

Artigo original**Análise do efeito do laser de baixa potência (As-Ga-Al) no modelo de inflamação de edema de pata em ratos*****Effect of low power laser radiation on the rat paw edema***

Regiane Albertini*, Fernanda Ishida Correa*, Wellington Ribeiro*, José Carlos Cogo*, Edson Antunes**, Simone Teixeira**, Gilberto de Nucci**, Hugo Caire Castro Faria Neto***, Aimbire F.S.C.*, Renato Amaro Zângaro*, Rodrigo Alvaro B. Lopes Martins*

.....
*Laboratório de Farmacologia, IP&D, UNIVAP, **Departamento de Farmacologia, Faculdade de Ciências Médicas UNICAMP, ***Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica, FIOCRUZ, Rio de Janeiro RJ

Resumo

A reação inflamatória representa um conjunto de reações locais e gerais do organismo contra uma agressão, promovendo condições ideais para a reparação do tecido lesado. Há poucos estudos relatando a eficiência do laser de baixa potência em seu efeito antiinflamatório. A proposta desse estudo foi investigar o efeito da terapia com laser de baixa potência no processo inflamatório agudo, em modelo clássico de edema de pata em ratos. O edema foi induzido por injeção sub-plantar de carragenina, o volume da pata foi mensurado antes da indução do edema e após intervalos de 1 hora, num total de 4 horas utilizando hidroplestímetro. A irradiação laser baseou-se em diferentes protocolos para determinar densidade de energia, período e taxa de repetição. Os resultados demonstraram que a densidade de energia para obter o efeito antiinflamatório com laser de As-Ga-Al é de 1 J/cm² e 2,5 J/cm², reduzindo o edema em 27% (P < 0,05) e 45,47% (P < 0,01), respectivamente. Em animais adrenalectomizados o laser não foi capaz de inibir a formação do edema. Conclusão: A densidade de energia de 2,5 J/cm² produz efeitos antiinflamatórios similares ao diclofenaco de sódio na dose de 1 mg/kg. Nossos resultados sugerem que o mecanismo de ação da irradiação laser de baixa potência parece ser devido ao estímulo do eixo endócrino, mas estudos complementares são necessários para confirmar essa hipótese.

Palavras-chave:
Inflamação, laser,
carragenina,
diclofenaco sódico.

Artigo recebido 23 de outubro de 2001; aprovado 15 de dezembro de 2001.

Endereço para correspondência: Rodrigo Alvaro B. Lopes Martins, Universidade do Vale do Paraíba - IP&D, Av. Shishima Hifumi, 2911 - Urbanova, 12244-000 São José dos Campos SP, Tel: (12) 3947-1087 Fax: (12) 3949-1008, E-mail: rlopes@univap.br

Key-words:

Inflammation, laser, carrageenan, sodium diclofenac.

Abstract

Background: The inflammatory reaction represents a group of local and general reactions of the organism against an aggression, promoting ideal conditions for the repair of the cell. There are few studies telling the efficiency of the laser of low potency and its anti-inflammatory effect. The purpose of presenting study was to investigate the effect of the therapy with Ga-Al-As semiconductor diode laser, in the acute inflammatory process, using for this, the classic model of rat paw edema.

Methods: The edema was provoked by sub-plantar injection of carrageenan (1 mg/paw), the paw volume was measured before, and then after, 1, 2, 3 and 4 hours the injection using a hydroplethysmometer (Ugo Basile, Varese, Italy). The laser irradiation was accomplished using different protocols to establish the densities of energy, period and repetition rate.

Results: The densities of energy that produced anti-inflammatory effect were 1 J/cm² and 2,5 J/cm², reducing 27 % (P < 0,05) and 45,47 % (P < 0,01) respectively the edema. In adrenalectomized animals the laser was not able to inhibit the edema formation.

Conclusion: The density of energy of 2,5 J/cm² produces anti-inflammatory effects similar to the effects of the sodium diclofenac in the dose of 1 mg/kg. Our result suggest that the mechanism of action of low power laser irradiation seems to be due to the stimulation of the endocrine axis but further studies are necessary to clarify this hypothesis.

.....

