

Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

Tiago Henrique Soares de Oliveira

**Efeito da terapia com laser de 830nm, operando em baixa potência sobre o
processo de reparação neuronal em ratos**

São José dos Campos, SP

2006

Tiago Henrique Soares de Oliveira

Efeito da terapia com laser de 830nm, operando em baixa potência sobre o processo de reparação neuronal em ratos

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Amadei Nicolau

São José dos Campos - SP
2006

O52e

Oliveira, Tiago Henrique Soares de

Efeito da terapia com laser de 830nm, operando em baixa potência sobre o processo de reparação neuronal em ratos / Tiago Henrique Soares de Oliveira. São José dos Campos: Univap, 2006.

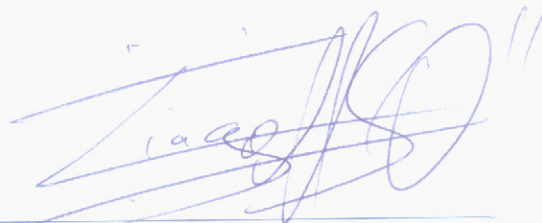
1 disco laser, color

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2006.

1. Nervos - regeneração 2. Terapia Laser de baixa intensidade 3. Ratos 4. Fisioterapia I. Nicolau, Renata Amadei, orientadora II. Título

CDU: 615.8

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiadores ou transmissão eletrônica, desde que citada a fonte.



Assinatura do aluno:

Tiago Henrique Soares de Oliveira

Data: 23/11/2006

**“EFEITO DA TERAPIA COM LASER DE 830 NM OPERANDO EM BAIXA POTÊNCIA
SOBRE O PROCESSO DE REPARAÇÃO NEURONAL EM RATOS”**

Tiago Henrique Soares de Oliveira

Banca Examinadora:

Profª Dra **RENATA AMADEI NICOLAU** (UNIVAP)

Prof. Dr **NEWTON SOARES DA SILVA** (UNIVAP)

Profª Dra **ALBA REGINA DE ABREU LIMA – CATELANI** (FIFE-FEF)

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D - UniVap

DEDICATÓRIA

A Deus por me conceder a vida, o caminho e a sabedoria.

Aos meus pais heróis, Edmilson e Cidinha, pelo exemplo de vida e por tudo.

Ao meu amor Raquel, pelo amor, paciência, compreensão e dedicação. Sem você este sonho não seria possível.

"Amar... é uma ocasião sublime para o indivíduo amadurecer, tornar-se algo em si mesmo, tornar-se um mundo para si, por causa de um outro ser; é uma grande e ilimitada exigência que se lhe faz, uma escolha para longe". *Rainer Maria Rilke*

Ao meu irmão Cássio, que este trabalho lhe sirva de inspiração para vida.

A minha avó Nair, por tudo.

AGRADECIMENTOS

A minha querida orientadora, Profa. Dra. Renata Amadei Nicolau, pelas palavras certas nos momentos certos, pela amizade e confiança.

A Carol, amiga, pelos dois bons anos de convivência, trabalho, experimentos e amizade.

Ao Ademir e João, companheiros de trabalho e de estrada, pelos bons papos e conselhos.

A Andréa, Ana Heloisa, Julia, Ênio, Silviane, Marcelo, Zé e a tantos outros pelo apoio e a gostosa convivência durante o curso.

Ao Prof. Dr. Marcelo C. Rubira, pela amizade, oportunidade e confiança.

A Prof. Dr. Cecília pelo auxílio nas cirurgias.

A UNIVAP pela oportunidade.

Ao Diretor da UNICASTELO – Campus Fernandópolis e ao Diretor do Hospital Veterinário, por ceder o espaço físico e técnico para a realização deste trabalho.

Ao meu amigo Geraldo Pains Junior (Fanta) pelo apoio e amizade.

A Dona Francisca e família, que me acolheram em Porto Velho –RO.

Aos meus familiares e amigos que ajudaram a construir este sonho.

Principalmente a DEUS!

Muito Obrigado, Muito Obrigado, Muito Obrigado,

RESUMO

OLIVEIRA, Tiago Henrique Soares de. **Efeito da terapia com laser de 830nm, operando em baixa potência sobre o processo de reparação neuronal em ratos.** 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Universidade Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2006.

Os nervos periféricos são freqüentemente traumatizados, ocorrendo perda ou diminuição da sensibilidade e da motricidade no território inervado. Assim, estudos baseados no desenvolvimento de novas terapias minimamente invasivas se fazem necessários. A radiação do laser de Arsenieto de Gálio Alumínio (GaAlAs) compreendida em 830nm do espectro eletromagnético, tem sido relatada como eficaz no tratamento de processos inflamatórios, porém tem sido pouco estudada como coadjuvante no processo de recuperação neuronal. Este estudo teve como objetivo investigar o processo de recuperação do nervo ciático em ratos, após lesão por esmagamento, tratada com terapia laser de baixa potência (TLBP), através de avaliação funcional (Índice Funcional do Ciático – IFC) e avaliação histomorfométrica (área média de bainha de mielina). Foram utilizados neste estudo 24 ratos Wistar, divididos em 4 grupos (n=6/grupo), sendo grupo “A” controle, grupo “B” tratamento no local da lesão (ciático), grupo “C” tratamento na coluna espinhal, grupo “D” tratamento no local da lesão e na coluna espinhal. O nervo ciático dos animais, de todos os grupos foi abordado, e o esmagamento ocorreu com o auxílio de uma pinça Kelly com pressão de 6N, mantida por 30 segundos. A TLBP foi realizada nos grupos B, C e D, tendo início imediato no pós-operatório, repetindo-se diariamente, por 21 dias consecutivos. A avaliação funcional foi realizada no período pré-operatório e pós-operatório respectivamente nos dias 7º, 14º e 21º, através do cálculo do IFC, apresentando uma melhora progressiva em ambos os grupos, porém os valores mais expressivos foram para os grupos B (trat. ciático) e D (trat. ciático e coluna). Houve diferença significativa do IFC dos grupos de B e D entre 7 e 21 dias PO ($p < 0,001$), demonstrando expressiva recuperação destes grupos entre as fases da lesão. O valor médio da área de bainha de mielina apresentou diferença significativa na comparação entre o grupo B (ciático) e o grupo D (ciático e coluna) no segmento proximal da lesão ($p < 0,05$). Todos os animais foram sacrificados no 21º dia pós-operatório, para a análise histomorfométrica. Os resultados demonstraram diferenças estatísticas entre os grupos B e D no que se refere à área de mielinização e IFC, neste último observa-se aceleração no processo de reparação entre 7 e 21 dias pós tratamento, demonstrando efetividade da terapia tanto em nível funcional quanto morfológico.

Palavras-chave: Laser 830nm, GaAlAs, Terapia Laser de Baixa Potência, Nervo Ciático de Rato, Biomodulação Neuronal.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Tiago Henrique Soares de. **Effect of the therapy with laser of 830nm, operand in low potency on the process of neuronal repairing in mice.** 2006. 65 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Universidade Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2006.

The peripheral nerves are frequently traumatized, occurring losses or decreases from sensibility and of the motricity in the muscles area. Like this, based studies in the development of new therapies with non deep invasive are made necessary. The laser radiation of the Arsenide Aluminum Gallium (GaAlAs) understood in 830nm of the electromagnetic spectrum, it had been told as effectived in the treatment of lawsuits, however it had been a little studied as accompiace in the process of neuronal recovery. This study had an objective to investigates the process of recover of the sciatic nerve on rats, after lesioned for crush, treated with therapy laser of low frequency (TLBP), through functional evaluation (Functional Index of the Sciatic. IFC) and evaluation histomorfetric (medium area of mielina hem). They were used in it's study 24 rats Wistar, divided in 4 groups (n=6/grupo), being group "A" control, I group "B" treatment on the lesioned area (sciatic), I group "C" treatment in the spinal column, I group "D" treatment on the lesioned area and in the spinal column. The sciatic nerve of the animals, as all of the groups was approached, and the crushed happened when it was aided with a tweezer Kelly by using pressure of 6N, susteained by 30 seconds. TLBP was accomplished in the groups B, C and D, tends immediately beginning in the postoperative, repeated daily, for 21 subsequent days. The functional evaluation was accomplished in the preoperative and postoperative period respectively on the 7th, 14th and 21st, through the calculation of IFC, presenting a progressive improvement in both groups, however the most expressive values went to the groups B (trat. sciatic) and D (trat. sciatic and column). There were significant difference of IFC of the groups of B and D between 7th and 21st days postoperative ($p < 0,001$), As result of this showing expressive recovery of these groups among the phases of the lesion. The medium value of the area of milline had presented significant difference in the comparison among the group B (sciatic) and the group D (sciatic and column) in the segment around of the lesioned area ($p < 0,05$). All the animals were sacrificed in the 21st postoperative day, for the analysis histomorphometric The results demonstrated statistical differences among the groups B and D in what refers to the milline process area and IFC, in this last one acceleration were observed that the repairing process between 7th and 21st days powders treatment, demonstrate considered progress of the therapy as much as in level functional at the morphologic.

Keywords: Laser 830nm, GaAlAs, Therapy Laser of Low Potency, Sciatic Nerve of Rat, Neuronal Biomodulation.

Lista de figuras

Figura 1: – Esquema de corte transverso mostrando os revestimentos do nervos espinhais; adaptado Grabowski (2002).....	15
Figura 2: Representação esquemática das medidas realizadas para cálculo do Índice Funcional do Ciático (IFC). E: experimental (pata irradiada); N: normal (pata oposta); TS: espalhar total de dedos (1° ao 5°); IT: espalhar de dedos intermediário (2° ao 4°); PL: comprimento da pegada.	23
Figura 3: Componentes e mecanismo de funcionamento da maioria dos lasers.....	27
Figura 4: A - abordagem cirúrgica do nervo ciático; B - esmagamento do nervo ciático com pinça tipo Kelly.....	39
Figura 5: Tratamento Laser no pós-operatório imediato	393
Figura 6: Animal caminhando sobre passarela e efetuando registro das pegadas em folha de papel para o cálculo do IFC.....	41
Figura 7: Pegadas de animal lesionado registradas em folha de papel	41
Figura 8: Programa Image Pro Plus realizando a contagem da área total de bainha de mielina em uma fibra nervosa.....	44
Figura 9: Gráfico dos valores médios do Índice Funcional do Ciático dos grupos A (não tratado), B (trat. ciático), C (trat. coluna) e D (trat. ciático e coluna); colocar estatística.	48
Figura 10: Gráfico dos valores da área média de bainha de mielina no segmento proximal ao ponto da lesão nervosa (Média±Erro padrão - *p<0,05).....	47
Figura 11: Gráfico dos valores da área média de bainha de mielina no segmento distal ao ponto da lesão nervosa (Média±Erro padrão).....	48

Lista de tabelas e quadros

Tabela 1 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo A (não tratado) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.	46
Tabela 2 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo B (ciático) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.	46
Tabela 3 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo C (coluna) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.	47
Tabela 4 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo D (ciático e coluna) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.	47
Tabela 5 - Valores Médios do IFC dos Grupos A, B, C e D nos vários períodos de avaliação	47
Quadro 1 - Resultados estatísticos intra grupos do índice funcional do ciático.	70
Quadro 2 - Resultados estatísticos inter grupos do índice funcional do ciático.	71

Lista de símbolos e abreviaturas

A: área

AsGa: Arsenieto de gálio

ATP: Adenosina trifosfato

CO²: Dióxido de carbono

cm: centímetro

cm²: centímetro quadrado

DE: Densidade de energia

DP: Densidade de potência

E: Energia

g: gramas

GaAlAs: Arsenieto de Gálio Alumínio

Hz: Hertz

HeNe: Hélio Neônio

IFC: Índice funcional do ciático

IFP: Índice funcional do fibular

IFT: Índice funcional do tibial

IT: espalhar de dedos intermediários

IV: Infravermelho

IP: Intra-peritonal

J: Joules

J/cm²: Joules por centímetro quadrado

LBP: Laser de baixa potência

mm: Milímetros

nm: Nanômetros

N: Normal

N: Newtons

NGF: Fator de crescimento nervoso

p: probabilidade estatística

P: Potência

PL: Comprimento da pegada

SNP: Sistema nervoso periférico

SNC: Sistema nervoso central

s: segundos

t: tempo

TLBP: Terapia laser de baixa potência

TS: Espalhar total dos dedos

TOF: Distância de uma pata a outra

W: Watts

°C: Celsius

µm: Micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Anatomia e fisiologia do sistema nervoso periférico.....	16
1.2	Lesão nervosa periférica.....	16
1.2.1	Regeneração nervosa periférica	18
1.2.2	Lesão nervosa por esmagamento	20
1.2.3	Avaliação morfológica da regeneração nervosa.....	22
1.2.4	Avaliação funcional da regeneração nervosa.....	23
1.3	Laser.....	26
1.3.1	Parâmetros físicos.....	28
1.4	Terapia laser de baixa potência	29
1.4.1	Laserterapia na regeneração do tecido nervoso.....	30
2	OBJETIVO.....	35
3	METODOLOGIA.....	36
3.1	Tipo de pesquisa.....	36
3.2	Aspectos Éticos	36
3.3	Animais e grupos experimentais	36
3.4	Procedimentos cirúrgicos.....	37
3.5	Aplicação do laser.....	39
3.6	Registro de pegadas	40
3.7	Análise funcional da marcha	41
3.8	Análise histológica.....	42
3.9	Análise estatística.....	44
4	RESULTADOS.....	45
4.1	Índice Funcional do Ciático (IFC).....	45
4.2	Análise Morfométrica.....	48
5	DISCUSSÃO.....	51
6	CONCLUSÃO.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UNIVAP.....	64
	APÊNDICE A – Resultados estatísticos do IFC.....	66

1 INTRODUÇÃO

Os nervos periféricos são alvos constantes de lesões de origem traumática, com esmagamento e secções totais, que resultam em perda ou diminuição de sensibilidade e motricidade no território inervado, cuja severidade dependerá de acometimento de estruturas. Sendo assim o reparo do nervo pós-traumático continua a ser um dos principais desafios na área da saúde (GIGO-BENATO et al., 2005).

Entre os vários métodos propostos para melhorar a recuperação do nervo lesado, a terapia laser de baixa potência (TLBP) vem recebendo uma grande atenção nas últimas duas décadas. Os relatos dos efeitos TLBP na regeneração de nervos periféricos feridos começaram a ser descritos na década de 1970, mas somente na década de 1980 o interesse científico voltou-se para a ação terapêutica dos lasers na regeneração nervosa, com um significativo aumento nas publicações científicas (DVALI, MACKINNON, 2003; EVANS, 2000; LUNDBORG, 2002).

O termo fototerapia refere-se ao uso da luz para produzir um efeito terapêutico em tecidos vivos. Embora algumas fontes de luz possam ser usadas para obter um efeito terapêutico, a laserterapia tem apresentado maior interesse no meio clínico e experimental (TURNER; HODE, 2003).

Os primeiros estudos sistemáticos sobre efeitos da fototerapia na regeneração de nervos periféricos são publicados por Rochkind et al. (1986, 1988), baseados no uso de axoniotmese. Nestes estudos os autores avaliaram os efeitos da fototerapia em nervo ciático de ratos, observando parâmetros como morfologia nervosa, eletrofisiologia celular e funcionalidade do membro afetado após traumatismo, concluíram que a fototerapia com laser de baixa potência é eficaz em promover melhora na recuperação de nervo lesado (ROCHKIND; OUAKNINE, 1992).

