



Acta Ortopédica Brasileira

ISSN: 1413-7852

actaortopedicabrasileira@uol.com.br

Sociedade Brasileira de Ortopedia e
Traumatologia
Brasil

Leitão Sene, Giovana Almeida; Fernandes de Almeida Sousa, Fausto; Sassoli Fazan, Valéria;
Barbieri, Cláudio Henrique

EFEITOS DA LASERTERAPIA NA REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA

Acta Ortopédica Brasileira, vol. 21, núm. 5, 2013, pp. 266-270

Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia

São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65728533006>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

EFEITOS DA LASERTERAPIA NA REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA

EFFECTS OF LASER THERAPY IN PERIPHERAL NERVE REGENERATION

GIOVANA ALMEIDA LEITÃO SENE¹, FAUSTO FERNANDES DE ALMEIDA SOUSA¹, VALÉRIA SASSOLI FAZAN¹, CLÁUDIO HENRIQUE BARBIERI¹

RESUMO

Objetivo: Analisar o efeito do laser nas doses de 5, 10 e 20J/cm² na reparação do nervo fibular de ratos após esmagamento. Os resultados foram avaliados por meio da análise funcional da marcha e de parâmetros morfométricos. **Métodos:** Lesão por esmagamento controlado do nervo fibular comum direito e submetidos a intensidades crescentes (G1: sem irradiação; G2: *sham*; G3: 5J/cm²; G4: 10J/cm²; G5: 20J/cm²) de irradiação do laser diretamente sobre o local da lesão por 21 dias consecutivos. A análise funcional da marcha foi realizada a intervalos semanais, tendo sido medido o índice funcional do fibular (IFF). Os animais foram sacrificados nos 21º dia pós-operatório para remoção do nervo fibular, que foi preparado para a análise morfométrica. **Resultados:** Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) dos valores da análise de marcha (IFF) entre os grupos em qualquer momento de avaliação para o parâmetro. A área total da secção transversal do nervo foi significativamente maior no grupo 2 do que nos grupos 3 e 4, enquanto a densidade de fibras foi significativamente maior no grupo 4 do que no demais grupos. **Conclusão:** A irradiação com o laser AsGaAl de baixa potência não acelerou a regeneração do nervo fibular com nenhuma das doses utilizadas. **Nível de Evidência I, Estudos terapêuticos - Investigação dos Resultados do Tratamento.**

Descritores: Regeneração nervosa. Síndrome de esmagamento. Nervo fibular. Terapia a laser.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the influence of dose of low power lasertherapy (AsGaAl, 830 nm) on the regeneration of fibular nerve on rats after crush, by means of the functional gait analysis and histomorphometric parameters. **Methods:** Controlled crush injury of the right common fibular nerve, immediately followed by increasing doses (G1: no irradiation; G2: simulated; G3: 5J/cm²; G4: 10J/cm²; G5: 20J/cm²) laser irradiation directly on the lesion site for 21 consecutive days. Functional gait analysis was carried out at weekly intervals by measuring the peroneal/fibular functional index (PFI). The animals were killed on the 21st postoperative day for removal of the fibular nerve, which was prepared for the histomorphometric analysis. **Results:** The PFI progressively increased during the observation period in all groups, without significant differences between them ($p > 0.05$). The transverse nerve area was significantly wider in group 2 than in groups 3 and 4, while fiber density was significantly greater in group 4 than in all remaining groups. **Conclusion:** The low power AsGaAl laser irradiation did not accelerate nerve recovery with any of the doses used. **Level of Evidence I, Therapeutic Studies Investigating the Results of Treatment.**

Keywords: Nerve regeneration. Crush syndrome. Peroneal nerve. Laser therapy.

