DIEGO GUIMARÃES OPENHEIMER

LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE E CALÊNDULA OFFICINALIS LINNE NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATAS

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Universidade do Vale do Sapucaí, para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

POUSO ALEGRE - MG

DIEGO GUIMARÃES OPENHEIMER

LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE E CALÊNDULA OFFICINALIS LINNE NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATAS

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Universidade do Vale do Sapucaí, para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Geraldo Magela Salomé
COORIENTADORES: Profa. Dra. Maria José Azevedo de Brito Rocha
Profa. Dra. Margarida Maria de Carvalho Resende

POUSO ALEGRE - MG

Openheimer, Diego Guimarães

Laserterapia de Baixa Intensidade e Calêndula Officinalis Linne na Cicatrização de Feridas Cutâneas em Ratas. Diego Guimarães Openheimer – Pouso Alegre 2014. xiv, 90f..

Dissertação de Mestrado – Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVAS. Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde.

Título em Inglês: Low-Intensity Laser And Calendula Officinalis Linne for Cutaneous Wound Healing in Rats. 1. Lasers 2. Calendula 3. Cicatrização 4. Técnicas de Fechamento de Ferimentos

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por guiar meu caminho e me orientar em todos os momentos.

À minha mãe Claudete Guimarães Ribeiro, por todo amor e ajuda durante toda essa trajetória. Seu apoio foi fundamental e me orgulho de dividir com a senhora esta conquista. Mãe, seu cuidado e dedicação foram essenciais, principalmente nos momentos difíceis, quando suas palavras me deram esperança para seguir em frente. Te amo.

À minha irmã Renata Lucia Guimarães Risso, por ser o meu grande exemplo de pessoa, de lutar por seus sonhos, de dedicação profissional, de força, perseverança e humildade. Te amo.

Ao meu pai Rubens Openheimer (in memoriam), que infelizmente não pôde estar presente neste momento tão feliz da minha vida, o qual não poderia deixar de dedicar a ele, pois, se hoje estou aqui, lhe devo todas as minhas vitórias. Me orgulho por ser seu filho, por tudo o que o senhor fez por mim, pelos seus ensinamentos e valores passados. Obrigado por tudo. Te amo. Saudades eternas.

À minha tia de coração Rosa Almeida Brandão de Lima, por me mostrar que temos de lutar diante de todas as adversidades, que sempre devemos manter a autoestima e a felicidade. Sua vitória me inspirou a viver e buscar meus sonhos, e gostaria de compartilhar esta conquista com a senhora, que sempre esteve ao meu lado. Te amo.

À minha tia Olinda Guimarães Ribeiro, simplesmente por tudo o que faz e já fez por mim, por sempre tentar me ajudar, mesmo que seja da forma mais simples. Te amo.

A todos os meus amigos que me incentivaram durante toda a jornada e que sempre estiveram ao meu lado nesta longa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha eterna gratidão a todos que tornaram este estudo possível.

Quero agradecer profundamente ao Professor Geraldo Magela Salomé, pela oportunidade, confiança e dedicação a mim atribuídas, e ressaltar o empenho que teve em minha pesquisa, contribuindo de forma importante e norteadora para este estudo e para minha formação.

Um agradecimento especial à Professora Margarida Maria de Carvalho Resende, por toda a sua dedicação na coorientação deste trabalho. Seus ensinamentos, principalmente na parte prática do trabalho, foram essenciais para esta conquista. Seu cuidado na ética durante a pesquisa em animais foi o diferencial desta pesquisa.

Um agradecimento especial à Professora Maria José Azevedo de Brito Rocha, por todo o esforço e dedicação na coorientação deste trabalho. Seus ensinamentos sobre como elaborar uma tese e orientações quanto ao texto foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos acadêmicos do curso de Fisioterapia Ítalo Ricardo, Vanessa Queirós, Jéssica Fagundes e Keila Pereira, por me ajudarem de forma incrível com esta pesquisa. Vocês são diferenciados; tenho certeza do sucesso profissional de todos.

Gostaria de agradecer ao colaborador do Centro de Cirurgia Experimental Sr. Ivan Lucio de Melo, por todas as ideias e soluções dos meus problemas na parte prática do trabalho.

À colaboradora do Laboratório de Farmácia Sra. Nelsi Nara Vieira Marchetti, por todo o auxílio nos fitoterápicos.

À equipe de Estatística da Universidade do Vale do Sapucaí, professores Neil Ferreira Novo, Yara Juliano e colaborador Sandro José Ferreira dos Passos, por todo o auxílio com a estatística deste trabalho.

Ao Doutor Paulo Calafiore Resende, por todo o auxílio na confecção e parte prática do trabalho. Seu conhecimento foi essencial para o sucesso deste projeto. Agradeço por me ensinar e pela paciência que teve com toda a minha equipe, fica aqui meu sincero agradecimento.

Aos meus amigos e professores do curso de Fisioterapia da Univás, por me apoiarem e me ajudarem em todos os momentos.

Aos meus queridos colegas de trabalho do Conselho Regional de Fisioterapia e Terapia Ocupacional – CREFITO-4, especialmente os amigos Anderson Luís Coelho, Jonas Costa, Gustavo Lara Mourão de Araújo, Tailon Camargo Martins, Hugo Pereira Goretti e Lucas Jupiaçara Guimarães, pela amizade, ajuda e companheirismo diário.

Aos meus colegas de mestrado (futuros mestres). A convivência com todos tornou esta jornada mais agradável. Levo todos no meu coração e agradeço por tudo o que fizeram para me ajudar.

E, por último, com grande importância, aos meus queridos professores do Programa de Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde, o meu mais puro sentimento de gratidão e honra de ter convivido com todos.



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

< - Menor que

 \bar{x} - Média

 \tilde{x} - Mediana

AsGa - Arseneto de Gálio

°C - Graus Celsius

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

Dp - Desvio Padrão

HeNe - Hélio-Neônio

J/cm² - Joules por centímetro quadrado

LLLT - Low-level laser therapy

mW - MiliWatts

nm - Nanômetros

qsp - Quantidade suficiente para

SBCAL - Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório

UNIVÁS - Universidade do Vale do Sapucaí

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 DIVISÃO DOS ANIMAIS NOS GRUPOS DE TRATAMENTO

08

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	COMPARAÇÃO DA TAXA DE REGRESSÃO DA ÁREA DA	25	
	FERIDA ENTRE OS QUATRO GRUPOS	25	
TABELA 2	COMPARAÇÃO DA MÉDIA, MEDIANA E DESVIO PADRÃO	26	
	ENTRE OS GRUPOS LASERTERAPIA, LASERTERAPIA +	26	
	CALÊNDULA E CONTROLE		
TAREL A A	COMPARAÇÃO DA MÉDIA, MEDIANA E DESVIO PADRÃO	27	
TABELA 3	ENTRE OS GRUPOS CALÊNDULA, LASERTERAPIA +	27	
	CALÊNDULA E CONTROLE		
TADELA 4	COMPARAÇÃO DA MÉDIA, MEDIANA E DESVIO PADRÃO	20	
TABELA 4	ENTRE OS GRUPOS LASERTERAPIA, CALÊNDULA E	28	
	CONTROLE		
TADEL A C	COMPARAÇÃO DA MÉDIA, MEDIANA E DESVIO PADRÃO	20	
TABELA 5	ENTRE OS GRUPOS LASERTERAPIA + CALÊNDULA E	E 29	
	CONTROLE		
TABELA 6	COMPARAÇÃO DA MÉDIA, MEDIANA E DESVIO PADRÃO	20	
	ENTRE OS GRUPOS CALÊNDULA E CONTROLE	29	
TABELA 7	COMPARAÇÃO DA MÉDIA, MEDIANA E DESVIO PADRÃO	30	
	ENTRE OS GRUPOS LASERTERAPIA E CONTROLE		

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE	02
FIGURA 2:	CALÊNDULA OFFICINALIS LINNE	04
FIGURA 3:	SISTEMA DE ALOJAMENTO DAS RATAS, COM NUMERAÇÃO DAS GAIOLAS	07
FIGURA 4:	ANESTESIA DAS RATAS	09
FIGURA 5:	EPILAÇÃO MANUAL DOS PELOS, FASE INICIAL	10
FIGURA 6:	EPILAÇÃO MANUAL DOS PELOS, FASE FINAL	10
FIGURA 7:	PUNCH DE AÇO INOXIDÁVEL	11
FIGURA 8:	APLICAÇÃO DO PUNCH METÁLICO	11
FIGURA 9:	ÁREA DEMARCADA	12
FIGURA 10:	CONFECÇÃO DA FERIDA I	13
FIGURA 11:	CONFECÇÃO DA FERIDA II	13
FIGURA 12:	FERIDA CONFECCIONADA	14
FIGURA 13:	APLICAÇÃO DA LASERTERAPIA EM MARGEM DA FERIDA	15

FIGURA 14:	COMPOSTO DE CALÊNDULA OFFICINALIS LINNE	16
FIGURA 15:	CALÊNDULA SENDO APLICADA SOBRE A FERIDA	17
FIGURA 16:	COMPOSTO COM GEL DE CARBOPOL	18
FIGURA 17:	GEL DE CARBOPOL SOBRE A FERIDA	18
FIGURA 18:	SOLUÇÃO FISIOLÓGICA PREAQUECIDA	19
FIGURA 19:	LIMPEZA COM GAZE NÃO ESTÉRIL	20
FIGURA 20:	COBERTURA COM FILME TRANSPARENTE	21
FIGURA 21:	FILME TRANSPARENTE DUPLA FACE	21
FIGURA 22:	FILME TRANSPARENTE DUPLA FACE SOBRE A FERIDA	22
FIGURA 23:	DEMARCAÇÃO DA FERIDA	23

SUMÁRIO

1. CONTEXTO	1
2. OBJETIVOS	5
3. MÉTODOS	6
3.1 TIPO DE ESTUDO	6
3.2 ASPECTOS ÉTICOS	6
3.3 LOCAL DO ESTUDO	6
3.4 AMOSTRA	7
3.5 DESENHO DO ESTUDO	8
3.6 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	8
3.7 ANESTESIA	9
3.8 EPILAÇÃO DOS PELOS	9
3.9 DEMARCAÇÃO COM PUNCH	11
3.10 CONFECÇÃO DA FERIDA CIRÚRGICA	12
3.11 TRATAMENTO DOS GRUPOS	14
3.11.1 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE	15
3.11.2 CALÊNDULA OFFICINALIS LINNE	16
3.11.3 GRUPO CONTROLE	17
3 12 I IMPEZA DA FERIDA	10

