

VERIFICAÇÃO DA EFICÁCIA DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NO TRATAMENTO DO EDEMA EM RATOS IMUNOSSUPRIMIDOS

FERNANDA DE OLIVEIRA BUSARELLO, ELISANGELA LOURDES ARTIFON, EDUARDO ALEXANDRE LOTH, GLADSON RICARDO FLOR BERTOLINI
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* Cascavel, Paraná, Brasil
ferbusarello@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O tendão calcâneo comumente sofre lesões traumáticas por ser uma estrutura responsável pela transmissão da força muscular para o osso durante as atividades de vida diária (BUTLER; JUNCOSA; DRESSLER, 2004; LIN; CARDENAS; SOSLOWSKY, 2004). Quando o tendão é submetido a uma tensão, uma deformação ocorrerá, podendo levar a falhas e lesões tendíneas (GROSS, 1992). Estas lesões agudas levam à inflamação, que retira e dilui agentes prejudiciais do local, pelo aumento da permeabilidade capilar e vasodilatação, facilitando a nutrição e oxigenação tecidual (GROSS, 1992; BUTLER; JUNCOSA; DRESSLER, 2004; POSTEN et al., 2005; BILATE, 2007; ENWONWU; RITCHIE, 2007). Porém, essa vasodilatação leva à formação de edema, que é o resultado da acentuada perda de líquidos e acúmulo no tecido intersticial (RESENDE; PEREIRA; CASTRO, 2005).

Após uma lesão, o sistema imunológico é responsável pela defesa do organismo. Quando inalterado, ele deve ter capacidade para responder a diferentes tipos de agressões (JUN; YANG, 2007). Porém, o comprometimento da imunidade humoral e celular pode ocorrer em diversas ocasiões, como no caso das imunodeficiências associadas à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, idade avançada, diabetes, cardiopatias e nefropatias crônicas (BRICKS, 1998). Assim, com o comprometimento do sistema imune, há uma conseqüente baixa resposta imunológica (LANGFORD; ANANWORANICH; COOPER, 2007).

Além disso, tem sido sugerido que várias doenças crônicas, não transmissíveis, como as cardiovasculares, diabetes *mellitus*, obesidade, entre outras, estão associadas à inflamação crônica de baixa intensidade. Com isso, pode ocorrer um retardamento na recuperação tecidual (GERALDO; ALFENAS, 2008).

Assim, para que o reparo da lesão tecidual seja mais rápido, um dos métodos utilizados é o laser de baixa potência. Este, principalmente com doses baixas, produz um aumento da vasodilatação, do transporte de nutrientes e do oxigênio para as células lesionadas facilitando o reparo e retirada de restos celulares (MARTIN, 2003; LOBATO et al., 2005). Além disso, há um aumento na concentração de colágeno, aumento de tecido de granulação, aumento das células endoteliais e neovascularização no local de cicatrização (LAMAS, 1999; KNAPPE; FRANK; ROHDE, 2004; POSTEN et al., 2005; CARRINHO et al., 2006).

Neste estudo, foram utilizados ratos com imunossupressão, objetivando verificar se o laser de baixa potência é eficaz para o tratamento do edema em ratos imunossuprimidos, submetidos a trauma tendíneo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Grupos experimentais

Foram utilizados 23 ratos, machos, da linhagem *Wistar*, obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste e mantidos em biotério próprio do Laboratório do Grupo de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos. Os animais ficaram alojados em gaiolas de contenção de polipropileno, agrupados em número de quatro, com temperatura ambiente de 25°C, e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro controlados, recebendo água e ração *ad libitum*. O projeto foi conduzido segundo as Normas Internacionais de Ética

em Experimentação Animal (ANDERSEN et al., 2004), sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Unioeste, sob protocolo nº 6909.

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos:

- Grupo controle (GC, n=7): submetidos à lesão traumática em tendão calcâneo direito;
- Grupo placebo (GP, n=8): submetidos à imunossupressão, lesão traumática em tendão calcâneo direito e ao tratamento placebo com laser;
- Grupo laser (GL, n=8): submetidos à imunossupressão, lesão traumática em tendão calcâneo direito e ao tratamento com laser 2J/cm².

Modelo de imunossupressão em ratos

A imunossupressão foi realizada por meio do uso do medicamento Ciclosporina A, genérico, laboratório Germed[®], sendo iniciada a administração da droga cinco dias antes do trauma. Utilizou-se 10mg/kg diariamente, durante cinco dias, por via oral com catéter orogástrico. No sexto dia, foi realizado o trauma no tendão calcâneo (BOREL et al., 1976).

