



EFEITO DO LED NA LESÃO NERVOSA POR ESMAGAMENTO DO NERVO CIÁTICO: MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS

EFFECT OF LED ON NERVOSA INJURY BY SCARING THE SCIENCE NERVOUS: EXPERIMENTAL MODEL IN RATS

Marcelo Henrique Factor Carandina¹

RESUMO: Estudar a influência das aplicações do LED na recuperação do nervo ciático de ratos por meio da análise funcional da marcha e análise histológica. Foram utilizados 24 ratos machos adultos com peso médio de 400 (DP=21) gramas. Dezenove animais foram submetidos ao esmagamento do nervo ciático por 30 segundos, após, foram divididos em dois grupos. Grupo tratamento: nove animais submetidos a irradiação com LED (625nm, 4J/cm², por 4 minutos) por dez dias consecutivos; Grupo placebo: 10 animais submetidos ao procedimento anterior porém com o aparelho desligado, já os cinco animais saudáveis formaram o grupo controle. Para a avaliação dos resultados foi utilizado o índice funcional do ciático (IFC) obtido antes do esmagamento, no 7^o, 14^o, e 21^o pós-operatório. Após o sacrifício dos animais, o nervo ciático, juntamente com o músculo adjacente, foi removido e após a inclusão, corado com Hematoxilina e eosina, em seguida foram analisados em microscópio óptico. Os dados histológicos foram apresentados de forma descritiva, e para comparação do IFC foi utilizado o teste *t* de Student, com significância em 5%. Para valores do IFC, na comparação tratamento e placebo, houve diferença no 7^o pós-operatório ($p=0,024$), nos demais não houve diferença ($p=0,705$ e $p=0,857$). A análise histológica mostrou sinais de processo inflamatório crônico e desorganização estrutural, nos grupos tratamento e placebo, quando comparados ao grupo controle. Com base nos dados acima apresentados, o LED, nos parâmetros utilizados, não apresentou diferenças em relação ao tratamento placebo, e ambos não retornaram a condição dos nervos saudáveis.

¹ Graduado em Fisioterapia pela Universidade Estadual de Londrina e Residência em Ortopedia e Traumatologia no Esporte pela UNIFESP/CETE

Palavras-chave: Índice Funcional do Ciático; Luz de Baixa Potencia; Lesão Nervosa Periférica

ABSTRACT: To study the influence of LED applications on the recovery of the sciatic nerve of rats through functional gait analysis and histological analysis. Twenty-four adult male rats with an average weight of 400 (SD = 21) grams were used. Nineteen animals were submitted to crushing of the sciatic nerve for 30 seconds, after, they were divided into two groups. Treatment group: nine animals irradiated with LED (625nm, 4J / cm², for 4 minutes) for ten consecutive days; Placebo group: 10 animals submitted to the previous procedure but with the device turned off, the five healthy animals formed the control group. The sciatic functional index (CSI) obtained before crushing was used to evaluate the results, at the 7th, 14th, and 21th postoperative days. After the animals were sacrificed, the sciatic nerve, along with the adjacent muscle, was removed and after inclusion, stained with hematoxylin and eosin, were then analyzed under an optical microscope. The histological data were presented in a descriptive way, and for the comparison of the IFC, Student's t-test was used, with a significance of 5%. For the IFC values, in the comparison treatment and placebo, there was difference in the 7th postoperative period ($p = 0.024$), in the others there was no difference ($p = 0.705$ and $p = 0.857$). Histological analysis showed signs of chronic inflammatory process and structural disorganization, in the treatment and placebo groups, when compared to the control group. Based on the data presented above, the LED, in the parameters used, did not present differences in relation to the placebo treatment, and both did not return the condition of the healthy nerves.

Key words: Functional Sciatic Index; Low Power Light; Peripheral Nerve Injury

1. INTRODUÇÃO

A lesão nervosa periférica é alteração clínica comumente encontrada e pode resultar em déficits funcionais a longo tempo (KOKA & HADLOCK, 2001). Nervos periféricos são altamente vulneráveis à pressão e a quantidade do dano depende do nervo envolvido, da magnitude, do tipo de pressão e do tempo em que o nervo ficou comprimido. Uma das causas da compressão nervosa é o estrangulamento e diversos modelos animais têm sido utilizados como meios válidos de estudo dessa afecção neurológica (GROVES et al, 2003; JACOB & CROES, 1998).

Uma lesão nervosa periférica pode ser realizada experimentalmente de diversas

formas, como o esmagamento (compressão), transecção, estiramento e congelamento. Vários estudos 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 et al, 1982; DE MEDINACELI et al, 1984; BAIN, MACKINNON, HUNTER, 1989; DELLON & MACKINNON, 1989; BRIDGE et al. 1994; OLIVEIRA et al, 2001).

Dentre os vários métodos propostos para melhorar a reparação do nervo, a fototerapia tem recebido atenção crescente ao longo das últimas duas décadas. De acordo com o trabalho de T. Karu (1987), existem registros sobre efeitos da radiação eletromagnética em vários comprimentos de onda na região do visível (400nm a 700nm) sobre organismos e células já na metade final do século 19. Embora um relatório pioneiro sobre os efeitos do laser sobre a regeneração de nervos periféricos fora publicado no final da década de 70 (ROCHKIND,1978), foi apenas no final da década de 80 que o interesse científico foi direcionado na abordagem terapêutica para reabilitação neural, levando à publicação de uma série de estudos que demonstraram efeitos positivos da fototerapia na regeneração do nervo (GIGO-BENATO et al, 2005).

Um LED ou LASER são estruturas caracterizadas como diodos emissores de luz. O LASER, entretanto apresenta sofisticação estrutural que é uma cavidade óptica ressonante. A eficácia e aplicabilidade da irradiação LED em ferimentos já foi parcialmente estudada *in vitro* (VINCK et. al, 2003; VINK et. al, 2005) e *in vivo* (MARQUES et. al, 2004). Porém, os efeitos da LED Terapia sobre o desempenho funcional e alterações histológicas do nervo ainda representam desafio a comprovação de sua eficácia. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos da irradiação do LED nos processos de regeneração tecidual e recuperação funcional em uma lesão nervosa periférica em ratos.

