

## OZONIOTERAPIA EM QUEIMADURAS INDUZIDAS POR LASER DE CO<sub>2</sub> EM PELE DE RATOS

M. S. Melo\*, L. P. Alves\*, H. C. Carvalho\*, C. J. Lima\*, E. Munin\*, M. G. Vilela-Goulart\*\*, M. F. Gomes\*\*, M. A. C. Salgado\*\*, R. A. Zângaro\*

\*Instituto de Engenharia Biomédica, Universidade Camilo Castelo Branco (IEB/UNICASTELO), São José dos Campos, Brasil

\*\*Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (ICT/UNESP), São José dos Campos, Brasil

e-mail: milene\_melo@yahoo.com.br

**Resumo:** Queimaduras compreendem um importante problema de saúde sendo necessários estudos que aprimorem a terapêutica aplicada bem como a qualidade de vida dos pacientes vítimas desta enfermidade. Este artigo avaliou os efeitos macroscópicos do óleo de girassol ozonizado em queimaduras induzidas por laser de CO<sub>2</sub> em pele de ratos Wistar. A ozonioterapia foi realizada durante 7, 14 e 21 dias. Nossos resultados sugerem melhor cicatrização no grupo que recebeu óleo de girassol ozonizado em relação ao grupo controle.

**Palavras-chave:** queimaduras, laser de CO<sub>2</sub>, ozonioterapia, óleo de girassol ozonizado.

**Abstract:** Burns include a significant health problem being necessary studies in order to improve the therapy as well as life quality of the patients with this injury. This paper evaluated the macroscopic effects of ozonated sunflower oil in burns induced by CO<sub>2</sub> laser in the skin of Wistar rats. Ozonotherapy was performed during 7, 14 and 21 days. Our results suggest better wound healing in the group that received ozonated sunflower oil than control group.

**Key-words:** burns, CO<sub>2</sub> laser, ozonotherapy, ozonated sunflower oil.

### Introdução

As queimaduras são lesões causadas por energia térmica [1] que promovem destruição parcial ou total do tecido cutâneo e seus anexos [2,3] e podem evoluir de forma grave devido a infecções, instabilidade hemodinâmica ou respostas locais e sistêmicas as quais são proporcionais à extensão e profundidade destas lesões [4].

Embora o tratamento dos pacientes queimados seja preconizado e minuciosamente executado pelos centros de referência [5-11] as queimaduras compreendem um problema de saúde significativo [12,13] e alcançam lugar de destaque entre as principais causas de morte registradas, 2,5 mil casos por ano [2], perdendo apenas para outras causas violentas como acidentes de transporte e homicídios [1]. Segundo a Sociedade Brasileira de Queimaduras, ocorrem um milhão de casos a cada ano, sendo que, 200 mil são atendidos em

serviços de emergência e 40 mil demandam hospitalização, o que gera um gasto médio de 25 milhões de reais ao ano por parte do Ministério da Saúde [1,2,7,14]. Tendo em vista esses números, verifica-se a urgente necessidade da realização de novos estudos que preencham lacunas no conhecimento e venham a colaborar com este importante agravo à saúde [15-17].

A ozonioterapia vem se destacando como tratamento para o reparo tecidual uma vez que promove a cicatrização de feridas em casos clínicos e experimentais [18]. Dentre as diversas opções terapêuticas, a utilização do óleo ozonizado tem sido eficaz no tratamento de fístulas e ferimentos pós cirúrgicos, úlceras de pressão bem como diabéticas, psoríase e pé de atleta [19] uma vez que apresenta ação microbicida, efeito desbridante, modula a fase inflamatória, estimula a angiogênese bem como reações biológicas e sistemas enzimáticos que favorecem o metabolismo do oxigênio [20,21]. Neste sentido, podemos citar os estudos de Wainstein et al. (2011) [22] e Martínez-Sánchez et al. (2005) [23] que investigaram o efeito da ozonioterapia em pé diabético e verificaram eficiência da mesma em relação ao tratamento convencional quanto à reparação tecidual. Valacchi et al. (2011) [24] induziram feridas cutâneas agudas em dorso de camundongos e aplicaram, de forma tópica, óleo de gergelim ozonizado tendo observado redução significativa nas áreas das feridas ao longo dos períodos de estudo.

