

# Efeito da associação da laserterapia com a natação no reparo morfológico do nervo isquiático e na recuperação funcional de ratos submetidos à axonotmese

*Effect of the laser therapy in association with swimming for a morphological nerve repair and functional recovery in rats submitted to sciatic axonotmesis*

*Efecto de la asociación entre la laserterapia y la natación en la recuperación morfológica del nervio isquiático y en la recuperación funcional de ratas sometidas a axonotmesis*

Geraldo Marco Rosa Junior<sup>1</sup>, Raiza Maiara Gutierrez Magalhães<sup>2</sup>, Vivian Cristina Rosa<sup>3</sup>, Cleuber Rodrigo de Souza Bueno<sup>4</sup>, Luis Henrique Simionato<sup>5</sup>, Carlos Henrique Fachin Bortoluci<sup>5</sup>

**RESUMO** | As lesões de nervos periféricos ocorrem frequentemente e, de modo geral, causam perda funcional impactando de forma negativa na vida do paciente. O objetivo do estudo foi verificar a eficiência da associação da laserterapia e natação em ratos acometidos por axonotmeses. A amostra foi composta por 50 ratos da linhagem Wistar. Foram divididos em 5 grupos, sendo: grupo controle (GC); grupo controle cirúrgico (GCC); grupo experimental laser (GEL); grupo experimental natação (GEN) e grupo experimental laser associado à natação (GELAN). O nervo foi esmagado em um segmento de 5 mm de comprimento próximo a trifurcação do nervo isquiático, feito com uma pinça durante 60 segundos. Foi utilizado o laser infravermelho AsGa (904 nm) com energia irradiada de 0,4 J na primeira semana, 0,8 J na segunda semana e 1,2 J na terceira e quarta semana. Para avaliação funcional (IFC), os animais foram imobilizados, e a região plantar das patas foram pintadas com tinta de carimbo. Esse procedimento foi repetido duas vezes com cada animal. Foi realizada a morfometria (áreas, diâmetros e espessuras das fibras, axônios e bainha de mielina) dos nervos com mensuração de 220 fibras por animal de cada grupo. Pudemos observar que os grupos GEL e GEN, em todas as variáveis morfométricas estudadas, obtiveram

os melhores resultados, quando comparados com os outros grupos (GC, GCC e GELAN), mas não apresentou diferença estatisticamente significativa entre eles. Na análise funcional observou-se que o grupo GELAN obteve o melhor resultado quando comparado com os outros grupos (GCC, GEL e GEN) e quando comparados os grupos GEL e GEN entre eles não houve diferença estatisticamente significativa. A conclusão foi que os grupos GEL e GEN obtiveram os melhores resultados morfométricos, enquanto o GELAN apresentou o melhor resultado funcional. Portanto, pode-se concluir que a associação destes recursos favoreceu a recuperação funcional desses animais.

**Descritores** | Natación; Terapia a Laser; Ratos Wistar; Regeneración; Fisioterapia.

**ABSTRACT** | The peripheral nerve injuries occur frequently and generally cause functional loss impacting negatively on patient's life. The objective this study was to verify the efficiency of the combination of laser therapy and swimming in rats affected by axonotmesis. The sample was comprised of 50 Wistar rats and it was divided into 05 groups: Control Group; Surgical Control Group; Laser Experimental Group; Swimming Experimental

<sup>1</sup>Professor do Centro de Ciências da Saúde e da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru (SP), Brasil.

<sup>2</sup>Graduanda do Curso de Fisioterapia da Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru (SP), Brasil.

<sup>3</sup>Fisioterapeuta. Mestre pela Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Unesp) – Botucatu (SP), Brasil.

<sup>4</sup>Graduando do Curso de Odontologia da Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru (SP), Brasil.

<sup>5</sup>Professor do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru (SP), Brasil.

Group and Laser Experimental combined with Swimming Group. The nerve was crushed into a 5 mm-long segment next to the sciatic nerve trifurcation with a pair of forceps for 60 seconds. The GaAs infrared laser (904nm) was used with energy radiated 0,4J the first week, the second week 0,8J and 1,2J in the third and fourth week. For functional (FCI) evaluation, the animals were immobilized and the plantar region of their paws were painted with ink stamp. The procedure was repeated twice to each animal. The nerve morphometry (areas, diameters and thicknesses of the fibers, axons and myelin sheath) was performed with the measurement of 220 fibers per animal in each group. We can see that the GEL and GEN groups, obtained the best results when compared with the other groups (GC, GCC and GELAN) in all morphometric variables studied, but no statistically significant difference was found between them. In functional analysis, it was observed that the gelan group obtained the best results when compared with the other groups (GCC, GEN and GEL) and when the GEL and GEN groups were compared, there was no statistically significant difference between them. Was concluded the GEL and GEN groups had the best morphometric results, while the GELAN showed the best functional outcome. Therefore, it can be concluded that the combination of these features favoured the functional recovery of the animals

