

## ANÁLISE DO EFEITO CLÍNICO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE EM RATOS PORTADORES DE LESÃO MEDULAR TRAUMÁTICA

**Paula A.A.<sup>1</sup>; Leite N.C.S.<sup>1</sup>; Fernandes C. T.<sup>1</sup>; Kerppers I. I.<sup>2</sup>; Nicolau R.A.<sup>1,3</sup>; Lima M.O.<sup>1</sup>; Cogo J.C.<sup>1</sup>;**

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP), Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D), Laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica

<sup>2</sup> Universidade Estadual do Centro Oeste (Unicentro) Laboratório de Neuroanatomia e Neurofisiologia

<sup>3</sup>UNIVAP- IP&D, Laboratório de Biomodulação Tecidual

Av. Shishima Hifumi 2911 Urbanova - 12244-000 São José dos Campos – SP Brasil, rani@univap.br.

fisioaap@gmail.com; ikerppers@hotmail.com; nelly.leite@gmail.com; carlinha\_toneli@hotmail.com;  
rani@univap.br; mol@univap.br; jccogo@univap.br;

**Resumo** - A lesão medular (LM) pode ser definida como síndrome incapacitante e ocasiona alterações do funcionamento motor, sensorial e autonômico abaixo do nível da lesão. A regeneração medular continua sendo desafios na neurologia, onde os pesquisadores vem buscando tratamentos alternativos para esses fins. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito clínico do laser de baixa intensidade em ratos com lesão medular traumática. Foram utilizados 15 ratos da linhagem *Wistar*, os quais foram separados em três grupos. Os animais foram submetidos à laminectomia de T9 e T10 expondo a medula espinal o suficiente para acomodar a haste impactadora, e a haste foi solta sob a medula em queda livre. Após a lesão, realizamos análise da efetividade terapêutica (2° e 21° dia de pós-operatório) por meio de análise clínica descritiva as seguintes variáveis: excreção espontânea de urina, presença de infecção urinária, movimentação ativa das patas traseiras e padrão alimentar. Observamos que os grupos tratados com laserterapia apresentaram melhores resultados em todas as variáveis analisadas. Concluímos que a utilização do laser de baixa intensidade pode ser promissora no reparo de tecido neural após lesão medular na melhora da função motora, minimizando as disfunções vesicais.

**Palavras-chave:** laser de baixa intensidade, lesão medular traumática

**Área do Conhecimento:** IV- Ciências da Saúde.

### Introdução

A lesão medular (LM) pode ser definida como síndrome altamente incapacitante que ocasiona alterações do funcionamento motor, sensorial e autonômico abaixo do nível da lesão, além propiciar impacto em diferentes sistemas e órgãos do corpo humano acarretando importantes alterações no estilo de vida do paciente (VIALLE, 2007).

Dados epidemiológicos relatam que a incidência de LM vem aumentando de maneira significativa nos últimos anos. Observa-se que tal lesão acomete predominantemente jovens do sexo masculino em idade produtiva, e frequentemente ocasionada por causas externas principalmente de origem traumática (LEUCHT et al., 2009).

Acredita-se que para a melhoria da qualidade de vida do paciente com lesão medular, a medula não necessariamente precisaria ser reconstituída integralmente. Talvez o paciente não readquirisse a capacidade de deambular sem auxílio, mas a

melhora do controle esfinteriano e melhora da função dos membros superiores (dependendo do nível da lesão) representaria melhora significativa para estes pacientes.

Existem basicamente quatro tipos de tratamentos para estes pacientes sendo eles: cirúrgico, com a realização de descompressão medular e estabilização da coluna, farmacológico, biológico, com estímulo da regeneração neuronal com implantes e com meios físicos, através de hipotermia e oxigênio hiperbárico (PAULA, 2010).