2. MÉTODOS

Todos os procedimentos aqui descritos respeitaram os Princípios Éticos na experimentação animal (COBEA, 1991), à Resolução nº 592 de 26 de junho de 1992 do Conselho Federal de Medicina Veterinária e à lei n 9.605 (regulamentada pelo Decreto nº 3.179, de 21 de setembro de 1999), e foram aprovados pelo comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Estadual de Londrina .

O experimento foi realizado no Laboratório de Histologia da Universidade Estadual de Londrina, no qual foram utilizados 24 ratos machos adultos da linhagem *Wistar* fornecidos pelo Biotério do Hospital Universitário do Norte do Paraná da Universidade Estadual de Londrina., com peso médio de 400 gramas (DP=21), divididos em três grupos:

- Tratamento: composto de 9 animais, submetidos a irradiação por Led, comprimento de onda 625 nm, dose 4J/cm² por 4 minutos iniciada no primeiro dia pós-operatório, pelo método transcutâneo pontual e mantida por dez dias consecutivos (referencia e ano).
- Placebo: composto por 10 animais, submetidos ao mesmo procedimento do grupo led, porém com o aparelho desligado.
- Controle: composto por cinco animais sadios, que não foram submetidos a procedimento algum, apenas foi realizada a dissecação do nervo ciático para comparação com os demais grupos.

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com cinco animais cada, colocados em ambiente com temperatura controlada (~22°C), ciclo claro-escuro de 12h (07h00-19h00 – foto período claro sob luz artificial) alimentados com ração-padrão do biotério e *água ad libitum* livremente, até o dia do sacrifício, no 21º dia pós-operatório.

Inicialmente, os animais foram treinados a caminhar por 10 dias consecutivos (10x cada animal) em uma passarela de marcha construída para este fim conforme modelo de De Medinaceli et. al (1982, 1984) para facilitar a coleta das pegadas das traseira, requerido para o cálculo do Índice Funcional do Ciático (IFC). A coleta das pegadas foi realizada no dia do procedimento cirúrgico e repetida aos 7, 14 e 21 dias de pós-operatório.

As impressões das pegadas foram obtidas com auxílio de uma almofada e tinta para carimbo em que as patas impregnadas com tinta deixavam suas impressões em folhas de papel cortadas em tiras de 43 cm de comprimento por 8,5 cm de largura (dimensões da passarela). Os animais, então, caminharam sobre as tiras de papel colocadas na passarela e deixaram, em média, três pegadas de cada pata. As tiras contendo as pegadas foram deixadas secar e com auxílio de um paquímetro as medidas foram lançadas em uma planilha eletrônica a qual possuía a fórmula descrita abaixo, a figura 1 representa os parâmetros medidos no cálculo do IFC.

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

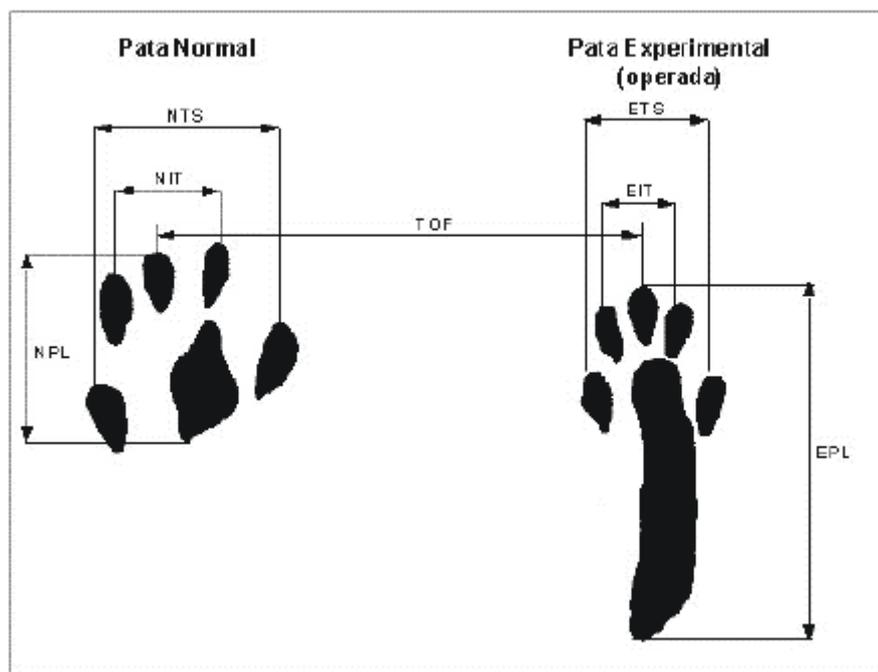


Figura 1. Representação esquemática dos parâmetros medidos para calcular o Índice Funcional do Ciático (IFC). **N:** normal; **E:** experimental; **TS:** abertura total dos dedos (1^aa5^o); **IT:** abertura dos dedos intermediários (2^oa4^o); **PL:** comprimento da pegada.

Inicialmente, para anestesia, foi aplicado 0,2 ml (dose fixa) de cloridrato de xilazina solução aquosa a 2% associado ao cloridrato de cetamina 50mg/ml (0,3 ml/kg de peso do animal). Após a verificação do estado de consciência do animal foi realizada tricotomia da área a ser operada (pata posterior direita) e assepsia com povidine®. Em seguida foi feita uma incisão no lado esquerdo da pele, iniciada acima e medialmente ao grande trocanter e terminando próxima à fossa poplíteia, seguida por dissecação por planos até a exposição do nervo ciático. Com o auxílio de uma pinça hemostática foi realizado o estrangulamento do referido nervo por 30 segundos. Em seguida, a divulsão muscular e o fechamento da incisão foram realizados com pontos de sutura com fio “mononylon” 2-0. Todo o procedimento acima foi efetivado pelo mesmo indivíduo, e utilizando a mesma pinça hemostática. Após o fechamento, foi realizada a assepsia local, seguida de uma dose intraperitoneal de 0,2 ml de dipirona sódica e 0,2 ml de Benzetacil®.

Transcorridos os dias necessários para a conclusão de todos os procedimentos (21 dias), os animais foram sacrificados por meio de inalação de dose letal de éter etílico, em conformidade com o Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina. Posteriormente, o nervo ciático, juntamente com o músculo

adjacente, foi removido e imediatamente fixado em solução de Bouin aquoso. Após 24 horas, os cortes foram colocados em álcool 70 e submetidos a procedimentos de inclusão padrão do laboratório.

