

ESTUDO DO EFEITO DA AÇÃO DO LED NA DIMINUIÇÃO DO EDEMA INDUZIDO POR CARRAGENINA EM PATA DE CAMUNDONGO

Carla Marzullo Plens¹; Ana Maria Barbosa²; Silvia Regina Ribeiro³; Luiz Eduardo Cardoso⁴; Raquel A. Ferreira Cecílio⁵; Luciano Luckaschek Santos⁶; Adilson Alves Baldez⁷; Renata Amadei Nicolau⁸

¹Laboratório de Distúrbios do Sono; ²Laboratório de Inflamação; ⁴Laboratório de Química; ^{3,5,6}Laboratório de Reabilitação cardíaco-vascular e Fisiologia do Exercício; ⁸Laboratório de Biomodulação Tecidual /Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D Universidade do Vale do Paraíba-UNIVAP

Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, São José dos Campos – SP – Brasil, CEP 12244-000.

rani@univap.br

Resumo - O processo inflamatório é uma resposta dos organismos vivos a estímulos lesivos com a finalidade de reconstituir a estrutura e a função do tecido ou órgão afetado. Independentemente da natureza do estímulo lesivo observam-se fenômenos como aumento do fluxo sanguíneo e aumento da permeabilidade vascular resultando na formação de edema. A carragenina é um agente lesivo que estimula o desencadeamento dos fenômenos de transformações nos tecidos. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da ação do LED com o tempo de 4,5 e 13,6 segundos de aplicação na diminuição do edema induzido pela carragenina na pata de camundongos. Para metodologia experimental, utilizamos camundongos *swiss*, divididos aleatoriamente em 3 grupos, (n=5) onde o grupo A, controle, recebeu somente carragenina; o grupo B e C recebeu carragenina e uma aplicação de LED, 4 horas após a injeção de carragenina. Foi observado redução do edema, após 5 horas de aplicação do LED com o tempo de 13,6 segundos quando comparado com o grupo controle e o grupo que recebeu aplicação de terapia LED com tempo de 4,5 segundos. Conclui-se que a terapia com o LED aplicada com tempo de 13,6 segundos reduziu significativamente o edema, a partir das 5 horas, e com o tempo de 4,5 segundos não houve redução.

Palavras-chave: LED, Inflamação, Edema, Carragenina.

Área de conhecimento: Ciências da Saúde.

Introdução

O processo inflamatório é uma resposta dos organismos vivos a estímulos lesivos exógenos (agentes infecciosos, traumas físicos ou químicos) ou endógenos (imunológicos, neurológicos) com a finalidade de reconstituir a estrutura e a função do tecido ou órgão afetado. Independentemente da natureza do estímulo lesivo observam-se fenômenos vasculares e celulares característicos e padronizados como: liberação de mediadores químicos como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandina, etc.; alterações hemodinâmicas da circulação e da permeabilidade vascular no local da lesão; exsudação celular e plasmática; degeneração e reparação (GUIDUGLI NETO, 1997).

As manifestações clínicas do processo inflamatório são: calor, rubor, dor, edema e perda da função. O edema é o acúmulo de líquido no interstício causado pelo extravasamento do líquido intracelular para o espaço extracelular, devido aumento da pressão hidrostática e da permeabilidade vascular. O edema inflamatório apresenta-se de forma localizada e é composto de água, eletrólitos e proteínas (GARCIA LEME, 1993).

A carragenina é um agente lesivo que estimula o desencadeamento dos fenômenos de transformações nos tecidos. Trata-se de um extrato solúvel em água derivada da carragena, musgo irlandês, uma alga marinha encontrada nas costas do Atlântico da Europa e na América do Norte, muito utilizada para induzir a reação inflamatória aguda em animais experimentais (GARCIA LEME *et al.*, 1993; RANG; DALE; RITTER, 2000).

As fontes de luz mais comuns para os sistemas de comunicação por fibra óptica são os LEDs (Light Emission Diode) porque emitem luz invisível próxima do infravermelho. Sua operação é como a operação básica de um diodo comum. Uma pequena tensão é aplicada entre seus terminais, fazendo uma pequena corrente fluir através da junção. Este diodo é formado por duas regiões de material semicondutor, dopado com impurezas do tipo P e do tipo N. A região P é a que possui menos elétrons do que átomos, o que implica em lacunas onde há espaços para os elétrons na estrutura cristalina. Já a região N é caracterizada por apresentar mais elétrons livres do que lacunas. O comprimento de onda emitido pelo LED depende dos níveis internos de energia do semicondutor e os comprimentos de onda mais usados são de 820 e 850 nm.

A potência de luz de um LED é, aproximadamente, proporcional à injeção de corrente, devido a algumas recombinações entre elétrons e lacunas que não produzam fótons (KLEBANOV *et al.*, 2005).

