



e-ISSN 2446-8118

171

EFEITOS DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA SOBRE O TECIDO MUSCULAR DE RATOS WISTAR APÓS LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA¹

EFFECTOS DEL LÁSER DE BAJA POTENCIA SOBRE EL TEJIDO MUSCULAR DE RATAS WISTAR DESPUÉS DE LESIÓN NERVIOSA PERIFÉRICA

EFFECTS OF LOW-LEVEL LASER ON MUSCLE TISSUE OF WISTAR RATS AFTER PERIPHERAL NERVE INJURY

Aline Reginato²
Morgana Neves²
Alana Ludemila de Freitas Tavares²
Camila Mayumi Martin Kakihata²
Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro²
Gladson Ricardo Flor Bertolini²

RESUMO

Distúrbios dos nervos periféricos são comuns e podem promover a interrupção da comunicação neuromuscular, desencadeando fenômenos que levam a degeneração nervosa afetando de forma direta as funções musculares. Na busca por tratamentos que auxiliem na regeneração nervosa, o laser vem sendo usado na tentativa de acelerar a recuperação tecidual, porém os parâmetros utilizados são variados, dificultando a comparação entre estudos. Assim este estudo avaliou o efeito do laser de baixa potência, nos comprimentos de onda 660 e 830 nanômetros, sobre o músculo tibial anterior de ratos Wistar após lesão compressiva do nervo isquiático. Para tanto, 24 animais foram separados em 4 grupos: Controle (CG), lesão do nervo isquiático (GL), lesão + Laser 660nm (GL660), lesão + Laser 830nm (GL830). Nos grupos lesão, o nervo isquiático direito foi exposto cirurgicamente e comprimido com pinça hemostática por 30 segundos. Após o terceiro dia pós-operatório GL660 e GL830 foram submetidos ao tratamento por 2 semanas totalizando 10 aplicações, que foram realizadas diretamente sobre a cicatriz cirúrgica da lesão nervosa. A força de preensão foi analisada antes e após a lesão nervosa assim como durante o período de tratamento. Após eutanásia o músculo tibial anterior foi processado para a análise em microscopia de luz, para mensuração da área, número de fibras e de núcleos. Os resultados indicaram que os animais submetidos à lesão (GL, GL660 e GL830) sofreram atrofia muscular. O tratamento com laser nos diferentes comprimentos de onda, não evidenciou melhora no músculo tibial anterior de ratos Wistars dentro dos aspectos funcionais avaliados.

¹ Trabalho selecionado na III Jornada de Fisioterapia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Cascavel/PR, motivo pelo qual há mais de cinco autores.

² Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

DESCRITORES: Lesão Nervosa, nervo isquiático, músculo esquelético, laser.

ABSTRACT

Peripheral nerve disorders are common and may promote the interruption of neuromuscular communication, triggering phenomena that lead to nervous degeneration directly affecting muscle functions. In the search for treatments that aid in nerve regeneration, the laser has been used in an attempt to accelerate tissue recovery, however the parameters used are varied, making it difficult to compare studies. Thus, this study evaluated the effect of the low-level laser, at wavelengths 660 and 830 nanometers, on the anterior tibial muscle of Wistar rats after compressive lesion of the sciatic nerve. To do this, 24 animals were separated into 4 groups: Control (CG), lesion of the sciatic nerve (GL), lesion + 660nm Laser (GL660), lesion + Laser 830nm (GL830). In the lesion groups, the right sciatic nerve was surgically exposed and compressed with hemostatic forceps for 30 seconds. After the third postoperative day GL660 and GL830 were submitted to treatment for 2 weeks totaling 10 applications, which were performed directly on the surgical scar of the nerve injury. The grip strength was analyzed before and after the nerve injury as well as during the treatment period. After euthanasia, the tibialis anterior muscle was processed for light microscopy, to measure the area, number of fibers and nuclei. The results indicated that the animals submitted to injury (GL, GL660 and GL830) suffered muscular atrophy. Laser treatment at different wavelengths did not show improvement in the anterior tibial muscle of Wistar rats within the functional aspects evaluated.

DESCRIPTORS: Nerve injury, sciatic nerve, skeletal muscle, laser.

