



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas**

**EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA CICATRIZAÇÃO DE  
FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS:  
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS PRIVADOS DE SONO**

**FABIANA APARECIDA BOTTA AMARO**

**Brasília-DF**  
**2018**

**FABIANA APARECIDA BOTTA AMARO**

**EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA CICATRIZAÇÃO DE  
FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS:  
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS PRIVADOS DE SONO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Ciências Aplicadas em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Ventura Gaio dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. João Batista de Sousa

**Brasília-DF**

**2018**

**FABIANA APARECIDA BOTTA AMARO**

**EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA CICATRIZAÇÃO DE  
FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM  
RATOS PRIVADOS DE SONO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas Faculdade de Medicina Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas em Saúde.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. João Batista de Sousa  
(Presidente)  
Universidade de Brasília

---

Profa. Dra. Aline Maria Araújo Martins  
(Membro externo)  
Hospital Universitário de Brasília

---

Prof. Dr. Ciro Martins Gomes  
(Membro Titular)  
Universidade de Brasília

---

Profa. Dra. Ana Lúcia da Silva  
(Membro suplente)  
Universidade de Brasília

*Dedico este trabalho ao meu esposo Waldemir Amaro, ao nosso filho Victor Botta Amaro, aos meus pais José Antônio Botta e Maria Lima Botta, por nunca deixarem de me apoiar em todas as etapas da minha vida. Este projeto, que hoje concluo, é uma conquista nossa.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, porque nos momentos em que eu pensava em desistir ele me fortalecia em sabedoria e esperanças.

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr. Carlos Eduardo Ventura Gaio dos Santos, pela ajuda no desenvolvimento deste projeto.

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr. João Batista Sousa, ao qual não tenho palavras para descrever tamanha gratidão por tanta dedicação e divisão de conhecimentos. Conhecimentos que levarei por toda a vida.

À médica veterinária Carina da Costa Krewer, responsável pelo Laboratório de Psicobiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, pela realização dos procedimentos anestésicos e analgésicos durante a realização dos testes.

Ao médico veterinário Rafael Rocha de Andrade, responsável técnico pelo Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, pelo suporte e apoio indispensável durante o experimento.

Ao acadêmico de Medicina Jonathan Matheus Martins Rodrigues pela ajuda na fase experimental.

A Fisioterapeuta Raquel Pinto Caldeira Almeida, pelo auxílio em todas as etapas experimentais.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro concedido para o desenvolvimento deste estudo.

## RESUMO

AMARO, Fabiana Aparecida Botta. **Efeito do laser de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas induzidas: estudo experimental em ratos privados de sono.** Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas Faculdade de Medicina Universidade de Brasília, DF, 2018.

O estresse desencadeado pela privação do sono tem sido referido como capaz de prejudicar a cicatrização de feridas. Há diversos estudos em que os autores demonstraram que o tratamento com Laser de Baixa Intensidade melhorou a cicatrização. **Objetivo:** Este trabalho foi delineado para estudar os possíveis efeitos do laser de baixa intensidade na cicatrização de feridas cutâneas abertas induzidas no dorso de ratos privados de sono. **Método:** 48 ratos machos, com peso de 306,58 gramas  $\pm$  17,72, distribuídos em 6 grupos de 8 animais. Dezesesseis (16) animais, não operados foram utilizados para estudar o efeito da privação de sono na resistência da pele integra: grupo de animais privado de sono (TPs) e grupo não privado de sono (TnPs). As variáveis obtidas destes dois grupos foram comparados entre si e separado. Os 32 animais restantes foram operados e distribuídos em: grupo não privado de sono e operado (CnPs); grupo privado de sono e operado (CPs); grupo não privado de sono e tratado com laser (CnPsL); grupo não privado de sono e tratado com laser (CPsL). Os animais foram privados de sono por 96 horas com a utilização do modelo de plataforma múltiplas. As drogas utilizadas para anestesia foram Cetamina e Xilazina. A operação, em cada animal, consistiu na produção de uma ferida no dorso que media 2 cm x 1 cm. Esta ferida incluía a pele e o tecido celular subcutâneo que era deixada aberta para cicatrizar por segunda intenção. O laser foi utilizado do 5<sup>o</sup> ao 15<sup>o</sup> dia. Os animais foram reoperados no 15<sup>a</sup> para a remoção da cicatriz e a seguir eutanásia. As variáveis estudadas foram a variação de peso, a força de ruptura da cicatriz, parâmetros histopatológicos e níveis séricos de cortisol. **Resultados:** Não houve óbitos e no dia da reoperação todas as feridas estavam fechadas. Os animais privados de sono, grupos CPs (- 47,63 $\pm$ 21,33) e CPsL (- 46,38 $\pm$ 6,05), tiveram perda de peso, já os animais dos grupos CnPs (+21,13 $\pm$ 21,20 e CnPsL (+ 7,50 $\pm$ 22,32) ganharam peso ( $p < 0,0001$ ). A mediana da força de ruptura no grupo CnPs foi 49,75 N com amplitude inter - quartil de  $\pm$ 104,65 e maior que nos grupos CPs (3,75 $\pm$ 5,89 N) e CPsL (3,90 $\pm$ 1,68 N) – ( $p = 0,0062$ ). O grupo CnPsL apresenta força de ruptura de (201,15 $\pm$ 191,0 N), menor concentração de Mono (57,14 %) e poliformo (57,14%), fibroblastos 100% e menor concentração de cortisol sanguíneo (0,95 $\pm$ 0,66) comparados aos outros grupos. **Conclusão:** A privação de sono causou perda de peso nos animais e, também, reduziu a força de ruptura nas feridas. A terapia com o laser não interferiu na força de ruptura das feridas nos animais privado de sono. Entretanto, esta foi capaz de aumentar a força de ruptura das feridas nos animais não privados de sono.

**Palavras-chave:** Privação do Sono, Feridas, Terapia de Laser de Baixa Potência, Força de ruptura, Cicatrização.

## ABSTRACT

AMARO, Fabiana Aparecida Botta. **Effect of low power laser on the healing of induced skin wounds: experimental study in sleep deprived rats.** Master's Dissertation presented to the Post-Graduate Program in Medical Sciences Faculty of Medicine University of Brasília, DF, 2018.

Stress triggered by sleep deprivation has been reported as capable of impairing wound healing. There have been several studies in which the authors demonstrated that Low Intensity Laser treatment improved healing. **Objective:** This study was designed to study the possible effects of low intensity laser on the healing of open cutaneous wounds induced in the dorsum of sleep deprived rats. **Method:** 48 male rats, weighing 306.58 grams  $\pm$  17.72, distributed in 6 groups of 8 animals. Sixteen (16) non-operated animals were used to study the effect of sleep deprivation on skin resistance: group of animals deprived of sleep (TPs) and non-deprived group of sleep (TnPs). The variables obtained from these two groups were compared to each other and separated. The remaining 32 animals were operated on and distributed in: non-sleep-deprived and operated group (CnPs); private sleep and operated group (CPs); non-deprived sleep group and laser treated (CnPsL); group not deprived of sleep and treated with laser (CPsL). The animals were deprived of sleep for 96 hours using the multiple platform model. The drugs used for anesthesia were Ketamine and Xylazine. The operation in each animal consisted in the production of a wound on the back that measured 2 cm x 1 cm. This wound included skin and subcutaneous cellular tissue that was left open to heal by second intention. The laser was used from the 5th to the 15th day. The animals were reoperated at the 15th for scar removal and then euthanized. The variables studied were weight variation, scar breaking strength, histopathological parameters and serum cortisol levels. **Results:** There were no deaths and on the day of reoperation all wounds were closed. Sleep deprived animals, CPs (- 47.63  $\pm$  21.33) and CPsL (- 46.38  $\pm$  6.05) had weight loss, whereas the animals of the CnPs groups (+ 21.13  $\pm$  21, 20 and CnPsL (+ 7.50  $\pm$  22.32) gained weight ( $p < 0.0001$ ). The median rupture force in the CnPs group was 49.75 N with an interquartile range of  $\pm$  104.65 and greater than in the CPs (3.75  $\pm$  5.89 N) and CPsL (3.90  $\pm$  1.68 N) - ( $p = 0.0062$ ) groups. The CnPsL group showed a tensile strength of (201.15  $\pm$  191.0 N), a lower concentration of Mono (57.14%) and polyform (57.14%), 100% fibroblasts and a lower concentration of blood cortisol (0.95  $\pm$  0.66) compared to the other groups. **Conclusion:** The laser therapy did not interfere in the force of rupture of the wounds in the sleep-deprived animals, however, it was able to increase the force of rupture of the wounds in the animals deprived of sleep.

**Keywords:** Sleep Deprivation, Wounds, Low Power Laser Therapy, Bursting Force, Healing.

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Efeito bioestimulativo do trófico tissular.....	18
<b>Quadro 2</b> - Subdivisão dos grupos e seus respectivos tratamentos.....	24

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Registro dos animais experimentais, no alojamento do laboratório de cirurgia experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília .....	22
<b>Figura 2</b> - Registro dos animais experimentais, no alojamento do laboratório de psicobiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília .....	23
<b>Figura 3</b> - Registro de pesagem utilizada nos animais .....	25
<b>Figura 4</b> - Registro do procedimento anestésico utilizada nos animais .....	25
<b>Figura 5</b> - Desenho experimental dos grupos TnPs: grupo de animais não privado do sono; TP: grupo de animais privado de sono, sendo: Ps privação do sono, D0 início do experimento, D5 (término da privação de sono).....	26
<b>Figura 6</b> – Desenho experimental dos grupos: 3 (G3): CnPs, Grupo 4 (G4) CPs, Grupo 5 (G5) CnPsl e grupo 6 (G6) CPsl. Sendo: Ps: privação do sono, D0 (dia da 1ª operação e início do tramadol), D3 (término do tramadol), D5 TnPs: Grupo de animais não privado do sono; TP: grupo de animais privado de sono; CnPs: grupo de animais não privado de sono e operados; CPs: grupo de animais privado de sono; CnPsl: grupo de animais não privado de sono e tratado com laser; Cpsl: grupo de animais privado de sono e tratados com laser .....	27
<b>Figura 7</b> - Fotografia do animal 43 posicionado em decúbito ventral com a ferida recém-criada. ....	28
<b>Figura 8</b> – Caixa de acrílico de plataformas múltiplas (10cm de altura x5cm de diâmetro) para privação do sono.....	29
<b>Figura 9</b> - Fotografia da caixa de privação de sono, com 8 animais em plataformas individuais.....	30
<b>Figura 10</b> - Fotografia do animal 23 na plataforma em estado de sono paradoxal...31	
<b>Figura 11</b> - Aplicação do Laserpulse Ibramed com caneta 660, individual em cada animal lesionado .....	34
<b>Figura 12</b> - Fotografia da peça retirada para medida força de ruptura e estudo histopatológico .....	35
<b>Figura 13</b> - Fotografia do aparelho Versa Test contendo amostra do segmento tecidual força de ruptura do animal 43 .....	36
<b>Figura 14</b> - Fotografia do teste da força de ruptura do animal 43.....	36
<b>Figura 15</b> - Reparação e regeneração de feridas .....	46

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Variável descritiva do grupo TnPs.....	39
<b>Tabela 2</b> - Variável descritiva do grupo TPs .....	39
<b>Tabela 3</b> - Variável descritiva do grupo CPs .....	40
<b>Tabela 4</b> - Variável descritiva do grupo CnPs .....	40
<b>Tabela 5</b> - Variável descritiva do grupo CPsl .....	40
<b>Tabela 6</b> - Variável descritiva do grupo CnPsl.....	41
<b>Tabela 7</b> - Variação do peso dos animais não operados.....	41
<b>Tabela 8</b> - Comparação de peso entre os grupos no D0, D5 e D15.....	42
<b>Tabela 9</b> - Comparação de Força Ruptura e Cortisol entre grupos não operados....	43
<b>Tabela10</b> -Comparação de Força Ruptura entre os grupos operados.....	43
<b>Tabela 11</b> - Comparação Cortisol entre os grupos operados.....	44
<b>Tabela12</b> -Associações das variáveis histológicas dos grupos operados.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALGA <sub>inp</sub>	Alumínio -Gálio -Índio -Fosforo
ANOVA	Análise de variância
AsGA	Arseneto de Gálio
ATP	Adenosina trifosfato
CEUA	Comitê de Ética no Uso Animal
D0	Dia da Operação
D1	1º dia pós-operatório
D3	3º dia pós-operatório
D5	5º dia pós-operatório
D15	15º dia reoperação e da eutanásia
CnPs	Grupo de animais não Privados de Sono e Operados
CPs	Grupo de animais Privados de Sono e Operados
CnPsL	Grupo de animais não Privados de Sono tratados com Laser
CPsL	Grupo de animais Privados de Sono tratados com Laser
MMP	Método de privação de sono pelas plataformas múltiplas
TLBI	Terapia Laser de Baixa Intensidade
TnPs	Grupo de animais não Privados de Sono e não operados
TPs	Grupo de animais Privados de Sono e não operados

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	20
2.1 Geral.....	20
2.2 Específicos .....	20
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	21
3.1 Tipo de estudo .....	21
3.3 Delineamento experimental .....	24
3.4 Protocolo experimental .....	24
3.5 Método de indução da ferida .....	28
3.6 Protocolo de privação do sono de 96 horas.....	29
<b>3.6.1 Processo de confecção da caixa de privação do sono</b> .....	29
<b>3.6.2 Privação de sono</b> .....	29
3.7 Método de aplicação do laserpulse algainp 660 nm .....	31
<b>3.7.1 Formula para determinar o tempo de aplicação</b> .....	31
<b>3.7.2 Dosimetria</b> .....	32
<b>3.7.3 Tempo de emissão do laser para se depositar 3j/cm<sup>2</sup> no tecido epitelial</b> 32	
<b>3.7.4 Cálculo para determinar o jauls /cm<sup>2</sup> por ponto de aplicação</b> .....	32
<b>3.7.5 Cálculo para determinar a potência média</b> .....	33
<b>3.7.6 Tempo de emissão da energia para densidade para 3 j/cm<sup>2</sup></b> .....	33
<b>3.7.7 Tempo de aplicação</b> .....	33
3.8 Operação para remoção da pele com cicatriz .....	34
3.9 Medida de força.....	35
3.10 Avaliação histopatológica .....	37
3.10.1 Preparação do tecido para análise histopatológica .....	37
3.11 Análise do cortisol sanguíneo.....	38
3.12 Análise estatística .....	38
<b>4 RESULTADOS</b> .....	39
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	47
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	54
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	55
<b>ANEXO 1 - DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES</b> .....	59
<b>ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO CEUA</b> .....	60

## 1 INTRODUÇÃO

A cicatrização ocorre em uma sequência de alterações moleculares e celulares, cujo objetivo é a restauração do tecido lesado, sendo o reparo do tecido traumatizado feito por substituição do tecido conjuntivo cujo resultado é a formação de uma cicatriz (JUNIOR et.al., 2006).