Metodologia

Foram utilizados camundongos *Albinus swiss*, machos adultos, pesando entre 28 a 30g, provenientes do Biotério da Anilab (Animais de Laboratório) Paulínia, S.P. Os animais foram mantidos com água e alimentação *ad libitum*, mantidos em sala com temperatura e umidade constante (24°C – 60%), com ciclo claro/escuro (12/12 horas).

Carragenina Carageenan Lambda Sigma Chemical CO. Box14508 St Louis,MO 63178 USA. Lote: 10K0775. C-3889.

Protocolo de Ética

A condução científica desta pesquisa seguiu as normas e registros da resolução CNS 196/96 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), foi realizada somente após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIVAP sob o número A17/2006.

Avaliação do edema de pata

Para este estudo foi inoculado carragenina na dose de 500 µg/pata, via subcutânea (s.c.), no coxim plantar de uma das patas posteriores em volume constante de 50 µl. A pata contralateral (controle), recebeu igual volume de solução salina. O volume das patas medido até articulação tíbio-társica foi determinado em vários intervalos de tempo (2, 4 e 6 horas), com auxílio de um pletismógrafo, de acordo com método descrito por VAN ARMAN *et al.*, (1965). O edema foi expresso em porcentagem de aumento do volume da pata injetada em relação ao volume da pata injetada inicial. O resultado final foi determinado através da razão entre os volumes da pata experimental (injetada com carragenina) e da pata controle (injetada com solução salina estéril), como demonstra abaixo:

$\% \text{ do aumento de volume podal} = \frac{\text{Vol. Final} - \text{Vol. Inicial}}{\text{Vol. Inicial}} \times 100\%$

Terapia com LED

O aparelho de LED, operando em 632,8 nm com densidade de potência de 110 mW, na dose de 3 J/cm², com tempo de radiação de 4,5 segundos e 13,6 segundos, diâmetro de 0,8 cm e área de 0,5 cm².

A terapia com o LED foi aplicada diretamente sobre o local da lesão, 4 horas após a injeção intra-plantar de carragenina sendo o mesmo procedimento para todos os animais. A irradiação foi controlada automaticamente pelo aparelho de LED. Os animais foram posicionados em uma mesa em decúbito ventral e a pata imobilizada manualmente. O grupo A, recebeu injeção de 500 µg de Carragenina no coxim plantar da pata direita e a pata contralateral, controle recebeu igual volume (50 µl) de solução salina estéril e o mesmo procedimento experimental com LED, porém com o aparelho desligado (controle); o grupo B e C, recebeu injeção de 1 µg de Carragenina no coxim plantar da pata direita e a pata contralateral, controle recebeu igual volume (50 µl) de solução salina estéril. Ambos os grupos receberam terapia com o LED, sendo o grupo B com tempo de radiação de 4,5 e o outro com 13,6 segundos de duração.

Análise estatística

Foi empregada análise de variância (ANOVA) seguida por comparações múltiplas pelo método de Tukey Kramer. O nível de significância adotado foi de ($p < 0,05$).

Resultados

Conforme figura abaixo, observa-se que a terapia com o LED no tempo de radiação de 13,6 segundos de duração, teve uma redução significativa do edema a partir de 5 horas após aplicação da injeção de carragenina, comparado com o grupo controle.

O grupo que recebeu terapia com o LED com tempo de radiação de 4,5 segundos de duração, não apresentou diminuição do edema permanecendo semelhante ao grupo controle.

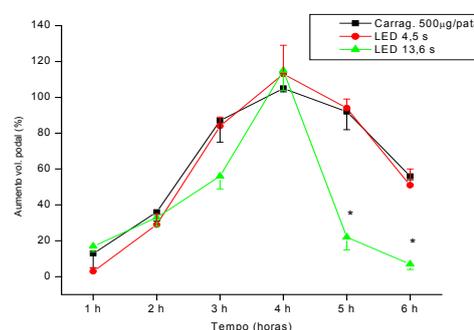


Figura 1: Redução do edema de pata induzido pela carragenina, em camundongo com o LED 638 nm. O LED 110 mW 3/Jcm², 13,6 seg (▲) e 4,5 seg (●) foi aplicado uma única vez, diretamente no local da lesão, 4 horas após a injeção intra-plantar de carragenina (500 µg/pata). O edema foi avaliado por pletismografia e expresso como aumento do volume percentual em relação à pata controle (■). Os dados representam a média E.P.M. (n=5) $p < 0,05$ (ANOVA).

Discussão

Este estudo verificou os efeitos da ação do LED aplicado com as durações de 4,5 e 13,6 segundos, no edema induzido pela carragenina na pata de camundongos.