3.13 COBERTURA DA FERIDA	20
3.14 COLETA DE DADOS	22
3.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
3.16 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS	24
4. RESULTADOS	25
4.1 PRODUTO	31
5. APLICABILIDADE	50
6. CONCLUSÕES	53
7. REFERÊNCIAS	54
NORMAS ADOTADAS	59
APÊNDICE	60
APÊNDICE 1: COMITÊ DE ÉTICA	60
APÊNDICE 2: ALEATORIZAÇÃO DE ATENDIMENTO	61
APÊNDICE 3: FICHA DE AVALIAÇÃO	64
APÊNDICE 4: RESULTADO DO SOFTWARE AUTO CAD	66
APÊNDICE 5: ENVIO DO ARTIGO PARA REVISTA	74
FONTES CONSULTADAS	

RESUMO

Este estudo teve o objetivo de verificar os efeitos isolados e associados do Laser de

Baixa Intensidade e da Calêndula Officinalis Linne no processo de cicatrização de feridas

cutâneas em ratas. Trata-se de um estudo experimental, intervencional, prospectivo, controlado

e aleatorizado, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Vale

do Sapucaí. A amostra foi constituída por 48 ratas da linhagem Wistar, fêmeas, com 3 a 4 meses,

distribuídas em 4 grupos de 12 animais. Foi produzida uma ferida na pele da região dorsal, que

recebeu tratamento durante 21 dias, conforme cada grupo: "Laser de Baixa Intensidade",

"Calêndula", "Laser de Baixa Intensidade + Calêndula" e "Controle", sem tratamento. A coleta

de dados foi realizada após a cirurgia e nos dias 3°, 6°, 9°, 12°, 15°, 18° e 21°, pela mensuração

da área da ferida, por meio do decalque, contornando sua margem com pincel, em filme de

polipropileno sobreposto à mesma. Esta medida foi transferida para o software de computador

AutoCad, onde quantificou-se a área da ferida. Não houve diferença da redução da área das

feridas entre os grupos até a avaliação do 6º dia. A partir da avaliação do 9º dia, o grupo "Laser

de Baixa Intensidade" mostrou redução da área da ferida em relação aos demais grupos.

Concluiu-se que o Laser de Baixa Intensidade isoladamente contribui para cicatrização de

feridas de pele de ratas comparado ao tratamento com Calêndula ou desta associada ao Laser

de Baixa Intensidade.

Descritores: Lasers, Calêndula, Cicatrização, Técnicas de Fechamento de Ferimentos

ABSTRACT

The aim of the study was to verify the isolated and associated effects of low-intensity

laser and Calendula Officinalis Linn on cutaneous wound healing in rats. This is a prospective,

interventional, randomized, controlled experimental study, approved by the Ethics Committee

for animal use of the University of Vale do Sapucaí. The sample consisted of 48 female Wistar

rats, aged 3 to 4 months, divided into 4 groups of 12 animals each. The skin wounds were made

in the dorsal region and the 21-day treatment consisted of one of the following: low-intensity

laser, Calendula officinalis, low-intensity laser + Calendula officinalis, and Control without

treatment. Data collection was performed immediately after surgery and on the 3rd, 6th, 9th, 12th,

15th, 18th and 21st days. The measurement of the wound area was performed by tracing the

perimeter of the wound using a sterile polypropylene film placed over the wound. These

measurements were transferred to the software AutoCad to specify the wound area. No

difference in wound reduction was found up to the 6th day. After the 9th day, the low-intensity

laser Group showed greater wound reduction in comparison with the other groups. It was

concluded that the laser alone contributes to healing of skin wounds in rats than treatment with

Calendula or associated with low-intensity laser.

Keywords: Lasers, Calendula, Wound healing, Wound Closure Techniques

1. CONTEXTO

Alterações na pele, que comumente resultam em lesões, podem afetar a cicatrização, dificultando o processo de reabilitação dos pacientes. Isso acontece quando a pele sofre modificações fisiológicas, como alterações colágenas e redução das fibras elásticas, resultando na diminuição da espessura e da elasticidade epidérmica e dérmica. A diminuição dos tecidos, das mitoses, dos hormônios e da vascularização leva ao atraso no processo cicatricial e de reepitelização, tanto em seres humanos como em animais (ABREU e FAGUNDES, 2011).

O tratamento das feridas é dinâmico, variando seu foco em cada fase da cicatrização. Atualmente, são inúmeras as opções de coberturas e tratamentos existentes, tais como coberturas com novas tecnologias, tratamento com fitoterápicos ou por meio da câmara hiperbárica, laserterapia, ultrassom, entre outros (ABREU e FAGUNDES, 2011).

O laser, que significa Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, é conhecido mundialmente como Low Level Laser Therapy (LLLT) e tem sido investigado pelo efeito positivo nos processos inflamatórios, na promoção de reparo tecidual e na diminuição da dor, em vários modelos de pesquisa experimental e clínica. Entretanto, há divergências nos protocolos de aplicação da LLLT, utilizando diversas matérias ativadoras, comprimentos de onda, potências, frequências, densidades de energia e números de irradiações (ROCHKIND, 2009).

A LLLT é utilizada na fisioterapia para o tratamento de feridas. Suas propriedades terapêuticas foram estudadas desde a teoria da emissão estimulada por Albert Einstein em 1917, seguida em 1957 por Charles Townes e Arthur Achawlow, tornando-se realidade em 1960, com o primeiro Laser a Rubi, por Theodore Maiman (SEMENOFF SEGUNDO *et al.*, 2007).

A definição de parâmetros ideais e a compreensão dos reais efeitos da LLLT sobre tecidos biológicos são essenciais para aumentar a eficácia na regeneração, principalmente quando se trata de lesões que tendem a tornarem-se progressivamente mais graves (LIRANI e CASTRO, 2005).

A LLLT é considerada uma técnica segura e eficaz no tratamento clínico de uma variedade de doenças e lesões teciduais. Embora as vias de interação laser-tecido ainda necessitem ser mais bem compreendidas, a absorção da energia luminosa por parte dos cromóforos específicos parece ser o evento chave para inicializar os processos celulares (HAMBLIN, 2010; GIGO-BENATO *et al.*, 2010).

O potencial terapêutico dessa modalidade é dependente da aplicação de parâmetros adequados, em especial comprimentos de onda, densidade de energia, potência, irradiância, número e tempo da sessão, assumindo as propriedades dosimétricas ótimas para suas ações (HAMBLIN, 2010, GIGO-BENATO *et al.*, 2010).

Logo após a descoberta do laser percebeu-se que a LLLT tinha o potencial de melhorar a cicatrização e reduzir a dor, inflamação e edema. Porém, pesquisas com LLLT ainda precisam elucidar mecanismos fundamentais baseados em evidências clínicas (Figura 1) (MENDONÇA *et al.*, 2009, WOLCOTT *et al.*, 2010).



Figura 1: Laserterapia de Baixa Intensidade.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

Estudos mostraram que o laser é capaz de influenciar a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e células epiteliais, provocando efeitos sobre o colágeno e a síntese de colágeno (BUSNARDO e BIONDO, 2010; LEAL, BEZERRA, LEMOS, 2012; ABREU *et al.*, 2011; PIVA *et al.*, 2011).

A LLLT é capaz de influenciar o percentual de colágeno em feridas cutâneas, aumentando a quantidade de fibras colágenas e macrófagos (CARVALHO *et al.*, 2010). Além disso, apresenta capacidade de reduzir a resposta inflamatória e interfere na melhora organizacional das fibras colágenas (LEAL, BEZERRA, LEMOS, 2013).

A utilização da LLLT com a dosimetria de 4 J/cm² na cicatrização de feridas otimizou o processo de reparação das feridas cutâneas experimentais em *Rattus norvergicus* (ABREU *et al.*,2011), apresentando efeitos anti-inflamatórios e reduzindo o edema e hiperemia vascular (REZENDE *et al.*, 2012).

A LLLT utilizando Arsênio-Gálio com comprimento de onda de 904nm e dose de 4 J/cm² é a terapia mais indicada na cicatrização do tecido epitelial (KANSAL et al., 2014 e ABREU *et al.*, 2011).

A LLLT com Arsênio-Gálio de 904nm apresenta efeito positivo na diminuição da inflamação tecidual (LEAL-JUNIOR *et al.*, 2014).

Alguns estudos experimentais apresentaram associações de fitoterápicos com outras práticas de tratamento de feridas com resultados positivos (SEMENOFF SEGUNDO *et al.*, 2007, MENDONÇA *et al.*, 2009). Estudo *in vitro* com associação da LLLT com a Calêndula evidenciou associação favorável (BRESLER *et al.*, 2007).

A Calêndula *Officinalis Linne* (Calêndula) é uma planta nativa da Europa Central e do Mediterrâneo e cresce naturalmente em locais ensolarados de toda a América do Norte e na Europa (FARIA, CARDOSO, SANTOS JÚNIOR., 2011), sendo conhecida popularmente como Malmequer, Malmequer-dos-Jardins e Margarida-Dourada (SERRA *et al.*, 2013). Seu florescimento é anual e as partes usadas como terapêuticas são as folhas e os capítulos (flores) (PARENTE 2012, SAINI *et al.*,2012). Contudo, a planta também pode ser usada como ornamental ou como fitorremediadora em solos contaminados com Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb) (SERRA *et al.*, 2013).

A Calêndula tem ação cicatrizante e antisséptica (uso externo), é sudorífica, analgésica, anti-inflamatória, antiviral, vasodilatadora e tem efeito tonificante na pele (Figura 2) (SERRA *et al.*, 2013 e FONSECA *et al.*, 2010). Além disso, os capítulos são antioxidantes, estudo assinalou que seria capaz de reduzir os radicais livres produzidos no organismo em humanos (MISHRA *et al.*, 2012).

Os principais usos da Calêndula são em remédios para queimaduras, contusões e doenças inflamatórias cutâneas e internas de várias origens, atuando na necrose tumoral e na estimulação de mastócitos humanos (JIMÉNEZ-MEDINA *et al.*, 2006).

As doses recomendadas variam quanto ao tipo e gravidade da condição a ser tratada e ao estado individual de cada paciente (SARTORI *et al.*, 2003).



Figura 2: Calêndula Officinalis Linne.

Fonte: Wikimedia Commons, 2013.

Desta forma, surge a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de novas técnicas, bem como da consolidação dos diversos recursos terapêuticos já existentes, a fim de elucidar os procedimentos adotados para acelerar a regeneração de tecidos. Essas pesquisas são necessárias para desenvolver os tratamentos nos centros públicos e privados.

2. OBJETIVOS

Avaliar os efeitos isolados e associados da Laserterapia de Baixa Intensidade e da *Calêndula Officinalis Linne* no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratas.

Elaborar uma cartilha sobre a aplicação da técnica de Laserterapia de Baixa Intensidade em feridas para profissionais de saúde.

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo experimental, primário, intervencional, prospectivo, analítico, controlado, aleatorizado e unicego para o avaliador e para o estatístico.

O estudo foi cego para o pesquisador, que realizava a avaliação dos animais sem o conhecimento de qual grupo o animal pertencia. O estudo também foi cego para a equipe de estatística, que realizou a mensuração de dados dos grupos sem saber qual tratamento realizou o grupo.