Outros trabalhos demonstraram que fototerapia laser foi eficaz na regeneração de nervos facial, ciático e peroneal, após esmagamento (ANDERS et al., 1993; KHULLAR et al., 1995; SHIN 2003; HAMILTON et al., 1992).

JUSTIFICATIVA

Considerando a escassez de trabalhos realizados com comprimento de onda na região do infravermelho próximo, sobre o processo de reparação neuronal com irradiação de áreas de tronco nervoso e não somente via periférica, estudos se fazem necessários.

1.1 Anatomia e fisiologia do sistema nervoso periférico

O Sistema Nervoso Periférico (SNP) é descrito como sendo toda a porção do sistema nervoso situada fora do Sistema Nervoso Central (SNC), sendo este último constituído pelo cérebro e medula espinhal. Os elementos que constituem o SNP são os motoneurônios, neurônios sensitivos primários fora do SNC, neurônios autonômicos, raízes dorsais e ventrais, gânglios nervosos, nervos espinhais e cranianos, terminações sensitivas e motoras (MACHADO, 1993).

Os nervos periféricos compreendem axônios e as células de Schwann associadas à membrana basal (SCHWARTZ, 1999). As células de Schwann embainham axônios individuais em fibras mielinizadas e grupos de axônios em fibras não mielinizadas (GRANT et al., 1999). A membrana basal é cercada por finas fibras de colágeno chamadas endoneuro. A composição axônio e célula de Schwann é denominada endoneuro (SCHWARTZ, 1999) ou tubo de Schwann (TRUMBLE, 2000). Os tubos endoneurais ficam agrupados, formando um número variável de fascículos (TRUMBLE, 2000).

O perineuro circunda cada fascículo. O perineuro é composto por fibras de colágeno e camadas concêntricas de células planas que ficam muito próximas, unidas por junções. O perineuro cria uma barreira de difusão contra o ambiente ao seu redor, semelhantemente à barreira hematoencefálica. O perineuro mantém uma pressão intrafascicular positiva (SCHWARTZ, 1999; TRUMBLE, 2000).

O epineuro circunda as camadas de perineuro. O epineuro que preenche o espaço entre os fascículos é chamado epineuro interno, e o epineuro que cerca o nervo é denominado epineuro externo. O epineuro interno funciona como um amortecedor para os fascículos. Onde os nervos periféricos abarcam articulações e onde são aplicadas forças compressivas maiores, aumenta a espessura do epineuro interno. As camadas externas do epineuro são compostas por colágeno e algumas fibras de elastina (SCHWARTZ, 1999).

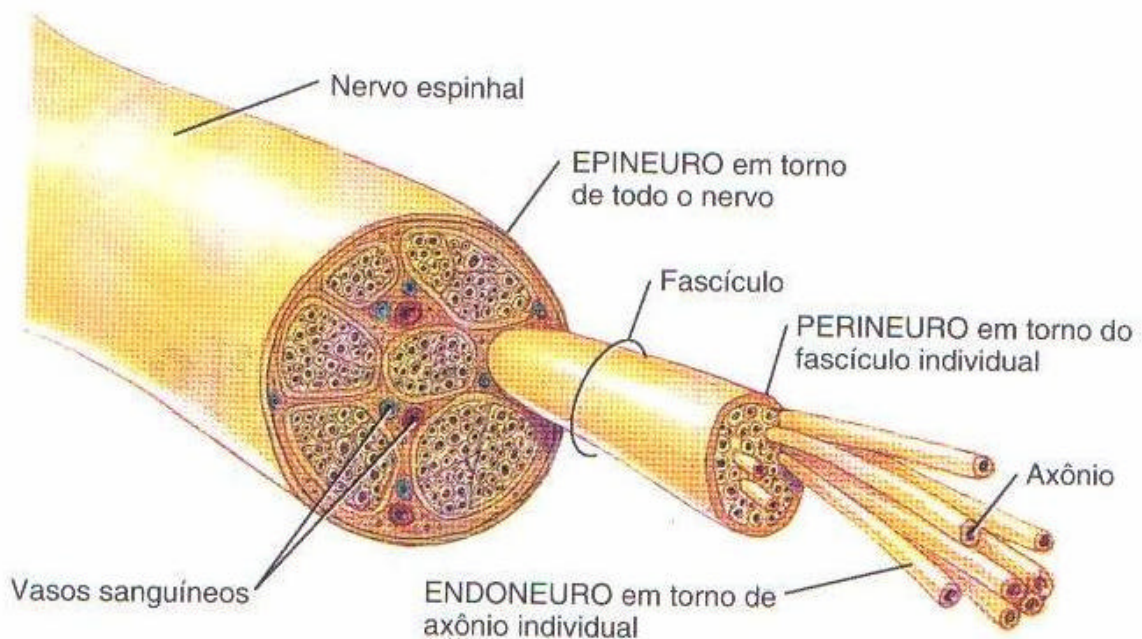


Figura 1: – Esquema de corte transversal mostrando os revestimentos do nervos espinhais; adaptado Grabowski (2002).

Os grupos fasciculares anatômicos são formados por condensações de epineuro interno. As interconexões entre fascículos formam um plexo fascicular (TRUMBLE, 2000). Estes plexos fasciculares são abundantes nas partes proximais dos nervos

periféricos, e em menor quantidade na parte mais distal dos nervos periféricos (TRUMBLE, 2000; TOWNSEND, 1994). A localização e a posição dos fascículos dentro do nervo dependem do destino do ramo do fascículo na periferia (SCHWARTZ, 1999).

A irrigação para os nervos periféricos geralmente se faz através do mesoneuro ou da suspensão do mesentério (TOWNSEND, 1994).

O processo de mielinização ocorre na última fase do desenvolvimento fetal e no primeiro ano após o nascimento. A bainha de mielina, bem como a membrana plasmática que a origina tem a composição lipoprotéica, rica em fosfolipídios que, devido à suas características isolantes, permite a condução mais rápida do pulso elétrico (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Entre células de Schwann permanece uma área de membrana exposta, conhecida como “nódulo de Ranvier”, que é o ponto onde ocorrem as modificações na permeabilidade da membrana, já que os canais de sódio e potássio são encontrados apenas nestes locais. Normalmente, num axônio, existe um nódulo de Ranvier a cada 2 mm. Nessas fibras, a onda de despolarização se propaga “pulando” de um nódulo para outro, num fenômeno conhecido como “condução saltatória”, tornando assim a condução mais rápida (GUYTON, 1997).

1.2 Lesão nervosa periférica

A classificação de lesão nervosa baseia-se no dano sofrido pelos componentes nervosos, na funcionalidade nervosa e na capacidade de recuperação espontânea (GRANT et al., 1999; GREENFIELD, 1997; RISTIC et al., 2000). Seddon (1943) publicou sua classificação de lesões nervosas, e Sunderland (1951) expandiu este sistema de graduação (apud RISTIC et al., 2000). A significância do sistema de classificação em 3 graus de Seddon é sua relevância clínica em prever os resultados funcionais e formular um plano de tratamento apropriado (GRANT et al., 1999).

O grau mais leve é chamado neuropraxia. Esta é uma redução ou bloqueio completo da condução através do segmento de um nervo com a continuidade axonal conservada (COLOHAN et al., 1996; GRANT et al., 1999; TRUMBLE, 2000). Mais especificamente, é uma disfunção e/ou paralisia sem perda de continuidade da bainha nervosa nem degeneração walleriana periférica (RISTIC et al., 2000; SCHWARTZ, 1999). A condução nervosa fica preservada proximal e distalmente à lesão, mas não através dela (GRANT et al., 1999).

A axoniotmese é um grau mais severo de lesão nervosa, comparando-se à neurapraxia. A axoniotmese é decorrente de uma lesão dos axônios com preservação da bainha de tecido conjuntivo neural (endoneuro), do epineuro, dos tubos das células de Schwann e de outras estruturas de sustentação (COLOHAN et al., 1996; TRUMBLE, 2000; GRANT et al., 1999). Dessa forma, a arquitetura interna fica relativamente preservada (SCHWARTZ, 1999). Isto pode orientar a regeneração axonal proximal para reinervar órgãos-alvo distais (COLOHAN et al., 1996; GREENFIELD, 1997). Ocorre degeneração walleriana na axoniotmese (RISTIC et al., 2000).

A neurotmesa é o grau mais severo de lesão de nervo periférico. Ocorre quando o axônio, a mielina e os componentes do tecido conjuntivo são lesados e rompidos ou transeccionados (GREENFIELD, 1997; RISTIC et al., 2000; SCHWARTZ, 1999). Não pode ocorrer recuperação através da regeneração axonal. Este grau de trauma inclui lesões nas quais a continuidade externa é preservada, mas ocorre fibrose intraneural com bloqueio da regeneração axonal (GRANT et al., 1999; SCHWARTZ, 1999).

Sunderland (1951) categorizou as lesões de nervos em cinco graus. Os graus I e II correspondem aos graus neuropráxico e axonotmético de Seddon. Sunderland dividiu ainda a categoria de lesões de neurotmesas de Seddon em graus III, IV e V, tendo por base o grau de dano às estruturas de sustentação axonal (apud GRANT et al., 1999).

Nas lesões grau III, a continuidade do axônio é rompida por perda dos tubos endoneurais (as bainhas do neurilema), mas o perineuro é preservado. Desta forma, quando os axônios se regeneram, podem entrar na bainha nervosa incorreta, resultando numa regeneração anormal (GRANT et al., 1999; RISTIC et al., 2000). Acompanhando a perda da bainha nervosa, há a cicatriz intraneural, que obstrui ainda mais o novo crescimento neuronal através do ponto de lesão (COLOHAN et al., 1996). Nas lesões grau IV, os fascículos nervosos (axônio, endoneuro, perineuro) são lesados, mas se preserva a continuidade da bainha nervosa.

1.2.1 Regeneração nervosa periférica

Um estímulo no corpo humano desencadeia uma resposta apropriada ou não. Se o estímulo for lesão de tecido, a resposta do corpo é o reparo. Este é um processo de degeneração, seguido por regeneração, pois ocorre degeneração walleriana nos nervos periféricos. É um processo pelo qual o segmento lesado de um nervo é fagocitado, começando no primeiro nó de Ranvier intacto. Os tubos das células de Schwann também são fagocitados para impedir obstrução do axônio em regeneração. Muitos fatores de crescimento e citocinas diferentes afetam este processo de degeneração-regeneração. O fator de crescimento nervoso (*Nerve Growth Factor* - NGF) tem despertado muito interesse entre os pesquisadores devido à sua capacidade de estimular a degeneração e regeneração wallerianas dos axônios sensitivos (DAHLIN; RYDEVIK, 1991; TRUMBLE, 2000; ABREU et al., 2002).

A regeneração de um nervo periférico ocorre na taxa de aproximadamente 1 mm/dia (DAHLIN; RYDEVIK, 1991; COLOHAN et al., 1996; GRANT et al., 1999; GREENFIELD, 1997; RISTIC et al., 2000). Nas lesões mais proximais, a melhora pode não ser evidente por muitos meses (DAHLIN; RYDEVIK, 1991; GRANT et al., 1999;

GREENFIELD, 1997). Por exemplo, lesões no nível médio da diáfise do úmero podem ter de atravessar até 16 cm (mais de 5 meses) antes da inervação do braquiorradial ou dos extensores do punho (RISTIC et al., 2000). Além disso, em 1999, Perlmutter relatou que, devido à distância da localização da lesão do nervo ao músculo deltóide, os sinais de reinervação do nervo axilar seriam observados de 3 a 4 meses depois do trauma (PERLMUTTER, 1999).

No começo da etapa de regeneração, o coto do axônio proximal dá brotos que compreendem o cone de crescimento do nervo (DAHLIN; RYDEVIK, 1991; TRUMBLE, 2000). A regeneração axonal é orientada para a extremidade distal do nervo por um gradiente de substâncias difusíveis. Este processo é chamado neurotropismo (TRUMBLE, 2000). Devido ao efeito de constrição do tecido cicatricial intra e extraneural, o novo crescimento axonal pode ser bloqueado no ponto da lesão (DAHLIN; RYDEVIK, 1991; GREENFIELD, 1997). O fator de crescimento (NGF) afeta a regeneração sensitiva, mas não orienta diretamente o axônio em regeneração. Os brotos axonais se dirigem preferencialmente para o tecido neural. No entanto, não conseguem diferenciar entre fascículos sensitivos ou motores. O tamanho do fascículo distal parece ser o fator mais significativo em determinar o alvo do cone de crescimento regenerador. Os brotos têm mais probabilidade de encontrar e prender-se aos fascículos maiores (TRUMBLE, 2000; ABREU, et al., 2002).

Os brotos axonais mal direcionados podem resultar em conexões nervosas anormais. Ineruações anormais de um nervo motor podem causar movimento espasmódico ou desajeitado. Ineruações anormais em nervo sensitivo podem causar percepção errada da localização do toque ou da dor (BERKOW, 1997). As placas motoras devem ser reinervadas no prazo de 18 meses do trauma para que a função seja readquirida (SCHWARTZ, 1999). É importante a prevenção da degradação da placa motora para

assegurar funcionalidade motora depois de completa a regeneração. A leupeptina inibe a protease neuronal ativada pelo cálcio (calpaína), que rompe os elementos do citoesqueleto das placas motoras. Isto tem sido demonstrado em animais de laboratório como meio de intensificar a regeneração nervosa por prevenção da digestão dos receptores na musculatura esquelética (TRUMBLE, 2000).

Em geral, a maioria dos traumas nervosos sem transecção resulta em aumento da pressão causada pelo edema do endoneuro dentro de um perineuro sem complacência. O desnudamento vascular do epineuro (ou seja, epineurectomia) no nervo ciático do rato, que interrompe os *vasa nervorum*, reproduz lesões que resultam em aumento do edema e da pressão do epineuro. Isto prova a dependência da população axonal subperineural de *vasa vasorum* intactos. Estudos têm verificado que as lesões do tipo reperfusão de isquemia, semelhantemente ao observado no músculo e na pele, são causa significativa de trauma do nervo (SANTOS, 2000).

1.2.2 Lesão nervosa por esmagamento

Lesões nervosas periféricas podem ser realizadas experimentalmente através de diversos procedimentos, como o esmagamento (compressão), transecção, estiramento e congelamento. Na lesão experimental por esmagamento não há necessidade de efetuar o reparo cirúrgico do nervo, o que evita a introdução de inúmeras variáveis de difícil controle. Estudos diversos propuseram a utilização de modelos experimentais de esmagamento para avaliar tanto a lesão em si, como a regeneração e recuperação funcional (CRAGG; THOMAS, 1964; MIRA, 1979; DE MEDINACELLI; FREED; WYATT, 1982; DE MEDINACELI; DERENZO; WYATT, 1984; BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989; DELLON; MACKINNON, 1989; BRIDGE et al., 1994; OLIVEIRA et. al., 2001).

Bisby (apud HARE et al., 1992) e De Medinacelli, Freed e Wyatt (1982) estabeleceram que a lesão por esmagamento é uma modalidade útil para o estudo de regeneração dos nervos periféricos, pois é um tipo de axoniotmese. Na axoniotmese, os danos são suficientes para romper o axônio, levando à degeneração walleriana distal, mas o prognóstico de recuperação funcional é bom, devido à preservação da estrutura de sustentação, como as células satélite, membrana basal e tecido conectivo de suporte.

