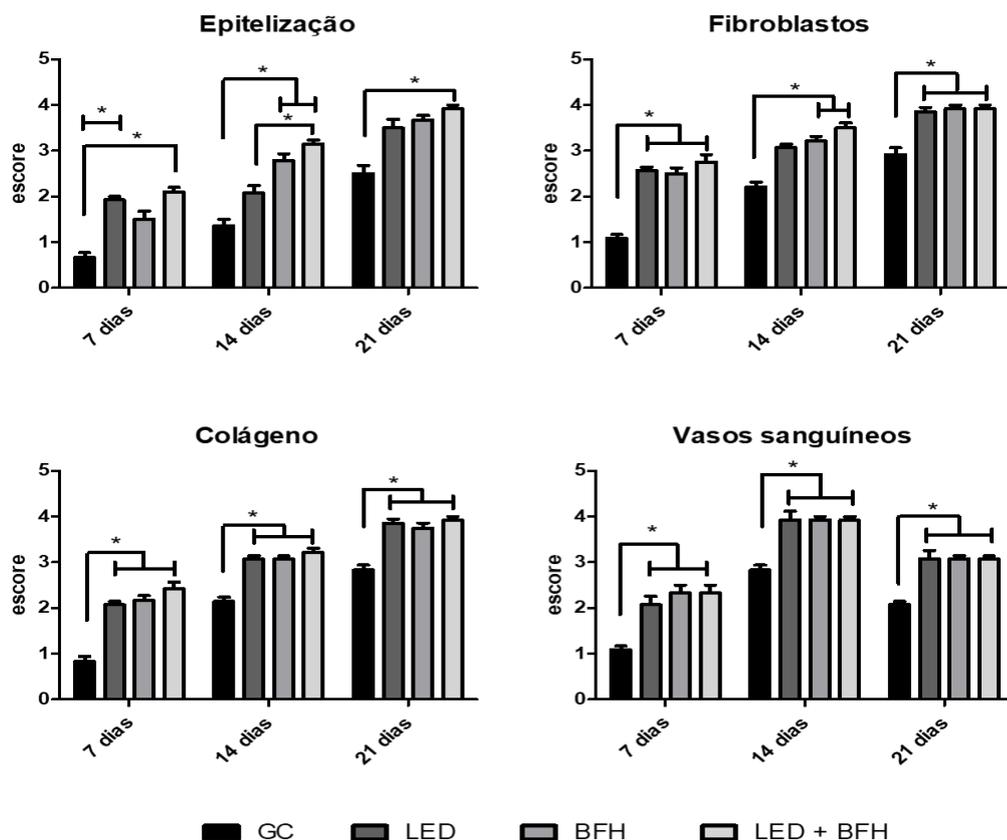
Os resultados da avaliação histomorfométrica demonstraram diferença estatística nas fases de reparo tecidual entre os grupos experimentais. Para o critério epitelização, após 7 dias observou-se que o grupo controle apresentou escore estatisticamente menor quando comparado aos grupos LED e LED + BFH. Após 14 dias, pôde-se observar que o grupo controle mostrou escore estatisticamente menor

comparado aos grupos BFH e LED + BFH. Nesse mesmo período, observou-se que o grupo LED + BFH demonstrou diferença estatisticamente maior comparado ao grupo LED. No último período avaliado, 21 dias, verificou-se que apenas o grupo LED + BFH apresentou diferença estatisticamente maior quando comparado ao grupo controle.

Para a avaliação histomorfométrica de fibroblastos, observou-se que todos os grupos tratados apresentaram diferença estatisticamente maior comparado ao grupo controle após 7 e 21 dias. Após 14 dias, apenas os grupos BFH e LED + BFH demonstraram diferença estatisticamente maior que o grupo controle.

A avaliação histomorfométrica de colágeno e vasos sanguíneos demonstraram que todos os grupos tratados apresentaram escores estatisticamente maior quando comparado ao grupo controle nos três períodos avaliados.

FIGURA 6 - Classificação histopatológica nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento



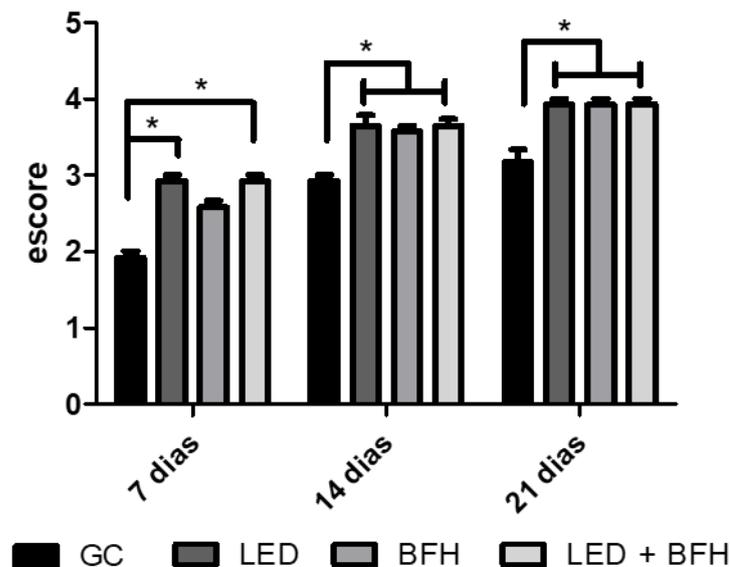
Legenda: GC = controle sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

5.5 GRAU DE INFLAMAÇÃO

A figura 7 demonstra o grau de inflamação. Pôde-se observar que, no período de 7 dias, os grupos LED e LED + BFH apresentaram predominância de inflamação crônica, representado pelo escore 3, enquanto no grupo controle ainda era notado a predominância da inflamação aguda difusa (escore 2). Da mesma forma, nos períodos de 14 e 21 dias, os grupos tratados demonstraram escore 4, que indica uma resolução e reparo (redução ou desaparecimento de inflamação crônica, embora persistam células redondas ocasionais), enquanto o grupo controle ainda apresentava predominância de inflamação crônica (escore 3).