3.2 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Vale do Sapucaí (UNIVÁS), sob o parecer número 188/2013, seguindo os princípios éticos para o uso de animais em pesquisa da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório – SBCAL/COBEA (Apêndice 01).

Este estudo não apresentou nenhum conflito de interesse, de seus pesquisadores e da instituição. Não houve nenhum tipo de financiamento para realização desta pesquisa.

3.3 LOCAL DO ESTUDO

Este trabalho foi desenvolvido no Centro de Cirurgia Experimental da Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVÁS.

3.4 AMOSTRA

Foram utilizadas 48 ratas (Rattus Novergicus Albinus) da linhagem Wistar, fêmeas com três a quatro meses de idade e peso entre 200 e 300 gramas, provenientes do biotério da Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVÁS.

Os animais foram condicionados pelos pesquisadores segundo as práticas e rotinas do tratamento, além do convívio do animal com os pesquisadores por 15 dias, antes de iniciar o trabalho, evitando assim o estresse do animal.

Durante o experimento, os animais permaneceram em gaiolas, com condições de temperatura variando de 24°C a 28°C, iluminação com ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro, em sala com controle de exaustão, com ração própria para a espécie e água *ad libitum*.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de polipropileno fechada com suporte de madeira de dez centímetros (cm) para aumentar a altura entre a base da gaiola e a cobertura da ferida, evitando contato da ferida com a parte superior da gaiola (Figura 3).

Cada animal ficou na gaiola individual por 36 dias, sendo 15 dias de precondicionamento dos animais e 21 dias de experimento. Durante os 15 dias de precondicionamento os animais foram condicionados ao contato com a equipe, às simulações de tratamento e ao convívio em gaiola individual. O objetivo desse condicionamento foi diminuir o estresse do animal à prática do tratamento.



Figura 3: Sistema de alojamento das ratas, com numeração das gaiolas.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.5 DESENHO DO ESTUDO

Os animais foram aleatorizados manualmente e alocados em quatro grupos com 12 ratas. A aleatorização dos animais foi realizada diariamente, apresentando uma sequência diferente em cada dia de tratamento (Apêndice 02).

O tratamento foi dividido em duas fases, sendo que em cada fase foram operadas 24 ratas, seis animais pertencentes a cada grupo. Os tratamentos foram realizados diariamente, na parte da manhã. Para cada animal havia uma ficha de avaliação diária, onde eram descritas todas as observações do tratamento (Apêndice 03). Os grupos foram divididos conforme o Quadro 1.

Quadro 1: Divisão dos animais nos grupos de tratamento.

Grupo	Tratamento	Ratas
Grupo 1	Laserterapia de Baixa Intensidade 904nm a 4J/cm ²	12 animais
Grupo 2	Calêndula Officinalis Linne a 20%	12 animais
Grupo 3	Laserterapia + Calêndula Officinalis	12 animais
Grupo 4	Gel de Carbopol a 100%	12 animais

3.6 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídas Ratas Wistar, fêmeas, de idade entre três e quatro meses, com peso entre 200 e 300 gramas, sem malformação aparente e eutróficas.

Não foi excluído nenhum animal desta pesquisa, não houve nenhum processo de infecção nas feridas. Houve três perdas devido ao processo de anestesia, as ratas foram anestesiadas e foram a óbito antes da realização dos procedimentos, sendo substituídas por outros animais que estavam aptos a entrarem na pesquisa.

3.7 ANESTESIA

As ratas foram submetidas à anestesia por via intramuscular, com associação do anestésico Cloridato de Quetamina (1mg/100g de peso) e do Cloridato de Xilazina (2mg/100g de peso), para a produção de uma ferida circular em seu dorso (Figura 4). No pós-operatório imediato foram diluídas quatro gotas de Paracetamol em 200ml de água.

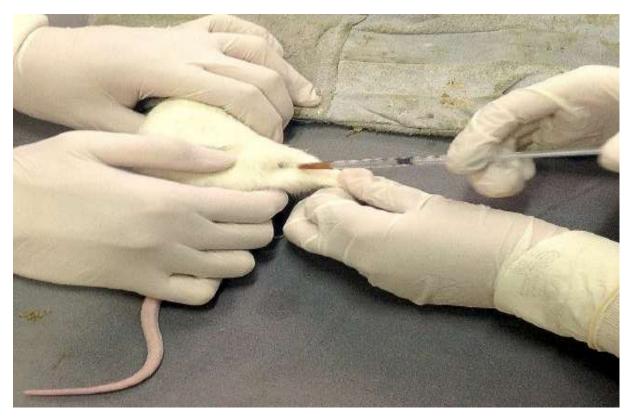


Figura 4: Anestesia das ratas.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.8 EPILAÇÃO DOS PELOS

Com as ratas anestesiadas, deu-se início à epilação manual dos pelos. Primeiramente demarcou-se a região dorsal logo abaixo a linha da cintura escapular das ratas com pincel atômico, sendo quatro centímetros na largura e cinco centímetros no comprimento (figura 5) e os pelos foram retirados manualmente contra o sentido deles (Figura 5 e 6).



Figura 5: Epilação manual dos pelos, fase inicial. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

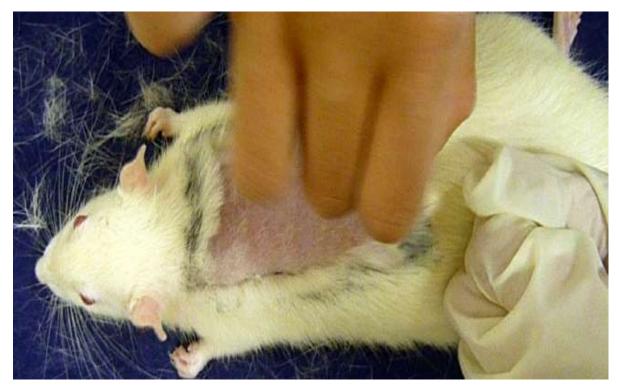


Figura 6: Epilação manual dos pelos, fase final. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.9 DEMARCAÇÃO COM PUNCH

Para a demarcação da ferida foi utilizado um punch de aço inoxidável de 2,13cm de diâmetro, com um corte circular superficial (Figura 7). O punch foi pressionado contra a ferida e realizado um movimento circular, ora em sentido horário, ora em sentido anti-horário, realizando assim a demarcação da ferida (Figuras 8 e 9).



Figura 7: Punch de aço inoxidável. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 8: Aplicação do Punch Metálico. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 9: Área demarcada.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.10 CONFECÇÃO DA FERIDA CIRÚRGICA

Após a demarcação da ferida com o punch, iniciou-se a remoção do tecido utilizando um bisturi com lâmina número 15 para a incisão e a ressecção da pele e do panículo carnoso até a fáscia muscular superficial, produzindo a ferida (Figuras 10, 11 e 12).

A remoção cirúrgica dos tecidos da derme e da epiderme durava em torno de três a cinco minutos por animal, sendo que o mesmo estava anestesiado até o fim do processo cirúrgico.

Após o ato cirúrgico, os animais foram encaminhados para avaliação e tratamento de acordo com o seu grupo e, posteriormente, alocados em uma mesa com O₂ ligado a quatro litros por minuto.

Ao término do efeito do anestésico as ratas foram encaminhadas para as respectivas gaiolas.



Figura 10: Confecção da ferida I. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 11: Confecção da ferida II. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

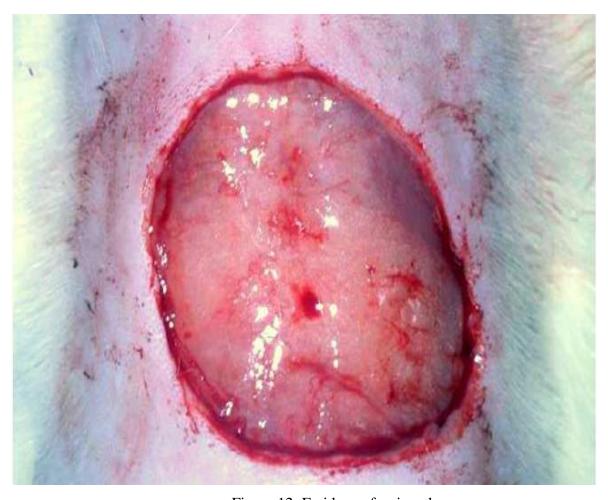


Figura 12: Ferida confeccionada. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.11 TRATAMENTO DOS GRUPOS

Para o grupo 1, o tratamento selecionado foi a Laserterapia de Baixa Intensidade; para o grupo 2, o tratamento foi com *Calêndula Officinalis Linne* a 20%; para o grupo 3, utilizou-se a associação entre as terapêuticas da Laserterapia e Calêndula, sendo aplicada primeiramente a Laserterapia e logo após a aplicação da Calêndula; e para o grupo 4 o tratamento foi com gel de carbopol (utilizado como agente emulsionante), sendo este o grupo controle da pesquisa. O tratamento foi realizado diariamente em todos os grupos.

3.11.1 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE

Para o tratamento do grupo Laserterapia foram utilizados o aparelho *Laserpulse Diamond Line* da marca Ibramed e a caneta de 904 nanômetros (nm) com o princípio ativo de AsGa (Arseneto de Gálio) de feixe vermelho invisível, com potência de 70mW (pico) e dose de 4J/cm² (Figura 13).

Com diodo pulsado e frequência de 9.500Hz, a aplicação foi realizada com a técnica pontual nas margens da ferida, sempre em ângulo perpendicular a 90° de aplicação e a mesma foi subdividida visualmente em cm² – cada cm² recebeu uma aplicação com a duração de 12 segundos por ponto. Após a aplicação foi realizada a cobertura da ferida.

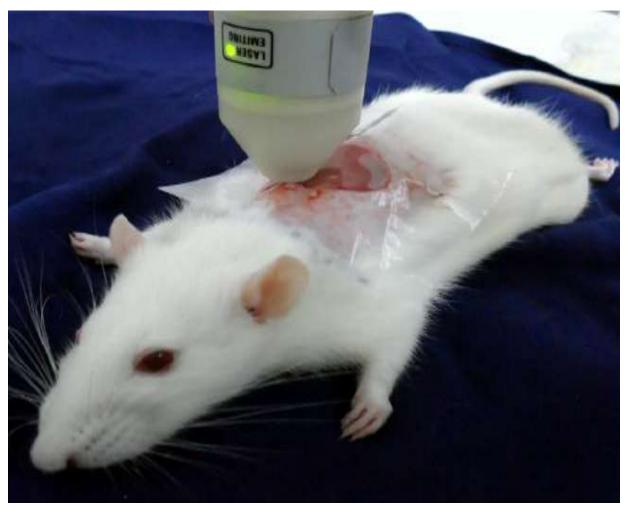


Figura 13: Aplicação da Laserterapia em margem da ferida. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.11.2 CALÊNDULA OFFICINALIS LINNE

Para o grupo Calêndula foi utilizado um composto preparado com a planta, manipulado em um laboratório farmacêutico na cidade de Pouso Alegre, Minas Gerais.

