

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO MOVIMENTO
E REABILITAÇÃO

Paola Flores Irber

**EFEITO DO LASER SOBRE A CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA E NOS
PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Santa Maria, RS
2023

Paola Flores Irber

EFEITO DO LASER SOBRE A CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA E NOS PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Mestrado em Ciências do Movimento e Reabilitação, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), linha de pesquisa Processos de Avaliação e Intervenções em Reabilitação Musculoesquelética e Neurofuncional, como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências do Movimento e Reabilitação**.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Orione Puntel
Coorientador: Prof. Dr. Felipe Barreto Schuch

Santa Maria, RS

2023

Paola Flores Irber

EFEITO DO LASER SOBRE A CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA E NOS PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Mestrado em Ciências do Movimento e Reabilitação, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), linha de pesquisa Processos de Avaliação e Intervenções em Reabilitação Musculoesquelética e Neurofuncional, como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências do Movimento e Reabilitação**.

Defesa da dissertação em 28 de abril de 2023:

**Gustavo Orione Puntel, Dr. (UFSM) – Videoconferência
(Presidente/Orientador)**

**Felipe Barreto Schuch, Dr. (UFSM) – Videoconferência
(Coorientador)**

Juliana Saibt Martins, Dra. (UFN) – Videoconferência

Melissa Medeiros Braz, Dra. (UFSM) – Videoconferência

Santa Maria, RS

AGRADECIMENTOS

A batalha até o dia de hoje não foi fácil, o caminho foi tortuoso e repleto de desafios, porém não teria alcançado esta vitória sem o apoio de pessoas especiais que me mantiveram firme até o final, em especial agradeço:

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo Orione Puntel que exerceu sua função com maestria, por todos os ensinamentos, pela sua dedicação, pela paciência e por não desistir de mim.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Felipe Barreto Schuch pelas excelentes contribuições feitas para a construção do trabalho.

A minha família, em especial, minha mãe, meu pai, meu irmão/minha cunhada e meu avô por todo apoio, paciência e incentivo do início ao fim.

Ao meu noivo, pelo suporte e apoio diário, pela paciência, carinho e compreensão e acima de tudo por estar sempre ao meu lado.

Aos meus sogros e cunhados pela paciência e torcida.

As minhas colegas Gláucia, Marciane e Viviane, pelo apoio e auxílio incessante.

Aos amigos que me incentivaram e compreenderam minha ausência por tantas vezes, especialmente as minhas amigas Fernanda (que foi fundamental em certo momento desta trajetória), Luciana, Aline, Janine, Valéria, Naira e o casal de amigos Joze e Johanns.

Aos meus colegas de trabalho, pelo suporte e força constante.

Obrigada, Deus, por me permitir conviver com seres tão especiais.

Obrigada pela presença de todos em minha vida.

RESUMO

EFEITO DO LASER SOBRE A CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA E NOS PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Autora: Paola Flores Irber

Orientador: Gustavo Orione Puntel

Coorientador: Felipe Barreto Schuch

O laser é um dispositivo de alta tecnologia, considerado uma luz amplificada produzida por radiação eletromagnética que se manifesta como luz monocromática. A terapia a laser de baixa intensidade (TBLI) visa favorecer a regeneração tecidual, ao elevar a velocidade mitótica das células, o laser estimula as células epiteliais favorecendo uma cicatrização eficiente e em rápidas condições. A cicatrização cutânea é complexa, com alterações vasculares/celulares, o seu processo também ativa componentes oxidantes e inflamatórios, como citocinas e espécies reativas de oxigênio (ERO), que se produzidos em excesso, provocam danos sobre o tecido, causando o estresse oxidativo, inclusive podendo levar a morte celular (apoptose). Há evidências de que a laserterapia influencia parâmetros de estresse oxidativo como a alteração da atividade das enzimas antioxidantes e a diminuição de espécies reativas de oxigênio, mas os seus efeitos no mecanismo celular e sua influência nos parâmetros oxidativos no tratamento de lesões ainda não estão bem elucidados. Sendo assim, o objetivo da presente dissertação foi, por meio desta revisão sistemática, realizar um levantamento dos estudos que relacionem os efeitos da laserterapia sobre a cicatrização cutânea a partir da modulação do estresse oxidativo em modelos animais. Este estudo consistiu em uma revisão sistemática da literatura. Foram incluídos estudos originais, que avaliaram o efeito do laser sobre a cicatrização cutânea e no estresse oxidativo em animais. A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados: PubMed, Embase e Web of Science. A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada pela escala PEDro adaptada. Foi realizada uma análise qualitativa e descritiva dos estudos selecionados. Foram incluídos 6 estudos, todos os artigos apresentaram resultados significativos na modulação do estresse oxidativo, reduzindo marcadores oxidantes (ânion superóxido) e ativador de apoptose (citocromo c), e principalmente aumentando a defesa enzimática antioxidante (Catalase, Superóxido Dismutase e Glutathione Peroxidase). A presente dissertação proporcionou o aprofundamento de pesquisas sobre a ação da TBLI na cicatrização cutânea e nos parâmetros do estresse oxidativo. A TBLI se apresenta efetiva na cicatrização cutânea, bem como na modulação do aumento do estresse oxidativo cicatricial agindo no equilíbrio celular antioxidante/oxidante. No entanto, é notória a necessidade de mais estudos para elucidar os mecanismos desses efeitos, principalmente nas análises mitocondriais.

Palavras-chave: Laser. Cicatrização Cutânea. Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

EFFECT OF LASER ON SKIN HEALING AND OXIDATIVE STRESS PARAMETERS: A SYSTEMATIC REVIEW

Author: Paola Flores Irber
Advisor: Gustavo Orione Puntel
Co-supervisor: Felipe Barreto Schuch

The laser is a high-tech device, considered an amplified light produced by electromagnetic radiation that manifests itself as monochromatic light. Low-intensity laser therapy (LIBT) aims to favor tissue regeneration, by increasing the mitotic speed of cells, the laser stimulates epithelial cells, favoring efficient healing in rapid conditions. Cutaneous healing is complex, with vascular/cellular alterations, its process also activates oxidant and inflammatory components, such as cytokines and reactive oxygen species (ROS), which, if produced in excess, damage the tissue, causing oxidative stress, which can lead to cell death (apoptosis). There is evidence that laser therapy influences parameters of oxidative stress such as changes in the activity of antioxidant enzymes and a decrease in reactive oxygen species, but its effects on the cellular mechanism and its influence on oxidative parameters in the treatment of injuries are still not well understood. Thus, the objective of this dissertation was, through this systematic review, to carry out a survey of studies that relate the effects of laser therapy on skin healing from the modulation of oxidative stress in animal models. This study consisted of a systematic review of the literature. Original studies that evaluated the effect of laser on skin healing and oxidative stress in animals were included. The search for articles was carried out in the databases: PubMed, Embase and Web of Science. The methodological quality of the studies was assessed using the adapted PEDro scale. A qualitative and descriptive analysis of the selected studies was carried out. Six studies were included, all articles showed significant results in the modulation of oxidative stress, reducing oxidant markers (superoxide anion) and activator of apoptosis (cytochrome c), and mainly increasing the antioxidant enzymatic defense (Catalase, Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase). The present dissertation provided further research on the action of TBLI on skin healing and oxidative stress parameters. TBLI is effective in healing the skin, as well as modulating the increase in cicatricial oxidative stress by acting on the cellular antioxidant/oxidant balance. However, there is a clear need for further studies to elucidate the mechanisms of these effects, especially in mitochondrial analyses.

Keywords: Laser. Cutaneous Healing. Oxidative stress.

LISTA DE ANEXOS

A - PRISMA Checklist.....	50
B - Normas para Submissão Revista Lasers in Medical Science.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS - Organização Mundial de Saúde
TBLI - Terapia a Laser de Baixa Intensidade
LLLT - Low Level Laser Therapy
LED - Light Emitting Diode
FBM - Fotobiomodulação
SOD - Superóxido Dismutase
CAT - Catalase
ERO(s) - Espécies Reativas de Oxigênio
RL - Radicais Livres
NO - Óxido Nítrico
GPx - Glutathione Peroxidase
ATP - Trifosfato de Adenosina
InGaAlP - Fosfeto de Índio Gálio-Alumínio
He-Ne - HélioNeônio
AsGa - Arseneto de Gálio
AlGaInP - Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo
AsGaAl - ArsenetoGálio-Alumínio
GaAs - Galliumarsenium
DNA - Ácido Desoxirribonucleico
BW - Burn Wounds
- OH - Hidroxila
O₂⁻ - Ânion superóxido
¹O₂ - Oxigênio singleto
W - Watts
Hz - Hertz (frequência)
Nm - Nanômetro (Comprimento de Onda)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.2 OBJETIVOS.....	13
1.2.1 GERAL.....	13
1.2.2 ESPECÍFICOS.....	13
1.3 JUSTIFICATIVA.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 LASER.....	15
2.2 LASERTERPIA E O PROCESSO CICATRICAL.....	16
2.3 LASERTERAPIA, PROCESSO CICATRICAL E O ESTRESSE OXIDATIVO.....	18
3. METODOLOGIA.....	21
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	21
3.2 AMOSTRA.....	22
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO.....	22
3.4 BUSCA.....	22
3.5 SELEÇÃO DOS ESTUDOS.....	23
3.6 EXTRAÇÃO DOS DADOS.....	23
3.7 ANÁLISE DA QUALIDADE DOS ESTUDOS.....	23
3.8 ANÁLISE DOS DADOS.....	23
4. RESULTADOS.....	24
4.1 ARTIGO.....	25
5. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
ANEXOS.....	49

1. INTRODUÇÃO

O laser é uma luz amplificada produzida por radiação eletromagnética que se manifesta como luz monocromática, um recurso de alta tecnologia que pode alcançar diferentes profundidades na derme (ROCHA, 2004).

O tratamento com o laser visa favorecer a regeneração tecidual, atuando principalmente no metabolismo celular, através da interação fotoquímica, gerando efeitos analgésicos, anti-inflamatório e reparador (PINTO *et al.*, 2012; JESUS *et al.*, 2019). A terapia com laser é considerada uma terapia não invasiva, não térmica e asséptica, indolor, sem efeitos colaterais e com boa relação custo-benefício, além de não possuir potencial destrutivo aos tecidos (LEAL; BEZERRA; LEMOS, 2012). Dessa forma, a espessura da camada tecidual a ser atingida dependerá do tipo de laser, da potência usada e do tempo de aplicação. Os modos de emissão dos lasers podem ser contínuos ou pulsáteis, e a distinção de seus diversos tipos é dada pelo comprimento de onda (ROCHA, 2004).

Os lasers atuam sobre o colágeno, promovendo sua remodelação e deposição proporcionando um aumento de vascularização e vasodilatação dos tecidos, por elevar a velocidade e a microcirculação das células epiteliais, favorece uma cicatrização eficiente (JESUS *et al.*, 2019). Os equipamentos de lasers mais utilizados são os de HélioNeônio (He-Ne), Arseneto de Gálio (AsGa), Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP) e ArsenetoGálio-Alumínio (AsGaAl), conhecidos como lasers terapêuticos, lasers de baixa intensidade ou de baixa potência (NASCIMENTO *et al.*, 2008). Vale ressaltar que é uma terapia de baixa potência terapêutica da área de fisioterapia que vem apresentando um crescimento significativo em virtude de suas propriedades curativas aliadas à segurança do tratamento, o que justifica o aumento do interesse dos pesquisadores da área para investigar os mecanismos de ação e os efeitos terapêuticos dos lasers de baixa potência (SILVEIRA *et al.*, 2009).

Devido à alta morbidade relacionada às alterações no curso natural da cicatrização, o processo de reparo tecidual é estudado há anos, onde há uma crescente contribuição multidisciplinar para este fenômeno fisiológico, mas que continua desafiando os pesquisadores pelas suas peculiaridades. As disfunções cicatriciais ocorrem nos estágios iniciais, nos quais se observa uma acentuação do edema, uma diminuição da proliferação vascular e uma redução significativa de

elementos celulares como leucócitos, macrófagos e fibroblastos (LEAL; BEZERRA; LEMOS, 2012).

Pesquisas apontam o papel dos recursos físicos no processo de reparo tecidual e na cicatrização de feridas atuando no sentido de acelerá-lo. Dentre os vários tratamentos disponíveis, como microcorrentes, *light emitting diode* (LED), ultrassom, a terapia com laser destaca-se por ser uma das mais utilizadas (LOW; REED, 2001). Pesquisas abordam que a aplicação preventiva do laser de baixa potência (LBP) provou ser extremamente eficaz em evitar complicações, gerando também uma melhor qualidade de vida para os pacientes (LEAL; BEZERRA; LEMOS, 2012).

Como citado acima, sabemos que a laserterapia exerce um importante efeito sobre o processo cicatricial, resultando na redução do tempo de cicatrização. Contudo, alguns mecanismos envolvidos nessa resposta ainda permanecem desconhecidos, principalmente no que se refere aos efeitos do laser na bioenergética celular, bem como sobre os mecanismos de controle do estresse oxidativo. A exposição ao laser estimula uma atividade eletroquímica mitocondrial extra e um concomitante aumento na síntese de ATP. Alguns autores ainda postulam que a laserterapia influencia parâmetros de estresse oxidativo como a alteração da atividade das enzimas antioxidantes e a diminuição de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (SILVEIRA *et al.*, 2009; KARU, 1989).

O processo de cicatrização tem um papel essencial na resposta protetora da lesão epidérmica no período da reparação tecidual, além dos outros mecanismos já citados, o reparo cicatricial também ativa componentes oxidantes e inflamatórios, como citocinas e ERO, que, se produzidos em excesso, provocam danos sobre o tecido, causando o estresse oxidativo, inclusive podendo levar a morte celular (apoptose). Nos últimos anos, estudos têm relatado evidências do importante papel das ERO nos distúrbios microvasculares, danos teciduais e processos inflamatórios que precedem à cicatrização tecidual (SULLINS, 2004). Dado esse, que nos remete a refletir o quanto seria de grande pertinência se o laser produzisse, de fato, a diminuição do estresse oxidativo, bem como dos mecanismos envolvidos nesse processo.

O estresse oxidativo ocorre quando há excesso de radicais livres causando um desequilíbrio sobre as defesas antioxidantes, esses radicais entram em ação

causando a oxidação de componentes celulares como ácidos nucleicos e proteínas como o colágeno. Essa oxidação nesses componentes leva a uma lesão tecidual, podendo influenciar o influxo de células inflamatórias para o local da lesão (SILVA; MACEDO, 2011). Porém, os efeitos no mecanismo celular como resultado da irradiação do laser e sua influência nos parâmetros oxidativos ainda não estão bem elucidados, havendo muitos resultados controversos (SILVEIRA *et al.*, 2009).