**Keywords** | Swimming; Laser Therapy; Rats, Wistar; Regeneration; Physiotherapy.

**RESUMEN** | Las lesiones de los nervios periféricos frecuentemente ocurren, y generalmente ocasionan pérdida funcional, lo que les causa daño a la vida de los pacientes. En este artículo se propone a verificar la eficacia de la asociación de la laserterapia

y de la natación en ratas sometidas a axonotmesis. El muestro se compuso de 50 ratas Wistar. Se las dividieron en 5 grupos: grupo control (GC); grupo control quirúrgico (GCQ); grupo experimental láser (GEL); grupo experimental natación (GEN) y grupo experimental láser asociado con la natación (GELAN). Se aplastó con una pinza durante 60 segundos el nervio en un segmento de 5 mm de extensión cerca de la trifurcación del nervio isquiático. Se empleó el láser infrarrojo AsGa (904 nm) con energía irradiada de 0,4 J en la primera semana, 0,8 J en la segunda y 1,2 J en la tercera y cuarta semanas. Para la evaluación funcional (IFC), se los inmovilizaron los animales y se los pintó con tinta estampilla la región plantar de las patas. Se repitió dicho procedimiento dos veces en cada animal. Se realizó la morfometría (áreas, diámetros y espesuras de las fibras, axónios y vaina de mielina) de los nervios con mensuración de 220 fibras por cada animal de cada grupo. Se notó que los grupos GEL y GEN, en todas las variables morfométricas estudiadas, presentaron los mejores resultados, en comparación con los otros grupos (GC, GCQ y GELAN), sin embargo no presentó diferencia estadísticamente significativa entre ellos. En el análisis funcional se observó que el grupo GELAN tuvo el mejor resultado en comparación con otros grupos (GCQ, GEL y GEN), y al comparar los grupos GEL y GEN no presentaron diferencia estadísticamente significativa. Se concluyó que los grupos GEL y GEN tuvieron mejores resultados morfométricos, mientras que el GELAN presentó el mejor resultado funcional. Por lo que se concluye que la asociación de dichos recursos les favoreció la recuperación funcional de dichos animales.

**Palabras clave** | Natación; Terapia por Láser; Ratas Wistar; Regeneración; Fisioterapia.

## INTRODUÇÃO

As lesões de nervos periféricos ocorrem frequentemente e, de modo geral, causam perda funcional para o paciente<sup>1</sup> impactando de forma negativa na vida do paciente<sup>2</sup>. As causas mais comuns das lesões de nervos periféricos são por projéteis de armas de fogo, quedas, traumas contusos ou penetrantes e principalmente por acidentes automobilísticos<sup>3</sup>.

A incidência de lesões em nervos periféricos é maior em indivíduos na faixa etária de 25 a 40 anos. Dessa forma, podendo causar importantes consequências econômicas e sociais devido à incapacidade funcional precoce, pois estão, na maioria das vezes, no ápice de sua capacidade produtiva profissional. Assim, qualquer

tratamento que leva a uma recuperação funcional mais acelerada dos nervos periféricos, após um trauma, é de grande valor a toda sociedade<sup>4</sup>. É sabido que o processo degenerativo no músculo é iniciado logo após a lesão nervosa, dessa forma, a intervenção rápida para reestabelecer a interação mioneural deve ser realizada<sup>5</sup>.

Várias técnicas cirúrgicas e tratamentos que auxiliam na regeneração de nervos periféricos têm sido desenvolvidos<sup>6</sup> objetivando a melhora morfológica e funcional em um tempo menor<sup>7,8</sup>.

Atualmente, o exercício físico tem ganhado espaço diante de estratégias de reabilitação utilizadas, principalmente, por caracterizar-se como um recurso terapêutico não invasivo<sup>9</sup> e que representa um importante mecanismo para a liberação de fatores

neurotróficos, sobretudo o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) considerado de suma importância na mediação da plasticidade neuronal<sup>10,11</sup>.

Vários autores apresentam resultados benéficos com a prática do exercício, como o maior brotamento e prolongamento dos axônios<sup>12</sup>, o aumento no número de fibras nervosas mielinizadas<sup>13,14</sup> e a melhora na recuperação funcional do membro lesionado<sup>15-17</sup>. As indicações quanto ao tipo de atividade, bem como a duração e a intensidade do exercício têm causado grandes discussões na comunidade científica<sup>18</sup>.

Outro recurso utilizado com a finalidade de promover melhora funcional ao indivíduo lesionado é a fototerapia. Os estudos para investigar a fundo os protocolos utilizados como recurso terapêutico para a regeneração de nervos periféricos foram iniciados no final dos anos 1980, utilizando-se como modelo experimental a lesão por esmagamento<sup>19</sup>, e firmando-se até hoje como grande recurso terapêutico na regeneração de nervos periféricos<sup>20</sup>.

Como recurso terapêutico efetivo no tratamento complementar das lesões, a laserterapia tem ganhado destaque nos protocolos de intervenção fisioterapêuticos principalmente por ser um tratamento não invasivo e possuir resultados positivos na regeneração e recuperação funcional. Entre esses benefícios podem ser citados o efeito anti-inflamatório e antiedematoso, o potencial para cicatrização de feridas, alívio da dor, aumento da respiração mitocondrial, da síntese de ATP e da proliferação de fibroblastos, estimulação à proliferação das células de Schwann que secretam fatores neurotróficos para regeneração do nervo, entre outros fatores<sup>21-24</sup>.