O processo de cicatrização é iniciado a partir do acometimento de uma lesão, quer seja por agentes mecânicos, térmicos, químicos ou até mesmo bacterianos. Estas fases importantes envolvem vários estágios na pele para sua cicatrização, tais como: inflamatório, proliferativo, estágio da síntese da matriz, neovascularização, e por fim, o estágio de maturação do tecido lesionado (GUO et.al.; 2010).

A matriz extracelular é remodelada por metaloproteinases que incluem colagenases intersticiais, colagenases tipo IV e gelatinases. A ação das metaloproteinases, na degradação do colágeno, pode ser estimulada por estresse biomecânico ou aumento da tensão das fibras de colágeno (KARUKONDA et al., 2000).

Ao discorrer sobre os estágios após uma lesão, tem-se no estágio de coagulação a associação da quantidade de plaquetas circulantes e plasma, essas plaquetas, anteriormente ativadas por trombinas, são capazes de ativar enzimas anti-inflamatórias que favorecem a liberação de diversas aminas vasoativas, conhecidas como fibrinogênio, fibronectina, monócitos, linfócitos, células endoteliais, fibroblastos e macrófagos, responsáveis pelo processo de remodelamento tecidual (EGYDIO, 2013).

Os macrófagos são essenciais para o auxílio na limpeza de restos e possíveis agentes contaminantes, pois, começam a desaparecer juntamente com a diminuição da angiogênese e da proliferação de fibroblastos (BEANES et al., 2003; JUNIOR et.al., 2006; KARUKONDA et al., 2000).

No estágio de remodelamento que dura um período muito maior, embora a ferida esteja com aspecto semelhante ao tecido saudável, no seu interior está ocorrendo pela remodelação de colágenos, o que favorece o ganho de resistência

tensil e força do tecido rompido anteriormente (GUO et.al.; 2010). Para formar filamentos de colágeno, que são ricos em unidades de hidroxilisina e hidroxiprolina, este depende das ligações cruzadas intermoleculares que tornam a estabilidade da fibra de colágeno resistente à tração. Quanto mais ligações cruzadas em intermoleculares de colágeno, maior a força de ruptura na cicatrização de feridas permitem formar fortes ligações cruzadas (JUNIOR et. al., 2006).

Diversos fatores são prejudiciais à cicatrização, como a ausência do suprimento sanguíneo, presença de corpo estranho, contaminação local, estado nutricional do paciente, bem como a utilização de determinadas drogas. Porém, o fator que altera o conteúdo de colágeno, de forma a interferir na síntese dessa proteína e no equilíbrio da lise, pode inibir o processo de cicatrização, como resposta ao aumento da produção de colagenese (OLIVEIRA, 2017).

Esses fatores assumem importante relevância clínica na necessidade em diminuir ou minimizar as intercorrências nesse processo, o que pode contribuir para a redução de suas complicações, mas dentre todos esses fatores pode-se incluir que a redução do tempo de sono ou a sua privação é uma das várias consequências negativas da contemporaneidade, por gerar um elevado estresse significativo para o organismo (ROSE et al, 2001).

Vários autores demonstraram que o estresse prejudica a qualidade e quantidade de colágeno na pele, promovendo a invasão bacteriana e retardando o processo de cicatrização (AURELL e ELMQUISTI, 1985; ROSE et al, 2001; FREEDMAN et al., 1999).

As interrupções do sono são frequentes nos primeiros dias de pós-operatório e os pacientes, muitas vezes, expressam queixas sobre a perda de sono após procedimentos cirúrgicos, fatos esses observados na interrupção significativa do sono nos pacientes internados sob cuidados intensivos e após diferentes tipos de cirurgias (FREEDMAN et al., 1999).

O estresse desencadeado pela privação do sono tem sido indicado como causa de diminuição da capacidade de recuperação dos tecidos, da resposta imunológica lenta e, conseqüentemente, predispõe às infecções durante o período

de tratamento. Portanto, a perda do sono ou a privação deste é fator desencadeante de alteração do processo da cicatrização nos tecidos (AURELL e ELMQUISTI, 1985; ROSE et al, 2001).

Portanto, o sono adequado é necessário para a reparação dos tecidos por estar associado ao aumento da mitose celular e aumento da síntese proteica (FONTAINE, 1989). A literatura mostra ser possível relacionar os efeitos da perda de sono sobre a reparação dos tecidos e os mecanismos pelos quais esta privação afeta negativamente a cicatrização de feridas e, ainda, se pode acrescentar que, sistematicamente, está sendo avaliado o impacto da perda de sono na reparação de tecidos celular e em níveis subcelulares (LEE e SPOTS, 1990).

A privação do sono (PS) apresenta efeitos significativos sobre uma série de parâmetros que podem afetar negativamente todo o processo de cicatrização, e, em alguns casos, podem causar uma pequena alteração na perfusão tecidual (MOSTAGHIMI, 2005).

A PS tem como efeito rebote o fator de aumento das citocinas pró-inflamatórias e esse aumento ocorre devido à ativação do sistema nervoso simpático (IRVIN et al., 1999), a ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-supra-renal (HPA) (LEPROULT et al., 1997; SPIEGEL et al., 1999) e alteração de respostas de defesa do hospedeiro (BENCAS; QUINTANS, 1997; MARSHALL; BORN, 2002).

Em meados de 1960, foram realizados os primeiros estudos com ratos Wistar, afim de comparar seus comportamentos durante o sono com os dos humanos. Desde então, as suas utilizações nas pesquisas básicas neste tipo de estudo, passaram a se justificar plenamente pela complexidade e fidelidade nos resultados, devido ao fato de que esses animais apresentam quase todas as fases do sono humano (TIMO-IARA et al., 1985).

Observando os efeitos deletérios da privação do sono, percebe-se que afeta proporcionalmente o processo de reparação tecidual e que, após serem observados em ratos, os efeitos de uma privação de sono a longo prazo, sugerem que as funções específicas da pele e da barreira mucosa se apresentam alteradas (VAN CAUTER et al,1992).

Outra hipótese que vem constantemente chamando a atenção dos pesquisadores é o fato de que a privação do sono, a médio prazo, intensifica a dor aguda e crônica, gerando um ciclo dor/privação do sono, privação do sono/dor (LAUTENBACHER, 2006).

A perda de sono promove um estado pró-inflamatório de baixo grau, devido ao fato de que a perda de sono é caracterizada por um aumento das citocinas pró-inflamatórias circulantes, do mesmo modo que a duração mais curta do sono também está relacionada à obesidade e às doenças cardiovasculares (ALVARADO, 2013).

A cicatrização de feridas é um processo amplamente estudado, principalmente sobre os fatores que retardam ou aceleram este processo, a fototerapia exerce um importante e favorável efeito sobre o processo ulcerativo, resultando na redução do tempo de cicatrização (SILVEIRA et al., 2009).

Alguns estudos evidenciaram os efeitos benéficos da fototerapia de baixa intensidade ao tratar ferida, dentre os principais estudos, observam-se o aumento significativo na regeneração e cicatrização mais rápida com a restauração da integridade e estrutura do tecido (GONÇALVEZ et al., 2010).

Cada tipo de laser apresenta propriedades diretamente relacionadas ao seu comprimento de onda e invariabilidade. Pode-se dizer, assim, que eles se classificam em: laser de baixa potência e de alta potência. Utilizam-se três tipos de emissores na área da saúde: 1. Sólidos como o neodímio YAG, com tubo de gás como o Hélio Neon (He-NE), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ou argônio e, 2. por meio de diodo, como o Arseneto de Gálio (AsGA), Arseneto de Gálio, Alumínio (AsGaAL) e Alumínio -Gálio -Índio -Fosforo (ALGAInp) (AGNE, 2004).

A energia depositada no tecido produz ação direta, como os efeitos secundários, foto térmicos, químicos, elétricos e bioelétricos, estimulando a microcirculação e conseqüentemente o aumento do trofismo, podendo gerar repercussão local ou sistêmica (RDAU et al., 2011, PRABHU et al., 2012)

Os efeitos fisiológicos diretos dependem exclusivamente da frequência do pulso, da sua intensidade e duração na aplicação, porque o mesmo comprimento de

ondas pode gerar resultados diversos a partir da sua intensidade (SHUKLA et al; 2010). Muitos estudos que envolvem o uso da terapia de laser de baixa intensidade (TLBI), mostram que o processo de cura é intensificado durante a terapia, essa característica é atribuída à associação do uso com a monocromaticidade da luz do laser para a fluência e para a fase de crescimento celular em que as células são irradiadas (MENDEZ et al., 2004).

Os efeitos fototérmicos, que ocorrem a partir da aplicabilidade do laser de baixa potencia não causam aumentos significativos da temperatura basal do tecido. Devido ao seu efeito fotoelétrico, o laser contribui para normalizar a mobilidade iônica das células e indiretamente estimular o aumento da quantidade de adenosina trifosfato (ATP) quanto sua ação como efeito bioenergético, o reestabelecimento e equilíbrio da vitalidade celular, bem como reorganizar suas funções, devido à reposição de energia orgânica perdida (AGNE, 2004).

Dentre as características terapêuticas do TLBI, está a capacidade de bloquear a transmissão do estímulo doloroso que ocorre pelo bloqueio da sua passagem sobre as fibras nervosas grossas para as fibras finas, associado à atividade cicatrizante do laser AlGaInP, pelo aumento da angiogênese e diminuição do infiltrado de polimorfonucleares e hemorragia (TACON et al., 2011).

Sua propriedade anti-inflamatória é gerada pela ação de prostaglandinas (PG) que são capazes de alterar a pressão hidrostática intracapilar, melhorando assim a capacidade de absorção de líquidos intersticiais, resultando na diminuição de edemas, ativando a regeneração tissular, com redução de 54% no aumento de volume do edema, após a utilização do LLLB (FERREIRA et al., 2005).

Desta forma, a aplicabilidade do TLBI, gera um aumento da vasodilatação, provocando uma renovação de sangue, cheios de neutrófilos e monócitos, gerando reabsorção do exsudato fibrinoso da epitelização basal, tendo como consequência geral o aumento do ritmo de divisão celular (KOO, 2015).

Os efeitos fototérmicos que ocorrem a partir da aplicação do laser de baixa potência não causam aumentos significativos da temperatura basal do tecido. Devido ao seu efeito fotoelétrico, o laser contribui para normalizar a mobilidade

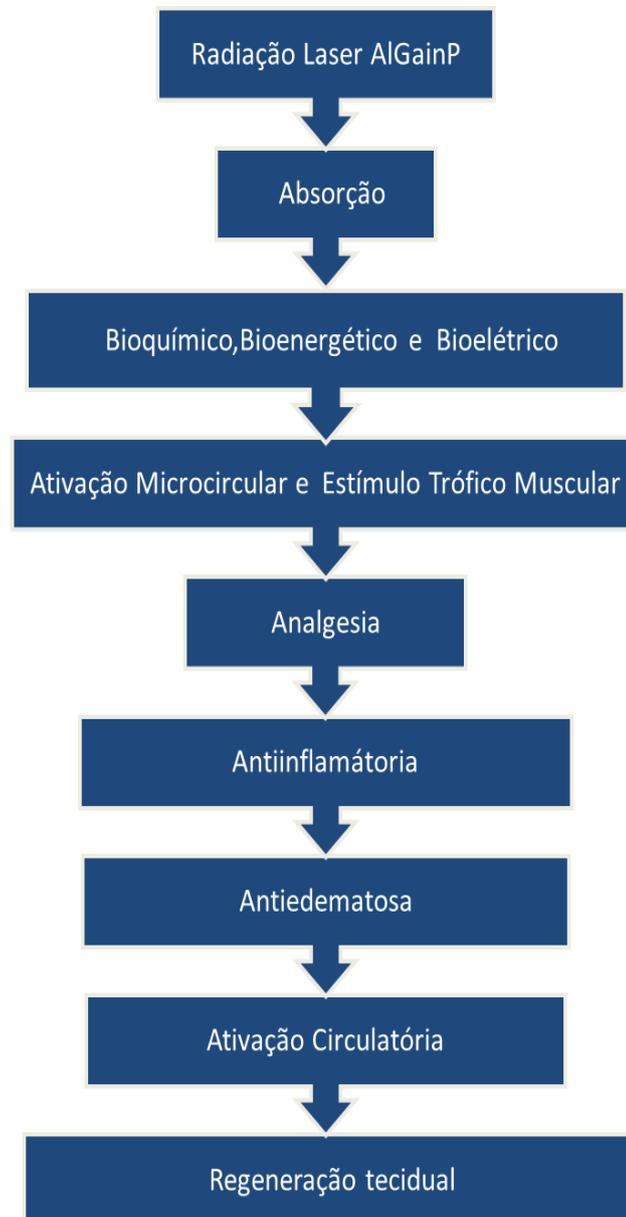
iônica das células e indiretamente estimular o aumento da quantidade de ATP quanto sua ação como efeito bioenergético, o reestabelecimento e equilíbrio da vitalidade celular, bem como reorganizar suas funções devido à reposição de energia orgânica perdida (AGNE, 2004; KARU, T. 2010, PRABHU et al.,2012)

A energia depositada do laser sobre o tecido produz ação direta, como os efeitos secundários, foto térmicos, químicos, elétricos e bioelétricos, estimulando a microcirculação e conseqüentemente o aumento do trofismo, podendo gerar repercussão local ou sistêmica (LINS RDAU et al., 2011).

