

# ANÁLISE CLÍNICA E HISTOLÓGICA DO EFEITO DA RADIAÇÃO INFRAVERMELHO LONGO SOBRE O PROCESSO INICIAL DE REPARAÇÃO EM FERIDAS DE RATOS

Jorge. L. R. Oliveira<sup>1</sup>, Daniel Sonnewend<sup>1</sup>, Renata A. Nicolau<sup>1,2</sup>, Miguel A.C.Salgado<sup>3</sup>  
Luis A. Conrado<sup>1,2</sup>, Renato A. Zângaro<sup>1,2</sup>, Marcos T. T. Pacheco<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências da Saúde (FCS), Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), São José dos Campos (SP), Brasil, 12244-000, Fone: +55 12 3947 1014, Fax: +55 12 3947 1149

<sup>2</sup>Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Centro de Laser em Odontologia, UNIVAP

<sup>3</sup> Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José dos Campos (SP), Brasil, Fone: +55 12 39479005

jorgero@hotmail.com, danielsonnewend@yahoo.com, rani@univap.br, miguel@fosjc.unesp.br, conrado@univap.br, zangaro@univap.br, mtadeu@univap.br

**Resumo-** Têm-se atestado a efetividade da radiação no infravermelho longo (IVL) sobre o processo de reparação e dor. Este trabalho teve por finalidade avaliar a efeito da radiação no IVL no processo inicial de reparação tecidual cutânea em dorso de ratos. Foram utilizados 12 animais, divididos em 2 grupos: controle e tratado com radiação IVL durante 30 minutos, imediatamente após o procedimento cirúrgico. O efeito da terapia com radiação IVL (6000-15000 nm, 10  $\mu$ W, 36°C) sobre as lesões cutâneas, foi avaliado diariamente através de análise clínica e fotográfica durante 7 dias pós-cirurgia. Realizou-se a análise histológica da área lesionada de forma quantitativa. Observou-se na avaliação clínica diferença significativa do diâmetro da lesão no grupo tratado com radiação IVL em comparação ao grupo controle, nos períodos de 96 ( $p < 0,01$ ) e 120 horas ( $p < 0,05$ ). Na avaliação histológica não foram detectadas diferenças estatísticas no número de células inflamatórias e fibroblastos, na comparação entre o grupo controle e tratado com IVL. Concluiu-se que o IVL promove aumento da drenagem linfática sem modificar padrões fisiopatológicos de celularidade inflamatória e proliferativa.

**Palavras-chave:** Infravermelho longo, inflamação, reparação de feridas, biomodulação

**Área do Conhecimento:** IV - Ciências da Saúde

## Introdução

O processo de reparação de feridas ocorre inicialmente com resposta inflamatória, caracterizada pelo aumento de fluxo sanguíneo, permeabilidade capilar e migração de leucócitos para a região lesada. A permeabilidade capilar promove extravasamento de plasma e seus componentes com formação de exsudato inflamatório (MODOLIN et al., 1985). Inicialmente, a ferida é preenchida por coágulo, fibrina e exsudato, formando uma crosta que a isola do meio ambiente quase que imediatamente (ROBBINS, 1996; COTRAN et al., 1989). O tecido de granulação ao se contrair, retrai as bordas da ferida para o centro da lesão, permitindo que a área a ser reepitelizada se torne menor. Quando o tecido de granulação é excessivo, pode ocorrer retardamento da cicatrização (OLIVEIRA, 1992). Atualmente verifica-se um grande número de pesquisas voltadas para conhecimento e melhora do tratamento de feridas, ou seja, no processo de reparação tecidual. Dentre elas se destacam as pesquisas nas áreas de laser de baixa potência e radiação infravermelha (IVL).

