UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

RODRIGO ANTÔNIO CARVALHO ANDRAUS

**OS EFEITOS DA IRRADIAÇÃO COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA
NA REGENERAÇÃO DO NERVO FIBULAR COMUM DO RATO
SUBMETIDO A LESÃO POR ESMAGAMENTO**

Ribeirão Preto

2009

RODRIGO ANTÔNIO CARVALHO ANDRAUS

Os efeitos da irradiação com laser de baixa potência na regeneração do nervo fibular comum do rato submetido a lesão por esmagamento.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de concentração: Ortopedia, Traumatologia e Reabilitação do Aparelho Locomotor – Opção Reabilitação

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Henrique Barbieri

Ribeirão Preto

2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

Rodrigo Antônio Carvalho Andraus

Os efeitos da irradiação com laser de baixa potência na regeneração do nervo fibular comum do rato submetido a lesão por esmagamento.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, **Miguel e Renata**, que nunca me faltaram, ajudando a superar todas as dificuldades, compartilhando das alegrias e tristezas, e pela confiança e força por me incentivar continuar a lutar pelos ideais almejados.*

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Cláudio Henrique Barbieri**, meu agradecimento especial pela oportunidade oferecida, confiança depositada, orientação, paciência e principalmente pela amizade e pelos ensinamentos pessoal e profissional.

Ao **Prof. Dr. José Batista Volpon** por disponibilizar o acesso ao laboratório de Bioengenharia.

Ao **Prof. Dr. Antônio Carlos Shimano** pela amizade nestes anos de convivência, e que muito me ensinou para o meu crescimento pessoal e científico.

As professoras **Marisa Cássia Registro Fonseca e Ivania Garavello** pelas sugestões e auxílio na conclusão do trabalho.

Ao meu irmão, **Renato** e ao meu tio **Elias** pela força em todas as etapas da minha vida.

À minha namorada **Tais**, pelo amor, dedicação, paciência e constante incentivo e apoio para minha formação profissional. Uma caminhada muito especial, repleta de momentos de alegria e companheirismo.

À secretária do laboratório de Bioengenharia **Maria Teresinha de Moraes** pelo apoio durante os momentos de trabalho.

Aos técnicos do Laboratório de Bioengenharia **Francisco Carlos Mazzocato** e **Luís Henrique Alves Pereira**, pelo constante apoio, incentivo e amizade.

Ao engenheiro **Carlos Alberto Moro** e ao **Reginaldo Trevilato** pelo constante auxílio e amizade.

Ao **CEMEQ (Centro de Métodos Quantitativos)** pela análise estatística dos dados.

A todos os **Colegas do Laboratório de Bioengenharia** pela convivência, amizade, apoio e companhia no percurso de pós-graduação.

Ao amigo **Allison Bráz** pela amizade sincera e por disponibilizar o aparelho de laser, demonstrando o apoio à pesquisa.

Às secretárias do Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor, **Maria de Fátima**, **Elisângela** e **Leidiane**, pelo carinho e atenção dispensados.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

*“Ainda que não possas marchar livremente com
teu fardo, avança com ele para frente, mesmo
que seja um milímetro por dia”*

(MOMENTO: Francisco Cândido Xavier)

RESUMO

ANDRAUS, R. A. C. **Os efeitos da irradiação com laser de baixa potência na regeneração do nervo fibular comum do rato submetido a lesão por esmagamento**. 2008. 86 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

A regeneração dos nervos periféricos é um processo natural, que demanda um período longo para se completar, havendo algumas evidências de que agentes físicos, inclusive o laser, podem acelerá-lo. O objetivo primordial deste estudo foi analisar a influência da irradiação com o laser de baixa potência (AsGaAL) sobre a regeneração nervosa, num modelo de lesão por esmagamento do nervo fibular comum de ratos. O objetivo secundário foi avaliar a concordância entre os índices funcionais do nervo fibular (PFI) e o dos nervos ciático (SFI) e tibial (TFI), segundo os métodos propostos por dois autores diferentes. Foram utilizados 35 ratos *Wistar* (130 dias de idade, massa corporal média de 240 gramas), divididos em quatro grupos no total, sendo três grupos de dez animais cada, conforme o procedimento realizado (1: esmagamento, sem tratamento; 2: esmagamento e tratamento simulado; 3: esmagamento e tratamento efetivo) e num grupo de cinco animais intactos, para controle. A lesão por esmagamento do nervo fibular comum foi obtida pela aplicação de uma carga de 5 Kgf por dez minutos, com uma pinça especialmente confeccionada para esse fim. A irradiação com o laser foi iniciada no primeiro dia pós-operatório, empregando um equipamento de laser AsGaAL de baixa potência (potência de 100 mW, comprimento de onda de 830 nm, dose de 140 J/cm²) de emissão contínua, pelo método transcutâneo pontual de contato, e continuada por 21 dias consecutivos. Os resultados foram avaliados pela medida da velocidade de marcha do animal e do índice funcional do fibular (PFI, de peroneal functional index). A massa corporal, a velocidade de marcha e o PFI foram medidos

antes da operação e no 21º dia pós-operatório, o PFI foi obtido por meio de um programa de computador específico para esse fim, utilizando duas fórmulas diferentes. Os resultados mostraram que a massa corporal aumentou em todos os grupos, sem diferença estatística entre os períodos. A velocidade de marcha diminuiu, com diferença estatística em todos os grupos. O PFI aumentou em todos os grupos e com as duas fórmulas utilizadas na sua medida, mas no Grupo 3, embora sem diferença estatística nos períodos pré e pós-operatórios, evidenciando que a irradiação com o laser interferiu na regeneração do nervo fibular esmagado. Houve uma concordância moderada entre o PFI e o SFI, maior no período pós-operatório, demonstrando que o SFI pode ser empregado para a avaliação do nervo fibular, o que, entretanto, não é recomendável.

Concluimos que a irradiação do laser de baixa potência influenciou na regeneração do nervo fibular comum esmagado de ratos, pela medida do índice funcional do fibular.

Palavras-chave: nervos periféricos; lesão por esmagamento; nervo fibular; laser de baixa potência; avaliação funcional da marcha.

ABSTRACT

ANDRAUS, R.A.C. **The effects of low power laser irradiation on the regeneration of the common fibular nerve in rat submitted to a crush lesion.** 2009. 86 f. Dissertation (Master) – Ribeirao Preto School of Medicine, Sao Paulo University, 2008.

Peripheral nerve regeneration is a natural process, which requires a long period to complete, with a few evidences that physical agents including laser, can speed it up. The main objective of this investigation was to analyze the influence of low power laser (AsGaAL) irradiation on nerve regeneration, in a model of crush injury of the common fibular nerve of rats. A secondary objective was to evaluate the concordance between the fibular (PFI) and sciatic (SFI) nerves functional indexes, according to the methods proposed by two different research groups. Thirty-five *Wistar* rats (130 days of age, 240 g average body mass) were used and divided into four groups in total, be three groups of ten animals each, according to the procedure carried out (1: crush injury, no treatment; 2: crush injury, sham irradiation; 3: crush injury, effective irradiation), and a group of five untouched animals, for normal control. The crush injury was obtained by the application of a 5 kgf load for 10 minutes, using a spring forceps especially built for this purpose. Laser irradiation was started on the first postoperative day and continued for 21 consecutive days, using a commercially available continuous emission equipment (100 mW intensity, 830 nm wave length, 140 J/cm² dose) and the transcutaneous punctual contact method. The results were appraised for the measure of the speed of the gait of the animal and of the functional index of the fibular (PFI, de peroneal functional index). Body mass, walking speed and the functional indexes were measured before the operation and on the 21st postoperative day, the functional indexes using a specific software especially developed for this purpose and the two different methods mentioned above. The results showed that the body mass increased while speed decreased with time for all

groups, but without statistical significance. The PFI increased in all groups according to the two methods of evaluation used and more markedly in Group 3, although without statistical significance, period pre and post-operative. Moderate concordance was showed between PFI and SFI, higher in the post-treatment than in the preoperative evaluation, meaning that, although not recommendable, the SFI can be used to evaluate the fibular nerve.

We concludes that low power laser irradiation influence the regeneration of the crush fibular nerve of rats, as measured by the peroneal functional index.

Key words: peripheral nerves; crush injury; fibular nerve; low power laser irradiation; walking track analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática dos parâmetros medidos para calcular o Índice Funcional do Ciático (IFC). N: Normal; E: Experimental (operada); TS: Abertura total dos dedos (1º ao 5º); IT: Abertura dos dedos intermediários (2º ao 4º); PL: Comprimento da pegada.....	27
Figura 2 - Comparação entre os métodos de registro da marcha. À direita o registro utilizando filme de raio-X, e à esquerda o registro utilizando método de Lowdon, Seaber, Urbaniak (1988).....	30
Figura 3 - Pinça de esmagamento.....	47
Figura 4 - Representação da lesão nervosa por esmagamento do nervo fibular comum.....	47
Figura 5 - Esquema dos pontos de irradiação, efetiva e a simulada.....	48
Figura 6 - Laser portátil marca DMC®.....	49
Figura 7 - Aplicação do laser AsGaAL. Notar que o animal era mantido subjugado, sem anestesia.....	49
Figura 8 - Esquema da passarela de análise da marcha, com os sensores de registro do tempo de percurso.....	51
Figura 9 - Visualização da tela do monitor, com duas impressões de pegada, mostrando os pontos-chave a serem clicados, com o uso do programa modificado por Yamasita, Mazzer e Barbieri (2008).....	53
Figura 10 - Gráfico da variável PFI de acordo com o grupo, antes e após a intervenção (gráfico à esquerda) e da razão Pós/Pré da variável IBM (gráfico à direita).....	56

Figura 11 - Gráfico da variável Tempo de acordo com o grupo, antes e após a intervenção (gráfico à esquerda) e da razão Pós/Pré da variável Tempo (gráfico à direita).....57

Figura 12 - Gráfico da variável Peso de acordo com o grupo, antes e após a intervenção (gráfico à esquerda) e da razão Pós/Pré da variável Peso (gráfico à direita).....58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição da variável PFI de acordo com os grupos antes e após a intervenção e da diferença obtida antes e após a intervenção (21 - 0) em cada um dos grupos.....	55
Tabela 2 - Descrição da variável tempo de acordo com os grupos antes e após a intervenção e da diferença obtida antes e após a intervenção (21 - 0) em cada um dos grupos.....	57
Tabela 3 - Descrição da variável peso de acordo com os grupos antes e após a intervenção e da diferença obtida antes e após a intervenção (21 - 0) em cada um dos grupos.....	58
Tabela 4 - Comparações entre os períodos pré e pós-operatórios em cada variável.....	59
Tabela 5 - Comparações do aumento/diminuição obtido nos períodos pré e pós-operatórios entre os grupos em cada variável.....	60
Tabela 6 - Resultados obtidos do coeficiente de concordância de Lin e respectivos intervalos de confiança (95%) de acordo com o grupo e tempo.....	61
Tabela 7 - Tabela de classificação do grau de concordância de Lin.....	61
Tabela 8 - Resultados obtidos do coeficiente de concordância de Lin e respectivos intervalos de confiança (95%) de acordo com o grupo e autor no período pré-operatório.....	62
Tabela 9 - Resultados obtidos do coeficiente de concordância de Lin e respectivos intervalos de confiança (95%) de acordo com o grupo e autor no período pós-operatório.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AlGaInP	Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo
AsGa	Arseneto de Gálio
AsGaAL	Arseneto de Gálio e Alumínio
cm	centímetros
cm ²	centímetros quadrado
E	Experimental
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
g	gramas
ms	milisegundos
HeNe	Hélio-Neônio
IBM	Índice de Bain, Mackinnon e Hunter
IFC	Índice Funcional do Ciático
IT	<i>Intermediate toes</i> , ou distância linear transversal do 2º ao 4º dedo
J	Joule
kgf	quilogramaforça
mW	MiliWatts
N	Normal
nm	Nanômetro
PFI	Índice Funcional do Peroneiro
PL	<i>Print length</i> , ou comprimento da pegada
SFI	Sciatic functional index, ou Índice Funcional do Isquiático
TFI	Índice Funcional do Tibial
TOF	<i>To other foot</i> , ou distância ao pé oposto
TS	<i>Total spread</i> , ou distância linear transversal do 1º ao 5º dedo
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA.....	20
1.2 LESÃO NERVOSA POR ESMAGAMENTO.....	23
1.3 AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA MARCHA.....	25
1.4 LASER E SEUS EFEITOS.....	32
1.5 LASER NA REGENERAÇÃO NERVOSA.....	39
1.6 JUSTIFICATIVA.....	41
2 OBJETIVO.....	43
3 MATERIAL E MÉTODO.....	44
3.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	44
3.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	45
3.3 APLICAÇÃO DO LASER DE DIODO AsGaAL.....	48
3.4 REGISTRO DAS PEGADAS.....	50
3.5 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA.....	52
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
4 RESULTADOS.....	55
4.1 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA.....	55
4.1.2 CONCORDÂNCIA.....	61
5 DISCUSSÃO.....	63
5.1 MODELO EXPERIMENTAL.....	63
5.2 MÉTODO DE INDUÇÃO A LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA.....	63
5.3 LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA.....	65
5.4 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA.....	68
6 CONCLUSÃO.....	74

REFERÊNCIAS.....75

ANEXO.....86

1 INTRODUÇÃO

As lesões traumáticas dos nervos periféricos são muito frequentes e demandam cuidados especializados, os quais nem sempre produzem os efeitos desejados, levando o indivíduo a uma perda funcional de gravidade variável, mas sempre incapacitante. Assim, ocorrem alterações significativas nesses pacientes portadores dessas lesões, que comprometem sua qualidade de vida, seja pela perda da sensibilidade, da motricidade ou de ambas. A recuperação de um nervo periférico lesado é um processo natural, que depende da gravidade da desestruturação dos tecidos de sustentação e do grau de degeneração Walleriana, dentre outros fatores.

Sob qualquer ponto de vista, é altamente desejável que se consiga reparar os nervos lesados, dando condições para que eles se regenerem e devolvam ao paciente sua completa função. Frequentemente, por melhor que tenha sido o reparo cirúrgico, a função recuperada fica muito aquém do esperado, às vezes por razões difíceis de entender. Por outro lado, pouco há a fazer após o reparo cirúrgico do nervo e que possa contribuir para sua regeneração, mas recursos como a estimulação elétrica, por ultra-som e por laser de baixa potência, com finalidade regenerativa e de uso comum na fisioterapia, são utilizados com o intuito de acelerar os processos regenerativos, buscando um retorno precoce da funcionalidade do paciente (GASPARINI; BARBIERI; MAZZER, 2007; MONTE-RASO; BARBIERI; MAZZER, 2006; MONTE-RASO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2001).