Sabe-se que o efeito bioquímico constitui a maior interação da ação do laser sobre os tecidos pela capacidade de estimular várias ações, sendo elas:

- ✓ Estimulação e liberação de histaminas, serotoninas e bradicinina;
- ✓ Produção de ATP, prostaglandinas
- ✓ Diminuição dos infiltrados polimorfonucleares;
- ✓ Aumento de vasodilatação capilar e arterial, intensificando a produção de tecido de granulação;
- ✓ Produz ação antibacteriana e fibrinolítica;
- ✓ Estimula e acelera a produção de mitose, devido a produção do ATP no interior das células.

Com relação ao efeito bio estimulativo a TLBI aplicada no tecido gera como consequência, o aumento de fibras de colágeno e regeneração dos tecidos. (PRABHU et al.,2012).

**Quadro 1 - Efeito bioestimulativo do trófico tissular**

Fonte: (AGNE, 2004).

O laser AlGaInP (660 nm) é uma luz terapêutica, de espectro electromagnético, que irradia nos tecidos lesados, desencadeando uma série de efeitos fisiológicos necessária para o processo de cicatrização de feridas, reparação de tecidos e níveis orgânicos por meio do processo de fotobiomodulação, além de causar efeitos terapêuticos, tais como: analgesia local, redução de edema e ação anti-inflamatória (SOUSA et al., 2015).

Existem vários efeitos positivos do laser de baixa intensidade sobre o processo de cicatrização de feridas, esses fatores são determinados pela sua potência e densidade ideal emanadas pelo feixe de luz adequado (MENDEZ et al., 2004). Além desses relatos, encontra-se na literatura algo próximo às doses específicas com completa eficácia, quando aplicado na busca de uma ação anti-inflamatória, associadas ao feixe de luz adequado, porém os níveis de dosimetria influenciam diretamente, ou não, o processo de reparação (LINS, 2011).

As principais características deste tipo de laser e dos seus efeitos benéficos apresentam seu respaldo devido à sua grande capacidade de gerar analgesia, ação anti-edematosa, anti-inflamatória, o que pode favorecer o processo de cicatrização e remodelação tecidual. Isso ocorre pelo fato de que o laser de baixa potência, possui a capacidade de transformar alguns efeitos biológicos, confirmados em diversos estudos. (TACON et al., 2011; SOUSA et al., 2015; LINS, 2011).

Desta forma, é de grande relevância investigar o processo de cicatrização e integridade da pele no aspecto força de ruptura em condições de ausência de sono, porque não se sabe ao certo a resposta do laser em relação a privação ou do sono reparador, ambas associadas ao uso da fototerapia, descrito atualmente como precursor de resposta positiva para tal.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Estudar o efeito do Laser de Baixa Potência na cicatrização de feridas cutâneas abertas induzidas no dorso de ratos privados e não privados de sono.

### 2.2 Específicos

- Estudar a interferência da privação do sono na resistência da pele íntegra de ratos;
- Estudar a interferência da privação de sono na variação de peso ratos;
- Estudar a influência do laser ALGaNP 632.8NM na força de ruptura de feridas de ratos privados de sono;
- Estudar a influência do laser ALGaNP 632.8NM na força de ruptura de feridas de ratos não privados de sono;
- Estudar a influencia do laser ALGaNP 632.8NM na estimulação da produção de células em feridas abertas no dorso de ratos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Tipo de Estudo

Estudo experimental, randomizado, duplo cego, cujo projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (UnB), número de protocolo UnBDOC nº55074/2016 (Anexo I).

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). A primeira fase do estudo foi executada nas instalações do Laboratório de Psicologia, a segunda fase foi desenvolvida nas instalações do Laboratório de Cirurgia Experimental da Área de Clínica Cirúrgica com a colaboração do Laboratório de Patologia, todos localizados na Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília (UnB).

#### 3.2 Modelo Experimental

Foram utilizados 48 ratos, machos, com idade aproximada de  $\pm 3$  meses, da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus*, variedade *Albinus*, *Rodentia Mammalia*), apresentando peso médio basal de  $296 \pm 18,57$  gramas. Os animais foram obtidos da Universidade Federal do Goiás e mantidos na Faculdade de Medicina, da UnB, alojados em grupos de no máximo 4 animais por caixa (gaiolas de polipropileno 41 x 34 x 16 cm), respeitando o ciclo claro-escuro de 12 horas, com ração da marca Purina® adequada para esses tipos de roedores, água de torneira *ad libitum* e em condições controladas de temperatura e umidade conforme registro fotográfico na Figura 1 e Figura 2 abaixo.

**Figura 1** - Registro dos animais experimentais, no alojamento do laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília



Fonte: Autora, (2018).

**Figura 2-** Registro dos animais experimentais, no alojamento do laboratório de Psicobiologia da Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília



Fonte: Autora, (2018).

### 3.3 Delineamento Experimental

De acordo com a Figura 1, acima, os animais foram distribuídos em 6 grupos experimentais com  $n = 8$ . A seguir, no quadro 2, observe como foi apresentado e descrito no desenho experimental.

**Quadro 2.** Subdivisão dos grupos e seus respectivos tratamentos

<b>Grupos</b>	<b>Tipo de tratamento</b>	<b>Sigla</b>
G1	Grupo de animais não privado de sono	TnPs
G2	Grupo de animais privado de sono	TPs
G3	Grupo de animais não privado de sono e operados	CnPs
G4	Grupo de animais privados de sono e operados	CPs
G5	Grupo de animais não privado de sono operados e tratados com laser	CnPsL
G6	Grupo de animais privado de sono operados e tratados com laser	CPsL

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

### 3.4 Protocolo Experimental

Após o período de ambientação de uma semana, quando os animais já estavam separados em seus respectivos grupos, deu-se início aos experimentos.

Iniciando-se pela pesagem dos animais (Figura 2), foram administrados os fármacos Cetamin (cloridrato de cetamina 10% ,100 mg/kg) e Xilazin (xilazina 2%, 10mg/Kg) ambos do laboratório Syntec, por via intraperitoneal, (Figura 3), para indução e manutenção anestésica dos ratos submetidos à cirurgia e distanásia.

**Figura 3** – Registro de pesagem utilizada nos animais



Fonte: Autora, (2018).

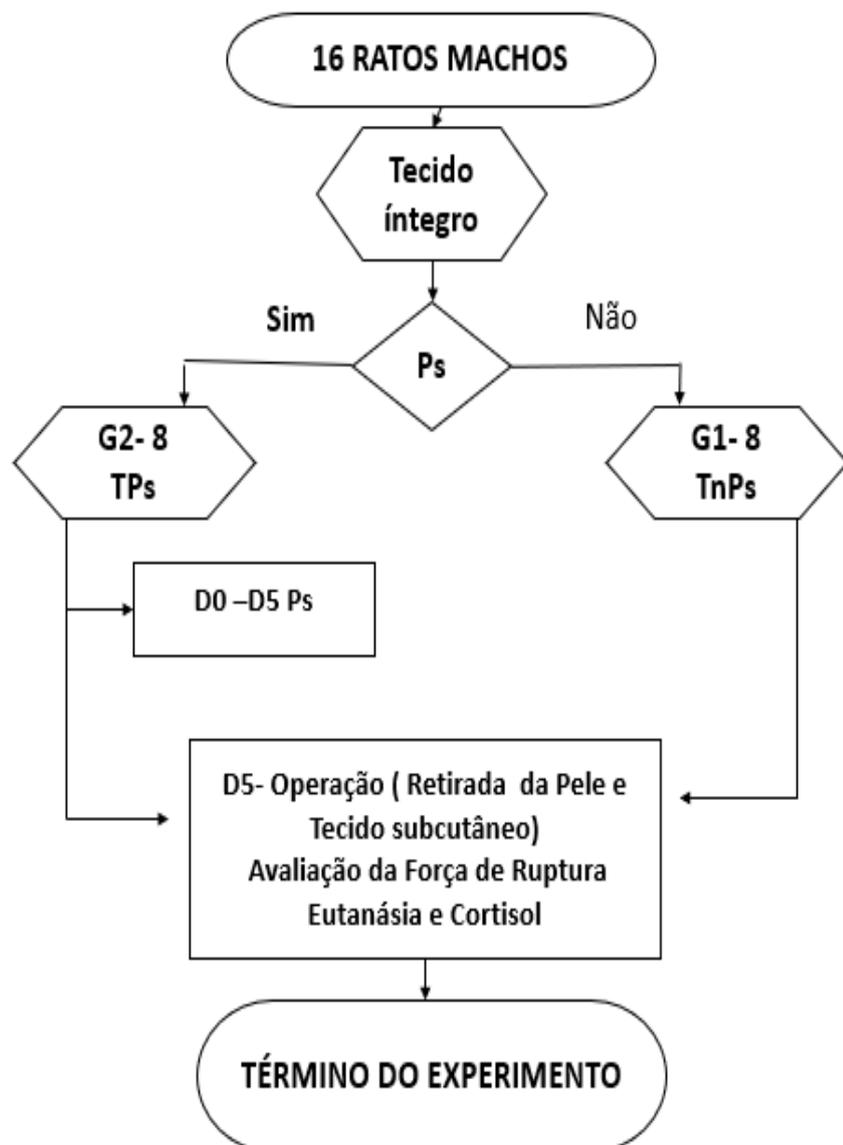
**Figura 4** – Registro do procedimento anestésico utilizada nos animais



Fonte: Autora, (2018).

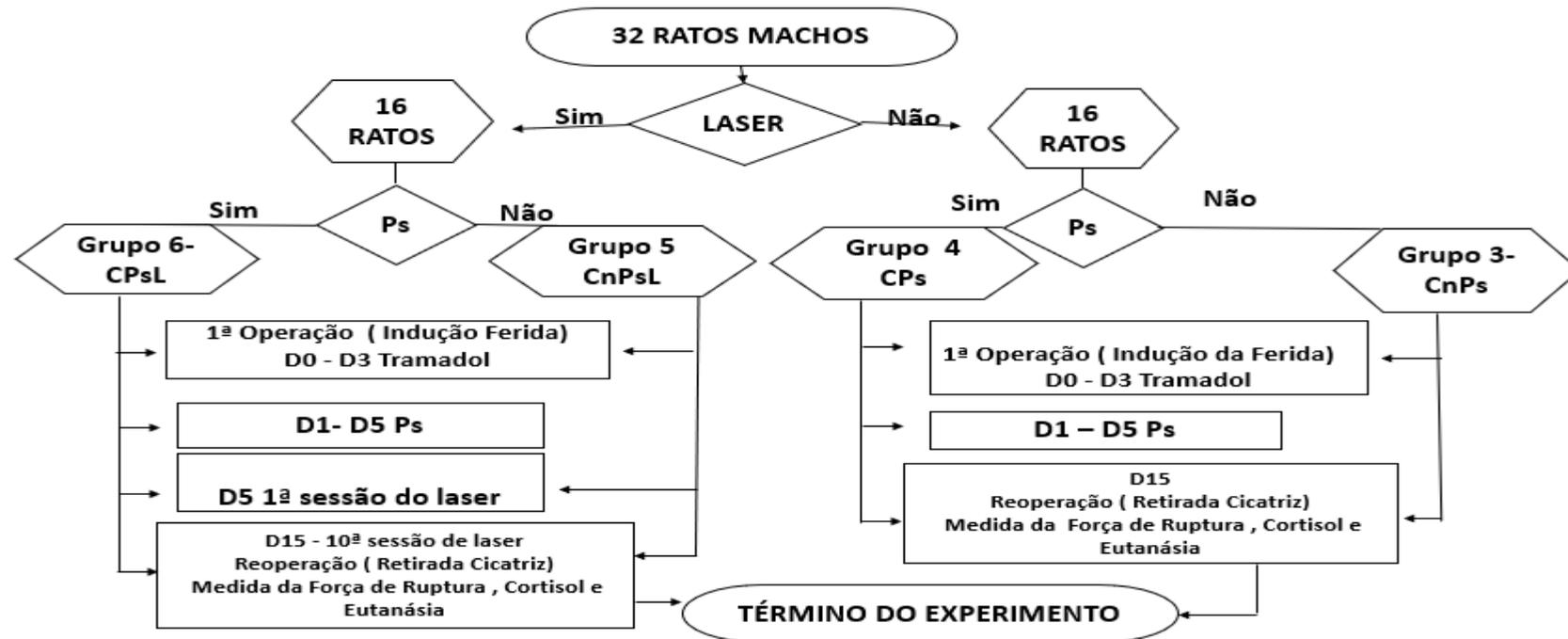
Para promover analgesia pós-operatória, utilizou-se o fármaco Tramadol (cloridrato de tramadol 50 mg/L ,5 mg/kg) do laboratório Pfizer, por via subcutânea, a cada 12 horas, durante os 3 primeiros dias em todos os grupos operados, conforme delineamentos descritos abaixo:

**Figura 5** - Desenho experimental dos grupos TnPs: Grupo de animais não privado do sono; TPs: grupo de animais privado de sono, sendo: Ps Privação do Sono, D0 Início do experimento, D5 (Término da Privação de sono)



Fonte: Elaborado pela autora, (2018).