FIGURA 7 - Análise histopatológica para avaliação de Infiltrado Inflamatório nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento



Legenda: GC = controle sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

5.6 ANÁLISE DO COLÁGENO

A Figura 8 demonstra a quantificação do colágeno I e III e o índice de maturação do colágeno dos grupos experimentais.

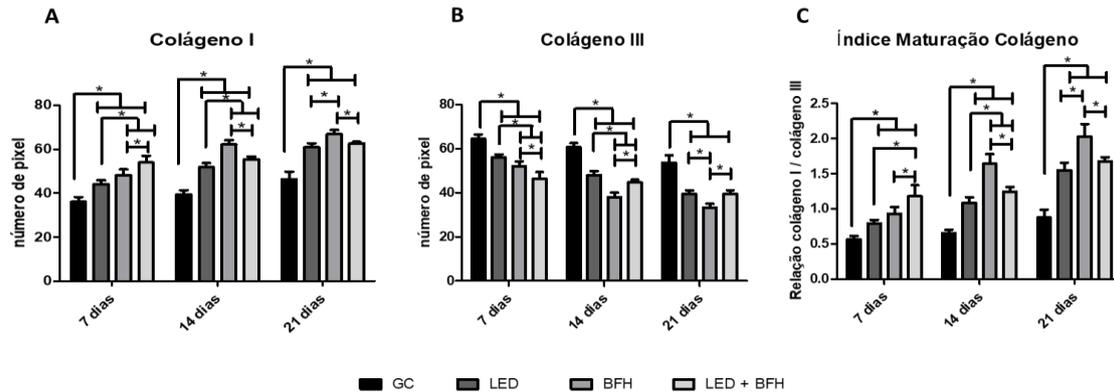
Na quantificação de colágeno I, pôde-se observar que, no período de 7 e 14 dias, os grupos LED, BFH e LED + BFH apresentaram maior quantitativo de colágeno

I se comparados com o grupo controle. Quando comparados os tratamentos, o grupo BFH demonstrou diferença estatisticamente significativa maior quando comparado ao grupo LED. LED+BFH teve um quantitativo maior de colágeno I quando comparado com os demais grupos tratados. Da mesma forma, no período de 21 dias, os grupos tratados apresentaram maior quantidade de colágeno I comparado ao grupo controle. O grupo BFH apresentou diferença estatisticamente maior de colágeno I comparado aos grupos LED e LED + BFH.

Para o colágeno III, observou-se nos três períodos experimentais que no grupo controle ocorreu uma maior quantificação de colágeno III. Comparando os tratamentos, após 7 dias, o grupo LED apresentou maior quantidade de colágeno III comparado aos grupos BFH e LED + BFH, assim como o grupo BFH também apresentou maior quantidade de colágeno III comparado ao grupo LED + BFH. Após 14 dias, o grupo LED também apresentou maior quantidade de colágeno III comparado aos grupos BFH e LED + BFH. Além disso, o grupo LED + BFH apresentou diferença estatisticamente significativa comparado ao grupo BFH. Após 21 dias, os grupos LED e LED + BFH apresentaram quantidade de colágeno III maior comparado ao grupo BFH.

A análise de Índice de Maturação do Colágeno demonstrou estatística significativamente menor quando comparado o grupo controle com os grupos tratados nos 3 períodos experimentais. No período de 7 dias, o grupo LED + BFH apresentou diferença estatisticamente maior quando comparado aos demais grupos. Após 7 e 14 dias, o grupo BFH demonstrou diferença estatisticamente significativa quando comparado aos grupos LED e LED + BFH.

FIGURA 8 – Quantificação de colágeno e índice de maturação nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento



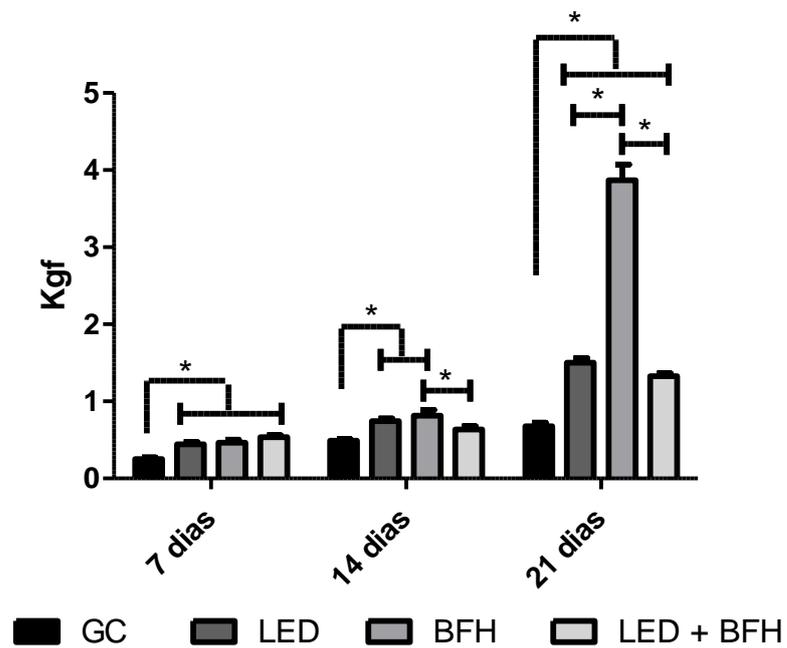
Legenda: GC = controle sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

5.7 ANÁLISE DA FORÇA DE TRAÇÃO

A Figura 9 mostra os resultados do teste da força de tração. É possível perceber que, com 7 dias, pôde-se observar que a força de tração foi estatisticamente significativa maior nos grupos tratados em relação ao grupo controle. Com 14 dias, pôde-se constatar que os grupos LED e BFH demonstraram maior força de tração comparado ao grupo controle. Ainda, o grupo BFH teve melhor desempenho se comparado com o grupo BFH + LED. Com 21 dias, todos os grupos tratados apresentaram diferença estatisticamente maior comparados ao grupo controle, assim como o grupo BFH demonstrou melhor resultado de força de tração em comparação com os grupos LED e LED+BFH.