O emprego de modelos experimentais bem sistematizados para o estudo das lesões de nervos periféricos e seu tratamento é crucial para possibilitar a comparação entre as investigações realizadas pelo mesmo pesquisador e entre pesquisadores diferentes. O modelo da lesão por esmagamento do nervo ciático de

ratos, ou de seus ramos, está entre os preferidos por inúmeros pesquisadores (BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989; CRAGG; THOMAS, 1964; DE MEDINACELI; DERENZO; WYATT, 1984; MIRA, 1979, ORGEL, 1982), sendo de uso corrente no laboratório onde foi realizado o presente trabalho (GASPARINI; BARBIERI; MAZZER, 2007; MONTE-RASO; BARBIERI; MAZZER, 2006; MONTE-RASO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2001). Nesse tipo de lesão experimental, a lesão predominante é a axonotmesis, sem ruptura dos elementos de sustentação dos fascículos, dependendo da carga empregada. Sua principal vantagem é que não necessita de reparo cirúrgico, o qual demanda treinamento, instrumental e materiais especiais, que introduzem inúmeras variáveis de difícil controle.

Em condições experimentais, a recuperação das lesões periféricas sempre foi estudada principalmente através de técnicas de eletrofisiologia, histologia e morfometria, de uso consagrado mas que não fornecem nenhuma informação sobre a recuperação funcional, que é, no final, o que interessa. Um método de avaliação funcional quantitativa confiável e reprodutível foi desenvolvida por De Medinaceli e colaboradores (1982, 1984), através do índice funcional do nervo ciático de ratos (IFC), posteriormente modificado por outros autores. O IFC fornece uma medida muito próxima do grau de recuperação funcional após a lesão do nervo ciático, ou de seus ramos, correlacionando-se com o grau de lesão e regeneração morfológica, medida pela morfometria (OLIVEIRA et al.; 2001).

1.1 LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA

Os nervos periféricos são constituídos de feixes de fibras ou axônios com suas bainhas de mielina, produzida pelas células de Schwann, as quais lhe conferem a cor esbranquiçada. Os axônios que irão constituir os nervos periféricos originam-se de corpos celulares de neurônios localizados na substância cinzenta do tronco cerebral, no corno anterior da medula espinhal, ou daqueles neurônios situados periféricamente nos gânglios sensitivos, dos nervos espinais ou em gânglios do sistema nervoso autônomo.

O tecido conjuntivo que reveste o nervo mais externamente é conhecido como epineuro, dotado de características histo-morfológicas que garantem proteção ao tecido nervoso frente aos traumatismos de variada natureza. No interior do envoltório epineural, as fibras nervosas estão agrupadas em feixes, chamados fascículos, que variam em número, diâmetro e conteúdo de fibras de acordo com o nervo periférico (DAHLIN, 2004). Os fascículos são revestidos por uma membrana conjuntiva internamente formada por células do tipo epitelial, e externamente por tecido conectivo e colágeno, chamado perineuro. O envoltório perineural tem a estrutura lamelar, sendo menos distensível que o epineuro, e oferece proteção e sustentação ao fascículo. No interior do fascículo, as fibras nervosas são revestidas pelo endoneuro, que se caracteriza histologicamente pela presença de colágeno do tipo III. Essa micro-anatomia do nervo periférico garante as condições necessárias para a manutenção de sua principal função, que consiste em transmitir os estímulos nervosos do Sistema Nervoso Central para os órgãos efetores periféricos e vice-versa.

Existem vários fatores que influenciam na regeneração da fibra nervosa lesada, como a natureza e o nível da lesão, período de desnervação, tipo e diâmetro

da fibra nervosa. Fibras de diâmetro e funções diferentes (motoras, sensitivas e simpáticas) se regeneram com velocidades diferentes. Outros fatores como a idade do paciente, a intercorrência de agentes químicos, temperaturas e variações individuais também interferem na regeneração de um nervo periférico (RASO, 2002; SUNDERLAND, 1978, 1985, 1990).

A classificação de trauma de nervo baseia-se no dano sofrido pelos componentes nervosos, na funcionalidade nervosa e na capacidade de recuperação espontânea. Seddon (1943) publicou uma classificação de lesões nervosas, conforme o grau de lesão sofrida pelo nervo, e Sunderland (1951) expandiu este sistema de graduação. A significância do sistema de classificação em três graus de Seddon (1943) é baseada no grau de ruptura das suas estruturas internas, mas correlacionada com o prognóstico de recuperação, como se segue:

Neurapraxia – É a forma mais branda de uma lesão nervosa, na qual existe um bloqueio localizado da condução dos estímulos nervosos, que, no entanto, está preservada nos segmentos proximal e distal à lesão. Nessa lesão, o axônio não perde sua continuidade, portanto ocorre uma recuperação rápida e completa em poucas semanas.

Axonotmese – É uma lesão mais grave, na qual os danos são suficientes para promover uma ruptura da continuidade axonal, provocando uma degeneração Walleriana distal. O prognóstico de recuperação funcional é bom, desde que seja mantida a continuidade dos tecidos conectivos de suporte e a integridade das células satélites e da membrana basal.

Neurotmese - É o tipo mais grave de lesão nervosa periférica. Nela há uma completa ruptura do nervo periférico e o prognóstico de recuperação não é favorável, a menos que a continuidade do nervo seja restabelecida.

Sunderland (1951) propôs uma outra classificação, mais detalhada e baseada em anatomia e funcionalidade pós-trauma, dividindo-as em 5 graus:

I – Corresponde à neuropraxia descrita por Seddon (1943). Não há perda da continuidade entre o corpo celular e as terminações do axônio, mas ocorre uma interrupção da condução nervosa no local da lesão. É completamente reversível em prazo variável de caso a caso e não ocorre degeneração Walleriana. Em geral não há envolvimento sensitivo, porque as fibras motoras de maior calibre, são as mais susceptíveis.

II – O axônio é seccionado, ocorrendo desintegração da bainha de mielina e degeneração Walleriana abaixo da lesão, mas o endoneuro e as estruturas de sustentação ficam preservados. Ocorre regeneração praticamente completa e a função é restaurada.

III – Há envolvimento não apenas dos axônios, mas da estrutura interna dos fascículos, com perda da continuidade dos tubos neurais e degeneração Walleriana. O perineuro externo e o interno estão apenas moderadamente afetados, o que mantém a continuidade dos fascículos e preserva sua disposição geral interna. As lesões intra-fasciculares incluem hemorragia, edema, estase e isquemia vascular e a fibrose que se forma é um obstáculo na regeneração.

IV – Há destruição do perineuro externo e interno e grande desarranjo da estrutura fascicular do nervo, cuja continuidade se mantém às custas de um tecido desorganizado. Os axônios em regeneração não encontram o tubo neural distal correspondente e invadem o tecido cicatricial intra-neural, resultando no neuroma em continuidade. O tratamento dessa lesão requer a excisão do segmento destruído e interposição de enxerto de nervo, como na lesão por secção completa.

V – É a lesão por secção completa do nervo, envolvendo não apenas as estruturas endoneurais, mas também o epineuro. Ocorre formação de neuroma no coto proximal e degeneração Walleriana no coto distal. Requer regularização dos cotos e interposição de enxertos de nervo.

O prognóstico dessas classificações consiste no fato de que quanto maior o grau de lesão pior é a probabilidade de uma regeneração total, além de outras variáveis como a formação de fibrose ou até de uma lesão vascular, que pode afetar a sua regeneração.

1.2 LESÃO NERVOSA POR ESMAGAMENTO

Os fenômenos que envolvem a regeneração do nervo periférico podem ser avaliados através de vários modelos experimentais. O modelo de lesão nervosa por esmagamento tem sido adotado por vários autores, por ser um método que preserva ao menos em parte a estrutura do nervo, facilitando sua regeneração, e de não haver a necessidade de uma microcirurgia, o que implica em um treinamento prévio em técnicas de microcirurgia e na introdução de variáveis de difícil controle. Esse modelo foi empregado em diversos, tanto para avaliar a lesão em si (MAZZER et al., 2008), como para estudar a regeneração e recuperação funcional, espontânea ou induzida (BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989; BRIDGE et al., 1994; CRAGG; THOMAS, 1964; DE MEDINACELI; DERENZO; WYATT, 1984; DE MEDINACELI; FREED; WYATT, 1982; DELLON; MACKINNON, 1989; ENDO, 2002; MENDONÇA; BARBIERI; MAZZER, 2003; MIRA, 1979; MONTE-RASO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2001).

De Medinaceli, Freed e Wyatt (1982) estabeleceram que a lesão por esmagamento é uma modalidade útil para o estudo de regeneração dos nervos periféricos, pois é do tipo axonotmese, na qual os danos são suficientes para romper o axônio, levando à degeneração Walleriana distal, mas sua recuperação funcional é boa, graças à preservação das estruturas de sustentação.

Bridge et al. (1994), concluíram que o uso de uma pinça cirúrgica ou de relojoeiro para produzir lesões por esmagamento do nervo isquiático de ratos, era do tipo axonotmese. Não foi medida a pressão aplicada, nem houve diferença estatística entre os grupos do estudo, mas o método foi considerado confiável e reproduzível.

Devor et al. (1979) relataram que, em modelos experimentais de esmagamento, a recuperação funcional do nervo isquiático de ratos tinha início no 4º dia após lesão e que, em torno do 20º dia já havia um retorno significativo da sensibilidade em territórios específicos de inervação.

Oliveira et al. (2001) estudaram a regeneração do nervo isquiático após lesão por esmagamento com cargas controladas de 100g, 500g e 15.000g, numa máquina de ensaios, no qual avaliaram os resultados por meio do índice funcional do ciático e da morfometria dos nervos, demonstrando que a recuperação funcional e morfológica foi proporcional à gravidade da lesão. Dependendo do grau da lesão produzida no esmagamento do nervo a estrutura suporte do tubo neural é preservada, permitindo assim uma fácil regeneração nervosa (OLIVEIRA, 2000; OLIVEIRA et al.; 2001).

Endo (2002), Mendonça, Barbieri e Mazzer (2003) e Monte-Raso et al. (2005), empregaram uma carga de 15.000g para produzir uma lesão por esmagamento do nervo isquiático de ratos, e concluiu no seu estudo, que esta carga foi adequada

para produzir uma lesão do tipo axonotmese, e chegaram a resultados satisfatórios nos seus diferentes tipos de tratamentos.

Monte-Raso, Barbieri e Mazzer (2006) utilizaram em seu experimento uma carga de 5.000g para produzir uma lesão por esmagamento do nervo isquiático em ratos, no qual concluíram que o método de avaliação funcional experimental pelo índice funcional do ciático, em ratos, é plenamente reprodutível e confiável quando aplicado após a segunda semana da produção da lesão.

1.3 AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA MARCHA

Em situações experimentais, a avaliação funcional da marcha tem-se mostrado um método confiável e reprodutível, em relação aos métodos mais freqüentes de avaliação, como a histologia, morfometria e eletroneuromiografia. Embora os parâmetros eletrofisiológicos e morfológicos sejam úteis, é importante conhecer o grau de recuperação funcional que eles implicam, que não é de fácil execução em condições experimentais em animais, por razões óbvias, ao contrário das situações clínicas em humanos. A avaliação funcional em animais pode ser feita por meio de métodos não invasivos, alguns mais sensíveis que outros, como é o caso da análise da marcha (VAREJÃO et al., 2001a).

Gutmann e Gutmann (1942), em lesões do nervo fibular de coelhos, demonstraram que ocorria a perda da capacidade de espalhar os dedos, avaliada durante a marcha, e consideraram esse fator como um parâmetro confiável para avaliar o grau de lesão.

De Medinaceli, Freed e Wyatt (1982) desenvolveram um método quantitativo, confiável e reprodutível da condição funcional do nervo ciático de ratos, para avaliar o grau de lesão e recuperação, denominado Índice Funcional do Ciático (IFC) ou, em

inglês, Sciatic Functional Index (SFI). O método estava baseado na medida de parâmetros pré-estabelecidos nas impressões da pata traseira dos animais, obtidas quando os animais caminhavam sobre tiras de filmes virgens de radiografia, em uma passarela construída especificamente para esse fim. Os animais eram treinados a andar nessa passarela (43cm x 8,7cm), que terminava em uma casinha escura, onde eles se abrigavam. Depois de treinados, era colocadas uma tira de filme radiográfico no piso da passarela e as patas traseiras do animal eram molhadas em líquido revelador. Ao caminhar na passarela, o animal deixava as impressões das patas traseiras no filme, que era imerso em líquido fixador em seguida, fazendo com que as impressões se tornassem permanentes. Quatro parâmetros foram medidos nessas pegadas e as comparações entre o lado lesado (experimental) e o lado intacto (normal) permitiram estabelecer o índice funcional do ciático (IFC).

Todos os parâmetros eram medidos do mesmo modo na pata normal (N) e na pata lesada, ou experimental (E). A distância ao pé oposto (TOF, "*to other foot*") é a medida ortogonal entre os dedos mais longos de ambos os pés, que representa o comprimento de um passo. O comprimento da pata (PL, ou "*print length*") é a distância entre os dois pontos mais extremos da pegada, no sentido longitudinal, que é sempre maior na pata lesada. O espalhar total dos dedos (TS, ou "*total spread*") é a distância transversal entre os dois pontos mais extremos da pegada, devendo coincidir com a marca dos dois dedos mais extremos, e o espalhar dos dedos intermediários (IT, ou "*intermediate toes*") é a distância transversal entre os dois dedos intermediários; ambos são menores na pata lesada (Figura 1).

Figura 1. Representação esquemática dos parâmetros medidos para calcular o Índice Funcional do Ciático (IFC). N: Normal; E: Experimental (operada); TS: Abertura total dos dedos (1º ao 5º); IT: Abertura dos dedos intermediários (2º ao 4º); PL: Comprimento da pegada

Os dados obtidos através do registro das pegadas eram, então, introduzidos na seguinte equação:

$$SFI = \left[\frac{(ETO - NTO)}{NTO} + \frac{(NPL - EPL)}{EPL} + \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + \frac{(EIT - NIT)}{NIT} \right] \times \frac{220}{4}$$

Onde:

E: experimental

N: normal

TOF: “to other foot”, ou distância de uma pata a outra.

PL: “print length”, ou comprimento da pegada.

TS: “total spread”, ou espalhar total dos dedos.

IT: “intermediate toes”, ou espalhar dos dedos intermediários.

Os resultados obtidos com esta equação representam o percentual negativo da função normal, em que 0 (zero) corresponde à função normal, ou ausência de deficiência, e -100 (menos cem) corresponde à disfunção total.

De Medinaceli, Derenzo e Wyatt (1984), transpuseram esse método para uma base de dados computadorizada. Modificaram o método inicialmente apresentado, adicionando recursos de informática e computação, com isso tornando-o mais prático, rápido e fácil, e denominaram de (SIMS, ou Sciatic Index Management System) ou Sistema de Manuseio do Índice Funcional do Ciático.