**Figura 6** - Desenho experimental dos grupos: 3 (G3): CnPs, grupo 4 (G4) CPs, grupo 5 (G5) CnPsL e grupo 6 (G6) CPsL. Sendo: Ps Privação do Sono, D0 (Dia da 1ª Operação e início do Tramadol), D3( Término do Tramadol), D5 TnPs: Grupo de animais não privado do sono; TPs: grupo de animais privado de sono; CnPs: grupo de animais não privado de sono e operados; CPs: grupo de animais privado de sono; CnPsL: grupo de animais não privado de sono e tratado com laser; CPsL: grupo de animais privado de sono e tratados com laser



Fonte: Elaborado pela autora, (2018).

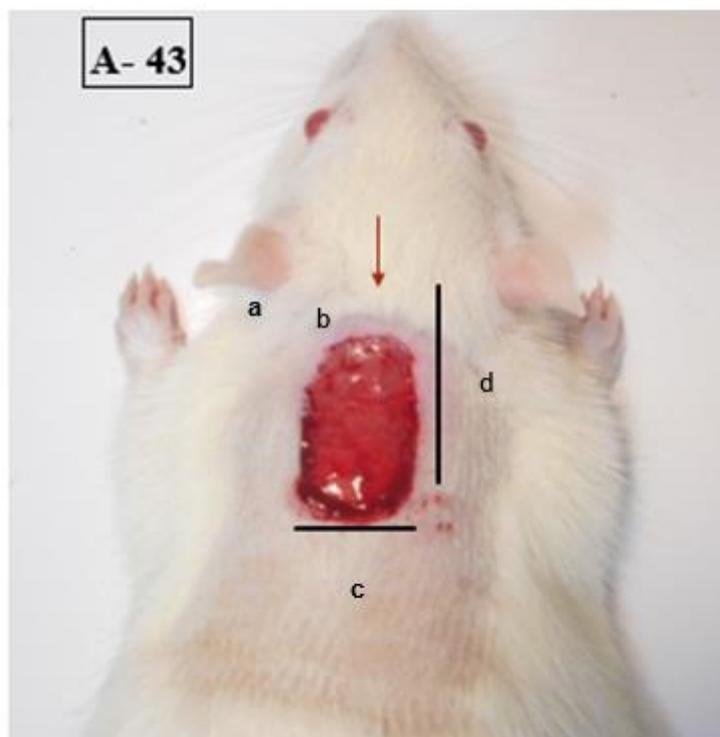
### 3.5 Método de Indução da Ferida

Para o método de indução da ferida, o animal foi colocado em decúbito ventral sobre uma prancha de madeira. Foi realizada a tricotomia na região dorsal de cada animal, cuja operação seguiu todos os critérios de sepsia, utilizando a substância Riodeine (Iodopolvidona) do laboratório Rioquímica.

A operação consistiu na criação de uma ferida retangular, que tinha 1 cm largura x 2 cm de comprimento, de modo que comprimento ficasse posicionado no sentido céfalo-caudal.

O centro da ferida situava-se a 1 cm da base das orelhas conforme registrado na Figura 7. Para a incisão foi utilizado o bisturi BD, lâmina nº15, da marca Solidor, atingindo a pele e o tecido subcutâneo, preservando o tecido muscular.

**Figura 7** -: Fotografia do animal 43 posicionado em decúbito ventral com a ferida recém-criada. Temos: (a) base orelha, (b) 1 cm abaixo da orelha, sentido céfalo-caudal, (c) 1 cm de largura e (d) 2 cm de comprimento



Fonte: Autora, 2018.

### 3.6 Protocolo de Privação do Sono de 96 horas

#### 3.6.1 Processo de Confeção da Caixa de Privação do Sono

Para a indução de privação do sono foi utilizada a técnica previamente descrita por Nunes Jr (1994) e Tufik (2008), como método de privação do sono pelas plataformas múltiplas (MPM).

Neste sentido, foi confeccionado uma caixa de acrílico, medindo 60cm x 50cm x 30cm, com 10 plataformas de acrílico no seu interior, em forma de cilindro sólido com 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro, todas fixas e submersas em 5 cm de água, em temperatura ambiente, como ilustra a figura 8.

**Figura 8** – Caixa de acrílico de plataformas múltiplas (10cm de altura x5cm de diâmetro) para privação do sono



Fonte: Autora, 2018.

#### 3.6.2 Privação de Sono

Para cada sequência de experimentos foram colocados um total de 8 animais sobre as plataformas da caixa de privação do sono, sendo inseridos um a um em cada base de cilindro.

Os animais foram mantidos dentro da caixa de privação do sono por 96 horas consecutivas, sendo retirados duas vezes ao dia, nos três primeiros dias, sendo uma no período da manhã, para administração da primeira dose do Tramadol e higienização da caixa (que durava aproximadamente 15 minutos) e a segunda retirada no período vespertino para a 2ª dose do Tramadol (aproximadamente 10 minutos). No período correspondente ao 4º até o dia 15º dia, os animais foram retirados apenas no período matutino, para higienização da caixa. Não houve restrição de alimento ou água (Figura 8).

Para seu efeito negativo e resposta cronobiológica, considerou-se o início da privação do sono a partir do momento em que os animais começavam a entrar na fase do sono paradoxal, observado na Figura 6, foto ampliada para verificação da privação do sono no animal. A Figura 8 demonstra os animais experimentais agrupados para a privação do sono. A PS ocorria quando acontecia o relaxamento da musculatura que gerava um desequilíbrio no animal, o animal despertava, fazendo com que eles não se mantivessem em cima da plataforma e ou, conseqüentemente, caíssem na água. Todos os animais operados, foram colocados na caixa após 24 horas do término dos procedimentos realizados até o último animal do respectivo grupo, conforme já mencionado no protocolo de privação do sono.

**Figura 9** –: Fotografia da caixa de privação de sono, com 8 animais em plataformas individuais



**Figura 10** – Fotografia do animal 23 na plataforma em estado de sono paradoxal



Fonte: Autora, 2018.

### 3.7 Método de Aplicação do Laserpulse Algainp 660 nm

Após o processo de indução das feridas foi iniciado o tratamento com o aparelho *Laserpulse*, caneta ALGAINP 632.8 nm, da Marca IBRAMED, fabricada no Brasil, autorizado pela Anvisa: nº 10360310030, cujo protocolo de utilização foi desenvolvido exclusivamente para este projeto (Figura 7).

#### 3.7.1 Formula para determinar o Tempo de Aplicação

$$T (S) = \frac{\text{Densidade média de energia (J/CM}^2 \text{ x tamanho área cm}^2\text{)}}{\text{Potência W}}$$

### 3.7.2 Dosimetria

O modo de emissão do feixe de luz escolhido foi o contínuo. A dose utilizada para tal, foi expressa em joules, para cada centímetro de pele. Sendo assim, denominou-se a densidade de energia calculada a partir da correlação/densidade de energia desejada (3 joules), tamanho da área irradiada (2 cm<sup>2</sup>) x potência de emissão do laser (30 W). Portanto:

$$T (S) = \frac{(3 \text{ J/cm}^2 \times 2 \text{ cm}^2)}{30 \text{ W}} = 0,2$$

### 3.7.3 Tempo de emissão do laser para se depositar 3J/cm<sup>2</sup> no tecido epitelial

Para se calcular o tempo de emissão, utilizou-se primeiramente a fórmula onde  $T = \text{tempo J (3) / W 30} = 0,1 \text{ seg.}$

$$T = J/W$$

$$T = 3/30$$

$$T = 0,1$$

### 3.7.4 Cálculo para determinar o joules /cm<sup>2</sup> por Ponto de Aplicação

Após o achado do tempo, utilizou-se a fórmula correspondente a cada ponto de aplicação corresponde a 3 J/cm<sup>2</sup>. Sabe-se que:  $J_{\text{tempo}} = 0,01 \text{ seg}$  e  $n^{\circ}$  pontos a ser aplicado na extensão da ferida = 4

$$J_{\text{ponto}} = J_{\text{tempo}} / n^{\circ} \text{ pontos}$$

$$J_{\text{ponto}} = 0,1/4 = 0,025$$

$$J_{\text{ponto}} = 0,025$$

### 3.7.5 Cálculo para determinar a potência média

Sabe-se que:  $T_{\text{ponto}} = \text{dose}/\text{potência} = 3/30=0.1$  segundos e que a Potência média =  $P_m$ , onde Potência proposta =  $P_p$  (30 W),  $D_p$  = Dose ponto (0,025) e  $F_r$  (Frequência) 2,5HZ, chegamos à seguinte fórmula e resultado:

$$P_m = P_p \times D_p \times F_r$$

$$P_m = 30 \times 0,025 \times 2,5$$

$$P_m = 0,0000135W$$

### 3.7.6 Tempo de emissão da energia para densidade para 3 J/cm<sup>2</sup>

Densidade de energia = 3, Área = Tamanho do ponto de emissão = 0,025 e  $P_m = 0,0000135W$  o tempo de emissão é 5,5 segundos.

$$\text{Tempo} = 3 \times 0,025 : 0,0000135 = 5,5 \text{ seg}$$

### 3.7.7 Tempo de Aplicação

Desta forma, pode-se chegar à conclusão que o tempo ideal de aplicabilidade do laser em cada ponto da ferida é correspondente a 22 segundos.

$$\text{Tempo de aplicação} = 5,5 \times 4 = 22 \text{ seg}$$

**Figura 11** – Aplicação do *Laserpulse* Ibramed com caneta 660, individual em cada animal lesionado

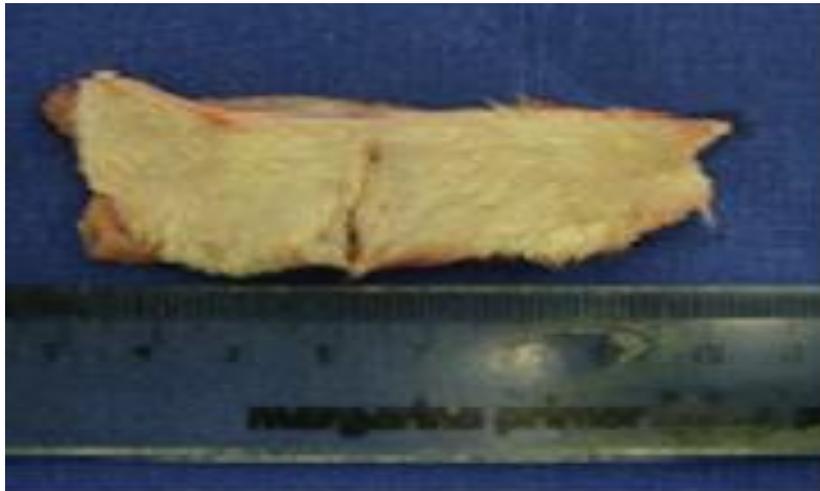


Fonte: Autora, 2018.

### 3.8 Operação para remoção da pele com cicatriz

Os animais foram anestesiados do mesmo modo que na primeira operação. Foi ressecado um segmento de pele e tecido subcutâneo do dorso do animal que continha a cicatriz em seu centro. O espécime retirado media 02 cm de largura (sentido céfalo-caudal) e 04 cm de comprimento. Após a retirada da amostra os animais foram mortos por decapitação. A peça cirúrgica foi dividida em partes não iguais, sendo a mais larga 1,5cm usada imediatamente para medida da força de ruptura e a outra de 0,2mm de largura foi colocada em formaliza a 10% para posterior estudo histopatológico (Figura 11).

**Figura 12:** Fotografia da peça retirada para medida força de ruptura e estudo histopatológico



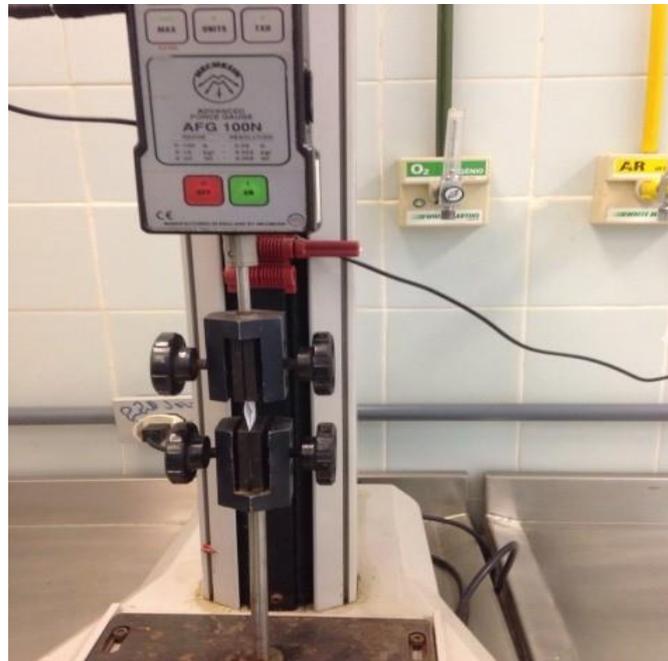
Fonte: Autora, 2018.