Após, as peças incluídas foram submetidas a microtomia. Cortes de 7 μ m de espessura foram obtidos em micrótomo semi-automático Leica RM 2145®. Os cortes obtidos foram colocados em banho-maria à temperatura de 37°C e coletados em lâmina histológica de vidro, e então armazenados em estufa a 37°C por 24 horas, para completa distensão do corte. As lâminas histológicas foram submetidas a coloração por Hematoxila e Eosina, seguida por montagem das lâminas com Bálsamo do Canadá e secagem das lâminas histológicas em estufa a 37°C por três a cinco dias. Os cortes corados foram analisados em microscópio óptico, nos aumentos de 40, 100, 400 e 1000 vezes.

Os dados histológicos foram apresentados de forma descritiva, e para comparação do IFC foi utilizado o teste *t* de Student, com significância em 5%.

3. RESULTADOS

Índice Funcional do Ciático

A média do IFC pré-operatório para o grupo tratamento foi de 1,96, no 7º dia foi de -42,83, melhorando para -52,97 e para -10,45 no 21º dia. Para o grupo placebo, o IFC pré-operatório foi de -4,83, passou a -56,06 no 7º dia, melhorando para -50,07 no 14º dia e -14,12 no 21º dia (conforme tabela 1). A análise demonstrou que aos 7º e 14º dias pós-operatórios o grupo tratamento apresentou valores para o IFC inferiores ao IFC inicial ($p=0,0001$, em ambos); porém no 21º dia o valor do IFC voltou a índice semelhante ao da primeira avaliação ($p=0,135$). O mesmo comportamento foi encontrado para o grupo placebo ($p=0,0001$; $p<0,0001$ e $p=0,168$).

	Pré-operatório	7º dia	14º dia	21º dia
P=0,135		[-----]		
P=0,0001		[-----]		
		[-----]		

		P=0,0001			
Tratamento	Média	1,86	-42,83	-52,97	-10,45
	Desvio padrão	15,23	11,04	22,85	9,27
Placebo	Média	-4,93	-56,06	-50,07	-14,12
	Desvio padrão	17,75	12,41	11,79	16,55

|-----| **p=0,0001**
|-----| **p<0,0001**
|-----|

p=0,168

Tabela 1. Média e desvio padrão dos IFCs do grupo tratamento e placebo do 1º, 7º, 14º, 21º dias.

Ao se comparar os grupos tratamento e placebo, foi verificada diferença apenas no 7º pós-operatório ($p=0,024$) a favor do grupo tratamento, nos demais não houve diferença ($p=0,705$ e $p=0,857$) (conforme figura 2).

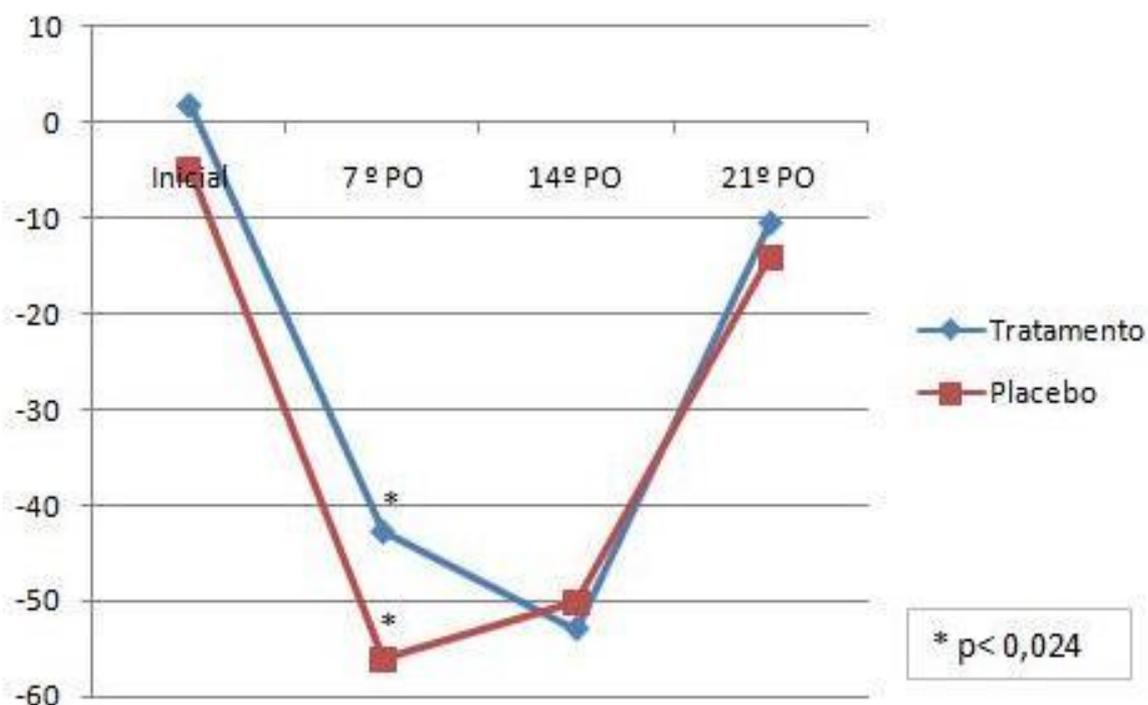


Figura 2. Evolução da média do IFC.

Análise histopatológica

O nervo ciático dos animais de controle apresentou aproximadamente 1,5mm de diâmetro, composto por fibras nervosas mielínicas, paralelas entre si e em padrão ondulado. Entre as fibras é possível observar núcleos ovóides heterocromáticos de células de Schwann e células do endoneuro, dispostos paralelamente às fibras nervosas. Não foi observada presença de vasos sanguíneos e infiltrado inflamatório entre as fibras nervosas. O limite entre o perineuro e o epineuro não se apresentou bem definido, formando uma camada de tecido conjuntivo denso, com presença de pequenos vasos sanguíneos e pouca quantidade tecido adiposo na periferia do nervo (figura 3).