Posteriormente, Carlton e Goldberg (1986) desenvolveram um método próprio, mas baseado nos mesmos parâmetros, com o objetivo de avaliar a função dos nervos ciático, tibial e fibular. Assim, operaram 18 ratos Wistar, com peso médio de 200 g, distribuídos em quatro grupos experimentais, como se segue:

1. Lesão do componente tibial;
2. Lesão do componente fibular;
3. Lesão de todo o nervo (ciático);
4. Controle ("sham operation").

Para cada grupo, foi produzida uma lesão por esmagamento num local situado 10 mm proximal à fossa poplíteia da perna esquerda. No quarto grupo (controle), foi realizada apenas a dissecação fascicular, sem esmagamento do nervo. Impressões da marcha, registradas em filme de raio-X, foram obtidas semanalmente, por um período de cinco semanas. Para a avaliação do SFI, foi utilizada uma modificação da fórmula de De Medinaceli, Derenzo e Wyatt (1984), pela retirada do fator "distância de uma pata à outra" (TOF – *to other foot*). Já para os nervos, tibial e peroneiro (fibular), foram desenvolvidas fórmulas utilizando a análise da regressão linear de múltiplas variáveis. As equações ficaram:

$$SFI = \left[\left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) + \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right) \right] \times 73$$

$$TFI = 125 \times \left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) - 43.8 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 252 \times \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right)$$

$$PFI = 2 \times SFI - TFI$$

Onde:

SFI: Índice Funcional do Ciático.

TFI: Índice Funcional do Tibial.

PFI: Índice Funcional do Peroneiro (fibular).

Lowdon, Seaber e Urbaniak (1988) descreveram um método alternativo ao das tiras de filme de raio-X para registro das pegadas, propondo o uso de tiras de papel impregnadas com uma solução a 0.5% de anidrosulfona de azul de bromofenol em acetona, como um meio mais econômico e eficiente de obtenção das impressões das pegadas. Depois de secas, as tiras de papel assim tratadas adquirem uma coloração laranja e necessita de armazenamento em local seco, pois a umidade as torna azuladas. As vantagens descritas pelos autores para justificar o uso deste material eram de baixo custo (cerca de 1/3 do filme radiográfico), uma superfície menos escorregadia e com melhor aderência e a boa qualidade de impressão das pegadas, que eram mais nítidas, facilitando a identificação e mensuração dos dados (Figura 2).

Figura 2. Comparação entre os métodos de registro da marcha. À direita o registro utilizando filme de raio-X, e à esquerda o registro utilizando método de Lowdon, Seader e Urbaniak (1988).

Bain, Mackinnon e Hunter (1989) conduziram um estudo experimental em ratos com o objetivo de desenvolver e testar fórmulas independentes mais confiáveis para a avaliação funcional da regeneração dos nervos ciático, tibial e peroneiro, modificando os respectivos índices, baseados na análise de regressão linear múltipla de fatores derivados das medidas das impressões das pegadas de ratos com lesões nervosas definidas. Assim como os demais índices, a lesão total do nervo é representada por -100, enquanto que a função normal é representada por 0. Os parâmetros utilizados nas fórmulas foram o comprimento da pegada (PL), o espalhar total dos dedos (TS) e o espalhar de dedos intermediários (IT), acrescidos de um fator de correção gerado para cada uma das variáveis:

$$SFI = - 38,3 \times \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 109,5 \times \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + 13,3 \times \frac{(EIT - NIT)}{NIT} - 8,8$$

$$TFI = - 37,2 \times \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 104,4 \times \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + 45,6 \times \frac{(EIT - NIT)}{NIT} - 8,8$$

$$PFI = 174,9 \times \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 80,3 \times \frac{(ETS - NTS)}{NTS} - 13,4$$

Apesar de suas evoluções no método de avaliação da função dos nervos ciático, tibial e fibular, sua aplicação ainda era relativamente difícil, requerendo o apoio de um sistema de equipamentos e programas de computador pouco funcionais. Assim, um programa de computador (*software*) mais simples e aplicável a qualquer computador pessoal foi desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto por Selli (1998), possibilitando a captura (digitalização com um *scanner*), armazenamento e a análise das imagens das pegadas dos ratos, submetidos a diferentes tipos de lesões do nervo ciático, peroneiro (fibular) e tibial, realizando os cálculos segundo as fórmulas matemáticas propostas e fornecendo os resultados dos índices funcionais segundo os métodos de Bain, Mackinnon e Hunter (1989), Carlton e Goldberg (1986) e De Medinaceli e colaboradores (1982, 1984). Este programa foi testado em diversos experimentos realizados no Laboratório, demonstrando sempre estreita correlação com as alterações morfológicas e morfométricas do nervo ciático, tibial e peroneiro. O desempenho do programa foi muito satisfatório em todos os trabalhos realizados, pois é de fácil aprendizado e fácil manuseio (Oliveira et al.; 2001; Mendonça, Barbieri, Mazzer, 2003; Oliveira et al., 2004; De Sá et al., 2004; Monte-Raso et al., 2005; Endo, 2002).

1.4 LASER E SEUS EFEITOS

A luz vem sendo empregada há muito tempo com finalidades terapêuticas, por meio do processo conhecido como fototerapia. A energia física conhecida como LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, ou Amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Radiação), dependendo da sua forma e finalidade de uso, também é uma modalidade de fototerapia, sendo de uso corrente no tratamento atual de uma série de lesões, sobretudo traumáticas, dos tecidos do aparelho locomotor.

A terapia a laser ainda é um pouco recente, mas passou por uma grande ascensão em poucos anos, por causa de publicações importantes sobre a aplicabilidade e resultados positivos conquistados nessas publicações.

O primeiro aparato em que se usou emissão estimulada foi chamado de MASER (outro acrônimo inglês, formado a partir de *Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*), construído por Townes em 1952. Weber propôs, no mesmo ano, a amplificação da MASER, teoria publicada em 1953 (BAXTER, 1997; PRENTICE, 2004).

O primeiro laser da história foi construído em 1960, por um cientista americano chamado Theodore Maiman, no *Hughes Aircraft Research Laboratory*, em Malibu, nos Estados Unidos. Este primeiro equipamento foi desenvolvido a partir de uma barra de rubi sintético, que emitia uma luz de curta duração e de alta densidade de energia quando uma luz comum intensa incidia sobre a mesma, operando na faixa de 694,3 nm de comprimento de onda (PRENTICE, 2004). O laser é constituído por ondas eletromagnéticas, visíveis ou não, de acordo com o comprimento de onda das mesmas. A amplificação da luz explica-se pela alta

concentração de energia que aporta, conseqüência do grande número de fótons dos quais é constituída (BAXTER et al., 1994).

A luz pode ser descrita como uma emissão eletromagnética e, como tal, tem algumas características que a identificam plenamente. Essas emissões são conhecidas, genericamente, por radiações ou ondas eletro-magnéticas e estão contidas em uma grande banda ou faixa, subdividida de acordo com algumas características físicas peculiares. Existem as que não podemos ver, tais como as ondas sonoras emitidas por alguém que fala ou canta e as ondas de rádio AM e FM, e existem aquelas que podemos ver, tais como as luminosas, compostas por fótons, tais como a luz emitida pelas lâmpadas comuns. As emissões estão organizadas segundo o que se chama de "Espectro de Radiações Eletromagnéticas", baseado em uma característica particular: o Comprimento de Onda. Esse espectro é composto por radiações infravermelhas, radiações visíveis, radiações ultravioletas, radiações ionizantes (raios x e raios gama), além de outros tipos de radiação. Os lasers utilizados para tratamento médico, odontológico e veterinário emitem radiações que estão situadas na faixa das radiações visíveis, infravermelhas e ultravioletas e não são ionizantes (BAXTER et al., 1994).

Para podermos identificar em que parte do espectro está classificada uma determinada radiação, precisa conhecer seu comprimento de onda, que nada mais é do que a distância medida entre dois picos consecutivos de uma trajetória ondulatória (em forma de onda). A unidade utilizada para expressar essa grandeza é uma fração do metro, normalmente o nanômetro, que é equivalente a 0.000000001 metros (ou 10^{-9}).

Na escala de comprimento de onda, abaixo da faixa de emissões que chamamos de visível, temos a luz ultravioleta, que se situa numa faixa muito ampla;

a emissão ultravioleta é responsável pelo escurecimento de nossa pele quando nos expomos ao sol. Acima da faixa de emissões que chamamos de visível, temos a luz infravermelha, que também se situa numa faixa muito mais ampla do que a faixa de comprimento de onda que é de fato visível; a luz infravermelha é a responsável pelo aquecimento, comumente chamada de calor, que observamos na luz gerada pelos aparelhos foto-polimerizadores, que utilizam fonte de luz halógena, e pelas próprias lâmpadas comuns.

O laser nada mais é do que luz e, portanto, tem o mesmo comportamento desta, ou seja, pode ser refletido, absorvido ou transmitido, sofrendo ou não espalhamento no processo. Entretanto, é uma luz com características muito especiais, tais como: unidirecionalidade, coerência e monocromaticidade.

Para a identificação do laser, precisamos conhecer sua fonte geradora (caracterizada pelo meio-ativo que vai gerar a luz laser) e sua intensidade (caracterizada pela densidade de potência óptica produzida ou energia gerada do laser). Do mesmo modo que as lâmpadas residenciais são identificadas por sua potência, normalmente expressa em Watts, também utilizamos esta unidade (ou uma fração dela) para identificar dos lasers ($\text{mW} = 0,001 \text{ W}$).

A última característica relevante dos lasers é referente ao seu regime de funcionamento, isto é, existem aqueles que, uma vez acionados, permanecem continuamente até serem desligados (lasers contínuos), e existem outros, que funcionam de forma pulsada ou chaveada, ou seja, estão parte do tempo ligada e parte do tempo desligada. A maioria dos lasers terapêuticos opera de modo contínuo (LOPES, 2003).

Segundo Prentice (2004), a luz laser é emitida de modo organizado e não em um padrão aleatório como uma lâmpada comum. Três propriedades distinguem o laser da luz comum:

Coerência: todos os fótons de luz emitidos a partir de moléculas individuais de gás têm o mesmo comprimento de onda e as ondas individuais de luz estão em fase uma com a outra. Já a luz normal é composta de muitos comprimentos de onda que sobrepõem suas fases umas às outras.

Monocromaticidade: significa a especificidade da luz de um único comprimento de onda definida. Se a especificidade está no espectro da luz visível, ela tem apenas uma cor. O laser é uma das poucas fontes de luz que produzem um comprimento de onda específico.

Colimação: é quando há uma divergência mínima dos fótons. Isso quer dizer que os fótons se movem de forma paralela, concentrando o feixe da luz.

De acordo com Karu (1985), a foto-estimulação promovida pela radiação laser depende fundamentalmente da monocromaticidade da emissão, observando diversos efeitos em função do comprimento de onda e da dose utilizada, além do regime de pulso e do nível de energia depositado, os quais vão desde os efeitos bioestimulantes até os cirúrgicos.

Os equipamentos de laser terapêutico e cirúrgico possuem características diversificadas, dentre essas, comprimentos de ondas diferentes, que determinam sua profundidade de penetração, e a potência, fatores que caracterizam sua indicação.

Na prática fisioterapêutica, são utilizados os lasers de Hélio-Neônio (HeNe), Arseneto de Gálio (AsGa), Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (AlGaInP) e o Arseneto de Gálio-Alumínio (AsGaAl) (KARU, 2003).

Os primeiros lasers terapêuticos estudados foram aqueles em que o meio ativo era uma mistura gasosa de Hélio e Neônio (HeNe), com potência variando entre 5 e 30 mW e comprimento de onda de 632,8 nm, que está situado dentro da faixa visível do espectro de luz, mais precisamente na região da cor vermelha.

Os lasers de diodo, mais utilizados, têm como meio ativo o composto de AsGa e o AsGaAL, com comprimento de onda variando entre 760 e 850 nm (particularmente o de 830 nm), que estão situados fora da faixa visível do espectro de luz, mais precisamente na faixa do infravermelho, com potências variando entre 20 e 1000 mW.

Outro tipo de meio ativo utilizado é o composto de AlGaInP, que produz luz com comprimento de onda variando entre 635 e 690 nm, que está situado dentro da faixa visível do espectro de luz, especificamente na região da cor vermelha, com potências variando entre 1 e 250 mW. A luz gerada por este tipo de emissor tem as mesmas características descritas para o emissor de gás HeNe e, portanto, as mesmas limitações em termos de penetrabilidade (LOPES, 2003).

Irradiância é o termo que os foto-biologistas usam como sinônimo para densidade de potência, que é definida como sendo a potência óptica útil do laser, expressa em Watts (W), divididos pela área irradiada, expressa em centímetros quadrados (cm²). É através do controle da irradiância que o cirurgião pode cortar e vaporizar, coagular ou "soldar" o tecido, quando da utilização de lasers cirúrgicos. A densidade de potência apropriada pode também gerar foto-ativação a partir de um laser de baixa potência de energia (laser terapêutico).

Fluência é o termo utilizado para descrever a taxa de energia que está sendo aplicada no tecido biológico. Ao multiplicarmos a irradiância (expressa em Watts por centímetro quadrado ou W/cm²) pelo tempo de exposição (expresso em segundos)

obteremos a fluência ou densidade de energia, ou ainda a dose de energia (DE), expressa em Joules por centímetro quadrado (J/cm^2), que varia segundo o tipo de tecido, o perfil do paciente em questão e a lesão a ser tratada. (LOPES, 2003).

Para se calcular a densidade energética, é necessário levarem-se em consideração três parâmetros importantes: tempo, em segundos; energia, em Joule, e a área, em cm^2 (GENOVESE, 2000).

A área da secção transversal do feixe laser é expressa em cm^2 e varia segundo o aparelho que está sendo utilizado. O valor dessa área é importante, já que é também um dos dados que compõem a equação para cálculo da fluência ou dosimetria, quando se utiliza a técnica pontual.

As técnicas de aplicação historicamente utilizadas são duas: a pontual, onde são escolhidos alguns pontos estratégicos sobre a área lesionada para a aplicação do laser, e a técnica de varredura, no qual é coberta toda a extensão da lesão, através de movimentos do tipo de “vai e vem”.

A técnica pontual é a mais difundida e utilizada, tanto no meio científico, como no acadêmico e também clínico. Nessa técnica, considera-se, para efeito de cálculo, a área da secção transversal do feixe laser ou a área útil da ponteira ou sonda aplicadora, já que se trabalha em contato com o tecido (LOPES, 2003).

O tempo de exposição é a incógnita que se busca calcular, a partir dos demais dados. É importante salientar que não se deve nunca basear em tempo de exposição quando se discute protocolo, pois o mesmo varia sempre em função do aparelho que estiver sendo utilizado (LOPES, 2003).