FIGURA 9 – Teste de resistência e força de tração nos grupos controle, LED, BFH e LED associado ao BFH nos dias 7,14, e 21 de experimento



Legenda: GC = controle sem tratamento; LED = Diodo Emissor de luz; BFH = Biopolímero de fibrina heterólogo; LED + BFH = Diodo Emissor de luz associado a Biopolímero de fibrina heterólogo.

Fonte: Elaboração da pesquisadora

6 DISCUSSÃO

Apesar dos avanços tecnológicos e científicos na área da saúde, feridas cutâneas crônicas ou de difícil reparo, como diabéticas, queimaduras ou úlceras por pressão, ainda impõem um encargo econômico ao paciente acometido e ao sistema de saúde, devido ao elevado custo com o tratamento de feridas, tais como consultas clínicas, trocas de curativos, cuidados de enfermagem, internações hospitalares, procedimentos cirúrgicos (CROVETTI et al., 2004; WERDIN; TENENHAUS; RENNEKAMPFF, 2008).

Estima-se que o número de pacientes com feridas crônicas continuará a aumentar devido ao crescente envelhecimento populacional e à alta prevalência de doenças crônicas e comorbidades como diabetes mellitus, obesidade, hipertensão venosa e doença vascular periférica, que também aumentam o custo do tratamento de feridas (CROVETTI et al., 2004; SIMKA; MAJEWSKI, 2003; BOYCE; WARDEN, 2002). Além disso, o tratamento ideal de feridas muitas vezes exige mudanças na prática, incluindo a implementação de métodos e tecnologias avançadas (TOTTOLI, 2020).

Assim, o presente trabalho investigou efeito da terapia por fotobiomodulação a LED associado ou não ao uso do biopolímero de fibrina heterólogo no reparo de feridas cutâneas em ratos. De acordo com os achados macroscópicos e índice de reparo de feridas, os tratamentos utilizados de forma isolada, LED e BFH, demonstraram reparo cutâneo avançado quando comparados ao grupo controle. Além dos resultados positivos observados com o uso do LED e BFH na avaliação macroscópica, este estudo também demonstrou microscopicamente que variáveis como fibroblastos, colágeno e vasos sanguíneos apresentaram diferença estatística significativamente maior comparado ao grupo controle, entretanto na variável epitelização apenas houve uma diferença significativa após 7 dias para o grupo LED e 14 dias para o grupo BFH.

Pôde-se observar em análise microscópica que ambos os tratamentos utilizados de forma isolada modularam o processo inflamatório, pois foram capazes de promover a redução ou desaparecimento de inflamação crônica anteriormente comparado ao grupo controle. Tais achados estão de acordo com Dall Agnol, Nicolau

e De Lima (2009), os quais demonstraram que o diâmetro da ferida cutânea em ratos foi significativamente reduzido no grupo que recebeu a terapia por fotobiomodulação.

Assim também, Paraguassú et al. (2014) demonstraram um aumento significativo na reepitelização em feridas cutâneas após irradiação em um modelo experimental de ferida excisional de pele em ratos. O uso do biopolímero de fibrina também tem mostrado efeito positivo no processo de reparo (VANSCHEIDT et al., 2007; CHEN; TSAI; BURNOUF, 2010; ASADI et al., 2014). Abbade et al. (2021) demonstraram que o BFH se mostrou seguro e não imunogênico, com boa eficácia preliminar para o tratamento das feridas crônicas.

Acredita-se que tais resultados ocorreram, pois a terapia por fotobiomodulação é capaz de promover modificações bioquímicas, bioelétricas e bioenergéticas, acelera o metabolismo tecidual, promove a modulação da resposta inflamatória, aumenta a proliferação celular, assim como a quantidade de tecido de granulação e deposição de colágeno, estimulando o processo de reparo (LINS et al., 2010; STEIN et al., 2005; SOLEIMANI et al., 2012; TIM et al., 2016). Além disso, a atividade do biopolímero de fibrina mimetiza a cascata de coagulação, na qual a trombina faz a conversão de fibrinogênio em fibrina, conduzindo a formação de um coágulo de fibrina estável e reforçado pela ativação do fator XIII, estimula a proliferação de fibroblastos e participa da síntese de colágeno (VALBONESI, 2006; KASAI; KUNIMOTO; NITTA, 1983; ORSI et al., 2017). Este estudo sugere que o aumento da variável fibroblastos, observada microscopicamente nos grupos LED e BFH, foi capaz de promover o aumento da deposição de colágeno.

O colágeno, principal componente da matriz extracelular, constitui uma família de proteínas, com mais de vinte nove tipos de colágenos identificados, dos quais os tipos I, II e III são os predominantes nos tecidos conjuntivos. O colágeno tipo I é o componente mais importante envolvido no reparo tecidual (REHFELD; NYLANDER; KARNO, 2017). No presente estudo, a deposição de colágeno I e III foi investigada por análise de picrossírius red, que permitiu o reconhecimento de seu índice de maturação. Esta coloração é usada para investigar tons de amarelo ou vermelho, indicativos do colágeno tipo I, enquanto o tipo III mostra fibras finas, fracamente birrefringentes e em tons de verde (JUNQUEIRA; MONTES; SANCHES, 1982). A análise do colágeno mostrou que o LED e o BFH aumentaram a deposição de colágeno tipo I e diminuíram colágeno tipo III. Esse resultado sugere que os

tratamentos aceleraram o reparo tecidual, uma vez que, à medida que ocorre a evolução do processo de reparo e maturação do tecido de granulação, o colágeno tipo III, que é o primeiro a ser sintetizado, é gradativamente substituído pelo colágeno tipo I. O aumento no acúmulo de colágeno tipo I leva à formação de fibras fibrosas densas e aumenta, assim, a tração força da matriz extracelular no local da cicatriz. A maturação da cicatriz ocorre simultaneamente à elevação contínua da síntese de colágeno tipo I e a degradação gradual do colágeno tipo III (MARTINEZ-HERNANDEZ; AMENTA, 1990; SOUZA; CASTRO; SILVA, 2021). Os resultados desta pesquisa demonstraram que o LED e o BFH promoveram a maturação do colágeno assim como aumentaram a força de tração no local do tecido neoformado.