Citação: Sene GAL, Sousa FFA, Fazan VS, Barbieri CH. Efeitos da laserterapia na regeneração nervosa periférica. Acta Ortop Bras. [online]. 2013;21(5): 266-70. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Citation: Sene GAL, Sousa FFA, Fazan VS, Barbieri CH. Effects of laser therapy in peripheral nerve regeneration. Acta Ortop Bras. [online]. 2013;21(5): 266-70. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

A recuperação das lesões nervosas periféricas tem sido estudada em condições experimentais, principalmente através de técnicas de eletrofisiologia, histologia, morfometria e avaliação funcional da marcha. Entretanto, a correlação entre morfometria, a avaliação funcional da marcha e dose adequada do laser ainda não são conhecidos. Por outro lado, é bem conhecido atualmente que agentes físicos, como a eletricidade, campos magnéticos, ultrassom terapêutico e laser, podem influenciar positivamente o resultado do processo

cicatrizial e de regeneração de diferentes tecidos, como a pele, o osso, os músculos e tendões e os nervos periféricos.¹⁻³ Dentre os recursos físicos, o laser é, talvez, o menos conhecido, no que se refere aos seus efeitos sobre os tecidos biológicos e aos parâmetros de utilização, como dose, comprimento de onda, modo contínuo²⁻⁴ ou pulsado,^{1,5} duração do tratamento⁶ e local de aplicação. O emprego da irradiação com o laser (Arseneto de Gálio, AsGa) pulsado de baixa potência¹ (comprimento de onda de 904 nm, e dose de 4 J/cm²) sobre o nervo ciático submetido a lesão

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

1. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia pelo Programa de Pós-Graduação do Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Correspondência: Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. Campus Universitário. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 14049-900. chbarbie@fmrp.usp.br

Artigo recebido em 09/01/2013, aprovado em 05/02/2013.

por esmagamento, em ratos e concluíram que o laser de baixa potência efetivamente acelera a regeneração dos nervos lesados, tendo potencial para aplicação clínica em humanos. Resultados semelhantes foram obtidos⁷ em investigações como o uso da irradiação com laser AsGaAl de baixa intensidade (comprimento de onda 830 nm, dose de 20 J/cm², e modo contínuo) num modelo de lesão do nervo fibular comum direito do rato, irradiando alternativamente o local da lesão, a região de emergência das raízes nervosas formadoras do tronco ciático na coluna vertebral ou ambos. Avaliaram os resultados pela análise funcional da marcha; demonstraram que a irradiação com o laser, tanto na região da lesão como na coluna vertebral, acelerou a regeneração já no 14º dia pós-operatório, em comparação com ao não-tratamento. Resultados contrários foram encontrados em relação ao uso do laser terapêutico em dose baixa e modo pulsado.^{1,5,8,9}

A dose de irradiação com o laser de baixa potência para estimular a regeneração nervosa é um parâmetro muito variável nas várias investigações consultadas. Assim, encontram-se doses de 28 J/cm², em aplicações diárias mais longas (vários minutos), até 140 J/cm², em aplicações diárias mais curtas (alguns segundos), aparentemente não havendo um consenso sobre o que é melhor.^{4,5,7,9,10} Portanto, esse é um parâmetro ainda em aberto, que necessita ser esclarecido antes que se possa utilizar a irradiação com o laser na prática clínica. A análise funcional da marcha é, atualmente, empregada em vários experimentos para medir índice de recuperação funcional e tem apresentado resultados satisfatórios quanto a sua eficiência e reprodutibilidade.^{1,2,3,7,11}

A avaliação funcional passou a ser um dos métodos de estudo da regeneração do nervo periférico em animais, desde a descrição do índice funcional do ciático^{12,13} que mais tarde foi modificado.¹⁴ Esse método tem a vantagem de não ser invasivo, além de mostrar estreita correlação com o grau de regeneração morfológica, medido pela morfometria, e pode ser empregado em substituição aos métodos invasivos.¹⁵

Para sua execução, são obtidas as impressões das pegadas das patas traseiras dos animais, nas quais são medidos alguns parâmetros, introduzidos em uma fórmula matemática, cujo resultado é o índice funcional do ciático (IFC), que é um indicador negativo da função nervosa, variando de zero (0) a -100, zero significando ausência de disfunção e -100, disfunção completa.

Este estudo teve como objetivo encontrar a dose mais adequada para a obtenção dos eventuais efeitos benéficos do laser sobre o tecido nervoso periférico.

MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, em 11 de fevereiro de 2008, com o protocolo nº. 158/2007.