### 3.9 Medida de força

O estudo da força de ruptura da pele integra e da pele com cicatriz foi realizado pelo o aparelho de ensaio digital denominado Versa Test (*Mecmesin Versa Test, United Kingdom*) acoplado a um dinamômetro digital AGF (*Mecmesin Versa Test, United Kingdom* - Figura 11). Um pequeno fragmento retangular de tecido foi fixado nas suas duas extremidades pela pinça superior do dinamômetro e a pinça inferior do Versa Test.

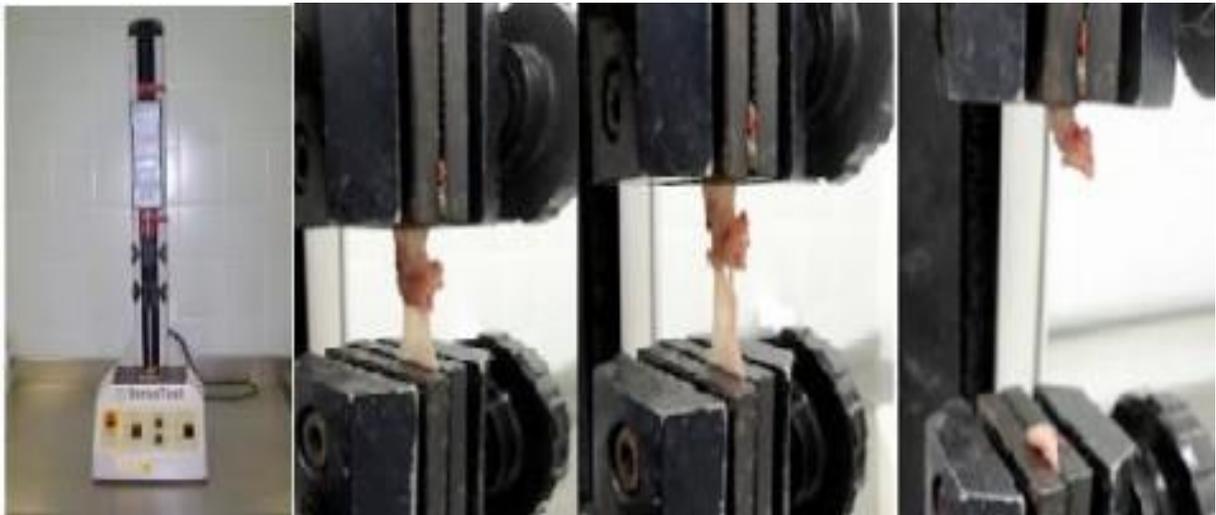
A peça, após ser fixada no dinamômetro e *versa test*, media 1,8 cm de largura x 2,5 cm de comprimento, ficando a cicatriz no centro. A seguir foram submetidas a uma força de tração vertical em newtons, até seu total rompimento. A velocidade utilizada durante o teste foi de 25 mm/min e o valor de ruptura foi expresso em newtons (N) (TOGNINI et al., 2000), seguidos pela demonstração das figuras 13 e 14.

**Figura 13** – Fonte: Autor. Fotografia do aparelho Versa Test contendo amostra do segmento tecidual força de ruptura do animal 43



Fonte: Autora, 2018.

**Figura 14** – Fonte: autor. Fotografia do teste da força de ruptura do animal 43



Fonte: Autora, 2018.

### 3.10 Avaliação histopatológica

As peças foram fixadas em formol a 10%, emblocadas em parafina, processadas e coradas com hematoxilina-eosina (HE), conforme a rotina do Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina Universidade de Brasília (UnB). Uma patologista experiente, que desconhecia de que grupo de animais provinha o material, procedeu à análise em microscopia ótica. Foram avaliados os seguintes indicadores: polimorfonucleares, mononucleares, fibroblastos e colágeno, de acordo com as especificações dos kits. Os indicadores histológicos foram classificados em: (0) ausentes, (1) leve, (2) moderado e (3) intenso

#### 3.10.1 Preparação do tecido para análise histopatológica

É a primeira etapa que consiste na retirada da amostra do tecido para a investigação, chamadas de Espécime. Ao remover o material a ser analisado, o mesmo foi fixado no formol tamponado, após esse processo a amostra foi desidratada para remoção total de água existente nos tecidos.

O processo de clarificação com a utilização do Xilol, (XILOL XILENO PA ACS 1000 ML, marca NEON, fabricado no Chile), fez se necessário para a remoção total do álcool etílico a 70 %, marca Itajá, fabricado no Brasil, preparando o espécime para a etapa seguinte no processo de penetração da parafina. Após a fixação e a desidratação, o tecido foi impregnado na parafina para a facilitação do corte em camadas finas. Para isso, foi utilizado o equipamento de precisão micrótomo, que alcança a espessura dos cortes de 5 a 15  $\mu\text{m}$  (micrômetros). 1 micrômetro ( $\mu\text{m}$ ) é igual a 1/1.000 de 1 milímetro (mm).

Assim, os cortes dos tecidos, extremamente finos e transparentes, foram montados em lâminas de vidro. Os cortes de tecido foram então corados com hematoxilina, após a retirada e dissolução da parafina impregnada nas lâminas. Em seguida os tecidos ainda nas lâminas são reidratados por meio de uma série de soluções de álcool em concentrações decrescentes, finalizando com a fixação da hematoxilina vai corar os ácidos nucleicos dos núcleos. Em seguida, os cortes foram

lavados em e corados pela eosina, corante ácida capaz de corar os componentes básicos predominantes no citoplasma das células. Finalizando esse processo com os espécimes, as amostras foram analisadas com microscópio de luz. (ROSS, 2016)

### 3.11 Análise do Cortisol Sanguíneo

A retirada de amostras de cortisol sanguíneo foi realizada pelo método de punção cardíaca no D5 e D15 após o término da operação e reoperação. A análise do cortisol foi determinada com base na curvatura de calibração gerada especificamente pelo analisador, por meio do método Cobas ®. Duração do ensaio: 18 minutos.

### 3.12 Análise Estatística

Inicialmente, foi empregado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se as variáveis, apresentavam distribuição gaussiana nos diversos grupos a serem comparados. Para aquelas que apresentavam distribuição gaussiana os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão e empregou-se o teste de análise de variância e o teste de Tukey para comparações múltiplas.

Para aquelas que não apresentavam distribuição gaussiana os resultados foram expressos em mediana  $\pm$  intervalo interquartil e empregou-se o teste de Kruskal-Wallis e o teste de comparações múltiplas de Dwass, Steel, Critchlow-Fligner (DSCF)<sup>1</sup>. O nível de significância foi fixado em  $p < 0,05$ . Empregou-se o aplicativo SAS 9.4. (DAWASS, M. (1960).

## 4 RESULTADOS

Não ocorreram óbitos durante o experimento. Os animais mantiveram-se aparentemente saudáveis e as suas feridas não apresentaram sinais macroscópicos de infecção. No dia da reoperação e eutanásia as feridas, em todos os animais, encontravam-se fechadas e continham uma cicatriz.

As variáveis peso, força de ruptura e níveis séricos de cortisol, são apresentadas nas tabelas abaixo.

**Tabela 1** – Distribuição dos valores do peso, da força de ruptura e de cortisol sanguíneo dos animais do grupo não operado e não privado de sono (TnPs)

<b>TnPs</b>				
<b>Animal</b>	<b>Força Ruptura</b>	<b>Peso D0</b>	<b>Peso D5</b>	<b>Cortisol</b>
9	110,00	311	369	0,562
10	91,61	279	246	0,662
11	110,00	269	307	1,62
12	116,33	284	321	1,33
13	101,15	282	327	1,46
14	117,14	275	318	1,57
15	115,13	250	346	1,20
16	114,30	300	353	1,19
<b>Média ±DP</b>	<b>112,15±10,15</b>	<b>281,25±18,57</b>	<b>323,375±37,36</b>	<b>1,20±0,39</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

**Tabela 2** – Distribuição dos valores do peso, da força de ruptura e de cortisol sanguíneo dos animais do grupo não operado e privado de sono (TPs)

<b>TPs</b>				
<b>Animal</b>	<b>Força Ruptura</b>	<b>Peso D0</b>	<b>Peso D5</b>	<b>Cortisol</b>
1	99,82	376	338	0,34
2	80,4	340	307	0,054
3	110	354	279	0,345
4	77	329	309	0,232
5	100,18	340	301	0,451
6	110	349	308	0,456
7	110	316	286	1,01
8	110	347	298	0,278
<b>Média ±DP</b>	<b>105,09±14,64</b>	<b>343,875±17,72</b>	<b>303,25±17,70</b>	<b>0,40±0,28</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

**Tabela 3** – Distribuição dos valores do peso, da força de ruptura e de cortisol sanguíneo dos animais operados e privados de sono (CPS)

CPS					
CPs	Força Ruptura	Peso D0	Peso D5	Peso D15	Cortisol
25	0,86	297	237	286	1,3
26	2,74	313	263	306	0,971
27	9,24	355	300	341	1,31
28	0,43	335	299	344	0,985
29	1,58	333	246	331	1,36
30	12,61	296	282	308	1,44
31	4,76	309	266	320	1,45
32	4,98	312	276	315	1,26
<b>Média ±DP</b>	<b>3,75±5,84</b>	<b>318,75±25,51</b>	<b>271,13±22,81</b>	<b>318,87±19,45</b>	<b>1,26±0,19</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

**Tabela 4** – Distribuição dos valores do peso, força de ruptura e cortisol do grupo de animais operados e não privados de sono (CnPs)

CnPs					
Animal	Força Ruptura	Peso D0	Peso D5	Peso D15	Cortisol
41	16	319	334	296	1,1
42	47,2	280	288	307	1,08
43	12,7	277	289	298	1,13
44	106,5	304	314	337	1,06
45	178,3	303	309	332	1,22
45	52,3	302	310	329	0,712
47	9,4	257	308	324	1,01
48	16	319	334	296	1,1
<b>Média ±DP</b>	<b>49,75±104,65</b>	<b>289±21,04</b>	<b>310,13±16,14</b>	<b>317,57±16,91</b>	<b>1,05±0,15</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

**Tabela 5** – Distribuição dos valores do peso, força de ruptura e cortisol do grupo de animais operados, privados de sono e tratados com laser (CPSL)

CPSL					
Animal	Força Ruptura	Peso D0	Peso D5	Peso D15	Cortisol
17	12,45	333	290	331	1.45
18	3,7	327	279	333	1.27
19	4,1	303	262	302	1.31
20	4,59	301	252	303	1.24
21	3,25	294	253	327	1.21
22	4,76	293	240	287	1.50
23	2,75	298	242	300	1.42
24	1,23	292	252	297	1.48
<b>Média ±DP</b>	<b>3,90±1,68</b>	<b>305,13±15,91</b>	<b>258,75±17,54</b>	<b>310±17,60</b>	<b>1,36±0,11</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

**Tabela 6** – Distribuição dos valores de peso, força de ruptura e cortisol do grupo de animais operados não privados de sono e tratados com laser (CnPsL)

CnPsL					
Animal	Força Ruptura	Peso D0	Peso D5	Peso D15	Cortisol
33	223	278	271	304	0.845
34	126.5	285	331	349	0.922
35	100	318	292	317	1.03
36	136.1	320	326	342	0.963
37	179,3	316	307	248	0.870
38	335,1	304	312	328	1.01
38	319,6	298	315	325	0.955
40	223	278	271	304	0.845
<b>Média ±DP</b>	<b>201,15±191,00</b>	<b>301,50±15,77</b>	<b>309±19,41</b>	<b>316,14±33,56</b>	<b>0,95±0,06</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

**Tabela 7** – Variação de peso para os animais não operados, privados ou não de sono, no dia D0 e no dia D5, isto é, dia da eutanásia, valores da resistência da pele e níveis de cortisol sérico. Animais não operados e não privados de sono (TnPs) e do grupo de animais não operados e privados de sono (TPs)

Variável	Grupos		p-valor#
	TnPs	TPs	
Peso (D0)	343,88±17,72*	281,25±18,58*	< 0,0001
Peso Eutanásia (D5)	303,25±17,71*	323,38±37,37*	0,1903
<b>Diferença D5 – D0</b>	<b>-40,63±16,29*</b>	<b>42,13±35,79*</b>	<b>&lt; 0,0001</b>

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

\* Valores expressos em média ± desvio padrão. # p-valor calculado pelo teste t de Student.  
(a) TnPs Grupo de animais não privado do sono; (b) TPs: grupo de animais privado de sono;

Nos dados apresentados na tabela 7, pode-se observar que o peso médio difere significativamente entre os grupos TnPs e TPs. Não houve diferença no peso após as 96 horas de privação do sono entre os grupos TnPs e TPs. O ganho de peso médio dos animais no grupo TPs é maior que o ganho de peso médio dos ratos no grupo TnPs.