O composto teve a concentração de 20% de extrato Glicolítico de *Calêndula Officinalis Linne* e 80% de Gel de Carbopol, em quantidade suficiente para 100mg. O pH desse composto foi 6.70 (Figura 14).

Para cada aplicação foi utilizada uma dosagem de 0.2g desse composto, que foi aspirada por uma seringa de 1 ml e aplicada sobre a ferida, sendo que, com uma espátula de acrílico, o composto foi espalhado sobre toda a extensão da ferida (Figura 15).

Após a aplicação da calêndula foi realizada a cobertura da ferida. Esse processo foi realizado durante todo o tratamento.



Figura 14: Composto de Calêndula Officinalis Linne.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 15: Calêndula sendo aplicada sobre a ferida.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.11.3 GRUPO CONTROLE

Para o tratamento do grupo controle foi utilizado o Gel de Carbopol a 100% (Figura 16). Para cada aplicação foi utilizada uma dosagem de 0.2g do gel, que foi aspirada por uma seringa de 1 ml e aplicada sobre a ferida. O gel foi então espalhado com uma espátula de acrílico sobre toda a extensão da ferida. Após a aplicação do gel foi realizada a cobertura da ferida (Figura 17).



Figura 16: Composto com Gel de Carbopol.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 17: Gel de Carbopol sobre a ferida.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.12 LIMPEZA DA FERIDA

Antes de realizar os tratamentos foi realizada a limpeza da ferida diariamente. Foi retirado o curativo sobre a ferida, que foi higienizada com 20 ml de soro fisiológico aquecido a 35°C, despejado diretamente na superfície da ferida em um jato contínuo por meio de uma seringa de 20 ml (Figura 18).

Após a aplicação da solução fisiológica, a limpeza se deu por meio da utilização de uma gaze estéril, para secar a ferida (Figura 19).

Durante a limpeza, e sempre que necessário, foi realizado o desbridamento da crosta, com solução fisiológica e gaze estéril, sempre na fase inicial do processo da crosta.



Figura 18: Solução fisiológica preaquecida.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 19: Limpeza com gaze não estéril. Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.13 COBERTURA DA FERIDA

A cobertura da ferida em todos os grupos foi realizada com a aplicação de filme transparente adesivo (Smith & Nephew[®], modelo Opsite Flexigrid) estéril, com dimensões de 4,0x5,0cm (Figura 20).

O filme transparente é adesivo e estéril, complementado por suporte quadriculado para a mensuração da ferida. O filme é impermeável à água e bactérias e permeável aos vapores úmidos, permitindo que o excesso de exsudato evapore, minimizando a maceração da pele (Figuras 21 e 22).

O filme transparente é de dupla face e sua aplicação e remoção não causam dor ao animal, bem como não limitam o seu movimento, sendo indicado no tratamento de feridas superficiais, cortes, abrasões, pequenas queimaduras e áreas doadoras de enxerto.



Figura 20: Cobertura com filme transparente.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

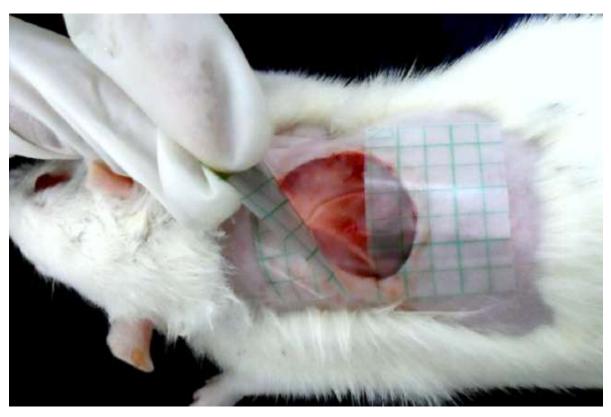


Figura 21: Filme transparente dupla face.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.



Figura 22: Filme transparente dupla face sobre a ferida.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.14 COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada em oito fases distintas, seguindo a evolução do tratamento. A primeira fase foi logo após o processo cirúrgico, para que se obtivesse a medida exata da ferida em sua fase inicial.

Após a primeira avaliação, as demais foram divididas em períodos intercalados de três dias, sendo nos dias 3°, 6°, 9°, 12°, 15°, 18° e 21°. No 21° dia não houve tratamento, apenas avaliação final do estado da ferida, sendo que, após essa avaliação, os animais foram anestesiados e induzidos à eutanásia.

A medida da área da ferida foi mensurada por meio de um decalque da área da ferida, sendo utilizado um filme de polipropileno estéril, colocado sobreposto acima da ferida, e com um pincel de ponta fina e de tinta indelével foi realizado o contorno da margem da ferida (Figura 23).

O filme foi colocado sobre uma folha de ofício, para onde se transferiu o desenho da ferida. Esse papel-ofício foi escaneado e suas medidas foram mencionadas por meio do *software* AutoCad (Apêndice 04), quantificando-se a área da ferida.



Figura 23: Demarcação da ferida.

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador.

3.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram registrados na forma de banco de dados do programa de informática SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) for Windows 15.0, onde foi comparada a evolução das áreas das feridas nos oito momentos, entre todos os grupos estudados.

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para realizar a comparação entre os quatro grupos. Para comparar dois e/ou três grupos foi utilizado o teste de Mann-Whitney e para avaliar o percentual de cicatrização de cada ferida foi utilizado o teste de Delta %. Para todas as análises foi considerado o nível de significância de p <0.05.

3.16 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

No 21° dia de experimento, os animais foram anestesiados da mesma forma que o haviam sido para a cirurgia e, após os procedimentos de coleta de dados para o decalque, foram induzidos à eutanásia por meio de uma injeção intracardíaca de cloreto de potássio.

4. RESULTADOS

Ao comparar-se a medida da área da ferida e a percentil de cicatrização utilizando o teste de Kruskal-Wallis, entre as avaliações, observou-se que na avaliação inicial dos quatro grupos não houve diferença estatística, mostrando uma amostragem homogênea na confecção das feridas.

Nas avaliações do 3° e 6° dias, os tratamentos evoluíram de forma semelhante, sendo que nenhum grupo apresentou melhora significativa em comparação aos demais.

A partir da avaliação do 9º dia, o grupo tratado com Laserterapia apresentou melhora significativa, quando comparado aos demais grupos de tratamento, diferença que ficou mais evidente até o final do tratamento (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação do percentil de regressão da área da ferida entre os quatro grupos.

Avaliação	Calêndula		Laserterapia		Laserte	Laserterapia +		le	Kruskal-
					Calêndula				Wallis
	\bar{x}	Delta	\bar{x}	Delta	\bar{x}	Delta %	\bar{x}	Delta %	P
		%		%					
Inicial	2.63	0	2.54	0	2.59	0	2.57	0	0.8775
3° dia	2.11	19.77	2.22	12.59	2.12	18.14	1.99	22.56	0.2735
6° dia	1.75	33.46	1.91	24.80	1.78	31.27	1.77	31.12	0.5491
9º dia	1.37	47.90	1.18*	53.54	1.41	45.55	1.41	45.13	0.0130*
12° dia	1.06	59.69	0.86*	66.14	1.16	55.21	1.19	53.69	0.0013*
15° dia	0.85	67.68	0.45*	82.28	0.88	66.02	0.99	61.47	<0.0001*
18° dia	0.64	75.66	0.24*	90.55	0.71	72.58	0.70	72.76	<0.0001*
21° dia	0.40	84.79	0.03*	98.81	0.54	79.15	0.55	78.59	<0.0001*

^{%:} Índice de porcentagem de cicatrização \bar{x} : Média dos grupos.

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

Na comparação entre os grupos Laserterapia, Laserterapia + Calêndula e o Controle, utilizando o teste de Kruskal-Wallis, verificou-se que o grupo tratado com Laserterapia apresentou melhora significativa a partir do 9º dia de tratamento.

O grupo Laserterapia + Calêndula foi semelhante em todas as avaliações ao grupo Controle. A associação das duas terapêuticas não resultou em melhora no tratamento da ferida (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação da média, mediana e desvio padrão entre os grupos Laserterapia, Laserterapia + Calêndula e Controle.

Dia	Laserterapia			Lasert	erapia	+	Controle			Kruskal-
				Calêndula						Wallis
	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	P
Inicial	2.54	2.46	0.23	2.59	2.58	0.19	2.57	2.59	0.19	0.7693
3° dia	2.22	2.16	0.24	2.12	2.13	0.17	1.99	2.00	0.25	0.1433
6° dia	1.91	1.87	0.27	1.78	1.71	0.21	1.77	1.78	0.21	0.4938
9° dia	1.18*	1.22	0.16	1.41	1.40	0.13	1.41	1.48	0.20	0.0058*
12° dia	0.86*	0.87	0.17	1.16	1.16	0.14	1.19	1.15	0.20	0.0005*
15° dia	0.45*	0.44	0.14	0.88	0.88	0.19	0.99	0.95	0.25	<0.0001*
18° dia	0.24*	0.27	0.14	0.71	0.72	0.14	0.70	0.71	0.17	<0.0001*
21° dia	0.03*	0.00	0.07	0.54	0.58	0.09	0.55	0.53	0.14	<0.0001*

 $[\]bar{x}$: Média \tilde{x} : Mediana Dp: Desvio Padrão

Na comparação entre os grupos Calêndula, Laserterapia + Calêndula e o Controle, utilizando o teste de Kruskal-Wallis, verificou-se que o grupo tratado com Calêndula apresentou melhora significativa no 21º dia de tratamento, quando comparado aos dois grupos expostos abaixo (Tabela 3).

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

Tabela 3: Comparação da média, mediana e desvio padrão entre os grupos Calêndula, Laserterapia + Calêndula e Controle.

	Calênd	Calêndula			Laserterapia +			Controle		
				Calêndula						Wallis
	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	p
Inicial	2.63	2.61	0.24	2.59	2.58	0.19	2.57	2.59	0.19	0.9525
3° dia	2.11	2.20	0.29	2.15	2.13	0.17	1.99	2.00	0.25	0.3473
6° dia	1.75	1.69	0.21	1.78	1.71	0.21	1.77	1.78	0.21	0.9658
9° dia	1.37	1.39	0.22	1.42	1.40	0.13	1.41	1.48	0.20	0.8983
12° dia	1.06	1.09	0.23	1.16	1.16	0.14	1.19	1.15	0.20	0.3495
15° dia	0.85	0.77	0.21	0.90	0.88	0.19	0.99	0.95	0.25	0.3444
18° dia	0.64	0.59	0.20	0.72	0.72	0.14	0.70	0.71	0.17	0.5772
21° dia	0.40*	0.40	0.19	0.54	0.58	0.09	0.55	0.53	0.14	0.0242*

 $[\]bar{x}$: Média \tilde{x} : Mediana Dp: Desvio Padrão

Comparando-se os grupos Laserterapia, Calêndula e Controle, utilizando o teste de Kruskal-Wallis, os resultados apresentados são significativos a favor do grupo tratado com Laserterapia, que apresentou significância a partir do 9º dia de tratamento, quando comparado ao grupo Calêndula e o Controle.