Dados como a fluência ou densidade de energia (J/cm^2), a potência útil (Watts) e a área da secção transversal do feixe laser (para a técnica pontual) são fixados e fornecidos pelo fabricante do equipamento. Para o caso da utilização da

técnica de varredura, é importante calcular a área da extensão da lesão (também em cm^2). O tempo de exposição é o resultado do produto da densidade de energia, expressa em cm^2 , dividida pela potência, expressa em Watts.

O comprimento de onda é uma característica extremamente importante, pois define a profundidade de penetração no tecido-alvo. Diferentes comprimentos de onda apresentam diferentes coeficientes de absorção para um mesmo tecido. As radiações emitidas na região do ultravioleta e na região do infravermelho médio apresentam alto coeficiente de absorção na superfície, enquanto na região do infravermelho próximo (820nm e 840nm) conta-se baixo coeficiente de absorção, implicando em máxima penetração no tecido (KARU, 1985).

Os tecidos são heterogêneos do ponto de vista óptico e, portanto, absorvem e refletem energia de maneira distinta. A importância da absorção acontecer de maneira diversificada está no fato de que, dependendo do comprimento de onda, esse tecido absorve energia mais superficialmente e permite que a luz o atravesse, agindo em um alvo instalado na intimidade tecidual (geralmente a membrana celular). Quando se utilizam lasers de alta potência de energia, a energia luminosa absorvida pela célula se converte em outro tipo de energia, na maioria das vezes em calor. Lasers de baixa potência de energia são capazes de excitar eletronicamente as moléculas, ativando a cadeia respiratória celular; para os comprimentos de onda mais altos, a excitação ocorrerá através da membrana celular (NICOLAU et al., 2004).

A reflexão do feixe de laser depende, ainda, das características ópticas do tecido, uma vez que estes são muito heterogêneos, cada tipo de tecido absorvendo e refletindo a luz de maneira distinta. Atualmente, existem equipamentos com enfoque diferente, nos quais não é necessário ajustar nenhum parâmetro físico do

laser, bastando apenas selecionar o nome da lesão a ser tratada no painel de controle do equipamento, os parâmetros de aplicação para a referida lesão sendo determinados automaticamente

1.5 LASER NA REGENERAÇÃO NERVOSA

A terapia com laser também tem sido estudada em relação a um possível papel na regeneração dos nervos periféricos lesados e, nesse campo particular, as primeiras investigações foram dirigidas às alterações induzidas na velocidade de condução nervosa, com a demonstração eletrofisiológica de que os tempos de latência diminuem e a velocidade de condução aumenta, tanto em animais (NISSAN et al. 1986; WALSH; LOWE; BAXTER, 1995) como em humanos (BASFORD et al. 1990, 1993; LOWE et al., 1994), embora haja evidências do contrário (BAGIS et al., 2002; BAGIS et al., 2003; JARVIS; MACIVER; TANELIAN, 1990; WU et al., 1987). Igualmente, nenhuma alteração foi observada, em nervos não lesados de camundongos, na liberação de neurotransmissores com a irradiação com o laser (NICOLAU et al., 2004), que pudesse explicar o aumento na velocidade de condução nervosa.

Em relação à regeneração de nervos lesados, efeitos benéficos têm sido relatados com a terapia laser de baixa potência. Rochkind et al. (1987) estudaram o aumento da amplitude dos potenciais de ação e a redução do tecido cicatricial ao redor da lesão do nervo ciático esmagado e tratado com laser (HeNe), por 20 dias consecutivos.

Em seu estudo, Breugel e Bar (1993) observaram que a irradiação com o laser HeNe de baixa potência pode modular a proliferação de células de Schwann do rato *in vitro*, dependendo da dose de irradiação.

Khullar et al. (1995) demonstraram em ratos, através da análise funcional da marcha, uma rápida recuperação funcional após lesão por esmagamento do nervo ciático, irradiando-o com o laser infravermelho de baixa potência (830 nm, 48 J/cm²), transcutâneo por 28 dias, partindo do 1º dia pós-operatório.

Em outro estudo, Rochkind et al. (2001) mostraram que a atividade eletrofisiológica do nervo ciático lesado foi acima do valor precursor normal, em relação ao grupo não irradiado com laser HeNe por 21 dias consecutivos, sugerindo que o laser aplicado diretamente na medula espinhal pode melhorar a recuperação do nervo periférico correspondente.

Bae et al. (2004), através da irradiação do laser de baixa potência no nervo ciático esmagado de ratos e tratados por 1,3,5 e 7 semanas, respectivamente, observaram um aumento significativo do número e diâmetro dos axônios regenerados.

Shamir et al. (2001) utilizando o laser de baixa potência de 780nm, aplicado por 21 dias consecutivos e 30 minutos diários, ao segmento correspondente do nervo ciático seccionado e reparado cirurgicamente, mostraram que as respostas evocadas somato-sensoriais positivas foram encontradas em 69% dos ratos irradiados e em 18% dos não irradiados, com um aumento significativo do número e diâmetro dos axônios regenerados.

Gigo-Benato et al. (2004), trabalhando com o nervo mediano do rato, submetido a um reparo término-lateral sobre o nervo ulnar intacto e a laserterapia com duas doses diferentes (808nm e 29 J/cm², e 905nm e 40 J/cm²) por três semanas consecutivas desde o primeiro dia pós-operatório, observaram que ocorreu remielinização mais rápida, com recuperação da massa muscular e funcional mais significativa, em comparação com o tratamento placebo.

Camargo, Costa e André (2006) observaram, através da análise funcional da marcha, realizada 1, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a lesão, que a irradiação com o laser de baixa potência no nervo ciático lesado acelerou a recuperação funcional dos animais do grupo tratado.

Entretanto, efeitos deletérios têm sido demonstrados, tal como “um índice de sucesso da regeneração significativamente menor (cerca de 50%), comparado com controles submetidos à irradiação simulada, e organização ultra-estrutural menos madura” nos nervos irradiados com laser, comparados com os controles, levando à conclusão de que a irradiação com o laser pulsado pode ter efeitos supressores na regeneração dos nervos (Chen et al., 2005).

Por outro lado vários autores produziram evidências de que a irradiação com o laser de baixa potência pode efetivamente acelerar e melhorar a regeneração dos nervos lesados, como no estudo de Assia et al. (1989), que observaram uma diminuição do processo de degeneração após esmagamento, através da atividade eletrofisiológica do nervo ciático lesado. Ainda mais, Hamilton, Robinson e Ray (1992) demonstraram que a irradiação com o laser HeNe no nervo peroneal esmagado de coelhos, tratados por 15 dias consecutivos, promoveu uma recuperação média de 67% da amplitude de condução em relação aos valores médios anteriores à lesão, em comparação com os nervos não tratados, para os quais a recuperação foi de 52%, em média.

1.6 JUSTIFICATIVA

Este projeto faz parte de uma linha de pesquisa do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Biomecânica, Medicina e de Reabilitação do Aparelho Locomotor, o qual tem como objetivo analisar a influência de recursos

físicos, inclusive o laser de baixa potência, na regeneração de nervos periféricos. Conforme os dados da literatura demonstram, os estudos anteriormente realizados com o laser de baixa potência produziram resultados controversos, devido à utilização de diferentes dosagens, comprimentos de onda, o uso do modo contínuo ou pulsado, ou seja, devido à falta de uma uniformização (BAGIS et al., 2003; COMELEKOGU et al., 2002; KHULLAR et al., 1995; ROCHKIND et al., 2001). Por outro lado, a maioria dos resultados anteriormente obtidos permitem também concluir que o laser de baixa potência, aplicado no local da lesão, pode ter efeitos benéficos em vários níveis, desde a recomposição morfológica do nervo lesado, até a recuperação funcional mais rápida (Gigo-Benato et al., 2004; Mohammed, Al-Mustawfi e Kaka, 2007).

Neste projeto, portanto, pretendeu-se sanar algumas dúvidas referentes ao uso do laser de baixa potência irradiado no nervo fibular esmagado, em ratos, avaliando a recuperação funcional pelo método proposto por De Medinaceli e colaboradores (1982, 1984) e modificado por Bain, Mackinnon e Hunter (1989).

2 OBJETIVO

O objetivo primordial deste estudo foi analisar a influência da irradiação com o laser de baixa potência (AsGaAL) sobre a regeneração nervosa, num modelo de lesão por esmagamento do nervo fibular comum de ratos.

O objetivo secundário foi avaliar a concordância entre os índices funcionais do nervo fibular (PFI) e o dos nervos ciático (SFI) e tibial (TFI), segundo os métodos propostos por dois autores diferentes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado em 19/12/2005 pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal com o numero do protocolo 221/2005 da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

3.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Foram utilizados no estudo 35 ratos *Wistar* machos adultos, com peso corporal médio de 230gramas (variação: 200 - 250g), fornecidos pelo Biotério Central da Prefeitura do Campus da USP de Ribeirão Preto.

Os ratos foram divididos em quatro grupos experimentais, conforme o procedimento realizado:

Grupo 1: Experimental, constituído por 10 (dez) animais, submetidos à lesão por esmagamento e não irradiados;

Grupo 2: Experimental, constituído por 10 (dez) animais, submetidos à lesão por esmagamento e a tratamento simulado, por 21 dias consecutivos;

Grupo 3: Experimental, constituído por 10 (dez) animais, submetidos à lesão por esmagamento e a tratamento efetivo, por 21 dias consecutivos;

Grupo-controle: Constituído por 05 (cinco) animais intactos.

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas com cinco animais cada no Laboratório de Bioengenharia, em ambiente climatizado e ventilado e com livre acesso à alimentação padronizada e água, até o 21º dia pós-operatório, data limite do término do experimento, quando os animais foram eutanasiados.

3.2 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O procedimento cirúrgico foi realizado com a finalidade de produzir uma lesão nervosa por esmagamento do nervo fibular comum, ramo do nervo ciático, sob controle estrito da intensidade e tempo da aplicação da carga de esmagamento, em todos os grupos experimentais. Inicialmente, os ratos foram identificados com marcas nas orelhas. Em seguida, todos foram exaustivamente treinados a caminhar na passarela de marcha, na qual seriam obtidas as impressões da pegada, para a avaliação funcional.

Quando os animais estavam capacitados a andar na passarela sem titubear, recolhendo-se à casinhola escura no seu ponto final, foram obtidas as impressões da pegada pré-operatória, registrando também o tempo em que cada animal percorria o trajeto da passarela, que viriam a ser os parâmetros iniciais da avaliação, para a comparação com os registros pós-operatórios.

Para a realização da lesão por esmagamento, os animais foram anestesiados com uma mistura das drogas Ketamina (5%) e Xilasina (2%) na proporção de 1:4, em doses de 0,10 a 0,15 ml/100 g de peso corporal do animal, injetada por via intraperitoneal. Uma vez anestesiados, era feita a tricotomia da face lateral da coxa direita, desde a região trocanteriana até o joelho. O animal era posicionado em decúbito ventral, prendendo-se as patas dianteiras e traseiras em abdução, sendo então feita a anti-sepsia da região operatória com uma solução alcoólica de iodo a 20% (álcool iodado).

O nervo fibular era abordado através de uma incisão longitudinal na face lateral da coxa direita de cerca de 3 cm de comprimento, indo desde abaixo do trocanter maior até um pouco abaixo do joelho, que permitia a visualização da emergência do ciático, proximalmente, e de sua trifurcação, distalmente. O nervo

fibular comum, ramo médio da trifurcação, era identificado e isolado para posterior esmagamento. O esmagamento era produzido com uma pinça portátil (Figura 3), confeccionada em aço inox especificamente com o objetivo de simplificar e agilizar o procedimento de esmagamento do nervo, com uma carga estática pré-fixada de 5.000 gramas. A pinça era calibrada na máquina universal de ensaios, com uma célula de carga com capacidade de 50kgf (Kratos[®]) e um indicador digital modelo IKE-01 (Kratos[®]). A calibração era aferida a cada cinco usos consecutivos da pinça, para garantir a uniformidade da carga aplicada a todos os nervos.

A carga era aplicada sobre o nervo fibular comum por 10 minutos (Figura 4), quando a pinça era retirada e a ferida cirúrgica lavada com soro fisiológico e fechada, com a sutura da musculatura e da pele com pontos isolados de fio de nylon (Mononylon Ethicon[®]) de calibre 5/0. A ferida era lavada com solução anti-séptica de álcool iodado a 20%, nenhum curativo sendo aplicado, e o animal era devolvido à gaiola de origem.

Figura 3. Pinça de esmagamento.

Figura 4. Representação da lesão nervosa por esmagamento do nervo fibular comum.

3.3 APLICAÇÃO DO LASER DE DIODO AsGaAL

Para esse procedimento, os animais não eram anestesiados, sendo simplesmente mantidos subjugados pela região dorsal. A aplicação do laser de diodo AsGaAL (Figura 6) foi iniciada no primeiro dia pós-operatório (24 horas após a lesão), pelo método direto transcutâneo pontual, com um total de cinco pontos em cada animal, sobre a incisão cirúrgica, diariamente uma vez ao dia, por 21 dias consecutivos (Figura 5). Cada ponto de irradiação distava 1 cm do outro, com um tempo de 40 segundos por ponto, num total de 2 minutos de irradiação por animal (Figura 7), com dose pré-determinada de 140 J/cm^2 , utilizando um equipamento portátil e comercialmente disponível da marca DMC®, com as seguintes características:

- Comprimento de onda: 830 nm
- Potência do emissor: 100 mW
- Modo: contínuo
- Dose: 140 J/cm^2
- Meio ativo: AsGaAL

Figura 5. Esquema dos pontos de irradiação, efetiva e a simulada.

Figura 6. Laser portátil marca DMC[®].

Figura 7. Irradiação com o laser AsGaAL. Notar que o animal era mantido subjugado, sem anestesia.

3.4 REGISTRO DAS PEGADAS

As impressões das pegadas dos animais foram obtidas pelo método proposto por De Medinaceli e colaboradores (1982, 1984), modificado por Lowdon, Seaber e Urbaniak (1988), que emprega tiras de papel impregnado com o azul de bromofenol. O preparo desse papel para a realização das pegadas neste estudo, foi iniciado pela dissolução a 1% da forma anidra do azul de bromofenol em acetona absoluta. Essa solução adquire cor alaranjada, que se mantém nas folhas de papel nelas mergulhadas e secas ao ar livre, mas que ao contato com água ou umidade tornam-se azuladas. Depois de secas, as folhas de papel eram cortadas em tiras de 43cm de comprimento por 8,7cm de largura (dimensões da passarela utilizada para a obtenção das impressões das pegadas) e estocadas em embalagens plásticas para evitar o contato com a umidade. A passarela de marcha para este estudo, foi construída em madeira, de acordo com a proposta de De Medinaceli e colaboradores (1982, 1984), sendo dotada de uma casinhola escura no final, onde o animal procura se abrigar e encontra alguns grãos de ração, após percorrer todo seu comprimento. Um cronômetro digital foi adaptado à passarela para medida do tempo de percurso e cálculo da velocidade, sendo acionado por um sensor eletrônico, instalado na sua entrada, e desligado por outro, na entrada da casinhola (Figura 8).