Introdução

A reação inflamatória é o mecanismo fisiopatológico básico em resposta a diversas doenças, sendo representada por um conjunto de reações locais e gerais do organismo. Ela é composta por uma série de fenômenos complexos que se associam e se complementam uns aos outros formando uma reação em cascata, que envolve uma interação complexa entre células inflamatórias neutrófilos, linfócitos e monócitos/ macrófagos [1]. A resposta inflamatória visa, em última instância, combater o agente agressor e eliminar produtos resultantes da destruição celular, promovendo condições ideais para a reparação do tecido lesado.

O fato de a inflamação ser produzida por diferentes irritantes e manter características uniformes, levou a sugestão de que os sintomas são causados por mensageiros químicos gerados no local da reação, e que são agora conhecidos como mediadores químicos da inflamação. A reação que ocorre durante as primeiras horas após a injúria é independente da natureza (biológica, física e química) do agente nocivo, sendo a resposta bastante similar, mesmo após uma grande variedade de estímulos. Inicialmente, o agente agressor é combatido por duas linhas de proteção, a defesa inata não induzida (ataque humoral - sistema complemento e macrófagos residentes), mas, se o agente agressor não for combatido nessa etapa de defesa inicial, uma segunda via de resposta é induzida - a resposta inflamatória aguda ou defesa inata induzida, que é iniciada com o aumento da permeabilidade vascular e formação de edema [2]. O aumento da permeabilidade promove extravasamento de proteínas plasmáticas para o espaço intersticial que, somado ao aumento de pressão hidrostática de filtração e pressão osmótica intersticial, leva à formação de edema. Em geral, as alterações do fluxo e do calibre vascular iniciam-se rapidamente após a agressão e se desenvolvem em velocidades variáveis que dependem da gravidade do agente irritante, das características do tecido afetado, da espécie animal e da coexistência de estados patológicos [3].

As prostaglandinas são mediadores infla-

matórios que desempenham importantes papéis no processo inflamatório, e a interferência em sua síntese determina uma sensível redução nas alterações proporcionadas pela inflamação [4], visto que a inibição da síntese de prostaglandinas é o mecanismo de ação de muitos antiinflamatórios não-hormonais.

Utilizando técnicas farmacológicas, químicas, térmicas e mecânicas, entre outras, uma série de trabalhos vem sendo publicada a respeito da utilização de recursos terapêuticos físicos antiinflamatórios, como a estimulação elétrica [5], ondas curtas [6], irradiação infravermelha [7], acupuntura e ultra-som terapêutico de baixa e média intensidade [8]. Diversos grupos incluem trabalhos realizados com laser de baixa potência como alternativa de tratamento antiinflamatório.

Vários trabalhos têm sido publicados para melhorar o entendimento dos efeitos da terapia laser. Porém, apesar de todas as investigações realizadas e do importante uso clínico do laser de baixa potência, a aceitação desta terapia e os resultados obtidos são controversos [9,10].

O termo Laser é um acrônimo para Light Amplification by emission of radiation (amplificação da luz pela emissão estimulada da radiação). Embora Albert Einstein originalmente tenha delineado os princípios subjacentes à geração deste tipo de luz no início deste século, foi somente em 1960 que Maiman [11] produziu o primeiro feixe de luz de laser, e, baseado neste protótipo, surgiram vários aparelhos. As características que diferem a luz laser de uma lâmpada são: monocromaticidade, colimação e coerência.

A coerência é uma das propriedades da luz laser, como citada acima, mas ao penetrar no tecido, esta propriedade se perde nos primeiros extratos da pele. Isto ocorre devido à grande variedade de estruturas celulares que compõe a pele [12]. Segundo esses autores, apesar da perda da coerência da radiação do Laser de Baixa Potência (LBP) no interior dos tecidos, esta é absorvida pelas células gerando alterações no seu metabolismo tanto em tecidos superficiais como profundos [13]. O efeito de estimulação com LBP depende do comprimento de onda, da dose e da intensidade da luz utilizada na irradiação [14].

O presente trabalho teve como objetivo geral investigar o efeito da terapia com laser de diodo (AS-GA-AI) no processo inflamatório agudo, utilizando para isto o modelo clássico de edema de pata em ratos.

Materiais e métodos

Modelo experimental de edema de patas em ratos

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150 e 200 g, com livre acesso a água e ração provenientes do Biotério da Central da Universidade de Campinas (UNICAMP). Os ratos foram randomizados e divididos em grupos de 5 a 6 animais.