Foram utilizados 50 ratos da raça *Rattus Norvegicus Albinus*, da linhagem Wistar, com massa corporal variando entre 250 a 300g, fornecidos pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. Esses animais foram mantidos em grupos de três em gaiolas coletivas de contenção, a temperatura ambiente, no Biotério do Laboratório de Bioengenharia da FMRP/ USP, com livre acesso a água e ração padrão.

No início do experimento os animais foram pesados, identificados de acordo com o tipo de experimentação pré-estabelecida e, distribuídos em grupos, compostos por 10 animais cada, como se segue: grupo 1: sem tratamento (n=10); grupo 2: sham, (n=10); grupo 3: lesão por esmagamento, irradiação efetiva com intensidade de 5 J/cm² (N=10); grupo 4: lesão por esmagamento, irradiação efetiva com intensidade de 10 J/cm²; grupo 5: lesão por esmagamento, irradiação efetiva com intensidade de 20 J/cm².

Cirurgia

Após a pesagem, os animais foram submetidos a uma anestesia geral, administrada por via intraperitoneal, por meio de uma mistura de ketamina (1 ml/kg) e xilazina (1,5 ml/kg) e em seguida foram realizados cuidados como a tricotomia e anti-sepsia no local cirúrgico do membro inferior direito para assim abordarmos o nervo fibular comum e realizarmos a técnica de esmagamento. Os animais foram posicionados em decúbito ventral, com as patas traseiras e dianteiras fixadas em abdução e foi realizada a incisão na região lateral da coxa, do trocânter maior até o côndilo lateral do fêmur. A musculatura foi rompida por divulsão até a visualização do nervo ciático e os seus três ramos: fibular comum, tibial e sural. A compressão do fibular teve o comprimento de 5 mm, peso de 5Kgf e tempo de esmagamento padronizado em 10 minutos. Após o esmagamento o nervo foi colocado em seu leito, não sendo realizada a sutura dos músculos, somente a sutura da pele com fio de nylon 3-0 e finalizada com os cuidados de higiene e anti-sepsia no local cirúrgico. O esmagamento do nervo fibular foi realizado por meio de uma pinça de pressão especialmente confeccionada para este fim. (Figura 1A e B) Esta pinça produz uma lesão estática fixa de 5.000g, e foi previamente calibrada na Máquina Universal de Ensaio (marca EMIC®, modelo DL 10000). A irradiação laser foi realizada diariamente, diretamente sobre a lesão do nervo fibular, (Figura 2) o protocolo de tratamento foi iniciado no primeiro dia pós-operatório. Foi utilizado um equipamento de uso corrente na prática clínica, (Physiolux Dual, BIOSET®) com os seguintes parâmetros: potência contínua de 30 mW; área do feixe de 0,02 cm²; dosimetria de 5, 10 e 20 J/cm² (conforme o grupo de animais); e comprimento de onda de 828,43 nm. O laser utilizado foi o de baixa intensidade de arseneto de gálio e alumínio (AsGaAl), pelo método direto transcutâneo pontual, uma vez ao dia, por 21 dias consecutivos.

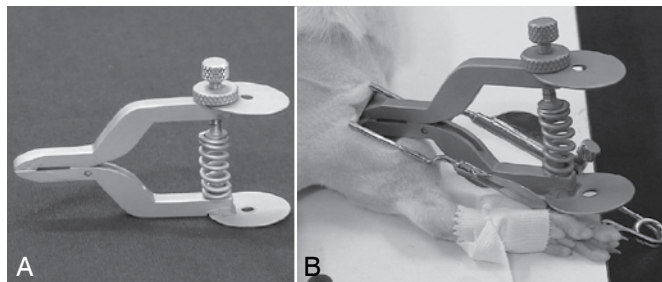


Figura 1. (A) Pinça de esmagamento; (B) Esmagamento do nervo fibular.

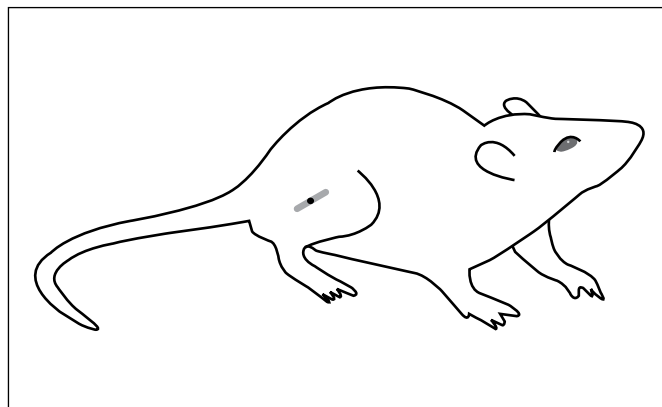


Figura 2. Esquema demonstrando o local da irradiação efetiva e simulada.