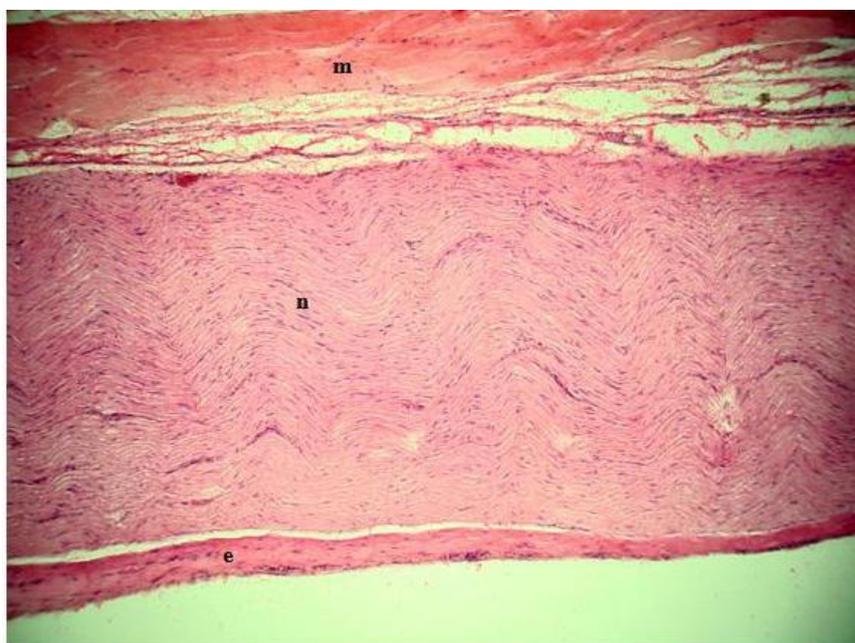


Figura 3. Corte longitudinal de segmento de nervo ciático de rato Wistar. n) Fibras nervosas mielínicas e núcleos de células de Schwann e do endoneuro paralelos ao longo eixo do nervo e entre as fibras nervosas. e) Epineuro. m) Músculo estriado esquelético. (HE, 40X).

Nos animais submetidos a lesão do nervo ciático, nos grupos tratamento e placebo, foram identificadas três regiões: o coto proximal, a região do esmagamento, e o coto distal

(Figura 4). Em ambos os grupos, o coto proximal ao SNC, apresentou aspecto semelhante ao nervo ciático de animais de controle. Na região de esmagamento, foram observados segmentos de aproximadamente 3mm de comprimento com fibras nervosas mielínicas e pouco infiltrado inflamatório. O infiltrado inflamatório foi composto principalmente por macrófagos. Próximo ao coto distal, a região de esmagamento apresentou uma dilatação, em forma de bulbo, onde as fibras nervosas apresentaram trajeto mais sinuoso, antes de penetrarem no coto distal. Esta região provavelmente corresponde ao local onde ocorreu o brotamento de novos prolongamentos neuronais. O epineuro sofreu espessamento, variável entre os animais, nesta área.

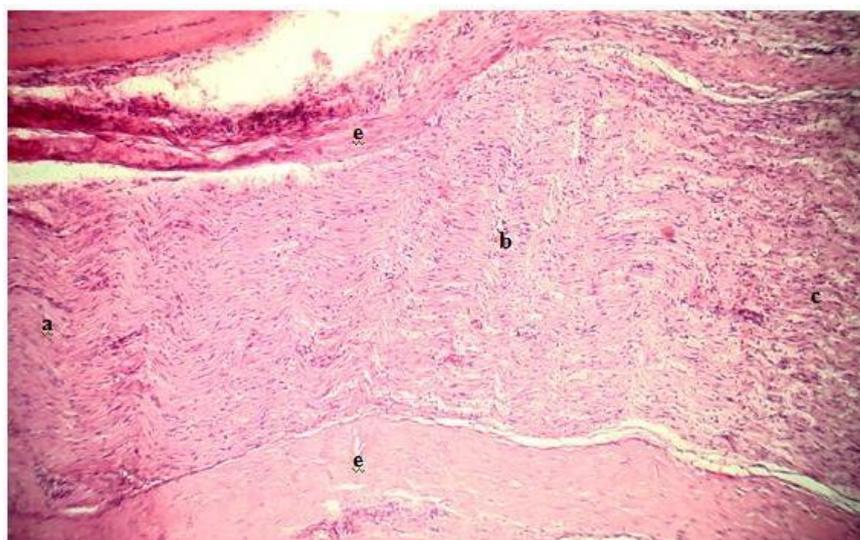


Figura 4. Corte longitudinal de nervo ciático submetido a lesão por esmagamento, Placebo. a) Coto proximal, não lesionado. b) Local da lesão por esmagamento, apresentando reorganização das fibras nervosas. c) Coto distal. Proliferação de células de Schwann e fibroblastos e infiltrado de células inflamatórias. e) Espessamento do Epineuro. (HE, 40X).

O coto distal corresponde ao local onde ocorre o processo de regeneração das fibras nervosas e apresentou diâmetro semelhante ao coto proximal. Nos animais do grupo placebo, foi observado a presença de intenso infiltrado inflamatório crônico, fibras nervosas em arranjos muito tortuosos e muitos núcleos de células de Schwann e do endoneuro (Figura 5). As fibras nervosas não apresentaram arranjo paralelo entre si, com ausência de bainhas de mielina e nódulos de Ranvier. Foram observados vasos sanguíneos de pequeno calibre no interior do nervo (Figura 6). O infiltrado inflamatório foi composto principalmente por macrófagos, e raros linfócitos, indicando que o tecido passava por um

processo de remodelamento. Também foi observado aumento do número de células de Schwann e do endoneuro, com eucromatina e nucléolos evidentes, indicando atividade sintética destas células (Figura 7). Em alguns locais, foi observado presença de infiltrado inflamatório também em epineuro.