Muitos estudos demonstram que a terapia a laser isolada proporciona melhorias estatisticamente significativas nos perfis das cicatrizes (SILVEIRA *et al.*, 2009; LEAL; BEZERRA; LEMOS, 2012). Outro achado importante é que segundo alguns autores, a intervenção precoce do laser tem o potencial para reduzir a formação da cicatriz cutânea quando introduzida na fase inflamatória, proliferativa ou de remodelação (CHOI *et al.*, 2021; KARMISHOLT *et al.*, 2018). Porém, até o momento não identificamos estudos que tenham avaliado a associação da laserterapia com a modulação das alterações biomoleculares relacionadas ao estresse oxidativo durante o processo de cicatrização de lesões cutâneas em modelo animal.

Desse modo, o objetivo da presente dissertação foi, por meio de uma revisão sistemática, realizar um levantamento dos estudos que relacionem os efeitos da laserterapia sobre a cicatrização cutânea a partir da modulação do estresse oxidativo em modelos animais.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão sistemática dos estudos que relacionem a laserterapia com a modulação das alterações biomoleculares relacionadas ao estresse oxidativo durante o processo de cicatrização de lesões cutâneas.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar se as lesões cutâneas promovem um aumento do estresse oxidativo e/ou alterações na funcionalidade mitocondrial da pele;

- Analisar se a laserterapia modula o aumento do estresse oxidativo e/ou alterações na funcionalidade mitocondrial da pele;
- Verificar se há evidência do uso de um protocolo específico com o tratamento do Laser- tipo/dose.

1.3 JUSTIFICATIVA

Segundo a Organização Mundial de Saúde estima-se que 2% de toda a população têm problemas de cicatrização com feridas crônicas (SILVA, 2007). Sabe-se que a cicatrização é complexa, com alterações vasculares e celulares, mecanismos de proliferação celular, síntese e deposição de colágeno, produção de elastina e revascularização, até a contração da ferida. Nota-se que, para mobilizar estes mecanismos, são necessários curativos frequentes, além de orientação do indivíduo para o autocuidado, que inclui o repouso intercalado com exercício e uma dieta que favoreça a cicatrização ou até um recurso físico da eletroterapia (BAVARESCO *et al.*, 2019).

A aplicação da laserterapia como tecnologia terapêutica na área de fisioterapia tem apresentado um crescimento significativo, visto que a preocupação com melhores resultados estéticos provocou um aumento na busca de técnicas que melhorassem a cicatrização, reduzindo o quadro inflamatório, edematoso e doloroso (BARACHO; FERREIRA, 2020; MEYER *et al.*, 2010). Vale lembrar que, no Brasil em 2004, a estimativa foi de 226,4 milhões de procedimentos cirúrgicos realizados e de 312,9 milhões, em 2012, com aumento de 38,2% em oito anos e o coeficiente de cirurgias estimado foi de 4.469 procedimentos cirúrgicos por 100.000 pessoas por ano (COVRE *et al.*, 2019). Um dado consideravelmente importante que justifica a busca por tratamentos cicatriciais até os dias atuais.

Os tratamentos cicatriciais por vezes não dependem apenas dos cuidados do paciente ou da farmacoterapia tópica, a laserterapia lança uma nova perspectiva de reabilitação rápida e eficaz, no qual tem demonstrado ser uma terapia promissora no tratamento de lesões por acelerar o tempo de cicatrização e evitar os riscos de infecções e debilidade. Para profissionais de saúde, incluindo o fisioterapeuta, colaborar com um recurso que preserve as funções fisiológicas e a qualidade do tecido neoformado é de grande pertinência, uma vez que as complicações cicatriciais podem

ir além do fator estético, promovendo retrações teciduais, diminuição do movimento, dor, alteração de postura resultando na redução na qualidade de vida (NASCIMENTO *et al.*, 2008).

Como já citado, o reparo tecidual ativa mediadores inflamatórios e oxidativos, como citocinas e as ERO, que em excesso, podem exceder a capacidade de controle dos mecanismos antioxidantes, e provocar efeitos nocivos sobre o tecido. Sabendo que o laser comprovadamente acelera e favorece a cicatrização cutânea, e que, muitos estudos postulam que ele influencia os parâmetros de estresse oxidativo, podendo assim ainda melhor restabelecer a cicatrização da pele, essa revisão sistemática buscou evidenciar se o laser de fato modula o aumento do estresse oxidativo cicatricial bem como a atividade mitocondrial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LASER

Desde a antiguidade, Pitágoras, Platão, Aristóteles, Euclides e Arquimedes já estudavam a luz. Entretanto, quem de fato formulou a teoria fotoelétrica que em 1916 culminou com o texto “Emissão Estimulada de ondas eletromagnéticas” foi Albert Einstein. Dessa forma, a designação laser, originou-se da abreviação de “*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*”, cuja teoria é creditada ao físico Albert Einstein, uma vez que seus princípios tornaram possível o desenvolvimento da tecnologia do laser (LOPES; PEREIRA; BACELAR, 2018; ROCHA, 2004).

O laser é um dispositivo de alta tecnologia, considerado uma luz amplificada produzida por radiação eletromagnética que se manifesta como luz monocromática, e coerente nas regiões visível, infravermelha ou ultravioleta. Tem como características alguns aspectos básicos: Monocromático: possui uma só cor, emite onda eletromagnética de um único comprimento de onda, ou seja, uma cor específica para cada tipo de laser. Coerência: a fase relativa entre as ondas de luz se mantém, usado para exprimir o grau de monocromia e colimação. Colimação: a luz é emitida em uma única direção, e as ondas são paralelas, com feixe estreito, que assim permanece à

medida que se propaga. Polarização: em alguns equipamentos de laser, as ondas emitidas podem ser polarizadas (LOPES; PEREIRA; BACELAR, 2018).

O primeiro laser foi construído em 17 de maio de 1960 por Theodore Mainan, o qual utilizou um cristal de rubi. Em 1962, Leon Goldman foi o primeiro a usar o laser de alta potência, que ficou conhecido como laser cirúrgico por apresentar potência acima de 1 W e algumas características específicas, como precisão de corte e a ablação de pedra dentro do organismo de forma menos. O laser de baixa potência só surgiu na década de 1970, com o médico e professor húngaro Endre Mester, sendo inicialmente utilizado na cicatrização de feridas e úlceras abertas e com a finalidade de estimular a cicatrização tecidual (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O laser de baixa potência se difere do laser de alta potência por não produzir nenhum efeito térmico considerável e suas reações são praticamente somente de fotobioestimulação celular (AGNE, 2015). Os equipamentos de lasers de baixa potência mais utilizados são os de HélioNeônio (He-Ne), Arseneto de Gálio (AsGa), Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP) e Arseneto-Gálio-Alumínio (AsGaAl). Esses dispositivos atuam na cicatrização pelo aumento do metabolismo, da maturação, da proliferação celular, da quantidade de tecido de granulação e diminuição dos mediadores inflamatórios (NASCIMENTO *et al.*, 2008). Além da ação anti-inflamatória e analgésica, ao qual ajudam no reparo dos tecidos biológicos traumatizados e diminui a dor do indivíduo, pois são agentes terapêuticos sem potencial destrutivo (INOE *et al.*, 2008; PINTO *et al.*, 2009).

A radiação emitida pelo laser é de origem eletromagnética não ionizante e pode ser visível ou invisível, além disso, possui propriedades físicas que permitem que seja emitida uma radiação de grande energia e empregado um comprimento de onda específico de acordo com o objetivo terapêutico. Os tipos de lasers são denominados de acordo com a localização da cavidade óptica que se encontra à volta do meio, que irá produzir o feixe de luz, determinando o comprimento de onda (BORGES; SCORZA, 2016; LOPES; PEREIRA; BACELAR, 2018).

A emissão da radiação do laser resulta de um elétron ou uma molécula, que sofre um salto quântico quando estimulado, passando para um alto estado de energia, onde inicia a emissão de ondas na mesma frequência, comprimento de onda e direção, origina-se então o feixe laser que possui mais potência que outras radiações

ópticas não modificadas ou estimuladas (CARVALHO *et al.*, 2006). Alguns fatores influenciam no sucesso das terapias com laser de baixa potência como características individuais, condição clínica, características do tecido alvo e a dosimetria da luz (LOPES; PEREIRA; BACELAR, 2018).

O crescente uso de terapia a laser de baixo e alto nível se dá principalmente devido à grande influência que esse método exerce nos tecidos. Os principais resultados da laserterapia são redução da dor, ação anti-inflamatória, além do efeito fotobiológico que promove aceleração dos eventos do processo de cicatrização tecidual (RODRIGUES *et al.*, 2020).

4.2 LASERTERAPIA E O PROCESSO CICATRICIAL

Dentre os recursos terapêuticos recentemente explorados no reparo tecidual e cicatrização de feridas, a laserterapia de baixa intensidade é conhecida por ser um método não invasivo, seguro e de baixo custo, e apresenta evidências científicas precisas de sua real contribuição nas fases que compreendem o processo de cicatrização tecidual (BRASSOLATTI *et al.*, 2018). Considerando alguns tratamentos disponíveis, como microcorrentes, *light emitting diode* (LED), ultrassom, a terapia com laser destaca-se por ser uma das mais utilizadas (LEAL; BEZERRA; LEMOS, 2012). O laser interage com os tecidos possibilitando vários efeitos benéficos por conta do aumento da velocidade mitótica das células, na qual a microcirculação é estimulada elevando o aporte nutricional, fornecendo energia e desencadeando nas células epiteliais uma ótima cicatrização em condições rápidas e eficazes (JESUS *et al.*, 2019).

Atualmente, a preocupação com melhores resultados estéticos provocou um aumento na busca de técnicas que melhorassem a cicatrização, reduzindo o quadro inflamatório, edematoso e doloroso (MEYER *et al.*, 2010). Vale ressaltar que a boa resposta de uma cicatriz, está relacionada aos tratamentos e cuidados do indivíduo, fatores que são importantes para a prevenção de possíveis vestígios inestéticos, para assim garantir a excelência de um resultado satisfatório (SANTOS; CÂNDIDO; SILVA, 2013).

A cicatrização de uma ferida é um evento multifatorial, e envolve uma enorme gama de eventos relacionados ao tipo da lesão e fenômenos biológicos, como alterações vasculares e celulares, proliferação epitelial, proliferação de fibroblastos, revascularização e contração da ferida. Uma ferida é caracterizada pela interrupção na continuidade de um tecido corporal, podendo ser causada por traumas físicos, químicos e mecânicos ou até mesmo desencadeada por uma condição médica (BEHEREGARAY *et al.*, 2017).

O processo cicatricial divide-se em três fases: inflamação, proliferação e maturação, o qual promove a cascata de coagulação e o recrutamento de células inflamatórias, as quais irão formar uma matriz provisória (MEDEIROS; DANTAS-FILHO, 2016). Imediatamente após o surgimento de uma lesão, inicia-se o processo de liberação de mediadores que dão início ao processo cicatricial, o qual se inicia pela inflamação, fase da migração de leucócitos e plaquetas, seguido pela fase proliferativa ou granulação, com ênfase para a angiogênese e para o aumento no número de fibroblastos para produção de colágeno, elastina, fibronectina, glicosaminoglicanos e proteases que remodelam fisiologicamente a ferida, e conclui-se com a epitelização de fato (LEAL; BEZERRA; LEMOS, 2012).

A última fase dura meses, mostrando-se não menos importante que as demais, visto que a boa resposta da cicatriz está relacionada aos tratamentos e cuidados do indivíduo mantendo o estímulo das fibras colágenas e a reabsorção de água para aumentar a força da cicatriz e diminuir sua espessura. Estes fatores são importantes para a prevenção de possíveis cicatrizes inestéticas, como também as possíveis cicatrizes hipertróficas ou as também chamadas quelóides, onde ocorre excesso de formação de colágeno. Em seu processo final, a neovascularização diminui e tardiamente a cicatriz é considerada avascular (BARACHO; FERREIRA, 2020).

Em tecidos epiteliais o laser causa a proliferação, migração e adesão de células e ativa os fatores de crescimento. No entanto, em tecido conjuntivo atua aumentando a síntese de colágeno por fibroblastos, além de aumentar a vascularização ao promover angiogênese, como também favorece a migração de neutrófilos, linfócitos agindo sobre a neoformação de vasos sanguíneos (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Sendo assim, podemos aferir que o laser de baixa potência tem um efeito cicatricial de grande eficácia, e que seu êxito se deve às particularidades de respostas

que induzem nos tecidos, como redução de edema, diminuição do processo inflamatório, fagocitose, síntese de colágeno e da epitelização (CARVALHO *et al.*, 2006).

4.3 LASERTERAPIA, PROCESSO CICATRICIAL E O ESTRESSE OXIDATIVO

O laser age nos processos celulares, auxiliando nas ações biofísicas e bioquímicas das células, onde sua energia é absorvida pelas mitocôndrias, gerando um fenômeno fotobiológico na área alvo através de processos bioquímicos, ocorrendo uma importante resposta celular e tecidual final (BARACHO; FERREIRA, 2020).

Como sabemos, o processo de cicatrização tecidual ativa mediadores inflamatórios e oxidantes. Logo, um processo inflamatório prolongado dificulta a cicatrização, uma vez que o aumento do nível de citocinas promove degradação do colágeno, apoptose das células dérmicas, comprometimento vascular e a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), dentre estas alguns radicais livres (RL) (BONUCCI *et al.*, 2018).

Os RL são um grupo de moléculas, considerados espécies químicas que apresentam átomos com elétrons livres não pareados em sua camada externa, o que explica sua instabilidade energética e elevada reatividade (VALKO *et al.*, 2006; CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007). Os RL são produzidos no organismo provindos do metabolismo normal do oxigênio, podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana celular. Alguns dos principais tipos de RL são: a hidroxila (-OH), ânion superóxido (O₂⁻), óxido nítrico (NO) e o oxigênio singleto (1O₂). Esses radicais tem como alvo celular as proteínas, lipídios, carboidratos e DNA, ao causar danos oxidativos à essas estruturas, pode ocorrer imediatamente um aumento do colapso do potencial da membrana mitocondrial podendo assim induzir a sua apoptose, que é ativada pela proteína citocromo c, umas das principais envolvidas na ativação da apoptose celular. Com isso, verificamos o quanto os RL podem ocasionar importantes danos às células, muitas vezes de forma irreversível (LIOCHEV, 2013; JOMOVA; VALKO, 2011; GREEN; KROEMER, 2004).