Outros estudos demonstram que a ozonioterapia pode propiciar um recurso terapêutico opcional aos convencionais ou ser utilizado em conjunto com estes, apresentando a vantagem do baixo custo e comprovada eficiência no tratamento de diferentes enfermidades [20,21].

O presente trabalho propõe a realização de ozonioterapia em queimaduras induzidas por laser de CO<sub>2</sub> em pele de ratos.

### Materiais e Métodos

**Animais** – Foram utilizados 33 ratos Wistar machos que foram mantidos no Biotério do Instituto de Ciência

e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista (ICT/UNESP, São José dos Campos), sob condições naturais de iluminação e temperatura ambiente; alimentados com dieta padrão de laboratório e água *ad libitum*.

**Laser de CO<sub>2</sub>** – Um laser de CO<sub>2</sub> (Synrad, Modelo J48-5-2848) com emissão em  $\lambda = 10.600\text{nm}$  foi utilizado para indução das queimaduras. A potência óptica utilizada foi de 1,3W, frequência de 10Hz e 3,5mm de diâmetro do feixe laser. Essa radiação atingiu o dorso do animal, sendo que, o ponto de incidência era indicado por um laser semiconductor operando no vermelho.

**Indução das Queimaduras** – Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de cetamina (125mg/kg) e xilazina (7mg/kg). Uma vez anestesiados, foram submetidos à tricotomia da região dorsal onde foram demarcadas 4 áreas, sendo que 3 áreas foram irradiadas e 1 serviu como controle (Figura 1). O laser foi posicionado de maneira que a radiação atingisse a região central das áreas evitando assim a ocorrência de superposição da radiação em uma mesma região.

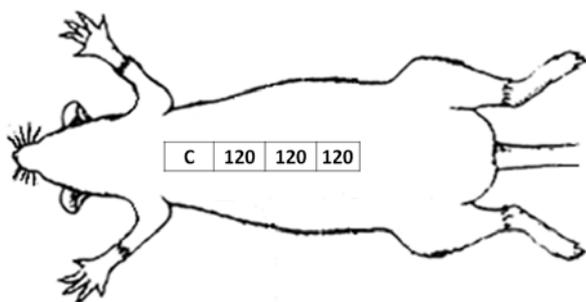


Figura 1: Distribuição das áreas controle (C) e irradiadas (120) no dorso do rato. As indicações (120) referem-se à duração da exposição da pele à radiação laser de CO<sub>2</sub>, em segundos.

**Grupos de Estudo** – Os animais foram divididos em dois grupos, sendo que os animais do Grupo 1 (n = 15) receberam Ozonioterapia e os animais do Grupo 2 (n = 18) não receberam nenhum tipo de tratamento, sendo portanto, controle.

**Ozonioterapia** – As sessões foram iniciadas 24 horas após a indução das queimaduras nos animais do Grupo 1 e foram realizadas diariamente durante 21 dias, sendo que, os animais foram sacrificados após 7, 14 e 21 dias de tratamento. Foi utilizado óleo de girassol ozonizado o qual foi administrado sob a forma tópica, em cada queimadura. Para a ozonização do óleo foi utilizado um gerador de ozônio (Medical Systems, OzonLife) configurado para gerar 65mg/ml de ozônio mediante alimentação com oxigênio medicinal na vazão de 1/8 litros por minuto durante 6 horas.

**Considerações Éticas** – Os experimentos foram realizados sob aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia – UNESP – São José dos Campos-SP (Protocolo 10/2011 – PA/CEP).

## Resultados

Na figura a seguir estão demonstradas as áreas queimadas dos animais do Grupo 1 após 7, 14 e 21 dias de tratamento (Figura 2).