Bridge et al.(1994) concluíram que a lesão produzida no nervo ciático de ratos com uma pinça cirúrgica ou de relojoeiro era do tipo axoniotmese. Como não houve diferenças significantes entre os grupos estudados, cada um com um tipo diferente de pinça e de modo de aplicação da lesão, o método foi considerado confiável e reproduzível como modelo de lesão por esmagamento.

Dahlin e Rydevik (1991) observaram que, quando o nervo é submetido a um nível elevado de compressão, ocorrem alterações pronunciadas do fluxo sanguíneo intraneural, da permeabilidade vascular e da ultra-estrutura das fibras nervosas, que resultariam em um processo degenerativo do nervo. O grau de lesão varia de acordo com as dimensões das fibras, as maiores sendo mais suscetíveis à compressão. Os efeitos danosos sobre as estruturas nervosas dependem, ainda, da intensidade da força aplicada e da área sobre a qual a força foi exercida.

Devor et al., (1979) relataram que, em modelos experimentais de esmagamento, a recuperação funcional do nervo ciático de ratos iniciava-se no 4º dia após a lesão e que, em torno do 20º dia, já havia um retorno importante da sensibilidade em territórios específicos de inervação.

De Medinacelli, Freed e Wyatt (1982), empregando técnica de análise funcional da marcha, observaram que a recuperação de nervos ciáticos esmagados ocorria entre o 16º e o 20º dias após a lesão.

Bisby (apud HARE et al., 1992) relata completa recuperação funcional do nervo ciático já na 4ª semana, após a lesão por esmagamento .

A velocidade da recuperação do nervo ciático de ratos após o esmagamento e a preservação de estruturas axonais permitem a utilização deste modelo experimental para análise de recuperação morfológica e funcional.

1.2.3 Avaliação morfológica da regeneração nervosa

Mira (1979), estudando a regeneração de fibras nervosas mielinizadas de nervos ciáticos de ratos após lesão por esmagamento, observou que fibras regeneradas aparecem em torno do 10º ao 15º dias, com retorno a normalidade em torno do 2º mês. Nesse período, os nervos em regeneração contêm cerca de 15% a mais de fibras mielinizadas do que o lado controle. Constatou que o diâmetro médio das fibras regeneradas e mielinizadas não ultrapassava 80% do normal, mesmo após dois anos do esmagamento. No nervo normal, foi encontrado que 61% das fibras eram de grande calibre, com diâmetro médio equivalente a 131% do diâmetro médio das fibras restantes. No nervo regenerado, em torno do 7º mês, observou que 47% das fibras eram de grande calibre.

Mackinnon, Hudson e Hunter (1985) estudaram a regeneração nervosa periférica em ratos. Após a ressecção de um segmento de 4,5 mm do nervo ciático de trinta ratos, observaram um crescimento axonal de $27,7 \pm 6,4$ mm. Análise morfológica, realizada a intervalos de 1 cm, demonstrou a formação de “brotamento” axonais (*sprouting*) mielinizados no coto proximal e compartimentação de axônios regenerados, distribuídos em fascículos pequenos. Qualitativamente, constataram que a população de fibras mielínicas era percentualmente menor em número e diâmetro, quando comparado com valores normais.

1.2.4 Avaliação funcional da regeneração nervosa

Em situações experimentais, a avaliação funcional da marcha tem-se mostrado um método confiável e reproduzível, em relação aos métodos convencionais de avaliação, como a morfometria e a eletroneuromiografia. Gutmann e Gutmann (1942) demonstraram que a perda da habilidade de "espalhar dos dedos", avaliada durante a marcha, seria uma medida confiável do grau de lesão de nervo fibular, em coelhos.

De Medinacelli, Freed e Wyatt (1982) propuseram a utilização de um método de avaliação funcional, denominado Índice Funcional do Ciático (IFC), baseado em mensurações das pegadas das patas traseiras de ratos. Este método foi realizado entre grupo controle (normal) e grupos experimentais, após transecção e esmagamento do nervo ciático, apresentando uma boa confiabilidade e reprodutibilidade, quando comparado com métodos tradicionalmente utilizados. O experimento consistia em obter as imagens das pegadas dos animais, quando estes caminhassem numa passarela construída especificamente para esse fim (HRUSKA; KENNEDY; SILBERGELD, 1979), sobre uma tira de filme radiográfico, em seguida processado. Os parâmetros coletados eram a distância de uma pata a outra (TOF), o comprimento da pegada (PL), o espalhar total de dedos (TS) e o espalhar intermediário de dedos (IT), demarcados segundo demonstra a figura 2.

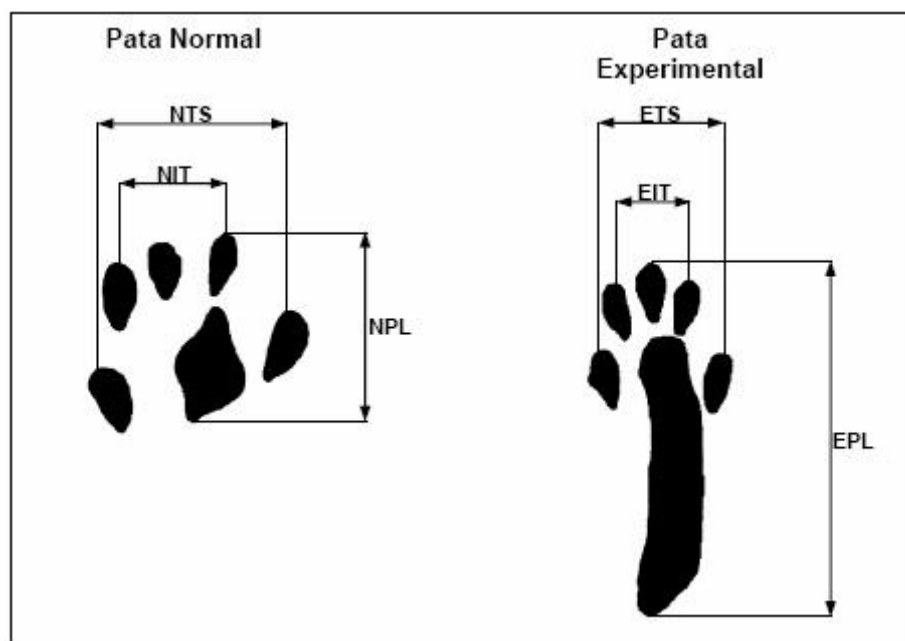


Figura 2: Representação esquemática das medidas realizadas para cálculo do Índice Funcional do Ciático (IFC). E: experimental (pata irradiada); N: normal (pata oposta); TS: espalhar total de dedos (1° ao 5°); IT: espalhar de dedos intermediário (2° ao 4°); PL: comprimento da pegada.

Os dados obtidos através do registro das pegadas eram, então, introduzidos na seguinte equação:

$$IFC = \left[\frac{(ETOF - NTOF)}{NTOF} + \frac{(NPL - EPL)}{EPL} + \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + \frac{(EIT - NIT)}{NIT} \right] \times \frac{220}{4}$$

Onde:

E: experimental

N: normal

TOF: distância de uma pata à outra

PL: comprimento da pegada

TS: espalhar total dos dedos

IT: espalhar dos dedos intermediários

Os resultados obtidos através desta fórmula representam o percentual do déficit do lado lesado, comparado ao lado não lesado (normal). A função normal é indicada por um índice de 0%, enquanto que -100% representa a perda completa da função, resultante de uma transecção total do nervo ciático.

De Medinacelli, Derenzo e Wyatt (1984) propuseram a utilização de um sistema gerenciador do índice funcional do ciático (SIMS, ou *Sciatic Index Managing System*), realizado por meio de um computador, com imagens digitalizadas das impressões das patas traseiras de ratos. Foram analisadas as impressões das pegadas de sete ratos Sprague-Dawley submetidos ao procedimento de esmagamento em intervalos regulares. O uso do SIMS permitiu que avaliação funcional dos dados deste experimento, quando comparados com aqueles obtidos através de cálculo manual, fosse mais homogênea, precisa e rápida.

O IFC descrito por De Medinacelli, Freed e Wyatt (1982) envolvia a medida da distância de uma pata à outra (TOF), que induzia a muitos erros de cálculo, diminuindo a sensibilidade do índice. Carlton & Goldberg (1986) propuseram a avaliação também dos índices funcionais dos nervos fibular e tibial e a eliminação do parâmetro TOF, baseados na análise da regressão linear das variáveis estudadas, introduzindo a fórmula:

$$\text{IFC} = \frac{(\text{NPL} - \text{EPL})}{\text{EPL}} + \frac{(\text{ETS} - \text{NTS})}{\text{NTS}} + \frac{(\text{EIT} - \text{NIT})}{\text{NIT}} \times 73$$

$$\text{IFT} = 125 \times \frac{(\text{NPL} - \text{EPL})}{\text{EPL}} - 43.8 \times \frac{(\text{ETS} - \text{NTS})}{\text{NTS}} - 252 \times \frac{(\text{EIT} - \text{NIT})}{\text{NIT}}$$

$$\text{IFP} = 2 \times \text{IFC} - \text{IFT}$$

Onde:

IFT: Índice Funcional do Tibial

IFP: Índice Funcional do Fibular

Bain, Mackinnon e Hunter (1989) modificaram os Índices Funcionais do Ciático (IFC), do Tibial (IFT) e do Fibular (IFP), baseados na análise de regressão linear múltipla de fatores derivados das medidas das impressões das pegadas de ratos com lesões nervosas definidas. Assim, como nos demais índices, a lesão total do nervo é representado por - 100, enquanto que a função normal é representada por 0. Os parâmetros utilizados nas fórmulas foram o comprimento da pegada (PL), o espalhar total de dedos (TS) e o espalhar de dedos intermediário (IT), acrescido de um fator de correção gerado para cada uma das variáveis :

$$\text{IFC} = -38.3 \times \frac{\text{EPL} - \text{NPL}}{\text{NPL}} + 109.5 \times \frac{\text{ETS} - \text{NTS}}{\text{NTS}} + 13.3 \times \frac{\text{EIT} - \text{NIT}}{\text{NIT}} - 8.8$$

$$\text{IFT} = -37.2 \times \frac{\text{EPL} - \text{NPL}}{\text{NPI}} + 104.4 \times \frac{\text{ETS} - \text{NPS}}{\text{NPS}} + 45.6 \times \frac{\text{EIT} - \text{NIT}}{\text{NIT}} - 8.8$$

$$\text{IFP} = 174.9 \times \frac{\text{EPL} - \text{NPL}}{\text{NPL}} + 80.3 \times \frac{\text{ETS} - \text{NTS}}{\text{NTS}} - 13.4$$

1.3 Laser

A palavra laser resigna-se das palavras inglesas “*Ligth Amplification by Stimulated Emission of Radiation*” que significa Luz amplificada por emissão estimulada de radiação. A emissão estimulada foi descrita pela primeira vez em 1917, por Einstein, de forma teórica. A primeira possibilidade de aplicação desse fenômeno à amplificação de ondas curtas (MASER) foi definida por Townes em 1954. Em 1958, Schalow e Townes, descreveram os conceitos de monocromaticidade e coerência.

A construção do primeiro laser operacional aconteceu por volta de 1960. Nesse equipamento o rubi era utilizado como meio ativo e emitia radiação estimulada na região vermelha do visível (MIRO et al., 1986).

Em 1962, Patel desenvolveu o primeiro laser com finalidade terapêutica, com um meio ativo da mistura gasosa de Hélio-Neônio (He-Ne) emitindo radiação com comprimento de onda de 632,8 nm, faixa espectral do vermelho (apud PÖNTINEN, 1992).

Conforme os princípios que regem sua construção, os lasers compõem-se essencialmente de três partes (GUTKNECHT; FRANZEN, 2004):

- Ressonador: trata-se de um tubo ou cavidade ótica com um arranjo de espelhos que amplificam os efeitos do laser. Um dos espelhos presentes na cavidade é de reflexão total e o outro, de reflexão parcial.
- Meio ativo: é qualquer substância na qual será possível determinar o comprimento de onda da luz emitida, podendo ser sólido como nos lasers de Neodímio, Érbio e nos lasers de diodo de Arsenieto de Gálio e Alumínio (AsGaAl) e Arsenieto de Gálio (AsGa). Entre os meios ativos gasosos estão o Argônio, Hélio-Neônio (He-Ne), Dióxido de Carbono (CO₂). Os lasers líquidos utilizam um corante orgânico diluído em solvente líquido.
- Mecanismo de bombeamento ou excitação: baseia-se no princípio da absorção, o qual consiste em uma fonte de energia externa que excita os elétrons do meio ativo.

Os mecanismos de bombeamento podem ser descargas elétricas, o disparo de um *flash* e até uma ativação por outro laser. Após um estímulo por alguma energia externa, os elétrons que encontram em seu estado de equilíbrio passam para um estado de excitação. Quando, portanto voltam ao seu estado de equilíbrio, emitem um fóton. Estando então estes fótons dentro de um ressonador, propagar-se-ão em um eixo entre os dois espelhos, deixando a cavidade e transpassando o espelho semitransparente, na forma de um feixe de luz (figura 3).

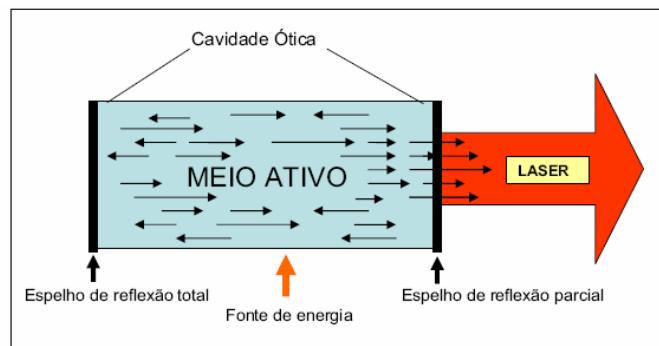


Figura 3: Componentes e mecanismo de funcionamento da maioria dos lasers.
Adaptado de Damante (2004)

A luz laser possui propriedades distintas da luz comum (MELLO; MELLO, 2001):

- Monocromaticidade: emite radiações em um único comprimento de onda, ou seja, a mesma cor;
- Coerência: o feixe se propaga na mesma direção no tempo e no espaço com a mesma frequência;
- Colimação: o feixe luminoso, devido à alta densidade de energia concentrada em pequenos pontos, é unidirecional, praticamente paralelo com divergência mínima.

Um sistema laser pode ainda operar em regime contínuo ou pulsado. Quando utiliza a emissão contínua, o operador poderá monitorar o aparelho laser através da sua potência. Os feixes lasers podem ser produzidos em pulsos ultra-rápidos da ordem de nanossegundos, picossegundos ou de femtossegundos, sendo estas propriedades que permitem a alta potência do sistema de laser pulsado (GUTKNECHT; FRANZEN, 2004).

Segundo Pinheiro (1998), os efeitos do laser podem ser divididos em térmicos e não térmicos. Os lasers de alta potência ou cirúrgicos apresentam a propriedade de corte, vaporização e hemostasia dos tecidos sendo, portanto, os que apresentam efeitos térmicos. Os lasers de baixa potência, cuja terapia não se baseia em desprendimento de calor, apresentam a energia dos fótons transformada em efeitos fotobiológicos sobre células e/ou com tecidos.