A produção de ERO integra o nosso metabolismo e está presente também em condições naturais, como nos processos fisiológicos envolvidos na produção de

energia (geração de ATP), fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intracelular e síntese de substâncias importantes, como nos hormônios e enzimas. (VASCONCELOS *et al.*, 2014). Portanto, em condições fisiológicas essa produção é fundamental em vários processos fisiopatológicos e bioquímicos pois mantem a sobrevivência e a homeostase celular do organismo (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007). Além disso, a formação desses radicais em proporções adequadas, possibilita a fertilização do óvulo, ativação de genes, e a participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção. Porém, a sua produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos celulares, como o envelhecimento precoce e doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer, e entre outras doenças que influenciam diretamente a qualidade de vida (BARBOSA *et al.*, 2010).

Como referido acima, a produção de ERO se tornará patogênica quando ocorrer em um produção demasiada, portanto é de grande importância também relevar, que vários fatores são associados ao aumento do estresse oxidativo, como em hábitos de vida considerados inapropriados, podemos citar: consumo de álcool, tabagismo, dieta inadequada, exercício físico em excesso; como também o alto nível de estresse e outras patologias como Diabetes Mellitus, Câncer e Hipertensão Arterial (VASCONCELOS *et al.*, 2014).

Sabemos que a produção de RL é contínua nos processos metabólicos, e isso levou ao desenvolvimento de um sistema de defesa antioxidante, os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (LIOCHEV, 2013). Esse sistema dispõe de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos para proteção contra as oxidações dos RL. O sistema enzimático é formado por enzimas, entre elas podemos destacar, a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx), todas elas agem na defesa antioxidante evitando o acúmulo dos RL. Já o sistema não enzimático, é formado por antioxidantes de origem dietética, ou seja, por algumas vitaminas (C, E e A), produtos naturais (carotenoides, flavonoides, polifenóis e entre outros) e minerais (zinco, cobre, selênio e magnésio) (PRASAD *et al.*, 2007; HALLIWELL, 2012).

Deste modo, o estresse oxidativo ocorre nas situações em que incide um desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes, onde o sistema oxidante se sobrepõe ao antioxidante. Ou seja, quando há excesso de radicais livres sobre as

defesas antioxidantes, esses radicais atacam e oxidam outros componentes celulares, especialmente os lipídios e proteínas como o colágeno (VASCONCELOS *et al.*, 2014).

No processo cicatricial, estudos em diversos organismos e sistemas celulares identificaram o envolvimento comum de EROs como mediadores da resposta inflamatória inicial à cicatrização de feridas (BONUCCI *et al.*, 2018). Dephillipo *et al.*, (2018), abordam que o estresse oxidativo acelera o processo de envelhecimento natural do corpo, afetando negativamente a viabilidade e a proliferação de células produtoras de colágeno, promovendo assim a apoptose celular. Assim como Bryan *et al.*, (2012) também discorrem, apontando que a superprodução de EROs pode limitar a taxa de regeneração de um tecido levando à uma lesão tecidual. Com base nesse contexto, sabemos que a cicatrização dos tecidos conjuntivos depende diretamente da capacidade de síntese do colágeno, o que nos remete a uma reflexão: o quão seria relevante se o Laser reduzisse de fato o estresse oxidativo, e evitasse as inúmeras complicações cicatriciais causadas pela oxidação.

Admite-se que fotobiomodulação pode diminuir o estresse e assim restaurar o balanço oxidativo em diversas condições biológicas. A restauração do balanço aparentemente ocorreria pela ação de elevação do potencial da membrana mitocondrial pela fotobiomodulação. A elevação do potencial resultaria em aumento da produção de ATP e consequente em redução dos radicais livres (HENNESSY; HAMBLIN, 2016). Segundo Karu (1989), a exposição ao laser estimula uma atividade eletroquímica mitocondrial extra e um concomitante aumento na síntese de ATP. Assim como Eells *et al.*, (2004), relatam no seu estudo que o laser de baixa potência exerce efeito em cascata sobre a sinalização celular, o que promove uma proliferação celular e citoproteção.

A laserterapia pode influenciar parâmetros de estresse oxidativo como a alteração da atividade das enzimas antioxidantes e a produção de EROs. Mileva, Bakalova e Zlateva (2004) consentem essa ideia, já que abordam que a resposta inflamatória induzida pela lesão epidérmica provoca a migração de neutrófilos e macrófagos, que realizam um rápido consumo de oxigênio, ocasionando a formação do ânion superóxido. A laserterapia age diminuindo essa migração de neutrófilos e macrófagos e estimula a atividade fagocitária de leucócitos, reduzindo a duração da fase inflamatória e consequentemente diminuindo a produção de ânion superóxido (SILVEIRA *et al.*, 2009).

Tem sido postulado que o uso do laser de baixa potência induz um aumento na atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em diferentes modelos, contribuindo para diminuição dos danos ao tecido e potencialização da cicatrização. A enzima SOD representa a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de radicais livres, catalisando a dismutação do ânion superóxido (SILVEIRA *et al.*, 2009).

A irradiação com o laser de baixa potência vem demonstrando eficiência na redução dos danos oxidativos em diferentes modelos e situações. Conforme Kreisler *et al.* (2003), a estimulação dos fotorreceptores pelo laser na cadeia respiratória mitocondrial e a mudança nos níveis de ATP ainda não estão bem estabelecidos e sendo alvo de várias discussões, porém, geralmente é aceito que ambos os efeitos estimulatórios e inibitórios do laser nas células sejam dose e comprimento de onda dependente. Autores postulam a possibilidade que, dependendo da dose, do tempo de exposição e da intensidade, a laserterapia possa de fato alterar os mecanismos de defesa contra a produção excessiva de EROs (SILVEIRA *et al.*, 2009).

3. METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO

Esta pesquisa constitui uma revisão sistemática e foi conduzida de acordo com a Declaração PRISMA 2020: Uma diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas (PAGE *et al.*, 2021). Uma revisão sistemática, assim como outros tipos de estudo de revisão, é uma forma de pesquisa que utiliza como fonte de dados a literatura sobre determinado tema. Esse tipo de investigação disponibiliza um resumo das evidências relacionadas a uma estratégia de intervenção específica, mediante a aplicação de métodos explícitos e sistematizados de busca, apreciação crítica e síntese da informação selecionada (LINDE; WILLICH, 2003). O estudo está em processo de aprovação no PROSPERO (International Prospective Register of Systematic Reviews).

3.2 AMOSTRA

A revisão sistemática foi composta por estudos originais, que avaliaram o efeito do laser sobre a cicatrização cutânea e no estresse oxidativo em animais.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão para esta revisão sistemática compreenderam: 1) estudos experimentais realizados em animais; 2) artigos publicados em todos os períodos; 3) publicados em língua portuguesa, inglesa, francesa e espanhola; 4) estudos que avaliaram o efeito do laser sobre a cicatrização cutânea e estresse oxidativo realizados em animais. Foram excluídos: 1) artigos de revisão sistemática ou de literatura; 2) de validação de instrumento; 3) estudos caso controle e coorte; 4) estudos que não utilizaram a laserterapia para avaliar a cicatrização cutânea e estresse oxidativo; 5) resumos e resumos de artigos científicos para eventos; 6) artigos não disponíveis na íntegra que possuem custo; 7) artigos científicos que utilizaram modelos humanos nas suas pesquisas.

3.4 BUSCA

A busca dos artigos foi realizada nas seguintes bases de dados online: PubMed, Embase e Web of Science, até 19 de dezembro de 2022, sem restrição para o ano de publicação, a partir das seguintes combinações de descritores: (Laser OR "Laser therapy" OR photobiomodulation) AND (Scar OR healing OR "wound healing") AND ("oxidative stress" OR "reactive oxygen species").

3.5 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Após a busca nas bases de dados foi efetuada a remoção dos artigos duplicados. Logo após, foi realizada a leitura do título e do resumo dos estudos, com a exclusão dos artigos claramente não relevantes. E na sequência foi feita a leitura completa dos artigos remanescentes, a fim de verificar se atendiam aos critérios de inclusão. A triagem e a seleção dos estudos foram realizadas por dois revisores

independentes (PF e NS), por meio do *software EndNote x7®*. Em caso de divergências, um terceiro revisor foi consultado para consenso.

3.6 EXTRAÇÃO DOS DADOS

As seguintes informações foram extraídas dos estudos por dois revisores independentes (PF e NS): autores, ano, país de realização, metodologia, intervenções, tamanho da amostra, qual o tipo de laser utilizado na pele; como também: o tipo de irradiação, a duração de tempo e a frequência semanal; quanto aos participantes, se camundongo ou rato, macho ou fêmea, raça e se possuem lesões cutâneas ou não, e por fim, quais marcadores antioxidantes e do estresse oxidativo foram avaliados e os resultados dos estudos.

3.7 ANÁLISE DA QUALIDADE DOS ESTUDOS

A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada por meio da escala PEDro adaptada, que apresenta níveis positivos de confiabilidade e validade. A escala é composta por 11 itens que avaliam a qualidade metodológica de ensaios clínicos. As respostas dos itens são pontuadas como: sim=1 ou não=0, e a pontuação máxima no total de 10 é obtida por somatório (MORTON, 2009). Tendo em vista que o critério número 1, não é considerado para a pontuação final por tratar-se de um item que avalia a validade externa do estudo. Ensaios clínicos com escore superior a 6 foram considerados com menor risco de viés, e estudos com pontuação menor ou igual a 6 foram considerados com alto risco de viés.

3.8 ANÁLISE DOS DADOS

Após a elegibilidade dos estudos, foi realizada a leitura completa de cada artigo. Os dados foram analisados qualitativamente por meio de análise descritiva.

4 RESULTADOS

Os resultados do presente estudo estão apresentados sob a forma de artigo científico derivado do tema central da Dissertação do Mestrado e será submetido a Revista Lasers in Medical Science, cujas normas encontram-se no anexo B.

4.1 ARTIGO

EFEITO DO LASER SOBRE A CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA E NOS PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Paola Flores Irber ^a; Gustavo Orione Puntel ^b; Felipe Barreto Schuch^c

^a Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós Graduação em Ciências do Movimento e Reabilitação, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

^b Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Fisioterapia, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil – ORCID: 0000-0002-1641-9477

^c Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Métodos e Técnicas Esportivas, Santa Maria, Brasil – ORCID: 0000-0002-5190-4515

Autor correspondente: Paola Flores Irber
paolairber@gmail.com

RESUMO

A terapia a laser de baixa intensidade (TLBI), é definida como a aplicação de radiação na forma de luz com a finalidade de cura. Sabemos a sua contribuição na aceleração da cicatrização cutânea, mas os seus efeitos sobre a atividade mitocondrial e sobre os marcadores de estresse oxidativo no tratamento de lesões ainda permanecem obscuros. **Objetivo:** Essa revisão sistemática buscou evidenciar se o laser modula o aumento do estresse oxidativo cicatricial bem como se produz alterações na atividade mitocondrial. **Métodos:** Foram incluídos estudos que avaliaram o efeito do laser sobre a cicatrização cutânea e estresse oxidativo realizados em animais. Foram excluídos estudos que não utilizaram a laserterapia para avaliar a cicatrização cutânea e estresse oxidativo. A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados: PubMed, Embase e Web of Science. A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada pela escala PEDro adaptada. Foi realizada uma análise qualitativa e descritiva dos estudos incluídos. **Resultados:** Foram incluídos 6 estudos, todos os artigos apresentaram resultados significativos na modulação do estresse oxidativo, reduzindo marcadores oxidantes (ânion superóxido) e ativador de apoptose (citocromo c), e principalmente aumentando a defesa enzimática antioxidante (Catalase, Superóxido Dismutase e Glutathione Peroxidase). **Conclusão:** A TLBI se apresenta uma técnica com resultados promissores na melhora e aceleração do processo de cicatrização cutâneas, bem como na regulação das reações bioquímicas relacionadas ao estresse oxidativo das áreas tratadas. Apesar disso, não fica clara a explicação dos mecanismos desses efeitos, nos revelando a real necessidade de mais estudos, principalmente com foco nas análises mitocondriais.

Palavras-chave: Laser. Cicatrização Cutânea. Estresse Oxidativo.

Introdução

A fotobiomodulação (FBM), primeiramente chamada como terapia a laser de baixa intensidade (TLBI), tem seu conceito de definição como a aplicação de radiação na forma de luz com a finalidade de cura, já que pode modificar o comportamento da célula para facilitar a reparação do tecido. É considerada um tipo de luz não ionizante, monocromática, colimável e coerente [1,2]. Alguns parâmetros devem ser considerados para que a sua aplicação seja efetiva, como o comprimento de onda, potência, densidade de energia e tempo da luz aplicada [3,4].

Hoje em dia essa terapia é utilizada para acelerar o processo cicatricial, proporcionando uma melhor qualidade de vida aos pacientes otimizando assim, o tratamento de lesões cutâneas [3]. Além disso, por se tratar de uma terapia não farmacológica, não apresentará efeitos adversos como alguns fármacos. A sua aplicação visa promover a reparação tecidual, reduzir a inflamação e produzir analgesia, geralmente usando tipos de fonte de luz de baixa potência, como o laser ou LED [4, 5].

Os tipos de lasers de baixa potência mais utilizados para tratar a cicatrização da pele são os de HélioNeônio (He-Ne), Arseneto de Gálio (AsGa), Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP) e Arseneto-Gálio-Alumínio (AsGaAl) [6]. Outro tipo de fototerapia muito usada no reparo cicatricial, é o LED (*Light Emitting Diode*), traduzindo-se como Diodo Emissor de Luz, que converte um espectro luminoso não coerente em uma luz monocromática [7]. Segundo alguns estudos, há evidências de que a TLBI pode promover a reepitelização de feridas crônicas, acelerar a cicatrização e reduzir a dor [2, 4, 8]. Essa comprovação corrobora com as conclusões de Castro, Barbosa e Silva [9], na qual evidenciou que os efeitos da TLBI alteram de fato o comportamento celular, recrutando as células epiteliais em grande escala, favorecendo assim, a reparação tecidual.