A radiação infravermelho é subdividida arbitrariamente em três categorias: radiação no infravermelho próximo (0,8-1500 nm), médio

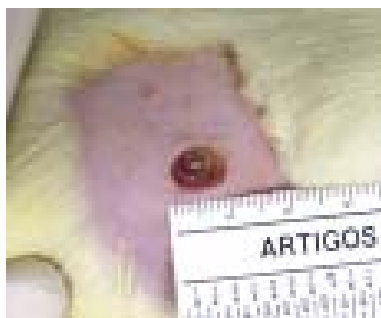
(1500-5600 nm) e longo (5600-10000 nm). Este tipo de radiação pode ser percebido como calor pelas terminações nervosas especializadas, ou seja, os termorreceptores da pele (DOVER et al., 1989) e por vibração molecular das células (GUYTON; HALL, 1998). A quantidade de reflexão da radiação visível varia com a cor da pele, porém para o infravermelho terapêutico é insignificante, sendo 95% da radiação aplicada perpendicularmente à pele absorvida (LOW et al., 2001). Segundo autores (TOYOKAWA et al., 2003), o IVL, sobre tecido em processo inflamatório, pode gerar ligeira elevação da temperatura com notado aumento da atividade celular. Teorias indicam que a energia gerada pelo aumento da temperatura é absorvida pelas células através de sua membrana plasmática, melhorando a circulação local.

A vasodilatação capilar venosa, aumento do metabolismo celular e aumento da capacidade de drenagem linfática de fluidos intersticiais favorecem o processo de cicatrização (PÉREZ et al., 1995). Um dos efeitos da radiação luminosa sobre tecidos e a promoção de uma vibração molecular, o que leva os tecidos a um aumento no metabolismo chamado bioestimulação (RIGAU, 1996). Este trabalho teve por finalidade avaliar a efeito do IVL no processo inicial de

reparação tecidual em ratos, visando controlar a resposta inflamatória inicial.

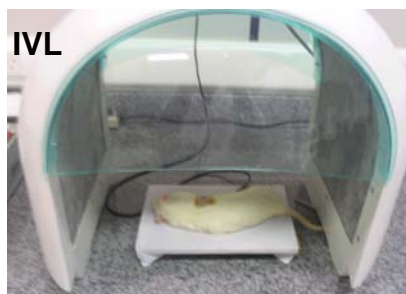
## Materiais e Métodos

Foram utilizados 12 ratos Wistar (*Rattus Norvegicus*, variação albinos), machos, com peso corpóreo aproximado de 250 gramas. Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 7 dias no biotério de passagem do IP&D. Os animais foram divididos em 2 grupos (n = 6): controle e tratados com IVL. Foi realizada a pesagem dos animais e administração de pré-anestésico Butorfanol (Torbugesic®, 2mg/kg) associado à Acepromazina 0,2% (Acepran®, 1mg/kg), ambos administrados em dose única, via intramuscular. Após 15 minutos foram administrados Zolazepan e Tiletamina (Zoletil 50®, 40 mg/kg). Os animais foram tricotomizados na região dorsal direita. Foi realizada uma incisão circular com o auxílio de instrumento para biopsia tipo "punc" estéril, com 8 mm de diâmetro, na região tricotomizada (figura 1).



**Figura 1:** Lesão cutânea em dorso de rato (0,5 cm<sup>2</sup>).

Os animais dos grupos IVL foram expostos à radiação IVL (Dome Face® - Invel) por um período de 30 minutos imediatamente pós-lesão (figura 2).



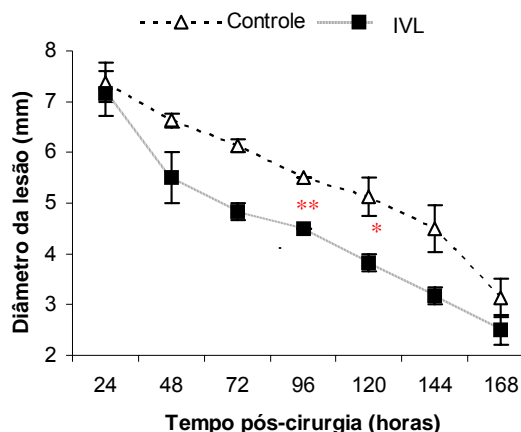
**Figura 2:** Animais recebendo a terapia com IVL.