Acreditando nos efeitos benéficos da laserterapia e do exercício físico, e considerando a importância da recuperação funcional e retorno às atividades de vida diária, o objetivo desta pesquisa foi verificar a eficiência da associação da laserterapia e natação nas características morfofuncionais de ratos acometidos por axonotmeses. Acreditamos que a associação dos protocolos, bem como o aumento gradativo da energia do laser ao longo do tempo da lesão, poderá desencadear um processo regenerativo mais eficiente, propiciando ao indivíduo uma melhora funcional mais efetiva.

## METODOLOGIA

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o número de protocolo 034/2012.

Foram utilizados 50 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, jovens, machos, com 80 dias de vida, provenientes do biotério central. Os animais foram mantidos em gaiola com água e ração oferecidas *ad libitum*, com ambiente controlado (temperatura entre 21 a 25°C e foto período de 12 horas claro e 12 horas escuro) sem restrições na movimentação.

Para realização da axonotmese, os 50 animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos (n=10, para cada grupo), sendo:

Grupo controle (GC) – os animais foram isentos de qualquer intervenção, sendo observados por 30 dias.

Grupo controle cirúrgico (GCC), no qual os animais passaram por intervenção cirúrgica, com indução de lesão nervosa por esmagamento, entretanto não foram submetidos a nenhum protocolo de tratamento no pós-cirúrgico.

Grupo experimental laser (GEL), no qual os animais passaram por intervenção cirúrgica, com indução de lesão nervosa por esmagamento, sendo tratados no pós-cirúrgico por protocolo de laserterapia.

Grupo experimental natação (GEN), no qual os animais passaram por intervenção cirúrgica, com indução de lesão nervosa por esmagamento, sendo tratados no pós-cirúrgico por protocolo de exercício de natação.

Grupo experimental laser associado à natação (GELAN), no qual os animais passaram por intervenção cirúrgica, com indução de lesão nervosa por esmagamento, sendo tratados no pós-cirúrgico por protocolo de laserterapia e exercício de natação.

Os animais foram anestesiados com uma combinação das drogas cloridrato de ketamina (80mg/kg) e cloridrato de xilazina (15mg/kg), para que se realizasse o procedimento cirúrgico no nervo. Para o procedimento cirúrgico, foi efetuado uma incisão de 5 cm na região dorso lateral do membro pélvico direito, depois da incisão a musculatura adjacente foi divulgada com a finalidade de realizar a exposição do nervo isquiático direito.

O esmagamento foi realizado em um segmento de 5 mm de comprimento do nervo isquiático, próximo a trifurcação que origina o nervo fibular, nervo tibial e nervo sural. O procedimento foi realizado utilizando uma pinça hemostática, durante 60 segundos, divididos em três etapas de 20 segundos cada. Depois do procedimento a musculatura e a pele foram suturadas com fio 4-0.

O aparelho de laser utilizado nos grupos de laserterapia foi AsGa 904 nm (Arseneto de gálio, ENDOPHOTON – KLD). A irradiação foi feita sobre a pele do membro pélvico direito do animal, na região do segmento lesado do nervo, seguindo trabalhos publicados anteriormente com o mesmo padrão<sup>25,26</sup>. O aparelho foi devidamente calibrado antes das aplicações.

A aplicação do laser foi pontual durante 8 segundos na primeira semana, 16 segundos na segunda semana e 24 segundos na terceira e quarta, três vezes por semana, totalizando 4 semanas de tratamento. Para a aplicação do laser os animais foram contidos manualmente.

Os parâmetros utilizados foram: comprimento de onda de 904nm; potência de 50 mw; fluência ou densidade de energia de 40J/cm<sup>2</sup> na primeira semana, 8J/cm<sup>2</sup> na segunda semana e 120J/cm<sup>2</sup> na terceira e quarta semana; a energia irradiada foi de 0,4J na primeira semana, 0,8J na segunda semana e 1,2J na terceira e quarta semana. O objetivo do aumento da dose foram as etapas da lesão nervosa periférica, passando da fase aguda para a subaguda e posteriormente para a fase crônica.

Nos grupos os quais foram submetidos ao exercício de natação, os animais foram colocados em um tanque de vidro, com água aquecida (32±2°), preenchida com 40 cm de altura. O exercício de natação foi realizado cinco vezes por semana, com descanso nos sábados e domingos. Na primeira semana, exclusivamente, os animais nadaram por 20 minutos no primeiro dia, com acréscimo de 10 minutos a cada dia, sendo que ao chegar aos 40 minutos esse tempo foi mantido constante até o fim do experimento.

Para avaliação funcional os animais foram imobilizados, e colocados em uma canaleta de acrílico para que caminhassem sobre ela. Ao caminhar, os animais eram filmados para que fossem registradas as impressões de sua marcha. Esse procedimento foi repetido duas vezes com cada animal. A distância entre as impressões dos membros posteriores foram avaliadas segundo a equação descrita por Bain, Mackinnon e Hunter<sup>27</sup>, com base nos estudos de De Medinaceli, Freed e Wyatt<sup>28</sup>. Os vídeos foram convertidos em fotos sequenciais, obedecendo a um padrão de calibração para cada imagem. Para avaliação da função foi utilizado o índice funcional do isquiático. As medições foram feitas com auxílio do programa Image Pro-plus 4.6.2, e os dados obtidos foram submetidos ao tratamento

estatístico obedecendo ao índice de  $p < 0,05$  para todas as amostras.