Vale ressaltar sobre a prevalência de feridas na população brasileira, mesmo não havendo constatações precisas, a pesquisa de Lima et al. [10], apresenta que alguns estudos estimam que 1,05% da população em geral possua algum tipo de lesão, dado esse muito relevante para esta pesquisa, visto que as terapias aqui citadas podem intervir efetivamente nesse problema. No momento em que ocorre uma lesão, uma cascata de eventos moleculares entra em ação, sendo modulada por vários mediadores químicos que agem nas diferentes fases, objetivando de tal modo cicatrizar a ferida. Vale lembrar, que as fases referidas, são as seguintes: fase inflamatória, proliferativa e de remodelação [4]. Como já mencionado, sabemos que a cicatrização cutânea é um processo biológico bastante dinâmico e complexo, logo, é pertinente frisar que inúmeros fatores externos e internos podem alterar os mecanismos da cicatrização da pele, resultando conseqüentemente em disfunções, tais como a fibrose excessiva ou a persistência da cura de feridas [7].

É importante destacar, que a reparação da lesão também ativa mediadores inflamatórios e oxidativos, como citocinas, EROs (espécies reativas de oxigênio) e RL (radicais livres), que provocam efeitos oxidativos sobre o tecido. Alguns dos principais tipos de RL são: a hidroxila (- OH), ânion superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO) e o oxigênio singleto ($1O_2$). Esses radicais tem como alvo celular as proteínas, lipídios, carboidratos e DNA, ao causar danos oxidativos à essas estruturas, pode ocorrer imediatamente um aumento do colapso do potencial da membrana mitocondrial, podendo assim induzir

a sua apoptose, que é ativada pela proteína citocromo c, uma das principais envolvidas na ativação da apoptose celular [11-13].

A produção de RL é contínua nos processos metabólicos, e isso levou ao desenvolvimento de um sistema de defesa antioxidante, os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células [11]. Esse sistema dispõe de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos para proteção contra as oxidações dos RL. O sistema enzimático é formado por enzimas, entre elas podemos destacar, a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx), todas elas agem na defesa antioxidante evitando o acúmulo dos RL. Já o sistema não enzimático, é formado por antioxidantes de origem dietética, ou seja, por algumas vitaminas (C, E e A), produtos naturais (carotenoides, flavonoides, polifenóis e entre outros) e minerais (zinco, cobre, selênio e magnésio) [14, 15].

As EROs poderão ser benéficas e ao mesmo tempo prejudiciais. Em condições fisiológicas naturais, sua produção é extremamente controlada e existe uma participação tanto de defesa do patógeno como de sinalização celular. No entanto, quando são produzidas em excesso, a insuficiente desintoxicação das enzimas antioxidantes gera o estresse oxidativo, resultando em danos celulares [16].

Diante disso, sabemos o quanto a TLBI contribui com a aceleração da cicatrização cutânea, impactando positivamente na qualidade de vida do paciente, proporcionando um tratamento eficaz, seguro e completo. No entanto, alguns mecanismos envolvidos na resposta cicatricial ainda permanecem desconhecidos, como os efeitos da TBLI sobre a cadeia respiratória mitocondrial e sobre os marcadores de estresse oxidativo. Algumas evidências sugerem que as mitocôndrias das células expostas absorvem fótons emitidos pelo laser, estimulando o nível de ATP e reduzindo os níveis de espécies reativas do oxigênio [7]. Outros estudos consistentes também abordam que a modulação da inflamação ocorre por intermédio de mecanismos que incluem a regulação dos níveis de marcadores bioquímicos, controlando a atividade de neutrófilos e atenuando a ação do estresse oxidativo [17].

A cicatrização cutânea é um processo fisiológico, complexo e necessário, cujo problema é a demasiada reação inflamatória/oxidativa resultante da excessiva produção de EROs que causam a oxidação do tecido podendo provocar danos celulares irreversíveis. Há evidências bem definidas que o laser de fato acelera e favorece a cicatrização cutânea, conferindo propriedades anti-inflamatórias. Sabemos por teoria, que a sua luz penetra a epiderme sendo absorvida por várias moléculas que precipitam uma cascata de fotobioestimulação, na qual há ativação do metabolismo celular e cicatrização, contudo, o seu mecanismo terapêutico e bioenergético ainda não está bem esclarecido. Sendo assim, essa revisão sistemática buscou evidenciar se o laser modula o aumento do estresse oxidativo cicatricial bem como se produz alterações na atividade mitocondrial.

Metodologia

Esta pesquisa constitui uma revisão sistemática e foi conduzida de acordo com a Declaração PRISMA 2020: Uma diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas [18]. O estudo está em processo de aprovação no PROSPERO (International Prospective Register of Systematic Reviews).

Os critérios de inclusão para esta revisão sistemática compreenderam: estudos experimentais realizados em animais; artigos publicados em todos os períodos; artigos publicados em língua portuguesa, inglesa, francesa e espanhola, e estudos que avaliaram o efeito do laser sobre a cicatrização cutânea e estresse oxidativo realizados em animais. Foram excluídos: artigos de revisão sistemática ou de literatura; artigos de validação de instrumento; estudos caso controle e coorte; estudos que não utilizaram a laserterapia para avaliar a cicatrização cutânea e estresse oxidativo; resumos e resumos de artigos científicos para eventos; artigos não disponíveis na íntegra que possuem custo e artigos científicos que utilizaram modelos humanos nas suas pesquisas.

A busca dos artigos foi realizada nas seguintes bases de dados online: PubMed, Embase e Web of Science, até 19 de dezembro de 2022, sem restrição para o ano de publicação, a partir das seguintes combinações de descritores: (Laser OR "Laser therapy" OR photobiomodulation) AND (Scar OR healing OR "wound healing") AND ("oxidative stress" OR "reactive oxygen species"). Após a busca nas bases de dados foi efetuada a remoção dos artigos duplicados, e realizada a leitura do título e do resumo dos estudos, juntamente com a exclusão dos artigos sem relevância. Logo após, foi feita a leitura completa dos artigos remanescentes, a fim de verificar se atendiam aos critérios de inclusão. A triagem e a seleção dos estudos foram realizadas por dois revisores independentes (PF e NS), por meio do *software EndNote x7®*. Em caso de divergências, um terceiro revisor foi consultado para consenso.

As informações extraídas dos estudos foram: autores, ano, país de realização, metodologia, intervenções, tamanho da amostra, qual o tipo de Laser utilizado na pele; como também: o tipo de irradiação, a duração de tempo e a frequência semanal; quanto aos participantes, se camundongo ou rato, macho ou fêmea, raça e se possuem lesões cutâneas ou não, e por fim, quais marcadores antioxidantes e do estresse oxidativo foram avaliados e os resultados dos estudos.

A qualidade metodológica dos estudos foi avaliada por meio da escala PEDro adaptada, que apresenta níveis positivos de confiabilidade e validade. A escala é composta por 11 itens que avaliam a qualidade metodológica de ensaios clínicos. As respostas dos itens são pontuadas como: sim=1 ou não=0, e a pontuação máxima obtida por somatório é no total de 10. Visto que o critério número 1, não é considerado para a pontuação final por tratar-se de um item que avalia a validade externa do estudo. Ensaios clínicos com escore superior a 6 foram considerados com menor risco de viés, e estudos com pontuação menor ou igual a 6 foram considerados com alto risco de viés [19]. Os estudos selecionados foram analisados qualitativamente por meio de análise descritiva.

Resultados

Após a pré-análise foi realizada a leitura completa dos estudos selecionados. Foram encontrados 559 artigos, desse total, 107 foram encontrados na PubMed, 238 na Embase e 214 na Web of Science. De acordo com os critérios de elegibilidade totalizaram-se 6 artigos conforme a figura 1 [20-25].

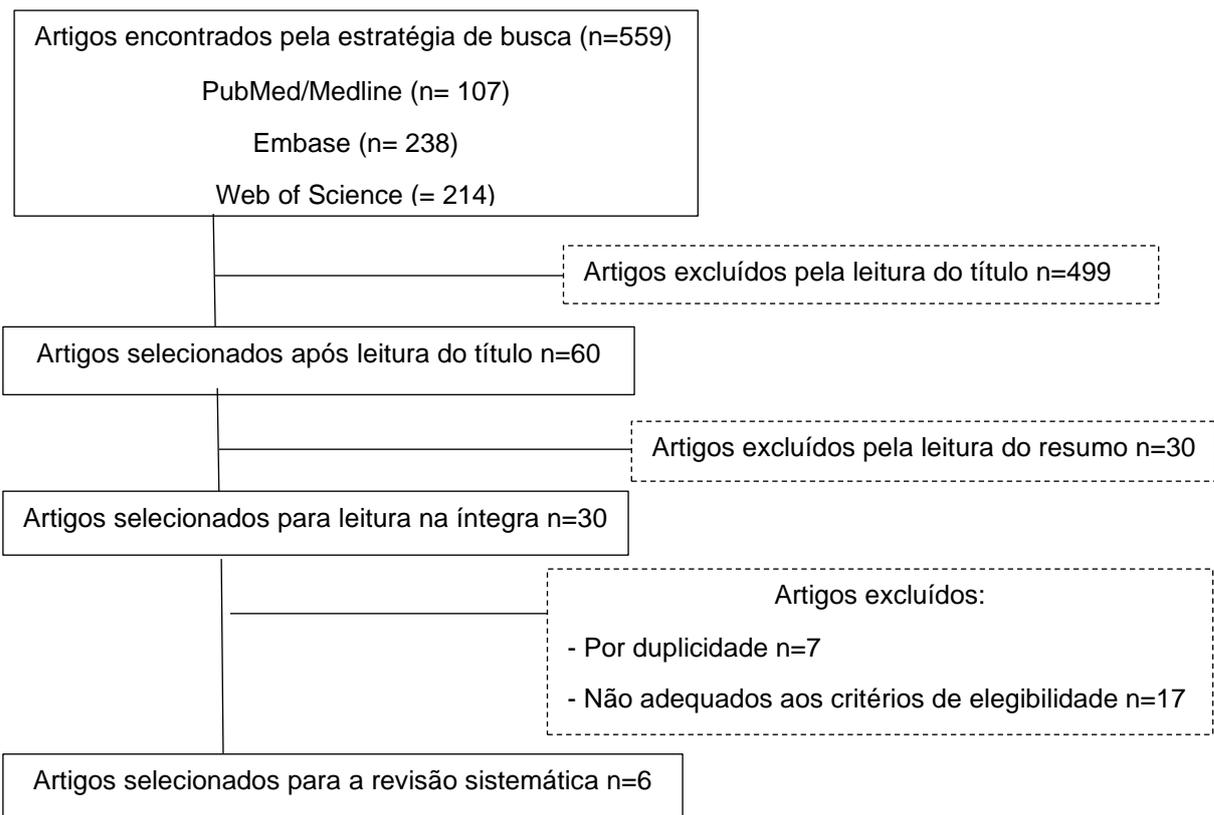


Figura 1: Fluxograma do número de artigos encontrados e selecionados após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão.

Na tabela 1, estão apresentadas as pontuações das qualidades metodológicas através da escala PEDro adaptada. Ensaio clínico com escore superior a 6 foram considerados com menor risco de viés, e estudos com pontuação menor ou igual a 6 foram considerados com alto risco de viés. Podemos verificar que a pontuação média da escala PEDro foi de 6,3 pontos, indicando uma média geral de baixo risco de viés entre os estudos analisados.

A alocação aleatória dos animais ocorreu em 66,4% dos estudos, apenas dois estudos (33,6%), realizaram as divisões dos grupos de forma não aleatória, em razão de avaliarem mais variáveis dos modelos animais. Na maioria dos estudos, se sucedeu uma alocação secreta dos animais (66,4%). Em todos os estudos (100%), os avaliadores participaram de forma não cega, tanto na distribuição dos grupos, como em relação aos tratamentos. Todos os avaliadores mensuraram os resultados de forma não cega, visto que seus objetivos eram principalmente verificar o desfecho de cada intervenção conforme cada tipo de laser aplicado.

A mensuração inicial em pelo menos um resultado-chave foi obtida em mais de 85% dos animais em todos os estudos. Em 100% dos artigos, os animais que apresentaram resultados receberam o tratamento ou a condição de controle conforme a distribuição dos grupos. Todos os artigos descreveram diferença entre grupos na análise estatística e as medidas de variabilidade.

Tabela 1: Adaptação de itens da escala PEDro e pontuação dos estudos incluídos (n=6) apresentados pelo primeiro autor de cada artigo e ano de publicação.

Itens	Estudos Silveira P, 2011	Gonçalves R, 2013	Karkada G, 2021	Fillipin L, 2005	Silveira P, 2016	Keshri G, 2019
1. *Critérios de elegibilidade especificados	*S	*S	*S	*S	*S	*S
2. Os animais foram aleatoriamente divididos em grupos por tratamento recebido	S	S	N	S	N	S
3. A alocação dos animais foi secreta	S	S	N	S	N	S
4. Inicialmente, os grupos eram semelhantes nos indicadores de prognósticos mais importantes	S	S	S	S	S	S
5. Todos os avaliadores dos estudos participaram de forma cega	N	N	N	N	N	N
6. Todos os terapeutas administraram a terapia de forma cega	N	N	N	N	N	N
7. Todos os avaliadores que mediram um resultado-chave, fizeram de forma cega	N	N	N	N	N	N
8. Inicialmente, a mensuração de pelo menos um resultado-chave foi obtido em mais de 85% dos animais	S	S	S	S	S	S
9. Todos os grupos de animais que apresentaram resultados receberam o tratamento ou a condição de controle conforme a alocação	S	S	S	S	S	S
10. Os resultados das comparações estatísticas entre grupos foram descritos para pelo menos um resultado-chave	S	S	S	S	S	S
11. Os estudos apresentam tanto medidas de precisão (efeitos) do tratamento como medidas de variabilidade para pelo menos um resultado-chave	S	S	S	S	S	S
TOTAL (0-10)	7	7	5	7	5	7

Legenda: S (sim), N (não); S=1 e N=0. * O critério 1 não é considerado para a pontuação final por tratar-se de um item que avalia a validade externa do estudo.

Na tabela 2, são apresentadas informações gerais dos estudos selecionados [20-25], os autores, ano, país de realização, metodologia, tamanho da amostra, se foi utilizado camundongo ou rato, se macho ou fêmea e também se foi produzida lesão cutânea no animal.