Interessantemente, quando comparados os tratamentos LED e BFH, pôde-se observar que ambos foram capazes de estimular e acelerar o processo de reparo tecidual, entretanto, quando avaliada a maturação do tecido, pôde-se observar que o tratamento com BFH demonstrou ser mais eficiente em estimular a organização do colágeno e, conseqüentemente, aumentar a força de tração no local da lesão, principalmente após 14 dias. Tais resultados podem estar relacionados ao fato de o BFH degradar totalmente por volta de 14 a 16 dias (WOLBANK et al., 2015).

Outrossim, sabe-se que a fibrina tem um papel central no processo de reparo, pois atua como uma rede (*scaffold*), que une as margens da ferida e permite e facilita a movimentação, aderência, migração, proliferação e diferenciação das células tais como fibroblastos e células endoteliais. A fibrina liga-se de maneira cruzada à fibronectina por meio do fator XIII (fator estabilizador de fibrina), reforçando a adesão aos fibroblastos que iniciam a deposição de colágeno, particularmente tipo I, na arquitetura estrutural da rede de fibrina junto com o tecido de granulação recém-formado (BARROS et al., 2009). Frauz et al. (2019) demonstraram que o uso do biopolímero de fibrina heterólogo atuou como um *scaffold*, uma vez que os grupos que utilizaram o BFH apresentaram maiores valores de birrefringência, mostrando que a fibrina é lentamente substituída por tecido conjuntivo. Da mesma forma, Tuan et al. (1996) mostraram que fibroblastos cultivados em gel de fibrina sintetizaram colágeno.

Surpreendentemente, o grupo LED + BFH, que associou os tratamentos, mostrou o mesmo potencial para promover o reparo tecidual que, quando utilizados os tratamentos de forma isolada, a terapia por fotobiomodulação não potencializou os efeitos do BFH, principalmente após 14 e 21 dias. Da mesma forma, Dutra Júnio et al.

(2021) também não observaram efeito extra com a associação do BFH com a terapia por fotobiomodulação para estimular a reparação tendínea.

Por outro lado, Rosso et al. (2017) afirmam que a associação do BFH com a fotobiomodulação em outros tecidos como para estimular o reparo morfofuncional do nervo facial e durante a reconstrução de lesões em ossos longos demonstraram o grande potencial da associação dos tratamentos para auxiliar no processo de reparo do nervo periférico e também na reconstrução óssea (DE OLIVEIRA GONÇALVES et al., 2016; DE OLIVEIRA et al., 2020). No entanto, é difícil a comparação dos resultados, porque os estudos anteriores utilizaram diferentes períodos experimentais e/ou parâmetros dosimétricos da TFBM em relação aos empregados no presente estudo.

Essa controvérsia a respeito da associação da terapia por fotobiomodulação e biopolímero de fibrina heterólogo pode estar relacionada à energia utilizada e à frequência de aplicação utilizada neste estudo, pois sabe-se que estes parâmetros desempenham um papel importante na resposta biológica, e a existência de uma curva dose-resposta está bem conhecida (ZEIN; SELTING; HAMBLIN, 2018). Diante disso, o presente estudo sugere que o número de aplicação do LED + BFH promoveu efeito dependente, ou seja, pode ter causado uma sobrecarga de energia especialmente após 14 e 21 dias.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que o uso da terapia por fotobiomodulação a LED e biopolímero de fibrina heterólogo, utilizados de forma isolada ou associados, foram eficazes para promover o reparo tecidual em feridas induzidas em ratos. No entanto, o uso do biopolímero de fibrina heterólogo foi mais eficaz para promover a maturação do colágeno.

REFERÊNCIAS

ABBADE, L. P. F. et al. Treatment of Chronic Venous Ulcers With Heterologous Fibrin Sealant: A Phase I/II Clinical Trial. **Front Immunol.** v. 12, p. 62754, 2021. doi:10.3389/fimmu.2021.627541

ANDERS, J. J.; LANZAFAME, R. J.; ARANY, P. R. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. **Photomed Laser Surg.** v. 4, n. 33, p. 183-184, 2015. doi:10.1089/pho.2015.9848

ASADI, M. et al. Treatment of life-threatening wounds with a combination of allogenic platelet-rich plasma, fibrin glue and collagen matrix, and a literature review. **Exp Ther Med.** v. 2, n. 8, p.423-429, 2014. doi:10.3892/etm.2014.1747

BARBIZAN, R., et al. Motor recovery and synaptic preservation after ventral root avulsion and repair with a fibrin sealant derived from snake venom. **PLoS One.** v. 8, n. 5, p. 614 – 632, 2013.

BARBOSA, M. D., et al. Fibrin adhesive derived from snake venom in periodontal surgery. **J Periodontol.** v. 78, n. 10, p. 2026-2031, 2007.

BARROS, L. C. et al. A new fibrin sealant from *Crotalus durissus terrificus* venom: applications in medicine. **J Toxicol Environ Health B Crit Rev.** v. 8, n.12, p. 553-571, 2009. doi:10.1080/10937400903442514

BEGUERIE, J. R. et al. Histiocitose de células de Langerhans Vulvar e talidomida: uma opção de tratamento eficaz. **Jornal Internacional de Dermatologia.** ed. 3, v. 56, p. 324-326, Outubro de 2016. <https://doi.org/10.1111/ijd.13377>

BORDINI, K. P.; OLIVEIRA L. R.; MOREIRA, J. A. R. Efeitos do led azul no tratamento do melasma: revisão de literatura. **Revista Científica da FHO - Fundação Hermínio Ometto.** v. 7, n. 1., p. 14-22, 2019. Disponível em: http://www.uniararas.br/revistacientifica/_documentos/art.004-2019.pdf

BORGES, E. L. et. al. Factors associated with the healing of complex surgical wounds in the breast and abdomen: retrospective cohort study. **Rev. Latino-Am. Enfermagem.** 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1518-8345.1398.2811>.