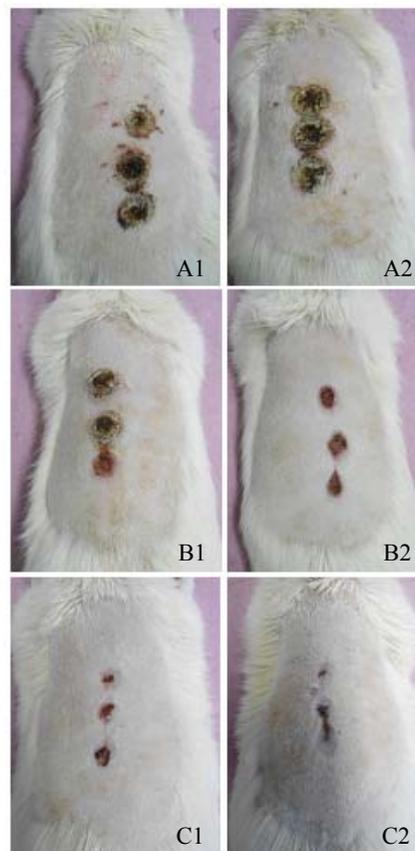


Figura 2: Aspectos das áreas queimadas durante o período de tratamento com óleo de girassol ozonizado. Em A1 e A2 observam-se as queimaduras pós 7 dias de tratamento; em B1 e B2 pós 14 dias de tratamento e em C1 e C2 pós 21 dias de tratamento.

Apesar da variação anatômica normal entre os animais utilizados, pode-se observar similaridade macroscópica (Figura 2) entre as queimaduras, durante os diferentes períodos de tratamento.

Na Figura 3 podemos observar os resultados do grupo não tratado, evidenciando aspectos das áreas queimadas pós 7, 14 e 21 dias de indução das queimaduras.

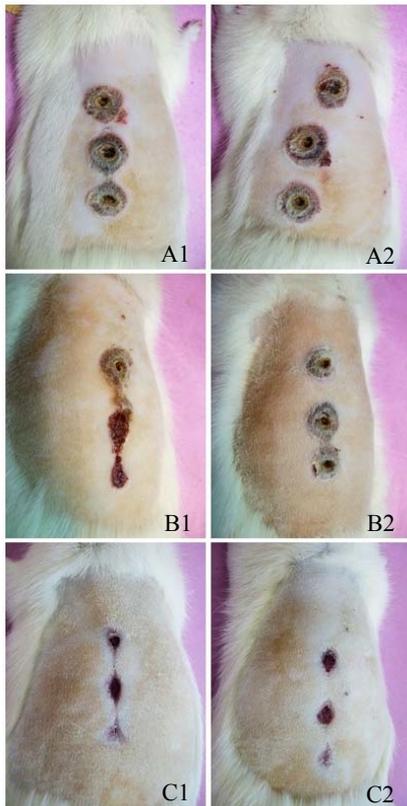


Figura 3: Animais controle, evidenciando áreas queimadas pós 7 dias (A1 e A2), 14 dias (B1 e B2) e 21 dias (C1 e C2).

As áreas queimadas observadas na Figura 3, do ponto de vista macroscópico, apresentam características similares entre si. Comparando-se os resultados dos Grupos 1 e 2, observa-se notadamente melhor cicatrização/reparação tecidual no grupo tratado com óleo de girassol ozonizado.

### Discussão

O modelo experimental empregado neste trabalho para indução de queimaduras a partir de fontes de energia térmica baseou-se nos estudos realizados por Molcho et al. (1982) e Cohen et al. (2003) que induziram queimaduras em ratos através do uso de lâmpada halógena incandescente e laser de CO<sub>2</sub>, respectivamente [25,26]. Recentemente Lee e Kim (2012) também utilizaram laser de CO<sub>2</sub> sob a forma pulsada para a indução de queimaduras [27]. Neste contexto, técnicas de não contato, que utilizam fontes de energia térmica como o laser de CO<sub>2</sub>, indicam precisão na indução de queimaduras em suas diferentes espessuras [28,29]. Este aspecto é de extrema relevância, uma vez que, a eficácia de qualquer tratamento dependerá fundamentalmente do conhecimento da espessura da queimadura.