No momento da coleta das amostras, os animais foram anestesiados com uma combinação das drogas cloridrato de ketamina (80mg/kg) e cloridrato de xilazina (15mg/kg), aplicada via intramuscular na região dorso-lateral do membro pélvico esquerdo do animal, para coletar as amostras. Após a realização das coletas cirúrgicas, os animais receberam dose letal de pentobarbital sódico (150mg/kg) e lidocaína a 2% (10mg/mL), administrados intraperitonealmente.

Durante o tratamento histológico, as amostras do nervo isquiático foram fixadas em solução de Karnovsky, incluídas em historresina e coradas com tetróxido de ósmio. Para obtenção dos cortes histológicos de 5 µm de espessura, as amostras foram processadas em micrótomo.

A morfometria dos nervos foi realizada com a mensuração de 220 fibras por animal de cada grupo, utilizando um microcomputador com o software de captura e análise de imagem acoplado ao microscópio óptico. As variáveis morfométricas que foram estudadas nos nervos são: área das fibras, área dos axônios, diâmetro mínimo das fibras, diâmetro mínimo dos axônios, área da bainha de mielina e espessura da bainha de mielina.

Quando comparados os grupos, foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey, quando detectada diferença significativa. Para comparação entre o nervo isquiático experimental e normal foi utilizado Teste T pareado. Em todas as análises, foi utilizado o nível de significância  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Comparando a área e o diâmetro da fibra nervosa, pode-se observar que os grupos GEL e GEN apresentaram sempre os melhores resultados (área = 38,42µm<sup>2</sup> e 37,56µm<sup>2</sup> respectivamente e diâmetro = 4,02µm e 3,96µm, respectivamente) quando comparados com os grupos GCC e GELAN, que obtiveram 21,47µm<sup>2</sup> e 28,76µm<sup>2</sup> para área e 2,87µm e 3,35µm para o diâmetro respectivamente. O GC apresentou a maior média da área com 50,12µm<sup>2</sup> e diâmetro 8,95µm.

Os dados da área e diâmetro das fibras nervosas podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1. Média e desvio-padrão da área das fibras nervosas ( $\mu\text{m}^2$ ) e média e desvio-padrão do diâmetro menor das fibras nervosas ( $\mu\text{m}$ )

	Área da fibra nervosa		Diâmetro da fibra nervosa	
	Média	DP	Média	DP
GC	50,12 <sup>a</sup>	4,77	8,95 <sup>a</sup>	0,22
GCC	21,47 <sup>b</sup>	3,18	2,87 <sup>b</sup>	0,14
GEL	38,42 <sup>c</sup>	5,82	4,02 <sup>c</sup>	0,20
GEN	37,56 <sup>c</sup>	4,52	3,96 <sup>c</sup>	0,21
GELAN	28,76 <sup>d</sup>	3,27	3,35 <sup>d</sup>	0,45

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ )

Com base nos resultados da Tabela 2, pode-se observar que a área e o diâmetro do axônio dos grupos GEL e GEN, obtiveram os melhores resultados nas duas variáveis analisadas (área =  $11,17 \mu\text{m}^2$  e  $12,46 \mu\text{m}^2$ , e diâmetro =  $2,98 \mu\text{m}$  e  $3,06 \mu\text{m}$ , respectivamente) quando comparados com os grupos GCC e GELAN, que obtiveram  $4,75 \mu\text{m}^2$  e  $9,06 \mu\text{m}^2$  para área do axônio e  $2,05 \mu\text{m}$  e  $2,57 \mu\text{m}$  para o diâmetro do axônio. O GC apresentou os maiores valores com  $15,05 \mu\text{m}^2$  de área e  $5,13 \mu\text{m}$  de diâmetro.

Tabela 2. Média e desvio-padrão da área dos axônios ( $\mu\text{m}^2$ ) e média e desvio-padrão do diâmetro menor dos axônios ( $\mu\text{m}$ )

	Área do axônio		Diâmetro do axônio	
	Média	DP	Média	DP
GC	15,05 <sup>a</sup>	0,80	5,13 <sup>a</sup>	0,18
GCC	4,75 <sup>b</sup>	1,28	2,05 <sup>b</sup>	0,22
GEL	11,17 <sup>c</sup>	0,95	2,98 <sup>c</sup>	0,31
GEN	12,46 <sup>c</sup>	0,87	3,06 <sup>c</sup>	0,32
GELAN	9,06 <sup>d</sup>	0,94	2,57 <sup>d</sup>	0,56

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ )

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 3, pode-se observar que a área e a espessura da bainha dos grupos GEL e GEN apresentaram os melhores resultados (área =  $25,25 \mu\text{m}^2$  e  $25,10 \mu\text{m}^2$ , respectivamente; espessura =  $2,86 \mu\text{m}$  e  $2,72 \mu\text{m}$ , respectivamente) quando comparados com os grupos GCC e GELAN, que obtiveram na área da bainha  $7,72 \mu\text{m}^2$  e  $21,70 \mu\text{m}^2$  e na espessura da bainha  $1,82 \mu\text{m}$  e  $2,28 \mu\text{m}$ , respectivamente. O GC apresentou os maiores valores com  $43,07 \mu\text{m}^2$  de área da bainha e  $3,82 \mu\text{m}$  de espessura da bainha.