1.3.1 Parâmetros físicos

Os equipamentos lasers emitem energia (joule = J) de forma contínua ou de forma pulsada.

A potência de emissão é determinada por:

Potência Média = energia/s = potência de pico x frequência de emissão.

A densidade de energia (DE) ou fluência é a relação entre a energia administrada por um emissor laser e a superfície de irradiação do raio de luz laser ou *spot*, e é dada em J/cm². Expressa a dose de tratamento. O cálculo pode ser obtido com a fórmula:

$$(DE) = \frac{E}{A} = \frac{P(W) \times t (s)}{A (cm^2)}$$

E = Energia (J)

A = Área (cm²)

P = Potência (W)

t = Tempo (s)

A densidade de potência (DP) é dada pela relação entre a potência administrada por um emissor a laser e a superfície de irradiação do *spot* e é expressa em W/cm. Denominada também como irradiância ou intensidade, traduz-se pela quantidade de fótons concentrados em uma determinada área.

$$DP = \frac{P(W)}{A(\text{cm}^2)}$$

A laserterapia de baixa potência é uma denominação genérica que define a aplicação terapêutica de lasers e diodos monocromáticos de intensidade menor que 1 W (PINHEIRO, 1998; KITCHEN ; PARTRIDGE, 1991; ABSTEN, 1989).

1.4 Terapia laser de baixa potência

Os dois meios mais comumente usados na prática da terapia laser de baixa potência são: o laser de Hélio-Neônio (HeNe) e os semicondutores de Arsenieto de Gálio Alumínio (GaAlAs), que estão entre os comprimentos de onda de 630nm a 1300nm. Este por sua vez, inclui a luz visível e parte próxima do espectro infravermelho e é chamada de janela espectral para tecidos biológicos (KITCHEN; PATRIDGE, 1991; KITCHEN; BAZIN, 1998).

O laser de HeNe emite uma luz visível, vermelha, com um comprimento de onda de 632,8 nm. A descarga excita os átomos de hélio, os quais transferem sua energia aos de neônio e estes emitem então a luz vermelha (HERCH; TERESI, 1987).

Os principais efeitos gerados pelo LBP nos tecidos têm natureza estimulatória, causando aumento do metabolismo celular, quimiotaxia e vascularização (LOPES; BRUGNERA, 1998).

O LBP age principalmente sobre organelas celulares (mitocôndrias), gerando aumento da síntese de ATP e modificando o transporte iônico. Acredita-se que existem fotorreceptores celulares, sensíveis a determinados comprimentos de onda, que, ao absorverem fótons, desencadeiam reações químicas. Dessa forma o LBP acelera, a curto prazo, a síntese (glicólise e a oxidação fosforilativa) e a longo prazo a transcrição e a replicação do DNA (KARU, 1987).

A terapia com LBP produz efeitos não térmicos, ou seja, radiações com densidade de potência (DP) de 0,01 W/cm² a 10 W/cm² ou a uma densidade de energia (DE) de 0,1 a 10 J/cm² (SCHINDL et al., 2000), produzindo assim um pequeno e não significativo aumento na temperatura, que não supera um grau centígrado (KARU, 1987). Portanto, vários autores chegam à conclusão de que essa mínima mudança não determina os efeitos biológicos pelo laser (ROCHKIND, 1988).

A biomodulação ou reações laser catalisadas referem-se à aplicação de energia eletromagnética pelo LBP aos tecidos do corpo, a qual pode influenciar as funções celulares, tais como, estimulação ou inibição de atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas. A magnitude do efeito é referida sendo dependente do comprimento de onda, e do laser (BECKERMAN, et al., 1992; De BIE, et al., 1998; ROCHKIND; OUAKNINE, 1992).

Pesquisas têm demonstrado que as radiações de LBP (diodo, AsGaAl) podem causar efeito antiinflamatório, analgésico, estimulante celular e modulador celular na regeneração e na cicatrização de diferentes tecidos (STAINKI, et al., 1998).

O LBP produz ainda efeitos indiretos, como o estímulo da microcirculação promovendo uma vasodilatação que beneficia a troficidade local pelo aumento do aporte de oxigênio e eliminação de catabólitos, e favorece também, o aporte de elementos defensivos, daí deduz-se sua capacidade antiinflamatória (ROCHKIND, 1988).

1.4.1 Laserterapia na regeneração do tecido nervoso

Em lesões parciais por esmagamento do nervo não há secção total de axônios e das estruturas adjacentes, ocorrendo degeneração walleriana e regeneração nervosa, na seqüência (UMPHREAD, 1994). Para a recuperação de tais lesões, são utilizados alguns

recursos terapêuticos de uso corrente na fisioterapia, como o ultra-som, a estimulação elétrica e o laser.

O laser começou a ser utilizado no processo de regeneração e recuperação funcional de lesões nervosas periféricas na década dos anos 80, havendo vários relatos sobre os resultados obtidos.

Olson, Schimmerling e Tobias (1981) utilizaram a radiação laser, com comprimento de onda variando entre 490 e 685 nm, sobre células de cerebelo de ratos para observar alterações nos limiares de excitabilidade celular. Segundo os resultados obtidos, houve uma diminuição da excitabilidade elétrica das células nervosas, sugerindo que ocorre uma absorção da energia irradiada capaz de provocar alterações com a liberação de cálcio no citoplasma.

Walker (1985) relatou que a aplicação bilateral do laser de HeNe (830 nm) nos nervos safenos de pacientes paraplégicos, durante 40 segundos, foi capaz de suprimir o clônus do tornozelo. Tal efeito não foi observado nos pacientes não irradiados (grupo placebo). O autor sugeriu que os efeitos obtidos poderiam ser decorrentes de uma fotossensibilidade dos nervos periféricos.

Nissan et al., (1986), através da irradiação transcutânea dos nervos ciáticos de ratos com laser (HeNe), com aplicações diárias e doses variando entre 4 e 10J/cm², observaram um aumento significativo no potencial de ação, efeito que poderia perdurar por até oito meses após a última aplicação.

Rochkind et al. (1987) estudaram o potencial de uso terapêutico da radiação laser de baixa potência na prevenção da degeneração ou na estimulação da regeneração nervosa periférica. Após lesões repetitivas por esmagamento de nervo ciático de ratos, durante 20 dias consecutivos, realizaram o tratamento com LBP (AsGa), observando um aumento significativo da amplitude do potencial de ação nervosa no lado lesado, que alcançou

níveis semelhantes aos valores do lado não-lesado. Esta manifestação eletrofisiológica do efeito do laser foi acompanhada por uma diminuição do volume de tecido cicatricial nos nervos lesados.

Wu et al. (1987) não obtiveram respostas neurofisiológicas ou alteração do potencial de ação provocados pela estimulação transcutânea do nervo mediano de nove indivíduos com o laser HeNe. Este achado contradiz os resultados obtidos em trabalhos anteriores, de que ocorreria uma modificação no potencial de ação de nervos periféricos estimulados com uma fonte de radiação laser.

Rochkind et al. (1989) conduziram uma série de experimentos para investigar os efeitos da irradiação com laser sobre feridas cutâneas, queimaduras e lesões de nervos periféricos (lesão de nervo ciático). Os animais eram submetidos à altas doses de radiação, que variavam de 7,6 a 10 J/cm², diariamente, e os parâmetros de medição eram eletrofisiológicos. Concluíram que a quantidade de irradiação que alcançava o nervo ciático, da ordem de 2 a 10%, era pequena em relação àquela que atingia a pele, de modo que os resultados de um eventual tratamento poderiam não ser satisfatórios.

Assia et al. (1989) observaram uma diminuição do processo de degeneração após esmagamento do nervo ciático de ratos, utilizando o laser de (AsGa), aplicado sobre a região lesada. Os resultados foram obtidos por meio de uma análise do registro da atividade eletrofisiológica desses nervos.

Jarvis, Mac Iver e Tanelian (1990) investigaram o efeito da irradiação laser HeNe sobre fibras sensoriais aferentes Adelta e C, na córnea de coelhos. Os potenciais de ação foram analisados quanto ao período de latência, amplitude, tempo de subida, duração e frequência, não sendo observada alteração desses parâmetros após a irradiação laser.

Basford et al. (1993) realizou um experimento em que mediu a velocidade de condução do nervo mediano, em humanos submetidos à aplicação de irradiação laser (830

nm) sobre dez pontos ao longo do trajeto do nervo (1,2 J/ponto – 9,6 J/cm²). Os eletrodos de superfície foram colocados no cotovelo e no segundo dedo da mão dos sujeitos do estudo e os dados coletados mostraram uma diminuição do tempo de latência, evidenciando a melhora do quadro neurológico.

Hamilton, Robinson e Ray (1992) conduziram um estudo para determinar se a irradiação com laser GaAlAs poderia alterar o processo de regeneração de um nervo esmagado. Foram utilizados 12 coelhos fêmeas divididos em dois grupos (tratado e não tratado), que tiveram os nervos peroneais das patas traseiras esmagados. Os resultados mostraram que, no grupo tratado, a recuperação após 15 dias da lesão foi em média de 67% do nível de amplitude de condução pré-lesão, enquanto que no grupo não tratado, a recuperação foi em média de 52%.

Walsh, Lowe e Baxter (1995) investigaram os efeitos da irradiação direta com laser no nervo ciático de sapos. Sob condições monitoradas e cuidadosamente controladas, demonstraram um aumento da latência de condução nervosa em resposta à irradiação com baixas dosagens com laser (2,38J), as doses mais altas (3,57J) provocaram uma diminuição do tempo de latência.

Lowe et al. (1994) estudaram os efeitos da radiação laser (830nm, doses entre 1,5 e 1,2 J/cm²) sobre os parâmetros eletrofisiológicos do nervo mediano e a temperatura da pele, por meio da análise da condução antidrômica em 30 indivíduos. Foram estudados um grupo controle (não-irradiado) e grupos irradiados com doses variáveis do laser. Os resultados mostraram que alterações (aumento ou diminuição) da latência de condução antidrômica eram inversamente relacionadas com mudanças da temperatura cutânea, sugerindo que efeitos neurofisiológicos periféricos ocorriam após a aplicação laser.

Os estudos realizados com o laser até o presente indicam que esse agente físico pode ser utilizado como instrumento de auxílio na recuperação de lesões nervosas

periféricas, embora nada ainda exista de concreto. Na realidade, os resultados disponíveis são até contraditórios e carecem de esclarecimento, particularmente no que se refere aos mecanismos envolvidos no processo de regeneração e recuperação.

2 OBJETIVO

Investigar o efeito da fototerapia com laser de baixa potência (GaAlAs - 830nm) em lesão de nervo ciático de rato provocado por esmagamento, observando neuronios:

- Histomorfologia celular;
- Recuperação funcional do membro afetado.

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de pesquisa

O tipo de pesquisa estudada foi quantitativa, de modo experimental destinada a analisar, evidenciar e confirmar as variáveis de interesse no estudo dos animais a serem investigados.

3.2 Aspectos Éticos

Neste estudo foram aplicados os princípios éticos da experimentação animal em conformidade do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP, registrado pelo protocolo nº. L180/2005/CEP (Anexo A).

3.3 Animais e grupos experimentais

Neste estudo foram utilizados 24 ratos machos da raça Wistar (*Rattus norvegicus* variedade *albinus*), pesando 225g (± 25). Os animais foram obtidos do Biotério da Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO, campus Fernandópolis - SP). Os mesmos foram acondicionados em uma sala individual no Biotério da universidade mencionada e mantidos em gaiolas individuais em condições ambientais de temperatura e luminosidade, alimentados com dieta padrão Labina[®] e água *ad libidum*.

Os animais foram divididos em 4 grupos de 6 animais:

Grupo A – Controle: esmagamento cirúrgico do nervo e não-irradiados.

Grupo B– Ensaio: Esmagamento cirúrgico do nervo + irradiação do nervo ciático, correspondente ao local lesado com laser 830nm transcutânea.

Grupo C - Ensaio: Esmagamento cirúrgico do nervo + irradiação com laser de 830nm na região medular correspondente (L2-L3-L4) a eminência do ramo do nervo ciático.

Grupo D - Ensaio: Esmagamento cirúrgico do nervo + irradiação do nervo ciático, correspondente ao local lesado, + irradiação na região medular correspondente (L2-L3-L4) a eminência do ramo do nervo ciático.

3.4 Procedimentos cirúrgicos

O procedimento cirúrgico foi realizado com a finalidade de produzir uma lesão nervosa por esmagamento do nervo ciático sob controle estrito da intensidade de pressão e do tempo de aplicação, nos 4 grupos experimentais. Inicialmente, os ratos foram pesados e devidamente marcados para identificação posterior. A seguir, todos foram treinados a caminhar na passarela de marcha (DE MEDINACELI et al. 1982, 1984), que foi utilizada em todas as fases da avaliação funcional. Após o aprendizado, foi obtido o registro pré-operatório das impressões das pegadas, sendo o parâmetro inicial de avaliação, para comparação com os registros pós-operatórios.

Todo procedimento cirúrgico foi realizado por uma equipe de médicos veterinários da Universidade Camilo Castelo Branco campus Fernandópolis - SP

Para a realização da lesão por esmagamento foi realizada a pesagem dos animais e administração de pré-anestésico Butorfanol (Turbogesic, 2mg/kg) associado a Acepromazina (Acepran, 1mg/kg) ambos administrados em dose única via intramuscular. Após 15 minutos foram administrados Zolazepan e Tiletamina (Zoletil 50, 40mg/kg). Anestesiados, foi feita a tricotomia, dos animais na da face lateral da coxa direita, em extensão suficiente para permitir a visualização da região a ser abordada. Os animais foram, então, posicionados em decúbito ventral, prendendo-se as patas dianteiras e

traseiras em abdução, e o local foi preparado com anti-sepsia com uma solução alcoólica de iodo a 20% (álcool-iodado).

O nervo ciático foi abordado através de uma incisão longitudinal na face lateral da coxa direita, indo desde a altura do trocânter maior até o joelho, expondo-o desde sua emergência na borda inferior do glúteo maior até sua bifurcação nos três ramos distais. Sob o aumento com uma lupa, um ponto de sutura (Prolene 6/0, Ethicon®) foi passado no epineuro, a cerca de 3 mm distalmente à sua emergência, para facilitar a visualização da região esmagada. A área de esmagamento, distal ao ponto de sutura, foi de cerca de 5 mm de comprimento.

O esmagamento foi produzido por uma pinça tipo Kelly, capaz de produzir o esmagamento de um segmento de 5 mm de comprimento do nervo, com controle estrito da intensidade de aproximadamente 6 N.

A pressão foi exercida sobre o nervo por 30 segundos, e após a retirada do pinça a ferida foi suturada com pontos simples de nylon monofilamento (Mononylon 5/0, Ethicon®). A área foi, então, lavada com solução anti-séptica de álcool-iodado e o animal receberá uma dose única de antibiótico (Penicilina associada à estreptomicina), para profilaxia de infecções.

Para a analgesia pós cirurgia foi utilizada a droga Fentanil® por via intra-peritoneal (IP) a uma dose de 0,032 mg/kg, de 12/12 horas, por dois dias consecutivos após a lesão.

