

Artigo original

Estudo comparativo da atividade antiinflamatória da laserterapia e do meloxicam

Comparative study of antiinflammatory activity of laser therapy and meloxicam

Paulo César Tostes Campos Júnior, M. Sc.*, Marcus Vinícius de Mello Pinto, D. Sc.***, José Maria, D. Sc.***, Rúbia Mara Gomes da Silva****, Karla de Lima Garonci****, Thiago Coelho*****

.....
Professor Titular de Farmacologia e Pesquisador do Laboratório de Dor, Inflamação e Laserterapia - LABIINFLA do Centro Universitário de Caratinga, **Professor do Mestrado em Ciências da Reabilitação e Pesquisador do Laboratório de Dor, Inflamação e Laserterapia - LABIINFLA do Centro Universitário de Caratinga, *Professor de Bioética do Mestrado em Ciências da Reabilitação e Pesquisador Centro Universitário de Caratinga - UNEC-MG, ****Curso de Fisioterapia do Centro Universitário de Caratinga, Professor do Curso de Química do Centro Universitário de Caratinga*

Resumo

Este estudo experimental visa comparar os efeitos do meloxicam e da laserterapia sobre a inibição da permeabilidade vascular, induzida por histamina, na região dorsal dos animais. Foram utilizados 25 ratos wistar divididos em 5 grupos, contendo 5 animais cada e classificados da seguinte maneira: 1) grupo controle (solução fisiológica, i.p.); 2) Meloxicam 10 mg/kg, i.p.; 3) laser 30J/50mW; 4) laser 60J/50mW e 5) laser 120J/150mW. As aplicações do laser foram, em modo de varredura, distribuídas em quatro pontos no dorso dos animais. Estes foram tratados 20 minutos antes da injeção do corante por via i.v. Dez minutos após a última injeção do mesmo, o mediador foi aplicado por via intradérmica no dorso dos ratos. A quantidade de corante extravasado foi mensurada por medida espectrofotométrica, utilizando comprimento de onda de 620 nm. Os resultados foram submetidos aos testes T de student e ANOVA com $p < 0,05$. A inibição do processo inflamatório pelo meloxicam e Laser 30J apresentou valor percentual semelhante.

Palavras-chave: laserterapia, meloxicam, permeabilidade vascular, histamina.

Abstract

This experimental study aims to compare meloxicam's effects and lasertherapy on the inhibition of the vascular permeability, induced by histamine, in the dorsal region of the animals. The sample was composed by 25 mice wistar divided into 5 groups, contained 5 animals and classified as following: 1) control group (physiologic solution, intraperitoneal); 2) meloxicam 10 mg/kg, intraperitoneal; 3) laser 30J/50mW; 4) laser 60J/50mW and 5) laser 120J/150mW. The application of the laser was distributed in four points in the back of the animals. They were treated 20 minutes before the injection of intravenous ink. Ten minutes after the last injection, the mediator was applied by intradermic in the back of the mice. The quantity of overflowed ink was measured by spectrophotometry using wavelength of 620 nm. The results were submitted to Student T test and ANOVA with $p < 0.05$. The inhibition of the inflammatory process by meloxicam and laser 30J presented similar percentile value.

Key-words: laser therapy, meloxicam, vascular permeability, histamine.

Introdução

O processo inflamatório consiste em um mecanismo fisiopatológico básico sendo desencadeado em resposta a diversas doenças, apresentando-se como um conjunto de reações locais do organismo, que ocasionam a saída de líquidos e células do sangue para o interstício [1].

O agente inflamatório atua nos tecidos induzindo a liberação de mediadores que, ao agirem nos receptores existentes nas células da microcirculação e nos leucócitos, produzem aumento da permeabilidade vascular e exsudação do plasma e de células sanguíneas para o interstício [1-3]. Mesmo a inflamação, sendo um mecanismo de defesa, poderá causar danos ao organismo [2,4-7].

Recebido em 17 de outubro de 2006; aceito em 12 de fevereiro de 2007.