RESUMEN

Los trastornos de los nervios periféricos son comunes y pueden promover la interrupción de la comunicación neuromuscular, desencadenando fenómenos que llevan a la degeneración nerviosa afectando de forma directa a las funciones musculares. En la búsqueda de tratamientos que ayuden en la regeneración nerviosa, el láser se está utilizando en el intento de acelerar la recuperación del tejido, pero los parámetros utilizados son variados, dificultando la comparación entre estudios. Así, este estudio evaluó el efecto del láser de baja potencia, en las longitudes de onda 660 y 830 nanómetros, sobre el músculo tibial anterior de ratas Wistar tras lesión compresiva del nervio isquiático. Para ello, 24 animales fueron separados en 4 grupos: Control (CG), lesión del nervio isquiático (GL), lesión + Laser 660nm (GL660), lesión + Laser 830nm (GL830). En los grupos lesión, el nervio isquiático derecho fue expuesto quirúrgicamente y comprimido con pinza hemostática durante 30 segundos. Después del tercer día post-operatorio GL660 y GL830 fueron sometidos al tratamiento por 2 semanas totalizando 10 aplicaciones, que se realizaron directamente sobre la cicatriz quirúrgica de la lesión nerviosa. La fuerza de agarre fue analizada antes y después de la lesión nerviosa así como durante el período de tratamiento. Después de eutanasia el músculo tibial anterior fue procesado para el análisis en microscopía de luz, para la medición del área, número de fibras y de núcleos. Los resultados indicaron que los animales sometidos a la lesión (GL, GL660 y GL830) sufrieron atrofia muscular. El tratamiento con láser en las diferentes longitudes de onda, no evidenció mejora en el músculo tibial anterior de ratas Wistar dentro de los aspectos funcionales evaluados.

DESCRIPTORES: Lesión nerviosa, nervio isquiático, músculo esquelético, láser.

INTRODUÇÃO

As lesões nervosas periféricas (LNP's) podem surgir de diferentes formas, como: esmagamento, estiramento, compressão,

avulsão e secção total ou parcial no nervo. O nervo isquiático é comumente lesionado devido sua localização e extensão¹. Essas lesões afetam de forma direta as funções musculares, pois promovem a interrupção da

comunicação neuromuscular² desencadeando diversos fenômenos que levam a degeneração, comprometendo sua funcionalidade e estrutura, resultando em dor ao longo do trajeto inervado, comprometendo a capacidade de realizar atividades de vida diária dos pacientes, bem como interferindo no retorno ao trabalho e, impactando o sistema de previdência social.

Apesar de avanços nas técnicas microcirúrgicas, os resultados funcionais do reparo das LNP's permanecem em grande parte insatisfatórios. A fisioterapia comumente envolve o uso de instrumentos terapêuticos para estimular a regeneração nervosa e muscular que por sua vez acelera a recuperação funcional. Tais técnicas incluem o laser de baixa potência (LBP)³. O LBP tem efeitos biofísicos e biológicos diferenciados nos tecidos de acordo com os parâmetros de uso, como dose, comprimento de onda, modo contínuo ou pulsado, duração de tratamento e o local de aplicação⁴.

O uso do LBP tem se mostrado útil no processo de reparo após lesão nervosa periférica. No entanto, há uma lacuna na literatura quanto à sua dosimetria e se o efeito é produzido pelo comprimento de onda, fluência, irradiância ou energia entregue. Desta forma, o presente estudo busca avaliar as ações do LBP em modelo de axonotmese do nervo isquiático e da aplicação nos comprimentos de onda de 660 nm e 830 nm, sobre o tecido muscular de ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização deste estudo, foram utilizados 24 ratos machos, da linhagem Wistar, com idade de 10 semanas, que foram obtidos no Biotério Central da UNIOESTE, e mantidos durante o experimento no biotério setorial do laboratório de estudo das lesões e recursos fisioterapêuticos em condições controladas de temperatura e fotoperíodo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (CEUA) desta instituição.

Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, com 6 animais, sendo:

Grupo Controle (GC), sem intervenção permanecendo livre na gaiola até serem eutanasiados; Grupo Lesão (GL), animais submetidos à compressão do nervo isquiático, permanecendo livres na caixa até serem eutanasiados; Grupo Lesão + Laser 660nm (GL660), submetidos a compressão nervosa e tratados com Laser de baixa potência 660nm; Grupo Lesão + Laser 830nm (GL830), submetidos a compressão nervosa e tratados com Laser de baixa potência 830nm.

Na avaliação da força muscular, foi utilizado um medidor de força de preensão. Para fazer a avaliação o animal foi tracionado pela cauda com firmeza crescente e permitido que agarrasse em uma haste conectada a um transdutor de força, até perder a preensão. Cinco dias prévios à cirurgia os animais foram adaptados ao equipamento. E foram submetidos a cinco avaliações: Avaliação realizada antes da lesão nervosa, no terceiro dia de lesão antes do início do tratamento, terceiro dia após o tratamento, final da primeira semana de tratamento, final da segunda semana de tratamento. Para o modelo experimental de axonotmese no nervo isquiático, os animais do grupo lesão e grupo lesão e tratamento com laser, foram pesados e anestesiados previamente ao procedimento cirúrgico. Em seguida, foi feita uma incisão paralela as fibras do músculo bíceps femoral, expondo o nervo isquiático e subsequente compressão do mesmo, com uso de pinça hemostática, por um período de 30 segundos. A pressão gerada foi padronizada pelo fechamento da mesma no 2º dente da cremalheira¹. Por fim foi realizada a sutura e os animais foram alojados nas mesmas condições pré-cirúrgicas.

No terceiro dia após a lesão, foi iniciado o protocolo de tratamento com o LBP (Ibramed®) o qual foi aferido em relação à potência. O tratamento foi realizado durante duas semanas, com intervalo ao final de semana, totalizando 10 aplicações sobre o local da cirurgia (reconhecido pela cicatriz cirúrgica).

Após o período de tratamento os animais foram pesados, anestesiados em seguida decapitados em guilhotina. O músculo

tibial anterior do membro pélvico direito dos animais foi retirado, pesado e realizado a medida do comprimento, após foram devidamente processados para inclusão em parafina histológica e confecção das lâminas, os músculos foram cortados transversalmente com 7 µm de espessura, e as lâminas coradas em hematoxilina e eosina. As lâminas foram analisadas quanto a número de fibras, núcleos e área de secção transversa pelo programa Image-Pro-Plus 6.0

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados mostram que na AV1, momento em que ainda não havia sido feita a compressão nervosa, todos os animais apresentaram significativamente mais força na análise comparativa entre os grupos, tais valores condizem com padrões de normalidade. Já para as demais avaliações, que foram realizadas após a lesão e durante o período de tratamento houve redução da força muscular (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores encontrados para força de prensão do membro pélvico direito de ratos Wistar (média e desvio padrão) para GC, GL, GL660 e GL830.

	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5
GC	53,4 ±14,5	81,8 ±7,8 ^b	75,6 ±15,5 ^b	85,4 ±22,1 ^b	111,4 ±24,7 ^{b,c}
GL	87,2 ±47,0 ^a	1,3 ±1,4 ^{a,c}	0,3 ±0,8 ^{a,c}	0,5 ±0,6 ^{a,c}	1,6 ±1,3 ^{a,c}
GL660	66,5 ±34,9	1,2 ±1,4 ^{a,c}	0,2 ±0,6 ^{a,c}	1,9 ±0,9 ^{a,c}	2,0 ±4,3 ^{a,c}
GL830	62,7 ±28,1	0,8 ±0,9 ^{a,c}	0,3 ±0,4 ^{a,c}	1,1 ±0,6 ^{a,c}	1,34 ±0,6 ^{a,c}

a. Diferença significativa ao comparar com GC.

b. Diferença significativa ao comparar com GL.

c. Diferença significativa ao comparar com AV1, dentro do mesmo grupo.