Avaliação funcional da marcha

Para avaliação funcional da marcha¹⁶ foram analisadas as impressões das pegadas, registradas por meio de uma *webcam*, com capacidade de 1,3 *megapixels*, fixada a esteira de acrílico com velocidade controlada, confeccionada em lona de policarbonato transparente, com dimensões: corredor de 850 mm de comprimento, 1090 mm de altura e 400 mm de largura e uma casinhola de metal no final do percurso (Insight®) e acoplada a um computador portátil por meio de um cabo USB. As imagens captadas foram analisadas por meio do *software* Análise Funcional dos Nervos Periféricos - AFNP, (Figura 3) o qual calculou os parâmetros pré-determinados para a avaliação funcional da marcha. Os animais foram previamente colocados para caminhar na passarela de acrílico até a casinhola de metal, com velocidade padronizada em 4m/min, para assim se adaptarem. As impressões das pegadas foram obtidas no pré-operatório, 7° e 14° dias da lesão inicial. Nas pegadas foram medidos os parâmetros: E: experimental; N: normal; PL: comprimento da pata; TS: espalhar total dos dedos; IT: espalhar total dos dedos intermediários. Estes mesmos dados foram lançados na fórmula de Bain et al.¹⁴ as quais forneceram o índice funcional do peroneiro (PFI):

$$PFI = 174,9 \times \frac{EPL - NPL + 80,3 \times ETS - NTS - 13,4}{NPL \quad NTS}$$

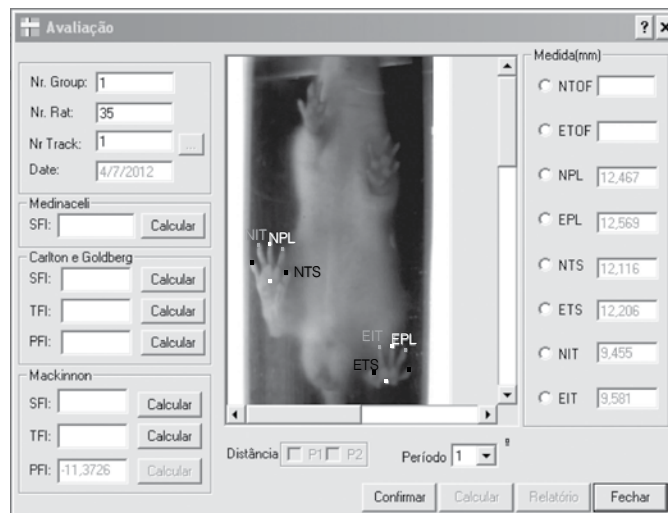


Figura 3. Tela de avaliação do programa AFNP (Avaliação Funcional de Nervos Periféricos).

Análise Morfométrica

O processo de análise Morfométrica, desde a preparação do material até a análise dos resultados, foi realizado no Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental da FMRP.

Os animais foram mortos com uma dose maciça de pentobarbital (40 mg/kg) no 21° dia pós-operatório, de acordo com as normas da AVMA (2007) para ratos. O nervo fibular, ramo menor do tronco e objeto do estudo, (Figura 4) foi seccionado até o ponto mais distal possível, quando ele penetra na musculatura da perna, o que compreende um segmento de cerca de 5 mm abaixo do segmento da lesão por esmagamento.

A análise morfométrica foi feita a partir de cortes da porção distal do nervo nos animais dos grupos experimentais, estes foram analisados com um microscópio de luz (Zeiss Axiophoto II) equipado com uma câmera de vídeo (JVC-TK 1270) conectada a um microcomputador alimentado com o programa *KS 400 Measure Interactive* (v. 2.0).