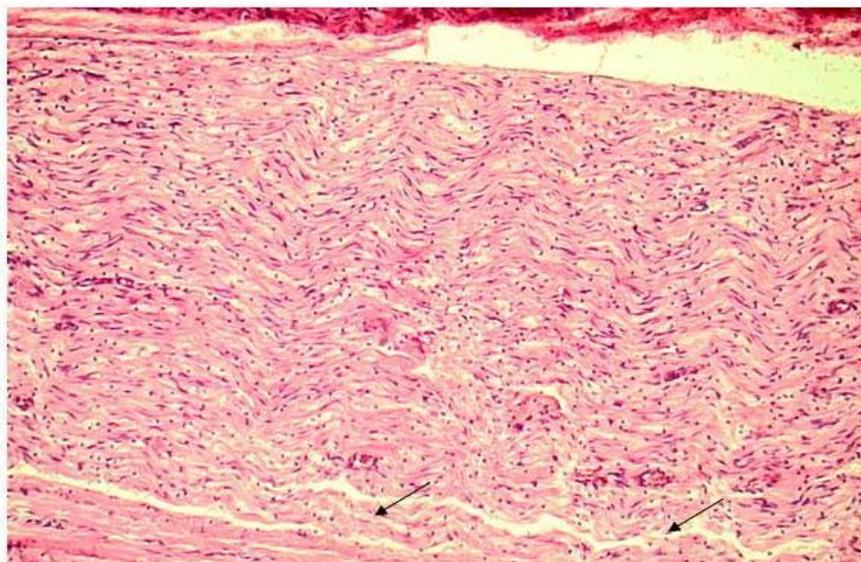


Figura 5. Corte longitudinal do coto distal de nervo ciático submetido a lesão por esmagamento, Placebo. Observa-se um intenso infiltrado de células mononucleares (macrófagos). Também podem ser observadas numerosas células de Schwann, células do endoneuro e pequenos vasos sanguíneos (seta) (HE, 100X).

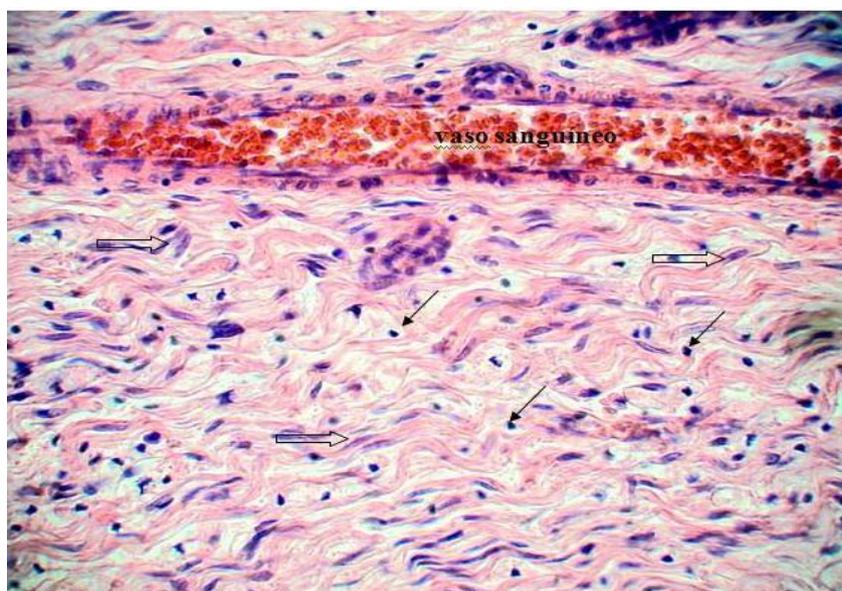


Figura 6. Corte Longitudinal do coto distal de nervo ciático submetido a lesão por esmagamento, Placebo. Observa-se fibras nervosas, infiltrado de células mononucleares (→) e grande quantidade de células, particularmente as células de Schwann (seta larga) (HE, 400X).

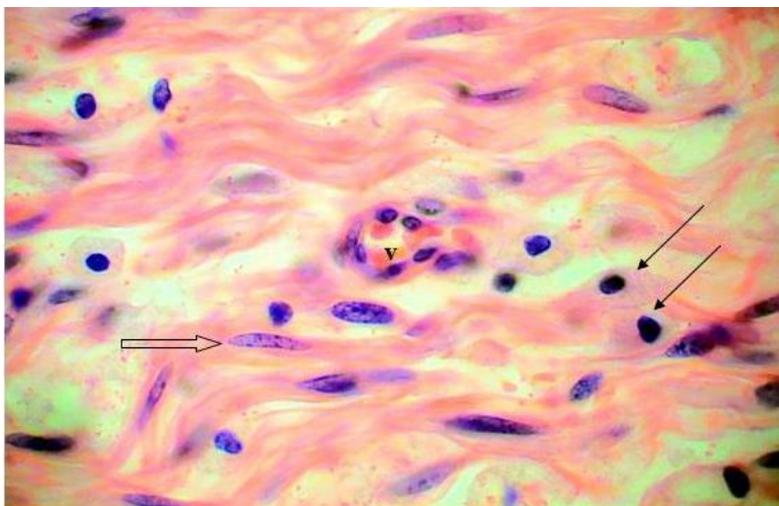


Figura 7. Corte longitudinal do coto distal de nervo ciático submetido a lesão por esmagamento, Placebo. Observar a presença de macrófagos (→) e células de Schwann (seta larga). v) Vaso sanguíneo. (HE, 1000X).

Os animais submetidos à lesão e tratados apresentaram características histológicas semelhantes aos animais não submetidos ao tratamento (Figura 8). As características microscópicas das fibras nervosas são semelhantes ao grupo placebo. As presenças do infiltrado inflamatório crônico e de numerosas células de Schwann e do endoneuro sugerem que o tecido passava por processo de remodelamento, semelhante ao grupo anterior (Figura 9).

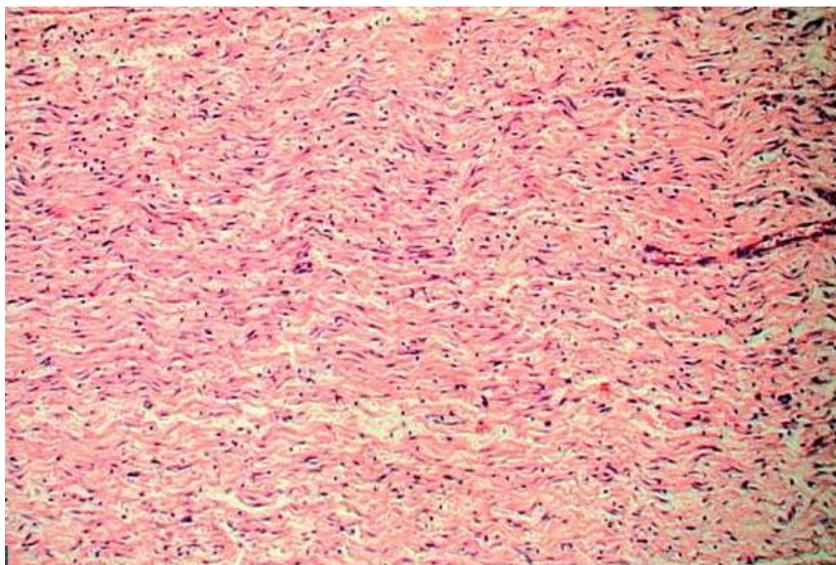


Figura 8. Corte longitudinal de coto distal de nervo ciático submetido a lesão por esmagamento e submetido a tratamento. Observa-se fibras nervosas, intenso infiltrado de células mononucleares e grande quantidade de células de Schwann e do endoneuro. Aspecto histológico semelhante aos animais não submetidos a tratamento (HE, 100X).