**Tabela 8** – Comparação entre grupos para ao peso no D0 (dia da Cirurgia) em relação ao D5 (após PS) e no D15 término do experimento. CnPs: grupo de animais não privado de sono e operados; CPs: grupo de animais privado de sono; CnPsL: grupo de animais não privado de sono e tratado com laser; CPsL: grupo de animais privado de sono e tratados com laser

Variáveis*	CPS (1)	CPsL (2)	Grupo CnPs (3)	CnPsL (4)	Interação entre grupo e tempo	p-valor*					
						(1) x (2)	(1) x (3)	(1) x (4)	(2) x (3)	(2) x (4)	(3) x (4)
<b>Peso</b>					< 0,0001						
D0	318,75 ± 20,51	305,13 ± 15,91	289,00 ± 21,04	301,50 ± 15,77		-	-	-	-	-	-
Cirurgia											
D5	-47,63 ± 21,33	-46,38 ± 6,05	21,13 ± 21,20	7,50 ± 22,32		0,8961	<	<	<	<	0,1619
Diferença de peso após a cirurgia ou PS.							0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	
<b>Peso</b>					< 0,0001						
D5	271,13 ± 22,81	258,75 ± 17,54	310,13 ± 16,40	309,00 ± 19,41		-	-	-	-	-	-
D15	47,75±17,13	51,25±11,08	10,13±20,15	6,75±28,76		0,7329	0,0009	0,0004	0,0004	0,0001	0,7421
Diferença de peso no término do experimento											

Fonte: Elaborada pela autora, 2018.

\* Valores expressos em média ± desvio padrão

# valores para comparação entre grupos foram calculadas com o uso de modelos de efeitos mistos de análise de variância para medidas repetidas e foram reportadas quando o p-valor foi menor que 0,05 na interação entre grupo e tempo. Correção de Bonferroni foi usada para ajustar as comparações entre os grupos. Considerou -se significativo o valor de  $p < 0,05$

Os resultados descritos na Tabela 8, mostram que o ganho de peso no D5, foi significativamente maior nos grupos CnPs e CnPsL quando comparados ao ganho de peso do grupo CPs. Verificou-se que o ganho de peso no D5 em relação ao D0 foi significativamente maior nos grupos CnPs e CnPsL do que no grupo CPsL. Não houve diferença significativa no ganho de peso entre os grupos CPs e CPsL entre os grupos CnPs e CnPsL. Os dados encontrados no grupo CPs quando comparados ao ganho de peso dos grupos CnPs e CnPsL no período do D15 em relação ao D5, foi significativamente maior.

**Tabela 9** - Comparação da Força de Ruptura e Cortisol entre os grupos não operados. TnPs: grupo de animais não privado de sono; TP: grupo de animais privado de sono

Variável	Grupos		p-valor
	TnPs <sup>(a)</sup>	TPs <sup>(b)</sup>	
Força de Ruptura <sup>(1)</sup>	112,15±10,15	105,09±14,64	0,0592
Cortisol <sup>(2)</sup>	1,20±0,39	0,40±0,28	0,0003

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

(1) Valores expressos em mediana±amplitude inter quartil. P-valor obtido pelo teste de Mann-Whitney  
(2) Valores expressos em média± desvio padrão. P-valor obtido pelo teste t de Student. (a) TnPs Grupo de animais não privado do sono;(b) TP: grupo de animais privado de sono.

A Tabela 9 descreve que a ruptura mediana não difere significativamente entre os grupos TnPs e TP, porém o cortisol médio é significativamente maior no grupo TnPs do que no grupo TP.

**Tabela 10** – Comparação da Força de Ruptura entre os grupos :CnPs grupo de animais não privado de sono e operados; CPs: grupo de animais privado de sono; CnPsL: grupo de animais não privado de sono e tratado com laser; CPsL: grupo de animais privado de sono e tratados com laser

Grupos (n=8)	Força de Ruptura*	Valor de p #			
		CnPs	CPs	CnPsL	CPsL
CnPs	49,75±104,65	-	0,0062	0,0321	0,0062
CPs	3,75±5,89	0,0062	-	0,0043	0,9986
CnPsL	201,15±191,00	0,0321	0,0043	-	0,0043
CPsL	3,90±1,68	0,0062	0,9986	0,0043	-

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

Valores expressos em mediana ± amplitude inter quartil. # Resultado teste de Kruskal-Wallis (p < 0,0001). #P-valores para comparação entre grupos foram calculados com o teste de comparações múltiplas de Dwass, Steel, Critchlo Fligne.

O grupo CnPs descrito na Tabela 10, apresenta força de ruptura estatisticamente maior do que a ruptura mediana dos grupos CPs e CPsL. A ruptura mediana no grupo CnPsL é significativamente maior do que a ruptura mediana do grupo CPsL. Não houve diferença significativa da ruptura mediana para as demais comparações entre os grupos.

**Tabela 11** - Comparação Cortisol entre os grupos operados. CnPs: grupo de animais não privado de sono e operados; CPs: grupo de animais privado de sono; CnPsL: grupo de animais não privado de sono e tratado com laser; CPsL: grupo de animais privado de sono e tratados com laser

Grupos	Cortisol*	p-valor#			
		CnPs (n=8)	CPs (n=8)	CnPsL (n=8)	CPsL (n=8)
<b>CnPs</b>	1,05±0,15	-	0,0230	0,4305	0,0005
<b>CPs</b>	1,26±0,19	0,0230	-	0,0004	0,4653
<b>CnPsL</b>	0,95±0,06	0,4305	0,0004	-	< 0,0001
<b>CPsL</b>	1,36±0,11	0,0005	0,4653	< 0,0001	-

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

\* Valores expressos em média± desvio padrão

# Resultado teste ANOVA ( $p < 0,0001$ ). P-valores para comparação entre grupos foram calculados com o uso do teste de comparações múltiplas de Tukey

Quando analisado o cortisol sérico no grupo CPs observou-se uma diferença estatisticamente maior quando comparado com o grupo CnPsL. Não houve diferença significativa do cortisol médio para as demais comparações entre os grupos.

Na Tabela 11, verificou-se que concentração de cortisol sérico médio encontrada no grupo CnPsL é significativamente menor comparados aos grupos CPs e CPsL.

O cortisol médio no grupo CPS é significativamente maior do que o cortisol médio do grupo CnPSI.

O cortisol médio no grupo CnPsi é significativamente menor do que o cortisol médio do grupo CPsi. Não houve diferença significativa do cortisol médio para as demais comparações entre grupos.

**Tabela 12** - Associações das Variáveis Histológicas entre os grupos Operados

Variáveis*	Grupos										p- valo r#		
	CnPs			CPs			CnPsL			CPsL			
	N	(%)	[ ]	N	(%)	[ ]	N	(%)	[ ]	N		(%)	[ ]
<b>Colágeno</b>												0,02 98	
Moderada	2	25	[-0,06]	0	0	[-1,94]	1	14,29	[-0,79]	5	62,50	[2,75]	
Intensa	6	75	[0,06]	8	100	[1,94]	6	85,71	[0,79]	3	37,50	[-2,75]	
<b>Fibroblastos</b>												-	
Intensa	8	100		8	100		8	100		8	100		
<b>Mono</b>												0,00 51	
Ausente	4	50	[1,82]	0	0	[-1,94]	4	57,14	[2,15]	0	0	[-1,94]	
Presente	4	50	[-1,82]	8	100	[1,94]	4	42,86	[-2,15]	8	100	[1,94]	
<b>Polimorfo</b>												0,00 51	
Ausente	4	50	[1,82]	0	0	[-1,94]	4	57,14	[2,15]	0	0	[-1,94]	
Presente	4	50	[-1,82]	8	100	[1,94]	4	42,86	[-2,15]	8	100	[1,94]	

Fonte: Elaborada pela autora, (2018).

CnPs: grupo de animais não privado de sono e operados;

CPs: grupo de animais privado de sono;

CnPsL: grupo de animais não privado de sono e tratado com laser;

CPsL: grupo de animais privado de sono e tratados com laser.

\* valores expressos em frequência (%)

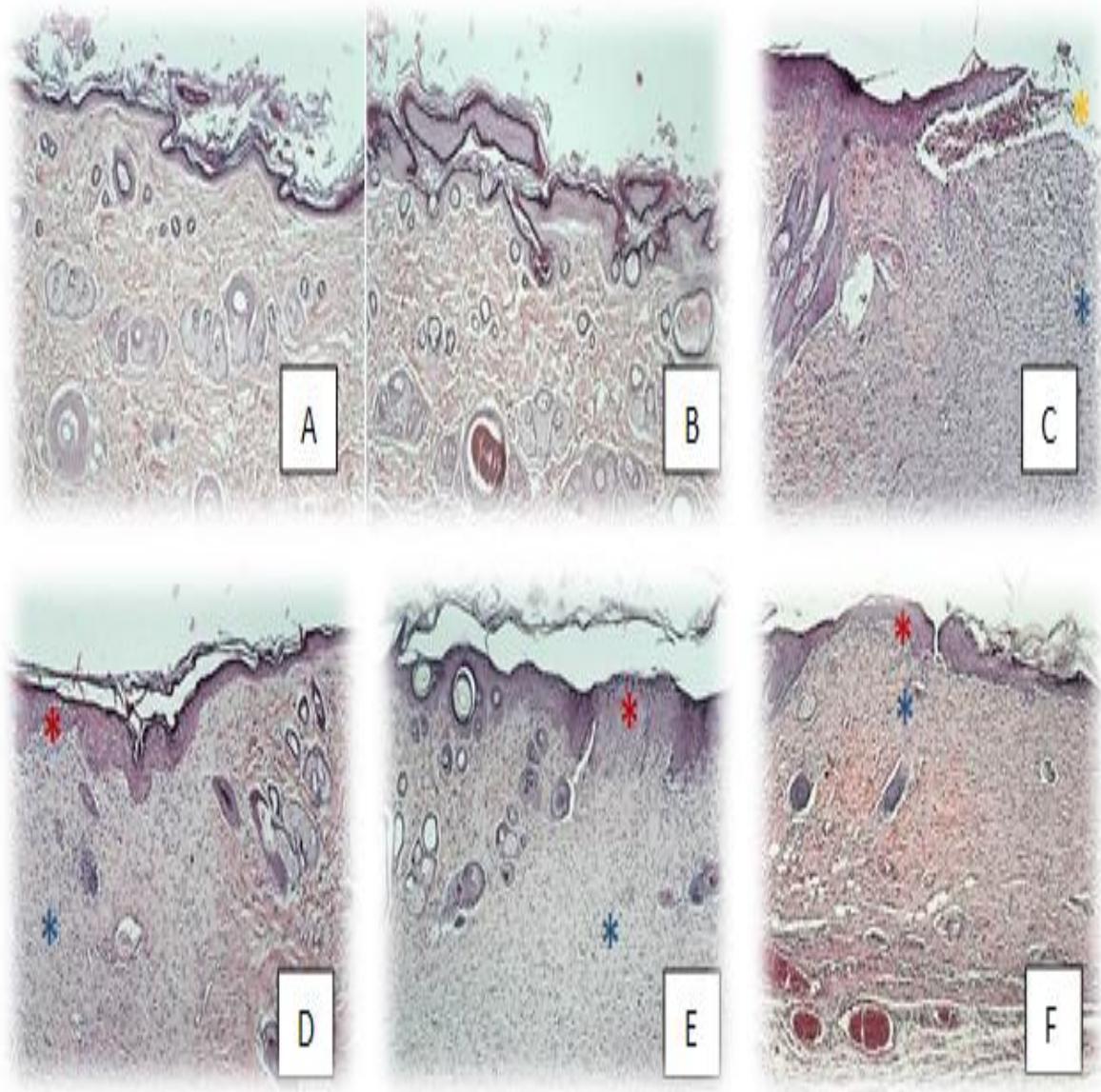
# p-valor calculado pelo teste exato de qui-quadrado

Os dados apresentados na Tabela 12, determina a associação entre colágeno os grupos.

Existe associação entre colágeno e os grupos ( $p=0,0298$ ) e que o grupo CPsL está associado a presença moderada de colágeno e o grupo CPs, a presença intensa de colágeno.

Existe associação entre momo e polimorfo e grupo. ( $p+0,0298$  para ambas). O grupo CnPsL está associado a ausência de mono e polimorfo e os grupos CPs e CPsL a presença de momo e polimorfo.

**Figura 15:** Reparação e regeneração de feridas



A = grupo 2 TPs, amostra 8

B = grupo 1 TnPs, amostra 16

C = grupo 6 CnPs, amostra 24

D = grupo 4 CPs, amostra 27

E = grupo CnPsL, amostra 39

F = grupo CPsL, amostra 44.

\* fibrose, \* regeneração epitelial, \* reparo cutâneo, ulceração

TnPs: animais não operados e não privado de sono;

TPs: animais não operados e privado de sono;

CnPs: animais operados não privados de sono;

CPs: animais operados e privados de sono;

CnPsL: animais operados não  
privados de sono e tratado com laser;

CPsL: animais operados privados de sono e tratados com laser.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que no D15 do experimento houve ganho de peso nos animais privados CPs  $47,75 \pm 17,13$  e CPsL  $51,25 \pm 11,08$  conforme demonstrado na Tabela 7, o que corrobora com dados da literatura atual. A perda de sono ou a privação do mesmo, induz alterações endócrinas responsáveis pela ingestão alimentar, podendo, em um curto período, desencadear a perda de apetite, tendo como consequência a diminuição brusca do peso corporal e a medida que o organismo tenta ajustar o ciclo do sono, ocorre um ganho de peso considerável (AMARAL, F. G. et al, 2014; CRISPIN, 2007)

Alguns estudos evidenciam que a perda de peso durante a privação do sono deve-se ao fato de ocorrer diminuição de grelina, um hormônio extremamente importante para a proteção do sono, pela capacidade de estimular as ondas lentas e a liberação e excreção do hormônio do crescimento. (CIPOLLA-NETO, J. et al.;2014).