A temperatura do equipamento foi fixada em 36°C. Os animais do grupo controle não sofreram nenhum tipo de terapia pós-cirúrgica. A região lesada dos animais foi acompanhada diariamente

através avaliação de clínica (diâmetro da ferida e presença de edema, exsudato e/ou crosta). Aos 7 dias pós-lesão todos os animais foram anestesiados e sacrificados com dose letal de cloreto de potássio a 10% (KCl, 4 ml/kg de peso corpóreo). A região lesionada foi excisionada em sua espessura integral, com uma margem de 5 mm de tecido saudável circundante. Foram utilizados 6 animais para a análise histológica (3 animais por grupo). A peça anatômica foi fixada em formol a 10%, a coloração empregada no processo histológico foi Hematoxilina e Eosina (H&E). Para a quantificação das células inflamatórias e fibroblásticas, foram digitalizados três campos de análise por lâmina, em um total de três lâminas por animal. Todas as imagens digitalizadas foram padronizadas quanto à intensidade de luz do microscópio e altura do condensador. A área de análise por campo foi de 50805 μm<sup>2</sup>. A contagem de células foi realizada com o auxílio do programa *Leica Qwin*® (RABELO et al., 2006). Os valores de diâmetro das feridas, o número de fibroblastos e células inflamatórias, estão expressos por média e erro-padrão, submetidos ao teste estatístico ANOVA com pós-teste de Bonferroni. O nível de significância estabelecido foi de 5% (p<0,05). Para análise dos resultados estatísticos utilizou-se o programa *Graph Pad Prism*®, versão 2.0.

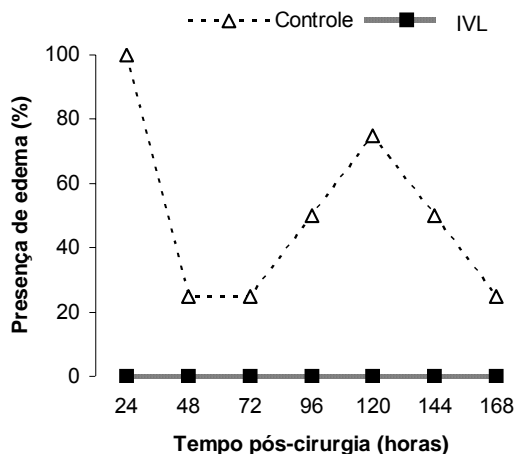
## Resultados

Análise do diâmetro das feridas pós 7 dias de cirurgia estão resumidos na figura 3. O grupo IVL, comparado ao grupo controle, apresentou diferença significativa quanto à redução do diâmetro da lesão nos períodos de 96 (p<0,01) e 120 horas (p<0,05).

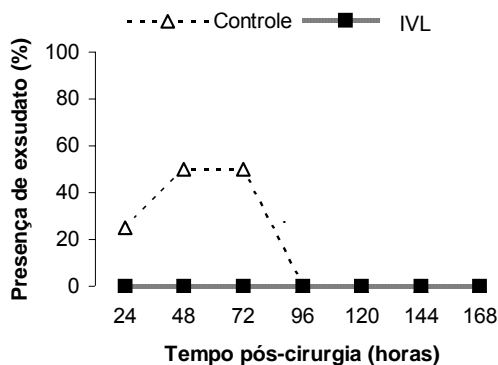


**Figura 3:** Diâmetro da lesão nos diferentes grupos entre 24 e 168 horas pós-cirurgia. Os dados estão expressos em média ± erro (\*\* p<0,01 e \* p<0,05).

Na avaliação do quadro inflamatório podem se observar sinais de inflamação (edema e exsudato inflamatório) de forma exacerbada no grupo controle em relação aos demais grupos, principalmente no início do processo cicatricial até 72 horas (figura 4).

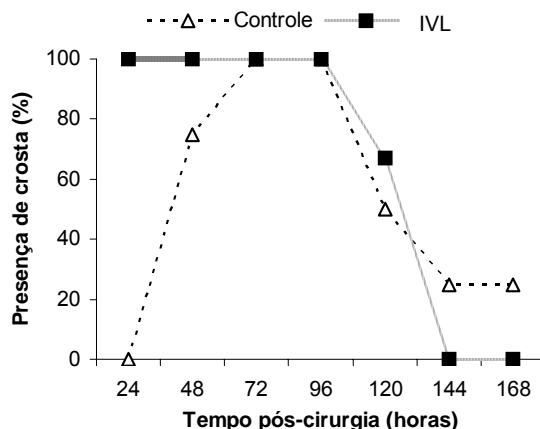


**Figura 4:** Desenvolvimento de edema entre 24 e 168 horas pós-cirurgia nos animais tratados com infravermelho em comparação com os animais controle. Os dados estão expressos em porcentagem (%).