Apesar da potência óptica do laser de CO<sub>2</sub>, variar em torno de 5%, não foram observadas variações perceptíveis nas características macroscópicas das queimaduras.

Valacchi et al. (2011) [24] induziram feridas cutâneas agudas em dorso de camundongos e aplicaram, de forma tópica, óleo de gergelim ozonizado observando redução significativa nas áreas das feridas ao longo dos períodos de estudo. Rodriguez Sanchez (2011) [19] estudou a reparação tecidual de alveolite em ratos tratados com óleo de girassol ozonizado e observou que o mesmo provocou um processo inflamatório intenso nos primeiros períodos de estudo. Traina (2008) [30] tratou feridas dérmicas em ratos com diferentes concentrações de ozônio diluído na água e observou eficácia do ozônio no processo inicial de reparação tecidual.

Nossos resultados sugerem melhor cicatrização no grupo que recebeu tratamento tópico com óleo de girassol ozonizado uma vez que foram observadas reduções macroscópicas importantes nas áreas das queimaduras em relação ao grupo controle; estando de acordo com aqueles obtidos por Valacchi et al. (2011) que observaram redução significativa das feridas tratadas com óleo de gergelim ozonizado nos diferentes períodos de estudo. Análises histomorfológicas e histomorfométricas serão realizadas para fins de confirmação destas observações.

### Conclusão

A ozonioterapia empregada nas queimaduras induzidas por laser de CO<sub>2</sub> evidenciou reduções macroscópicas importantes nas áreas das lesões quando comparadas com o grupo controle.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - pelo apoio financeiro a este estudo. Processos nº 09/53509-2 e nº 11/50468-3.

### Referências

- [1] Vale ECS. Primeiro atendimento em queimaduras: a abordagem do dermatologista. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2005; 80(1): 9-19.
- [2] Silva VCC. O efeito do laser de baixa potência (658nm) na reparação tecidual de queimaduras de terceiro grau em ratos Wistar [dissertação]. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba; 2006.
- [3] Menezes ELM, Silva MJ. *Enfermagem no tratamento dos queimados*. 1ª Ed. São Paulo: EPU; 1988.
- [4] Chiari A, Fernandes MC, Negrini F, Oliveira J, Mesquita-Ferrari RA. Hidroterapia e exercícios respiratórios associados à massoterapia na reabilitação de pacientes com queimaduras acometendo a região torácica. *Fisioterapia Brasil*. 2007; 8(6): 441-47.
- [5] Bolgiani AN, Serra MCVF. Atualização no tratamento local das queimaduras. *Revista Brasileira de Queimaduras*. 2010; 9(2): 38-44.