Tabela 3. Média e desvio-padrão das áreas das bainhas de mielina ( $\mu\text{m}^2$ ) e média e desvio-padrão das espessuras das bainhas de mielina ( $\mu\text{m}$ )

	Área da bainha de mielina		Espessura da bainha de mielina	
	Média	DP	Média	DP
GC	43,07 <sup>a</sup>	1,80	3,82 <sup>a</sup>	0,33
GCC	7,72 <sup>b</sup>	4,56	1,82 <sup>b</sup>	0,25
GEL	25,25 <sup>c</sup>	1,74	2,86 <sup>c</sup>	0,37
GEN	25,10 <sup>c</sup>	2,46	2,72 <sup>c</sup>	0,45
GELAN	21,70 <sup>d</sup>	2,93	2,28 <sup>d</sup>	0,82

Nota: Letras diferentes indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ )

Na Figura 1, pode-se observar as fotomicrografias dos grupos estudados e as diferenças morfológicas apresentadas pelos grupos.

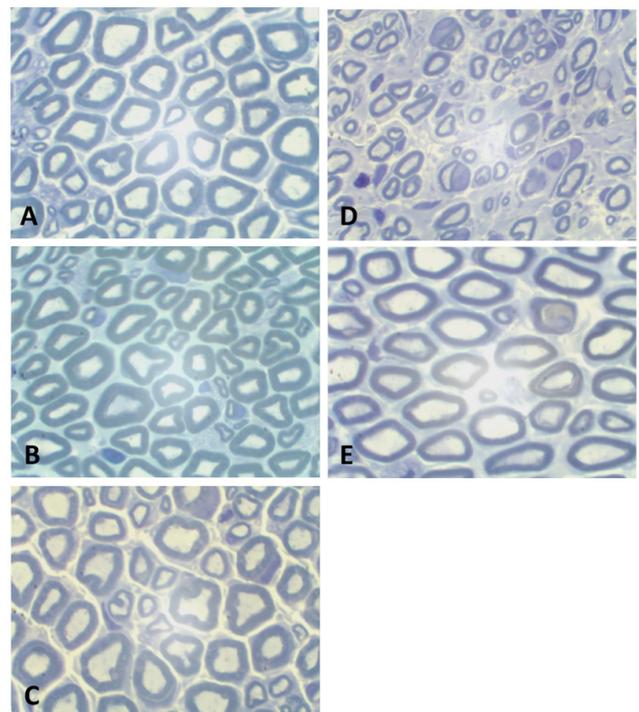


Figura 1. Plate das micrografias dos grupos estudados apresentando a morfologia do nervo (1000x) (A) GEL; (B) GEN; (C) GELAN; (D) GCC e (E) GC

No Gráfico 1, pode-se observar que os resultados da análise funcional do grupo GELAN foi melhor que dos grupos GCC, GEL e GEN, apresentando diferença estatisticamente significante entre eles. O melhor resultado da análise funcional é aquele que se aproxima mais do grupo controle. As letras diferentes indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

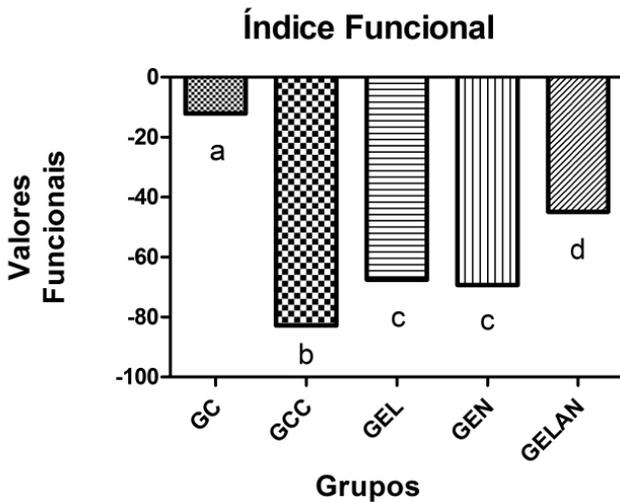


Gráfico 1. Resultado funcional dos grupos estudados. Grupo GELAN apresenta resultado mais próximo ao GC

O GELAN obteve o resultado de -44,90, sendo o melhor resultado, pois se aproximou ao GC com o valor de -12,11. Os grupos GEN e GEL não apresentaram diferença estatística atingindo os valores de -69,32 e -67,51 respectivamente. O GCC, por ser o desnervado, apresentou o pior resultado com o valor de -82,81.

## DISCUSSÃO

Para o estudo das lesões de nervos periféricos vários autores têm escolhido trabalhar experimentalmente com a lesão por esmagamento<sup>29</sup> classificada por Seddon<sup>30</sup> como uma axonotmese, por preservar em parte estruturas de sustentação importantes como: o endoneuro, perineuro e os túbulos das células de Schwann, que têm a função de guiar o novo axônio em regeneração até o órgão-alvo.