**Figura 5:** Presença de exsudato inflamatório pós-cirurgia dos grupos experimentais. Os dados estão expressos em porcentagem (%).

A presença de crosta nos animais foi avaliada no diferentes grupos (figura 6).



**Figura 6:** Presença de crosta pós-cirurgia nos animais controles e tratados. Os dados estão expressos em porcentagem (%).

A análise clínica do grupo controle apresentou em 24 horas, sinais de inflamação evidentes, como edema em 100% dos animais e presença de exsudato inflamatório em 25% dos animais. Nenhum animal do grupo controle apresentou formação de crosta sobre a lesão. No período entre 48 e 72 horas, os sinais de inflamação mantiveram-se em 25%. Entre o período de 96 e 120 horas houve elevação do nível de edema. Somente no período entre 120 e 168 horas os sinais inflamatórios apresentavam uma diminuição chegando a 25% no final do experimento nos animais do grupo controle. Na análise do grupo IV, após 24 horas, nenhum animal apresentou sinais de inflamação (edema e exsudato inflamatório), essa condição permaneceu até o fim do experimento. A formação de crosta teve início em 100 % dos animais após 24 horas e no período de 96 horas os animais começavam a perder a crosta, e apresentar contração da lesão.

Através da análise das lâminas histológicas de cada animal, não foi verificada diferença significativa na comparação entre o grupo controle e o grupo IVL no que se refere à contagem de células inflamatórias e também na contagem de fibroblastos. Na tabela 1 estão resumidos os valores da análise histológica.

**Tabela 1:** Análise de células inflamatórias (área = 50805µm<sup>2</sup>) do grupo controle e grupo IVL.

Parâmetros de análise	Grupo controle	Grupo IVL
Células inflamatórias	9,86 ± 2,68	5,42 ± 1,47
Fibroblastos	293,11 ± 21,23	323,03 ± 21,75

## Discussão

A análise dos resultados possibilitou comparar o efeito da terapia com IVL sobre o processo de reparação tecidual em feridas cutâneas de rato. Os resultados clínicos obtidos neste estudo demonstraram que existem diferenças significativas quanto à aceleração na contração da ferida tratada com IVL em relação à reparação normal, principalmente nos períodos de 96 ( $p < 0,01$ ) e 120 ( $p < 0,05$ ) horas. Através da avaliação clínica pode-se verificar uma diminuição acentuada do processo inflamatório nos animais do grupo IVL, no qual a partir da primeira avaliação (24 horas), já não existiam sinais de inflamação (edema e exsudato inflamatório), diferentemente dos demais grupos (figuras 4, 5 e 6). Esta ausência de sinais de inflamação nos animais do grupo IVL provavelmente ocorreu devido ao aumento da permeabilidade capilar e linfática acelerando a drenagem dos fluidos oriundos do processo inflamatório (KUROKAWA, 1999). Autores atribuem à radiação IVL o efeito de vasodilatação capilar venosa, aumento do metabolismo sangüíneo e de outros tecidos do corpo, e aumento da capacidade de drenagem linfática de fluidos intersticiais (MAEDA et al., 1997, KITCHEN; PATRIDGE, 1991, INQUE; KABAYA, 1989).

Neste estudo, observou-se na análise clínica que houve início da formação de crosta no grupo IVL (100%) na primeira análise (24 horas), ao passo que o controle obteve essa formação somente 48 horas pós-lesão. Essa formação precoce no grupo IVL provavelmente favoreceu o processo de reparação, haja visto que, a presença de corpos estranhos nas lesões destes grupos foi menor que no grupo controle, a crosta caracterizou-se como uma barreira diminuindo o risco de infecções. Os resultados sugerem uma ação da radiação IVL, quanto ao aumento da drenagem linfática nos primeiros momentos da fase flogística, com aceleração do processo de reparação no período que compreende entre o 4º e o 5º dia, onde ocorre aumento significativo da força de tensão devido à fibroplasia e produção de colágeno, e a neovascularização atinge seu limite máximo (KUROKAWA, 1999). A redução dos sinais inflamatórios pode ser clinicamente de extrema importância, pois, a redução do edema está diretamente relacionada ao menor estímulo de terminações nervosas livres na área de lesão, com conseqüente redução no processo algico (ROBBINS, 1996; SIMONEU, 2002). A existência de formação de pelos e desprendimento da crosta mais acelerada no grupo IVL pode indicar uma estimulação de síntese celular por esta terapia. Já, no que se refere à análise histológica, os resultados demonstraram que não houve