O grupo Calêndula apresentou resultado significativo em relação ao grupo Controle na última avaliação do 21° dia de tratamento (Tabela 4).

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

Tabela 4: Comparação da média, mediana e desvio padrão entre os grupos Laserterapia, Calêndula e Controle.

Dia	Laserte	rapia		Calêndı	ula		Contro	ole		Kruskal-Wallis
	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	\bar{x}	\widetilde{x}	Dp	\bar{x}	\widetilde{x}	Dp	p
Inicial	2.54	2.46	0.23	2.63	2.61	0.24	2.57	2.59	0.19	0.6858
3° dia	2.22	2.16	0.24	2.11	2.20	0.29	1.99	2.00	0.25	0.8640
6° dia	1.91	1.87	0.27	1.75	1.69	0.21	1.77	1.78	0.21	0.6301
9º dia	1.18*	1.22	0.16	1.37	1.39	0.22	1.41	1.48	0.20	0.0036*
12° dia	0.86*	0.87	0.17	1.06	1.09	0.23	1.19	1.15	0.20	0.0002*
15° dia	0.45*	0.44	0.14	0.85	0.77	0.21	0.99	0.95	0.25	<0.0001*
18° dia	0.24*	0.27	0.14	0.64	0.59	0.20	0.70	0.71	0.17	<0.0001*
21° dia	0.03*	0.00	0.07	0.40	0.40	0.19	0.55	0.53	0.14	<0.0001*

 $[\]bar{x}$: Média \tilde{x} : Mediana Dp: Desvio Padrão

Na comparação entre os grupos Laserterapia + Calêndula e o grupo Controle, utilizando o teste de Mann-Whitney, observou-se que ambos os tratamentos foram similares em todas as fases de avaliação e não houve diferença entre os dois grupos, ou seja, ao utilizar os dois tratamentos associados verifica-se o mesmo resultado que se não utilizar nenhum tratamento (Tabela 5).

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

Tabela 5: Comparação da média, mediana e desvio padrão entre os grupos Laserterapia + Calêndula e Controle.

Dia	Laserter	apia + C	alêndula	Control	е		Mann-Whitney
	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	\bar{x}	\widetilde{x}	Dp	p
Inicial	2.59	2.58	0.19	2.57	2.59	0.19	0.8399
3° dia	2.12	2.13	0.17	1.99	2.00	0.25	0.2040
6° dia	1.78	1.71	0.21	1.77	1.78	0.21	0.7508
9º dia	1.41	1.40	0.13	1.41	1.48	0.20	0.8852
12° dia	1.16	1.16	0.14	1.19	1.15	0.20	0.8399
15° dia	0.88	0.88	0.19	0.99	0.95	0.25	0.3123
18° dia	0.71	0.72	0.14	0.70	0.71	0.17	0.6650
21° dia	0.54	0.58	0.09	0.55	0.53	0.14	0.9081

 $[\]bar{x}$: Média \tilde{x} : Mediana Dp: Desvio Padrão

Na comparação entre o grupo Calêndula e o Controle, utilizando o teste de Mann-Whitney, a Calêndula apresentou um bom resultado na última avaliação em relação ao grupo Controle, exibindo diferença significativa na avaliação do 21º dia de tratamento (Tabela 6).

Tabela 6: Comparação da média, mediana e desvio padrão entre os grupos Calêndula e Controle.

	Calênd	Calêndula			le	Mann-Whitney	
	\bar{x}	\tilde{x}	Dp	$\bar{\chi}$	$\tilde{\chi}$	Dp	p
Inicial	2.63	2.61	0.24	2.57	2.59	0.19	0.9081
3° dia	2.11	2.20	0.29	1.99	2.00	0.25	0.5254
6° dia	1.75	1.69	0.21	1.77	1.78	0.21	0.4884
9º dia	1.37	1.39	0.22	1.41	1.48	0.20	0.5834
12° dia	1.06	1.09	0.23	1.19	1.15	0.20	0.1939
15° dia	0.85	0.77	0.21	0.99	0.95	0.25	0.1060
18° dia	0.64	0.59	0.20	0.70	0.71	0.17	0.3865
21° dia	0.40	0.40	0.19	0.55	0.53	0.14	0.0327*

 $[\]bar{x}$: Média \tilde{x} : Mediana Dp: Desvio Padrão

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

Na comparação entre o grupo Laserterapia e o grupo Controle, utilizando o teste de Mann-Whitney, o resultado ficou evidenciado já a partir do 9º dia para o Grupo Laserterapia, diferença essa que aumentou até o final do tratamento (Tabela 7).

Tabela 7: Comparação da média, mediana e desvio padrão entre os grupos Laserterapia e Controle.

	Laserte	Laserterapia			le	Mann-Whitney	
	\bar{x}	ã	Dp	\bar{x}	\widetilde{x}	Dp	p
Inicial	2.54	2.46	0.23	2.57	2.59	0.19	0.8852
3º dia	2.22	2.16	0.24	1.99	2.00	0.25	0.3123
6° dia	1.91	1.87	0.27	1.77	1.78	0.21	0.9540
9º dia	1.18	1.22	0.16	1.41	1.48	0.20	0.0073*
12° dia	0.86	0.87	0.17	1.19	1.15	0.20	< 0.0001*
15° dia	0.45	0.44	0.14	0.99	0.95	0.25	< 0.0001*
18° dia	0.24	0.27	0.14	0.70	0.71	0.17	< 0.0001*
21° dia	0.03	0.00	0.07	0.55	0.53	0.14	< 0.0001*

 \bar{x} : Média \tilde{x} : Mediana Dp: Desvio Padrão

^{*} Resultado com valor de significância menor que 0,05

4.1 PRODUTO

A Laserterapia de Baixa Intensidade apresentou um resultado significativo a partir do 9º dia de tratamento em relação aos demais grupos, sendo o melhor tipo de tratamento para esse tipo de ferida. Diante disso, foi elaborada uma cartilha sobre a aplicação da Laserterapia em feridas para utilização inicialmente dos profissionais de saúde do Hospital das Clínicas Samuel Libânio – HCSL e da região do Sul de Minas Gerais.



"O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta O que ela quer da gente é coragem..."

Guimarães Rosa

Realização: Dr. Diego Guimarães Openheimer

Supervisão: Dr. Geraldo Magela Salomé

Dra. Maria Jose de Brito Dra. Margarida Resende





Sumário

- 1. O que é ferida
- 2. Classificação de feridas
- 3. O que é laserterapia
- 4. Tipos de laserterapia
- 5. Indicações
- 6. Contra Indicações
- 7. Curativo durante tratamento
- 8. Parâmetros
- 9. Método de Aplicação
- 10. Efeitos Terapêuticos
- 11. Referências Bibliográficas





Introdução

1. O que é ferida

Ferida é qualquer ruptura da integridade de um tecido ou órgão, podendo atingir desde a epiderme, até estruturas mais profundas como fáscias, músculos, aponeuroses e órgãos cavitários.

O tratamento das feridas é dinâmico, variando seu foco em cada fase da cicatrização.









2. Classificação das ferida

Quanto ao tempo de reparação:

Feridas Agudas e Crônicas.



Feridas Agudas são lesões recentes com até duas semanas.

Feridas Crônicas são lesões onde não ocorram reparação em um período de três meses.



Quanto às estruturas comprometidas:

Úlceras de pressão (estágios) e Diabéticas (graus);





Quanto à Causa

Cirúrgica ou Não-Cirúrgica (Traumáticas, Patológicas ou latrogênicas).

(Cirúrgica)



Quanto à profundidade:

Superficial (atinge apenas epiderme).

Com perda parcial: limitada à epiderme e porção superior da derme.

Profunda/total: existe destruição da epiderme, derme tecido subcutâneo, podendo invadir músculos, tendões e ossos).

(Superficial)





Quanto ao conteúdo microbiano

Limpa: lesões realizadas por meio de técnicas assépticas e fechadas por sutura.

Ferida Limpa

Limpa-contaminada: tempo inferior a 6 horas entre o trauma e o atendimento.

Contaminada: todas as lesões abertas (tempo superior a 6 horas entre o trauma e atendimento, presença de contaminantes).



Ferida Limpa Contaminada

Infectada: Invasão microbiana dos tecidos, sinais flogísticos e pode haver pus.

Ferida Infectada





Quanto ao tipo de cicatrização:

1°, 2° ou 3° intenção.

Quanto à coloração:

Red (Vermelho), Yellow (Amarelo) e Black (Preto).

Red (Vermelho)





Yellow (Amarelo)

Black (Preto)







3. O que é Laserterapia?

A laserterapia é uma forma de tratamento baseado na aplicação da luz laser, gerada por diodos emissores de luz para ativar ou inibir a atividade celular.

O laser, que significa Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, é conhecido mundialmente como Low Level Laser Therapy (LLLT), ou seja, Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação.

O profissional e o paciente deverão usar óculos de proteção especificos para o aparelho, independente do local de aplicação.

(Aparelho de Laserterapia)





(Óculos de Proteção)





A partir da década de 1960 foram realizados estudos sobre os efeitos biológicos da laserterapia na reparação tecidual, sucessivamente outras pesquisas demonstraram a aplicabilidade clínica.

Seus efeitos positivos nos processos inflamatórios e no reparo tecidual credenciaram a laserterapia no tratamento de feridas.

4. Tipos de Laserterapia

Тіро	Potência	Emissão	Luz
Hélio-Neônio	632,8 <u>nm</u>	Emissão contínua	luz visível
Arseneto de Gálio	904 <u>nm</u>	Emissão pulsada	infraver melho
Alumínio- Gálio-Índio- Fósforo	630-685 <u>nm</u>	Emissão contínua	luz visível
Arseneto- Gálio- Alumínio	780-870 <u>nm</u>	Emissão contínua	infraver melho





Indicações da Laserterapia.

Na fisioterapia os benefícios do laser diminuem o tempo de tratamento e ajudam:

Na cicatrização de ferimentos,

No fechamento de feridas abertas, úlceras e feridas pós-operatórias,

Na velocidade de condução do nervo

Nas artropatias degenerativas e inflamatórias

No alívio da dor; tanto em pontos gatilhos quanto em pontos de acupuntura.

Tem efeitos benéficos em tendões, ligamentos e músculos.

6. Contra Indicações da Laserterapia

Carcinoma ou histórico de tumor maligno.

Irritação cutânea e Sobre a retina do olho.

Na barriga de mulheres grávidas, nos ovários e testículos





7. Curativo durante o tratamento com laserterapia

O leito da lesão deve ser mantido úmido, como, por exemplo, com ácido linoléico (ácido graxo essencial - AGE) e hidrogel.

O curativo deverá ser substituído em média a cada 12 ou 24 horas e toda vez que for contaminado.