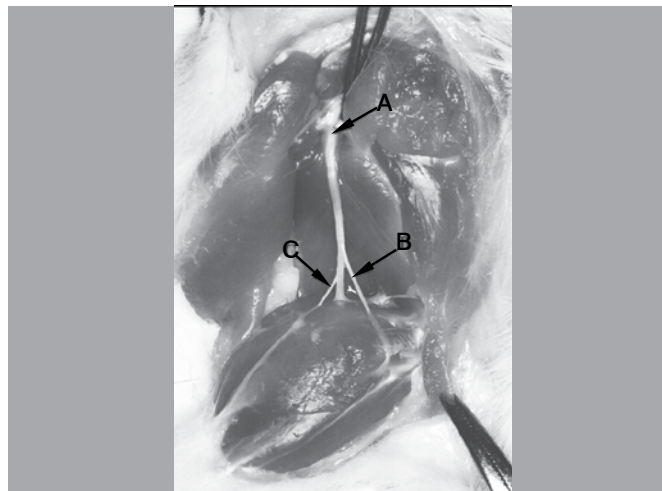


Figura 4. Tronco do nervo ciático e seus 3 ramos. (A) nervo ciático; (B) fibular e (C) tibial.

A seguir as imagens foram capturadas e medida a área do nervo, bem como contados o número total de fibras para o cálculo da densidade de fibras (fibras/mm²). Outros parâmetros, como a densidade de vasos sanguíneos, diâmetros máximo e mínimo das fibras, área da bainha de mielina e razão G (quociente entre o diâmetro axonal e o diâmetro da fibra nervosa) para cada intervalo de diâmetro de fibra foram calculados. Após obtidos os dados estes foram analisados pelo aplicativo SigmaPlot® para apresentação gráfica.

A análise morfométrica das fibras nervosas regeneradas foi realizada de forma que o programa de análise selecionava aleatoriamente 30% das imagens de cada corte. A média dos valores encontrados em cada grupo foi utilizada na análise estatística.

Análise estatística

Os dados obtidos da análise de marcha e dos parâmetros morfométricos foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Levene para verificação, respectivamente, da distribuição dos dados e homogeneidade das variâncias.

Na comparação entre os diferentes grupos estudados (amostras independentes), foi realizada análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni para dados paramétricos ou o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn para dados não paramétricos.

A comparação entre os períodos de avaliação (amostras dependentes) foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas.

Além disso, a análise de variância de dois fatores (Two-way ANOVA) foi realizada para verificar a evolução dos diferentes grupos ao longo do período de avaliação.

Os dados das análises de marcha e de morfometria ainda foram analisados por meio dos testes de correlação de Pearson ou Spearman.

Todos os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do *software* *Statistica 8.0* (Statsoft, Tulsa, OK, 2008) e foram considerados significativos os resultados que apresentaram nível de significância (p) menor que 0,05.

RESULTADOS

O estudo foi realizado em um total de 150 imagens da pegada nos períodos pré-operatório, 7° e 14° dia pós-operatório. Foram avaliadas pela fórmula de IFF¹⁴ a lesão realizada foi o esmagamento do nervo fibular.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) dos valores da análise de marcha (PFI) entre os grupos sem irradiação (G1), sham (G2), 5J/cm² (G3), 10J/cm² (G4), 20J/cm² (G4), em nenhum dos períodos avaliados. (Tabela 1)

Para comparação da evolução da análise de marcha ao longo do tempo entre os diferentes grupos estudados foi calculada a variação em percentual entre o final do experimento (S2) e a avaliação realizada no pré-operatório.

Acompanhando a ausência de resultados significativos entre os grupos assim como entre os períodos de avaliação a comparação da evolução da análise de marcha também não mostrou variações significativas entre os grupos.

Em relação aos parâmetros morfométricos avaliados (Tabela 2) a área do nervo mostrou diferenças significativas entre os grupos estudados. Os animais que receberam irradiação simulada (placebo) apresentaram uma área superior em relação a aqueles que receberam irradiação laser de 5J/cm² e 10 J/cm². Entre os demais grupos avaliados não houve diferença significativa em relação a área do nervo fibular.

Quanto a densidade total o grupo que recebeu 10J/cm² de irradiação laser apresentou valores significativamente superiores comparados a todos os demais grupos. Já na área de vasos não foi observada diferença significativa.