Modelo experimental de trauma no tendão calcâneo

Os animais foram sedados, previamente ao procedimento, com Thiopental, 75mg/kg. Em seguida, foram posicionados em decúbito lateral esquerdo, expondo a região lateral do tendão calcâneo direito ao trauma. Para a produção da lesão traumática utilizou-se um equipamento projetado pelo Departamento de Engenharia Civil da Unioeste. O mesmo consistiu de um peso (575g) partindo sempre de uma mesma altura inicial (7cm), em queda sobre a face lateral do tendão calcâneo direito de cada animal, perfazendo uma energia de impacto de aproximadamente 0,40J (BERTOLINI et al., 2008).

Avaliação do edema

Para quantificar o edema na região de lesão experimental foi utilizado um paquímetro metálico, posicionado médio-lateralmente, para verificar o diâmetro, em centímetros, do tendão calcâneo direito. As avaliações foram realizadas antes da lesão experimental, após a recuperação da anestesia do animal, e com duas, quatro, oito, 24 e 48 horas após a lesão (BERTOLINI et al., 2008).

Protocolo de tratamento com laser de baixa potência

Posteriormente à avaliação pós-lesão foi realizado o tratamento com laser, marca Ibramed[®], com comprimento de onda de 660 nanômetros (nm), 30mW de potência, densidade de energia de 2J/cm², de forma pontual (um ponto) e contínua, especificamente sobre o local do trauma. Os animais foram mantidos em contensor de PVC termoplástico durante a aplicação do laser. O grupo placebo recebeu o mesmo procedimento, porém com o aparelho desligado. O equipamento laser foi aferido previamente ao seu uso. A aplicação do laser foi realizada em seguida à avaliação pós-lesão, e após 24 e 48 horas da realização da lesão.

Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Devido à normalidade dos mesmos, foram analisados pelo teste de ANOVA medidas repetidas, para a comparação dentro dos grupos, e ANOVA unidirecional, para comparação entre os grupos. Como pós-teste foi utilizado Tukey. Em todos os casos o nível de significância aceito foi 5%.

RESULTADOS

Nas avaliações com paquímetro, observou-se no GC que, nos valores comparados entre pré-lesão e quatro horas após a lesão e 48h após a lesão, os resultados não foram significativos. Assim, em todas as outras avaliações os valores encontrados foram significativos, revelando a formação de edema no local lesionado. Nas comparações pós-lesão, nenhum resultado foi significativo (Fig. 1A).

Nas comparações entre o GP, nos valores de pré-lesão, foi verificado aumento significativo no diâmetro dos tendões dos animais nos mesmos momentos de avaliações que os do GC. Já nos valores de pós-lesão houve diminuição significativa no diâmetro dos tendões entre pós-lesão e quatro, 24 e 48 horas após a lesão (Fig. 1B).

Para o GL, as comparações com os valores pré-lesão foram significativas com pós-lesão, duas, quatro e oito horas após a lesão. Na comparação com a pós-lesão, os resultados encontrados foram significativos com 24 e 48 horas após a lesão (Fig. 1C).