A terapia com laser de baixa intensidade (TLBI) tem se mostrado uma possível alternativa para o reparo da lesão em sistema nervoso central (PAULA et al., 2010). É plausível pensar que esta terapia possa oferecer os mesmo benefícios já conhecidos em outros tipos de tecidos como: aumento da produção e/ou inibição de mediadores envolvidos no processo inflamatório, aceleração do processo de reparação de tecido biológico (DEMIDOVA-RICE et al., 2007), estímulo da proliferação de fibroblastos, diminuição de edema (GUPT, 2001), analgesia (TURHANI, 2006),

estimulação da formação óssea (NICOLAU et al., 2003), regeneração de nervos periféricos e neovascularização (ROCHKIND, 2006; REIS et al., 2008 e 2009; BELCHIOR et al., 2009). Deste modo, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito clínico do laser de baixa intensidade em ratos com lesão medular traumática.

## Metodologia

Todos os procedimentos experimentais deste estudo seguiram as normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA/91) e adotou-se o modelo experimental de lesão medular do *Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study* (MASCIS) padronizado para ratos Wistar (YOUNG, 1993). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Vale do Paraíba, protocolo nº A057/2009/CEP.

Foram utilizados 15 ratos (*Rattus norvegicus*), pertencentes à linhagem *Wistar*, machos, adultos jovens, pesando  $300\text{g} \pm 50\text{g}$ , provenientes do biotério Anilab localizado na cidade de Paulínea - SP.. No momento da admissão todos os animais foram avaliados quanto às condições gerais de saúde e motricidade. Após a inspeção e aprovação foram alojados no biotério do Laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, em condições de ciclo claro e escuro (12h) e ração e água *ad libitum*. Após o período de adaptação dos animais, os mesmos foram separados aleatoriamente em três grupos experimentais, sendo: LM (n = 5) (animais submetidos a lesão medular sem tratamento com laserterapia); LM + LASER 6h (n=5) (animais submetidos a lesão medular e irradiados com laser de baixa potência 6 horas após a lesão); LM + LASER 48 h (n= 5) (animais submetidos a lesão medular e irradiados com laser de baixa potência 48 horas após a lesão).

**Procedimento anestésico e cirúrgico:** Os animais foram previamente analgésicos com cloridrato de xilazina (40mg/kg, via intramuscular) em seguida anestesiados com cloridrato de ketamina (50mg/kg, via intramuscular), foram então submetidos à tricotomia na região do dorso e antisepsia local com solução de Povidone®. Em seguida, realizou-se uma incisão na pele de aproximadamente 5 cm sob a linha média da região dorsal. Os músculos inseridos nos processos espinhosos e nas lâminas foram descolados e afastados cuidadosamente. Após essa exposição, realizou-se laminectomia ao nível de T9 e T10 sem provocar lesão no saco dural expondo a medula espinal o suficiente para acomodar a haste impactadora (YOUNG, 1993).

**Contusão Medular:** Para realizar a contusão medular, utilizou-se um sistema impactador, em que o animal é acomodado sobre uma esponja e o segmento vertebral imediatamente superior e inferior daquele submetido à laminectomia foram fixados aos processos espinhosos. Centralizou-se a extremidade da haste impactadora entre T9 e T10 e ajustou-se para se obter um impacto diretamente sob a medula. Para se obter uma lesão de intensidade moderada, utilizou-se uma haste impactadora, a qual foi elevada à altura de 25 mm e solta sobre a medula em queda livre. Após o trauma contuso, foi realizada a inspeção da área lesada e o sítio da lesão foi lavado com soro fisiológico 0,9%. A ferida cirúrgica foi suturada (10 pontos simples, 2 pontos/cm) em um único plano (cutâneo) utilizando fio de poliamida (nylon) monofilamentar (5-0).

A fim de prevenir e/ou reduzir o processo infeccioso da ferida cirúrgica, das vias urinárias e o quadro algico, os animais foram alojados individualmente e submetidos à antibioticoprofilaxia e analgesicoterapia. Foi administrado 500 mg/kg de cefalotina (via intramuscular) e 42 mg/kg de morfina (via oral), imediatamente após a lesão e duas vezes ao dia durante as 48 horas seguintes.

Diariamente até o momento da eutanásia, a ferida foi inspecionada e limpa com anti-séptico e a bexiga, quando necessário, esvaziada três vezes ao dia por compressão manual vesical.