Tabela 2: Informações dos estudos - autores, ano, país de realização, metodologia, tamanho da amostra, se camundongo ou rato, macho ou fêmea e se foi produzida lesão cutânea

1º Autor/Ano	Amostra/Metodologia	País	Camundongo/Rato
1. Silveira, 2011 [20]	<p>30 animais foram aleatoriamente divididos em cinco grupos controle (n=6):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grupo Controle: lesão - sem irradiação; - Pele com lesão + laser HeNe (Helium Neon) (660nm, 1 J/cm², 2 s); - Pele com lesão + com laser HeNe (660nm, 3 J/cm², 6 s); - Pele com lesão + laser GaAs (904nm, 1 J/cm², 3 s); - Pele com lesão + laser GaAs (904nm, 3 J/cm², 9 s). <p>- Lesão: Uma única ferida circular medindo 8 mm de diâmetro feita no dorso do animal.</p>	Brasil	Ratos Wistar machos – com lesão cutânea
2. Gonçalves, 2013 [21]	<p>24 animais foram randomizados em três grupos de tratamento com oito ratos (n=8) em cada grupo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grupo Controle, lesão + soro fisiológico 0,9% - sem irradiação; - Grupo L30, lesão + laser GaAsAl (830 nm, 30 J/cm², 410s) - Grupo L90, lesão + laser GaAsAl (830 nm, 90 J/cm², 1.230s) <p>Lesão: Três feridas circulares de 12,5 mm de diâmetro foram feitas com uma incisão cirúrgica na pele.</p>	Brasil	Ratos Wistar machos – com lesão cutânea
3. Karkada, 2021 [22]	<p>18 animais foram divididos em dois grupos n=9:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grupo controle: lesão - sem irradiação; - Grupo experimental- lesão + Tech laser SS 100 - Vermelho (655nm, 4 J/cm², 6 min) / Tech laser SS 100 Infravermelho (808nm, 4 J/cm², 3min). <p>Lesão: Uma ferida excisional de 2 mm no dorso do animal.</p>	Índia	Ratos Wistar fêmeas – com lesão cutânea

1ºAutor/Ano	Amostra/Metodologia	País	Camundongo/Rato
4. Phillipin, 2005 [23]	<p>32 animais foram aleatoriamente divididos em 4 grupos (n = 8):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grupo Controle (CO): sem irradiação e sem lesão; - Grupo Trauma (T)- lesão - sem irradiação; - Grupo Trauma+LLLLT (L14) GaAs (Galiumarsenium) por 14 dias (904nm, 5 J/cm², 35s); - Trauma+LLLLT (L21) GaAs (Galiumarsenium) por 21 dias (904nm, 5 J/cm², 35s). <p>Lesão: O trauma do tendão de Aquiles foi produzido pela queda de uma carga com uma energia cinética de impacto de 0,544 J.</p>	Brasil	Ratos Wistar machos – com e sem lesão cutânea.
5. Silveira, 2016 [24]	<p>50 animais foram divididos em seis grupos (n=10):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grupo Sham- sem lesão e sem irradiação; - Pele com queimaduras (BWs –burn wounds) - sem irradiação; - BW + Laser AlGaInP (Aluminum Gallium Indium Phosphide) (660 nm, 10J/cm², 20s); - BW + Laser GaAs (Galiumarsenium) (904 nm, 3 J/cm², 9s); - BW + LED (Light-Emitting Diode) (632 nm, 160cm², 10min); - BW + LED Infravermelho (850 nm, 160 cm², 10min). <p>Lesão: A queimadura foi realizada com placa de cobre a 100°C, com 10 s de contato na pele.</p>	Brasil	Ratos Wistar machos – com e sem lesão cutânea.
6. Keshri, 2019 [25]	<p>48 animais foram randomizados em quatro grupos de 12 ratos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grupo controle: com lesão e sem irradiação; - Pele com lesão + Laser GaAs - modo contínuo (810nm, 22,6 J/cm², 10min); - Pele com lesão + Laser GaAs - modo 10Hz (810nm, 22,6 J/cm², 10min); - Pele com lesão + Laser GaAs- modo 100Hz (810nm, 22,6 J/cm², 10min); <p>Lesão: Uma excisão transdérmica com 15mm de diâmetro no dorso do animal.</p>	Índia	Ratos Sprague-Dawley machos – com lesão cutânea

Na tabela 3, são apresentados o tipo de laser utilizados nos estudos, as intervenções realizadas, qual marcador antioxidante e de estresse oxidativo foi avaliado e os resultados.

Tipo de Laser/Intervenção	Marcadores Estresse Oxidativo/ Antioxidante	Resultados
<p>1) [20] Laser de Galiumarsenium (GaAs) de baixa intensidade IBRAMED: com potência 70 W; 904nm de comprimento de onda; frequência 9.500 Hz; densidade de energia de 1 J/cm² (3 seg) e 3 J/cm² (9 seg).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Laser de hélio-neon (HeNe) IBRAMED: com pico de potência 30mW; 660nm de comprimento de onda; densidade de energia: 1 J/cm² (dois seg) e 3 J/cm² (seis seg); - A irradiação a laser foi realizada 7 vezes, durante 5 dias em 5 pontos da ferida em 2h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h após a lesão. - A borda externa da lesão foi removida cirurgicamente para análise. 	<p>Análise das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - CAT e SOD estavam bem elevadas 5 dias após a lesão no grupo controle (sem irradiação); - Melhora significativa na cicatrização da ferida (medindo a regressão do tamanho da lesão) - nos grupos irradiados com HeNe 1 e 3 J/cm² e GaAs 3 J/cm², vs grupo controle; - O tratamento com HeNe 1 J/cm² e GaAs 1J/cm² aumentou expressivamente a CAT e SOD diminuindo o dano oxidativo em relação ao grupo controle.
<p>2) [21] Laser GaAs (Galiumarsenium) de baixa intensidade (LLLT) Quasar: com potência de 90mW, 810nm de comprimento de onda; frequências de 9.500hz; densidade de energia de 30 J/cm² (410 s) e 90 J/cm² (1.230s).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Em todos os casos, o tratamento foi iniciado 6 h após as feridas terem sido feitas e repetido 1 vez por dia durante os 21 dias do experimento. - Fragmentos de tecido das feridas foram removidos cirurgicamente para análise. 	<p>Análise da enzima antioxidante Catalase (CAT).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - A CAT estava consideravelmente aumentada logo após a produção da lesão no grupo controle (sem irradiação); - A redução do tamanho da ferida no 7^o e 14^o dia foi expressiva no grupo L30 (GaAs 30 J/cm²) e maior no grupo L90 (GaAs 90 J/cm²) vs grupo controle; - No 7^o e 14^o dia, a atividade da CAT foi maior no Grupo L90 (GaAs 90 J/cm²) vs grupo controle.

Tipo de Laser/Intervenção	Marcadores	Resultados
<p>3) [22] Tech laser SS 100 (Technomed Elec. Chennai): 2 variações Laser Vermelho: com potência de 24mW, 655 nm, frequência de 9.500hz; densidade de energia: 4 J/cm² (6 min);</p> <p>Laser Infravermelho: com potência de 120mW, 808nm, densidade de energia: 4 J/cm² (3min).</p> <p>- A irradiação foi feita 1x ao dia até o fechamento completo da ferida em 14 dias.</p> <p>- Os tecidos retirados foram processados no 16º dia para análise histopatológica.</p>	<p>Estresse Oxidativo/ Antioxidante</p> <p>Análise da enzima antioxidante Catalase (CAT).</p>	<p>- A CAT estava razoavelmente aumentada logo após a produção da lesão no grupo controle;</p> <p>- O Grupo Experimental (808nm/655nm) apresentou uma cicatrização completa com média de 16 dias vs grupo controle sem irradiação - média de 21 dias;</p> <p>- Ocorreu um aumento bem expressivo na atividade da CAT no grupo experimental (655nm/808nm- 4 J/cm²) vs grupo controle, indicando o aumento da defesa antioxidante.</p>
<p>4) [23] Laser GaAs (Galiumarsenium) de baixa intensidade (LLLT): com potência de 45 mW, 904nm, frequência de 9.500 hz, densidade de energia de 5 J/cm² (35s).</p> <p>- Obs: Os animais dos grupos controle (CO) e trauma (T) não foram submetidos à irradiação;</p> <p>- Grupo L14: Irradiado com o Laser 1x por dia por 14 dias;</p> <p>- Grupo L21: Irradiado com o Laser 1x por dia durante 21 dias.</p> <p>- Foi realizado um corte excisional no tendão de Aquiles de todos os animais para análise.</p> <p>* Não consta o nome da marca do equipamento de laser.</p>	<p>Análise das enzimas antioxidantes Catalase (CAT) e Superóxido Dismutase (SOD);</p>	<p>- A atividade da CAT aumentou após a lesão no grupo trauma (com lesão/sem irradiação) vs grupo controle (sem lesão e sem irradiação);</p> <p>- Grupo L14 e Grupo L21 (laser GaAs 904nm) aumentaram a cicatrização significativamente em ambos os dias;</p> <p>- A atividade da SOD aumentou na irradiação do laser Ga-As no 14º dia e no 21º dia, elevando a defesa antioxidante.</p>

Tipo de Laser/Intervenção	Marcadores	Resultados
<p>5) [24] Laser GaAs (Galiumarsenium) de baixa intensidade (LLLT): com potência de 70W, 904 nm, frequência 9.500 Hz, densidade de energia: 3 J/cm² (9s) (Ibramed);</p> <p>-Laser AlGaInP (Aluminum Gallium Indium Phosphide) com potência de 30mW, 660 nm, 9.500hz, densidade de energia de 10 J/cm² (20s) (Ibramed);</p> <p>-LED (Light-Emitting Diode) vermelho: com potência de 14 mW/cm², 632 nm, frequência 80 Hz, radiação efetiva de 160 cm², 402 pontos emissores (10min);</p> <p>-LED Infravermelho: com potência de 33 mW/cm², 850 nm, frequência 80 Hz, radiação efetiva de 160 cm², 402 pontos emissores (10min).</p> <p>- A irradiação foi realizada em 5 regiões distintas ao redor da ferida, em 7 sessões, 1x por dia e 24 h após a indução da queimadura.</p> <p>- Foram removidos partes de tecido das feridas para análise. *Não consta a marca dos equipamentos de LED.</p>	<p>Estresse Oxidativo/ Antioxidante</p> <p>Análise do oxidante Ânion Superóxido (O₂⁻), das enzimas antioxidantes Catalase (CAT) e Glutaciona Peroxidase (GPx).</p>	<p>- Após a lesão, o grupo com queimadura (BW) sem irradiação evidenciou um aumento considerável do ânion superóxido, CAT e GPx vs grupo sem lesão;</p> <p>-Ocorreu uma melhoria significativa na cicatrização de feridas em animais irradiados com LLLT AlGaInP de 660 nm e LED Infravermelho de 850 nm vs grupo com queimadura (BW) sem irradiação;</p> <p>- Após aplicação do laser AlGaInP de 660 nm, foi observado um aumento significativo nos níveis de GPx e CAT vs grupo com queimadura;</p> <p>- O LED Infravermelho de 850 nm e o laser AlGaInP de 660nm reduziram o ânion superóxido intensamente, reduzindo assim o dano oxidativo.</p>
<p>6) [25] Laser GaAs (Galiumarsenium) de baixa intensidade (LLLT) NIR: com potência de 40 mW/cm², 810 nm, 10 e 100 hz, densidade de energia: 22,6 J/cm² (10min).</p> <p>- Aplicação do laser: durante 7 dias consecutivos após a lesão.</p> <p>-Fragmentos de tecido das feridas foram removidos cirurgicamente para análise.</p>	<p>Análise do Citocromo C como marcador na apoptose celular.</p>	<p>- O citocromo c teve aumento significativo logo após a lesão no grupo controle (sem irradiação);</p> <p>- O laser GaAs de 810nm melhorou (nos 3 grupos irradiados) o processo de reparo de feridas cutâneas dos ratos;</p> <p>- O laser GaAs de 810 nm reduziu (nos 3 grupos irradiados) a apoptose celular diminuindo consideravelmente a citocromo c conferindo citoproteção na cicatrização das feridas.</p>

Tabela 3: Tipo de laser utilizados nos estudos, as intervenções realizadas, qual marcador antioxidante e de estresse oxidativo foi avaliado e os resultados.

Como podemos verificar na tabela 2, dos 6 artigos selecionados apenas um, ou seja, 16,6% foi publicado no ano de 2005, 49,8% em 2011, 2013 e 2016 e 33,2% no ano de 2019 e 2021. Em relação ao país de cada estudo, 66,4 % foram realizados no Brasil e apenas 33,2% efetuados na Índia, porém mesmo com esse dado, 100% dos artigos foram publicados na língua inglesa.

Dentre os 6 estudos analisados, 5 deles (83,4%) utilizaram ratos da raça Wistar em seus experimentos, e apenas 1 deles (16,6%) usou a raça Sprague-Dawley. Em relação ao sexo dos animais, 83,4% optaram por trabalhar com o sexo masculino do animal e apenas 16,6% optou por trabalhar com o sexo feminino do animal. Deste modo, nenhum estudo utilizou camundongos em suas pesquisas. Todos os experimentos dos artigos realizaram lesões cutâneas nos animais para suas análises, apenas 2 estudos (33,2%) utilizaram também grupos de ratos sem lesão cutânea para análise e comparação. Dos 6 tipos de lesões cutâneas produzidas, 4 delas, ou seja, 66,4% foram feridas excisionais feitas na região dorsal do animal, sendo os cortes de 2mm a 15mm. Em relação as outras 2 lesões, 1 delas (16,6%) realizou uma queimadura com placa de cobre a 100°C, com 10 s de contato na pele. E a outra, foi produzida pela queda de uma carga com uma energia cinética de 0,544 J no tendão de Aquiles do animal.

Apenas o estudo de Karkada et al. [22] (16,6%), utilizou uma amostra menor em relação aos outros estudos, foram somente 18 animais selecionados para a sua pesquisa. Cerca de 49,8% dos artigos manipulou uma média de 27 animais, e 33,2% dos estudos optou por uma amostra com média de 49 animais. Todos os estudos utilizaram na sua metodologia um grupo controle com lesão cutânea (sem irradiação) para comparação com um grupo experimental. Conforme a tabela 3, o tipo de laser mais utilizado foi o laser GaAs (Galiumarsenium) de baixa intensidade (LLLT), estando em 83% dos artigos. Outros equipamentos também foram utilizados, como o laser HeNe (Helium Neon), Tech laser SS 100, laser AlGaInP (Aluminum Gallium Indium Phosphide), LED (Light-Emitting Diode) e LED Infravermelho. A aplicação do laser GaAs (Galiumarsenium) teve um protocolo específico similar em praticamente 50% dos artigos, com média de potência de 70w, frequência predominante de 9.500 Hz, com 904 nanômetros (nm) de comprimento de onda, densidade de energia com média de 3 J/cm² com média de 14 segundos de irradiação, sendo a maioria realizado entre 7 a 14 sessões, durante uma média de 11 dias de irradiação.