BOYCE, S. T.; WARDEN, G. D. Principles and practices for treatment of cutaneous wounds with cultured skin substitutes. **Am J Surg.** v. 183, n. 4, p. 445-456, 2002. doi: 10.1016/s0002-9610(02)00813-9. PMID: 11975935.

BRASSOLATTI, P. et al. Comparative effects os two different doses os low-level laser therapy on wound healing third-degree burns in rats. **Microscopy Research and Technique,** v. 79, n. 4, p. 313-320, 2016.

BRAYNER, N. F.; SILVA, A. A.; ALMEIDA, F. R. O risco do uso irracional do paracetamol na população brasileira e seus efeitos na hemostasia. **Revista Científica da FASETE,** p. 138-156, 2018. Disponível em:

https://www.unirios.edu.br/revistarios/media/revistas/2018/16/o_risco_do_uso_irracional_do_paracetamol_na_populacao_brasileira.pdf

BUENO, Y; MUNOZ, G; TORRES SAEZ, R. Implementación de técnicas sencillas de remoción de proteínas mayoritarias de plasma sanguíneo para análisis por electroforesis bidimensional (2D). **Rev.Colomb.Quim.**, Bogotá, v. 40, n. 2, p. 131-148, Aug. 2011.

BUCHAIM, R. L. et al. Multidisciplinary Approach in the Teaching of Dental Sculpture and Anatomy. **Int. J. Morphol.**, v. 32, n. 2, p. 399-403, 2014.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. ABCD. **Arq. bras. cir. dig.** São Paulo, v. 20, n. 1, p. 51-58, março 2007. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202007000100010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 04 de novembro de 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-67202007000100010>.

CEVAP - <http://cevap.org.br/2018/04/25/selante-de-fibrina-extraido-do-veneno-da-cascavel-entra-na-sua-terceira-fase/2018>

CHAVES, M. E. A. et al. Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED. A. **Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, v. 89, n. 4, p. 616-623, agosto de 2014. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962014000400616&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 03 de fevereiro de 2021. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20142519>.

CHAYAMITI, E. M. P. C. **Manual de Assistência às Pessoas com Feridas.** Universidade de São Paulo. 3 ed. Ribeirão Preto, 2013.

CHEN, T. M.; TSAI, J. C.; BURNOUF, T. A novel technique combining platelet gel, skin graft, and fibrin glue for healing recalcitrant lower extremity ulcers. **Dermatol Surg.** v. 4, n. 36, p. 453-460, 2010. doi:10.1111/j.1524-4725.2010.01480.x

COGINOTTI, I. N. B.; REIS, A. H. Transtorno de escoriação (Skin Picking): revisão de literatura. **Rev. bras. ter. cogn.**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 64-72, dez. 2016. Disponível em <http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-56872016000200002&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em: 30 ago. 2018. <http://dx.doi.org/10.5935/1808-5687.20160012>.

COHEN, I. K.; MAST, B. A. Models of wound healing. **J Trauma.** v. 30, n. 12 (Supl.), 1990. S149-S155. doi:10.1097/00005373-199012001-00029

CORREA, M. E. P. **Adesivos de fibrina: avaliação clínica e experimental.** 2005. 137f. Tese (Doutorado em Clínica Médica) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, 2005.

CROVETTI, G. et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. **Transfus Apher Sci. Apr.**, v. 2, n. 30, p. 145-51, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15062754/>

COSTA, A. C. S. M.; ALVES, A. S.; SOUZA, E. S. Aplicação de membranas de colágeno contendo ácido úsnico incorporado em lipossomas no processo de cicatrização de queimaduras em áreas especiais **Rev. bras. queimaduras Pelotas**, v. 17, n. 2, p. 94-98, maio - ago., 2018.

CROSS, S. E. et al. An experimental model to investigate the dynamics of wound contraction. **Br J Plast Surg**, v. 48, n. 4, p. 189-97, Jun 1995. ISSN 0007-1226.

CROVETTI, G. et al Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. **Transfus Apher Sci. Apr.** n. 30, v. 2 p.145-51, 2004. doi: 10.1016/j.transci.2004.01.004. PMID: 15062754.

DALL AGNOL, M. A.; NICOLAU, R. A.; DE LIMA, C. J. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. **Lasers Med Sci.** n. 24, p. 909–916, 2009.

DE OLIVEIRA GONÇALVES, J. B. et al. Effects of low-level laser therapy on autogenous bone graft stabilized with a new heterologous fibrin sealant. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 162, p. 663–668, 2016.

DE OLIVEIRA, C. T. B. et al. Effects of fibrin sealant and bone fragments on defect regeneration performed on rat tibiae: An experimental study. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 104, n. Jun. 2020

DORSETT-MARTIN, W. A. Rat models of skin wound healing: a review. **Wound Repair Regen.** n. 12, v. 6, p. 591-599, 2004. doi:10.1111/j.1067-1927.2004.12601.x

DUTRA JÚNIOR, E. F. et al. Tratamento da lesão parcial do tendão calcâneo com biopolímero de fibrina heteróloga e / ou fotobiomodulação em ratos. **Lasers Med Sci** (2021). <https://doi.org/10.1007/s10103-021-03341-x>

EDUARDO, C. P. et al. A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.** São Paulo, v. 69, n. 3, Jul./Set., 2015.

EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES – EBSEH. **Protocolo assistencial multiprofissional: Prevenção e tratamento de lesão por pressão.** Serviço de Educação em Enfermagem. Uberaba-MG: HC-UFTM/Ebserh, 2018.

ERENO, D. Veneno que cola. **Revista Pesquisa FAPESP.** ed. 158, Abril, 2009. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/veneno-que-cola/>

FERREIRA J. R. et al. Heterologous fibrin sealant derived from snake venom: from bench to bedside – an overview. **J. Venom. Anim. Toxinas incl. Trop. Dis**, Botucatu, v. 23, n. 21, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1678-91992017000100204&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 18 de fevereiro de 2021. epub em 06 de julho de 2017. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-017-0109-8>.