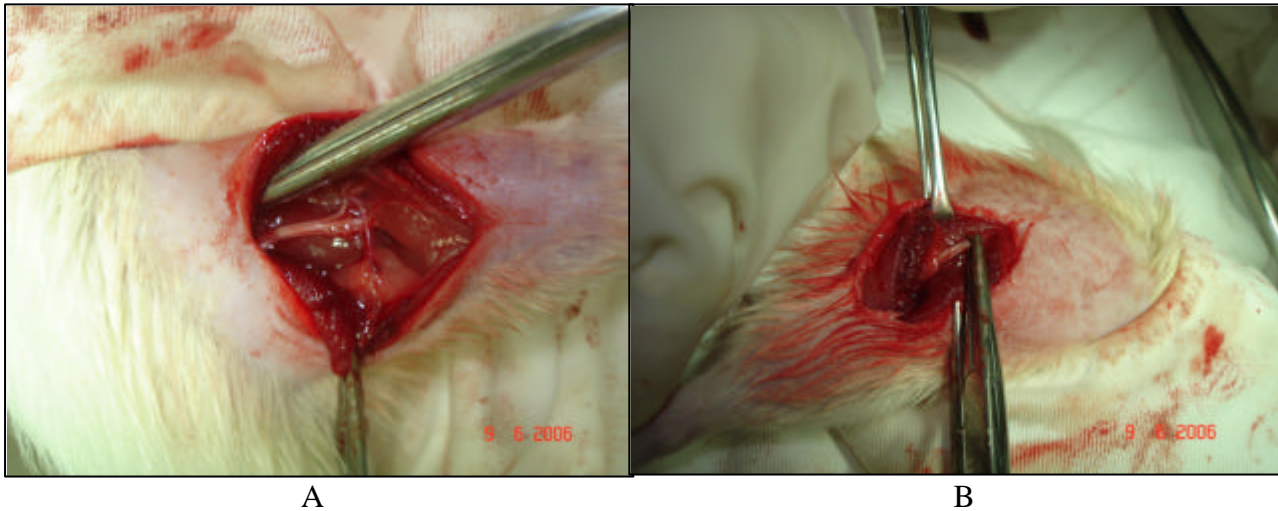


Figura 4: A - abordagem cirúrgica do nervo ciático; B - esmagamento do nervo ciático com pinça tipo Kelly

3.5 Aplicação do laser

A aplicação do laser de baixa potência de Arsenieto de Gálio Alumínio (GaAlAs) foi iniciada nos grupos B, C e D no pós-operatório imediato, pelo método direto transcutâneo pontual contínuo e foi mantido por 21 dias consecutivos, utilizando um equipamento comercialmente disponível, com as seguintes características:

- a. comprimento de onda: 830 nm
- b. potência : 50 mW
- c. densidade de energia: 79,1 J/cm²
- d. frequência: contínua
- e. área pontual de aplicação: 0,1 cm²
- f. tempo de aplicação da irradiação: 2 minutos e 24 segundos

Os animais do grupo 1 não sofrerão nenhum tipo de irradiação pós-cirúrgica, sendo mantidos como controle, manipulados como os demais animais porém sem receber radiação.

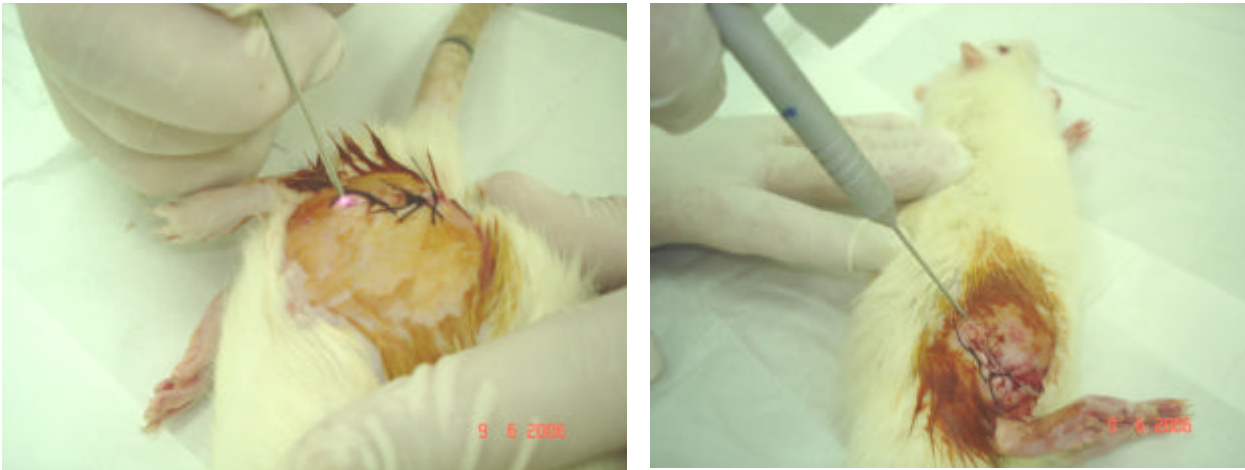


Figura 5: Tratamento Laser no pós-operatório imediato

3.6 Registro de pegadas

As impressões das pegadas dos animais foram obtidas pelo método proposto por De Medinaceli et al. (1982, 1984), modificado por Lowdon, Seber e Urbaniak (1988). A passarela de marcha foi construída de acordo com a proposta de De Medinaceli et al., (1982, 1984), contando com uma casinhola no final, onde o animal procura-se abrigar após percorrer todo seu comprimento.

Após o treino de marcha inicial, os animais foram colocados para caminhar na passarela revestida com papel sulfite, com as patas embebidas numa solução nanquim, registrando-se a impressão das pegadas. As folhas foram deixadas para secar e estocadas novamente, até o momento da realização das medidas do Índice Funcional do Ciático (IFC), de acordo com o cálculo proposto por Bain, Mackinnon e Hunter (1989). (figuras 6 e 7).

As impressões das pegadas foram obtidas antes da cirurgia e após 7, 14 e 21 dias da lesão inicial. No 21º dia, os animais foram sacrificados para a biópsia do nervo ciático, que foi analisado através de estudo histomorfométrico.



Figura 6: Animal caminhando sobre passarela e efetuando registro das pegadas em folha de papel para o cálculo do IFC.

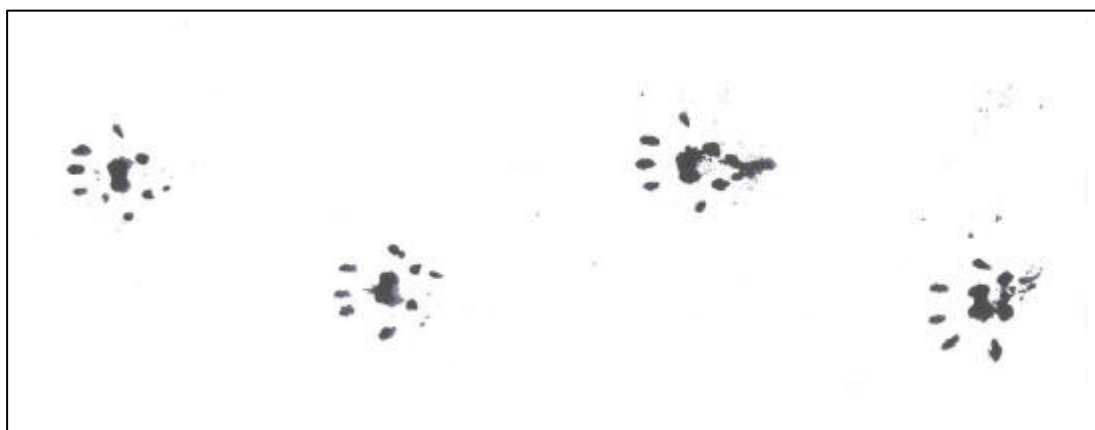


Figura 7: Pegadas de animal lesionado registradas em folha de papel.

3.7 Análise funcional da marcha

Nas impressões da marcha dos ratos que foram obtidas nas várias etapas do experimento, foram efetuados as medidas do comprimento da pegada (PL), o espalhar total de dedos (TS) e o espalhar de dedos intermediários (IT) que permitiram o cálculo do IFC de Bain et al. (1989). Os resultados obtidos pelo método de Bain et al., expressam a perda funcional em termos percentuais, sendo que o valor 0 (zero) representa a função normal, ou

ausência de disfunção, e o valor de -100 (menos cem) representa a perda total da função do nervo.

3.8 Análise histológica

Todos os procedimentos de sacrifício dos animais e as biópsias foram realizados no Laboratório de Histologia e Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO – Campus Fernandópolis). O processamento e preparação histológica foram feitas no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho (UNESP – Botucatu). Após o sacrifício dos animais, no 21º dia pós-operatório, os nervos ciáticos foram abordados com cuidado, através da mesma incisão longitudinal, e embebidos com uma solução de glutaraldeído a 25% em cacodilato de sódio a 0,025M, por dois minutos, para a pré-fixação. Em seguida, foram integralmente removidos, desde a sua emergência até a bifurcação em ramos fibular e tibial, e divididos em três segmentos, um proximal (da emergência até o ponto de marcação) um intermediário (zona da lesão) e um distal, que foram mergulhados na mesma solução supramencionada, onde permaneceram por 12 horas, em geladeira a 6°C, para fixação.

Após fixação inicial, procedeu-se da seguinte maneira para preparação histológica:

- 1- Glutaraldeído 2% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7.3
 - a- 68 ml tampão
 - b- 2ml de aldeído glutarico
 - c- Fixação máxima 24H
- 2- Lavar em tampão fosfato 3x de 10 min
- 3- Colocar em tetróxido de ósmio 1% no máximo por 3Hs
- 4- Colocar material em auto técnico seguindo o mesmo processamento da histologia

- a- Álcool – 5 x de 1h
- b- Xilol - 3 x de 1h
- c- Parafina – 2 x 1 h
- 5- Em seguida embrocar (inclusão)
- 6- Cortar em micrótomo rotativo de 2 a 3 μm
- 7- Desidratar as lâminas e montar em meio sintético

A captura e armazenamento das imagens das fibras nervosas foram realizadas com o mesmo microscópio (Leika®), dotado de uma câmera de vídeo (JVC®), e de uma platina motorizada, e acoplado a um microcomputador e mesa de recursos fotográficos. As imagens foram capturadas em quadros seqüenciais com objetiva de 100X e ocular de 1,6X. A medida dos parâmetros morfométricos, como a área fascicular e outros, foi executada com o programa *Image Pro Plus*® (versão 4.5.0.29). Cada animal forneceu uma lâmina, contendo 4 cortes, sendo 2 cortes proximais ao ponto da lesão e 2 cortes distais ao ponto da lesão, dos quais foram fotografadas cinco quadrantes, sendo quatro periféricas e uma central. Em cada quadrante, seleccionou-se uma área retangular de 350 x 350 μm e a partir desta área foi realizada análise da área da bainha de mielina. Os quadros capturados sequencialmente de cada um dos fascículos analisados foram devidamente identificados.

O parâmetro estudado foi a área total de bainha de mielina das fibras nervosas (número de fibras contadas / área total ocupada pelas fibras), que requer a contagem das fibras nervosas na área interessada, após exclusão de lâminas com presença de artefatos de fibras inadequadas.

Os passos para a análise foram: a) carregar a figura a ser analisada no programa *Image Pro Plus*; b) seleccionar o quadrante; c) seleccionar a ferramenta *perform segmentation*; d) abrindo o histograma básico, foi padronizado o valor de coloração de 190; e) abriu-se a ferramenta *count and measure objects*; f) entrou-se na ferramenta

measure-select measurements, utilizando como filtro a área de bainha de mielina; g) fechou-se a ferramenta *perform segmentation*; h) prosseguiu-se com a contagem (*count*); i) selecionou-se novamente *measure, auto-classification*, j) selecionou-se a opção *view e statistics*, k) finalmente observou-se o valor médio da área de bainha de mielina.

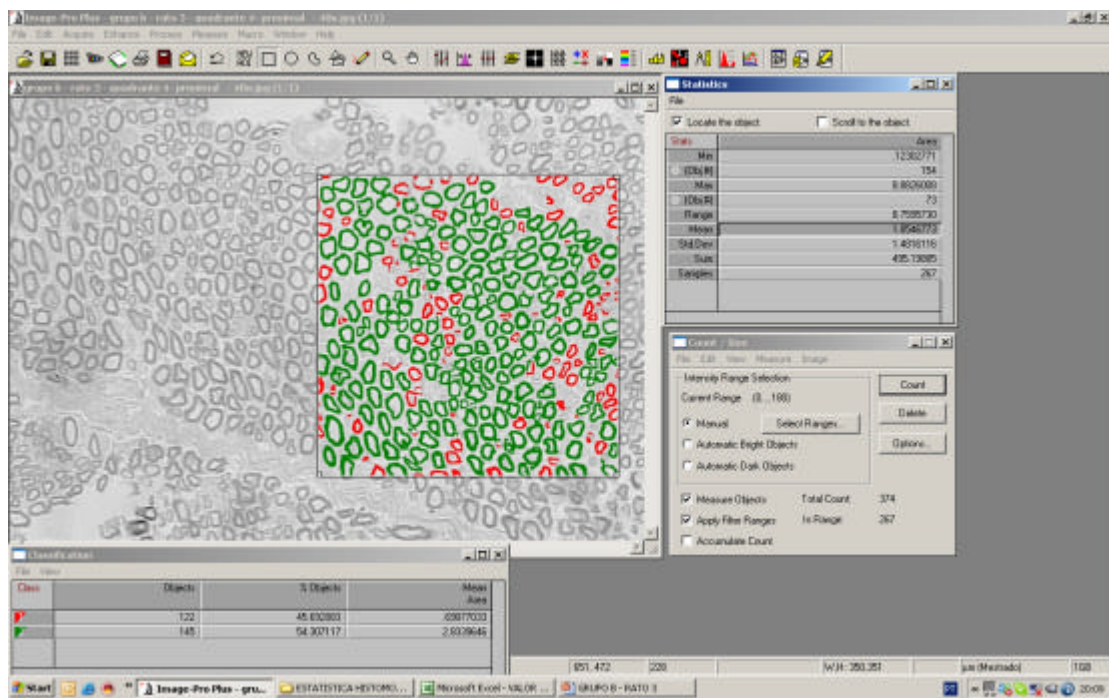


Figura 8: programa Image Pro Plus realizando a contagem da área total de bainha de mielina em uma fibra nervosa.

3.9 Análise estatística

A análise estatística dos valores do IFC obtidos nos grupos tratados e não tratado foi realizada utilizando-se o teste de ANOVA com pós-teste de Bonferrone, com nível de significância de 5%, por meio do programa GraphPad Prism®.

Para a análise estatística dos valores do número de fibras e da área média de fibras foi utilizado o teste de *t* de Student.

4 RESULTADOS

4.1 Índice Funcional do Ciático (IFC)

No grupo A (não tratado), o IFC foi em média de $-6,40 (\pm 6,90)$ no pré-operatório, passando para $-129,71 (\pm 5,48)$ no 7º dia pós-operatório, piorando para $-130,07 (\pm 2,03)$ no 14º dia PO, e melhorando para $-15,73 (\pm 5,15)$ no 21º PO. No grupo B (tratamento ciático), o IFC foi em média de $-9,19 (\pm 1,02)$ no pré-operatório, passando para $-111,76 (\pm 36,82)$ no 7º dia PO, melhorando para $-62,91 (\pm 53,51)$ no 14º dia PO e para $-28,43 (\pm 10,24)$ no 21º dia. No grupo C (tratamento coluna) o IFC foi em média de $-8,8 (\pm 1,94)$ no pré-operatório, passando para $-110,66 (\pm 38,76)$ no 7º dia PO, melhorando para $-73,27 (\pm 43,81)$ do 14º dia PO e para $-32,19 (\pm 53,60)$ no 21º dia PO. No grupo D (tratamento ciático e coluna) o IFC foi em média de $-7,87 (\pm 2,27)$ no pré-operatório, passando para $-122,39 (\pm 3,29)$ no 7º dia PO, melhorando para $-64,13 (\pm 31,36)$ no 14º dia PO e para $-16,75 (\pm 15,64)$ no 21º dia PO (figura 9).