Curativo Oclusivo.



Curativo





Efeitos Terapêuticos da laserterapia.

Proliferativo: aumenta a neo-angiogênese, síntese de fibroblastos, colágeno e ATP (adenosina trifosfato).

Fibrinolítico: facilita a fibrinólise.

Anti-edematogênico: facilita o retorno venosolinfático, devido à ação vasodilatodora dos capilares.

Antiinflamatório: interfere na síntese de prostaglandina, aumentando a permeabilidade capilar.

Analgésico: libera substâncias quimiotáxicas, que estimulam a liberação de endorfinas, normalizando o potencial elétrico da membrana celular.

Bactericida: aumenta a quantidade de interferon, potente agente bacteriano natural.





09. Parâmetros

Ação	Dosagem	
Ação antiinflamatória	1 a 3 J/cm2	
Ação circulatória	1 a 3 J/cm2	
Ação antálgica	2 a 4 J/cm2	
Ação regenerativa	3 a 5 J/cm2	

10. Método de Aplicação da laserterapia.

A técnica de aplicação utilizada depende das características do leito da ferida, especialmente de sua dimensão.

O laser tem que ser aplicado em ângulo de 90° perpendicular a ferida.

(Aplicação em ângulo de 90°)





Técnica pontual ou ponto a ponto: é aplicada em determinados pontos a borda da ferida.

(Demarcação por ponto)



Técnica de varredura externa: é aplicada em toda a borda da ferida.

Técnica de varredura interna: é aplicada dentro da própria lesão.

Técnica de varredura mista: são aplicadas, de forma conjunta, as varreduras interna e externa.

Técnica associada - são aplicadas, de forma conjunta, a pontual e varredura mista.



(Aplicação em margem da ferida)





Abreu M.F, Fagundes D.S. Ação da irradiação laser de baixa frequência (LLLT) sobre os mecanismos celulares envolvidos na reparação de tecido nervoso periférico. Rev Cie Fac Edu Mei Amb. 2011; 2(2): 80-96.

Hamblin M.R Introduction to experimental and clinical studies using low-level laser (light) therapy (LLLT). Lasers in surgery and medicine. 2010; 42(6): 447-449.

Gigo-Benato. D. Russo, T.L. Tanaka, E.H. Assis, L. Effects of 660 and 780nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. Lasers Surg Med. 2010. 42(1): 673-682.

Bresler A, Hawkins D, Razlog R, Abrahamse H. Effect of Low Level Laser Therapy and Calendula officinalis CH on Wound Healing in Human Skin Fibroblasts. Summer. 2007; 100(2): 110-115.

Salomé G.M, Openheimer D.G, Almeida S.A, Bueno M.L.G.B, Dutra R.A.A, Ferreira L.M. Feelings of powerlessness in patients with venous leg ulcers. Journal of Wound Care. 2013; 22(11): 628-34.





Nitz A.C, Ely J.B, d'Acampora A.J, Tames D.R, Corrêa B.P. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: Coronopu didymus e Calendula officinali Arq Catar de Med 2006; 35(4): 74-9

Busnardo V.L., Biondo S.M.L.P. Os efeitos do laser hélioneônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. Rer. Bras. Fisio. 2010; 14(1): 45-51.

Busnardo V.L, Biondo S.M.L.P. Os efeitos do laser hélioneônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. Rer. Bras. Fisio. 2010; 14(1): 45-51.

Manual do Sistema para Laserterapia, Flash Lase I, II e III, Manual do Usuário, D.M.C Equipamentos, São Carlos 1-15, 2011.

Manual de Instrução de Uso Laserpulse Ibramed, Industria Brasileira de Equipamentos Médicos EIRELI, 1-50, Revisão 12, 2012.





Baldan C, Pasqual A.M, Casarotto R.A. Dosedependência do laser de baixa intensidade (670nm) na viabilidade de retalhos cutâneos randômicos em ratos. J Health Sci Inst. 2010; 28(4):, 359-62.

Abreu A.J.A.C, Souza A.L, Alves C.L.G.F, Nunes J.T. Análise histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais sob ação do laser de baixa potência. Scientia Medica 2011; 21(3): 96-100.

Leal C.T, Bezerra A.L, Lemos A A efetividade do laser de HeNe 632,8nm no reestabelecimento da integridade dos tecidos cutâneos em animais experimentais: revisão sistemática. Fisioter. Pesqui. 2013; 19(3): 290-96.

Melo V.A, Anjos D.C, Albuquerque Junior R, Melo D.B, Carvalho F.U. Effect of low level laser on sutured wound healing in rats. Acta Cir. Bras. 2011; 26(2): 129-34.

Peplow P.V, Chung T.Y, Baxter D. Laser Photobiomodulatiom of wound Healing: A Reviem of Exerimental Studies in Mouse and Rat Animal Models Photomedicine and Laser Surgery. 2010; 28(3): 291-325.





Manual do Sistema para Laserterapia, Flash Lase I, II e III, Manual do Usuário, D.M.C Equipamentos, São Carlos 1-15, 2011.

Manual do Equipamento Laser HTM Compact, Amparo, 1-50, Revisão 07, 2014.

Manual de Normalização de trabalhos Acadêmicos da ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas 2014.

Manual de Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP,2011.

Manual de utilização de Animais/Fiocruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.





5. APLICABILIDADE

A busca por novos tratamentos de fácil manejo, de custo/benefício acessível e de abrangência a uma maior porcentagem da população vem sendo o desafio que procura-se resolver. Serviços públicos voltados ao tratamento de feridas precisam de novas ferramentas para a otimização desses procedimentos. Pensando nessa faceta, este estudo propôs duas técnicas que poderão ser utilizadas ////////para sanar possíveis lacunas na rede pública.

A Laserterapia de Baixa Intensidade vem sendo apontada como a solução para muitos problemas e a fisioterapia se evidencia hoje como uma das principais especialidades voltadas para os tratamentos das feridas.

A Laserterapia é um procedimento simples, de fácil aplicação e com um custo/benefício muito bom, sendo ideal para a implementação em serviços públicos.

Por outro lado, a fitoterapia também surge como uma boa opção para o tratamento desse perfil de pacientes, abrindo um leque de novas possibilidades aos tratamentos já estabelecidos.

Entender esses novos tratamentos e o novo mercado que se transforma é uma tarefa que este estudo se propôs a realizar, com o intuito de incrementar os procedimentos aplicados nos centros que atendem essa população e beneficiar esses pacientes com um tratamento seguro e de boa qualidade.

Este estudo tem o objetivo de aplicar nos centros de tratamentos de feridas as técnicas pesquisadas. A aplicação do Laser de Baixa Intensidade em pacientes advindos do Sistema Único de Saúde deverá baratear o custo com esse tipo de feridas.

Estudo avaliou a capacidade de cicatrização da Calêndula em feridas em animais, sendo que os autores concluíram que a Calêndula apresentava um resultado satisfatório na cicatrização de feridas (NITZ *et al.*, 2006).

Estudo avaliou o potencial cicatrizante da Calêndula e os autores concluíram que a Calêndula aumentou consideravelmente a velocidade de cicatrização das feridas (EGHDAMPOUR *et al.*,2013).

Estudo avaliou o potencial cicatrizante da Calêndula e os autores concluíram que, apesar de proporcionar um maior número de fibras colágenas e fibroblastos que o grupo controle, não houve diferença estatística significante entre os grupos (SARTORI *et al.*, 2003).

Neste estudo, o grupo tratado com Calêndula apresentou um potencial de cicatrização, porém o resultado encontrado foi o mesmo que o achado no estudo realizado por Sartori *et al.*, 2003, em que o grupo tratado com Calêndula não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle.

Outro estudo mostrou resultado positivo na cicatrização de feridas cutâneas utilizando a Laserterapia de Baixa Intensidade em ratos e sugeriu a necessidade de mais estudos (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Estudos mostram que o laser é capaz de influenciar a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e células epiteliais. Essa terapia possui efeitos sobre o colágeno e a síntese de colágeno (BUSNARDO, BIONDO, 2010).

Autores investigaram os efeitos de diferentes tipos de Laserterapia de Baixa Intensidade em retalhos cutâneos em ratos, sendo que a aplicação do Laser de Baixa Intensidade apresentou resultado significativo na cicatrização de feridas em ratos (BALDAN, PASQUAL, CASAROTTO, 2010).

ABREU *et al.* (2011) investigaram a cicatrização de tecido epitelial tratado com Laserterapia de Baixa Intensidade durante 21 dias com avaliação no 7^0 , 14^0 e 21^0 dias em ratos e demonstraram que na avaliação do 7^0 dia houve pouca diferença em relação ao grupo controle. Já na avaliação do 14^0 e 21^0 dias a diferença foi mais significante, evidenciando a eficácia do grupo tratado com Laser de Baixa Intensidade (ABREU *et al.*, 2011).

No presente estudo utilizou-se o Laser de Baixa Intensidade 904nm a 4 J/cm², identificando-se resultados significantes quando comparados aos demais grupos. Verificou-se diferença significante a partir do 9⁰ dia até o 21⁰ dia, dados esses que são semelhantes aos encontrados na literatura (LEAL, BEZERRA, LEMOS, 2013).

Em estudo que investigou o efeito da Laserterapia de Baixa Intensidade em feridas circulares em ratos os autores concluíram que a Laserterapia de Baixa Intensidade era um tratamento de fácil aplicação, seguro e rentável para feridas superficiais (ADAMSKAYA *et al.*, 2011).

De forma semelhante, no presente estudo também se recorreu a feridas circulares, realizadas cirurgicamente no dorso de ratos, sendo o Laser de Baixa Intensidade realizado com sucesso nesse tipo de lesão.

Para avaliar o efeito do Laser de Baixa Intensidade a 904nm na cicatrização de feridas cirúrgicas em ratos foi realizado um estudo, concluindo que a Laserterapia de Baixa Intensidade reduziu a intensidade da reação inflamatória e influenciou a dinâmica da resposta imune, induzindo mudança do padrão de infiltração de leucócitos (SANATI *et al.*, 2011).

A Laserterapia de Baixa Intensidade também estimulou a deposição e melhorou a organização das fibras de colágeno. O Laser 904nm foi eficaz no tratamento das feridas cirúrgicas em ratos (MELO *et al.*, 2011).

Um estudo comparou dois tipos de LLLT na cicatrização de feridas, utilizou o laser de AsGa e o Laser HeNe (Hélio-Neônio). Os autores concluíram que o Laser AsGa apresentou melhores resultados na cicatrização de feridas (SANATI *et al.*, 2011).

Foi realizada uma revisão nas bases de dados para investigar os estudos experimentais de irradiação, com Laserterapia de Baixa Intensidade na cicatrização de feridas em ratos. Essa revisão sugere uma dosagem de 4J/cm² no tratamento de feridas e apoia fortemente a mesma para tratamento em humanos (PEPLOW, CHUNG, BAXTER, 2010). A maioria dos estudos clínicos dá evidências suficientes para o potencial da LLLT na cicatrização de feridas e úlceras (BECKMANN, MEYER-HAMME, SCHRODER, 2014).