Não foram verificadas alterações no edema, com o tempo de radiação de 4,5 segundos de duração, sugerindo que o tempo de exposição não foi suficiente para desencadear respostas inflamatórias, observado em outros estudos. (PONTINEN, *et. al.*, 1996).

A duração de 13,6 segundos de radiação provocou uma redução significativa do edema a partir de 5 horas após aplicação da injeção de carragenina, sugerindo que o protocolo foi suficiente para ativar mecanismos responsáveis pela neoformação vascular.

Mesmo ainda não elucidados o tempo-dose ótima de terapia (MESTER, *et. al.*, 1985) para aplicação do laser e considerando a escassez de estudos do uso do LED principalmente na área terapêutica (CORAZZA, *et. al.*, 2002), neste estudo a duração da exposição foi suficiente para desencadear uma resposta anti-inflamatória.

Vink, *et.al.* 2003, com fototerapias a laser e LED de baixa intensidade, sugeriram que a coerência e a colimação não eram fatores decisivos para induzir alterações nas funções celulares, e sim a monocromaticidade, verificando uma vascularização potencializada em fluências de baixa intensidade, também verificadas nos nossos resultados.

Conclusão

Conclui-se que a terapia com o LED aplicada com tempo de 13,6 segundos, uma única vez após 4 horas da injeção de carragenina, reduziu significativamente o edema, a partir das 5 horas, e com o tempo de 4,5 segundos não houve redução do edema.

Referências

-ELKE MV, BARBARA JC, MARIA JC, HEIDI AD, DIRK CC. Increased Fibroblast Proliferation Induced By Light Emitting Diode And Low Power Laser Irradiation. **Laser Med. Science.**; 18 (2): 95-99; 2003.

-FERREIRA D. M.; ZÂNGARO R. A.; VILLAVARDE B.; CURY Y.; FRIGO L.; PICCOLO G.; LONGO I.; BARBOSA D. G. Analgesic Effect of He-Ne (632.8 nm) Low-Level Laser Therapy on Acute Inflammatory Pain. **Photomed and Laser Surg** 23 (2): 177-181, 2005.

-GARCIA L. J.; HARMAMURA L.; LEITE M.P.; ROCHA E SILVA M. Pharmacological Analysis Of Local The Acute Inflammatory Process Induced In The Rat'S Paw By Local Injection Of Carrageen And By Heating. **Br. J. Pharmacol.** 48: 88-96; 1993.

-GUIDUGLI NETO J.; **Elementos de Patologia Clínica**; São Paulo; 1997.

-KLEBANOV GI, SHURAEVA NY, CHICHUK TV, OSIPOV AN, RUDENKO TG, SHEKHTER AB, VLADIMIROV YA. A Comparative Study Of The Effects Of Laser And Light Emitting Diode Irradiation On The Wound Healing And Functional Activity Of Wound Exudate Leukocytes. **Biofizika**; 50 (6): 1137-1144; 2005.

-MESTER E, MESTER AF, MESTER A. The biomedical effects of laser application. **Lasers Surg Med** 5:31-9, 1985.

-PONTINEN PJ, AALTOKALLIO T, KOLARI PJ. Comparative effects of exposure to different light sources (He-Ne laser, InGaAl diode laser, a specific type of noncoherent LED) on skin blood flow for the head. **Acupunct Electrother Res.** Apr-Jun;21(2):105-18,1996.

-PRAKKI P. Estudo Comparativo da Ação do Laser He-Ne E de Mediadores Vasoativos (Noradrenalina E Histamina) Na Microcirculação de Mesentério de Ratos. **Dissertação de Mestrado Eng. Bio.** UNIVAP. 2003.

-REDDY GK *et. al.* **Laser Photostimulation Accelerates Healing** In Diabetic Rats. **Wound Rep. Reg.** (9) 248-255; 2001.

-RUSSELL B.A.; N. KELLETT, REILLY L. R. A Study To Determine The Efficacy Of Combination LED Light Therapy (633 Nm And 830 Nm) In Facial Skin Rejuvenation. **J. Cosmet. Laser Ther.** 7(3-4); 196-200; 2005.

-TAYLOR & FRANCIS Volume 7, Number 3-4 / December 2005 ;196 – 2003.

- TSAI JC, CHIANG CP, CHEN HM, HUANG SB, WANG CW, LEE MI, HSU YC, CHEN CT, TSAI T. Photodynamic Therapy Of Oral Dysplasia With Topical 5-Aminolevulinic Acid And Light-Emitting Diode Array. **Lasers Surg Med.** 34(1):18-24; 2004.

-VINK, E.M. *et al.* Increment fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. **Laser Med. Sc.** 18: 95-99, 2003.