Endereço para correspondência: Marcus Vinicius de Mello Pinto, E-mail: orofacial@funec.br

Basicamente, a inflamação atua sobre as membranas celulares, levando os leucócitos a liberarem enzimas lisossomais. Em seguida, a liberação do ácido araquidônico ocorre a partir de compostos percussores e a síntese de vários eicosanóides é estimulada, entre eles as prostaglandinas, mediadores que desempenham um papel importante no processo inflamatório. A interferência em sua síntese determina uma redução significativa nas alterações provocadas pela inflamação, por isso o mecanismo de ação de muitos antiinflamatórios não hormonais é via inibição da síntese de prostaglandinas, e seus efeitos constituem atividades analgésicas, antipiréticas e antiinflamatórias [8-12].

Várias fosfolipases podem contribuir para liberação de ácido araquidônico em vários tipos de células. Uma vez liberado, uma parte do araquidonato é metabolizada rapidamente em produtos oxigenados por vários sistemas enzimáticos distintos, incluindo ciclooxigenase ou uma das várias lipoxigenases ou o citocromo [2,13-15].

As duas principais vias de metabolismo do ácido araquidônico ocorrem a partir das lipoxigenases e ciclooxigenases. As lipoxigenases levam à formação do HPETE (ácido hidroperoxieicosatetraenóico), HETE (ácido graxo hidroxilado) e dos leucotrienos, a via da ciclooxigenase leva aos endoperóxidos cíclicos (PGG – prostaglandina G e PGH – prostaglandina H) e os produtos metabólicos subsequentes. A COX-1 (ciclooxigenase-1) é constitutivamente expressa. A COX-2 (ciclooxigenase-2) é induzida por citocinas, fatores de crescimento e pela endotoxina, um efeito bloqueado pelos glicocorticóides [13-15].

A COX-1 é responsável pela síntese de prostaglandinas, essenciais para a manutenção das funções gástricas e renais, enquanto a COX-2 encontra-se basicamente nas células inflamatórias [5,13]. A não seletividade pela COX-2 é responsável pelos efeitos adversos de alguns AINES [16].

Assim, os fármacos seletivos da COX-2 terão ação antiinflamatória, sem produzir agressões ao organismo, como redução da função renal ou formação de úlceras gástricas [15].

O meloxicam é classificado como um AINE inibidor seletivo da COX2, diminuindo, assim, os efeitos iatrogênicos sobre a mucosa gástrica, acentuando um efeito profilático [16]. Além disso, obteve-se resposta positiva em relação ao seu efeito antiexudativo em edema de pata traseira de rato induzido por carragenina [17,13].

Estudos recentes demonstram grande diferença do processo inflamatório entre os animais tratados com laser, quando comparados com os animais não tratados. Frequentemente, a laserterapia utilizada é a de baixa frequência, pois não apresenta possibilidade de provocar aquecimento detectável nos tecidos irradiados [1,12].

A estimulação com laser tem seus efeitos dependentes do comprimento de onda, dose e intensidade da luz utilizada na irradiação, sendo que o comprimento de onda apresenta grande influência na interação laser-tecido [18].

O sucesso do tratamento com laser deve-se às respostas induzidas nos tecidos como: redução do edema e do processo inflamatório, aumento da fagocitose e da síntese de colágeno, aumento da microcirculação local e do sistema linfático, os quais têm sido demonstrados em estudos *in vitro* e *in vivo* [2,4,19].

Muitos trabalhos têm sido realizados para tentar entender melhor os efeitos terapêuticos da laserterapia, mas apesar de tantas investigações realizadas e do freqüente e importante uso clínico desta terapêutica, a aceitação da mesma e os resultados obtidos são controversos [1,18,11,12].

Uma das principais atuações da laserterapia no processo inflamatório constitui na reorganização celular e nos vasos sanguíneos, modulando a neovascularização, tendo como consequência diminuição da perda funcional, incremento da oxigenação tecidual e aumento da microcirculação regional [12]. Os AINES apresentam alto risco de lesões gastroduodenais e renais como efeito adverso, o que pode desencadear um aumento da morbidade e da mortalidade dos pacientes que estarão sob efeito desta classe de medicamentos [1,17].

Os efeitos fisiológicos da laserterapia, para redução de edema descritos em estudos, apresentam-se como uma alternativa terapêutica [1].

Portanto, o estudo da potência antiinflamatória da laserterapia, se comparada à terapia medicamentosa convencional, torna-se necessário, sendo que poderá levar a adoção de novas condutas terapêuticas.