Antes de obter as impressões das pegadas, os animais eram postos várias vezes a caminhar na passarela, até demonstrarem que o faziam sem titubear, do mesmo modo que na obtenção das impressões pré-operatórias. Isso feito eram colocados para caminhar sobre as tiras de papel impregnadas com o azul de bromofenol, com as patas embebidas com detergente doméstico, que produz umas impressões menos borradas. O animal percorria a passarela num trajeto retilíneo, até a casinhola, deixando em média três pares de pegadas. O tempo de percurso

era registrado, para o cálculo da velocidade de percurso, em todas as medições (Figura 8).

Figura 8. Esquema da passarela de análise da marcha, com os sensores de registro do tempo de percurso.

As tiras de papel eram deixadas a secar e depois estocadas em um saco plástico, com os devidos cuidados, até o momento da realização das medidas do Índice funcional do fibular, e do Índice funcional do ciático e tibial. As impressões das pegadas eram digitalizadas com um scanner, identificadas e armazenadas no computador, utilizando um programa (*software*) especificamente desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia para esse fim (Selli, 1998; Yamasita, Mazzer e Barbieri, 2008), que possibilita a análise das pegadas de acordo com todas as fórmulas anteriormente propostas (DE MEDINACELI et al., 1982, 1984; CARLTON E GOLDBERG, 1986; BAIN, MACKINNON E HUNTER, 1989).

3.5 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA

As impressões das pegadas armazenadas no programa foram submetidas à análise pelos métodos de Bain e colaboradores e de Carlton e Goldberg, tendo sido medidos os índices funcionais do ciático, do tibial e do fibular, por ambos os métodos, os dois primeiros tendo sido empregados apenas como termo de comparação estatística com o último. Para cumprir o objetivo proposto, julgou-se que as fórmulas mais adequadas seriam as propostas por Carlton e Goldberg (1986) e por Bain, MacKinnon e Hunter (1989), para mensuração específica do índice funcional do nervo fibular comum, como se seguem:

Fórmula de Bain, Mackinnon e Hunter:

$$PFI = 174,9 \times \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 80,3 \times \frac{(ETS - NTS)}{NTS} - 13,4$$

Fórmula de Carlton e Goldberg:

$$PFI = 2 \times SFI - TFI$$

Onde:

PFI: índice funcional do peroneiro (fibular comum);

E: experimental;

N: normal;

PL: "print length", ou comprimento da pegada.

TS: "total spread", ou espalhar total dos dedos.

IT: "intermediate toes", ou espalhar dos dedos intermediários.

Para efeito de análise dos resultados, foram considerados apenas os valores da fórmula de Bain e colaboradores, a de Carlton e Goldberg sendo utilizada como termo de comparação e determinação do índice de concordância. A comparação e determinação do índice de concordância entre os valores medidos pelas fórmulas do SFI, TFI e PFI segundo os dois grupos de autores é um subproduto do trabalho e

destina-se a determinar se um índice específico para um nervo pode ser utilizado para avaliar uma lesão de outro nervo do mesmo tronco.

Para calcular os respectivos índices funcionais, bastava clicar com o *mouse* sobre os pontos-chave correspondentes a cada parâmetro (PL, TS e IT) na impressão da pegada mostrada na tela do monitor (Figura 9), numa seqüência previamente estabelecida, e o programa calculava automaticamente o valor do PFI, como também os demais índices, inclusive desenhando o gráfico da curva de regeneração em função do tempo.

Assim como o índice funcional do ciático, o índice funcional do tibial e o índice funcional do fibular é um indicador negativo do grau de disfunção do nervo, variando de zero (função normal ou ausência de disfunção) a -100 (disfunção completa).

Figura 9. Visualização da tela do monitor, com duas impressões de pegada, mostrando os pontos-chave a serem clicados, com o uso do programa modificado por Yamasita, Mazzer e Barbieri (2008).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi feita segundo o modelo de regressão linear, tendo como variável resposta o aumento/diminuição obtido após a intervenção (irradiação), para cada uma das variáveis. Esse aumento/diminuição é dado pela razão dos respectivos valores de cada animal entre o período pós e pré-operatório (Pós/Pré). Com isso, espera-se quantificar quantas vezes a resposta obtida após a intervenção foi maior do que a resposta obtida antes da intervenção, além de verificar se essa alteração ocorreu de forma semelhante em todos os grupos estudados. Consideramos aqui como variável independente, o grupo ao qual o animal pertencia: Grupo 1, Grupo 2, Grupo 3 e Controle. Tais análises foram realizadas no software SAS 9.0, através do procedimento PROC REG.

Para complementar esse estudo, calculou-se o coeficiente de concordância entre os índices SFI, TFI e PFI de acordo com Bain, Mackinnon e Hunter (1989) e Carlton e Goldberg (1986), proposto por Lin et al. (1996). Este coeficiente varia entre -1 e 1 , e tem por intuito medir o grau de concordância entre duas variáveis contínuas. Coeficientes próximos de 1 , indicam uma concordância perfeita entre os autores, e coeficientes próximos de -1 indicam uma concordância perfeita inversa. Tais análises foram realizadas no software SAS 9.1.

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA

Foram avaliadas (2 x 35) impressões de pegadas, totalizando 70 avaliações.

Na fase pré-operatória, o valor médio do PFI no Grupo-controle foi de -12,19 (variação: -24,23 a -6,03). No Grupo 1, foi de -5,61 (variação: -8,74 a -3,40), no Grupo 2, de -8,37 (variação: -15,19 a -3,18), e no Grupo 3, de -3,56 (variação: -8,01 a -0,78).

No 21º dia pós-operatório, o valor médio do PFI no Grupo-controle foi de -3,93 (variação: -5,48 a -1,93), no Grupo 1, de -37,46 (variação: -81,99 a -13,54), no Grupo 2, de -26,59 (variação: -64,53 a -11,92), e no Grupo 3, de -4,16 (variação: -6,39 a -1,37) (Tabela 1).

Tabela 1 - Descrição da variável PFI (Bain et al., 1989) de acordo com os grupos antes e após a intervenção e da diferença obtida antes e após a intervenção (21 - 0) em cada um dos grupos.

Grupo	Momento	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
<i>PFI</i>							
Controle	Antes	5	-12,19	7,30	-24,23	-9,38	-6,03
	Após	5	-3,93	1,32	-5,48	-4,14	-1,93
I	Antes	10	-5,61	1,88	-8,74	-5,01	-3,40
	Após	10	-37,46	25,97	-81,99	-26,67	-13,54
II	Antes	10	-8,37	3,42	-15,19	-9,27	-3,18
	Após	10	-26,59	20,63	-64,53	-17,35	-11,92
III	Antes	10	-3,56	2,60	-8,01	-2,84	-0,78
	Após	10	-4,16	1,71	-6,39	-4,59	-1,37
<i>Razão</i>							
Controle		5	0,40	0,21	0,14	0,44	0,59
I		10	7,21	5,17	2,48	6,50	18,45
II		10	3,75	3,81	1,40	2,08	13,65
III		10	2,20	2,00	0,37	1,06	5,05

Figura 10. Gráfico da variável PFI de acordo com o grupo, antes e após a intervenção (gráfico à esquerda) e da razão Pós/Pré da variável PFI (gráfico à direita).

Na fase pré-operatória, o valor médio do tempo em que os animais percorriam a passarela de marcha, no Grupo-controle foi de 68,4ms (variação: 65ms a 71ms), no Grupo 1, de 69,6ms (variação: 62ms a 76ms), no Grupo 2, de 62,4ms (variação: 55ms a 75ms), e no Grupo 3, de 62,7ms (variação: 60ms a 65ms). No 21º dia pós-operatório, o valor médio do tempo no Grupo-controle foi de 64,6ms (variação: 61ms a 69ms), no Grupo 1, de 79,5ms (variação: 77ms a 82ms), no Grupo 2, de 78,4ms (variação: 72ms a 86ms), e no Grupo 3, de 52,9ms (variação: 50ms a 56ms) (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição da variável tempo de acordo com os grupos antes e após a intervenção e da diferença obtida antes e após a intervenção (21 - 0) em cada um dos grupos

Grupo	Momento	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
<i>Tempo</i>							
Controle	Antes	5	68,4	2,41	65	69	71
	Após	5	64,6	3,65	61	63	69
I	Antes	10	69,6	4,03	62	69,5	76
	Após	10	79,5	1,65	77	79,5	82
II	Antes	10	62,4	7,12	55	60,5	75
	Após	10	78,4	4,77	72	77	86
III	Antes	10	62,7	1,49	60	63	65
	Após	10	52,9	1,79	50	53	56
<i>Razão</i>							
Controle		5	0,94	0,04	0,90	0,97	0,97
I		10	1,15	0,06	1,05	1,13	1,29
II		10	1,27	0,12	1,09	1,27	1,47
III		10	0,84	0,04	0,78	0,85	0,92

Figura 11. Gráfico da variável Tempo de acordo com o grupo, antes e após a intervenção (gráfico à esquerda) e da razão Pós/Pré da variável Tempo (gráfico à direita)

Na fase pré-operatória, o valor médio do peso dos animais, no Grupo-controle foi de 224,0 g (variação: 210 g a 240 g), no Grupo 1, de 225,0 g (variação: 215 g a 235 g), no Grupo 2, de 226,0 g (variação: 215 g a 235 g), e no Grupo 3, de 219,5 g (variação: 210 g a 230 g). No 21º dia pós-operatório, o valor médio do peso no Grupo-controle foi de 417,0 g (variação: 390 g a 485 g), no Grupo 1, de 415,5 g

(variação: 375 g a 495 g), no Grupo 2, de 384,5 g (variação: 345 g a 425 g), e no Grupo 3, de 389,5 g (variação: 380 g a 405 g) (Tabela 3).

Tabela 3 - Descrição da variável peso de acordo com os grupos antes e após a intervenção e da diferença obtida antes e após a intervenção (21 - 0) em cada um dos grupos

Grupo	Momento	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
<i>Peso</i>							
Controle	Antes	5	224,0	11,94	210	225	240
	Após	5	417,0	38,83	390	405	485
I	Antes	10	225,0	7,45	215	225	235
	Após	10	415,5	41,19	375	405	495
II	Antes	10	226,0	7,38	215	227,5	235
	Após	10	384,5	22,66	345	387,5	425
III	Antes	10	219,5	5,99	210	220	230
	Após	10	389,5	8,96	380	387,5	405
<i>Razão</i>							
Controle		5	1,87	0,26	1,70	1,76	2,31
I		10	1,85	0,22	1,60	1,81	2,3
II		10	1,70	0,13	1,53	1,69	1,93
III		10	1,78	0,08	1,65	1,77	1,93

Figura 12. Gráfico da variável Peso de acordo com o grupo, antes e após a intervenção (gráfico à esquerda) e da razão Pós/Pré da variável Peso (gráfico à direita)

Houve diferença estatisticamente significativa entre os valores pré-operatórios e do 21º dia pós-operatório do índice funcional do peroneiro nos Grupos controle, 1 e 2, mas não no Grupo 3 ($p < 0,05$). Para o tempo gasto no percurso da passarela, as diferenças entre os valores medidos na fase pré-operatória e no 21º dia pós-operatório foram estatisticamente significantes para todos os grupos experimentais, mas não para o Grupo-controle. O peso corporal mostrou diferença estatisticamente significativa entre as medidas pré-operatórias e do 21º dia pós-operatório para todos os grupos, experimentais e de controle (Tabela 4).

Tabela 4 - Comparações entre os períodos pré e pós-operatórios em cada variável

Período								
Variável	Grupos	Pré		Pós		Aumento/Diminuição (Razão)		Pvalor
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	
PFI	Controle	-12,19	7,3	-3,93	1,32	0,4	0,21	<0,01
	Grupo I	-5,61	1,88	-37,46	25,97	7,21	5,17	<0,01
	Grupo II	-8,37	3,42	-26,59	20,63	3,75	3,81	<0,01
	Grupo III	-3,56	2,6	-4,16	1,71	2,2	2	0,19
Tempo	Controle	68,4	2,41	64,6	3,65	0,94	0,04	0,06
	Grupo I	69,6	4,03	79,5	1,65	1,15	0,06	<0,01
	Grupo II	62,4	7,12	78,4	4,77	1,27	0,12	<0,01
	Grupo III	62,7	1,49	52,9	1,79	0,84	0,04	<0,01
Peso	Controle	224	11,94	417	38,83	1,87	0,26	<0,01
	Grupo I	225	7,45	415,5	41,19	1,85	0,22	<0,01
	Grupo II	226	7,38	384,5	22,66	1,7	0,13	<0,01
	Grupo III	219,5	5,99	389,5	8,96	1,78	0,08	<0,01

Houve diferença estatisticamente significativa para o índice funcional do fibular no 21º dia pós-operatório na comparação entre os Grupos 1, 2 e 3 e o Grupo-controle ($p < 0,05$), o mesmo ocorrendo na comparação entre o Grupo 1 e o Grupo 3,

mas não entre os Grupos 1 e 2 e entre os Grupos 2 e 3. Também houve diferença estatisticamente significativa para o tempo de percurso da passarela, para todas as comparações ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística para o peso dos animais, em nenhuma comparação ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Comparações do aumento/diminuição obtido nos períodos pré e pós-operatórios entre os grupos em cada variável

Variável	Grupo	Aumento/Diminuição (Razão)		Grupo	Aumento/Diminuição (Razão)		Pvalor
		Média	DP		Média	DP	
PFI	Controle	0,40	0,21	Grupo I	7,21	5,17	<0,01
	Controle	0,40	0,21	Grupo II	3,75	3,81	<0,01
	Controle	0,40	0,21	Grupo III	2,20	2,00	<0,01
	Grupo I	7,21	5,17	Grupo II	3,75	3,81	0,06
	Grupo I	7,21	5,17	Grupo III	2,20	2,00	<0,01
	Grupo II	3,75	3,81	Grupo III	2,20	2,00	0,07
Tempo	Controle	0,94	0,04	Grupo I	1,15	0,06	<0,01
	Controle	0,94	0,04	Grupo II	1,27	0,12	<0,01
	Controle	0,94	0,04	Grupo III	0,84	0,04	<0,01
	Grupo I	1,15	0,06	Grupo II	1,27	0,12	<0,01
	Grupo I	1,15	0,06	Grupo III	0,84	0,04	<0,01
	Grupo II	1,27	0,12	Grupo III	0,84	0,04	<0,01
Peso	Controle	1,87	0,26	Grupo I	1,85	0,22	0,84
	Controle	1,87	0,26	Grupo II	1,70	0,13	0,08
	Controle	1,87	0,26	Grupo III	1,78	0,08	0,36
	Grupo I	1,85	0,22	Grupo II	1,70	0,13	0,06
	Grupo I	1,85	0,22	Grupo III	1,78	0,08	0,37
	Grupo II	1,70	0,13	Grupo III	1,78	0,08	0,29

4.1.2 CONCORDÂNCIA

O coeficiente de concordância no período pós-operatório foi melhor do que no período pré-operatório, para o índice funcional do ciático (0,96), o índice funcional do tibial (0,71) e o índice funcional do peroneiro (0,58) (Tabela 6), valores considerados como força de concordância de moderada a quase perfeita (Tabela 7).