Os dados encontrados neste estudo, descrito na Tabela 8, referindo-se ao ganho de peso como característica marcante nos indivíduos que passam por longos períodos em vigília, confirmados nos grupos experimental CPs e CPsL . A literatura justifica que se considerar a suposta diminuição do hormônio leptina, que como resposta aos efeitos da privação do sono, parece aumentar a necessidade de aumento na ingestão ou de preferência a alimentos hipercalóricos, justificaria a variação ponderal dos grupos citados (CRISPIM et al., 2007).

Estudos que envolvem as mensurações do balanço energético de indivíduos submetidos à privação do sono observaram que a liberação de leptina é reduzida a partir de uma maior atividade do sistema nervoso simpático e que as restrições do sono têm a capacidade de reduzir os fluxos simpáticos, conseqüentemente reduzindo o nível de leptina circulante, justificando assim, que quanto maior for o tempo que um indivíduo permanecer acordado, maior é a capacidade do organismo desencadear ganho de peso, conforme demonstramos neste estudo na tabela 8 (CRISPIM et al., 2007).

Com relação a seleção para a substância de analgesia escolhida, optou-se em fazer o uso pelo tramadol, para que não tivesse alterações modulares durante o processo de cicatrização, já que alguns estudos encontrados relatam as comparações feitas sobre a idade do indivíduo, a cura de feridas e uso de substâncias como a morfina, confirmaram que quando associados à privação do sono, geram dano ao processo de cicatrização, que tendem a ser cada vez maior à medida que a PS aumenta (SOYBIR et al., 2011; EGYDIO et al., 2011).

Diversos estudos originaram-se por padronizar a potência, a intensidade e tempo de aplicabilidade, mediante o tamanho da ferida proposta, o que resultou na resposta positiva à interação do laser, sobre o processo de cicatrização (GONÇALVES et al., 2010; MENDEZ et al., 2004; SILVEIRA et al., 2009; SOUSA et al., 2015).

Leal et al., (2012) descreve em estudo de revisão bibliográfica que a maioria dos artigos não apresentam homogeneidade nos protocolos de TLBI e os estudos descritos iniciam a aplicação do TLBI após 24 horas de procedimento cirúrgico, procedimento esse semelhante ao dessa pesquisa, porém os parâmetros empregados divergem, mas independente do protocolo aplicado, nesta revisão os achados foram satisfatórios ao uso do TLBI, conforme os resultados apresentados.

Entretanto, pela análise com relação a aplicabilidade do laser, houve melhora considerável nos valores do nível de força de ruptura no grupo onde os animais não foram privados do sono CnP<sub>SL</sub>, conforme demonstrado na Tabela 10, achado esse que até o presente momento não se encontra publicação vigente na literatura, impossibilitando a correlação com estudos validados.

Outra lógica explicativa para o sucesso neste estudo, deve-se ao fato de que a foto estimulação gerada pela TLBI pode ter melhorado a eficácia da cicatrização das feridas cirúrgicas, por atingir o seu nível máximo da fase proliferativa, antes de 14 a 15 dias, conforme demonstrado na Tabela 12. Confirmando os achados de que o déficit de cicatrização no pós-operatório seja ele tardio ou não, o laser neste estudo, pode atingir resultados significativos resultando no processo de reparação mais rápido e com respostas histológicas totalmente eficazes, com aumento de fibroblastos pode ser acompanhado paralelamente ao aumento do conteúdo de

colágeno nas cicatrizes. (JUNIOR et al., 2006; NEIBURGER, 1995; 1999; SOUSA et al., 2015).

O estudo realizado por Busardo e colaboradores em 2010, corrobora com os achados descritos na tabela 12 em que a TLBI, reduz a intensidade do processo de inflamatório, aumentando o depósito de colágeno. Os autores anteriormente citados, descrevem que após a produção de uma ferida no dorso do Winstar de 1cm<sup>2</sup>, foi irradiada a TLBI com 5W, durante 30 segundos, no 3º dia, 7º e 11º, nos resultados obtidos do cortes histológicos e células inflamatórias, todos os grupos apresentavam o mesmo padrão inflamatório visual, porém no grupo experimental, observaram uma diferença na redução de células inflamatórias e diminuição polimorfonucleares, divergindo assim com nossos achados, onde não visualizamos padrão inflamatório em todos os grupos estudados. A esse fato de níveis de colágeno, os resultados apresentaram aumento de 80% na força de ruptura.

Rdau L., et al., (2011) em estudo, cujo objetivo era revisar os aspectos mais relevantes da aplicação do laser no processo de reparação de feridas, descreve muito bem, que os lasers possuem ação analgésica e anti-inflamatória em pacientes no pós operatório, aumentando a síntese de colágeno, tensão de cicatriz e aceleração dos fechamentos das bordas externas.

Semelhante a esses achados, os dados apresentados na Tabela 10 confirmam a eficácia da TLBI na força de ruptura analisada, no qual o grupo CnP<sub>SL</sub> apresenta resistência tensil de  $201,15 \pm 191,00$  comparado ao CnP<sub>S</sub> de  $49,75 \pm 104,65$  tendo como controle o grupo TnP<sub>S</sub> e a integridade tecidual no período de 2 semanas com relação aos demais grupos, proporcionando uma cicatriz plana e não volumosa.

Pela escolha da aplicabilidade do laser AlGainP, tem-se respaldo em estudos que esta terapia apresenta eficácia e eleva gradativamente o potencial de ação cicatrizadora dos tecidos, conforme se pode evidenciar com o aumento de colágeno descrito na Tabela 12 e de ganho de força de ruptura na Tabela 9 e 10. Logo nos primeiros dias do processo, observou-se que ocorreu maturação tecidual, estimulou a microcirculação como consequência de sua interação que exerce sobre os capilares, arteríolas e vênulas, gerando como fator secundário a estimulação de

mediadores específicos como a histamina, por exemplo, e, promovendo ação anti-inflamatória. (AGNE; JONES, 2004; FERREIRA et al., 2005; LEAL et al., 2012).

Ainda se observa um aumento significativo, tanto na regeneração, quanto na redução do tempo de cicatrização, com respostas mais rápidas de restauração da integridade e estrutura do tecido, ao usar o laser AlGainP 660nm, corroborando com achados neste estudo, o laser pode exercer um importante e favorável efeito sobre o processo ulcerativo (GONÇALVES et al., 2010; SILVEIRA et al., 2009; SOUSA et al., 2015).

Junior C.L.O et al; (2013) descreve em estudo que 18 animais, divididos em 6 grupos, que foram irradiados pelo TLBI, 1 única dose de 0,5J, cm<sup>2</sup>/ potência de 35mw por 17 segundos. Os animais foram mortos 6,12 e 24 horas após, retirou-se a amostra e buscou analisar contagem absoluta de mono e poliformo. Os achados neste trabalho se assemelham aos achados dessa pesquisa, destacando a eficácia do TLBI na capacidade de diminuir a intensidade do infiltrado inflamatório agudo, como descrito na Tabela 12 que o grupo CnPsL apresenta ausência de mono e polimorfo.

Rocha Junior et al.; (2006), já descrevia a utilização do laser de baixa intensidade com o objetivo de avaliar o comportamento de feridas cutâneas no dorso de ratos Wistar, e, com 3,8 J/cm<sup>2</sup> de dosagem, 15mW de potência e tempo de aplicação de 15 segundos, embora os parâmetros utilizados não sejam o mesmo utilizado neste protocolo, ocorreu aumento na proliferação fibroblástica, descrita na Tabela 12 onde todos os grupos avaliados apresentavam intensa presença (100%) de fibroblastos, bem como uma redução da quantidade de infiltrado inflamatório nas lesões cirúrgicas submetidas à terapia a laser.

Bursado e Simões (2010) descrevem em estudo que a TLBI utilizando o laser HeNe com potência 4J / cm<sup>2</sup>, aplicada por 12 segundos no local da ferida em modo contínuo, 5mW, de 632,8 nm e área do feixe de laser de 0,015 cm, provoca aumento do colágeno tipo III, diminuição do infiltrado inflamatório e resolução precoce da fase inflamatória da ferida, ao comparar esses achados com os descritos neste experimento, pode-se observar que a Tabela 12 descreve a redução dos infiltrados inflamatório e aumento de colágeno nos grupos tratados com laser, embora não se

saiba o tipo de colágenos produzido nesse experimento, a partir da aplicação do laser.

Os mecanismos pelos quais o laser de baixa potência induz a atividade mitótica dos fibroblastos, deve-se a estimulação da produção do fator de crescimento fibroblasto básico (FGFb), que constitui um polipeptídeo multifuncional, secretado pelos próprios fibroblastos, com capacidade para induzir não somente a proliferação, mas também a diferenciação fibroblástica, afetando as células imunes que secretam citocinas e outros fatores regulatórios do crescimento para fibroblastos.

Estudos *in vitro*, realizados por Almeida e colaboradores (2010) mostram que utilizando células da linhagem macrófaga, sob a radiação do laser de baixa intensidade, aplicaram o laser diodo sobre essas culturas, com dosagem de 2J/cm<sup>2</sup> e os diversos comprimentos de onda: L1 = 670nm, L2 = 780nm, L3 = 692nm e L4 = 786nm. Para a análise do crescimento, as culturas não irradiadas (grupo-controle) e as tratadas com o laser (grupo experimental) foram colocadas em uma placa de Petri, com 60mm de diâmetro, 12 horas antes da irradiação, tais células liberam fatores solúveis promotores da proliferação fibroblástica. A maturação dos fibroblastos e a sua locomoção através da matriz também são influenciadas pela TLBI, confirmando assim a inalteração dos fibroblastos descrito em nossos achados detalhados na Tabela 12.

Diversos pesquisadores defendem a ideia de que o principal efeito danoso da privação do sono sobre a pele é a ruptura da função de barreira e mucosas, deixando o tecido predisposto a inflamações e infecções (ALTEMUS et al., 2001; BENCA e QUINTANS, 1997). Porém, os dados dessa pesquisa demonstram que não ocorreram sítio operatório infectado, entretanto não se pode afirmar que esse estudo contradiz com esses autores, porque até o presente momento, a correlação laser e privação do sono, não havia sido estudada.

Kahan e colaboradores em 2014, correlacionaram que a privação do sono e a integridade da pele acontece em diferentes linhagens de animais, ao observar que o dano é comum independentemente da carga genética. Em uma grande variedade de animais e seres humanos, a divisão celular e síntese de proteínas atingem os

valores máximos durante as horas de sono e são mínimas durante um período de estresse, por impedir a divisão celular etapa necessária para a cura (RECHTSCHAFFEN et al.,1982).

É sabido afirmar que várias afecções compartilham um mecanismo comum caracterizado pelo processo inflamatório tecidual e que a perda de sono pode induzir inflamação de baixa intensidade por estar associada ao desenvolvimento de doenças por meio da desregulamentação imunológica (HURTADO ALVARADO, 2013).

O estresse desencadeado pela privação do sono tem sido indicado como causa de diminuição da capacidade de recuperação dos tecidos, da resposta imunológica lenta e, conseqüentemente, da maior predisposição às infecções durante o período de tratamento e que para a total cura de um tecido seccionado, esse processo depende de maior período de sono adequado, para a redução da adrenalina liberada através de estresse e tempo de vigília prolongado (CARLSON, 1993).

O processo pelo qual a privação do sono afeta o sistema imune, está bem correlacionado aos níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias no local das feridas, resultando em complicações pós-operatórias e altas taxas de readmissão hospitalar, resultados esses divergentes ao desse estudo (RECHTSCHAFFEN et al.,1982).

Outra hipótese que vem constantemente atraindo a atenção dos pesquisadores é o fato de que a privação do sono, a médio prazo, intensifica a dor aguda e crônica, gerando um ciclo dor/privação do sono, privação do sono/dor (LAUTENBACHER, 2006).

Vale destacar que o efeito das benzodiazepinas, utilizadas no processo de cura de pacientes vítimas de queimadura, por exemplo, alteram a arquitetura do sono, agravando a privação do sono, como conseqüente alteração do processo de cicatrização tão essencial quando comparado ao uso de midazolam (EGYDIO, 2012). As benzodiazepinas cujas drogas imunossupressoras, como a morfina, quando

usadas cronicamente, podem levar a uma maior incidência de infecções e atraso no processo de cicatrização (EGYDIO, 2011).

No entanto, medicamentos e fatores como o estresse, a ansiedade e o sistema imunológico estão relativamente integrados no processo de inflamação e cicatrização, pontuando assim marcantes alterações para o reparo tecidual (EGYDIO, 2012).

No estudo de Everson et al., (2014), os resultados apresentados foram conclusivos na afirmativa que a perda total ou parcial do sono, causam danos significativos as células, de uma forma que predisõem as anomalias metabólicas, que foram restauradas somente após o período de sono rebote.