O objetivo do presente estudo foi comparar a potência da atividade antiinflamatória da laserterapia perante o meloxicam, em um modelo experimental de permeabilidade vascular induzido por histamina.

Materiais e métodos

Neste experimento foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando aproximadamente 180g a 310g, com idade de 2 meses, provenientes do biotério central do UNEC – Centro Universitário de Caratinga.

Os animais ficaram 24 horas, antes do experimento, com água *ad libitum*, sendo divididos em 5 grupos de cinco animais cada, classificados da seguinte maneira:

Grupo 1: grupo controle (solução fisiológica, i.p.)

Grupo 2: meloxicam 10 mg/kg, i.p.

Grupo 3: laser 30J/50mW

Grupo 4: laser 60J/50mW

Grupo 5: laser 120J/150mW

Os animais foram anestesiados por inalação de éter etílico e, em seguida, tricotomizados na região dorsal, sendo a mesma realizada uma semana antes da indução do processo inflamatório.

Os lasers utilizados foram *flex®* diodo visível (632,8 nm), em uma densidade de 30J/cm² com potência do feixe de 50mW, e diodo invisível (904 nm), em uma densidade de energia 60J/cm² e 120J/cm² com potência de feixe de 50 mW e 150 mW, respectivamente. As aplicações foram em varredura,

distribuídas em 4 pontos na região dorsal dos animais, sendo que cada aplicação teve a duração de 31 segundos.

Para avaliação da ação antiinflamatória dos grupos sobre o processo inflamatório, utilizou-se o modelo de permeabilidade vascular, usando como agente pró-inflamatório injeções intradérmica de histamina (50 µg/animal). Este método baseia-se na determinação espectrofotométrica da quantidade de corante extravasado para o espaço intersticial, por ação da histamina. Os animais subdivididos em seus respectivos grupos foram tratados 20 minutos antes da injeção intravenosa do corante azul de Evans (25 mg/kg). Dez minutos após a administração do corante, o mediador histamina foi aplicado por via intradérmica no dorso dos animais em um volume de 0,1 ml distribuído entre quatro pontos.

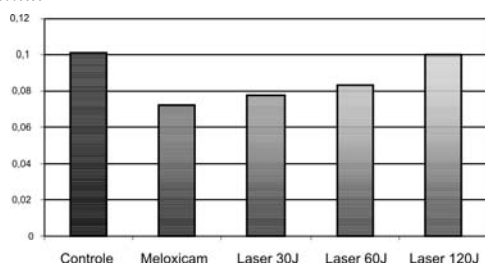
Vinte minutos após a última injeção do mediador, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Para extração do corante, as peles destes foram retiradas e as áreas próximas aos locais de aplicação das injeções do mediador foram removidas, com auxílio de um punch de 5 mm de diâmetro. Essas amostras foram fragmentadas e colocadas em tubos contendo 3ml de formamida e mantidas a 37°C durante 24 horas. Após este período, o material foi filtrado e submetido à dosagem espectrofotométrica. A quantidade de Azul de Evans foi mensurada espectrofotometricamente, utilizando o comprimento de onda de 620 nm, e as concentrações do corante foram determinadas a partir da densidade óptica (DO), multiplicada por um fator calculado a partir da curva padrão.

Para a análise estatística foi utilizado o teste T de student e ANOVA, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) [10].

Resultados

A figura 1 exibe o resultado da ação antiinflamatória da laserterapia e do meloxicam diante do modelo experimental de permeabilidade vascular induzida por histamina.

Figura 1 - Gráfico de permeabilidade vascular induzida por histamina.



No grupo tratado com a substância teste meloxicam, os resultados demonstram que houve inibição de aproximadamente 28,22% ($p > 0,05$) do processo inflamatório em relação ao grupo controle.

Os grupos tratados com laser 30J e 60J apresentaram inibição do processo inflamatório, aproximadamente, na ordem

de 22,79% ($p > 0,05$) e 17,48% ($p > 0,05$) respectivamente, quando comparado com o grupo controle.

O grupo irradiado com laser de 120J não apresentou valores significativos para inibição da inflamação quando comparado com grupo controle.