Os benefícios da prática do exercício, tais como o maior brotamento e prolongamento dos axônios<sup>12</sup>, o aumento no número de fibras mielinizadas<sup>13,14</sup> e a melhora na recuperação funcional do membro lesionado<sup>15</sup>, têm sido descritos em diversos experimentos envolvendo animais desnervados<sup>18</sup>. Neste trabalho, obteve-se resultados semelhantes aos encontrados na literatura quando avaliamos a recuperação funcional, pois os grupos que realizaram a prática de exercício apresentaram resultados superiores quando comparados aos grupos que não realizaram o protocolo de natação. Outros autores indicam para os efeitos inócuos do exercício físico no processo de regeneração nervosa periférica<sup>31,32</sup>.

Apesar de um tanto quanto controverso, autores têm sugerido o exercício físico, como recurso terapêutico complementar<sup>33</sup> e que este, quando associado a outras práticas terapêuticas como a eletroterapia<sup>34</sup> ou a fototerapia<sup>6,19</sup>, pode proporcionar avanços no prognóstico das lesões nervosas periféricas. Nesta pesquisa pode-se verificar que o grupo GELAN que associou a laserterapia com o exercício de natação obteve resultado funcional melhor quando comparado ao grupo GEL e GEN, respectivamente.

Há evidências, em pesquisas clínicas e experimentais, que um dos efeitos do laser é aumentar a função do nervo, elevar o metabolismo dos neurônios e aumentar a capacidade de produção da mielina. Pelo fato da laserterapia não ser invasiva, a habilidade de irradiar nervos lesionados sem intervenções é proveitosa<sup>35</sup>.

Em geral, as publicações cujos tratamentos utilizaram o laser de emissão contínua apresentaram resultados positivos na regeneração nervosa periférica, entretanto, a densidade de energia utilizada apresenta grande variação, apresentando dados de 1,2 a 140 J/cm<sup>2</sup>. Por isso, optou-se pela utilização do laser com densidade de energia gradativamente maiores no decorrer do tempo da lesão variando entre 40, 80 e 120 J/cm<sup>2</sup> as semanas com a finalidade de verificar a aplicação de doses<sup>25,26,36-41</sup>.

Sabe-se muito pouco sobre o papel da irradiação com o laser no tratamento de reabilitação dos tecidos do aparelho locomotor. Entretanto, a irradiação com o laser é muito empregada para tratar uma variedade de condições patológicas do sistema musculoesquelético, inclusive os nervos periféricos<sup>25</sup>.

A absorção da energia luminosa pelo tecido nervoso aumenta a síntese de ATP e proliferação celular, que aumenta metabolismo axonal, melhorando a cicatrização no processo regenerativo, provocando, dessa forma, a expressão de fatores neurotróficos, tais como: a proteína GAP-43, TGF-1, expressão do gene GCRP, aumentando a taxa de regeneração, direcionando o axônio ao órgão-alvo. O aumento do brotamento axonal também é descrito como resultado da ação da irradiação a laser<sup>42,43</sup>.

Na pesquisa feita por Reis et al.<sup>35</sup>, a média do IFC no grupo controle foi de -96,3 apresentando um valor próximo ao encontrado neste trabalho cuja média obtida foi de -82,81. O GEL apresentou diferença nos valores, com média de -88,20 contra -67,51 neste trabalho.

Segundo Camargo, Costa e André<sup>26</sup>, que também utilizaram o laser AsGa na regeneração nervosa periférica, a média do IFC foi de -47,71, o que representa

um resultado ainda melhor quando comparado com os dados deste trabalho.

No trabalho realizado por Endo, Barbieri e Fasan<sup>25</sup>, que utilizaram a laserterapia de baixa intensidade para acelerar a regeneração de nervos periféricos observou-se melhora progressiva do IFC tanto nos nervos irradiados como nos controles (69 e 45%, respectivamente). De acordo com esses autores, foi observado que a densidade de fibras aumentou para os nervos irradiados e diminuiu para os nervos controle, sendo significativa a diferença entre ambos ( $p=0,001$ ). Os autores concluíram que a terapia com o laser de baixa intensidade efetivamente acelera a regeneração do nervo isquiático do rato. Neste trabalho também foi observado um aumento da área das fibras, o GEL e o GCC obtiveram os valores de  $38,42\mu\text{m}^2$  e  $21,47\mu\text{m}^2$ , respectivamente.

De acordo com o estudo realizado por Oliveira et al.<sup>31</sup>, no qual utilizaram a estimulação elétrica e a natação na regeneração nervosa e recuperação funcional na fase aguda de uma axonotmese em ratos, observaram que o diâmetro do axônio foi menor nos grupos desnervados, e que quando comparados entre eles o grupo que obteve melhor resultado foi o grupo natação com os seguintes valores:  $6,32\pm 0,36$  no grupo controle;  $3,45\pm 0,64$  no grupo desnervado;  $3,67\pm 0,41$  no grupo desnervado + eletroestimulação;  $4,34\pm 0,69$  no grupo desnervado + natação;  $4,04\pm 0,38$  no grupo desnervado + natação + eletroestimulação. O mesmo ocorreu neste trabalho, o melhor resultado em relação ao diâmetro do axônio foi do GEN.

Neste trabalho, o grupo em que houve associação da terapia e exercício, embora não tenha apresentando bons resultados morfológicos, demonstrou melhora na análise funcional. Associamos a melhora funcional em decorrência do exercício físico, que exige do animal a liberação de fatores neurotróficos e também ao efeito do laser que proporciona um efeito anti-inflamatório, antiedematoso e analgésico.