diferença significativa entre os grupos quanto ao número de células inflamatórias e fibroblastos discordando de Toyokawa et al. (2003) que afirma que o infravermelho longo tem uma ação positiva quanto a proliferação de fibroblastos e conseqüentemente favorecimento do processo de remodelação tecidual da área lesada.

## Conclusão

O efeito positivo da radiação Infravermelho longo na redução do processo inflamatório é evidente clinicamente, uma vez que nenhum animal apresentou formação de edema ou exsudato inflamatório entre 24 e 168 horas pós-cirurgia.

Quanto ao diâmetro da lesão a terapia testada demonstrou uma aceleração no fechamento desta.

A terapia com infravermelho longo testada, não influencia na proliferação de fibroblastos e no número de células inflamatórias.

## Referências

- COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L., **Robbins patologia estrutural e funcional**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989.
- DOVER, J. S.; PHILLIPS, T. J.; ARNDT, K. A. Cutaneous effect and therapeutic uses of heat with emphasis on infrared radiation, **J Am Acad Dermatol.** v. 20, n. 2 Pt 1), p. 278-86, 1989.
- GUYTON AS, HALL JEH. **Fisiologia humana e mecanismos das doenças**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 181-190 e 514-519, 1998.
- INQUE, S. KABAYA, M. Biological activities caused by infra-red radiation. **Int J Biometerol** v. 33, p. 145-150. 1989.
- KITCHEN, S.; PATRIDGE, C. Infra-red therapy. **Physioth.** v. 77, n. 4, p. 249-254, 1991.
- KUROKAWA, T. **Far Infrared – All Treatments**, Tokyo: Koosaido Insatsu Kabushiki, 1999.
- LOW, J.; REED, A.. **Eletroterapia explicada**. 3 ed., p. 371-387, 2001.
- MAEDA K. **Far infrared – treatment and medical revolution**, Tokyo: Toppan Insatsu Kabushiki, 1997.
- MODOLIN, M; BEVILACQUA, R. G., Cicatrização das feridas. Síntese das aquisições recentes, **Rev Bras Clin Ter.** v. 38, n. 6, p. 208-213, 1985.

- OLIVEIRA, H. P. Traumatismos nos animais domésticos, **Cad Téc Esc Vet.** v. 1, n. 7, p. 01-57, 1992.
- PÉREZ, A.C.N., MENRTINEZ, A.J.A. **Fibra de photon-platino.** Santiago de Compostela, p. 7-71.1995.
- RABELO S. B., et al. Comparison between Wound Healing in Induced Diabetic and Nondiabetic Rats after Low-Level Laser Therapy. **Photom Laser Surg.** v 24, n 4, p. 474-479, 2006.
- RIGAU, J. **Accion de la luz laser a baja intensidad em la modulacion de la funcion celular.** Reus, Tese (doutorado em histologia), Facultat de Medicina i Ciència de la salut Univ. Rovira i Virgili, 1996.
- ROBBINS, S. L., et al. **Patologia básica.** 5<sup>o</sup> ed. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 76-78.
- SIMONEU, LA. **Etude de l'efficace clinique cosmetique & effects biometrologique d'une methode associant produit cosmetque, soins esthetique & utilisation du DOME PROFESSIONAL VISAGE INVEL** s.l.:s.ed. 2002.Op
- TOYOKAWA H, et al. Promotive Effects of Far-Infrared Ray on Full-Thickness Skin Wound Healing in Rats. **Exper Biol Med.** v. 228, n. 6, p. 724-729, 2003.