**Laserterapia:** O equipamento empregado no estudo foi o Twin Flex Evolution® (MM Optics Ltda., GaAIs, 780 nm, 0,044 W, 0,20 cm<sup>2</sup>). A potência de emissão do equipamento foi verificada com a utilização do dispositivo Integrated 2-Watt Broadband Power and Energy Meter System - 13 PEM 001/J (Melles Griot Photonics Components Group, EUA). Os grupos LM + LASER 6h (irradiações iniciadas 6 horas após a lesão) e LM + LASER 48h (irradiações iniciadas 48h horas após a lesão) foram irradiados de forma transcutânea, perpendicularmente à pele do animal, em modo contínuo, por 21 dias consecutivos. O tempo de irradiação total diária por animal foi de 153 segundos, sob a região da lesão medular, entre os pontos de sutura (5 pontos).

A análise da efetividade terapêutica (2° e 21° dia de pós-operatório) foi obtida por meio de análise clínica descritiva das seguintes variáveis: excreção espontânea de urina, presença de infecção urinária, movimentação ativa das patas traseiras e padrão alimentar.

## Resultados

Nas figuras 1, 2 e 3 pode-se observar os resultados obtidos da análise clínica descritiva

realizada no 2° e 21° dia de pós-operatório de lesão medular traumática em ratos.

**Excreção Espontânea de Urina:** observou-se (figura 1), que os animais do grupo LM, os quais não foram submetidos ao tratamento com laserterapia, apresentaram dificuldades para realizar a excreção espontânea de urina. Apenas 10% do grupo demonstrou independência do esfíncter vesical no 2° e 21° dia de pós-operatório, o restante dos animais necessitou de esvaziamento por compressão manual vesical três vezes ao dia. Nos grupos LM + L6h e LM + L48h observamos que ambos apresentaram independência da excreção vesical nos dois períodos avaliados.

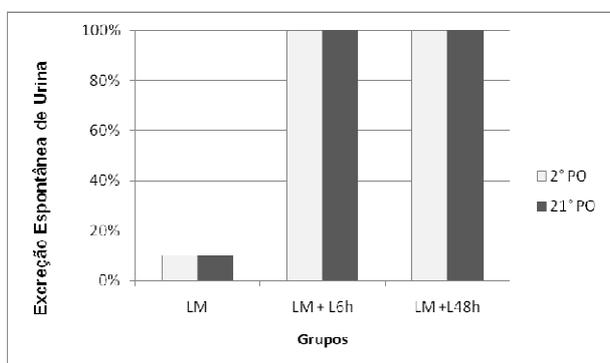


Figura 1: Excreção Espontânea de Urina observado nos grupos LM, LM + L6h e LM + L 48h no 2° e 21° dia de pós-operatório (PO). Os dados representam a porcentagem de independência do esfíncter vesical.

**Infecção urinária:** Na figura 2, pode-se verificar que 80% dos animais do grupo LM apresentaram hematúria no 2° PO, característica clínica de infecção urinária. Entretanto, o mesmo evento não foi observado no 21° PO. Não foram observados sinais de hematúria no grupo LM + L6h tanto no 2° PO, quanto no 21° dia de PO. Somente em 20% dos animais do grupo LM + L48h encontrou-se sinais de infecção urinária no 2° PO, porém o mesmo não foi observado no 21° PO.

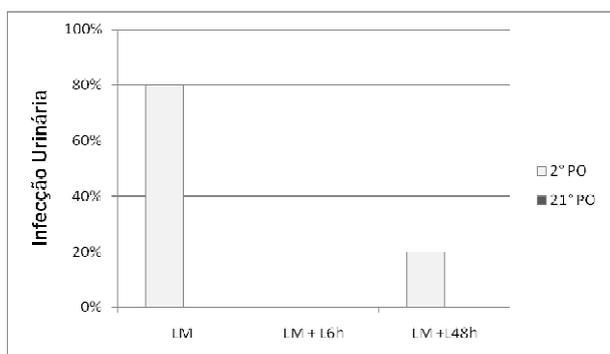


Figura 2: Presença infecção de urinária

observados nos grupos LM, LM + L6h e LM + L 48h no 2° e 21° dia de pós-operatório. Os dados representam a porcentagem dos animais que apresentaram presença de sangue na urina.

**Movimentação Ativa das Patas Traseiras** - A avaliação motora foi analisada e classificada quanto à ausência ou presença de movimento em qualquer uma das articulações das patas traseiras dos animais.