Discussão

Uma das grandes dificuldades em estabelecer informações a respeito da laserterapia nos diversos sistemas e tecidos biológicos deve-se a grande diversidade de parâmetros estabelecidos para tratamento encontrados na literatura, embora a maioria dos autores corrobore que os efeitos da radiação laser são dependentes da dose, intensidade da luz e do comprimento de onda utilizados [1,18].

Torna-se difícil comparar os nossos resultados com os encontrados na literatura, pela metodologia não ser a mesma, pois a grande maioria das pesquisas analisou os efeitos da laserterapia de baixa potência.

Várias são as teorias propostas para descrever o mecanismo de ação do laser. Até o momento, a teoria fotoquímica descrita no estudo de Ferreira [20] é a base para discutir-se a grande maioria das pesquisas sobre o mecanismo de ação envolvendo este assunto. Esta teoria baseia-se nos efeitos de radiação laser sobre a cadeia respiratória, na qual ocorre a aceleração da produção de ATP fornecendo energia para a célula, e desta forma, permitindo a modulação da resposta inflamatória [1,6].

Lange *et al.* [21] verificaram através da análise histológica realizada, após indução de queimadura de 3º grau em ratos Wistar tratados com laserterapia, que o processo de edema e o número de neutrófilos diminuiu, e ainda, observaram o aparecimento de linfócitos e macrófagos numerosos.

O estudo de Albertini *et al.* [1] sugere que a ação do laser de baixa potência, na inibição da evolução do edema, possa incidir sobre a via hipófise - hipotálamo - adrenal. Nos resultados apresentados, a laserterapia não produziu efeito antiinflamatório em animais adrenalectomizados. As glândulas adrenais são responsáveis pela liberação de glicocorticóides, hormônios com reconhecida ação antiinflamatória [2].

No presente estudo, o grupo tratado com laser na dose de 30J/50W apresentou inibição da evolução do processo inflamatório induzido por histamina quando comparado com o grupo controle, o que é confirmado pelo estudo de Honmura *et al.* [4], no qual foram utilizados 31, 8J, sendo realizada aplicação antes e após a indução do edema.

Na figura 1 está demonstrada que o grupo tratado com meloxicam apresentou maior efetividade na inibição da evolução do edema do que os grupos tratados com a laserterapia.

Albertini [1] utilizando laser As-Ga-Al (650nm), operando com 2,5 J/cm² aplicados na primeira, segunda e terceira hora após a indução do edema, observou que houve inibição da inflamação, em relação ao grupo não-tratado da ordem de 47,7%.

Ferreira [20] sugere que altas dosagens de laser promovem efeito antiinflamatório através da inibição das atividades

enzimáticas. Neste experimento, observou-se que os grupos tratados com laser de 30J e 60J obtiveram alterações inflamatórias mais discretas que o grupo controle, confirmando o estudo de Pugliese *et al* [6].

Carvalho *et al.* [22] sugerem que a radiação laser, quando aplicada até 3 horas após a lesão, diminui o exsudato inflamatório, influenciando na permeabilidade vascular. O presente estudo não teve por objetivo avaliar a redução do processo inflamatório, mas, sim, buscar informações a respeito da inibição da inflamação aguda em um modelo de permeabilidade vascular induzida por histamina.

Vicensi e Carvalho [12] comprovaram em seu experimento que a laserterapia reorganizou o processo inflamatório, tanto em células como em vasos sanguíneos.

Segundo Matera, Tatarunas e Oliveira [5], o raio laser pode penetrar no tecido humano cerca de 0,5 a 2,5 cm, sendo que os comprimentos de onda maiores atingem maior profundidade. O laser diodo tem maior penetração do que o laser de Hélio Neônio. Ainda nesse estudo, foi comprovado que o uso do laser diodo invisível com comprimento de onda 904nm, potência 27mW e densidade de energia 4J/cm², exerce ação antiinflamatória e analgésica sobre os tecidos, como sugerido por Honmura *et al.* [4]. Apesar do laser diodo 904nm, utilizado no presente estudo, apresentar maior penetração nos tecidos, ele não foi o mais efetivo para inibição do processo inflamatório induzido por histamina, o que pode ser visualizado através dos experimentos realizados.

Os resultados obtidos concluíram que, para a fluência de 120 J/cm², os animais irradiados não apresentaram diferenças significantes em relação ao grupo controle. Uma das justificativas encontradas corrobora com as afirmações de Torres e Brito [11], pois indicam que a utilização de fluências baixas ou extremamente altas pode ter causado o efeito indesejado no achado experimental.