A análise estatística dos valores do IFC mostrou que houve diferença estatística significativa entre todos os grupos (A, B, C, D) no pré-operatório para o 7º dia PO ($p < 0,001$), evidenciando lesão nervosa. Na análise individual dos grupos ocorreu diferença estatística significativa no grupo A (controle) entre o 14º dia PO para o 21º dia PO ($p < 0,001$), entre o 7º dia PO para o 21º dia PO ($p < 0,001$). No grupo B (tratamento ciático) houve diferença estatística entre o período do 7º dia PO para o 21º dia PO ($p < 0,001$). No grupo C (tratamento coluna) houve diferença estatística significativa entre o período do 7º dia PO para o 21º dia PO ($p < 0,001$). No grupo D (tratamento ciático e coluna) houve diferença estatística significativa entre o período do 7º dia PO para o 21º dia PO ($p < 0,001$). A análise estatística mostrou que nos grupos B, C e D, respectivamente, entre os períodos

do 7º dia PO para o 14º dia PO e o 14º dia PO para o 21º dia PO, não houve diferença estatística significante (tabelas 1, 2, 3, 4, e 5).

Na análise estatística dos valores do IFC do grupo A (controle) com o grupo tratado B (ciático) evidenciou diferença estatística significante no período do 14º dias PO com $p < 0,005$. A análise estatística também evidenciou diferença significante entre o grupo A (controle) com o grupo D (ciático e coluna) no período do 14º dia PO com $p < 0,005$.

A análise intra-grupos e inter-grupos está expressa nos quadros 1 e 2 no apêndice A.

Tabela 1 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo A (não tratado) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.

GRUPO A - CONTROLE				
RATOS	Pré-Operatório	7º Dia	14º Dia	21º Dia
R1	-9,75	-123,41	-131,6	-6,33
R2	-9,94	-136,19	-132,74	-15,47
R3	-8,8	-128,78	-127,71	-20,85
R4	-8,8	-123,27	-130,26	-14,93
R5	7,65	-132,74	-127,74	-17,13
R6	-8,8	-133,89	-130,42	-19,71
MÉDIA	-6,40	-129,71	-130,08	-15,73
DESVIO PADRÃO	6,90	5,48	2,03	5,15

Tabela 2 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo B (ciático) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.

GRUPO B – LASER CIÁTICO				
RATOS	Pré-Operatório	7º Dia	14º Dia	21º Dia
R1	-8,8	-124,18	-27,79	-40,83
R2	-8,8	-119,06	-18,49	-29,93
R3	-8,8	-129,28	-59,05	-33,03
R4	-11,28	-131,6	-130,34	Animal Excluído
R5	-8,8	-37,17	-14,24	-13,18
R6	-8,7	-129,31	-127,58	-25,21
MÉDIA	-9,19	-111,76	-62,91	-28,43
DESVIO PADRÃO	1,02	36,82	53,51	10,24

Tabela 3 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo C (coluna) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.

GRUPO C – LASER COLUNA				
RATOS	Pré-Operatório	7º Dia	14º Dia	21º Dia
R1	-8,8	-126,95	Animal Excluído	Animal Excluído
R2	-8,8	-128,16	-123,03	-37,03
R3	-8,8	-127,19	-113,09	9,88
R4	-8,8	-135,04	-47,83	-122,74
R5	-8,8	-32,79	-19,83	0,75
R6	-8,8	-113,87	-62,6	-11,82
MÉDIA	-8,8	-110,66	-73,27	-32,19
DESVIO PADRÃO	1,94	38,76	43,81	53,60

Tabela 4 - Valores individuais do Índice Funcional do Ciático (IFC) do Grupo D (ciático e coluna) nos vários períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão.

GRUPO D – LASER CIÁTICO E COLUNA				
RATOS	Pré-Operatório	7º Dia	14º Dia	21º Dia
R1	-3,23	-118,4	-43,67	-25,39
R2	-8,8	-126,79	-53,02	0,9
R3	-8,8	-119,33	Animal Excluído	Animal Excluído
R4	-8,8	-122,49	-62,92	-5,54
R5	-8,8	-121,89	-42,77	-38,28
R6	-8,8	-125,46	-118,31	-14,8
MÉDIA	-7,87	-122,39	-64,13	-16,62
DESVIO PADRÃO	2,27	3,29	31,36	15,64

Tabela 5 - Valores Médios do IFC dos Grupos A, B, C e D nos vários períodos de avaliação.

GRUPO	Pré-Operatório	7º Dia	14º Dia	21º Dia
A	-6,40	-129,71	-130,07	-15,73
B	-9,19	-111,76	-62,91	-28,43
C	-8,8	-110,66	-73,27	-32,19
D	-7,87	-122,39	-64,13	-16,62

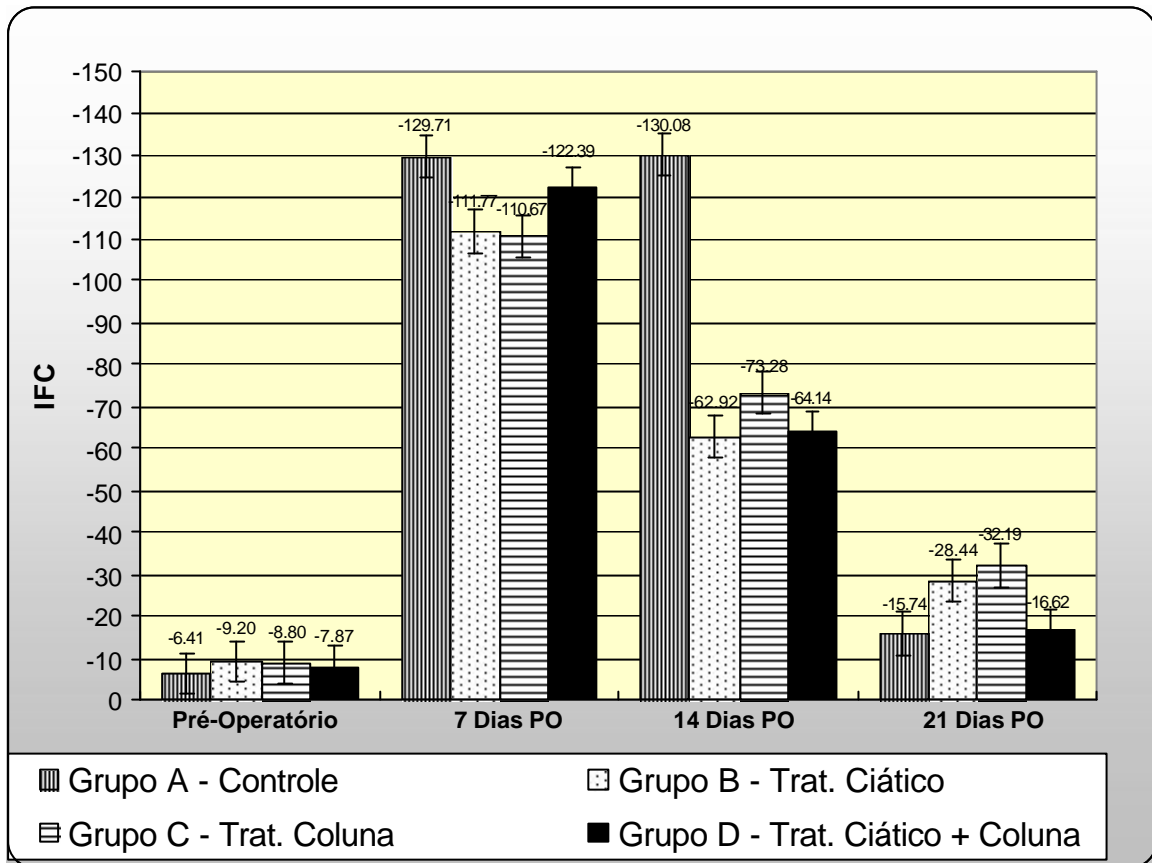


Figura 9: Gráfico dos valores médios do Índice Funcional do Ciático dos grupos A (não tratado), B (trat. ciático), C (trat. coluna) e D (trat. ciático e coluna).

4.2 Análise Morfométrica

No grupo A (controle) a área média de bainha de mielina das fibras nervosas foi de $1,80 (\pm 0,13) \mu\text{m}^2$ no segmento proximal a lesão, $1,55 (\pm 0,09) \mu\text{m}^2$ no segmento distal a lesão.

No grupo B (ciático) a área média de bainha de mielina das fibras nervosas foi de $3,98 (\pm 1,04) \mu\text{m}^2$ no segmento proximal a lesão, $2,67 (\pm 0,92) \mu\text{m}^2$ no segmento distal a lesão.

No grupo C (coluna) a área média de bainha de mielina das fibras nervosas foi de $2,07 (\pm 0,33) \mu\text{m}^2$ no segmento proximal a lesão, $1,79 (\pm 0,30) \mu\text{m}^2$ no segmento distal a lesão.

No grupo D (ciático e coluna) a área média de bainha de mielina das fibras nervosas foi de $1,37 (\pm 0,05) \mu\text{m}^2$ no segmento proximal a lesão, $1,04 (\pm 0,03) \mu\text{m}^2$ no segmento distal a lesão (figura 10 e 11).

A análise estatística comparativa mostrou que ocorreram diferenças estatisticamente significantes entre os valores do grupo B (ciático) no segmento no proximal com o grupo D (ciático e coluna) segmento proximal ($p < 0,05$).

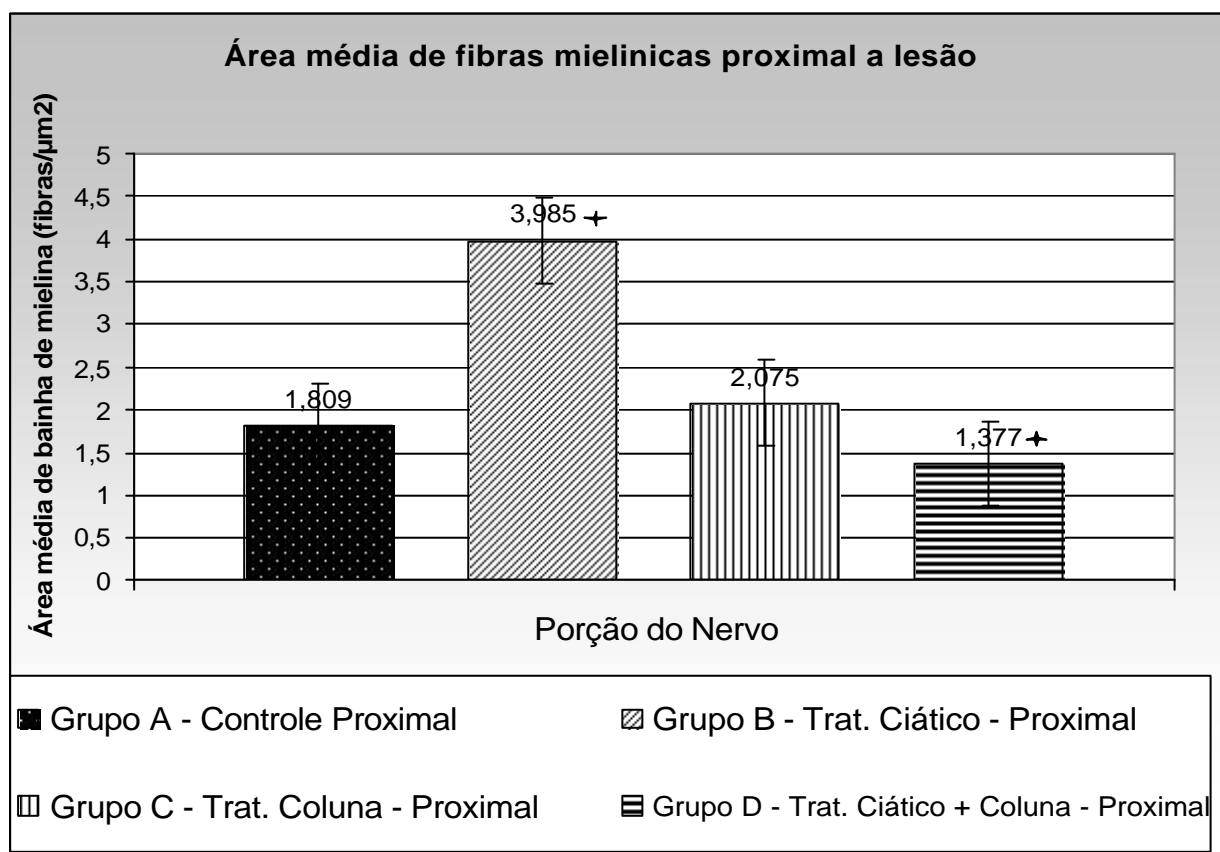


Figura 10 - Gráfico dos valores da área média de bainha de mielina no segmento proximal ao ponto da lesão nervosa (Média \pm Erro padrão - * $p < 0,05$).

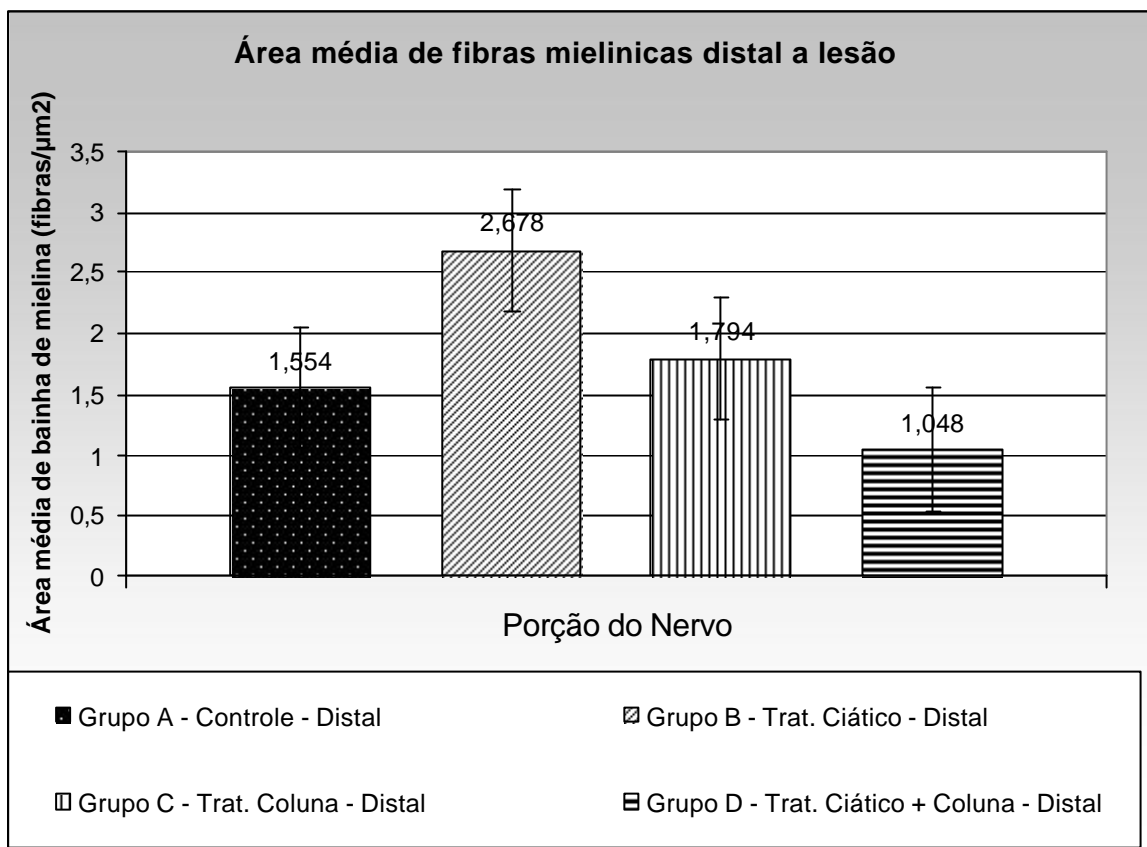


Figura 11 - Gráfico dos valores da área média de bainha de mielina no segmento distal ao ponto da lesão nervosa (Média \pm Erro padrão).