As enzimas antioxidantes avaliadas nos estudos foram a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e a Glutathione Peroxidase (GPx). Dentre os 6 artigos, 5 deles (83,4%), analisaram a CAT como marcador antioxidante. Dos dois artigos remanescentes, 1 avaliou o citocromo c como marcador de apoptose celular e o outro, além de avaliar CAT e GPx incluiu ânion superóxido como marcador do estresse oxidativo. Podemos verificar nos resultados que apenas as lesões já produziram um aumento do estresse oxidativo e das defesas antioxidantes nos tecidos. A atividade da enzima CAT foi consideravelmente elevada nos grupos com lesão (sem irradiação) em 5 estudos, ou seja em 83,4% das pesquisas. As enzimas SOD e GPx mostraram-se expressivamente elevadas após a produção da lesão em apenas um estudo (16,6%). O marcador de estresse oxidativo ânion superóxido avaliado em um estudo, apresentou uma elevação claramente impactante após a lesão no grupo controle (sem

irradiação), do mesmo modo observamos a proteína citocromo c, também aumentada em outro estudo indicando uma possível ativação da apoptose celular.

Todos os estudos obtiveram excelentes resultados na cicatrização da lesão independente do protocolo de laser utilizado. Em relação ao aumento de cicatrização, o laser que apresentou mais resultados nos protocolos foi o laser GaAs (Galiumarsenium) de baixa intensidade, destacando-se em 4 dos 6 artigos analisados. Todos os estudos apresentaram resultados significativos na modulação do estresse oxidativo, reduzindo marcadores oxidantes e ativador de apoptose, e principalmente aumentando a defesa antioxidante. Em 4 estudos, após a irradiação do laser, ocorreu o aumento da defesa antioxidante por meio da elevação das enzimas SOD, GPx e principalmente a CAT em 66,4% dos estudos. Na pesquisa de Silveira et al. [24], o ânion superóxido foi severamente reduzido em seu protocolo de irradiação indicando uma diminuição significativa do estresse oxidativo do tecido. O experimento de Keshri et al. [25], demonstrou resultados consideráveis no seu protocolo de irradiação de laser na redução da proteína citocromo c, diminuindo expressivamente a apoptose celular do tecido. Observando os protocolos de irradiação do laser, não encontramos um que tenha sido predominante nos resultados da cicatrização e modulação do estresse oxidativo ou defesa antioxidante.

Discussão

O presente estudo teve por objetivo, realizar uma revisão sistemática dos estudos que relacionem a laserterapia com a modulação das alterações biomoleculares relacionadas ao estresse oxidativo durante o processo de cicatrização de lesões cutâneas. Nesta revisão, foi possível identificar 6 artigos científicos originais que realizaram ensaios clínicos a partir de modelos de ratos com diversos tipos de laser, todos evidenciaram resultados muito relevantes na redução do estresse oxidativo, tanto pela elevação de enzimas antioxidantes, como na diminuição de marcadores oxidantes/apoptóticos durante a cicatrização cutânea.

Inicialmente, analisamos se as lesões cutâneas promoveram um aumento do estresse oxidativo, como também possíveis alterações na funcionalidade mitocondrial da pele. Podemos verificar nos resultados, que as lesões de fato produziram um aumento do estresse oxidativo no momento em que foram produzidas, em alguns estudos tivemos o aumento apenas de marcadores oxidantes/apoptóticos, diferentemente de terceiros, ocorrendo apenas a elevação dos agentes antioxidantes.

Sabemos que o processo de cicatrização, a fim de reparar o tecido lesionado, libera diversas reações celulares e bioquímicas, onde também se sucede uma ampla proliferação celular juntamente com a inflamação, nesse momento, RL/EROS são produzidos inicialmente para atenuar o reparo tecidual. Contudo, se a formação de ambos for em excesso, ocorre-se o estresse oxidativo cicatricial [26]. Tal excesso, foi visualizado nesta pesquisa no estudo de Silveira et al. [24], onde o RL ânion superóxido sofreu um aumento demasiado após ter sido realizada uma lesão de queimadura nos seus modelos animais. Estudos comprovam essa elevação nos marcadores oxidativos, destacando que

durante e após realizar a lesão cutânea nos modelos animais, ocorreu um aumento nos marcadores de EROS, como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxil [27-29, 15].

Ainda nesta ideia, a pesquisa de Keshri et al. [25] desta revisão, nos mostrou que após ser realizado uma excisão de 15mm nos seus modelos de ratos, a proteína citocromo c imediatamente teve um aumento significativo. Com essa elevação, podemos aferir que ocorreu de fato uma disfunção na mitocôndria com efeito oxidativo, visto que o dano da mesma implica no extravasamento da citocromo c, que por sua vez aciona a apoptose celular. A literatura vai de encontro com esses achados, onde o estudo de Ozyurt et al. [30], aborda que após a lesão inicial, o estresse oxidativo é aumentado devido a inúmeras fontes potenciais de geração de RL dentro do tecido traumatizado. E Silveira et al. [31], no qual defende que muitos estudos têm demonstrado um aumento nas EROS(RL) e marcadores de danos oxidativos após a lesão tecidual.

Além de marcadores do estresse oxidativo se apresentarem elevados após a lesão tecidual nesta revisão, os marcadores antioxidantes também demonstraram um aumento. As enzimas antioxidantes CAT, SOD e GPx mostraram-se consideravelmente elevadas após a produção da lesão. O estudo de Tie et al. [32], consente esse resultado, pois constata que tem sido observado um aumento temporário no nível de oxidantes e antioxidantes nas feridas agudas, e por fim reforça a ação das enzimas antioxidantes, que irão atuar na desintoxicação gradual dos oxidantes no intuito de obter um retorno progressivo das células ao estado de homeostase (equilíbrio).

Secundariamente, esta revisão também objetivou verificar se a laserterapia teria a capacidade de modular o aumento do estresse oxidativo cicatricial, como também saber se poderia alterar as atividades da mitocôndria. Os resultados dos efeitos da laserterapia desta revisão, demonstram vários dados indicando a diminuição do estresse oxidativo por duas maneiras: reduzindo marcadores oxidativos/apoptóticos e aumentando marcadores antioxidantes. Não encontramos resultados que mencionem se a laserterapia atua de fato na atividade mitocondrial da pele. Apesar de vários estudos defenderem esta ideia, como Karu [33], na qual declara que a laserterapia age de forma parcial nos parâmetros do dano oxidativo podendo minimizá-los, pois aumenta significativamente a produção de ATP no tecido lesionado. Além de outros estudos, os quais demonstram que a fase inflamatória da lesão é acelerada por TLBI devido a um aumento na produção de ATP mitocondrial [34,35]. Diante disso, torna-se necessário o aprofundamento de estudos experimentais que avaliem se de fato a TLBI possui a capacidade de produzir ações focadas diretamente na atividade mitocondrial.

Conforme mencionado acima, nesta revisão, a TBLI mostrou desfechos significativos minimizando a oxidação cicatricial, onde foi possível observar uma diminuição intensa do RL ânion superóxido juntamente com a redução da proteína citocromo c, esses resultados são de extrema relevância, uma vez que indicam a tão desejada regressão do estresse oxidativo. Da mesma forma, outros estudos relataram que a TBLI reduziu o estresse oxidativo durante a cicatrização de feridas diabéticas e na lesão muscular [36,37]. Servetto et al. [38], destaca a seguinte evidência em seu estudo, que a TBLI diminuiu a peroxidação lipídica, reduzindo a atividade de células inflamatórias ocorrendo um sucessivo declínio da produção de EROS/RL. O LED, assim como a laserterapia, também foi eficaz na diminuição de RL durante a fase aguda na lesão muscular e nas lesões epiteliais, os autores

demonstraram que a irradiação infravermelha minimizou a taxa dos oxidantes ânion superóxido (O₂⁻) e óxido nítrico (NO), levando assim à redução do estresse oxidativo [34, 39, 40].

Conforme Takeyama et al. [41], é sabido que o estresse oxidativo provoca danos na membrana mitocondrial, que conseqüentemente libera a citocromo c no citosol, ativando deste modo, a apoptose celular. A redução significativa da proteína citocromo c no estudo de Keshri et al. [25], avaliada nesta revisão, demonstra que o laser produziu uma ação anti-apoptótica, impedindo a morte celular. Este resultado está alinhado com o estudo de Salehpour et al. [42], o qual relata que o laser (810 nm) produziu um efeito anti-apoptótico através da redução da enzima caspase subsequente da diminuição da citocromo c.

No presente estudo, verificamos que a laserterapia além de reduzir alguns parâmetros do estresse oxidativo, aumentou a defesa antioxidante em larga escala. As enzimas antioxidantes SOD, GPx e CAT elevaram-se a ponto de produzir uma ação protetora, conferindo assim um equilíbrio celular e uma diminuição do estresse oxidativo claramente expressiva. Musstaf et al. [43], consente o resultado acima afirmando em seu estudo, que a TBLI pôde mediar a sinalização celular e estimular agentes antioxidantes para anular o efeito de EROS. Outros autores ainda confirmam que o laser induziu, de fato, os níveis de SOD, diminuindo a oxidação do tecido [44,45]. A CAT foi uma das enzimas mais avaliadas nesta revisão, e conferiu resultados muito positivos na redução do estresse oxidativo, isto vai de encontro com dois autores. Servetto et al. [38], verificou um aumento considerável da atividade da enzima CAT no tecido lesionado após o uso da TBLI, juntamente com Yadav et al. [46], que em seu recente experimento, observaram que as atividades de CAT, GPx e SOD aumentaram significativamente entre 81% e 45% após a irradiação do laser (904nm). Eles ainda afirmam, que esse aumento da defesa antioxidante contra o estresse oxidativo, durante a cicatrização das queimaduras, só foi efetivo devido à ação potente e moduladora do laser.

Concluindo a análise do nosso objetivo final, ao observarmos os protocolos de irradiação do laser, não encontramos um que tenha sido predominante nos resultados da cicatrização, modulação do estresse oxidativo ou defesa antioxidante, da mesma forma na literatura, na qual verificamos uma escassez de estudos voltados na avaliação deste quesito, fato esse, que remete a necessidade de mais experimentos priorizando um protocolo pré-estabelecido, que possa vir a ser padronizado para a potencialização dos resultados. Recorre-se ainda, a necessidade de estudos focados na elucidação dos mecanismos pelos quais ocorre a ação terapêutica da TLBI, especialmente sobre a funcionalidade mitocondrial.

Nosso estudo apresenta algumas limitações: 1) o pequeno número de estudos incluídos na revisão sistemática, em razão de termos encontrado poucos estudos experimentais da relação lasers, cicatrização e estresse oxidativo; 2) Os estudos selecionados demonstram resultados promissores no processo da cicatrização cutânea e na redução do estresse oxidativo, porém não descrevem com clareza a explicação da real ação dos mecanismos do laser, principalmente na atividade mitocondrial; 3) Não encontramos nos estudos selecionados um protocolo específico de laser que assegure os melhores efeitos na redução do estresse oxidativo.

Infelizmente vários fatores da cicatrização cutânea estão sujeitos a oxidação. Sendo assim, obter um entendimento completo da ação dos EROS/RL e antioxidantes, torna-se de extrema relevância, uma vez que os RL podem ser tanto benéficos como maléficos. A compreensão em ter o laser como potente adjunto na redução do estresse oxidativo, agindo no equilíbrio oxidante/antioxidante, atenuando agravos cicatriciais e até prevenindo fibroses, é de grande valia já que pode impactar em novas estratégias antioxidantes para o tratamento de lesões e otimização da cicatrização cutânea. Diante disso, a necessidade em desenvolver mais estudos da relação: lasers, cicatrização e estresse oxidativo é de grande pertinência em razão de encontrarmos um número ainda reduzido de evidências científicas.

Conclusão

Apesar dos resultados encontrados serem preliminares, concluímos que as diversas lesões produzidas nos experimentos aqui analisados, produziram um aumento do estresse oxidativo elevando tanto enzimas antioxidantes, como radicais livres. A TBLI se apresenta uma técnica com resultados promissores na melhora e aceleração do processo de cicatrização cutâneas, bem como na regulação das reações bioquímicas relacionadas ao estresse oxidativo das áreas tratadas. Apesar disso, não fica clara a explicação dos mecanismos desses efeitos, nos revelando a real necessidade de mais estudos, principalmente com foco nas análises mitocondriais.