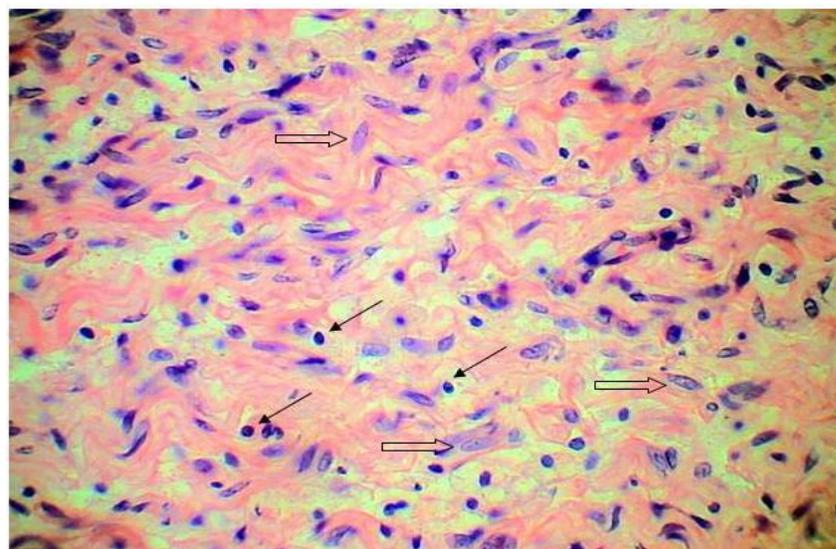


Figura 9. Corte longitudinal de coto distal de nervo ciático submetido a lesão por esmagamento e submetido a tratamento. Observa-se intenso infiltrado de células mononucleares (→). O tecido possui grande quantidade de células, particularmente as células de Schwann (seta larga), semelhanto ao grupo não tratado (HE, 400X).

4. DISCUSSÃO

Em condições experimentais, a recuperação das lesões nervosas periféricas é estudada principalmente por meio de técnicas de eletrofisiologia, histologia e morfometria. Embora os parâmetros eletrofisiológicos e morfológicos sejam úteis, é importante conhecer o grau de recuperação funcional que eles implicam. A avaliação funcional de humanos é relativamente fácil, mas de animais é praticamente impossível com os mesmos métodos, o que motivou a busca por métodos específicos em condições experimentais (MONTE-RASO et al, 2006).

Gutmann & Gutmann (1942) demonstram que a perda da capacidade de espalhar os dedos da pata traseira é parâmetro confiável para avaliar o grau de lesão, bem como para seguir sua recuperação. Seu método, todavia, era muito inespecífico o que dificultava a mensuração. DeMedinaceli et al (1982, 1984) desenvolveram método quantitativo, confiável e reprodutível da condição funcional do nervo ciático de ratos, para a avaliação do grau de lesão e da recuperação, denominado de Índice Funcional do Ciático, e que foi posteriormente modificado por outros autores (BAIN et al, 1989; CARLTON & GOLDBERD, 1986). Alguns estudos mostraram haver clara correlação entre a regeneração morfológica, avaliada pela morfometria dos nervos e a recuperação funcional, medida pelo IFC (OLIVEIRA et al, 2001; MENDONÇA et al, 2003, DE SÁ et al, 2003, MONTE-RASO et al, 2005, OLIVEIRA et al, 2003).

Para justificar o uso da ledterapia, estudos realizados com luz de baixa potência foram tomados como referências, devido ao reduzido número de estudos encontrados sobre a ledterapia na Reparação nervosa, pois segundo KARU (2003) a promoção física da luz do LED difere da luz Laser pela inexistência de uma cavidade óptica, o que leva a luz laser a ser coerente. Mas a coerência é retida ao longo dos primeiros extratos da pele, antes que produza a absorção da luz pelas moléculas fotorreceptoras especializadas.

Para o presente trabalho foi utilizado um comprimento de onda de 625nm (luz vermelha), pois vários trabalhos relatam melhores resultados com o uso do laser vermelho (HeNe, 632nm) (CAMARGO et al, 2006; ANDERS et al, 1993; HAMILTON et al, 1992; ROCHKIND et al, 1987, 1987; SHIN et al, 2003), o tempo de aplicação de quatro minutos também esta de acordo com os estudos de Rochkind et al (1987), Hamilton et al (1992), Shin et al (2003).

OLSON et al (1981) observaram que o nível de excitabilidade celular nervosa varia de acordo com o nível de densidade energética aplicada por um laser de 694 nm de

comprimento de onda. ROCHKIND et al. (1986), ao irradiar nervos ciáticos esmagados de ratos com laser HeNe, observou que há valor limiar de energia, dependente do tempo de aplicação, que produz alterações no potencial de ação, acima ou abaixo desse limiar não existem efeitos benéficos.

No 21º dia após a lesão, foi observado que houve diferenças entre os IFCs dos grupos irradiado placebo, mas que não foram de significância estatística. Todavia, analisando a evolução das curvas observa-se que os valores médios foram diferentes, demonstrando provável continuidade da ação do laser sobre o nervo ciático. Por outro lado, ASSIA et al. (1989) demonstraram que os efeitos da irradiação com laser são transitórios, permanecendo por até três semanas, sendo mais efetivos com duas semanas. Indicaram, também, que a maioria dos efeitos da irradiação laser são encontrados após uma semana de irradiação, o que entra em concordância com os resultados encontrados no presente estudo, pois encontrou-se diferença estatística apenas no 7º dia de irradiação.