Tabela 6 - Resultados obtidos do coeficiente de concordância de Lin e respectivos intervalos de confiança (95%) de acordo com o grupo e tempo

Variável	Tempo 0			Tempo 21		
	r	IC (95%)		r	IC (95%)	
SFI	0,036	-0,278	0,342	0,962	0,927	0,981
TFI	0,378	0,072	0,619	0,717	0,524	0,840
PFI	0,265	-0,058	0,538	0,582	0,347	0,748

A tabela 7 explica a classificação da força de concordância entre as fórmulas.

Tabela 7 – Tabela de classificação do grau de concordância de Lin

Coeficiente	Força de concordância
Menor que zero	<i>Poor</i> (pobre)
0,00 – 0,20	<i>Slight</i> (desprezível)
0,21 – 0,40	<i>Fair</i> (suave)
0,41 – 0,60	<i>Moderate</i> (moderada)
0,61 – 0,80	<i>Substantial</i> (substancial, grande)
0,81 – 1,00	<i>Almost perfect</i> (quase perfeito)

O coeficiente de concordância no período pós-operatório (Tabela 9) foi melhor do que no período pré-operatório (Tabela 8), na comparação entre as fórmulas dos autores Carlton e Goldberg (1986) (autor I) e Bain, Mackinnon e Hunter (1989) (autor

II), para as variáveis SFI, TFI e PFI, pois no período pós-operatório a força de concordância é quase perfeita.

Tabela 8 - Resultados obtidos do coeficiente de concordância de Lin e respectivos intervalos de confiança (95%) de acordo com o grupo e autor no período pré-operatório

Variável	Autor I			Autor II		
	r	IC (95%)		r	IC (95%)	
SFI vs TFI	0,618	0,368	0,785	0,592	0,329	0,770
SFI vs PFI	0,552	0,290	0,737	0,490	0,207	0,697
TFI vs PFI	0,615	0,362	0,784	0,610	0,361	0,777

Tabela 9 - Resultados obtidos do coeficiente de concordância de Lin e respectivos intervalos de confiança (95%) de acordo com o grupo e autor no período pós-operatório

Variável	Autor I			Autor II		
	r	IC (95%)		r	IC (95%)	
SFI vs TFI	0,709	0,502	0,839	0,976	0,958	0,986
SFI vs PFI	0,650	0,450	0,788	0,778	0,602	0,882
TFI vs PFI	0,640	0,411	0,793	0,783	0,617	0,882

5 DISCUSSÃO

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

O rato foi escolhido como animal de experimentação por ser de mais fácil aquisição e manuseio. Além disso, as estruturas morfológicas dos nervos periféricos dos ratos se assemelham muito à dos nervos de humanos, bem como a fisiologia e os processos biológicos envolvidos na regeneração, sendo que a regeneração nervosa natural desses animais é muito rápida e pode atingir o normal. Por estes motivos o rato, é o animal mais usado nos estudos de regeneração nervosa periférica (MENDONÇA; BARBIERI; MAZZER, 2003; RODRÍGUEZ; VALERO-CABRÉ; NAVARRO, 2004; VAREJÃO et al., 2001b) e tem o seu uso consagrado na literatura (MAZZER et al., 2006). Outro fator que influencia positivamente o seu uso é o fato de o animal suportar o procedimento cirúrgico de esmagamento, que já foi descrito por vários autores, sem maiores complicações.

5.2 MÉTODO DE INDUÇÃO A LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA

A metodologia utilizada neste trabalho seguiu a mesma linha de trabalhos anteriores, utilizando o modelo de lesão nervosa por esmagamento, que apresenta vantagens de pelo menos preservar o arcabouço do nervo, não requerendo treinamento específico nem técnicas e materiais especiais de reparo (ENDO, 2002; GASPARINI; BARBIERI; MAZZER, 2007; MAZZER et al., 2006; MENDONÇA; BARBIERI; MAZZER, 2003; MONTE-RASO; BARBIERI; MAZZER, 2006; MONTE-RASO et al., 2005; PACHIONI, 2006). Após a lesão nervosa periférica, vários autores relataram algumas complicações, como contraturas articulares em flexão da pata (VAREJÃO et al., 2001b), morte por acidentes anestésicos, necrose dos dedos

da pata, morte sem causa determinada durante o tratamento (OLIVEIRA et al., 2001), auto-mutilação da pata operada (DIJKSTRA et al., 2000), infecções e deiscência da sutura durante o tratamento. Tais complicações, levam a exclusão do animal, mas no presente estudo elas não ocorreram, de forma que não houve a perda de nenhum animal durante todo período do experimento.

De Medinaceli, Freed e Wyatt (1982) dizem que uma lesão provocada por esmagamento é uma modalidade útil para o estudo de regeneração dos nervos periféricos, pois demonstra um tipo de axonotmese, na qual os danos são suficientes para romper o axônio, levando a uma degeneração Walleriana, sendo o prognóstico de recuperação razoavelmente bom. Através da técnica de análise funcional da marcha, observaram que a recuperação dos nervos isquiáticos esmagados ocorria entre o 16º e o 20º dias após a lesão.

A lesão por esmagamento foi produzida em todos os animais com um pinça especialmente confeccionada para esse fim (MONTE-RASO; BARBIERI; MAZZER, 2006), por se tratar de um nervo menor (fibular) e de difícil acesso anatômico, sendo calibrada regularmente com uma célula de carga. Assim, sua aplicação era controlada e a lesão produzida, mais homogênea, com uma carga de 5Kgf esmagando por 10 minutos consecutivos, semelhante ao que já havia sido obtido em trabalhos anteriores com o uso de uma máquina universal de ensaio, mas bem diferente dos métodos descritos por outros autores, com pinças hemostáticas ou de relojoeiro (BRIDGE et al., 1994).

Souza, Silva e Del Bel (2004) observaram que o simples posicionamento do nervo na máquina universal de ensaio, sem a aplicação de carga, produzia edema do nervo. Concluíram que o edema é produzido pelo emprego de força na

adaptação do nervo à máquina, que implicava em certo estiramento. Sob esse ponto de vista, o uso da pinça bem menor é de fácil manejo, e muito mais vantajoso.

Pachioni et al. (2006) concluíram que não há necessidade de utilizar cargas acima de 5.000 g, pois esta já é suficiente para lesar os vasos intraneurais, especialmente os capilares endoneurais, produzindo assim uma importante lesão no axônio, caracterizando a axonotmese.

Mazzer et al. (2006) realizaram um estudo morfométrico da lesão por esmagamento do nervo isquiático do rato com o emprego de cargas crescentes, empregando um dispositivo de peso-morto. Utilizaram massas de 500 g, 1.000 g, 5.000 g, 10.000 g, e 15.000 g, por 10 minutos, demonstrando que a lesão das fibras nervosas era diretamente proporcional à carga aplicada e que uma carga de 500 g já é suficiente para produzir uma grave lesão, com dano importante das estruturas do endoneuro.

5.3 LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA

O laser vem sendo utilizado para o estímulo à cicatrização e regeneração de vários tecidos, sendo eles: muscular (AMARAL; PARIZOTTO; SALVINI, 2001; OLIVEIRA; PARIZZOTTO; SALVINI, 1999; NICOLAU et al., 2004), ósseo (BRITO, 2004; FREITAS; BARANAUSKAS; CRUZ-HOFLING, 2000; MERLI et al., 2005), cutâneo (BOSSINI et al., 2008; ROCHA JÚNIOR et al., 2006; VERA MENDEZ, 2002), e nervoso (BAGIS et al., 2002; BREUGEL; BAR, 1993; CAMARGO; COSTA; ANDRÉ, 2006; CHEN et al., 2005; GIGO-BENATO et al., 2004; HADIAN; MOGHADAM, 2003; LOWE et al., 1994; ROCHKIND et al., 2001, 2007a, 2007b; WALSH; BAXTER; ALLEN, 2000). O uso do laser de baixa potência ainda é objeto de controvérsias e o seu efeito sobre estruturas nervosas não está definido. Não

existem evidências concretas de que haja benefícios com o seu emprego, conhecendo-se ainda muito pouco sobre os mecanismos de interação com o meio biológico, como demonstrado por Bagis et al. (2002), Chen et al. (2004) e Walsh, Baxter e Allen (2000). Por outro lado, algumas evidências foram obtidas de que a irradiação com laser induz algumas mudanças no processo de regeneração do nervo periférico (BAXTER et al., 1994; GIGO-BENATO et al., 2004; HADIAN; MOGHADAM, 2003; ROCHKIND et al., 2001, 2007a, 2007b).

No presente trabalho, não foi encontrado problemas na aplicação do laser, já que os animais se comportaram bem durante o tratamento, que durou 40 segundos por ponto, em um total de cinco pontos por animal. O laser utilizado foi o de diodo, AsGaAL com comprimento de onda de 830 nm e de modo contínuo, com dose de 140 J/cm^2 por ser de baixa potência e de uso corrente na prática clínica, com antecedentes de emprego na recuperação e regeneração de nervos periféricos (BAGIS et al., 2002; CAMARGO; COSTA; ANDRÉ, 2006; CHEN et al., 2005; GIGO-BENATO et al., 2004; HADIAN; MOGHADAM, 2003; ROCHKIND et al., 2001, 2007a, 2007b; WALSH; BAXTER; ALLEN, 2000). A dose utilizada foi a proposta por Almeida-Lopes e Massini (2000), a qual considera a área do feixe de luz do laser que efetivamente incide sobre o tecido a ser irradiado.

A metodologia vigente considera a área de “abrangência” do feixe de luz laser como sendo igual a 1 cm^2 (COLLS, 1984) para todo e qualquer tipo de tecido (claro/escuro, duro/mole, queratinizado/não queratinizado). Essa metodologia foi criada na década de 60, numa época em que só existia o laser de HeNe com um único comprimento de onda (632,8 nm) e a área da secção transversal do feixe laser era aproximadamente a mesma nos diversos aparatos disponíveis. Também vale ressaltar que os estudos realizados nessa época estavam baseados em pacientes

caucasianos, o que fazia com que a penetração da luz laser fosse aproximadamente a mesma, já que os pacientes tratados tinham sempre a pele clara.

Sabe-se atualmente que a luz laser não se difunde de maneira idêntica em tecidos biológicos de naturezas distintas (tecido duro e tecido mole, por exemplo; ou tecido claro e tecido escuro), já que os referidos tecidos são heterogêneos do ponto de vista óptico. Assim sendo, acredita-se ser incorreto utilizar uma área padrão de 1 cm² como área de abrangência do feixe de luz laser, e que a área a ser utilizada seja a área da secção transversal do feixe de luz laser sobre o ponto de contato com o tecido a ser irradiado.

Dessa forma, somente a montagem de protocolos rígidos permitirá o melhor controle dos parâmetros e dados, pois é virtualmente impossível precisar a área de abrangência do laser quando este penetra nos tecidos, já que estes são diferentes uns dos outros. É possível, entretanto, precisar quanto de laser é emitido na extremidade da peça-de-mão do equipamento.

O método de cálculo da quantidade de laser emitida implica na correção da tabela de fluência (multiplicando-a por um fator próximo a 20, dependendo da configuração do feixe do laser), porém garante protocolos muito mais precisos e estáveis. Ainda mais, apesar destes parâmetros servirem como base de referência, caberá ao clínico definir a dose a ser usada para cada paciente, levando em consideração o tipo de lesão, sua natureza e profundidade, seu tempo de duração, o tipo de tecido em questão, a idade do paciente e sua condição sistêmica, entre outros itens analisados por ocasião da anamnese (LOPES, 2003).

Também, por desconhecimento e falta de trabalhos científicos, nas décadas passadas acreditava-se que as células necessitavam de um grande tempo de aplicação da luz para que atingissem um limiar de resposta e, inclusive, que

equipamentos terapêuticos com potência mais alta pudessem estar depositando energia de modo muito mais rápido e impedindo a absorção celular adequada. Mas alguns autores começaram a trabalhar com potências mais altas, inicialmente com 35 e 50 mW e, atualmente, entre 100 e 300 mW, depositando maiores densidade de energia (ROCHKIND, 1992; ROCHKIND, 1996; TAKEYOSHI et al.; 1996; HASHIMOTO et al.; 1997; KOHELET et al.; 1998; BRADLEY, 1999; SCHAFFER et al.; 2000; BRADLEY et al.; 2000). A célula responde melhor a potências mais altas, ou seja, a uma densidade de energia fixa, as respostas serão mais satisfatórias se a energia for aplicada de modo mais rápido, o que caracteriza a maior densidade de potência, que gera uma maior absorção celular. Tunér e Hode (2002) salientam que a utilização de equipamentos de laserterapia com potências mais altas, geradas pelo laser de diodo, permite o uso de tempos menores de aplicação da mesma densidade de energia, pois é um dos fatores determinante para se obter um bom resultado terapêutico.

5.4 ANÁLISE FUNCIONAL DA MARCHA

Na maioria dos estudos que envolvem regeneração dos nervos periféricos, são utilizados métodos histo-morfométrico, que são de grande importância, mas não adiantam nenhuma informação sobre a recuperação funcional dos animais. Para a avaliação do retorno funcional, foi utilizado neste estudo o Índice Funcional do Ciático (IFC), desenvolvido na década de 1980 por De Medinaceli, Derenzo e Wyatt (1984) e De Medinaceli, Freed e Wyatt (1982) e modificado por diferentes autores Carlton; Goldberg, (1986); Bain; Mackinnon; Hunter, (1989), permitindo assim avaliar de forma satisfatória a recuperação do nervo ciático, tibial e fibular em função do tempo. O método de avaliação empregado neste estudo foi o de Bain, MacKinnon e

Hunter (1989), que provou ser capaz de avaliar a condição funcional do nervo fibular, através da fórmula do PFI.

O programa utilizado neste estudo foi desenvolvido por Selli (1998) e modificado por Yamasita, Mazzer e Barbieri (2008), o qual economiza tempo na avaliação, é mais preciso e possibilita maior facilidade na manipulação das imagens.