FIGUEIRA, T. N. **Construção de um guia de cuidados de Enfermagem para tratamento de pacientes com lesões por pressão**. 2017. Dissertação (mestrado em Enfermagem) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Gestão do Cuidado em Enfermagem. Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/181596>

FORTUNA, J. T. S, et al. Brain infusion of α -synuclein oligomers induces motor and non-motor Parkinson's disease-like symptoms in mice. **Behav Brain Res.** n. 333, p. 150-160, 2017. doi:10.1016/j.bbr.2017.06.047

FRAUZ, K. et al. Transected Tendon Treated with a New Fibrin Sealant Alone or Associated with Adipose- Derived Stem Cells. **Cells**, v. 8, n. 1, p. 56, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30654437/>

GALVÃO, N. S.; SERIQUE, M. A. B.; SANTOS, V. L. C. G.; NOGUEIRA P. C. Knowledge of the nursing team on pressure ulcer prevention. **Rev Bras Enferm** [Internet]. v. 2, n. 70, p. 294-300. 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2016-0063>

GASPAR, P. J. S. et al. Impacto da formação profissional contínua nos custos do tratamento das feridas crônicas. **Rev. Enf. Ref.**, serIII, Coimbra, v. n. 1, p. 53-62, jul. 2010. Disponível em http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0874-02832010000300006&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 08 nov. 2018.

GASPAROTTO, V. P. O. et al. A new fibrin sealant as a three-dimensional scaffold candidate for mesenchymal stem cells. **Stem Cell Research & Therapy**, London, Biomed Central Ltd, v. 5, 10 p., 2013. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/112229>.

GATTI, M. A. N. **Tratamento de úlceras venosas com adesivo cirúrgico derivado de veneno de serpente**. Botucatu, São Paulo – UNESP, 2009.

GOULART, M. C. V. **Análise histológica e da aplicabilidade do adesivo cirúrgico derivado do veneno de cobra em feridas de animais diabéticos**. 2013. Tese (Doutorado em Patologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/25/25150/tde-22042014-145249/pt-br.php> doi: 10.11606/T.25.2013.tde-22042014-145249. Acesso em: 2021-02-03.

GUIRRO, E. C. O. et al. Effect of laser (670 nm) on healing of wounds covered with occlusive dressing: a histologic and biomechanical analysis. **Photomed Laser Surg.** n. 28, v. 5, p. 629-634, 2010. doi:10.1089/pho.2008.2387

HAMBLIN, M. R. Photobiomodulation or low-level laser therapy. **J Biophotonics.** v. 9, n. 11-12, p. 1122-1124. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jbio.201670113>. doi:10.1002/jbio.201670113.

IATECOLA, A. et al. Use of a new fibrin sealant and laser irradiation in the repair of skull defects in rats. **Brazilian dental journal**. v. 24, n. 5, p. 456-461, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/130957>>.

INGRACIO, D. S. et al. A utilização de coberturas no tratamento de pacientes com feridas em um serviço público. **I Simposio Internacional Norte/Nordeste de Estomaterapia**, Porto de Galinhas / PE. Feridas. SAO PAULO: SOBEST, v. 1. p. 140. 2011.

JUNIOR, R. S. F.; BARRAVIEIRA, B. **Arcabouço tridimensional para células tronco, processo de obtenção do mesmo e seu uso**, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/134228>>.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JUNQUEIRA, L. C. U.; MONTES, G. S.; SANCHES, E. M. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picrosirius-Polarization Method. **Histochemistry**, n. 74, p.153-156, 1982. PMID: 7085347 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7085347/>

KARU, T. I. Mitochondrial mechanisms of photobiomodulation in context of new data about multiple roles of ATP. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 2, p. 159-160, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20374017/>

KASAI, S.; KUNIMOTO, T.; NITTA, K. Cross-linking of fibrin by activated factor. XIII stimulates attachment, morphological changes and proliferation of fibroblasts. **Biomed**. n. 4, p. 155-60, 1983. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/biomedres/4/2/4_155/_pdf

KIERSZENBAUM, A.; TRES, L. **Histologia e Biologia Celular**. Elsevier Brasil, E-book Kindle.

KASHYAP, A. et al. Effect of povidone iodine dermatologic ointment on wound healing. **Am Surg**, v. 61, n. 6, p. 486-91, Jun 1995. ISSN 0003-1348. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7762895/>

LIMA, P. R. **Biopolímero de Fibrina como arcabouço biológico para células-tronco mesenquimais como potencial produtor osteogênico**. 2019. 90f. Tese (Doutorado em doenças tropicais) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Botucatu. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/182206/lima_pr_dr_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y

LINS, R. D. et al. Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo. **An Bras Dermatol**. n. 85, p. 849-55, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/PDZDkSSQdZkL5xdjYZh4VVN/?format=pdf&lang=pt>

MARTINEZ-HERNANDEZ, A.; AMENTA, P. S. Basic concepts in wound healing. In LEADBETTER, W. B.; BUCKWALTER, J. A.; GORDON, S. L. (Editores) **Sports-**

induced inflammation, Park Ridge, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1990, p. 609-618.

McFARLANE, R. M.; HEAGY, F. C.; RADIN, S.; AUST, J. C.; WERMUTH, R. E. A study of the delay phenomenon in experimental pedicle flaps. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 35, n. 3, p. 245-262, mar. 1965. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14261982/>

MEDEIROS, A. C; DANTAS-FILHO, A. M. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Revista de pesquisa cirúrgica e clínica**, v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/jsr/article/view/11438>

MELO, C. F. M. **Pesquisa de Bartonella spp. e Mycoplasma spp. e avaliação hemostática, hematológica e bioquímica sanguínea de primatas do gênero**. 2018. 85f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, p. 85. 2018. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/153714/melo_cmf_dr_jabo.pdf?sequence=3&isAllowed=y

MINATEL, D. G. et al. Fototerapia (LEDs 660/890nm) no tratamento de úlceras de perna em pacientes diabéticos: estudo de caso. **An Bras Dermatol.** n. 84, v. 3, p. 279-83. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300011>

MOTTA, B. et al. The evaluation of the healing process of diabetic foot wounds using image segmentation and neural networks classification. **International Journal of Biomedical Engineering and Technology**, v. 2, p. 940-950, 2019.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. **Int J Mol Sci.** n. 20, v. 8. p. 1-53, 2019. doi:10.3390/ijms20081811. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/8/1811>

OLIVEIRA JUNIOR, J. O; PORTELLA JUNIOR, C. S. A.; COHEN, C. P. Mediadores revolucionários na dor neuropática. **Rev. dor.**, São Paulo, v. 17, supl. 1, p. 35-42, 2016. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-00132016000500035&lng=en&nrm=iso>. acesso em 30 de agosto de 2018. <http://dx.doi.org/10.5935/1806-0013.20160045>.