Acreditamos que novas investigações devem ser realizadas com a finalidade de identificar a expressão de proteínas envolvidas no processo regenerativo de nervos periféricos, bem como a resposta muscular diante da nova inervação recebida, estabelecendo uma correlação da interação mioneural com possível readaptação das placas motoras.

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados, foi observado que a atuação do laser e da natação isoladamente

promoveram melhora morfológica na avaliação do processo regenerativo do nervo, mas não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre eles. Já a associação da laserterapia com o exercício de natação favoreceu a recuperação funcional após lesão nervosa periférica.

Portanto, pode-se concluir que o recurso da laserterapia e da natação apresentam eficiência na recuperação morfológica de ratos com lesão nervosa periférica, e a associação dos recursos demonstraram uma tendência para a recuperação funcional. Dessa forma, novos protocolos de natação devem ser investigados para que estabeleça uma relação direta com a intensidade dos exercícios e a recuperação funcional.

## REFERÊNCIAS

1. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*. 1951;74:491-516
2. Rosberg HE, Carlsson KS, Hojgard S, Lindgren B, Lundborg G, Dahlin LB. Injury to the human median and ulnar nerves in the forearm - analysis of costs for treatment and rehabilitation of 69 patients in southern Sweden. *J Hand Surg*. 2005;30:35-9.
3. Kouyoumdjian JA. Peripheral nerve injuries: a retrospective survey of 456 cases. *Muscle Nerve*. 2006;34:785-8.
4. Whitlock EL, Tuffaha SH, Luciano JP, Yan Y, Hunter DA, Magill CK, Moore AM, Tong AY, Mackinnon SE, Borschel GH. Processed allografts and type I collagen conduits for repair of peripheral nerve gaps. *Muscle Nerve*. 2009;39(6):787-99.
5. Rosa-Junior GM, Bueno CRS, Heubel A, Bortoluci CHF, Simionato LH, Daré LR, Silva MP, Dias DV. Efeito da corrente alternada simétrica sinusoidal na musculatura estriada esquelética desnervada experimentalmente. *Salusvita*. 2013;32(3):211-25.
6. Deumens R, Bozkurt A, Meek MF, Marcus MAE, Joosten EAJ, Weis J, Brook GA. Repairing injured peripheral nerves: bridging gap. *Prog Neurobiol*. 2010;92:245-76.
7. Gigo-Benato D, Geuna S, Rodrigues AC, Tos P, Fornaro M, Boux E, Battiston E, Giacobini-Robecchi MG. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurotomy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. *Lasers Med Sci*. 2004;19:57-65.
8. Rockkind S, El-Ani D, Nevo Z, Shahar A. Increase of neuronal sprouting and migration using 780nm laser phototherapy as procedure for cell therapy. *Lasers Surg Med*. 2009;41:277-81.
9. Kisner C, Colby LA. *Therapeutic Exercise: Foundations and Techniques*. 5ª ed. Philadelphia; Davis Company, 2007.
10. Yarrow JF, White LJ, McCoy SC, Borst SE. Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neurosci Letters*. 2010;479:161-5.