O valor-p (grupos) representa o nível de significância obtido após realização do teste de Kruskal-Wallis ou ANOVA na comparação entre os diferentes tratamentos (Lesão, Lesão + placebo, Lesão + 5J/cm², Lesão + 10J/cm², Lesão + 20J/cm²) para cada um dos parâmetros morfométricos (Área, Densidade total e Área vasos). Nas variáveis com $p < 0,05$, letras iguais indicam grupos em que não foram observadas diferenças significativas após o teste de múltiplas comparações de Dunn ou Bonferroni¹.

A correlação dos parâmetros morfométricos e a análise de marcha não mostrou diferença estatística significativa. (Tabela 3)

DISCUSSÃO

Diversos recursos tem sido utilizados para acelerar ou melhor obter a regeneração nervosa, podem ser utilizados em conjunto com técnicas de reparo cirúrgico ou isoladamente, dentre estes destaca-se o laser terapêutico com diversificação dos diodos.

O rato foi escolhido como animal de experimentação, pois as estruturas morfológicas de seus nervos periféricos se assemelham muito as dos nervos dos seres humanos. Além disso, a regeneração nervosa natural desses animais é muito rápida e pode atingir o normal.¹⁷

O procedimento cirúrgico, para a lesão do nervo fibular utilizando a pinça, é de fácil aprendizado sem necessidade de equipamentos microcirúrgicos, e teve em média 20 minutos de duração para cada animal. A lesão por esmagamento foi produzida em todos os animais por uma pinça esmagadora de carga fixa (5kgf) proporcionando a homogeneidade das lesões.¹⁶ Esse método não provoca o estiramento do nervo, pois o mesmo não precisa ser exposto, sendo esmagado no seu próprio leito, diminuindo assim mais uma variável, que é o estiramento nervoso.

A regeneração axonal inicia-se poucas horas após a lesão. De cada axônio, partem de 2 a 3 brotos que seguirão até o órgão-alvo, mediados por fatores tróficos secretados pelas células de Schwann, fenômeno conhecido na literatura. Sendo assim, neste estudo, a irradiação foi realizada no 1º PO com intuito de auxiliar esse mecanismo, mesmo desconhecido. Foi utilizado o laser de AsGaAl com comprimento de onda de 830 Nm, modo contínuo, com doses de 5 J/cm², 10 J/cm² e 20J/cm², como recurso terapêutico isolado, a fim de promover a regeneração desejável.

Não houve problemas durante a aplicação do laser, pois o rato estava imobilizado enquanto a irradiação era feita de acordo com o grupo experimental, o tempo máximo de aplicação foi de 40 segundos.

Tabela 1. Comparações PFI no pré-operatório (pré-op), 1ª semana (S1) e 2ª semana (S2).

Grupo	Análise de marcha			Valor-p (tempo)	Evolução	Valor-p (grupos x tempo)
	Pré-op	S1	S2			
Sem irradiação	-37,9 ± 14,0	-39,2 ± 7,3	-22,1 ± 26,8	0,091	-10,8% ± 92,9%	0,139
sham	-37,1 ± 17,3	-32,5 ± 19,3	-25,0 ± 13,6	0,238	9,2% ± 81,4%	
5J/cm ²	-36,2 ± 17,0	-33,9 ± 31,0	-37,1 ± 14,8	0,956	-21,1% ± 60,7%	
10 J/cm ²	-29,5 ± 11,0	-40,8 ± 31,7	-41,5 ± 21,2	0,381	-68,7% ± 115,5%	
20 J/cm ²	-22,0 ± 36,3	-41,7 ± 13,6	-39,6 ± 5,4	0,073	-17,6% ± 52,7%	
Valor-p (grupos)	0,399	0,851	0,058		0,334	

Tabela 2. Área, densidade total de fibras e área dos vasos.