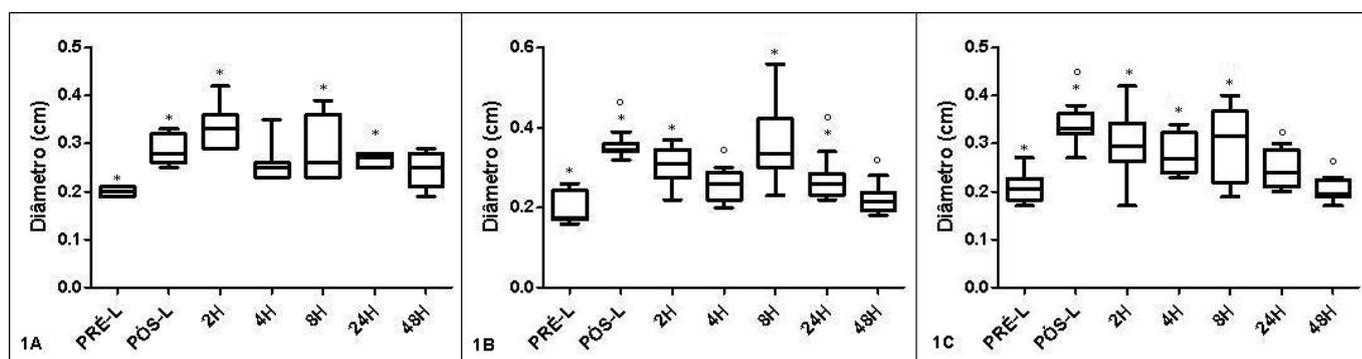


Figura 1 – Gráfico de representação do paquímetro. 1A (GC): *Aumento significativo do diâmetro do tendão dos animais nas avaliações entre pré-lesão e pós-lesão, pré-lesão e 2h após, pré-lesão e 8h após e pré-lesão e 24h após a lesão. 1B (GP): *Aumento significativo do diâmetro do tendão nas avaliações entre pré-lesão e pós-lesão, pré-lesão e 2h após, pré-lesão e 8h após e pré-lesão e 24h após a lesão. °Diminuição significativa do diâmetro nas avaliações entre pós-lesão e 4h após, pós-lesão e 24h após e pós-lesão e 48h após a lesão. 1C (GL): *Aumento significativo do diâmetro do tendão nas avaliações entre pré-lesão e pós-lesão, pré-lesão e 2h após, pré-lesão e 4h após e pré-lesão e 8h após a lesão. °Diminuição significativa do diâmetro nas avaliações entre pós-lesão e 24h após e pós-lesão e 48h após a lesão.

DISCUSSÃO

Em um estudo, utilizando o mesmo modelo de trauma tendíneo e tratamento com laser de baixa potência, em animais de sistema imune inalterado, encontrou uma diminuição significativa de edema, com dose de $2\text{J}/\text{cm}^2$, após duas horas de irradiação por laser (BERTOLINI et al., 2008). Assim, neste estudo, objetivou-se a verificação da ação do laser em animais imunossuprimidos.

No presente estudo, verificou-se a formação de edema após o trauma tendíneo, pelo aumento significativo de diâmetro apresentado no GC e GP, que demonstraram formação de edema nos mesmos momentos de avaliação. Já no GL foi observada diminuição do diâmetro do tendão calcâneo após 24 e 48 horas após a lesão. Sendo assim, verifica-se que o laser de baixa potência foi eficaz para a diminuição do edema local. Contudo, em 4 horas após a lesão, em GC e GP havia volta aos valores basais, mas, para GL não, isto demonstra que na fase inicial o laser produziu aumento do edema, o que pode ter ocorrido pela liberação de histamina por parte de mastócitos, que é elicitada pela aplicação do laser (KNAPPE; FRANK; ROHDE, 2004; POSTEL et al., 2005).

Em todos os grupos, houve restauração dos valores de edema após 48 horas, mas, apenas GL mostrou tal resultado com 24 horas. GP apresentou redução significativa do edema, ao comparar com o momento pós-trauma, em 4, 24 e 48 h, fato não observado para GC. Infere-se que possivelmente por causa de uma menor reação inflamatória, tal fato pode ter sido observado nos animais imunossuprimidos (LANGFORD; ANANWORANICH; COOPER, 2007).

Este achado é confirmado por resultados semelhantes encontrados por Albertini et al. (2004), que verificaram redução significativa de edema na pata dos ratos, após indução por carragenina, por meio da aplicação de laser de baixa potência, com doses de 1 e 2,5J/cm², após duas e quatro horas de sua indução. O melhor resultado foi encontrado após duas intervenções, sendo realizadas, no mínimo, uma hora após a indução de edema.

Em outro estudo, realizado por Elwakil (2007), verificou-se menor quantidade de reação inflamatória granulomatosa após o uso do laser de baixa potência e dose de 1J/cm². Também Bjordal, Lopes-Martins e Iversen (2006) encontraram diminuição da concentração de prostaglandinas (PGE₂) após uma hora do tratamento com laser, 904nm e dose de 5,4J/cm². Para o grupo placebo, as concentrações de PGE₂ aumentaram progressivamente, durante o período após o tratamento. Assim, pode ser observado que o laser promoveu uma diminuição da inflamação por meio da diminuição nas concentrações de PGE₂.

Não foram encontrados estudos que relacionassem animais imunossuprimidos com o tratamento a laser de baixa potência, fato que inviabilizou uma discussão mais detalhada sobre o assunto. Por isso, utilizaram-se estudos com amostras de sistema imune inalterado. Assim, no presente estudo, foi possível verificar que a depressão do sistema imune dos animais não alterou a resposta frente à terapia com laser.

Pode-se constatar como limitações do presente estudo, que não foram correlacionados os achados sobre a formação do edema, com alterações bioquímicas ou histológicas. Assim, futuros estudos podem relacionar estas variáveis, verificando as características dessas alterações.

Com este estudo, pode-se concluir que o laser de baixa potência é eficaz para reduzir o edema em ratos imunossuprimidos submetidos a trauma tendíneo, após 24 horas.

REFERÊNCIAS

ALBERTINI, R.; AIMBIRE, F. S. C.; CORREA, F. I.; RIBEIRO, W.; COGO, J. C.; ANTUNES, E. et al. Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (GaAlAs) laser radiation (650nm) on carrageenan induced rat paw oedema. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 74, n.2/3, p.101-107, 2004.