REFERÊNCIAS

1. Leyane TS, Jere SW, Houreld NN (2021) Cellular Signalling and Photobiomodulation in Chronic Wound Repair. *J. Mol. Sci.* 22, 11223. <https://doi.org/10.3390/ijms222011223>
2. Bavaresco T, Lucena AF (2022) Terapia a laser de baixa potência na cicatrização de úlcera venosa: ensaio clínico randomizado. *Rev. Bras. Enferm.* 75 (3). <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2021-0396>
3. Chung H, Dai T, Sharma SK., Huang YY, Carroll JD, Hamblin MR (2012) The nuts and bolts of low-level laser(light) therapy. *Annals of biomedical engineering* 40(2), 516–533. <https://doi.org/10.1007/s10439-011-0454-7>
4. Freitas KAB, Minicucci EM, Lima TO, Silva KAB, Menozzi BD, Silva VFB, Popim RC (2021) 198211 Efeitos da fotobiomodulação (laser de baixa intensidade) na cicatrização de feridas: revisão integrativa. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 11. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11>
5. Freitas LF, Hamblin MR (2016) Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. *IEEE journal of selected topics in quantum electronics*, 22 (3) 358-364. <http://dx.doi.org/10.1109/JSTQE.2016.2561201>
6. Nascimento DG, Fernandes CAM, Sartoretto JL, Bruschi LC, Cuman RKN et al (2006) Efeitos da cicatrização com laser HeNe 632.8 nm sobre a cicatrização de feridas em ratos. *Cienc Cuid Saúde.* 5:229-35. <https://doi.org/10.4025/ciencuidsaude.v5i2.5081>
7. Farias LG, Catão MHCV (2022) Uso do laser de baixa intensidade e LED no processo de cicatrização de feridas: uma revisão. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 4. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i4.277221>
8. Mathur RK, Sahu K, Saraf S, Patheja P, Khan F, Gupta PK (2017) Low-level laser therapy as an adjunct to conventional therapy in the treatment of diabetic foot ulcers. *J Lasers Med Sci.* 32(2):247-82. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-2019-2>

9. Castro MF, Barbosa LRP, Silva LL (2020) Ação da terapia a laser de baixa intensidade na cicatrização de ulcerações diabéticas. *Research, Society and Development* v. 9, n.10. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.91091>
10. Lima NEP, Gomes GM, Feitosa ANA, Bezerra ALD, Sousa MNA (2018) Laser therapy low intensity in wound care and practice nurses. *Rev enferm UFPI*. 7(1),50-56. <https://doi.org/10.26694/2238-7234.7150-56>
11. Liochev SI (2013) Reactive oxygen species and the free radicals theory of aging. *Free Radic Biol Med* 60:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011>
12. Jomova K, Valko M (2011) Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 283(2-3):65-87. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>
13. Green DR, Kroemer G (2004) The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 305:626-29. <https://doi.org/10.1126/science.1099320>
14. Prasad AS, Beck FWJ, Bao B, Fitzgerald JT, Snell DC, Steinberg JD, et al (2007) Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. *Am J Clin Nutr* 85(3): 837-44. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.3.837>
15. Halliwell B, Gutteridge JMC (2006) *Free Radicals in Biology and Medicine*, Ed 4. Clarendon Press, Oxford
16. Wager FA, Carels CE, Lundvig DM (2013) Targeting the redox balance in inflammatory skin conditions. *International Journal Molecular Science* v.14, n.5, p.9126-9167. <https://doi.org/10.3390/ijms14059126>
17. Hennessy M, Hamblin MR (2016) Photobiomodulation and the brain: a new paradigm. *Journal of Optics*, v. 19, n. 1, p. 013003.
18. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD et al (2021) The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *PLoS Med* 18(3):e1003583. PMID: 33780438. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
19. Morton NA, (2009) The PEDro scale is a valid measure of the methodological quality of clinical trials: a demographic study. *Aust J Physiother* 55(2):129-33. [https://doi.org/10.1016/S0004-9514\(09\)70043-1](https://doi.org/10.1016/S0004-9514(09)70043-1)
20. Silveira PCL, Silva LA, Freitas TP, Latini A, Pinho RA (2011) Effects of low-power laser irradiation (LPLI) at different wavelengths and doses on oxidative stress and fibrogenesis parameters in an animal model of wound healing. *Lasers Med Sci* 26: 125–131. <https://doi.org/10.1007/s10103-010-0839-0>
21. Gonçalves RV, Novaes RD, Cupertino MC, Moraes B, Leite JPV, Gouveia PMC et al (2013) Time-dependent effects of lowlevel laser therapy on the morphology and oxidative response in the skin wound healing in rats. *Lasers Med Sci* 28: 383–390. <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1066-7>
22. Karkada G, Maiya GA, Arany P et al (2021) Effect of Photobiomodulation Therapy on Oxidative Stress Markers on Healing Dynamics of Diabetic Neuropathic Wounds in Wistar Rats. *Cell Biochem Biophys* 80, 151–160. <https://doi.org/10.1007/s12013-021-01021-9>
23. Fillipin LI, Mauriz JL, Vedovelli K, Moreira AJ, Zettler CG, Lech O, Marroni NP, González-Gallego J (2005) Low-level laser Lasers Med Sci 28:383–390 389 therapy (LLLT) prevents oxidative stress and reduces fibrosis in rat traumatized Achilles tendon. *Lasers Surg Med* 37:293–300. <https://doi.org/10.1002/lsm.20225>
24. Silveira PCL, Ferreira KB, da Rocha FR, Pieri BLS, Pedroso GS, De Souza CT et al (2016) Efeito do Laser de Baixa Potência (LPL) e do Diodo Emissor de Luz (LED) na Resposta Inflamatória na Cicatrização de Feridas por Queimadura. *Inflamação* 39 (4), 1395-1404. <https://doi.org/10.1007/s10753-016-0371-x>
25. Keshri GK, Yadav A, Verma S, Kumar B, Gupta A (2019) Effects of 810 nm pulsed Al-Ga-As diode laser on wound healing under immunosuppression: a molecular view. *Lasers in Surgery and medicine* 52 (5), 424–436. <https://doi.org/10.1002/lsm.23156>
26. Moraes VF, Pereira EAS, Gaia VSC, Campos JS (2021) Avaliação do estresse oxidativo após aplicação da microcorrente e da andiroba em feridas cutâneas em ratos. *Revista CPAQ Centro de Pesquisas Avançadas em Qualidade de Vida* Vol.13 Nº.2 p. 2. <https://doi.org/10.36692/v13n3-11>
27. Pattwell DM, Jackson MJ (2004) Contraction-induced oxidants as mediators of adaptation and damage in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* 32:14–18. <https://doi.org/10.1097/00003677-200401000-00004>
28. Grabow N, Schlun M, Sternberg K, Hakansson N, Kramer S, Schmitz KP (2005) Mechanical properties of laser cut poly(L-lactide) micro-specimens: implications for stent design,

- manufacture, and sterilization. *J Biomech Eng* Feb;127(1):25-31. <https://doi.org/10.1115/1.1835349>
29. Zhao K, Zhao G, Wu Z (2004) Cell-permeable Peptide Antioxidants Targeted to Inner Mitochondrial Membrane inhibit Mitochondrial Swelling, Oxidative Cell Death, and Reperfusion Injury. *Journal of Biological Chemistry* v.279, p.34682–34690. <https://doi.org/10.1074/jbc.M402999200>
 30. Ozyurt B, Iraz M, Koca K (2006) Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. v.29, p.197-203. <https://doi.org/10.1007/s11010-006-9232-5>
 31. Silveira PCL, Silva LA, Tuon T, Freitas TP, Streck EL, Pinho RA (2009) Effects of low-level laser therapy on epidermal oxidative response induced by wound healing. *Braz J Phys Ther* 13:281–287.
 32. Tie LU, Li XJ, Wang X, Channon KM, Chen AF (2009) Endothelium-specific GTP cyclohydrolase I overexpression accelerates refractory wound healing by suppressing oxidative stress in diabetes. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolic* v. 296, n.6, p.1423-9. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00150.2009>
 33. Karu T (1989) Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. *Physical health*, v 56, n. 5, p. 691-704. <https://doi.org/10.1097/00004032-198905000-00015>
 34. Silveira PCL, Silva LA, Pinho CA, Souza PS, Ronsani MM, Scheffer DL et al (2013) Effects of low-level laser therapy (GaAs) in an animal model of muscular damage induced by trauma. *Lasers Med Sci* 28: 431–436. <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1075-6>
 35. Huang YY, Nagata K, Tedford CE, McCarthy T, Hamblin MR (2012) Terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) reduz o estresse oxidativo em neurônios corticais primários in vitro. *J. Biophotonics* 1–10. <https://doi.org/10.1002/jbio.201200157>
 36. Tatmatsu-Rocha JC, Ferraresi C, Hamblin MR, et al (2016) Low- level laser therapy (904nm) can increase collagen and reduce oxidative and nitrosative stress in diabetic wounded mouse skin. *J Photochem Photobiol B* 2016;164:96–102. 45. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.09.017>
 37. Silva AAO, Leal-Junior ECP, D'Avila KAL, et al (2015) Pre-exercise low-level laser therapy improves performance and levels of oxidative stress markers in mdx mice subjected to muscle fatigue by high-intensity exercise. *Lasers Med* 30(6):1719–1727. <https://doi.org/10.1007/s10103-015-1777-7>
 38. Servetto N, Cremonuzzi D, Simes JC, Moya M, Soriano F, Palma JA, Campana VR (2010) Evaluation of inflammatory biomarkers associated with oxidative stress and histological assessment of low-level laser therapy in experimental myopathy. *Lasers Surg Med* 42:577–583. <https://doi.org/10.1002/lsm.20910>
 39. Rizzi CF, Mauriz JL, Corrêa DSF, Moreira AJ, Zettler CG, Filippin LI et al (2006) Effects of low-level laser therapy (LPLT) on the nuclear factor (NF)-κB signaling pathway in traumatized muscle. *Lasers Surg Med* 38: 704–713. <https://doi.org/10.1002/lsm.20371>
 40. Lim W, Kim JH, Gook E, Kim J, Ko Y, Kim I et al (2009) Inhibition of mitochondria-dependent apoptosis by 635-nm irradiation in sodium nitroprusside-treated SH-SY5Y cells. *Free Radic Biol Med* 47: 850–857. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.06.023>
 41. Takeyama N, Miki S, Hirakawa A, Tanaka T (2002) Role of the mitochondrial permeability transition and cytochrome C release in hydrogen peroxide-induced apoptosis. *Exp Cell Res* 274(1):16–24. <https://doi.org/10.1006/excr.2001.5447>.
 42. Salehpour F, Farajdokht F, Cassano P et al (2019) Near-infrared photobiomodulation combined with coenzyme Q10 for depression in a mouse model of restraint stress: Reduction in oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis. *Brain Res Bull* 2019;144(1):213–222. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.10.010>
 43. Musstaf RA, Jenkins DF e Jha AN (2019). Avaliando o impacto da terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) em sistemas biológicos: uma revisão. *Jornal internacional de biologia da radiação* 95 (2), 120–143. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1524944>
 44. Karu TI (2000) Mechanisms of low-power laser light action on cellular level. In: Simunovic Z, editor. *Lasers in medicine and dentistry*. Rijeka: Vitgraph pp 97–125
 45. Kim YG, Pak SC, Lee SR (2000) Hairless mouse epidermal antioxidants and lipid peroxidation assessed by He-Ne laser. *Lasers Surg Med* 27:420–426. [https://doi.org/10.1002/1096-9101\(2000\)27:5<420::AID-LSM1003>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/1096-9101(2000)27:5<420::AID-LSM1003>3.0.CO;2-K)
 46. Yadav A, Verma A, Keshri GK, Gupta A (2019) Role of 904 nm superpulsed laser-mediated photobiomodulation on nitroxidative stress and redox homeostasis in burn wound healing. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 36:208–218. <https://doi.org/10.1111/phpp.12538>

5. CONCLUSÃO

A presente dissertação proporcionou o aprofundamento de pesquisas sobre a ação da TBLI na cicatrização cutânea e nos parâmetros do estresse oxidativo. Embora os desfechos apresentados ainda serem incipientes, podemos concluir que a lesão tecidual provocou o aumento de enzimas antioxidantes, como também o aumento do estresse oxidativo pela elevação de radicais livres. A TBLI se apresenta efetiva na cicatrização cutânea, bem como na modulação do aumento do estresse oxidativo cicatricial agindo no equilíbrio celular antioxidante/oxidante. No entanto, é notória a necessidade de mais estudos para elucidar os mecanismos desses efeitos, principalmente nas análises mitocondriais.

REFERÊNCIAS

- AGNE, J. E. **Eletrotermofototerapia**. 2.ed., Santa Maria, RS, 2015.
- BARACHO, C.P; FERREIRA, J.B. Utilização do Laser Terapêutico na Cicatrização de Feridas Cutâneas: Uma Revisão Integrativa. **Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v.14, n.53, p. 732-738, 2020.
- BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BAVARESCO, T.; OSMARIN, V.M; PIRES, A.U.B; MORAES, V.M; LUCENA, A.F. Terapia a laser de baixa potência na cicatrização de feridas. **Revista de Enfermagem UFPE On Line**, Recife, v. 1, n. 13, p.216-226, 2019.
- BEHEREGARAY, W.K.; GIANOTTI, G.C.; OLIVEIRA, F.; TERRACIANO, P.; BIANCHI, S.; VIDOR, S.; MARCOLAN, C.F.; CONTESINI, E.A.; CIRNE-LIMA, E.O. Células-tronco mesenquimais aplicadas nas fases inflamatória e proliferativa da cicatrização de feridas cutâneas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 6, p. 1591-1600, 2017.
- BONUCCI, J.; GRAGNANI, A., TRINCADO, M.M.; VINCENTIN, V.; CORREA, S.A.A.; FERREIRA, L.M. O papel da vitamina C na expressão gênica de marcadores de estresse oxidativo em fibroblastos de pacientes queimados. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 33, n. 8, p. 703-712, 2018.
- BORGES, F.S.; SCORZA, F. A. **Terapêutica em Estética: Conceitos e Técnicas**. São Paulo: Phorte, 2016.
- BRASSOLATTI, P.; ANDRADE, A.L.M.; BOSSINI, P.S; OTTERÇO, A.N; PARIZOTTO, N.A. Evaluation of the low-level laser therapy application parameters for skin burn treatment in experimental model: a systematic review. **Lasers in Medical Science**, v .33, p. 1159-1169, 2018.
- BRYAN, N.; AHSWIN, H.; SMART, N.; BAYON, Y.; WOHLERT, S.; HUNT, J.A. Reactive oxygen species (ROS)-a family of fate deciding molecules pivotal in constructive inflammation and wound healing. **European Cells and Materials**, v. 24, n. 24, p. 249-65, 2012.
- CARVALHO, P.T.C.; MAZZER, N.; REIS, F.A.; BELCHIOR, A.C.G.; SILVA, I.S. Análise da influência do laser HeNe de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas em ratos diabéticos e não diabéticos. **Revista Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, n.3, p. 177-183, 2006.

CHOI, K.J; WILLIAMS, E.A; PHAM, C,H; COLLIER, Z.J, DANG, J.; YENIKOMSHIAN, H.A; GILLENWATER, T.J. Fractional CO₂ laser treatment for burn scar improvement: A systematic review and meta-analysis. **Journal of the International Society for Burns Injuries**, v. 47, n.2, p. 259-269, 2021.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H. R. N. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 3, p. 113-118. 2007.

COVRE, E.R.; MELO, W.A; TOSTES, M.F.P; FERNANDES, C.A.M. Tendência de internações e mortalidade por causas cirúrgicas no Brasil, 2008 a 2016. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, Rio de Janeiro, v.46 n.1, 2019.

DEPHILLIPO, N.N.; AMAN, Z.S.; KENNEDY, M.I.; BEGLEY, J.P.; MOATSHE, G.; LAPRADE, R.F. Efficacy of Vitamin C Supplementation on Collagen Synthesis and Oxidative Stress After Musculoskeletal Injuries: A Systematic Review. **Orthopaedic Journal of Sports Medicine**, v.6, n.10, 2018.

EELLS, J.T.; WONG-RILEY, M.T.; VERHOEVE, J.; HENRY, M.; BUCHMAN, E.V; KANE, M.P. Mitochondrial signal transduction in accelerated wound and retinal healing by near-infrared light therapy. **Mitochondrion**, v 4, n.5-6, p. 559-67, 2004.

GREEN, D.R.; KROEMER, G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. **Science**, v. 305, p. 626-29, 2004.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M.H.G.; COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 206-213, 2007.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, p. 257-65, 2012.