Outros trabalhos (CAMARGO et al, 2006; BUERGER et al, 2004), encontraram diferenças a favor do grupo tratamento no 14º dia de pós-operatório, o que difere deste trabalho, pois o grupo placebo apresenta-se em patamar superior ao grupo tratamento nesta avaliação, mesmo não havendo diferenças estatísticas. Em relação ao 21º dia, este estudo demonstrou que ambos os grupos apresentaram-se em patamares semelhantes, com ligeira vantagem para o grupo tratamento.

Após a lesão de um segmento do nervo periférico, os segmentos de axônio na porção distal a lesão sofrem degeneração anterógrada (degeneração Walleriana) e se fragmentam (ROSS e PAWLINA, 2008; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2007). A bainha de mielina também se fragmenta e os fragmentos de mielina englobam os segmentos de axônio. A porção nervosa degenerada é fagocitada por macrófagos, derivados dos monócitos. As células fagocíticas penetram no tecido nervoso através dos vasos sanguíneos derivados do epineuro e vasos sanguíneos que invadem o interior dos feixes através do perineuro (ROSS e PAWLINA, 2008).

As células de Schwann e suas lâminas basais permanecem, como estruturas tubulares, distalmente a lesão. As células de Schwann (e escassos fibroblastos do endoneuro) sofrem divisão celular e dispõem-se em uma série de cilindros que servem de guia para a regeneração dos axônios. O segmento proximal do axônio cresce e se ramifica, formando vários prolongamentos que penetram as estruturas tubulares formadas por células de Schwann (ROSS e PAWLINA, 2008; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2007).

Imediatamente após a lesão, o tráfego de moléculas e íons pelas membranas axonais é suspenso, impedindo a passagem do impulso nervoso. Os novos prolongamentos de axônios crescem em direção aos tubos de células de Schwann na velocidade de 1 a 3 mm por dia (ROSS e PAWLINA, 2008; JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2007) e após um período de 21 dias, o nervo ciático de ratos submetidos a lesão apresentam níveis funcionais semelhantes aos encontrados no período pré-lesão (TAKAGI et al., 2008). O restabelecimento das funções neuronais parece não depender da presença de bainha de mielina, ainda não organizada nesta fase, e da proliferação de células de Schwann (TAKAGI et al., 2008; YANG et al., 2008). Os resultados deste trabalho concordam com estas observações, demonstrando a presença de prolongamentos de axônios associados a células de Schwann no coto distal, ao mesmo tempo, que ocorreu o restabelecimento das funções motoras do animal. Tanto o grupo tratado quanto o placebo apresentou aumento do número de células de Schwann, sem diferenças nos índices de recuperação funcional. Em camundongos, os axônios regenerados apresentam aumento persistente de número e condutância dos canais de sódio, num período de 3 a 20 semanas pós-lesão de esmagamento (NAKATA et al., 2008), provavelmente favorecendo o restabelecimento da função sensorial e motora. No entanto, aplicação do led (como aplicado neste estudo) parece não ter estimulado o aceleração da regeneração da bainha de mielina pelas células de Schwann, nem a atividade das fibras recém-regeneradas.

O infiltrado inflamatório resultante da lesão nervosa pode perdurar por longos períodos de tempos, enquanto ocorre o remodelamento tecidual e regeneração nervosa. Este infiltrado é composto principalmente por macrófagos, e escassos linfócitos, caracterizando processo inflamatório crônico. A presença deste infiltrado pode ser responsável pela produção sustentada de mediadores inflamatórios que induzem sensibilidade dolorosa e fatores de crescimento para as células do tecido de suporte. No entanto, um papel importante tem sido associado aos linfócitos T auxiliares e T citotóxicos nas lesões nervosas, favorecendo o processo de regeneração funcional do nervo lesado (SANDER e JONES, 2006; BOIVIN et al., 2007). A regulação da atividade dos macrófagos pode também interferir com o regeneração nervosa regulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, a remoção da mielina degenerada e o restabelecimento da função motora (BOIVIN et al., 2007). É possível, que a atividade do led sobre o infiltrado inflamatório crônico possa interferir com a atividade biológica de macrófagos e contribuir

para o restabelecimento funcional do tecido. As alterações funcionais em leucócitos não precisam ser necessariamente acompanhadas de alterações numéricas.

5. CONCLUSÃO

Com base nos dados acima apresentados, o grupo tratado com LED, nos parâmetros utilizados, não apresentou diferenças em relação ao tratamento placebo. Pode se concluir que na literatura não há padronização dos parâmetros físicos do LED, o que pode levar a uma controvérsia de resultados. Assim, são necessários mais estudos comparando diferentes comprimentos de ondas, o pulso, picos de potencia e a dose aplicada para elucidar o espectro de onda ideal na interação da luz de baixa potencia e a regeneração nervosa.

REFERÊNCIAS

ANDERS JJ, BORKE RC, WOOLERY SK, VAN DE MERWE WP. 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; ROSNER, M; BELKIN, M; SOLOMON, A; SCHWATZ, M. Temporal parameters of low energy laser irradiation for optimal delay of post-traumatic degeneration of rat optic nerve. *Brain Research*, v. 476, p. 205-212, 1989.

BAIN, J.R.; MACKINNON, S.E.; HUNTER, R.T. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal e posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plastic and Reconst. Surgery*, v. 83, p. 129-138, 1989.

BOIVIN A, PINEAU I, BARRETTE B, FILALI M, VALLIÈRES N, RIVEST S, LACROIX S. Toll-like receptor signaling is critical for Wallerian degeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *J Neurosci*. v.125, p. 65-76, 2007.

BRIDGE, P.M.; BALL, D.J.; MACKINNON, S.E.; NAKAO, Y.; BRANDT, K.; HUNTER, D.A.; HERTL, C..Nerve crush injuries - A model for axonotmesis. *Exp. Neurol.*, v 127, p. 284-290, 1994.

BUERGER, CAROLINA ; IMME, JORGE LUIZ ; SILVA, EDUARDO SIMÃO DA ; ANDRÉ, E. S. Efeitos da laserterapia de baixa potência sobre os processos de regeneração do tecido nervoso periférico. *Revista de Fisioterapia em Movimento, Curitiba, Pr*, v. 17, n. 2, p. 67-74, 2004.