ANDERSEN, M. L.; D'ALMEIDA, V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F.; MAGALHÃES, L. E; et al. **Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação**. São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo, 2004.

BERTOLINI, G. R. F.; SILVA, T. S.; CIENA, A. P.; TRINDADE, D. L. Efeitos do laser de baixa potência sobre a dor e edema no trauma tendíneo de ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.14, n.4, p.362-366, 2008.

BILATE, A. M. B. Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de Reumatologia Clínica**, v.8, n.2, p.47-51, 2007.

BJORDAL, J. M.; LOPES-MARTINS, R.A. B.; IVERSEN, V. V. A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated Achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E₂ concentrations. **British Journal of Sports Medicine**, v.40, n.1, p.76-80, 2006.

BOREL, J. F.; FEURER, C.; GUBLER, H. U.; STÄHELIN, H. Biological effects of cyclosporine A: a new antilymphocytic agent. **Agents and Actions**, v.6, n.4, p.468-475, 1976.

BRICKS, L. F. Indicação de vacinas e imunoglobulinas em indivíduos que apresentam comprometimento da imunidade. **Revista de Saúde Pública**, v.32, n.3, p.281-294, 1998.

BUTLER, D. L.; JUNCOSA, N.; DRESSLER, M. R. Functional efficacy of tendon repair processes. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v.6, p.303-329, 2004.

CARRINHO, P. M.; RENNO, A. C. M.; KOEKE, P.; SALATE, A. C. B.; PARIZOTTO, N. A.; VIDAL, B. C. Comparative study using 685nm and 830nm lasers in the tissue repair of tenotomized tendons in the mouse. **Photomedicine Laser Surgery**, v.24, n.6, p.754-758, 2006.

ELWAKIL, T. F. An in-vivo experimental evaluation of He-Ne laser photostimulation in healing Achilles tendons. **Lasers in Medical Science**, v.22, n.1, p.53-59, 2007.

ENWONWU, C. O.; RITCHIE, C. S. Nutrition and inflammatory markers. **The Journal of American Dental Association**, v.138, n.1, p.70-73, 2007.

GERALDO, J. M.; ALFENAS, R. C. G. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica – evidências atuais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.52, n.6, p.951-967, 2008.

GROSS, M. T. Chronic tendinitis: pathomechanics of injury, factors affecting the healing response, and treatment. **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**, v.16, n.6, p.248-261, 1992.

JUN, Y.; YANG, H. M. Modelando a interação entre sistema imunológico inato e bactérias estreptococos e estafilococos. **Tendências em Matemática Aplicada e Computacional**, v.8, n.3, p.413-422, 2007.

KNAPPE, V.; FRANK, F.; ROHDE, E. Principles of lasers and biophotonic effects. **Photomedicine Laser Surgery**, v.22, n.5, p.411-417, 2004.

LAMAS, M. C. S. 1999. **Laser a diodo de arseneto de gálio (As-Ga) aplicado às fraturas do terço médio do rádio de cães**. 49p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1999.

LANGFORD, S. E., ANANWORANICH, J. & COOPER, D. A. 2007. Predictors of disease progression in HIV infection: a review. **AIDS Research and Therapy**, v.4(11). Disponível em: <<http://www.aidsrestherapy.com/content/4/1/11>>. Acesso em: 24/08/2010.

LIN, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. Biomechanics of tendon injury and repair. **Journal of Biomechanics**, v.37, n.6, p.865-877, 2004.

LOBATO, D. A.; DEL CARLO, R. J.; VILORIA, M. I. V.; MONTEIRO, B. S.; SILVA, P. S. A.; MARCHESI, D. R. et al. Efeitos da aplicação do laser diodo de arseneto de gálio na osteoartrite experimental em coelhos. **Revista Ceres**, v.52, n.304, p.875-886, 2005.

MARTIN, R. Low level laser therapy (LLLT) precipitates a complex set of physiological interactions at the cellular level that reduces acute inflammation, reduces pain, and accelerates tissue healing. **Practical Pain Management**, v.3, n.6, p.20-25, 2003.

POSTEN, W.; WRONE, D. A.; DOVER, J. S.; ARNDT, K. A.; SILAPUNT, S.; ALAM, M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. **Dermatologic Surgery**, v.31, n.3, p.334-340, 2005.

RESENDE, M. A.; PEREIRA, L. S. M.; CASTRO, M. S. A. Proposta de um modelo teórico de intervenção fisioterapêutica no controle da dor e inflamação. **Fisioterapia Brasil**, v.6, n.5, p.268-271, 2005.