Na figura 3 pode se observar que nenhum dos grupos apresentou movimentação ativa das patas traseiras no 2° PO. O mesmo não foi observado no 21° PO. No grupo LM apenas 10% dos animais apresentou algum tipo de movimento ativo nas patas traseiras após 21 dias do procedimento cirúrgico. Dos animais tratados com laser 6 horas pós a lesão medular (LM + L6h) 95% apresentou movimentação ativa das patas traseiras na reavaliação realizada no 21° PO. Dos animais do grupo LM + L48h, 80% apresentou movimentação ativa das patas traseiras no 21° PO quando comparado com o 2° PO. Assim, melhora função motora das patas traseiras dos animais submetidos à laserterapia.

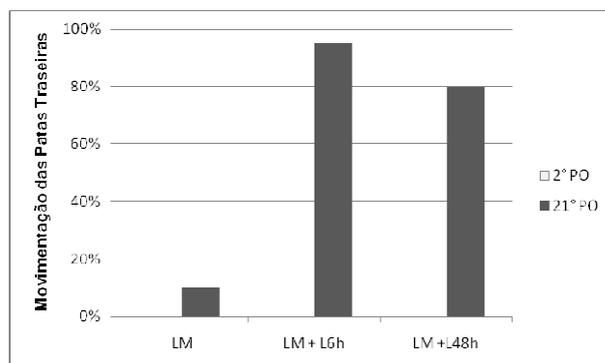


Figura 3: Presença movimentação das patas traseiras observado nos grupos LM, LM + L6h e LM + L 48h no 2° e 21° PO. Os dados representam a porcentagem dos animais que apresentaram movimentação ativa das patas traseiras.

**Padrão Alimentar** – Nota-se no 2° e 21° PO a ingestão de alimentos ofertados. Não foram observadas diferenças relevantes no padrão alimentar dos animais nos três grupos.

## Discussão

Os traumas medulares representam uma das piores agressões que o corpo humano pode sofrer, propiciando limitações físicas e psicológicas no paciente, além de abalar toda a estrutura familiar (TATOR; FEHLINGS, 1991).

No Brasil, dados epidemiológicos coletados relatam a ocorrência de 8 mil novos casos de lesados medulares por ano, sendo que cerca de 1950 ocorrem dentro do Estado de São Paulo (Molina, 2006).

Segundo McDonald et al., (1999) o melhor tratamento para a lesão medular seria aquele que não apenas diminuísse a lesão, mas também estimulasse seu processo de reparação. Acredita-se que ao receber estímulo externo o sistema nervoso central possa se adaptar e reorganizar-se, utilizando mecanismos para compensar a perda neuronal e promover, ainda que parcial, o remodelamento das conexões sinápticas remanescentes e conseqüentemente novos brotamentos neuronais. Entretanto, a regeneração medular ainda continua sendo um dos principais desafios na neurologia (ROSSIGNOL et al., 2007).

Disreflexia autonômica caracteriza-se por uma síndrome grave e desordenada, ocasionada pelo desbalanço da regulação da atividade autonômica no lesado medular, podendo ser secundária a uma série de fatores, entre eles infecções urinárias, constipação intestinal, úlceras por pressão, estresse psicológico, uso de roupas, órteses ou acessórios apertados, procedimentos invasivos e ou qualquer estímulo que ative o sistema nociceptivo. Este fenômeno, se não diagnosticado e tratado, pode por em risco a vida do paciente, sendo que os acidentes cardiovasculares e neurológicos são os mais comuns (KRASSIOUKOV et al., 2009).

Entre as causas de comorbidade que acomete o lesado medular, podemos citar as alterações do controle esfíncteriano (vesical), a qual propicia comprometimento do funcionamento do trato urinário inferior, favorecendo a infecção devido a incontinência vesical e aumento da pressão intravesical. A lesão medular altera o centro da micção pontina e conseqüentemente resulta em disfunção na coordenação vesicouretral (SIROKY, 2002).

No estudo realizado por Meyer e colaboradores em 2003, observou-se que a hematúria pode ser considerada um sinal precoce de cistite hemorrágica, que ocorre nas primeiras 24-48 horas após lesão medular e ocasiona distensão vesical e dificuldade para a expressão vesical.