O método de avaliação funcional da marcha tem-se mostrado um instrumento bastante confiável para avaliar o processo de regeneração nervosa periférica, pois é de fácil aplicação e de custo baixo, comparados a outros métodos propostos, fornecendo um valor numérico à função e permitindo uma análise estatística dos resultados, sendo assim motivo de sua mais ampla aplicação. Alguns autores propuseram técnicas alternativas que utilizam análises computadorizadas da deambulação (BERVAR, 2000; LIN et al., 1996; VAREJÃO et al., 2003). Conforme os próprios autores, tais técnicas são sensíveis, facilmente reproduzíveis e de alta confiança, mas apesar dessas vantagens as análises computadorizadas sugeridas, exigem equipamentos de alto custo, de difícil aquisição e requerem tempo para familiarizar com o equipamento e treinamento prolongado para o manuseio dos sistemas.

Brown et al. (1991) realizaram um estudo a confiabilidade do método do IFC, em que quatro examinadores analisaram as medidas em seqüências diferentes sendo três ocasiões diferentes, e concluiu que se trata de um bom método não invasivo. Basso, Beattie e Bresnahan (1995) desenvolveram uma escala de avaliação qualitativa (BBB) para avaliar a recuperação após lesão medular, sendo alguns parâmetros utilizados para a qualificação do grau de lesão e da recuperação dos movimentos. Não se trata de um método quantitativo, como o IFC, mas foi

demonstrada alta correlação entre este e o método do BBB (SOUZA; SILVA; DEL BEL, 2004).

Monte-Raso, Barbieri e Mazzer (2006) avaliaram reprodutibilidade inter-pessoal do método de avaliação do Índice Funcional do Ciático (IFC), tendo como resultado um alto índice de correlação entre examinadores na avaliação pré-operatória e a partir da 3ª semana pós-operatória. Na 1ª e na 2ª semanas o índice de correlação próximo de zero, mostrando pouca reprodutibilidade do método neste período, que se deveu à má qualidade das impressões, que traduziam uma postura muito inadequada da pata operada. Com a regeneração subsequente do nervo e a recuperação funcional do animal, as pegadas tornaram-se mais evidentes, permitindo assim uma marcação adequada dos pontos-chave das pegadas. Portanto, observadas as dificuldades nas primeiras semanas após a produção da lesão, ficou claro que o método do PFI também só deveria ser utilizado a partir da 3ª semana.

Gasparini et al. (2007) estudaram o IFC através de três métodos, manual, computadorizado e filmado, os quais foram correlacionados e considerados ferramentas capazes de garantir o acompanhamento da regeneração e da recuperação funcional. A correlação entre os métodos, ao se utilizar a mesma fórmula matemática, é fidedigna e mostra a equivalência entre os métodos manual e computadorizado, com a identificação dos mesmos parâmetros de medidas.

Foi demonstrado que, nas lesões isoladas dos nervos fibular, tibial ou isquiático, os animais desenvolvem diferentes padrões de marcha, sendo a lesão do nervo fibular facilmente distinguível pela imagem da pegada (HARE et al., 1992). As lesões dos nervos isquiático e tibial apresentam características semelhantes entre si e diferentes do nervo fibular. Os padrões da marcha desenvolvidos na lesão de cada

nervo são previstos pelos fundamentos básicos dos princípios anatômicos. Com a lesão do nervo fibular, os extensores dos dedos, os dorsi-flexores e os eversores da pata são desenergizados, causando a não oposição dos dedos e flexão da pata, que culmina em um encurtamento do comprimento da pegada. A distância entre os dedos intermediários é relativamente inalterada, devido à função normal dos intrínsecos da pata. Somente uma ligeira diminuição do espalhar dos dedos é notada (BAIN; MACKINNON; HUNTER, 1989). Essas alterações, relativamente benignas em comparação com a lesão dos nervos isquiático e tibial, implicam numa impressão bem característica e de mais fácil análise da pegada.

A avaliação funcional da marcha no período pré-operatório não atingiu o valor zero, como era esperado por não haver nenhuma lesão. Na verdade, ela oscilou em torno de menos dez em todos os grupos, fenômeno observado em todas as investigações prévias (Mendonça, Barbieri e Mazzer, 2003) e que tem sido atribuído a uma falha das fórmulas desenvolvidas pelos autores já mencionados.

Na avaliação funcional da marcha, de acordo com Bain, Mackinnon e Hunter (1989), devem-se utilizar as fórmulas correspondentes aos respectivos nervos lesados, obtendo assim um resultado mais fidedigno. De Sá et al. (2003) usou a fórmula do índice funcional do ciático de Bain, Mackinnon e Hunter para a avaliação do nervo fibular em seu estudo, tendo observado certa discrepância entre os resultados do índice e os da morfometria, o que levou à conclusão de que este índice não é completamente satisfatório para avaliação do nervo fibular. Atualmente, a fórmula do índice funcional do ciático é mais satisfatória para a avaliação de uma completa lesão do nervo isquiático, além de ser o mais amplo parâmetro conhecido. Apesar de uma concordância significativa (0,77) entre as fórmulas do SFI e do PFI, o nervo fibular, quando lesado, possui características próprias, sendo capaz de

fragilizar os resultados, caso sua avaliação seja feita por outra fórmula. A força de concordância entre as fórmulas do SFI e TFI apresentou-se ainda maior (0,97) confirmando assim uma semelhança pós-lesão entre as alterações dos respectivos nervos, tibial e isquiático, de acordo com a fórmula de Bain, Mackinnon e Hunter (1989).

Na comparação entre as fórmulas dos autores Bain, Mackinnon e Hunter (1989) e Carlton e Goldberg (1986), no período pré-operatório, observou-se concordância moderada entre o SFI (0,55) e o PFI (0,49). Já no período pós-operatório, a concordância foi maior (0,65 e 0,77 respectivamente). Na comparação entre o SFI e o TFI no período pré-operatório foi de (0,61 e 0,59) e no período pós-operatório foi de (0,70 e 0,97). Já para o TFI e o PFI no período pré-operatório foi de (0,61) para ambos os autores e no período pós-operatório foi de (0,64 e 0,78). No período pós-operatório, tendo como base o índice funcional do fibular, o Grupo III tratado com laser de baixa potência por 21 dias consecutivos apresentou uma melhora na avaliação funcional da marcha quando comparado ao período pré-operatório; e comparados aos demais grupos, assim leva-nos a concluir que o grupo tratado chegou ao mesmo valor do período pré-operatório, ou seja, próximo do valor normal sem lesão. Assim quando comparados entre ambos o Grupo II que teve o tratamento simulado, não teve diferença na avaliação funcional da marcha, comparado ao Grupo I lesado e sem tratamento, e ao Grupo III tratado, assim todos os grupos tiveram diferença comparados ao Grupo Controle.

Em relação ao tempo em que esses animais percorreram a passarela da marcha, o Grupo Controle não apresentou uma diferença estatisticamente significativa do período pré-operatório para o período pós-operatório, ou seja, mantiveram um tempo equivalente após 21 dias, já os demais grupos todos tiveram

uma diferença no tempo pré e pós-operatório. Quando os grupos comparados entre ambos todos tiveram uma diferença em relação ao tempo que percorreram a passarela da marcha.

No peso desses animais antes e após 21 dias todos os grupos tiveram um aumento significativo, sendo assim todos tiveram um ganho de peso em 21 dias consecutivos, assim quando comparados entre ambos não tiveram nenhuma diferença estatisticamente significativa, pois demonstra que o peso desses animais não influenciou na avaliação funcional da marcha.

A avaliação funcional da marcha sugere como melhor resultado, o obtido com o tratamento do laser de baixa potência, quando comparado aos resultados dos demais grupos, num período de 21 dias consecutivos, sendo ainda que o peso desses animais não influenciou no tempo que esses percorreram a passarela da marcha.

6 CONCLUSÃO

A aplicação do laser de baixa potência estimulou a regeneração do nervo fibular comum do rato após lesão por esmagamento controlado.

A concordância entre os índices funcionais foi de uma significância moderada à quase perfeita, com isso podendo utilizar diversas fórmulas para lesão de nervos distintos.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A. C.; PARIZOTTO, N. A.; SALVINI, T. F. Dose dependency of low-energy HeNe laser effect in regeneration of skeletal muscle in mice. **Lasers in Medical Science**, London, v. 16, p. 44-51, 2001.

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**, Amsterdam, v. 476, p. 205-212, 1989.

ALMEIDA-LOPES, L.; MASSINI, A. S. Laser de baixa potência e seus parâmetros energéticos. **JBC: Jornal Brasileiro de Odontologia Clínica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 3-5, jul./ago. 2000.

BAE, C. S.; LIM, S. C.; KIN, K. Y.; SONG, C. H.; PAK, S.; KIN, S. G.; JANG, C. H. Effect of GaAs laser on the regeneration of injured sciatic nerves of rat. **In Vivo**, Athens, v. 18, n. 4, p. 489-495, 2004.

BAGIS, S.; COMELEKOGLU, U.; COSKUN, B.; MILCAN, A.; BUYUKAKILLI, B.; SAHIM, G.; OZISIK, S.; ERDOGAN, G. No effect of GA-AS (904 nm) laser irradiation on the intact skin of the injured rat sciatic nerve. **Lasers in Medical Science**, London, v. 18, p. 83-88, 2003.

BAGIS, S.; COMELEKOGLU, U.; SAHIN, G.; BUYUKAKILLI, B.; ERDOGAN, C.; KANIK, A. Acute electrophysiologic effect of pulsed galliumarsenide low energy laser irradiation on configuration of compound nerve action potential and nerve excitability. **Lasers in Surgery Medicine**, New York, v. 30, p. 376-380, 2002.

BAIN, J. R.; MACKINNON, S. E.; HUNTER, D. A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 83, n. 1, p. 129-138, 1989.

BASFORD, J. R.; HALLMAN, H. O.; MATSUMOTO, J. Y.; MOYER, S. K.; BUSS, J. M.; BAXTER, G. D. Effects of 830 nm continuous wave laserdiode irradiation on median nerve function in normal subjects. **Lasers in Surgery Medicine**, New York, v. 13, p. 597-604, 1993.

BASFORD, J. R.; DAUBE, J. R.; HALLMAN, H. O.; MILLARD, T. L.; MOYER, S. K. Does low-intensity He-Ne irradiation alter sensory nerve active potentials or distal latencies? **Lasers in Surgery Medicine**, New York, v. 10, p. 35-39, 1990.

BASSO, D. M.; BEATTIE, M. S.; BRESNAHAN, J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. **Journal of Neurotrauma**, New York, v. 12, p. 1-21, 1995.

BAXTER, G. **Therapeutic laser: therapy and practice**. New York: Churchill-Livingstone, 1997. p. 1-21.

BAXTER, G. D.; LOWE, A. S.; WALSH, D. M.; ALLEM, J. M. Effect of low intensity laser (830 nm) irradiation on skin temperature and antidromic conduction latencies in the human median nerve: relevance of radiant exposure. **Lasers in Surgery Medicine**, New York, v. 14, p. 40-46, 1994.

BERVAR, M. Video analysis of standing – an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 102, p. 109-116, 2000.

BRADLEY, P. F. The application of lasers in medicine: future implications for the next millennium. **Brunei Intl Medl J**, v. 1, p. 105-114, 1999.

BRADLEY, P. F.; GROTH, E.; GURSOY, B.; KARASU, H.; RAJAB, A.; SATTAYUT, S. The maxillofacial region: recent research and clinical practice in low intensity laser therapy. **Laser Therapy**, v. 21, p. 385-402, 2000.

BREUGEL, H. H. F. I.; BAR, P. R. He-Ne laser irradiation affects proliferation of cultured rat Schwann cells in a dose-dependent manner. **Journal of Neurocytology**, Boston, v. 22, n. 3, p. 185-190, 1993.

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. **Experimental Neurology**, New York, v. 127, p. 284-290, 1994.

BRITO, M. A. P. **Análise com utilização da espectrofotometria na reparação óssea pela biomodulação laser**. 2004. 65 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2004.

BROWN, C. J.; EVANE, P. J.; MACKINNON, S. E.; BAIN, J. R.; MAKINO, A. P.; HUNTER, D. A.; HARE, G. Inter-and intraobserver reability of walking-track analysis used to assess sciatic nerve function in rats. **Microsurgery**, New York, v. 12, p. 76-79, 1991.

BOSSINI, P. S.; FANGEL, R.; HABENSCHUS, R. M.; RENNO, A. C.; BENZE, B.; ZUANON, J. A.; BENATTI NETO, C.; PARIZOTTO, N. A. Low level laser therapy (670nm) on viability of randon skin flap in rats. **Lasers in Medical Science**, London, 2008. (DOI 10.1007/s10103-008-0551-5).

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.; GOLDBERG, N. H. Quantitative integrated muscle function following reinnervation. **Surgical Forum**, Chicago, v. 37, p. 611-612, 1986.

CHEN, Y. S.; HSU, S. F.; CHIU, C. W.; LIN, J. G.; CHEN, C. T.; YAO, C. H. Effect of low-power pulsed laser on peripheral nerve regeneration in rats. **Microsurgery**, New York, v. 25, p. 83-89, 2005.

COLLS, J. **La terapia laser hoy**. Barcelona: Centro Documentación Láser, 1984. p. 39-82.

COMELEKOGLU, U.; BAGIS, S.; BUYUKAKILLI, B.; SAHIN, G.; ERDOGAN, C.; KANIK, A. Acute electrophysiological effect of pulsed galliumarsenide low-energy laser irradiation on isolated frog sciatic nerve. **Lasers in Medical Science**, London, v. 17, p. 62-67, 2002.

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

DAHLIN, L. B. The biology of nerve injury and repair. **Journal of the American Society for Surgery of the Hand**, Amsterdam, v. 4, p. 143-155, 2004.

DE MEDINACELI, L.; DERENZO, E.; WYATT, R. J. Rat sciatic functional index data management with digitized input. **Computers and Biomedical Research**, New York, v. 17, p. 185-192, 1984.

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. **Experimental Neurology**, New York, v. 77, p. 634-643, 1982.

DE SÁ, J. M. R.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; BARREIRA, A. A. The end-to-side peripheral nerve repair functional and morphometric study using the peroneal nerve of rats. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 136, p. 45-53, 2003.

DELLON, A. L.; MACKINNON, S. E. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. **Annals of Plastic Surgery**, Boston, v. 23, p. 197-202, 1989.

DEVOR, M.; SCHONFELD, D.; SELTZER, Z.; WALL, P. D. Two modes of cutaneous reinnervation following peripheral nerve injury. **Journal of Comparative Neurology**, New York, v. 185, p. 211-220, 1979.

DIJKSTRA, J. R.; MEEK, M. F.; ROBINSON, P. H.; GRAMSBERGEN, A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 96, p. 89-96, 2000.

DYCK, P. J.; LAIS, A.; GIANNINI, C.; ENGELSTAD, J. K. Structural alterations of nerve during cuff compression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 87, p. 9828-9832, 1990.