Conclusão

Concluímos que: a laserterapia está indicada para processo inflamatório agudo; a dosagem de 30 J apresentou-se mais efetiva na inibição da evolução do edema do que os outros grupos submetidos a laserterapia; e a inibição do processo inflamatório pelo meloxicam e laserterapia com dosagem de 30 J apresentaram valor percentual semelhante.

Sugerimos que novos experimentos sejam realizados comparando os efeitos da laserterapia de alta e baixa potência utilizando outros modelos para indução de edema.

Agradecimentos

Prof^ª.D.Sc. Marina Moura, Rafael Neides Vieira, Sidney Marcos Rodrigues, a empresa Dentoflex, pelo apoio total a esta pesquisa, ao Centro Universitário de Caratinga – MG

Referências

1. Albertini R et al. Análise do efeito do laser de baixa potência (As-Ga-AL) no modelo de inflamação de edema de pata em ratos. *Fisioter Bras* 2002;3(1):05-15.
2. Brasileiro Filho G. *Bogliolo patologia*. 6a ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan; 2000. p.130-72.
3. Pelczar JR, Michael J, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2a ed. São Paulo: Makron Books; 1997. p.41-60.
4. Honmura A et al. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin - induced inflammation. *Lasers Surg Med* 1993;13(4):463-9.
5. Matera JM, Tatarunas AC, Oliveira SM. Uso do laser arseneto de gálio (904nm) após excisão artroplástica da cabeça do fêmur em cães. *Acta Cir Bras* 2003;18(2):102-6.
6. Pugliese LS et al. The influence of low- level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17(4):307-13.
7. Serafim F, Teodoroski RCC. Laser arseneto de gálio (GA-AS) no tratamento das algias provocadas pela disfunção temporomandibular. *Fisioter Bras* 2003;(4)1:33-39.
8. Schmitt I et al. Os efeitos da radiação laser arseneto de gálio (AsGa) sobre a regeneração de tendões em cães. *Braz J Vet Res Anim Sci* 1993;30(2):145-9.
9. Spitznagel JK. Defesas constitutivas do organismo. In: Schaechter M et al. *Microbiologia: mecanismos da doenças infecciosas*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.55-68.
10. Sokal R, Rohlf FJ. *Biometry*. 3rd ed. New York: WH Freeman; 1995. 887p.
11. Torres BEC, Brito MAP. Os efeitos do laser de baixa potência nos diferentes tipos de tecidos: um levantamento bibliográfico [online]; 1997. [citado 2006 Jul 26]. Disponível em: URL: <http://www.fai.com.br/fisio/resumos2/03.doc>
12. Vicensi C, Carvalho PT. Efeitos do laser Arseneto de Gálio (AsGa) na inflamação articular aguda induzida em ratos *wistar* através do adjuvante completo de Freud. *Fisioter Bras* 2002;3(3):223-30.
13. Rabasseda X. Nimesulide: Um fármaco seletivo da ciclooxigenase 2. *Drugs of today* 1996;32.
14. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. *Farmacologia*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.198-199.
15. Alfred G et al. *Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica*. 9a ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 1996. p. 438-48.
16. Ehrlich EW et al. Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase - 2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. *Clin Pharmacol Ther* 1998;65(3):336-347.
17. Nobie S, Balfour JA. Meloxicam. *Drugs* 1996;51(3):423-32.
18. Carvalho JCT et al. Action of ozomied water in preclinical inflammatory models. *Pharmacol Res* 1999;42(1):1-4.
19. Katzung BG. *Farmacologia básica e clínica*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 519-41.
20. Ferreira DM. Avaliação do efeito analgésico do laser de baixa potência (He-Ne) em processo inflamatório agudo [dissertação]. São José dos Campos: Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP; 2003.
21. Lange F et al. Influência da laserterapia no processo cicatricial de queimaduras de terceiro grau. *Fisioter Bras* 2003;4(5):335-340.
22. Carvalho PTC et al. Análise de fibras colágenas através da morfometria computadorizada em feridas cutâneas de ratos submetidos à irradiação do laser HeNe. *Fisioter Bras* 2003;4(4):253-58.