Ao analisar o comportamento clínico dos animais pós lesão medular proposta neste estudo, observamos que esta comorbidade estava presente. Observou-se que os animais que não apresentaram espontaneidade na excreção urinária, obtiveram alto índice de infecção urinária com presença de hematúria, mesmo quando submetidos a tratamento farmacológico. O mesmo não ocorreu com os animais tratados com laserterapia após 6 horas da lesão. Os animais tratados com laserterapia após 48h da lesão

mostraram independência na excreção urinária, e mesmo assim 20% dos animais deste grupo apresentou sinais de infecção.

Em relação à motricidade dos lesados medulares LIMA et al. 2008, afirma que a alteração ou interrupção da comunicação entre o encéfalo e a periferia afetará a condução dos sinais motores, ocasionando paralisia parcial ou total da atividade muscular abaixo do nível da lesão.

Esta afirmação vai de encontro com o que encontramos neste estudo. No segundo dia de pós-operatório os quinze animais não apresentaram nenhum movimento abaixo do nível da lesão. Vale salientar que o procedimento e intensidade da lesão foram padronizados para todos os animais, entretanto a resposta observada após 21 dias de pós-operatório foi diferente entre os grupos. Vimos que, os animais submetidos à laserterapia obtiveram melhora motora superior ao grupo sem tratamento, destacando que os animais que receberam a laserterapia precocemente (6 h pós LM) ao final do tratamento proposto apresentaram melhores resultados quando comparados aos animais submetidos a laserterapia 48 horas após LM.

Alguns autores relatam sobre a ação do laser no processo inflamatório, ou seja, aumento da microcirculação local, em função da degranulação de mastócitos, permeabilidade vascular, migração celular, aumento da pressão de oxigênio, reduzindo risco de morte celular; aumento da liberação local de citocinas relacionadas com o controle da inflamação (REIS et al, 2008).

Estudos utilizando o laser de baixa intensidade com o objetivo de analisar os efeitos do laser na regeneração neuronal e em células nervosas embebidas, desenvolvidos pelos pesquisadores Rochkind et al., (2002), Byerner et al., (2005), Wu et al., (2009), apresentaram resultados satisfatórios ao utilizarem de comprimento de onda entre as faixas de 780 e 810 nm.

## Conclusão

Após os resultados obtidos observamos que a terapia com laser de baixa intensidade quando iniciada precocemente pode ser promissora no reparo de tecido neural após lesão medular, contribuindo com a diminuição do processo inflamatório, estimulando células imunes, favorecendo o crescimento axonal e conseqüentemente melhora da função motora e minimizando as disfunções autonômicas ou vesicais.