5 DISCUSSÃO

O estudo do mecanismo de reparação de tecidos tem sido, através dos tempos, objeto de muitas pesquisas na área da saúde. Busca-se continuamente o esclarecimento dos mecanismos relacionados à interação de novas terapias como coadjuvante no processo de cura de lesões teciduais. A laserterapia de baixa potência aplicada à processos algicos e reparacionais tem sido uma das terapias amplamente investigadas na área de bioengenharia.

No que concerne à diferentes protocolos com emprego da radiação eletromagnética, há vários trabalhos na literatura que procuram abordar a aceleração da cicatrização associando dose, frequência e número de sessões.

Estudos preliminares atestam que a radiação eletromagnética na região do visível e infravermelho próximo do espectro eletromagnético pode ter um papel sobre a regeneração dos nervos periféricos (NISSAN et. al., 1986; ROCHKIND, 1986, 1987a, 1987b, 1988, 1989, 1990, 2001; ASSIA et. al., 1989; HAMILTON et. al., 1992; ANDERS et. al., 1993; BREUGEL, BAR, 1993; BASFORD et. al., 1990, 1993; LOWE et. al., 1994).

O objetivo da presente investigação foi o de analisar a influência do laser de baixa potência (GaAlAs) sobre o processo inicial de regeneração de lesão do nervo ciático de ratos, por esmagamento, avaliando o Índice Funcional do Ciático (IFC) e área de bainha de mielina (morfologia neuronal).

Primeiramente, realizamos uma análise da metodologia utilizada neste estudo.

O rato foi escolhido como animal de experimentação, pois a estrutura morfológica dos nervos periféricos dos ratos se assemelha muito à dos nervos de humanos, assim como a fisiologia e os processos biológicos envolvidos na regeneração. A lesão por esmagamento foi preferida à uma lesão por secção, por exemplo, porque preserva a

estrutura de sustentação do nervo, mesmo com a aplicação de cargas de grande magnitude. A pressão exercida sobre o nervo para causar a lesão neste trabalho foi de aproximadamente de 6N (ROCHKIND et al., 2001). A preservação da estrutura de sustentação indubitavelmente facilita a regeneração (BRIDGE et al., 1994), visto que os tubos neurais estão em continuidade, não havendo a zona de reparo que existe quando se trata de lesão por secção seguida de reparo cirúrgico. Aliás, este foi outro fato considerado na escolha do modelo de lesão por esmagamento. A avaliação dos resultados foi feita pela medida do IFC e da área média da bainha de mielina de fibras nervosas do nervo ciático, que apresentam correlação entre si, como demonstra Oliveira et al. (2001). De fato, o IFC tem-se mostrado um instrumento bastante confiável para avaliar o processo de regeneração nervosa periférica, fornecendo um valor numérico à função e permitindo uma análise estatística dos resultados.

O laser utilizado foi o de Arsenieto de Gálio Alumínio (GaAlAs – 830nm) por ser de baixa potência e de uso corrente na prática clínica, porém com poucos antecedentes bibliográficos a respeito de seu emprego na regeneração de nervos periféricos (KHULLAR et al., 1995; MIDAMBA, HAANAES, 1993; MILORO et al., 2002). O uso do laser de baixa potência como instrumento terapêutico ainda é objeto de controvérsias e o seu efeito sobre estruturas nervosas não está claro. Não existem evidências concretas de que haja benefícios com o seu emprego sobre o sistema neuromuscular, conhecendo-se, ainda, muito pouco sobre os mecanismos de interação com o meio biológico. Alguns resultados indicam que o laser não exerce qualquer influência sobre os nervos periféricos, como demonstraram Greathouse, Currier e Gilmore (1985), que empregaram o laser de GaAs, na tentativa de induzir alterações sobre a velocidade de condução do nervo radial superficial em humanos, sem obter sucesso. Assim como Wu et al. (1987) que empregaram o laser HeNe sobre o nervo mediano de humanos e falharam em demonstrar mudanças nos

potenciais de ação induzidas pelo tratamento. Resultados semelhantes foram obtidos por Basford et al., (1990).

Por outro lado, algumas evidências foram obtidas de que a irradiação com o laser induz algumas mudanças no processo de regeneração do nervo periférico, tendo sido possível mesmo aventar prováveis mecanismos de ação (ROCHKIND et al., 1986, 1987b, 1988, 1989, 1990, 2001; BAXTER, 1994; ASSIA et al., 1989; NISSAN et al., 1986).

Os resultados obtidos neste trabalho, para o IFC, mostraram que a recuperação funcional, comparativa inter-grupos no período de 14 dias pós-operatório, revelou uma diferença entre o grupo A (controle) com os grupos B (ciático) e D (coluna), evidenciando uma melhora na funcionalidade da marcha ($p < 0,05$), e indicando que o laser de GaAlAs tem um efeito benéfico sobre as estruturas nervosas periféricas corroborando os resultados de Khullar et al. (1995), e Miloro et al. (2002). Rochkind et al. (2001) empregando o laser de HeNe (632nm), utilizando-se de estudo eletroneurofisiológico para mensurar o potencial de ação neuromuscular em ratos, observou que, quando aplicado diretamente no local da lesão e diretamente na coluna espinhal no segmento correspondente ao nervo ciático, obtinha melhora na condução de estímulos nervosos.

Na análise estatística dos resultados individuais do IFC dos grupos que receberam a terapia laser (B, C e D) (intragrupos), referentes ao período do 7° ao 21° dia PO, observou-se resultado positivo no que se refere a retomada de função nos grupos tratados cm laser ($p < 0,001$). Rochkind et al. (2001) e Shamir et al. (2001) atestam que quando mais cedo for instituída e mais duradoura a TLBP sobre o nervo esmagado e no segmento correspondente a medula espinhal, mais rápida se dá a recuperação e melhor a qualidade de regeneração do neuronal. Além disso, citam que TLBP causa um efeito benéfico sobre o tecido nervoso, diminuindo ações degenerativas em neurônios, além de induzir a proliferação de astrócitos

e oligodendrócitos, sugerindo um estímulo do metabolismo em neurônios periféricos e uma capacidade aumentada de produção de mielina.

A resposta ao estímulo do laser de baixa potência deriva da quantidade de energia total aplicada, portanto do tempo de estimulação sobre a estrutura, conforme observado por Nissan et al. (1986). Durante a aplicação da radiação laser de baixa potência no presente estudo pode ter ocorrido o aumento da temperatura em função do aumento da microcirculação no local de irradiação (EL SAYDE; DYSON, 1996; SCHAFFER et al., 2000). Ainda que neste estudo não tenham sido investigadas variações de temperatura no local de irradiação (nervo ciático de rato), segundo Kubota (2002) o aumento do aporte vascular pós-irradiação pode ocorrer e se manter durante 10 minutos após o término desta, culminando em aumento da temperatura local. Trelles et al. (1989 a e b) demonstraram o aumento da degranulação de mastócitos em língua de rato (efeito local), através de microscopia eletrônica e ainda ao nível de histamina do sangue cardíaco (efeito sistêmico) pós-irradiação. A histamina provoca vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, com conseqüente aumento da microcirculação local e sistêmica. Outro efeito da radiação laser infravermelho próximo (820nm) sobre o aumento da microcirculação, em nível de metarteriolas, foi observado por El Sayed e Dyson (1996). Com isto, o sistema músculo-esquelético é beneficiado pelos efeitos da terapia com laser, de forma que sua aplicação promove a diminuição de espasmos musculares e conseqüentemente diminuição da dor e com relaxamento da musculatura local e com ganho da funcionalidade do membros em processo de reparação..

Rochkind, Volger e Barr-Nea (1990) propuseram que mecanismo de ação da TLBP em tecido nervoso se baseia em uma ação de neuroproteção que poderia facilitar o processo regenerativo de fibras nervosas, onde esta terapia suprimiria a atividade do óxido

nítrico (agente neurotóxico) e regularia o fator de crescimento (TGF-1), um agente neuroprotetor, depois de acidente vascular em ratos.

O mecanismo geral proposto por Karu (1996) sobre a ação do laser vermelho e IV próximo consiste de um efeito modulador sobre o sistema biológico, ou seja, uma radiação pode estimular e/ou inibir um processo biológico dependendo do tecido alvo e dos parâmetros de irradiação. O laser IV próximo pode induzir uma descarga de cálcio ao citoplasma, o qual é responsável pela ativação de certas funções celulares. Os principais fotorreceptores primários na célula são os componentes da cadeia respiratória: flavina, dehidrogenases, etc. Os princípios da TLBP, tanto com lasers vermelhos como lasers IV, baseiam-se na existência de compostos celulares que absorvam esta luz, ou seja, cromóforos (WALSH; BAXTER; ALLEN, 1995). Entretanto, sabe-se que a regeneração nervosa é dependente mais da função do corpo celular do neurônio, que se prepara ativamente para produzir o axonoplasma, do que do axônio onde está a lesão e onde a irradiação com laser é aplicada. Assim, um possível efeito benéfico da irradiação com laser deverá estar ocorrendo no processo de reconstituição dos tubos neurais lesados, facilitando a evolução do preenchimento com o novo axonoplasma (ROCHKIND et al., 2001).

A análise histomorfométrica mostrou que houve diferença estatística significativa entre o grupo B (ciático) proximal com o grupo D (ciático e coluna) proximal, com $p < 0,05$, onde pode-se evidenciar que o grupo B que recebeu terapia laser somente no local da lesão teve um ganho maior na área média de fibras mielínicas comparada com o grupo D que recebeu terapia laser no local da lesão e na coluna espinhal no segmento correspondente ao nervo ciático.

A ausência na literatura especializada de trabalhos que tivessem analisado os aspectos relativos a histomorfometria de nervos periféricos após o uso da TLBP, com comprimento de onda de 830nm, dificulta qualquer comparação. Os estudos realizados

sobre a possível atuação da TLBP utilizam, na maioria dos casos, métodos eletrofisiológicos de avaliação.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente estudo permitem concluir que:

1. O laser de GaAlAs (830nm), na dose utilizada, possui efeito benéfico sobre a recuperação da função do nervo ciático de ratos submetidos a lesão por esmagamento.
2. A TLBP contribuiu na modulação da regeneração nervosa, evidenciado pelo aumento médio da área da bainha de mielina.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. A. N.; WEI, T. H.; ZUMIOTTI, A. Avaliação dos gangliosídios na regeneração nervosa em ratos. **Rev. Bras. Ortop.**, v. 37, n.1/2, Jan/Fev. p. 39-44, 2002.
- ABSTEN, G.T; JOFFE, S.N. **lasers in medicine: a introductory guide**, 2. ed. Londres: Chapman and Hall, 1989. p. 34-46.
- ANDERS, J. J.; BORKE, R. C.; WOOLERY, S. K.; VAN DE MERWE, W. P. Low power laser irradiation alters the rate of regeneration of the rat facial nerve. **Lasers surg. med.**, v. 13, p. 72– 82, 1993.
- ASSIA, E., et al. Temporal parameters of low energy laser irradiation for optimal delay of post-traumatic degeneration of rat optic nerve. **Brain res.**, v.476, p. p72-82, 1989.
- BAIN, J.R; MACKINNON, S. E; HUNTER, RT. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal e posterior tibial nerve lesions in the rat. **Plastic. recons. surg.**, v. 83, p. 129-138, 1989.
- BASFORD, J. R., DAUBE, J. R.; HALLMAN H.O.; MILARD, T.L.; MOYER, S.K. Does low-intensity helium-neon laser irradiation alter sensory nerve active potentials or distal latencies. **Laser Surg Med.**, v.10, p.35-39, 1990.
- BASFORD, J. R., HALLMAN, HO; MATSUMOTO, J.Y; MOYER, S.K; BUSS, JM; BAXTER, G.D. Effects of 830nm continuous wave laser diode irradiation on median nerve function in normal subjects. **Lasers surg. med.**, v 13, p. 597-604, 1993.
- BAXTER, G.D. Therapeutic lasers – Theory and practice. 1 ed. **Churchill Livingstone**, New York, 1994.
- BECKERMAN H. et al. The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: a criteria-based meta-analysis of randomized clinical trials. **Phys. ther.**, v.72, p.483-491, 1992.
- BERKOW, R. (eds.). **The Merck Manual of Medical Information**. Whitehouse Station, NJ: Merck, 1997. 330 p.
- BREUGEL, H.H.F.I.; BAR, P R. He-Ne laser irradiation affects proliferation of cultured rat schwann cells in a dose-dependent manner. **J. Neurocytology**. v.22, p.185-190, 1993.
- BRIDGE, P. M., et al. Nerve crush injuries – A model for axonotmesis. **Exp. neurol.**, v. 127, p. 284-290, 1994.
- CARLTON, J. N.; GOLDBERG, N. H. Quantitating integrated muscle function following reinnervation. **Surgical Forum**, v. 37, p. 611-612, 1986.
- COLOHAN, A.R.; PITTS, L. H.; ROSEGAY, H Injury to the peripheral nerves. In: FELICIANO, D. V.; MOORE, E. E.; MATTOX, K. L. (eds.). **Trauma**. 3rd. ed. Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1996. p. 853-62.
- CRAGG B. G.; THOMAS P. K. The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibres. **J. Physiol.**, v. 171, p. 164-175, 1964.