Estudo com o objetivo de avaliar, experimentalmente, o efeito da aplicação do *laser* na reparação do tecido muscular concluiu que a Laserterapia influencia de forma positiva o processo de regeneração da lesão (FALCAI *et al.*, 2010).

O presente estudo utilizou os mesmos parâmetros já utilizados na literatura científica (PEPLOW, CHUNG e BAXTER, 2010; CARVALHO *et al*, 2010, ADAMSKAYA *et al.*, 2011, MELO *et al*, 2011) em relação ao tipo de Laserterapia de Baixa Intensidade utilizada e à dosagem aplicada, e apresentou resultados condizentes com a mesma.

O grupo Laserterapia + Calêndula não apresentou vantagem em relação ao grupo controle, não sendo prático para o tratamento das feridas. A Calêndula apresentou resultado significante em relação ao grupo Laser + Calêndula na avaliação do 21º dia de tratamento.

O Laser de Baixa Intensidade apresentou um resultado muito significativo a partir do 9º dia de tratamento em relação aos demais grupos, sendo o melhor tipo de tratamento para esse tipo de ferida.

A criação da Cartilha vem com o intuito de informar técnicas, tipos de aplicação e orientar profissionais de saúde. Essa cartilha segue os mesmos princípios das cartilhas distribuídas pelo Ministério da Saúde, podendo ser distribuída em todos os centros de saúde do sul do estado de Minas Gerais.

6. CONCLUSÕES

O grupo que utilizou as técnicas associadas Laserterapia de Baixa Intensidade com a Calêndula Officinalis Linne não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. Apresentando os mesmos resultados que o grupo controle, conclui-se que esse tratamento não é prático para o tratamento de feridas.

O grupo tratado com extrato Calêndula Officinalis Linne a 20% apresentou melhora em relação ao grupo controle apenas no último dia de tratamento. Conclui-se que esse tratamento não apresenta aplicabilidade nesse tipo de ferida.

O grupo tratado com Laserterapia de Baixa Intensidade 904nm a 4J/cm² apresentou melhores resultados em relação a todos os outros grupos, sendo o tipo de tratamento adequado para esse tipo de ferida.

7. REFERÊNCIAS

Abreu JAC, Souza AL, Alves CLGF, Nunes JT. Análise histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais sob ação do laser de baixa potência. Scientia Medica 2011; 21(3):96-100.

Abreu MF, Fagundes DS. Ação da irradiação laser de baixa frequência (LLLT) sobre os mecanismos celulares envolvidos na reparação de tecido nervoso periférico. Rev Cie Fac Edu Mei Amb 2011; 2(2):80-96.

Adamskaya N, Dungel P, Mittermayr R, Hartinger J, Feichtinger G, Wassermann K, Redl H, van Griensven M. Light therapy by blue LED improves wound healing in an excision model in rats.Injury 2011; 42(9):917-21.

Baldan C, Pasqual AM, Casarotto RA. Dose-dependência do laser de baixa intensidade (670nm) na viabilidade de retalhos cutâneos randômicos em ratos. J Health Sci Inst 2010; 28(4): 359-62.

Beckmann KH, Meyer-Hamme G, Schröder S. Low level laser therapy for the treatment of diabetic foot ulcers: a critical survey. Evid Based Complement Alternat Med. 2014, 10(1): 1-9.

Bresler A, Hawkins D, Razlog R, Abrahamse H. Effect of low level laser therapy and calendula officinalis ch on wound healing in human skin fibroblasts. Summer. 2007; 100(2):110-15.

Busnardo VL, Biondo SMLP. Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. Rer Bras Fisio 2010; 14(1):45-51.

Carvalho PTC, Silva IS, Reis FA, Perreira DM, Aydos RD. Influence of InGaAlp laser (660nm) on the healing of skin wounds in diabetic rats. Acta Cir Bras 2010; 25(1):71-79.

Falcai MJ, Raso VVM, Zamarioli RO, Carvalho A, César L, Shimano AC. Análise biomecânica e histológica de músculos gastrocnêmios de ratas submetidas à lesão muscular e tratados com Laserterapia de baixa intensidade. Rev Bras Ort 2010; 45(4):444-48.

Faria RL, Cardoso LML, Santos Júnior PV. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*, *Camellia sinensis* and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after extraction of unerupted third molars. J Appl Oral Sci 2011; 19(5): 476-82.

Eghdampour F, Jahdie F, Kheyrkhah M, Taghizadeh M, Naghizadeh S, Hagani H. The Impact of Aloe vera and Calendula on Perineal Healing after Episiotomy in Primiparous Women: A Randomized Clinical Trial. Journal of Caring Sciences, 2013, 2(4), 279-86.

Fonseca YM, Catini CD, Vicentini FT, Nomizo A, Gerlach RF, Fonseca MJ.Protective effect of Calendula officinalis extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. J of Ethnopharmacol 2010; 127(3):596-601.

Gigo-Benato D, Russo TL, Tanaka EH, Assis L. Effects of 660 and 780nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. Lasers Surg Med 2010; 42(1):673-82.

Hamblin MR. Introduction to experimental and clinical studies using low-level laser (light) therapy (LLLT). Lasers Surg Med 2010; 42(6):447-49.

Jiménez-Medina E, Garcia-Lora A, Paco L, Algarra I, Collado A, Garrido F. A new extract of the plant *calendula officinalis* produces a dual *in vitro* effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. Rev. BMC Cancer 2006; 6(1): 119-26.

Kansal A, Kittur N, Kumbhojkar V, Keluskar KM, Dahiya P. Effects of low-intensity laser therapy on the rate of orthodontic tooth movement: A clinical trial. Dent Res J Isfahan, 2014, 11(4): 481–88.

Leal CT, Bezerra AL, Lemos A. A efetividade do laser de HeNe 632,8nm no reestabelecimento da integridade dos tecidos cutâneos em animais experimentais: revisão sistemática. Fisioter Pesq 2013; 19(3):290-96.

Leal-Junior ECP, Almeida P, Tomazoni SS, Tarso P, Carvalho C, Lopes-Martins RAB, Frigo L, Joensen J, Johnson ML, Bjordal JM. Superpulsed Low-Level Laser Therapy Protects Skeletal Muscle of mdx Mice against Damage, Inflammation and Morphological Changes Delaying Dystrophy Progression. PLoS One, 2014, 9(3): 1-17.

Lirani APR, Castro ML. Evidências da ação de agentes físicos sobre o metabolismo do tecido ósseo e seus potenciais usos clínicos. Arq Bras Endocrinol Metab 2005; 49(6);891-96.

Melo VA, Anjos DC, Albuquerque Junior R, Melo DB, Carvalho FU. Effect of low level laser on sutured wound healing in rats. Acta Cir Bras 2011; 26(2):129-34.

Mendonça FA, Passarini Junior JR, Esquisatto MA, Mendonça JS, Franchini CC, Santos GM. Effects of the application of Aloe Vera (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. Acta Cir Bras 2009; 24(2):150-55.

Mishra AK, Mishra A, Verma A, Chattopadhyay P. Effects of Calendula Essential Oil-Based Cream on Biochemical Parameters of Skin of Albino Rats against Ultraviolet B Radiation.Sci Pharm. 2012; 80(3): 669–683.

Nitz AC, Ely JB, d'Acampora AJ, Tames DR, Corrêa BP. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: Coronopu didymus e Calendula officinalis. Arq Cat de Med 2006; 35(4):74-79.

Oliveira GEC, Lima MMI, Almeida BB, Costa BTMA, Polacow ML. Effect of laser (670nm) on healing of wounds covered with occlusive dressing: a histologic and biomechanical analysis. Photomed Laser Surg 2010; 28(5):629-34.

Parente LML. Wound healing and anti-inflammatory effect in animal models of calendula officinalis l. Rev Evidbas Comp and Alte Med. 2012; 7(1): 1-7.

Peplow PV, Chung TY, Baxter D. Laser photobiomodulatiom of wound healing: A reviem of exerimental studies in mouse and rat animal models. Photomed Laser Surg 2010; 28(3): 291-325.

Piva JAAC, AbreuEMC, Silva VS, Nicolau RA. Ação da terapia com laser de baixa potência nas fases iniciais do reparo tecidual: princípios básicos. An Bras Dermatol 2011; 86(5): 947-54.

Rezende LA, Chaves NC, Lima RS, Drummond SN. Avaliação dos efeitos antiinflamatórios induzidos pelo laser de baixa potência no modelo experimental de desordens da articulação temporomandibular. Rev Scientia 2012; 5(1):47-50.

Rochkind S. Phototherapy in peripheral nerve injury for muscle preservation and nerve regeneration. Photomed Laser Surg 2009; 27(2):219-220.

Saini P, Al-Shibani N, Sun J, Zhang W, Song F, Gregson KS, Windsor LJ. Effects of Calendula Officinalis on human gingival fibroblasts. Rev Homeopathy, 2012;101(2): 92-98.

Sanati MH, Torkaman G, Hedayati M, Dizaji MM. Effect of GaAs (904nm) and HeNe (632.8nm) laser on injury potential of skin full-thickness wound. Photochem Photobiol B. 2011; 3(103):180-85.

Sartori LR, Ferreira MS, Perazzo FF, Mandalho LL, Carvalho JCT. Atividade antiinflamatória do granulado de Calendula Officinalis Linne. e Matricaria Recutita Linne. Rev. Bras. Farmacogn. 2003; 13(1): 17-19.

Semenoff Segundo A, Bosco AF, Maia D, Ribeiro RV, Aguiar EBH, Rocatto GEGD, Cirilo DM, Buzelle SL, Semenoff TADV. The Influenceaf Aloe Vera and Propolis in the contraction of wounds on dorsal area of rats. Periodontia. 2007; 17(1):23-28.

Serra AP, Marchetti ME, Vieira MC, Robaina AD, Veronesi CO, Nascimento JM, Matos F, Conrad VA, Morais HS, Guimarães FCN. Eficiência nutricional do nitrogênio e

produção de biomassa em Calendula Officinalis Linne. (Asteraceae) em condições de casa de vegetação. Rev Bras. 2013; 15(1):78-85.

Wolcott RD, Rumbaugh KP, James G, Schultz G, PhillipsP, Yang Q, Watters C, Stewart PS. Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time-dependent therapeutic window. J Wound Care 2010; 19(8):320-28.

NORMAS ADOTADAS

Elaboração do	trabalho	de conc	lusão d	e curso	de	Mestrado	Profissional	em	Ciências
Aplicadas à Sai	íde.								