OLIVEIRA, C. T. B. et al. Effects of fibrin sealant and bone fragments on defect regeneration performed on rat tibiae: An experimental study. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 104, p. 103662, 2020.

ORSI, P. R. et al. A unique heterologous fibrin sealant (HFS) as a candidate biological scaffold for mesenchymal stem cells in osteoporotic rats. **Stem Cell Res. Ther.**, v. 8, n. 1, p. 2-14, 29 de set. 2017. doi: 10.1186/s13287-017-0654-7. Disponível em: <https://stemcellres.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13287-017-0654-7.pdf>

PARAGUASSÚ, G. M. et al. Effects of LED phototherapy on relative wound contraction and reepithelialization during tissue repair in hypothyroid rats:

morphometric and histological study. **Lasers in medical science**, v. 29, p. 773–779. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23975568/>

PARIZOTTO, N. A.; BARANAUSKAS, V. Structural Analysis Of Collagen Fibrils After He-Ne Laser Photostimulated Regenerating Rat Tendon.. In: **Second World Congress WALT**, 1998, Kansas City. Annals. Kansas City MO. (USA), p. 66-67.1998.

SOUZA, P. G. de; CASTRO, M. S. de; SILVA, L. P. da. The Biology of fibroblastic proliferation: excessive extracellular collagen deposition during skin injury repair **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 28989-29010, mar. 2021 DOI:10.34117/bjdv7n3-560.

PAULA, S. Comparação do laser e do led no processo de cicatrização em feridas cutâneas: uma revisão. **Ciência e saúde**, Porto Alegre, v. 9, n. 1, p. 55-61, 2016. Disponível em: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/faenfi/article/view/21840>

PAVANI, A. A; FERNANDES, T. L. R. Plasma rico em plaquetas no rejuvenescimento cutâneo facial: uma revisão de literatura. *Revista Uningá review*, v. 29, n. 1, jan. 2018. ISSN 2178-2571. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1943>>.

PAZZINI, J. P. **Plasma rico em plaquetas empregado na cirurgia reconstrutiva em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**: Avaliação da exequibilidade da técnica, achados macroscópicos e histopatológicos. 2014. 88f. Dissertação (Mestrado em cirurgia veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/110437/000790824.pdf?sequenc e=1&isAllowed=y>

PINHEIRO, A. L. B.; ALMEIDA, P. F. de; SOARES, L. G. P.; Princípios fundamentais dos lasers e suas aplicações. In: **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**. v. 4. São Paulo: Blucher, 2017, p. 815-894.

PRAZERES, S. J. **Tratamento de Feridas**: Teoria e Prática. Porto Alegre: Morió Editora, 2009.

REHFELD, A.; NYLANDER, M.; KARNOV, K. **Compendium of histology: a theoretical and practical guide**. Springer, New York. (2017)

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **Eur Surg Res**. v. 49, p. 35–43, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22797712/>

RIVITTI, E. **Dermatologia de Sampaio e Rivitti**. São Paulo: Artes Médicas, 2018.

ROSA, M. F. F. et al. Desenvolvimento de tecnologia dura para tratamento do pé diabético: um estudo de caso na perspectiva da saúde coletiva. **Saúde debate**, Rio de Janeiro, v. 43, n. spe2, p. 87-100, nov. 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-

11042019000600087&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 16 de fev. 2021.
<https://doi.org/10.1590/0103-11042019s207>.

ROSSO, M. P. de O. et al. Stimulation of morphofunctional repair of the facial nerve with photobiomodulation, using the end-to-side technique or a new heterologous fibrin sealant. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Botucatu, v. 175, p. 20–28, 2017. Disponível em:
<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/175079/2-s2.0-85028054136.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

SALES, E. T. et al. Neutrofilia e hipoalbuminemia em sangue periférico de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*. **Ciência Animal**, v. 27, n. 1, p. 64-74. DCS. 2017. Disponível em:
http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/V27n1_pag64a74RCA.pdf

SANCHEZ, A. D.; ANDRADE, A. L.M.; PARIZOTTO, N. A. Eficácia da terapia a laser de baixa intensidade no controle da dor neuropática em camundongos. **Fisioter. Pesqui.** São Paulo, v. 25, n. 1, p. 20-27, mar. 2018. Disponível em:
 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-29502018000100020&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 04 out. de 2020.

SILVA, D. R. A. et al. Pressure ulcer dressings in critical patients: a cost analysis. **Ver. Esc. Enferm. USP.** 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-220X2016014803231>

SILVA, C. H. **Efeitos da terapia led de baixa potência em ratas ovariectomizadas com trauma tendíneo**: aspectos inflamatórios. 2013. 54f. Dissertação (mestrado em biofotônica aplicada às Ciências da Saúde) - Universidade Nove de Julho UNINOVE, São Paulo, 2013. Disponível em:
<https://bibliotecatede.uninove.br/bitstream/tede/1141/2/Carla%20Helrigle%20Silva.pdf>

SILVA, L. G. et al. Efeito do LED no processo de cicatrização em ratos Wistar lesados no dorso. **Fisioterapia Brasil**. v. 19, n. 5 (supl.), p. 70-74, 2018. Disponível em:
<https://portalatlanticaeditora.com.br/index.php/fisioterapiabrasil/article/view/2602/pdf>