Quando correlacionaram o aumento da atividade pró inflamatória, o envelhecimento com distúrbios crônicos do sono, a perda do sono prolongada é a principal responsável pela imunodeficiência, percebe-se que a perda crônica do sono, está associada a um aumento de marcadores inflamatórios, que tornar-se ineficaz no combate a invasão de bactérias e vírus (BESEDOSKY, 2012).

Sabe-se que os efeitos deletérios da privação do sono, afetam proporcionalmente o processo de reparação tecidual após serem observados em ratos os efeitos de uma privação de sono a longo prazo, as funções específicas da pele e de barreira mucosa se apresentam alteradas, como ocorreu neste estudo mostrado na Tabela 10 (VAN CAUTER et al., 1992).

Nas últimas décadas, muito esforço tem sido realizado para identificar substâncias e técnicas que favoreçam a cura de feridas capazes de favorecer a cicatrização na busca de substâncias com atividade angiogênica tem sido intensa, por seu grande potencial de aplicação clínica. (PENHAVEL et al., 2016)

## 6 CONCLUSÃO

Considerando as condições em que esta experimentação foi conduzida e os resultados obtidos é possível concluir que a privação de sono causou perda de peso nos animais e reduziu a força de ruptura nas feridas.

A terapia com o laser ALGaINP 632.8NM aumentou a força de ruptura das feridas nos animais não privados de sono, mas não interferiu na força de ruptura das feridas nos animais privados de sono.

O TLBI, pode ser aplicado com segurança para acelerar a cicatrização de feridas cutâneas abertas, desde esteja relacionado corretamente à escolha de parâmetros como dose, tempo de exposição e comprimento de onda.

## REFERÊNCIAS

AGNE JE. **Eletrotermofototerapia: teoria e prática**. Santa Maria: Pallotti, 2004.

ALMEIDA-LOPES L, RIGAU J, ZANGARO RA, GUIDUGLI-NETO J, JAEGER MM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultures human gingival fibroblast proliferation using diferente irradiance and same fluence Lasers **Surg Med**. 2001;29:179-84

ALTEMUS, M, RAO B, DHABHAR FS. DING W, GRANSTEIN RD. Stress- Induced changes in skin barrier function in healthy womwn. **J Invest Dermatol** 2001;117: 309-17

ALVARADO, GH, PAVÓN L, GARCIA C.A.S., HERNÁNDEZ E M, SALAZAR D.E., MOCTEZUMA V. J., GONZALES G. B. *Sleep loss as a factor to induce cellular and molecular inflammatory variations*. **Clin Devel Ummunology**, V 2013, p 1-14, 2013.

AMARAL AC.; PARIZOTTO NA.; SALVINI TF. Dose-dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. **Lasers Surg Med**, V.16, P.44-51, 2001.

AMARAL, F. G. et al. Environmental control of biological rhythms: effects on development, fertility and metabolism. **Journal of Neuroendocrinology**. v. 26, p. 603-12. 2014.

ANDRADE, FSSD, CLARK RMO, FERREIRA ML. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Rev Col Bras Cir**, 41(2): 129-133, 2014.

AURELL, J., & ELMQUIST, D. Sleep in the surgical intensive care unit: Continuous polygraphic recording of sleep in nine patients receiving postoperative care. **British Medical Journal**, 290, 1029–1032, 1985

BEANES, S.R.; DANG.C.; SOO, C.; TINK.K. Skin repair and scar formation. The central role of TGFβ. **Expert Reviews in Molecular Medicine**. nº5, p.1-11.2003

BENCA, RM, QUINTANS J. **Sleep and host defense: a review sleep** 1997;20:1027-37;

CIPOLLA-NETO, J. et al. Melatonin, energy metabolism and obesity: a review. **Journal of Pineal Research**. v. 56, p. 371-81. 2014.

CRISPIM AC, ZALCMAM I, DÁTILLO M, PADILHA GH, TUFIK S, MELLO MT. Relação entre sono e obesidade. Revisão da Literatura. **Arq Bras Endocrinol Met**, 51(7): 1041-1049, 2007.

CHAGAS JUNIOR OL et al. Laser terapêutico e células inflamatórias – parte neutrófilos. **Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac**, 13(3): 111-118, 2013.

FERREIRA, DF; ZÂNGARO, RA, VILLAVARDE, AB, CURY Y, FRIGO; PICOLO, G, LONGO, I. BARBOSA, DG. Analgesic Effect of He-Ne 632.8 Low level laser Therapy on Acute Inflammatory Pain. **Photomedicine and Laser Surgery**, v 23 N 2, p177-181 2005.

EGYDIO, F. Does sleep deprivation and morphine influence wound healing? **Medical Hypotheses**, 77: 353-355, 2011.

EGYDIO, F. **Efeitos da privação de sono no processo de cicatrização de pele em camundongos. Dissertação (Mestrado)** - Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 1-67, 2013.

EGYDIO, F. Wound-healing and benzodiazepines: does sleep play a role in this relationship? **Clinics**, 67(7): 827-830, 2012.

EVERSON CA, HENCHEN CJ, SZABO A, HOGG N. Cell injury and repair resulting from sleep loss and sleep recovery in laboratory rats. **Sleep** 2014;37 (12) ;1929-1940

FREEDMAN, N. S., KOTZER, N. and SCHWAB, R. J. Patient perception of sleep quality and etiology of sleep disruption in the intensive care unit. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, 1999, 159: 1155–1162.

GUO, S.; DIPIETRO, L.A. Factors Affecting Wound Healing. **J Dent Res**, v.89, n.3, p. 219-229, 2010.

NUNES JR, G.P. TUFIK, S. Validation of the modified multiple platform method (MMP) of paradoxical sleep deprivation in rats. **Sleep Res.** 23 (1994) 419.

IBRAMED. **Manual de instruções de uso do Laser pulse.** 3ª edição, 2012.

KARUKONDA, S.R.; FLYNN. T. C; BOH. E.E.; MCBURNEY.E.I.;RUSSO,G.G.; MILLIKAN. L.R. The effects of drugs on woundhealing: Part 1. **Internaional Journal of Dermatology**, Philadelphia, nº39.p.250-7,2000

KAHAN, VA, RIBEIRO, DAB; EGYDIO, FA; BARROS, LAA; TOMONIRI. JC, TUFIK AS Is Lack of Sleep Capable of Inducing DNA Damage in Aged Skin? **Skin Pharmacol Physiol**, 27:127-131, 2014.

KOO, YM, YONG, MS. NA SS. The effect off low-intensity laser theraphy (LILT) on cutaneous wound healing and pain relief in rats. **J Phys Ther Sci**, 27(11): 3421-3423, 2015.

LAUTENBACHER, S. KUNDERMANN, B. KRIEG, JC. Sleep deprivation and pain perception. **Sleep Med Rev**, 10: 357-369, 2006.

LEE, K.A., & STOTTS, N.A.. Support of the growth hormone–somatomedin system to facilitate healing. **Heart and Lung**, 19, 157–164.1990.

LEAL, CT. BEZERRA, AL. LEMOS A. A efetividade do laser de HeNe 632,8 nm no reestabelecimento da integridade dos tecidos cutâneos em animais experimentais: revisão sistemática. **Fisioter Pesq**, 19(3): 290-296, 2012.

LEPROULT, R., COPINSCHI, G., BUXTON, O. and VAN CAUTER, E. Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. **Sleep**, 1997,20: p. 865–870

LINS RDAU et al.;2011 The use of low power laser in the wound healing process **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, Suplemento p.511-516, out./dez..www.cro-pe-org.br

LOPES, LDF. **Utilização do laser de 660 nm, 17 J/cm<sup>2</sup> em úlceras por pressão – Um relato de caso.** Rev Neurocienc, 19(4): 668-674, 2011.

MACHADO, RB , HIPÓLIDE, DC , BENEDITO-SILVA, AA , Tufik S . **Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: loss quantification and sleep recovery.** Brain Research 1004 ( 2004) 45-51.

MARSHALL, L. and BORN, J. **Brain-immune interactions in sleep.** Int. Rev.Neurobiol., 2002, 52: p. 93–131.

MENDEZ, TMTV et al. **Dose and Wavelength of Laser Light Have Influence on the Repair of Cutaneous Wounds.** J Clin Laser Medic Surg, 22(1): 19–25, 2004.

MOSTAGHIMI, L. OBEMEYER H.W, BALLAMUDI B., GONZALEZ- MARTINES D. Effects of sleep deprivation on wound healing. **J Sleep Res**,14: p. 213-219.2005.

NEIBURGER, EJ. The effect of low-power lasers on intraoral wound healing. **Scientific** 1995:40-43

NUNES Jr. GP, Tufik S. Validation of the modified multiple platform (MPM) of paradoxical sleep deprivation in the rats. **Sleep Res** 1994;23:419 *Cérebro Res.* 9 de abril de 2004; 1004 (1-2): 45-51.

OLIVEIRA, MVM et al; 2011. Efeitos da bromoprida na cicatrização da parede abdominal com sepse peritonial induzida e submetidos à ressecção segmentar e anastomose do cólon esquerdo em ratos. **Acta Cir Bras**, 26(6) p.433-437.

OLIVEIRA, Thiago Sá de. **Influência da Administração precoce de infliminas na cicatrização de anastomose no colón esquerdo de ratos com ou sem colite induzida.** Dissertação de mestrado. Faculdade de ciências médicas. UnB, 2017.

PENHAVEL et al, 2016. Effect of Hevea brasiliensis latex sap gel on healing of acute skin wounds induced on the back of rats. **Rev. Col. Bras. Cir.** vol.43 no.1 Rio de Janeiro Jan./Feb. 2016

RECHTSCHAFFEN, A., BERGMANN, B. M., EVERSON, C. A., KUSSHIDA, C. A.and Gilliland, M. A. **Sleep deprivation in the rat: X. integration and discussion of the findings.** Sleep, 1989, 12: p.68–87

ROCHA JUNIOR, AM, ANDRADE, LEF, OLIVEIRA, RG, AAREASTRUP, F, M, FARIAS, RE. Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. **An Bras Dermatol.** 2006;81:150-6.

ROSE, M., SANFORD, A., THOMAS, C. and OPP, M. R. **Factors altering the sleep of burned children.** *Sleep*, 2001, p.24: 45–51.

ROSS, Michael H., PAWLINA, Wojciech. Ross | **Histologia – Texto e Atlas – Correlações com Biologia Celular e Molecular**, 7ª edição. Guanabara Koogan, 2016.

SHUKLA, S.; SAHU, K.; VERMA, Y.; RAO, K.D.; DUBE, A.; GUPTA, P.K. **Effect of Helium-Neon Laser Irradiation on Hair Follicle Growth Cycle of Swiss Albino Mice.** *Skin Pharmacology*, 2010.

SILVA, JSP et al. Aplicação do laser de baixa potência na cicatrização de feridas. **Odont Clín Cient**, p. 511-516, 2011.

SILVEIRA, P.C.L; SILVA, L.A; TUON T.; FREITAS, T.P; STRECK, E.L; PINHO, R.A. Efeitos da laserterapia de baixa potência na resposta oxidativa epidérmica induzida pela cicatrização de feridas. **Rev. Bras. Fisioter. São Carlos**, v. 13, n. 4, p. 281-7, jul./ago. 2009.

SOUSA, CR, FILHOM. M.L.A, NICOLAU A. R. MENDES S.M.L., BARROSL.T, NEVES.V. M. S. Action of AlGaInP laser and high frequency generator in cutaneous wound healing. A comparative study1. **Acta Cirúrgica Brasileira** - Vol. 30 (12) p.791-79,2015.

SPIEGEL, K., LEPROULT, R. and VAN CAUTER, E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. **Lancet**, 1999, 354: 1435–1439.

STADELMANN, W.K. et al. Impediments to Wound Healing. **The American Journal of Surgery**, v. 176, n. 2A, p. 39-44, aug./1998.

TACON, KCB, SANTOS, O.C, PARENTE, L.M.L., CUNHA C. L, JÚNIOR L. SOUZA, ROTTA R.F.R., TACON A.S.F., AMARAL N.W. **Atividade cicatrizante do laser AlGaInP (660nm) em ratos.** *Acta Cir Bras*, 26(5)373-380, 2011

TIMO -IARA C. O sono. **Ciência hoje** 1985; 4:66-76

VAN CAUTER, E., CAUFRIEZ, A., KERKHOFS, M., VAN ONDERBERGEN, A., THORNER, M. O. and COPINSCHI, G. Sleep, awakenings, and insulin-like growth factor-I modulate the growth hormone (GH) secretory response to GH-releasing hormone. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 1992, 74: p.1451–1459.

## **ANEXO 1 - DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES**

A autora afirma e reitera que não houve conflito de interesses financeiros de qualquer natureza na realização da pesquisa ou na redação dessa dissertação. O estudo não recebeu apoio financeiro de nenhum laboratório, indústria farmacêutica ou indústria tecnológica.

**FABIANA APARECIDA BOTTA AMARO**

BRASÍLIA-DF

2018

## ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO CEUA

Brasília, 5 de maio de 2016.

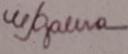
  
Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comissão de Ética no Uso Animal



**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado "**EFEITO DA IRRADIAÇÃO DO LASER HE-NE 632.8NM EM FERIDAS DE RATOS PRIVADOS DE SONO PARADOXAL.**", UnBDoC n.º 55074/2016, sob responsabilidade do Professor Carlos Eduardo Ventura Gaio foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de *Rattus norvegicus*: 48. A presente aprovação é válida pelo período de 1º/06/2016 a 1º/06/2018.





Profa. Dra. Paula Diniz Galera  
Coordenadora da CEUA - UnB