11. Zoladz JA, Pilc A, Majerczak J, Grandys M, Zapart-Bukowska J, Duda K. Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59(7):119-32.
12. Sabatier MJ, Redmon N, Schwartz G, English AW. Treadmill training promotes axon regeneration in injured peripheral nerves. *Exp Neurol*. 2008;211:489-93.
13. Ilha J, Araujo RT, Malysz T, Hermel EES, Rigon P, Xavier LL, Achaval M. Endurance and resistance exercise training programs elicit specific effects on sciatic nerve regeneration after experimental traumatic lesion in rats. *Neurorehabil Neural Repair*. 2008;22(4):355-66.
14. Udina E, Puigdemasa A, Navarro X. Passive and active exercise improve regeneration and muscle reinnervation after peripheral nerve injury in the rat. *Muscle Nerve*. 2011;43:500-09.
15. Cobianchi S, Marinelli S, Florenzano F, Pavone F, Luvisetto S. Short-but not long-lasting treadmill running reduces allodynia and improves functional recovery after peripheral nerve injury. *Neuroscience*. 2010;168:273-87.
16. Marqueste T, Marqueste T, Alliez JR, Alluin O, Jammes Y, Decherchi P. Neuromuscular rehabilitation by treadmill running or electrical stimulation after peripheral nerve injury and repair. *J Appl Physiol*. 2004;96:1988-95.
17. Van Meeteren N, Brakkee JH, Hamers FP, Helders PJ, Gispen WH. Exercise training improves functional recovery and motor nerve conduction velocity after sciatic nerve crush lesion. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997;78:70-7.
18. Udina E, Cobianchi S, Allodi I, Navarro X. Effects of activity-dependent strategies on regeneration and plasticity after peripheral nerve injuries. *Ann Anat*. 2011:1-7.
19. Gigo-Benato D, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of the literature. *Muscle Nerve*. 2005;31:694-701.
20. Barbosa RI, Marcolino AM, Guirro RRJ, Mazzer N, Barbieri CH, Fonseca MCR. Efeito do laser de baixa intensidade (660nm) na regeneração do nervo isquiático lesados em ratos. *Fisioter Pesqui*. 2010;17(4):294-9.
21. Wang L, Hu L, Grygorczyk R, Shen X, Schwarz W. Modulation of extracellular atp content of mast cells and drg neurons by irradiation: studies on underlying mechanism of low-level-laser therapy. *Mediators of Inflammation*, Article ID 630361, 9 pages, 2015. doi:10.1155/2015/63036.
22. Martins F, Rennó ACM, Oliveira F, Minatel NP, Bortolin JA, Quintana HT, Aveiro MC. Low-level laser therapy modulates musculoskeletal loss in a skin burn model in rats. *Acta Cirúrg Bras*. 2015;30(2):94-9.
23. Wang CZ, Chen YJ, Wang YH, Yeh ML, Huang MH, Ho ML, Liang JI, Chen CH. Low-level laser irradiation improves functional recovery and nerve regeneration in sciatic nerve crush rat injury model. *PLoS One*. 2014;9(8):103-348.
24. Huang YY, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy-an update. *Dose-Response*. 2011;9(4):602-18.
25. Endo C, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. A laserterapia de baixa intensidade acelera a regeneração de nervos periféricos. *Acta Ortop Bras*. 2008;16(5):305-10.
26. Camargo VM, Costa J, André ES. Estudo comparativo entre dois tipos de raio laser de baixa potência e seus respectivos efeitos sobre a regeneração nervosa periférica. *Fisioter Mov*. 2006;9(2):127-34.
27. 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):129-33.
28. 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.
29. Câmara CN, Brito MV, Silveira EL, Silva DS, Simões VR, Pontes RWR. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta Cir Bras*. 2011;26:12-8.
30. Seddon HJ. The use of autogenous grafts for the repair of large gaps in peripheral nerves. *Brit J Surg*. 1947;35:151-67.
31. Oliveira LS, Sobral LL, Takeda SYM, Betini J, Guirro RRJ, Somazz MC, Teodori RM. Electrical stimulation and swimming in the acute phase of axonotmesis: their influence on nerve regeneration and functional recovery. *Rev Neurol*. 2008;47:11-5.
32. Sobral LL, Oliveira LS, Takeda SYM, Somazz MC, Montebelo MIL, Teodori RM. Immediate versus later exercises for rat sciatic nerve regeneration after axonotmesis: histomorphometric and functional analyses. *Rev Bras Fisioter*. 2008;12(4):311-6.
33. Vaynman S, Gomez-Pinilla F. License to run: Exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. *Neurorehabil Neural Repair*. 2005;19:283-95.
34. Asensio-Pinilla E, Udina E, Jaramillo J, Navarro X. Electrical stimulation combined with exercise increase axonal regeneration after peripheral nerve injury. *Exp Neurol*. 2009;219:258-65.
35. Reis FA, Belchior ACG, Nicolau RA, Fonseca TS, Carvalho PTC. Efeito da terapia com laser de arsenieto de gálio e alumínio (660nm) sobre a recuperação do nervo ciático de ratos após lesão por neurotmesa seguida anastomose epineural: análise funcional. *Ver Bras Fisioter*. 2008;12(3):215-21.
36. Barbosa RI, Marcolino AM, Guirro RRJ, Mazzer N, Barbieri CH, Fonseca MCR. Comparative effects of wavelengths of low-power laser in regeneration of sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers Surge Med*. 2010;42:673-82.
37. Pistarini LCY. Ação in vivo do potencial regenerativo na degeneração walleriana de nervos periféricos com utilização de laser de baixa potência e composto polivitamínico  $\beta$ -nerve<sup>®</sup>. São Paulo. Dissertação. [Mestre em ciências na área de tecnologia nuclear - materiais] - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2015.
38. Sousa FA, Ribeiro TL, Fazan VPA, Barbieri CH. Lack of effectiveness of laser therapy applied to the nerve course and the correspondent medullary roots. *Acta Ortop Bras*. 2013;21(2): 92-7.
39. Lins RDAU, Dantas EM, Lucena KCR, Catão MHCV, Granville-Garcia AF, Carvalho Neto LG. Biostimulation effects of low-power laser in the repair process. *An Bras Dermatol*. 2010;85(6):849-55.
40. Noronha L, Chin EWK, Kimura LY, Graf R. Estudo morfométrico e morfológico da cicatrização após uso do

- laser erbium: YAG em tecidos cutâneos de ratos. *J Bras Patol Med.* 2004;40(1):41-8.
41. Lucas C, Gemert MJC, Haan RJ. Efficacy of low-level laser therapy in the management of stage III decubitus ulcers: a prospective, observer-blinded multicentre randomized clinical trial. *Lasers Med Sci.* 2003;18:72-7.
42. Hamblin MR, Demidova TN. Mechanisms of low level light therapy. *Society of Photographic Instrumentation Engineers.* 2006;61(40):1-12.
43. Buchaim RL, Andreo JC, Barravieira, B, Ferreira-Junior RS, Buchaim DV, Rosa-Junior GM, Oliveira ALR, Rodrigues AC. Effect of low-level laser therapy (LLLT) on peripheral nerve regeneration using fibrin glue derived from snake venom. *Injury.* 2015;46:655-60.