HENNESSY, M.; HAMBLIN, M. R. Photobiomodulation and the brain: a new paradigm. **Journal of Optics**, v. 19, n. 1, p. 013003, 2016.

INOE, A.P.; ZAFANELLI, C.C.G.; ROSSATO, R.M.; LEME, M.C.; SANCHES, A.W.D.; ARAÚJO, C.V; ARAÚJO, S.I. Avaliação morfológica do efeito do laser de baixa potência He-Ne em feridas cutâneas de coelhos. **Revista Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia- UNIPAR**, v. 11, n.1, p. 27-30, 2008.

JESUS, P.A.P; NASCIMENTO K.F; MARTINS, A.C.A; SILVA, N.M.P; AZEVEDO, M.V.G.T. Utilização do laser na cicatrização do pé diabético. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 16, n. 45., p. 311-318, 2019.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology**, v. 283(2-3), p. 65-87, 2011.

KARMISHOLT, K.E; HAERSKJOLD, A.; KARLSMARK, T.; WAIBEL, J., PAASCH, U.; HAEDERSDAL, M. Early laser intervention to reduce scar formation - a systematic review. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.32 n. 7, p.1099-1110, 2018.

KARU, T. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. *Physical health*, v 56, n. 5, p. 691-704, 1989.

KREISLER, M.; CHRISTOFFERS, A.B.; WILLERSHAUSEN, B., D'HOEDT, B. Low-level 809nm GaAIs laser irradiation increases the proliferation rate of human laryngeal carcinoma cells in vitro. **Lasers in Medical Science**, v.18, n. 2, p. 100-3, 2003.

LEAL, C.T.; BEZERRA, A.L.; LEMOS, A. A efetividade do laser de HeNe 632,8 nm no reestabelecimento da integridade dos tecidos cutâneos em animais experimentais: revisão sistemática. **Fisioterapia e Pesquisa**, São Paulo, v.19, p. 290-296, n.3, 2012.

LINDE, K.; WILLICH, S.N. How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.96, p.17-22, 2003.

LIOCHEV, S.I. Reactive oxygen species and the free radicals theory of aging. **Free Radical Biology and medicine**, v. 60, p. 1-4, 2013.

LOPES, J.C.; PEREIRA, L.P.; BACELAR, I.A. Laser de Baixa Potência na Estética- Revisão de Literatura. **Revista Saúde em Foco**, Minas Gerais, n.10, p.429-437, 2018.

LOW, J., REED, A. **Tratamento com radiações eletromagnéticas**. Eletroterapia explicada: princípios e prática. 3 ed. São Paulo: Editora Manole, p.385-98, 2001.

MEDEIROS, A.C.; DANTAS-FILHO, A.M. Cicatrização das feridas cirúrgicas. **Journal Of Surgical And Clinical Research**, v. 7, n. 2, p. 87-102, 2016.

MEYER, P.F.; ARAÚJO, H.G.; CARVALHO, M.G.F.; TATUM, B.I.S.; FERNANDES, I.C.A.G.; RONZIO, A.O.; PINTO, M.V.M. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. **Revista Fisioterapia Brasil**, v.11, n. 6, p. 428-32, 2010.

MILEVA, M.; BAKALOVA, R.; ZLATEVA, G. Low-intensity laser irradiation does not affect the oxidative stress in experimental cataract. **Medical Laser Application**, v.19, n.3, p. 150-154, 2004.

MORTON, N.A. The PEDro scale is a valid measure of the methodological quality of clinical trials: a demographic study. **Australian Journal of Physiotherapy**, v. 55(2), p. 129-33, 2009.

NASCIMENTO, D.G.; MOLENA-FERNANDES, C. A.; SARTORETTO, J. L.; BRUSCHI, L. C.; CUMAN, R. K. N.; Silva, F. P. Efeitos da irradiação com o laser HeNe

632.8nm sobre a cicatrização de feridas em ratos. **Ciência, Cuidado E Saúde**, v. 5(2), p. 229-235, 2008.

OLIVEIRA, A.L.; PEREZ, E; SOUZA, J.B.; VASCONCELOS, M. **Curso Didático Est.**, São Paulo, v. 2, 2 ed, 2014.

PAGE, M.J.; MCKENZIE, J.E.; BOSSUYT, P.M.; BOUTRON, I.; HOFFMANN, T.C.; MULROW, C.D, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. **The BMJ**, 18(3):e1003583. PMID: 33780438, 2021.

PINTO, M.V.M.; SOUZA, R.M; SILVA, C.M; GONÇALVES, R.V; ROCHA, L.L.V. Influência da Laserterapia de 632,8nm na Cicatrização Diabética. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Campos dos Goytacazes, v. 2, n. 6, p.25-29, 2012.

PINTO, N.C.; PEREIRA, H.C.; STOLF, N.A.G, CHAVANTES, M.C. Laser de baixa intensidade em deiscência aguda safenectomia: proposta terapêutica. **Revista Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v.24, n.1, p. 88-91, 2009.

PRASAD, A.S.; BECK, F.W.J.; BAO, B.; FITZGERALD, J.T.; SNELL, D.C.; STEINBERG, J.D, et al. Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85(3), p. 837-44, 2007.

ROCHA, J.C.T. Terapia laser, cicatrização tecidual e angiogênese. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, Ceará, v. 17, n. 1, p. 44-48, 2004.

RODRIGUES, M.F.B.; ROCHA, L.L.A.; BARBOSA, I.M.G.; ACIOLY, R.F.; CARVALHO, D.C.; ROCHA, C.C.L.; GONÇALVES, M.C. Cicatrização deferida cirúrgica tratada com laser de baixa intensidade: relato de caso. **Archives of Health Investigation**, v. 9, n.1, p. 41-43, 2020.

SANTOS, L.P.; CÂNDIDO, R.C.P.G.; SILVA, K.C.C. Recursos Fisioterapêuticos utilizados no Pós-Operatório de Abdominoplastia: Revisão de Literatura. **Amazônia: Science & Health**, v. 1, n .2, p. 44-55, 2013.

SILVA, F.O.C.; MACEDO, D.V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, Florianópolis, v.13 n.4, p. 320–328, 2011.

SILVA, R.C.L. **Feridas: fundamentos e atualizações em enfermagem**. 2. ed. São Caetano do Sul, SP: Ed. Yendis, p.161, 2007.

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 reposta oxidativa epidérmica induzida pela cicatrização de feridas. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos (SC), v.13, n.4, p.281-7, 2009.

SULLINS, K.E. **Lasers and wound healing: practical uses**. Clinical Techniques in Equine Practice, v. 3, n. 2 p.182-7, 2004.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160(1) p.1-40, 2006.

VASCONCELOS, T.B.; CARDOSO, A.R.N.R.; JOSINO, J.B.; MACENA, R.H.M.; BASTOS, V.P.D. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?. **Unopar Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 16, n. 3, p. 213-9, 2014.

ANEXOS

ANEXO A - PRISMA Checklist

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	

	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	

OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	

From: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

For more information, visit: <http://www.prisma-statement.org/>



Lasers em Ciências Médicas

1. Diretrizes de submissão (traduzida)

Instruções para Autores

tipos de papéis

- Artigo Original – limitado a 4000 palavras, 45 referências, não mais que 5 figuras
- Artigo de Revisão – limitado a 5000 palavras, 50 referências, não mais que 5 figuras
- Relatório Breve - limitado a 2000 palavras, 25 referências, não mais que 4 figuras - Relatos de Caso não serão aceitos!
- Carta ao Editor – até 600 palavras

Submissão de manuscrito

Submissão de manuscrito

A submissão de um manuscrito implica: que a obra descrita não tenha sido publicada anteriormente; que não está sendo considerado para publicação em nenhum outro lugar; que sua publicação foi aprovada por todos os coautores, se houver, bem como pelas autoridades responsáveis – tácita ou expressamente – no instituto onde o trabalho foi realizado. A editora não será considerada legalmente responsável caso haja algum pedido de indenização.

Permissões

Os autores que desejam incluir figuras, tabelas ou passagens de texto que já foram publicadas em outro lugar devem obter permissão do(s) proprietário(s) dos direitos autorais para o formato impresso e online e incluir evidências de que tal permissão foi concedida ao enviar seus trabalhos. Qualquer material recebido sem tais evidências será considerado como originário dos autores.

Submissão on-line

Por favor, siga o hiperlink “Enviar manuscrito” e carregue todos os seus arquivos de manuscrito seguindo as instruções dadas na tela.

Arquivos Fonte

Certifique-se de fornecer todos os arquivos de origem editáveis relevantes em cada envio e revisão. Deixar de enviar um conjunto completo de arquivos de origem editáveis fará com que seu artigo não seja considerado para revisão. Para o texto do seu manuscrito, sempre envie em formatos comuns de processamento de texto, como .docx ou LaTeX.

Procedimento Editorial

Revisão por pares duplo-cega

Esta revista segue um procedimento de revisão duplo-cego. Portanto, os autores são convidados a enviar:

Um manuscrito cego sem nenhum nome de autor e afiliações no texto ou na página de título. Citações e referências autoidentificadas no texto do artigo devem ser evitadas. Uma página de título separada, contendo o título, todos os nomes dos autores, afiliações e as informações de contato do autor correspondente. Quaisquer agradecimentos, divulgações ou informações de financiamento também devem ser incluídos nesta página.

Folha de rosto

Folha de rosto

Certifique-se de que sua página de título contém as seguintes informações.

Título

O título deve ser conciso e informativo.

Informação sobre o autor

- O(s) nome(s) do(s) autor(es)
- A(s) afiliação(ões) do(s) autor(es), ou seja, instituição, (departamento), cidade, (estado), país
- Uma indicação clara e um endereço de e-mail ativo do autor correspondente
- Se disponível, o ORCID de 16 dígitos do(s) autor(es)

Se as informações de endereço forem fornecidas com a(s) afiliação(ões), elas também serão publicadas.

Para autores que são (temporariamente) não afiliados, iremos capturar apenas sua cidade e país de residência, não seu endereço de e-mail, a menos que especificamente solicitado.

Modelos de linguagem grandes (LLMs), como ChatGPT, atualmente não atendem aos nossos critérios de autoria. Notavelmente, uma atribuição de autoria traz consigo a responsabilidade pelo trabalho, que não pode ser efetivamente aplicada aos LLMs. O uso de um LLM deve ser devidamente documentado na seção Métodos (e se uma seção Métodos não estiver disponível, em uma parte alternativa adequada) do manuscrito.

Abstrato

Forneça um resumo estruturado de 150 a 250 palavras, que deve ser dividido nas seguintes seções:

- Objetivo
- Métodos
- Resultados
- Conclusão

Palavras-chave

Forneça de 4 a 6 palavras-chave que podem ser usadas para fins de indexação.

Texto

Formatação de texto

Os manuscritos devem ser submetidos em Word.

- Use uma fonte normal e simples (por exemplo, Times Roman tamanho 10) para o texto.
- Use itálico para dar ênfase.
- Use a função de numeração automática de páginas para numerar as páginas.
- Não use funções de campo.
- Use paradas de tabulação ou outros comandos para recuos, não a barra de espaço.
- Use a função de tabela, não planilhas, para fazer tabelas.
- Use o editor de equações ou MathType para equações.
- Salve seu arquivo no formato docx (Word 2007 ou superior) ou no formato doc (versões mais antigas do Word).

Títulos

Use no máximo três níveis de cabeçalhos exibidos.

Abreviaturas

As abreviaturas devem ser definidas na primeira menção e usadas consistentemente depois disso.

Notas de rodapé

As notas de rodapé podem ser usadas para fornecer informações adicionais, que podem incluir a citação de uma referência incluída na lista de referências. Eles não devem consistir apenas em uma citação de referência e nunca devem incluir os detalhes bibliográficos de uma referência. Também não devem conter figuras ou tabelas.

As notas de rodapé do texto são numeradas consecutivamente; aqueles às tabelas devem ser indicados por letras minúsculas sobrescritas (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos). As notas de rodapé do título ou dos autores do artigo não recebem símbolos de referência.

Sempre use notas de rodapé em vez de notas de fim.

Referências

Citação

As citações de referências no texto devem ser identificadas por números entre colchetes. Alguns exemplos:

1. A pesquisa em negociação abrange muitas disciplinas [3].
2. Este resultado foi posteriormente contestado por Becker e Seligman [5].
3. Este efeito tem sido amplamente estudado [1-3, 7].

Lista de referência

A lista de referências deve incluir apenas os trabalhos citados no texto e que tenham sido publicados ou aceitos para publicação. Comunicações pessoais e trabalhos inéditos devem ser mencionados apenas no texto.

As entradas na lista devem ser numeradas consecutivamente.

Se disponível, sempre inclua DOIs como links DOI completos em sua lista de referência (por exemplo, "https://doi.org/abc").

Artigo de jornal

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Efeito do treinamento intermitente de alta intensidade na variabilidade da frequência cardíaca em crianças pré-púberes. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Idealmente, os nomes de todos os autores devem ser fornecidos, mas o uso de "et al" em listas longas de autores também será aceito:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Futuro do seguro saúde. *N Engl J Med* 965:325–329

Artigo por DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Implicações clínicas da produção desregulada de citocinas. *J Mol Med*. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

Livro

South J, Blass B (2001) O futuro da genômica moderna. Blackwell, Londres

Capítulo de livro

Brown B, Aaron M (2001) A política da natureza. In: Smith J (ed) A ascensão da genômica moderna, 3ª ed. Wiley, Nova York, pp 230-257

Documento on-line

Cartwright J (2007) Grandes estrelas também têm clima. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Acessado em 26 de junho de 2007

Dissertação

Trent JW (1975) Insuficiência renal aguda experimental. Dissertação, Universidade da Califórnia

Sempre use a abreviação padrão do nome de um periódico de acordo com a Lista ISSN de Abreviações de Palavras de Título, consulte [ISSN.org LTWA](http://www.issn.org/LTWA)

Se você não tiver certeza, use o título completo do periódico.

Os autores que preparam seus manuscritos em LaTeX podem usar o arquivo de estilo de bibliografia sn-basic.bst que está incluído no [Springer Nature Article Template](#) .

Tabelas

- Todas as tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos.
- As tabelas devem sempre ser citadas no texto em ordem numérica consecutiva.
- Para cada tabela, forneça uma legenda (título) explicando os componentes da tabela.
- Identifique qualquer material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original na forma de uma referência no final da legenda da tabela.
- As notas de rodapé das tabelas devem ser indicadas por letras minúsculas sobrescritas (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos) e incluídas abaixo do corpo da tabela.