- DAHLIN, L. B.; RYDEVIK, B. Pathophysiology of nerve compression. In: GELBERMAN, R. N. **Operative nerve repair and reconstruction**. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1991. v.2, p.847-862.
- DAMANTE, C. A., et al. Clinical evaluation of the effects of low-intensity laser (GaAlAs) on wound healing after gingivoplasty in humans. **J. appl. oral sci.**, v.12, n.2, p. 133-136, 2004.
- DE BIE R, A., et al. Low-level laser in ankle sprains: a randomized clinical trial. **Arch. phys. med. rehabil.**, v.79, p.1415-1420, 1998.
- DE MEDINACELI, L.; DERENZO, E.; WYATT, R. J. Rat sciatic functional index data management system with digitized input. **Comp. biom. res.**, v. 17, p 185-192, 1984.
- DE MEDINACELLI, L.; FREED, W. J.; WYATT, R. J. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. **Exp. neuro.**, v. 77, p. 634-643, 1982.
- DELLON, A. L.; MACKINNON, S. E. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. **Microsurgery**, v. 10, p. 220-225, 1989.
- DEVOR, M.; SCHONFELD, D.; SELTZER, Z.; WALL, P. D. Two modes of cutaneous reinnervation following peripheral nerve injury. **J. comp neurol.**, v.185, p. 211-220, 1979.
- DVALI, L, MACKINNON S. Nerve repair, grafting, and nerve transfers. **Clin. plast. surg.**, v. 30, p. 203-221, 2003.
- EL SAYED, S.O.; DYSON, M. Effect of laser pulse repetition rate and pulse duration on mast cell number degranulation. **Lasers surg. med.**, v.19, n.14, p.433-437, 1996.
- EVANS, G. R. Challenges to nerve regeneration. **Semin surg. Oncol.**, v.19, p.312-318, 2000.
- GIGO-BENATO, D.; GEUNA, S. ROCHKIND, S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve: a review of the literature. **Muscle nerve** v.31, p. 694-701, 2005.
- GRANT, G. A.; GOODKIN, R.; KLIOT, M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. **Neurosurgery**, v. 44, n.4, p. 825-840, 1999.
- GREENFIELD, L. J. **Surgery: Scientific Principles and Practice**. 2nd ed. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven; 1997. p. 2172-2173.
- GREATHOUSE, D.E.; CURRIER, D.P.; GILMORE, R.L. Effects of clinical infrared laser on superficial radial nerve conduction. **Phys. Ther.** v.65, n.8, p.1184-1187, 1985.
- GUTKNECHT, N.; FRANZEN, R. O laser: função, interação e segurança. In: EDUARDO, C. P.; GUTKNECHT, N. **A odontologia e o laser**. São Paulo: Quintessence, 2004. p. 25-60.
- GUTMANN E; GUTMANN L. Factors affecting recovery of sensory function after nerve lesions. **J. neurol. Psychiat.**, v. 5, p. 117-129, 1942.

- GUYTON, A. C. Nervos e músculos: potenciais de membrana, potenciais de ação, excitação e ritmicidade. In: GUYTON, A. C; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia medica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014 p.
- HAMILTON, G. F.; ROBINSON, T. K.; RAY, R. H. The effects of helium-neon laser upon regeneration of crushed peroneal nerve. **Josp**. v. 15, n.5, p.209-214, 1992.
- HARE, G. M. T., et al. Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. **Plast. reconstr. surg.**, v. 89, n.2, p. 251-258, 1992.
- HERCH, J.; TERESI, D. **El rayo laser**. Barcelona: Salvat Editores, 1987.
- HRUSKA, R. E; KENNEDY, S.; SILBERGELD, E. K. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. **Life sci.**, v. 25, p. 171-180, 1979.
- JARVIS, D.; MAC IVER, M. B.; TANELIAN, E. K. Electrophysiological recording and thermodynamic modeling demonstrate that Helium-Neon laser irradiation does not affect peripheral A-gamma or C fibers nociceptors. **Pain**, v. 43, p. 235-242, 1990.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**, 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. P.129-158.
- KARU, T. Photobiological fundamental of low power laser therapy. **IEEE J. Quant. Elect.**, v.23, p.1703-1718, 1987.
- KARU, T. **The Science of Low-Power Laser Therapy**. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers, 1996. p. 53-72.
- KHULLAR, S. M., et al. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. **Eur. j. oral sci.**, v. 103, p. 299 –305, 1995.
- KITCHEN, S. S.; PATRIDGE, C. H. A review of low intensity laser therapy: parts 1, 2 and 3. **Physiotherapy**, v. 77, n3, p.166-170, 1991.
- KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. São Paulo: Manole, 1998. p.350.
- KUBOTA, J. Effects of diode laser therapy on blood flow in axial pattern flaps in the rat modo. **Lasers Med Sci**. v.17, n.3, p.146-153, 2002.
- LOPES, L. A.; BRUGNERA JR, A. Aplicações clinicas do laser não-cirúrgico. In: BRUGNERA JR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Laser na odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998. p.100-120.
- LOWE, A. S., et al. Effect of low intensity laser (830nm) irradiation on skin temperature and antidromic conduction latencies in the human media nerve: relevance of radiant exposure. **Laser Surg Med**, v.14, p.40-46, 1994.
- LOWDON, I. M. R.; SEABER, V.; URBNIK, J. R. An improved method of recording rat tracks for measurement of the sciatic functional index of De Medinaceli. **J. neuroscience Meth**, v.24, p.279-281, 1988.

- LUNDBORG, G. Enhancing posttraumatic nerve regeneration. **J Periph Nerv Syst.**, v. 7, p.139 –140, 2002.
- MACHADO, A.B. M. **Neuroanatomia Funcional**, 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1993.
- MACKINNON, S. E; HUDSON, A. R; HUNTER, D. A. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. **Plastic and Reconstructive surgery**, v. 75, n.3, p. 384:388, 1985.
- MELLO, J. B.; MELLO, G. P. S. Física e aplicações. In: _____. **Laser em odontologia** São Paulo: Santos, 2001. p. 11-18.
- MIDAMBA, E. D.; HAANAES, R. H. Low reactive-level 830nm GaAlAs diode laser therapy (LLLT) successfully accelerates regeneration of peripheral nerves in human. **Laser Ther.**, v.5, p.125-129, 1993.
- MILORO, M., et al. Low-level laser effect on neural regeneration in Gore-Tex tubes. **Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod.**, v.93, n.1, p.27-34, 2002.
- MIRA, JC, Quantitative studies of the regeneration of rat myelinated nerve fibres: variations in the number and size of regenerating fibres after repeated localized freezings. **J. Anat.**, v. 129, p. 77-93, 1979.
- MIRO, L., et al Ruby laser effects on the blood flow in micro vessels. In: CONGRESS LASER OPTOELETRONIC IN MEDICINE. 7., 1986, Berlim,. **Proceedings...** Waidelish: Springer-Verlag, 1986. p. 180-183.
- NISSAN, M.; ROCHKIND, S.; RAZON, N.; BARTAL, A. HeNe laser irradiation delivered transcutaneously: its effect on the sciatic nerve of rats. **Laser Surg. Med.**,v.6, p. 435-438, 1986.
- OLIVEIRA, E. F.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; SELLI, M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. **J. Reconstr Microsurg.**, v. 17, n.1, p. 69-75, 2001.
- OLSON, J. E.; SCHIMMERLING, W.; TOBIAS, C. A. Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells. **Brain res.**, v.204, p. 436-440, 1981.
- PERLMUTTER, G. S. Axillary nerve injury. **Clin Orthop.**, n.368, p. 28-36, 1999.
- PINHEIRO, A. L. B. Interação tecidual: lasers cirúrgicos. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Laseres na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998, p. 45-62.
- PONTINEN, Pekka J. **Low level laser therapy as a medical treatment modality: a manual for physicians, dentists, physiotherapists and veterinary surgeons.** . Tampere (Finland): Art urpo, 1992. 215 p.
- RISTIC, S.; STRAUCH, R. J.; ROSENWASSER, M. P. The assessment and treatment of nerve dysfunction after trauma around the elbow. **Clin Orthop**, n.370, p. 138-153, 2000.

ROCHKIND, S., et al. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. **Laser Surg. Med.**, v. 9, p. 174-182, 1989.

ROCHKIND, S., et al. Electrophysiological effect of HeNe laser on normal and injured sciatic nerve in the rat. **Acta Neurochir.**, v. 83, p.125–130, 1986.

ROCHKIND, S.; OUAKNINE, G. E. New trend in neuroscience: low power laser effect on peripheral and central nervous system. **Neurol Res.**, v.14, p.2–11, 1992.

ROCHKIND, S.; NISSAN, M.; BARR-NEA, L.; RAZON, N.; SCHWARTZ, M.; BARTAL, A. Response of peripheral nerve to He-Ne laser: experiential studies. **Laser Surg Med**, n.7, p. 441-443, 1987a.

ROCHKIND, S.; BARR-NEA, L.; RAZON, N.; BARTAL, A.; SCHWARTZ, M. Stimulatory effect of HeNe dose laser on injured sciatic nerves of rats. **Neurosurgery**, v.20, n.6, p.843-847, 1987b.

ROCHKIND, S. et al. The *in-vivo*-nerve response to direct low-energy laser irradiation. **Acta Neurochir.**, v.94, n.1-2, p.74-77, 1988.

ROCHKIND, S., et al. Effects of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. **Laser Surg Med**. v.28, n.1, p.216-219, 2001.

ROCHKIND, S.; VOGLER, I.; BARR-NEA, L. Spine cord response to laser treatment of injured peripheral nerve. **Spine**. v.15, n.1, p.06-10, 1990.

SANTOS, P. M. A functional model system of an hypoxic nerve injury and its evaluation. **Laryngoscope**, v.110, n.5 Pt 1, p. 845-53, 2000.

SCHAFFER, M., et al. Effects of 780nm diode laser irradiation on blood microcirculation: preliminary findings on time-dependent T1-weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). **J. Photochem Photobiol B**. v.54, n.1, p.55-60, 2000.

SCHAWLON, A.; TOWNES, C.H. Infrared and optical maser. **Phys. Review**, v.102, p.1940-1947, 1958.

SCHINDL, A. L., et al. Low-intensity laser therapy: a review. **Journal of Investigative Medicine**, v.48, n.5, p.312-326, 2000.

SCHWARTZ, S. I. **Principles of Surgery**. 7th. ed. New York: McGraw-Hill; 1999. p. 2048-53.

SHAMIR M. H., et al. Double-blind randomized study evaluating regeneration of the rat transected sciatic nerve after suturing and postoperative low-power laser treatment. **J Reconstr Microsurg.**, v.17, p.133-137, 2001.

SHIN, D. H., et al. Growth-associated protein-43 is elevated in the injured rat sciatic nerve after low power laser irradiation. **Neurosci Lettv.**, v. 344, p.71–74, 2003.

STAINKI, Daniel Roulim et al . A radiação laser arseneto de gálio (AsGa) na regeneração do nervo radial submetido a reparação cirúrgica secundária. **Braz. J. Vet. Res. Anim.**

Sci., São Paulo, v. 35, n. 1, 1998. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95961998000100007&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 08 Nov 2006.

TOWNSEND PL. Microsurgical techniques in reconstructive surgery. In: KEEN, G.; FARNDON, J. R. eds. **Operative Surgery and Management**. 3rd. ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann, 1994. p. 434-435.

TRELLES, M.A.; MAYAYO, E; MIRO, L.; RIGAU, J.; BAUDIN, G.; CALDERHEAD, G. The action of low reactive level laser therapy (LLLT) on mast cells: a possible pain relief mechanism examined. **Laser Ther.** v.1, p.27-30, 1989 a.

TRELLES, M. A.; MESTER, A.; RIGAU, J.; MAYAYO, E.; RESA, A.; LAPIN, R. Clinical use of He-Ne laser for wound healing. **J. Bloodless Med Surg.**, v.7, n.1, p.3-7, 1989 b.

TRUMBLE, T. E. Peripheral nerve injury: pathophysiology and repair. In: FELICIANO, D. V.; MOORE, E. E., MATTOX, K. L. (eds.). **Trauma**. 4th. ed. New York: McGraw-Hill; 2000. 1047-1055.

TURNER, J, HODE, L **Laser therapy: clinical practice and scientific background**. Grangesberg, Sweden: Prima Books, 2003. p.380–434.

UMPHREAD, D.A. **Fisioterapia Neurológica**. 1ed. Editora Manole, São Paulo: 1994.

WALKER J.B. Temporary supression of clonus in humans by brief photobiostimulation. **Brain res.**, v.344, p. 281-285, 1985.

WALSH, D. M.; LOWE A. S.; BAXTER G. D. An a investigation of the effect od 820nm laser irradiation upon nerve conduction in the frog sciatic nerve in vitro. **Irish Journal of Medicine Science**. v.24, p.23-34, 1995.

WU, W. H., et al. Failure to confirme of light-evoked response of peripheral nerve to low power helium-neon laser light stimulus. **Brain res.** v. 401, p. 407-408. 1987.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UNIVAP



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º L180/2005/CEP, intitulado “*Efeito da terapia com laser de 830 nm, operando em baixa potência, sobre o processo de reparação neuronal em ratos sobre pontos de acupuntura*”, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Renata Amadei Nicolau, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA/Junho de 1991) e segue as Normas Para a Prática Didático-Científica da Vivisseção de Animais (Lei 6638 de 08/05/1979) sendo, portanto, **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.


São José dos Campos, 18 de novembro de 2005.

PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIVAP

PROTOCOLO

Recebi de Renata Amadei Nicolau as alterações do projeto protocolado "LI80/2005/CEP" para ser encaminhado ao comitê de ética da UNIVAP.

São José dos Campos, 16 de outubro de 2006.


VALÉRIA MAEDA A. SILVA
Secretária do IP&D

APÊNDICE A – RESULTADOS ESTATÍSTICOS DO IFC

ÍNDICE FUNCIONAL DO CIÁTICO			
RESULTADOS ESTATÍSTICOS INTRA GRUPOS			
GRUPO A - CONTROLE			
Pré-operatório	vs.	7 dias pós-operatório	? p<0,001 *
7 dias	vs.	14 dias pós-operatório	? N.S.
14 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? p<0,001 *
7 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? p<0,001 *
GRUPO B - TRAT. CIÁTICO			
Pré-operatório	vs.	7 dias pós-operatório	? p<0,001 *
7 dias	vs.	14 dias pós-operatório	? N.S.
14 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? N.S.
7 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? p<0,001 *
GRUPO C - TRAT. COLUNA			
Pré-operatório	vs.	7 dias pós-operatório	? p<0,001 *
7 dias	vs.	14 dias pós-operatório	? N.S.
14 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? N.S.
7 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? p<0,001 *
GRUPO D - TRAT. CIÁTICO E COLUNA			
Pré-operatório	vs.	7 dias pós-operatório	? p<0,001 *
7 dias	vs.	14 dias pós-operatório	? N.S.
14 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? N.S.
7 dias	vs.	21 dias pós-operatório	? p<0,001 *

Quadro 1 – Resultados Estatísticos Intra Grupos do IFC.

ÍNDICE FUNCIONAL DO CÍATICO			
RESULTADOS ESTATÍSTICOS INTER GRUPOS			
Controle pré-operatório	vs.	Pré-operatório Cíatico	? N.S.
Controle pré-operatório	vs.	Pré-operatório Coluna	? N.S.
Controle pré-operatório	vs.	Pré-operatório Coluna e Cíatico	? N.S.
Controle 7 dias	vs.	Cíatico 7 dias	? N.S.
Controle 7 dias	vs.	Coluna 7 dias	? N.S.
Controle 7 dias	vs.	Cíatico e Coluna 7 dias	? N.S.
Controle 14 dias	vs.	Cíatico 14 dias	? p<0,05
Controle 14 dias	vs.	Coluna 14 dias	? N.S.
Controle 14 dias	vs.	Cíatico e Coluna 14 dias	? p<0,05
Controle 21 dias	vs.	Cíatico 21 dias	? N.S.
Controle 21 dias	vs.	Coluna 21 dias	? N.S.
Controle 21 dias	vs.	Cíatico e Coluna 21 dias	? N.S.

Quadro 2 – Resultados Estatísticos Inter Grupos do IFC.