SILVA, S. A.; PINTO, L. P.; BACELAR, I. A. O uso da radiofrequência no rejuvenescimento facial: revisão de literatura. **Revista Saúde em Foco**, v. 10, p. 569–580, 2018. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/07/067_O_USO_DA_RADIOFREQU%C3%80NCIA_NO_REJUVENESCIMENTO_FACIAL.pdf

SILVA SANTOS, J.; LIRA DE SA BARRETO, L. C.; KAMADA, I. Rosa mosqueta como potencial agente cicatrizante. **Rev Cubana Enfermer.** Ciudad de la Habana. v. 34, n. 1, e1235, mar. 2018. Disponível em:
 <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03192018000100013&lng=es&nrm=iso>

SIMKA, M.; MAJEWSKI, E. The social and economic burden of venous leg ulcers: focus on the role of micronized purified flavonoid fraction adjuvant therapy. **Am J Clin Dermatol.** v. 8, n. 4, p. 573-81, 2003. doi: 10.2165/00128071-200304080-00007. PMID: 12862500.

SIMÕES, T. M. S., et al. Photobiomodulation of red and green lights in the repair process of third-degree skin burns. **Lasers in Medical Sciencen**, v. 1, n. 35, p. 51–61. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02776-7>.

SOLEIMANI, M. et al. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts--an in vitro study. **Lasers Med Sci.** v. 2, n. 27, p. 423-430, 2012. doi:10.1007/s10103-011-0930-1

SOLMAZ, H.; DERVISOGLU, S.; GULSOY, M.; ULGEN, Y. Laser biostimulation of wound healing: bioimpedance measurements support histology. **Lasers Med. Sci.** v. 8, n. 31, p. 547-1554, 2016. <https://doi:10.1007/s10103-016-2013-9>

STEIN, A. et al. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. **Photomed Laser Surg.** v. 23, n. 2 p. 161-166, 2005. doi: 10.1089/pho.2005.23.161

TASSINARY, J. **Raciocínio clínico aplicado à estética facial.** Ed. Estética experts. 2019.

TAZIMA, M. F.; VICENTE, A. A.; MORIYA, T. **Biologia da Ferida e Cicatrização.** Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Paulo. 2008.

TIM, C. R. et al. Effects of low level laser therapy on inflammatory and angiogenic gene expression during the process of bone healing: A microarray analysis. **J Photochem Photobiol B.** n. 154, p. 8-15, 2016. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.10.028

TRUBIAN, P. S. et al., Effect of octreotide administered subcutaneously on the healing of gastric sutures in rats. **Arq Bras Cir Dig.** v. 3, n. 20, p. 172-178, 2007.

TUAN, T. L. et al. In Vitro Fibroplasia: Matrix Contraction, Cell Growth, and Collagen Production of Fibroblasts Cultured in Fibrin Gels. **Exp. Cell Res.** v. 223, n. 1, p.127–134, 1996. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8635484/>

VALBONESI, M. Fibrin glues of human origin. **Best practice & research. Clin Haemat.** v. 1, n. 19, p. 191-203, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16377550/>

VANSCHIEDT, W. et al. Treatment of recalcitrant venous leg ulcers with autologous keratinocytes in fibrin sealant: a multinational randomized controlled clinical trial. **Wound Repair Regen.** v. 3, n. 15, p. 308-315, 2007. doi:10.1111/j.1524-475X.2007.00231.x

VICENTE, E. J. D., et al. Regeneração do nervo periférico por meio de coaptação com cola de fibrina. **Rev. Méd. Hosp. Univ.** v. 33, p. 53–56, 2007. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/hurevista/article/view/61>

VIEIRA, C. P. B.; ARAÚJO, T. M. E. Prevalence and factors associated with chronic wounds in older adults in primary care. **Ver. Esc. Enferm. USP.** v. 52, p. 3415, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1980-220X2017051303415>

WERDIN, F.; TENENHAUS, M.; RENNEKAMPFF, H. Cuidados com feridas crônicas. **The Lancet**, 372, 1860-1862, 2008. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61793-6

VINCK, E. et al. Evidence of changes in sural nerve conduction mediated by light emitting diode irradiation. **Lasers in Medical Science**, London, v. 20, n. 1, p. 35-40, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15895289/>

VOWDEN, P. Hard-to-heal wounds Made Easy. **Wounds International**. v. 2, n. 4. 2011.

WHELAN, H. T. et al. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. **J Clin Laser Med Surg.** v. 21, n. 2, p. 67-74, 2003. <http://dx.doi.org/10.1089/104454703765035484>

WOLBANK, S. et al.; Redl, H. Non-invasive in vivo tracking of fibrin degradation by fluorescence imaging. **J. Tissue Eng. Regen. Med.** n. 9, p. 973–976, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25044309/>

ZEIN, R., SELTING, W.; HAMBLIN, M. R. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. **J Biomed.** v. 12, n. 23, p. 1-17, 2018. doi:10.1117/1.JBO.23.12.120901

ANEXOS

ANEXO A – CERTIDÃO DE APROVAÇÃO DO CEUA - UESPI



GOVERNO DO ESTADO DO PIAUÍ
 UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ
 - UESPI COMISSÃO DE ÉTICA NO USO
 DE ANIMAIS - CEUA



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “ASSOCIAÇÃO DO SELANTE DE FIBRINA E FOTOBIMODULAÇÃO COM LED NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS”. Protocolo número 0312/2019, sob responsabilidade de **Naldiana Cerqueira Silva**, para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei número 11.794 de 08 de outubro de 2008, Decreto número 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **DEFERIDO**, pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA/UESPI) da Universidade Estadual do Piauí.

ESPÉCIE	SEXO	VIGÊNCIA DO PROJETO	Nº DE ANIMAIS
RATO HETEROGÊNICO	MACHO	03 ANOS	128

TERESINA, 20 DE MARÇO DE 2019



Dr. Francisco Araújo
 Sub-Coordenador CEUA/UESPI
 Portaria Nº 1347 - 20/11/14
 CRMV - 0415/17