CAMARGO, V.M.; COSTA, J.; ANDRÉ, E.S. Estudo comparativo entre dois tipos de raio laser de baixa potência e seus respectivos efeitos sobre a regeneração nervosa periférica. *Fisioterapia em Movimento*, Curitiba, v.19, n.2, p. 127-134, abr./jun., 2006.

CARLTON, J.M.; GOLBERG, N.H. Quantitative integrated muscle function following reinnervation. *Surg Fóru.*, v. 12 , p. 37-611, 1986.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – COBEA. Os princípios éticos da experimentação animal. São Paulo, 1991. <http://www.cobea.org.br/index.php?pg=estatuto>. Acessado em 09/11/2007 às 14:30 hs.

CRAGG, B.G.; THOMAS, P.K..The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibres. *J. Physiol*, v.171, p. 164-175, 1964.

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.

DE MEDINACELI, L.; FREED, W.J.; WYATT, R.J. An index of the functional conduction of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol*. v.43, p. 77-634, 1982.

DE MEDINACELI L.; DERENZO, E.; WYATT, R.J. Rat sciatic functional index data management system with digitized input. *Comp Biom Res*. v.92, p. 17-185, 1984.

DE SÁ JM, MAZZER N, BARBIERI CH, BARREIRA AA .The end-to-side peripheral nerve repair functional and morphometric study using the peroneal nerve of rats. *J Neurosci Methods*, v. 136, p. 45-53, 2003.

GIGO-BENATO, D; GEUNA, S; ROCHKIND, S. Phototherapy for enhancing peripheral Nerve repair: a review of the literature. *Muscle Nerve*, v.31, p. 694–701, 2005.

GROVES M J et al. Profile of adult rat sensory neuron loss, apoptosis and replacement after sciatic nerve crush. *Journal of Neurocytology*, v. 32, p. 113-122, 2003.

GUTMANN E, GUTMANN L. Factors affecting recovery of sensory function after nerve lesion. *J Neurol Psychiatry*, v.5, p.17-29, 1942.

HAMILTON GF, KEVEN ROBINSON T, RAY RH. The effects of helium-neon laser upon regeneration of the crushed peroneal nerve. *J Orthop Sports Phys Therapy*, v. 15, p. 2009-214, 1992.

JACOB JM, CROES SA. Acceleration of outgrowth in motor axons from mature and old F344 rats after a conditioning lesion. *Experimental Neurology*, v. 152, p. 231-237, 1998.

JUNQUEIRA LCU, CARNEIRO J. *Histologia básica*. 11ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2007.

KARU, T.I. *Photobiological Fundamentals of Low-Power Therapy*. IEEE J. of Quantum

KARU, T.I. Low-power laser therapy. In: VO-DINH, T. (Ed.). *Biomedical photonics handbook*. Tennessee: CRC PRESS, 2003.

KOKA, R.; HADLOCK, T.A. Quantification of Functional Recovery Following Rat Sciatic Nerve Transection. *Experimental Neurology*, v. 168, p. 192-195, 2001.

MARQUES, C. R. S.; MARTIN, A. A; LIMA, C. J.; CONRADO, L. A.L.; SILVEIRA, F. L.; CARVALHO, M. V.. The use of hyperbaric oxygen therapy and LEDtherapy in diabetic foot. *Lasers in Surgery XIV*, v. 5312, p. 47-53, 2004.

MENDONÇA AC, BARBIERI CH, MAZZER N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*, v. 90, p. 129-183, 2003.

MIRA, J.C. 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.

MONTE-RASO, V.V.; BARBIERI, C.H.; MAZZER, N. Índice funcional do ciático nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos. Avaliação da reprodutibilidade do método entre examinadores. *Acta ortop. bras.*, v. 3, p. 133-136, 2006.

NAKATA M, BABA H, KANAI K, HOSHI T, SAWAI S, HATTORI T, KUWABARA S. Changes in Na(+) channel expression and nodal persistent Na(+) currents associated with peripheral nerve regeneration in mice. *Muscle Nerve*. v. 7, p 21-30, 2008.

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, p. 69-75, 2001.

OLSON, JE; SCHIMMERLING, W; TOBIAS, CA. Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells. *Brain Research*, v. 204, p. 436-440, 1981.

ROCHKIND S. Stimulation effect of laser energy on the regeneration of traumatically injured peripheral nerves. *Morphogen Regen*, v. 83, p. 25-27, 1978.

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

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

ROSS MH, PAWLINA W. *Histologia. Texto e atlas*. 5ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2008.

SANDERS VM, JONES KJ. Role of immunity in recovery from a peripheral nerve injury. *J. Neuroimmune Pharmacol*, v. 1, p. 9-11, 2006.

SHIN DH, LEE E, HYUN JK, LEE SJ, CHANG YP, KIM JW, ET AL. Growth-associated protein-43 is elevated in the injured rat sciatic nerve after low power laser irradiation. *Neurosci Lett*, v. 44, p. 71-74, 2003.

TAKAGI T, NAKAMURA M, YAMADA M, HIKISHIMA K, MOMOSHIMA S, FUJIYOSHI K, SHIBATA S, OKANO HJ, TOYAMA Y, OKANO H. Visualization of peripheral nerve degeneration and regeneration: Monitoring with diffusion tensor tractography. *Neuroimage*. 2008 Oct 2. In press.

VINCK, E.M.; CAGNIE, B.J.; CORNELISSEN, M.J.; DECLERCQ, H.A.; CAMBIER, D.C. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. *Laser Med Sci*, v. 18, n. 2, p. 95-99, 2003.

VINCK, E.; CAGNIE, B.; CORNELISSEN, M.; DECLERCQ, H.; CAMBIER, D. Green light emitting diode irradiation enhances fibroblast growth impaired by high glucose level. *J Photomed Laser Surg*, article in press, 2005.

YANG DP, ZHANG DP, MAK KS, BONDER DE, POMEROY SL, KIM HA. Schwann cell proliferation during Wallerian degeneration is not necessary for regeneration and remyelination of the peripheral nerves: axon-dependent removal of newly generated Schwann cells by apoptosis. *Mol Cell Neurosci*. 2008 May;38(1):80-8.