Grupo	Parâmetros morfométricos		
	Área (m)	Densidade total	Área vasos
Sem irradiação	168174,1 ± 36896,6 ab	15127,4 ± 2273,0 b	1829,3 ± 1626,2
sham	288416,8 ± 228442,5 a	11101,7 ± 3402,0 b	4121,4 ± 4938,4
5J/cm ²	144951,0 ± 28170,1 b	12678,6 ± 3015,1 b	3535,5 ± 2368,5
10 J/cm ²	131144,3 ± 21115,3 b	26698,2 ± 15286,7 a	3304,8 ± 1893,8
20 J/cm ²	152786,8 ± 45383,2 ab	12748,1 ± 4061,7 b	2859,7 ± 1499,4
Valor-p (grupos) ¹	0,023	< 0,001	0,468

Tabela 3. Correlação entre parâmetros morfométricos e IFF.

Análise de marcha	Parâmetros morfométricos		
	Área (m)	Densidade total	Área vasos
Pré-Op	-0,147	0,015	-0,014
	p = 0,335	p = 0,924	p = 0,927
S1	-0,002	-0,102	-0,023
	p = 0,992	p = 0,505	p = 0,880
S2	0,262	-0,133	-0,122
	p = 0,082	p = 0,384	p = 0,425

Obs: Os valores representam o coeficiente de correlação de Pearson ou Spearman. Correlações significativas ($p < 0,05$) podem ser interpretadas de acordo com a intensidade da correlação pelo valor do coeficiente (r): $|r| \leq 0,5$ - correlação fraca; $0,5 < |r| \leq 0,8$ - correlação moderada; $r > 0,8$ - correlação forte.

A irradiação laser de baixa intensidade tem sido investigada por vários autores que relatam seus benefícios na regeneração do tecido nervoso. O tratamento com o laser promove uma recuperação funcional significativa,¹⁰ aumenta a quantidade de tecido conectivo (colágeno), aumenta o número de fibroblasto no local da lesão e o de axônios mielinizados acelerando a condução nervosa,⁴ acelera a cura, induz uma recuperação mais rápida do trofismo muscular¹⁰ e atua tanto na regeneração quanto na prevenção da degeneração das fibras nervosas.

Já em outros estudos^{5,8} não foram observados efeitos positivos da utilização do laser de baixa intensidade nas lesões nervosas. Neste estudo corroborando com tais achados, em relação à irradiação laser de baixa intensidade, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos irradiados com 5J/cm², 10J/cm² e 20J/cm², bem como não houve diferenças quando estes grupos experimentais foram comparados com os grupos lesão sem tratamento e lesão irradiação simulada (ou placebo).

Alguns fatores como o pouco tempo de aplicação do laser, que foi de sete dias consecutivos e a emissão pulsada do laser de baixa intensidade podem ter influenciado a ausência de efeito do laser na regeneração nervosa.¹⁰

Já em nosso estudo não foi encontrada nenhuma melhora na regeneração nervosa periférica através da avaliação funcional da marcha e análise morfométrica nos grupos tratados com laser de AsGaAl (830nm), talvez pela utilização de doses baixas, de 5 a 20J/cm².

A avaliação funcional da marcha é o método muito utilizado em nosso meio, em investigações do nervo ciático e fibular de ratos, mostrando uma clara correlação entre este e a avaliação por morfometria do nervo.^{2,9,11,16-18}

Após a lesão do nervo fibular os padrões da marcha são alterados assim, os extensores dos dedos, os dorsiflexores e os eversores da pata são desnervados, portanto não há oposição dos dedos e flexão da pata que gera encurtamento do comprimento da pegada. A distância entre os dedos intermediários é relativamente inalterada devido à função normal dos intrínsecos da pata. Somente uma ligeira diminuição do espalhar dos dedos é notada.