- [6] Chai J, Sheng Z, Lu J, Wen Z, Yang H, Jia X, Li L, Cao W, Hao D, Shen C, Tuo X, Liang L, Wang S. Characteristics of and strategies for patients with severe burn-blast combined injury. *Chinese Medical Journal*. 2007; 120(20): 1783-87.
- [7] Pereira Júnior S, Bins EJ, Sakae TM, Nolla A, Mendes FD. Estudo de pacientes vítimas de queimaduras internados no Hospital Nossa Senhora da Conceição em Tubarão/SC/Brasil. *Arquivos Catarinenses de Medicina*. 2007; 36(2): 22-27.
- [8] Vandervoort M. Nutritional protocol after acute thermal injury. *Acta Chirurgica Belgica*. 1999; 99(1): 9-16.
- [9] Bajay HM, Jorge SA, Dantas SRPE. Tratamento de feridas. 1ª Ed. Campinas: UNICAMP, 1999.
- [10] Cereser KMM, Schenkel EP, Bergold AM. Sulfadiazina de prata e outros fármacos utilizados no tratamento de queimados. *Revista Brasileira de Medicina*. 1995; 52(6): 637-44.
- [11] Fracasso SMB, Scalco EA, Weber CT. Rotinas do serviço de nutrição na unidade de queimados do Hospital Cristo Redentor. *Momento e Perspectivas em Saúde*. 1987; 1(1): 96-100.
- [12] Rossi LA, Ferreira E, Costa ECFB, Bergamasco EC, Camargo C. Prevenção de queimaduras: percepção de pacientes e de seus familiares. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. 2003; 11(1): 36-42.
- [13] Rossi LA, Barruffini RCP, Garcia TR, Chianca TCM. Queimaduras: características dos casos tratados em um hospital escola em Ribeirão Preto (SP), Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 1998; 4(6): 401-04.
- [14] König M. Um milhão de brasileiros sofrem com queimaduras [internet]. 2008. Disponível em: <http://portal.rpc.com.br/gazetadopovo/vidaacidadani/a/conteudo.phtml?tl=1&id=773425&tit=Um-milhao-de-brasileiros-sofrem-com-queimaduras>. [acessado ago 2008].
- [15] Chipp E, Walton J, Gorman DF, Moiemmen, NS. A 1 year study of burn injuries in a British Emergency Department. *Burns*. 2008; 34: 516-20.
- [16] Martins CBG, Andrade SM. Queimaduras em crianças e adolescentes: análise da morbidade hospitalar e mortalidade. *Acta Paulista de Enfermagem*. 2007; 20(4): 464-69.
- [17] Forjuoh SN. Burns in low-and middle-income countries: A review of available literature on descriptive epidemiology, risk factors, treatment and prevention. *Burns*. 2006; 32: 529-37.
- [18] Al-Dalain SM, Martínéz G, Candelario-Jalil E, Menéndez S, Re L, Giuliani A, León OS. Ozone Treatment Reduces Markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats. *Pharmacological Research*. 2001; 44(5):391-96.
- [19] Rodriguez Sanchez MDP. Estudo histomorfológico e histomorfométrico da reparação tecidual na alveolite provocada em ratos tratada por óleo ozonizado. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo (USP); 2011.
- [20] Bocci VA. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. *Archives of Medical Research*. 2006;37: 425-35.
- [21] Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *British Journal of Dermatology*. 2005; 153:1096-1100.
- [22] Wainstein J, Feldbrin Z, Boaz M, Harman-Boehmm I. Efficacy of Ozone–Oxygen Therapy for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2005; 13(12): 1255-60.
- [23] Martínéz-Sánchez G, Al-Dalain SM, Menéndez S, Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, Álvarez H, Fernández-Montequín JI, León O.S. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *European Journal of Pharmacology*. 2005; 523: 151-61.
- [24] Valacchi G, Lim Y, Belmont G, Miracco C, Zanardi I, Bocci V, Travagli V. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair and Regeneration*. 2011; 19: 107-15.
- [25] Molcho J, Rosenberg L, Dotan Y, Baruchin A, Mahler D. A new optical method for experimental burn infliction. *Annals of Plastic Surgery*. 1982; 8(3): 196-205.
- [26] Cohen M, Ravid A, Scharf V, Hauben D, Katzir A. Temperature controlled burn generation system based on a CO<sub>2</sub> laser and a silver halide fiber optic radiometer. *Laser in Surgery and Medicine*. 2003; 32: 413-416.
- [27] Lee GY, Kim WS. The systemic effect of 830-nm phototherapy on the wound healing of burn injuries: A controlled study in mouse and rat models. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 2012; 14(2): 107-110.
- [28] Melo MS, Salgado MAC, Munin E, Aimbire F, Alves LP, Zângaro RA. Indução de diferentes padrões de queimaduras em pele de ratos utilizando laser de CO<sub>2</sub>. In: Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2010 Nov 21-25; Tiradentes – MG. 2010, p. 666-669.
- [29] Melo MS, Alves LP, Navarro RS, Lima CJ, Munin E, Vilela-Goulart MG, Gomes MF, Salgado MAC, Zângaro RA. Experimental full-thickness burns induced by CO<sub>2</sub> laser. *Laser in Medical Science*. May 2014; DOI 10.1007/s10103-014-1585-5.
- [30] Traina AA. Efeitos biológicos do ozônio diluído em água na reparação tecidual de feridas dérmicas em ratos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2008.