## Referências

- BELCHIOR, A. C. G., REIS, F. A., NICOLAU, R. A., SILVA, S.I., PEREIRA, D.M., CARVALHO, P. T. C. Influence of laser (660 nm) on functional recovery of the sciatic nerve in rats following crushing lesion. **Lasers in Medical Science**, v.24,
- Byrnes K. R.; Barna L.; Chenault V. M.; Waynant R. W.; Ilev I. K.; Longo L.; Miracco C.; Johnson B.; Anders J. J. Photobiomodulation improves cutaneous wound healing in an animal model of type II diabetes. **Photomed Laser Surg** v.22, n.4, p.281–290, 2004.
- DEMIDOVA-RICE, T.N.; SALOMATINA E. V.; YAROSLAVSKY A.N.; Herman, I.M.; Hamblin, M. R. Low-level light stimulates excisional wound healing in mice. **Lasers Surg Med**. V.39 n.9. p.706– 715, 2007;.
- DOS REIS, FA, BELCHIOR, A. C. G., CARVALHO, P. T. C., SILVA, B.A.K., PEREIRA, D.M., SILVA, S.I., NICOLAU, R. A. Effect of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. **Laser in Medical Science** v. 24, p 741-747, 2009.
- GUPT, A.K. The influence of photodynamic therapy on the wound healing process in rats. **J Biomat Appl**. V.15, p.176-186, 2001.
- KRASSIOUKOV A.; DARREN E W.; TEASSEL R. ENG J.J. A Systematic Review of the Management of Autonomic Dysreflexia After Spinal Cord Injury. **Arch Phys Med Rehabil** V. 90, April 2009.
- LEUCHT, P., et al. Epidemiology of traumatic spine fractures. **Injury**, v.40, n.2, p.166-172, 2009.
- LIMA M.O.; LIMA F. P.; PACHECO m. t.; LUCARELI p. g.; LUCARELI j. a.; BATISTA c. m.; COGO j. c.; BARGALLO n.; FALCÓN c. Neuroimagem de la reorganización cortical em pacientes com lesão medular. **Revista Ecuatoriana de Neurologia**. 2008; 13:1-3.
- MEYER F. et al. Alterações vesicais na lesão medular experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira** v. 18, n. 3, p. 203-207, 2003.
- MCDONALD J. W.; LIU X. Z.; QU Y.; LIU S.; MICKEY S. K.; TURETSKY D. et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. **Nat Med**.V. 5 p.1410-12, 1999..
- NICOLAU, R.A.; JORGETTI V.; RIGAU, J.; PACHECO, T.T.M.; REIS L.M.; ZÂNGARO, R. A. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Lasers in Medical Science**. V. 18, n. 2, p. 89-94, 2003;
- OLIVEIRA, C. E. N.; SALINA, M.E.; ANNUNCIATO, N. F.; Fatores ambientais que influenciam a plasticidade do SNC. **Acta Fisiátrica**. V.8, n.1p. 6-13, 2001.
- PAULA A.A.; NICOLAU R.A.; LIMA M.O.; COGO J. C. Efeito da terapia com laser de baixa potência na reparação neuronal do sistema nervoso central – revisão sistemática. **Revista Terapia Manual**, julho, 2009.
- REIS F.A.; BELCHIOR A.C.G.; NICOLAU R.A.; FONSECA T. S.; CARVALHO P. T. C. Efeito da terapia com laser de arsenieto de gálio e alumínio (660 nm) sobre a recuperação do nervo ciático de ratos após lesão por neurotmesis seguida de anastomose epineural. **Revista Brasileira de Fisioterapia**. , v.12, p.215 - 221, 2008
- REIS, F. A., BELCHIOR, A. C. G., NICOLAU, R. A., FONSECA, T. S., CARVALHO, P. T. C. ROCHKIND, S. Photoengineering of Neural Tissue Repair Processes in Peripheral Nerves and the Spinal Cord: Research Development with Clinical Applications. **Photomedicine and Laser Surgery**. V. 24, n. 18, p. 151-157,2006.
- ROCHKIND S.; SHAHAR A.; ALON M.; NEVO Z. Transplantation of embryonal spinal cord nerve cells cultured on biodegradable microcarriers followed by low power laser irradiation for the treatment of traumatic paraplegia in rats. **Neurological Research**. v.24, n.4, p.355-360, 2002.
- ROSSIGNOL S.; SCHWAB M.; SCHWARTZ M.; FEHLINGS M. G. Spinal Cord Injury: Time to Move? **The Journal of Neuroscience**. V.27, n. 44 p. 11782-11792,2007.
- SIROKY M.B. Pathogenesis of bacteriuria and infection in the spinal cord injured patient. **Am J Med** V. 113, p. 67s-79s, 2002.
- TATOR C.H.; FEHLINGS M.G.; Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanism. **J. Neurosurg**. V. 75, n.1, p.15-26,1991.

- TURHANI, D. SCHERIAU, M.; KAPRAL, D.; BENESCH, T.; JONKE, E.; BANTLEON, H.P. Pain relief by single low-level laser irradiation in orthodontic patients undergoing fixed appliance therapy. **Am J Orthod Dentofacial Orthop** v. 130, n. 3, p. 371-377, 2006.

- YOUNG, W. Secondary injury mechanisms in acute spinal cord injury. **J Emerg Med**. V.11, n.1, p.13-22, 1993.

- WU X., DMITRIEV A.E., CARDOSO M.J, VIERS-COSTELLO A.G., BORKE R. C., STREETER J., ANDERS J. J. 810nm Wavelength Light: An Effective Therapy for transected or Contused Rat Spinal Cord. **Laseres in Surgery in Medicine**. v. 41, p.36-41, 2009.