ENDO, C. **Estudo dos efeitos do tratamento com laser num modelo experimental de lesão nervosa por esmagamento do nervo ciático em ratos**. 2002. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ortopedia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

FREITAS, I. G. F.; BARANAUSKAS, V.; CRUZ-HÖFLING, M. A. Laser effects on osteogenesis. **Applied Surface Science**, Amsterdam, v. 154-155, p. 548-554, 2000.

GASPARINI, A. L. P.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N. Correlação entre diferentes métodos de avaliação funcional da marcha de ratos com lesão por esmagamento do nervo isquiático. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 15, p. 285-289, 2007.

GENOVESE, W. J. **Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Lovise, 2000.

GIGO-BENATO, D.; GEUMA, S.; RODRIGUES, A. C.; TOS, P.; FORNARO, M. BOUX, E.; BATTISTON, B.; GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurorrhaphy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. **Lasers in Medical Science**, London, v. 19, p. 57-65, 2004.

GUTMANN, E.; GUTMANN, L. Factors affecting recovery of sensory function after nerve lesion. **Journal of Neurology and Psychiatry**, London, v. 5, p. 117-129, 1942.

HADIAN, M. R.; MOGHADAM, B. A. The effects of low power laser on electrophysiological parameters of sural nerve in normal subjects: a comparison between 670 and 780 nm wavelengths. **Acta Medica Iranica**, Teheran, v. 41, p. 138-142, 2003.

HARE, G. M. T.; EVANS, P. J.; MACKINNON, S. E.; BEST, T. J.; BAIN, J. R.; SZALAI, J. P.; HUNTER, R. T. Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. **Plastic and Reconstructive surgery**, Baltimore, v. 89, n. 2, p. 251-258, 1992.

HAMILTON, G. F.; ROBINSON, T. K.; RAY, R. H. The effects of helium-neon laser upon regeneration of the crushed peroneal nerve. **Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy**, Alexandria, v. 15, p. 209-214, 1992.

HASHIMOTO, T.; KEMMOTSU, O.; OTSUKA, H.; NUMAZAWA, R.; OHTA, Y. Efficacy of laser irradiation on the area near the stellate ganglion is dose-dependent: a double-blind crossover placebo-controlled study. **Laser Therapy**, v. 9, p. 7-12, 1997.

JARVIS, D.; MACIVER, M. B.; TANELIAN, D. L. Electrophysiologic recording and thermodynamic modeling demonstrate that helium-neon laser irradiation does not affect peripheral A-delta- or C-fiber nociceptors. **Pain**, Amsterdam, v. 43, p. 235-242, 1990.

KARU, T. I. **Low-power laser therapy**. Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 1-26. (Biomedical Photonics Handbook, 3).

KARU, T. I. Photobiochemistry of the regulation of cellular metabolism with low intensity visible light. II. **SRCTL**, Cidade, v. 8, p. 1-54, 1985.

KOHELET, D.; ROCHKIND, S.; ARBEL, E.; OUAKNINE, G. E. Restoration of phrenic nerve activity in a pre-term newborn using laser therapy. **Laser Therapy**, v. 10 p. 71-82, 1998.

KHULLAR, S. M.; BRODIN, P.; MESSELT, E. B.; HAANAES, H. R. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. **European Journal of Oral Sciences**, Copenhagen, v. 103, p. 299-305, 1995.

LIN, F. M.; PAN, Y. C.; HOM, C.; SABBAHI, M.; SHENAG, S. Ankle stance angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery after complete transection. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 12, p. 173-177, 1996.

LOPES, L. A. Laserterapia na odontologia. **Biodonto Clínica Odontológica Integrada**, Bauru, n. 1, p. 10-50, nov./dez. 2003.

LOWDON, I. M. R.; SEABER, A. V.; URBANIAK, J. R. An improved method of recording rat tracks for measurement of the sciatic functional index of De Medinaceli. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 24, p. 279-281, 1988.

LOWE, A.; BAXTER, G. D.; WALSH, D. M.; ALLEN, J. M. Effects of low intensity laser (830 nm) irradiation on skin temperature and antidromic conduction latencies in the human median nerve: Relevance of radiant exposure. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 14, p. 40-46, 1994.

MAZZER, P. Y. C. N.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N.; FAZAN, V. P. S. Avaliação qualitativa e quantitativa das lesões agudas por esmagamento do nervo isquiático do rato. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 220-225, 2006.

MAZZER, P. Y. C. N.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N.; FAZAN, V. P. S. Morphologic and morphometric evaluation of experimental acute crush injuries of the sciatic nerve of rats. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 173, p. 249-258, 2008.

MENDONÇA, A. C.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N. Directly applied low intensity direct electric currents enhances peripheral nerve regeneration in rats. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 129, p. 183-190, 2003.

MERLI, L. A. S.; SANTOS, M. T. B. R.; GENOVESE, W. J.; FALOPPA, F. Effect of low-intensity laser irradiation on the process of bone repair. **Photomedicine and Laser Surgery**, New York, v. 23, p. 212-215, 2005.

MIRA, J. C. Quantitative studies of the regeneration of rat myelinated nerve fibers: variations in the number and size of regenerating fibres after repeated localized frezings. **Journal of Anatomy**, London, v. 129, n. 1, p. 77-93, 1979.

MOHAMMED, I. F. R.; AL-MUSTAWFI, N. B. V.; KAKA, L. N. Promotion of regenerative processes in injured peripheral nerve induced by low-level laser therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, New York, v. 25, p. 107-111, 2007.

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 Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 133-136, 2006.

MONTE-RASO, V. V.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N.; YAMASITA, A. C.; BARBIERI, G. In the sciatic functional index always reliable and producible? **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 170, p. 255-261, 2008.

MONTE-RASO, V. V.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N.; FAZAN, V. S. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 142, p. 185-192, 2005.

NISSAN, N.; ROCHKIND, S.; RAZON, N.; BARTAL, A. HeNe Laser irradiation delivered transcutaneously: its effect on the sciatic nerve of rats. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 6, p. 435-438, 1986.

NICOLAU, R. A.; MARTINEZ, M. S.; RIGAU, J.; TOMÀS, J. Neurotransmitter release changes induced by low power 830 nm diode laser irradiation on the neuromuscular junctions of the mouse. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 35, p. 236-241, 2004.

OLIVEIRA, E. F. **Enxerto de músculo esquelético nas lesões do nervo ciático de rato** 2000. 113 f. Tese (Doutorado em Ortopedia e Traumatologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

OLIVEIRA, E. F.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; DEL BELL, E. A. The use of a muscle graft to repair a segmentary nerve defect. An experimental study using the sciatic nerve of rats as model. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 133, p. 19-26, 2004.

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. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 17, n. 1, p. 69-75, 2001.

OLIVEIRA, N. M. L.; PARIZZOTTO, N. A.; SALVINI, T. F. GaAs laser radiation does not affect muscle regeneration. **Lasers in Surgery Medicine**, New York, v. 25, p. 13-21, 1999.

ORGEL, M. G. Experimental studies with clinical application to peripheral nerve injury: a review of the past decade. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, New York, n. 163, p. 98-106, 1982.

PACHIONI, C. A. S.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; FAZZAN, V. P. S.; PADOVANI, C. R.; MORO, C. A.; SILVA, C. A. A. Lesão por esmagamento do nervo isquiático de ratos: estudo da vascularização. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 203-207, 2006.

PRENTICE, W. E. **Modalidades terapêuticas para fisioterapeutas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

RASO, V. V. M. **Os efeitos do ultra-som terapêutico no tratamento das lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos**. 2002. 57 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.

ROCHA JÚNIOR, A. M.; OLIVEIRA, R. G.; FARIAS, R. E.; ANDRADE, L. C. F.; AARESTRUP, F. M. Modulação da proliferação fibroblástica pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de reparo tecidual. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 81, p. 150-156, 2006.

ROCHKIND, S.; Central nervous system transplantation benefited by low-power laser irradiation. **Lasers in Medical Science**, London, v. 7, p. 143-151, 1992.

ROCHKIND, S.; Laser therapy in the treatment of peripheral nerves, brachial plexus and spinal cord injuries. **Proceedings of the International Laser Congress**. Athens, Greece, Sep 25-28, 1996.

ROCHKIND, S.; BARRNEA, L.; RAZON, N.; BARTAL, A.; SCHWARTZ, M. Stimulatory effect of He-Ne low dose laser on injured sciatic nerves of rats. **Neurosurgery**, Baltimore, v. 20, n. 6, p. 843-847, 1987.

ROCHKIND, S.; NISSAN, M.; ALON, M.; SHAMIR, M.; SALAME, K. Effect of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. **Lasers in Surgery Medicine**, New York, v. 28, p. 216-219, 2001.

ROCHKIND, S.; DRORY, V.; ALON, M.; NISSAN, M.; OUAKNINE, G. E. Laser phototherapy (780 nm), a new modality in treatment of long-term incomplete peripheral nerve injury: a randomized double-blind placebo-controlled study. **Photomedicine and Laser Surgery**, New York, v. 25, n. 5, p. 436-442, 2007a.

ROCHKIND, S.; LEIDER-TREJO, L.; NISSAN, M.; SHAMIR, M. H.; KHARENKO, O.; ALON, M. Efficacy of 780-nm laser phototherapy on peripheral nerve regeneration after neurotube reconstruction procedure (double-blind randomized study). **Photomedicine and Laser Surgery**, New York, v. 25, n. 3, p.137-143, 2007b.

RODRÍGUEZ, F. J.; VALERO-CABRÉ, A.; NAVARRO, X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. **Drug Discovery Today. Disease Models**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 177-185, 2004.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, Oxford, v. 66, p. 237-288, 1943.

SELLI, M. F. **Desenvolvimento de um método computadorizado para avaliação funcional das lesões de nervos periféricos através da análise da marcha: modelo experimental em ratos.** 1998. 60 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

SCHAFFER, M.; BONEL, H.; SROKA, R.; SCHAFFER, P. M.; BUSCH, M.; REISER, M. Effects of 780nm diode laser irradiation on blood microcirculation: preliminary findings on time-dependent T1-weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging. **Photoch Photobio B**, v. 54, p. 55-60, 2000.

SHAMIR, M. H.; ROCHKIND, S.; SANDBANK, J.; ALON, M. Double-blind randomized study evaluating regeneration of the rat transected sciatic nerve after suturing and postoperative low-power laser treatment. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 17, p. 133-137, 2001.

SOUZA, A. S.; SILVA, C. A.; DEL BEL, E. A. Methodological evaluation to analyze functional recovery after sciatic nerve injury. **Journal of Neurotrauma**, New York, v. 21, n. 5, p. 627-635, 2004.

SUNDERLAND, S. The anatomy and physiology of nerve injury. **Muscle & Nerve**, New York, v. 13, p. 771-784, 1990.

SUNDERLAND, S. **Nerve and nerve injuries**. 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1985. (Classic).

SUNDERLAND, S. **Nerves and nerve injuries**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1978.

SUNDERLAND, S. A classification of peripheral nerves injuries producing loss of function. **Brain**, Oxford, v. 74, p. 491-516, 1951.

TAKEYOSHI, S.; TAKIYAMA, R.; TSUNO, S.; SAEKI, N.; HIDAKA, S.; MAEKAWA, T. Low reactive-level infrared diode laser irradiation of the area over the stellate ganglion, and stellate ganglion block in treatment of allergic rhinitis: a preliminary comparative study. **Laser Therapy**, v. 8, p. 159-164, 1996.

TUNÉR, J.; HODE, L. Laser Therapy: clinical practice and scientific background. Tallinn: **Prima Books**, p. 571, 2002.

VAREJÃO, A. S. P.; CABRITA, A. M.; PATRÍCIO, J. A.; BULAS-CRUZ, J.; GABRIEL, R. C.; MELO-PINTO, P.; COUTO, P. A.; MEEK, M. F. Functional assessment of peripheral nerve recovery in the rat: gait kinematics. **Microsurgery**, New York, v. 21, p. 383-388, 2001a.

VAREJÃO, A. S. P.; MEEK, M. F.; FERREIRA, A. J. A.; PATRÍCIO, J. A. B.; CABRITA, A. M. S. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v. 108, p. 1-9, 2001b.

VAREJÃO, A. S. P.; CABRITA, A. M.; GEUNA, S.; PINTO, P. M.; FILIPI, V. M.; GRAMSBERGEN, A.; MEEK, M. F. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. **Experimental Neurology**, New York, v. 183, n. 2, p. 695-699, 2003.

VAREJÃO, A. P. S.; MELO-PINTO, P.; MEEK, M. F.; FILIPE, V. M.; BULAS-CRUZ, J. Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. **Neurological Research**, London, v. 26, p. 186-194, 2004.

VERA MENDEZ, T. M. T. **Avaliação da influência da dose e do comprimento de onda no processo de reparo subcutâneo de feridas submetidas à laserterapia.** 2002. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2002. (? F total de folhas?)

WALSH, D. M.; BAXTER, G. D.; ALLEN, J. M. Lack of effect of pulsed low-intensity (820 nm) laser irradiation on nerve conduction in the human superficial radial nerve. **Lasers in Surgery and Medicine**, New York, v. 26, p. 485-490, 2000.

WALSH, D. M.; LOWE, A. S.; BAXTER, G. D. An investigation of the effect of 820nm laser irradiation upon nerve conduction in the frog sciatic nerve in vitro. **Journal of Medical Science**, Dhakka, v. 24, p. 23-34, 1995.

WU, W.; PONNUDURAI, R.; KATZ, J.; POTT, C. B.; CHILCOAT, R.; UNCINI, A.; RAPOPORT, S.; WADE, P.; MAURO, A. Failure to confirm of light-evoked response of peripheral nerve to low power helium-neon laser light stimulus. **Brain Research**, Amsterdam, v. 401, p. 407-408, 1987.

YAMASITA, A. C.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H. Desenvolvimento de um software flexível no estudo de regeneração nervosa periférica. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 16, p. 177-179, 2008.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
Comissão de Ética em Experimentação Animal

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para uso de animais em experimentação nº 221/2005, sobre o projeto intitulado "*Os efeitos do tratamento com laser de baixa intensidade em modelo experimental de lesão nervosa por esmagamento do nervo ciático em ratos*", sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Cláudio Henrique Barbieri**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CETEA) em reunião de **19 de dezembro de 2005**.

(We certify that the protocol nº 221/2005, about "*The effects of treatment with low intensity of laser in experimental model of nervous lesion for crushing the sciatic nerve in rats*" agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the COLLEGE OF MEDICINE OF RIBEIRÃO PRETO OF THE UNIVERSITY OF SÃO PAULO – ETHICAL COMMISSION OF ETHICS IN ANIMAL RESEARCH (CETEA) in 12/19/2005 meeting).

Ribeirão Preto, 20 de dezembro de 2005.

Profa. Dra. LUIZA DA SILVA LOPES
Presidente da Comissão
de Ética em Experimentação Animal