REFERÊNCIAS

- Endo C, Barbieri CH, Mazzer N, Fazan VS. A laserterapia de baixa intensidade acelera a regeneração de nervos periféricos. *Acta Ortop Bras.* 2008;16(5):305-10.
- Marcolino AM, Barbosa RI, Neves LMS, Vinas TS, Duarte DTB, Mazzer N, et al. Laser de baixa intensidade (830 nm) na recuperação funcional do nervo isquiático de ratos. *Acta Ortop Bras.* 2010;18(4):207-11.
- dos Reis FA, Belchior AC, de Carvalho Pde T, da Silva BA, Pereira DM, Silva IS, et al. Effect of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. *Lasers Med Sci.* 2009;24(5):741-7.
- Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. *Lasers Surg Med.* 1989;9(2):174-82.
- Bagis S, Comelekoglu U, Coskun B, Milcan A, Buyukakilli B, Sahin G, et al. No effect of GA-AS (904 nm) laser irradiation on the intact skin of the injured rat sciatic nerve. *Lasers Med Sci.* 2003;18(2):83-8.
- Anders JJ, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy promotes regeneration and functional recovery of injured peripheral nerve. *Neurol Res.* 2004; 26(2):233-9.
- Sousa FFA, Andraus RAC, Barbieri CH, Mazzer N. Influência da irradiação do laser na regeneração nervosa. *Acta Ortop Bras.* 2009; 17(6):331-5.
- Wu WH, Ponnudurai R, Katz J, Pott CB, Chilcoat R, Uncini A, et al. Failure to confirm report of light-evoked response of peripheral nerve to low power helium-neon laser light stimulus. *Brain Res.* 1987;401(2):407-8.
- Cömelekoglu U, Bağış S, Büyüakilli B, Sahin G, Erdoğan C, Kanik A. Acute electrophysiological effect of pulsed gallium-arsenide low-energy laser irradiation on isolated frog sciatic nerve. *Lasers Med Sci.* 2002;17(1):62-7.
- Gigo-Benato D, Geuna S, de Castro Rodrigues A, Tos P, Fornaro M, Boux E, et al. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurorrhaphy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. *Lasers Med Sci.* 2004;19(1):57-65.
- Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Yamasita AC, Barbieri G. Is the Sciatic Functional Index always reliable and reproducible? *J Neurosci Methods.* 2008;170(2):255-61.
- de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol.* 1982;77(3):634-43.
- de Medinaceli L, DeRenzo E, Wyatt RJ. Rat sciatic functional index data management system with digitized input. *Comput Biomed Res.* 1984;17(2):185-92.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83(1):129-38.
- Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg.* 2001;17(1):69-75.
- Monte-Raso VV, Barbieri G, Mazzer N, Fonseca Mde C, Barbieri CH. A new treadmill-type motorized walking belt machine for video recording of the rat's gait and sciatic functional index measurement. A comparative study with other methods. *J Neurosci Methods.* 2010;189(1):23-9.
- Mazzer PYCN, Barbieri CH, Mazzer N, Fazan VS. Avaliação qualitativa e quantitativa das lesões agudas por esmagamento do nervo isquiático do rato. *Acta Ortop Bras.* 2006;14(4):220-5.
- Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods.* 2003;129(2):183-90.

A avaliação funcional da marcha no pré-operatório não atingiu o valor zero, como se era esperado, nem oscilação de cerca de - 10 como encontrado em outros estudos.^{9,18}

No 7º e 14º não houve diferença significativa entre os grupos, embora tenhamos observado que os grupos G1 e G2, não submetidos à laserterapia, apresentaram valores de IFF médios menores que os demais grupos.

Em relação à análise dos parâmetros morfométricos avaliados a área do nervo mostrou diferenças significativas entre os grupos estudados, O G2, animais que receberam irradiação simulada (placebo), apresentaram uma área superior em relação a aqueles que receberam irradiação laser de 5J/cm² e 10 J/cm². Quanto a densidade total o grupo que recebeu 10J/cm² de irradiação laser apresentou valores significativamente superiores comparados a todos os demais grupos.

Pode-se inferir que embora o uso do laser de baixa intensidade seja amplamente utilizado clinicamente, seus valores e eficácia terapêuticos ainda são controversos, pois a falta do conhecimento dos mecanismos aumenta esta falta de padronização. E ainda, grande parte dos estudos não é conclusiva e indicam que mais pesquisas precisam ser realizadas nessa área.

CONCLUSÃO

A utilização do laser AsGa (830nm) de baixa intensidade, em diferentes doses, não promoveu recuperação funcional no nervo fibular submetido a esmagamento, os resultados obtidos pela análise funcional da marcha (IFF) e estudos histo-morfométricos demonstraram que tal recurso não foi capaz de promover resultados benéficos na regeneração nervosa.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da Universidade de São Paulo, pela disponibilidade para realização da morfometria deste estudo. À FAPESP pela concessão do auxílio pesquisa.