APÊNDICE

APÊNDICE 1: COMITÊ DE ÉTICA



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS PROTOCOLO Nº 188/13

TÍTULO: ASSOCIAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE COM A CALENDULA OFFICINALIS LINNE NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATAS

AUTOR: Diego Guimarães Openheinmer

ORIENTADOR: Prof. Dr. Geraldo Magela Salomé

CO-ORIENTADORA: Prof[®]. Margarida Maria de Carvalho Resende

A Comissão no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Vale do Sapucaí, reunido em 20 de julho de 2013, após análise do protocolo de pesquisa, votou pela sua APROVAÇÃO.

Diante desse parecer, o pesquisador deverá apresentar a este CEP dois relatórios, sendo o primeiro após a obtenção dos resultados do estudo, em dezembro de 2013 e o segundo, contendo todo o relatório final, previsto para fevereiro 2014.

Pouso Alegre, 15 de agosto de 2013.

Wellington Delfino -Coordenador da CEUA-Wellington Delfino

APÊNDICE 2: ALEATORIZAÇÃO DE ATENDIMENTO

Dia	Ordem de Atendimento — 1ª etapa													
1	17	09	21	13	16	23	12	04	15	03	02	20		
	14	24	05	06	01	08	22	18	10	07	11	19		
2	10	18	07	11	22	19	09	08	01	05	24	14		
	03	02	04	12	15	20	23	09	13	21	17	16		
3	23	17	21	09	13	16	01	08	24	05	09	14		
	18	11	07	22	10	19	04	03	12	15	02	20		
4	01	08	05	14	24	09	13	23	09	21	16	17		
	18	22	10	19	07	11	04	15	02	03	12	20		
5	16	17	13	09	21	23	10	07	22	18	19	11		
	04	12	15	20	03	02	06	14	08	01	05	24		
6	20	03	12	04	15	02	13	17	16	09	21	23		
	11	07	22	19	18	10	05	14	06	01	24	08		
7	19	22	11	18	10	07	03	20	12	15	04	02		
	01	06	14	08	05	24	17	13	09	23	21	14		
8	16	17	13	23	21	09	19	10	11	18	22	07		
	04	10	15	03	12	02	14	01	24	08	06	05		
9	03	04	02	20	15	12	01	14	06	05	24	08		
	11	18	07	19	22	10	16	17	09	13	23	21		
10	11	18	19	10	22	07	04	20	03	02	12	15		
	24	06	14	01	08	05	21	16	17	09	13	23		
11	11	05	24	08	06	14	01	16	13	23	21	09		
	17	19	11	10	07	18	22	15	12	04	03	02		
12	03	15	20	02	04	12	19	07	11	10	18	22		
	14	08	24	05	01	06	13	09	17	23	21	16		
13	17	09	13	21	23	16	14	06	24	01	08	05		
	12	04	02	03	20	15	10	07	18	11	19	22		
14	19	22	11	07	10	18	06	24	14	05	01	08		
	04	03	12	02	20	15	17	16	09	21	23	13		
15	04	03	02	12	15	20	07	18	22	19	11	10		

	08	01	14	05	24	06	17	23	09	16	13	21
16	01	08	14	24	05	06	18	11	07	22	10	19
	03	12	04	02	20	15	16	09	23	17	13	21
17	15	04	02	20	12	03	18	11	10	22	19	07
	17	16	23	09	21	13	01	05	24	06	08	14
18	20	15	03	12	02	03	23	09	16	17	13	21
	10	22	07	18	19	11	06	14	24	08	01	05
19	15	03	02	12	14	20	09	17	23	13	16	21
	14	6	24	08	01	05	10	07	22	19	18	11
20	03	15	04	20	02	12	14	01	05	08	06	24
	07	22	18	11	10	19	17	09	16	23	21	13
21	13	23	21	09	17	16	14	01	08	06	05	24
	02	20	03	04	12	15	18	11	22	19	07	10

Dia		Ordem de Atendimento – 2ª etapa													
1	29	41	32	44	30	38	43	34	28	35	26	37			
	27	31	40	48	25	46	33	36	42	47	45	39			
2	42	36	47	45	33	39	41	46	25	40	31	27			
	35	26	34	43	28	37	38	48	44	32	29	30			
3	38	29	32	48	44	30	25	46	31	40	41	27			
	36	45	47	33	42	39	34	35	43	28	26	37			
4	25	46	40	27	31	41	44	38	48	32	30	29			
	36	33	42	39	47	45	34	28	26	35	43	37			
5	30	29	44	41	32	38	42	47	33	36	39	45			
	34	43	28	37	35	26	48	27	46	25	40	31			
6	37	35	43	34	28	26	44	29	30	41	32	38			
	45	47	33	39	36	42	40	27	48	25	31	46			
7	39	33	45	36	42	47	35	37	43	28	34	26			
	25	48	27	46	40	31	29	44	41	38	32	30			
8	30	29	44	38	32	41	39	42	45	36	33	47			
	34	37	28	35	43	26	27	25	31	46	48	40			
9	35	34	26	37	28	43	25	27	48	40	31	46			
	45	36	47	39	33	42	30	29	41	44	38	32			

10	45	36	39	42	33	47	34	37	35	26	43	28
	31	48	27	25	46	40	32	30	29	41	44	38
11	37	40	31	46	48	27	25	30	44	38	32	41
	29	39	45	42	47	36	33	28	43	34	35	26
12	35	28	37	26	34	43	39	47	45	42	36	33
	27	46	31	40	25	48	44	41	29	38	32	30
13	29	41	44	32	38	30	27	48	31	25	46	40
	43	34	26	35	37	28	42	47	36	45	39	33
14	39	33	45	47	42	36	48	31	27	40	25	46
	46	25	27	40	31	48	29	38	41	30	44	32
15	34	35	26	43	28	37	47	36	33	39	45	42
	43	34	26	37	28	30	41	38	29	44	32	35
16	25	46	27	31	40	48	36	45	47	33	42	39
	35	43	34	26	37	28	30	41	38	29	44	32
17	28	34	26	37	43	35	36	45	42	33	39	47
	35	43	34	26	37	28	30	41	38	29	44	32
18	37	28	35	43	26	34	38	41	30	29	44	32
	29	30	38	41	32	44	25	40	31	48	46	27
19	28	35	26	43	27	37	41	29	38	44	30	32
	42	33	47	36	39	45	48	27	31	46	25	40
20	35	28	34	37	26	43	27	25	40	46	48	31
	47	33	36	45	42	39	29	41	30	38	32	44
21	44	38	32	41	29	30	27	25	46	48	40	31
	26	37	35	34	43	28	36	45	33	39	47	42

APÊNDICE 3: FICHA DE AVALIAÇÃO

o: IN	IÍCIO: 07/09/13 DN /	/ Idade	PESO:	_ g
1 º dia	- Anestesia: Xilazina	ml_IM Cetamina	ml IM Efeito: S()
OBS_				
2 º dia	08/09/13			
OBS_				
3ºdia	09/09/13			
ODS_				
4 º dia	10/09/13			
5 º dia	11/09/13			
OBS_				
6 º dia	12/09/13			
OBS_				
7 º dia	13/09/13			
OBS_				
8 º dia	14/09/13			
OBS_				
9 º dia	15/09/13			
OBS_				
10 ° di	a 16/09/13			
ODC				

11 º dia 17/09/13

OBS
12 º dia 18/09/13
OBS
13 º dia 19/09/13
OBS
14 º dia 20/09/13
OBS
15 º dia 21/09/13
OBS
16 º dia 22/09/13
OBS
ОБЗ
4
17 º dia 23/09/13
OBS
18 º dia 24/09/13
OBS
OBS
10 0 dia 25/00/12
19 º dia 25/09/13
OBS
20 ° dia 26/09/13
OBS
21 ° dia 27/09/13
OBS

APÊNDICE 4: RESULTADO DO SOFTWARE AUTO CAD

							- V
1							O
2			0	0	\Diamond	0	
3				0	0	0	
4	\bigcirc	\bigcirc	0	0	D	a	<u> </u>
5			\bigcirc	0	0	\Diamond	\Diamond
6	\bigcirc		0	0	0	O	0

7				0	0	0
8				0	0	0
9			0	0	0	Ø
10		\Diamond		0	0	0
11		\bigcirc	0	0	0	0
12				0		

13				0	0			۵
14					0		Q	0
15		0		0	0	0	0	0
16				\Diamond		0	B	0
11	\sim		0	0	0	۵	0	0
18				\Diamond	\bigcirc	D	0	0

19		0	0	0	0	0
20			0	0		
21			0	٥	O	
22		0	0	0	0	0
23			0	\Diamond	2	0
24			0	0	\bigcirc	0

25		0	0	0	0
26	\bigcirc	0	0	0	0
27		0	0	0	O
28	\Diamond	0	0	0	_
29	\bigcirc	0	0	0	0
30		0	0	0	0

31				0	0	0
32		\bigcirc	0	0	0	0
33		\bigcirc	\bigcirc	\Diamond	0	D
34					0	۵
35			\bigcirc	0	0	Ω
36			0	۵		

37	\bigcirc	0		0	0	Q	٥
38					O	D	0
39			\Box	0	0	0	Q
40		0	0	0	\Diamond	۵	0
41		\bigcirc	\Diamond	\Diamond	0	9	0
42			0	0	Q	0	0

43		\bigcirc	\bigcirc	0	Ω		×
44					0	\Box	۵
45			\bigcirc	\bigcirc	\Diamond	\bigcirc	D
46			0	0	0	0	
47			0	0	۵	0	0
48				0	0	٥	0

APÊNDICE 5: ENVIO DO ARTIGO PARA REVISTA

↑↓×

[JWC] 2014:91:1 Article Submission jwc@markallengroup.com (jwc@markallengroup.com) Adicionar aos contatos 21/04/2014 Para: dr.diegoguimaraes@hotmail.com, karina.huynh@markallengroup.com \$ Thank you for submitting your article to the Journal of Wound Care, I am just writing to let you know it has arrived safely and will soon be sent out for review - this process generally takes 6-8 weeks. If you have any questions then please do not hesitate to contact me, either via email or on +44 (0) 20 7501 6781. I would be grateful if you could quote your article reference number, which appear below, in all correspondence: 2014:91:1 Low-Intensity Laser and Calendula Officinalis Linn for Cutaneous Wound Healing in Rats Kind regards, Karina Huynh Journal of Wound Care MA Healthcare Ltd. St Jude's Church Dulwich Road London SE24 OPB

Tel: 020 7501 6781

Sent from the EPRESS journal management system, http://www.epress.ac.uk

FONTES CONSULTADAS

Manual do Sistema para Laserterapia, Flash Lase I, II e III, Manual do Usuário, D.M.C Equipamentos, São Carlos 1-15, 2011.

Manual do Equipamento Laser HTM Compact, Amparo, 1-50, Revisão 07, 2014.

Manual de Instrução de Uso Laserpulse Ibramed, Industria Brasileira de Equipamentos Médicos EIRELI, 1-50, Revisão 12, 2012.

Manual de Normalização de trabalhos Acadêmicos da ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas 2014.

Manual de Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP,2011.

Manual de utilização de Animais/Fiocruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.