Assim como alterações funcionais, o peso dos músculos tibial anterior dos ratos mostrou que a musculatura após lesão nervosa apresentou características de hipotrofia muscular. Na análise morfométrica da área de secção transversa, pode-se verificar que não

houve diferença significativa comparando os grupos lesão, apenas comparando GC aos demais grupos. Assim como GC apresentou menor número de fibras musculares, com menor número de núcleos em comparação com os demais grupos (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores encontrados para área de secção transversa, número de fibras, número de núcleos e peso do músculo tibial anterior direito de ratos *Wistar* (média e desvio padrão), em micrômetros para GC, GL, GL660 e GL830.

	Área de secção transversa	Fibras	Núcleos	Peso
GC	68,8 ± 4,2 ^{b,c,d}	13,2±3	16,4 ±3,8 ^{b,d}	6,0 ±0,4 ^d
GL	31,4 ±4,6 ^a	10,6±1,5	38,4±10,4 ^{a,c}	4,9 ±1,3
GL660	33,6 ±5,4	11,8±2,2	27,2±3,4	4,6 ±1,4
GL830	30,1 ±7,2	11±2,3	28,4±3,2	3,5 ±1,2

a. Diferença significativa ao comparar com GC

b. Diferença significativa ao comparar com GL

c. Diferença significativa ao comparar com GL660

d. Diferença significativa ao comparar com GL830.

Cavalcante et al. (2012)⁵, mostraram que a perda do suprimento nervoso desencadeia adaptações ao tecido por ele nutridos, no caso o tecido muscular, apresentando degradação das proteínas

presentes no tecido contrátil, que caracterizam a atrofia muscular, conseqüentemente a redução de força.

A pesagem da massa é uma técnica simples, porém, reflete indiretamente o

trofismo das fibras, visto que também é influenciada por outros fatores como a proliferação do tecido conjuntivo⁵. Andraus et al. (2010)⁶ mostram que o comprimento de onda do laser é uma variável que deve ser utilizada de acordo com o tecido biológico radiado, pois está diretamente relacionado com a característica do tecido e a profundidade em que se encontra, apontam que não há diferença nos resultados comparando grupos tratados com diferentes comprimentos de onda (660 ou 830 nm). Os resultados demonstraram que o tratamento com LBP nos comprimentos de onda de 660nm e 830nm não foram eficazes para a recuperação das características analisadas neste estudo.

CONCLUSÃO

Verificou-se que a lesão no nervo isquiático foi eficaz em causar efeitos morfofuncionais no musculo tibial anterior de ratos Wistar, e que o tratamento com laser de baixa potência nos comprimentos de onda de 660 nm e 830 nm aplicados no local da lesão e nos parâmetros utilizados, não promoveu melhora dos aspectos morfológicos e funcionais avaliados.

REFERÊNCIAS

1. Câmara, CNS, Brito, MVH, Silveira, EL, Silva, DSG, Simões, VRF, Pontes, RWF. Avaliação histológica dos efeitos da laserterapia de baixa potência sobre os processos de regeneração nervosa periférica em ratos Wistar, Acta Cir. Bras. 2011; 26: 12-18.
2. Possamai F, Siepko CM, André ES. Investigação dos efeitos do exercício terapêutico sobre a regeneração nervosa periférica. Acta Fisiátr. 2010; 17: 142-147.
3. Shen CC, Huang YYTB, Chan SC, Liu BS. Low-level laser-accelerated peripheral nerve regeneration within a reinforced nerve conduit across a large gap of the transected sciatic nerve in rats. J. Evid. Based Complementary Altern. Med. 2013.
4. Takhtfooladi MA, Jahanbakhsh F, Takhtfooladi HA, Yousefi K, Allahverdi A. Effect of low-level laser therapy (685 nm, 3 J/cm²) on functional recovery of the sciatic nerve in rats following crushing lesion. Lasers Med. Sci. 2015; 30: 1047-1052.
5. Cavalcante, EVV, Silva, LGM, Montenegro, EJN, Pontes Filho, NT. Efeito da eletroestimulação no músculo desnervado de animais: revisão sistemática. Fisioter. Mov. 2012; 25: 669-678.
6. Andraus, RAC, Barbieri, CH, Mazzer, N. A irradiação local com laser de baixa potência acelera a regeneração do nervo fibular de ratos. Acta Ortop. Bras. 2010; 18: 152-57.

Recebido em: 12.11.2018
Aprovado em: 20.12.2018