O edema foi induzido através de uma injeção subplantar de carragenina 1mg/pata [15] (carrageenan - Sigmal Chemical) ou 48/80, na pata esquerda, sob leve anestesia com halotano. O volume total injetado foi sempre de 0,1 ml/pata. O volume da pata foi medido imediatamente antes da injeção, e após, a intervalos de uma (1) hora, num total de quatro (4) horas, utilizando-se um hidropletismômetro (modelo 7140, Ugo Basile, Italy).

Resumidamente: O método de avaliação de o volume plantar de patas de ratos é baseado no princípio clássico de Arquimedes, onde o volume da pata é igual ao volume de água deslocado após sua imersão em um dado recipiente. O edema de pata é calculado pela diferença entre o volume inicial da pata (antes da injeção do agente inflamatório) e o volume a cada hora, durante um período de 04 horas. Os resultados serão expressos como aumento do volume da pata (ml).

Protocolos experimentais

Protocolo 01 - Efeito da irradiação com LBP em 03 densidades de energia

Os animais foram irradiados a cada 1h durante as 05 horas de experimentação, ou seja, nos tempos 1h, após a injeção do estímulo, 2h e 3h. A irradiação com laser foi realizada com densidades de energia de 1, 2,5 e 5 J/cm², incidindo o feixe de laser sobre 01 ponto na região plantar da pata do rato, com tempo de irradiação de 80 segundos.

Protocolo 02 - Comparação do efeito anti-inflamatório do LBP a droga protótipo di-

clofenaco sódico

O diclofenaco sódico foi administrado nas doses de 1, 3 e 10 mg/kg, imediatamente após a indução do edema e o grupo tratado com laser recebeu a irradiação como no protocolo 1 na densidade de energia de 2,5 J/cm².

Protocolo 03 - Investigação do número de irradiações no efeito antiinflamatório do LBP - 02 irradiações por grupo

A irradiação do laser foi realizada com a densidade de energia de 2,5J/cm² determinada no protocolo 1, como sendo a ideal, e os animais receberam somente duas sessões de irradiação, como citado acima.

Protocolo 04 - 03 irradiações por grupo variando tempo inicial de aplicação

A irradiação do laser foi realizada com a densidade de energia de 2,5J/cm², alterando o momento da irradiação como descrito abaixo.

Grupo 01 - Controle carragenina; *Grupo 02* - carragenina + Laser (10 min, 1h e 2h após estímulo); *Grupo 03* - carragenina + Laser (1h, 2h e 3h após estímulo); *Grupo 04* - carragenina + Laser (na hora, 1 h e 2h após estímulo).

Protocolo 05 - Efeito do LBP no Edema Induzido pelo composto 48/80 - Degranulador de mastócitos

Grupo 01 - Controle 48/80; *Grupo 02* - 48/80 + Laser (1J/cm²); *Grupo 03* - 48/80+ Laser (2,5 J/cm²); *Grupo 04* - 48/80 + Laser (5 J/cm²); *Grupo 05* (Sham) - receberam somente a irradiação com laser com intensidade de 2,5 J/cm². A irradiação do laser foi realizada com no protocolo 1.

Modelo experimental de adrenalectomia

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150 e 200 g, com livre acesso a água e ração. Os ratos foram randomizados e divididos em grupos de 5 a 6 animais.

Procedimento cirúrgico

A cirurgia foi realizada para retirada da glândula adrenal. Esse procedimento teve por objetivo avaliar a participação da referida glândula no mecanismo de ação do laser de baixa potência.

Os animais foram anestesiados intraperitonealmente com pentobarbital sódico 40 mg/kg de peso do animal, em seguida tricotomizados na região das últimas costelas com finalidade de facilitar o acesso cirúrgico para a retirada das glândulas. Após a retirada com-

pleta das glândulas adrenais, os animais foram suturados com fio de algodão internamente e fio de sutura não absorvível externamente.

Os animais ficaram em repouso por 4 dias, com livre acesso à ração e água salina. No quinto dia realizou-se o modelo experimental de edema de pata.

Protocolo 06 - adrenalectomia

Controles: Grupo 01 - Carragenina; Grupo 02 - Carragenina + adrenalectomia; Grupo 03 - Sham (realizou-se o procedimento cirúrgico sem a retirada das glândulas).

Tratados: Grupo 04 - Carragenina + laser 2,5 J/cm²; Grupo 05 - Carragenina + adrenalectomia + laser 2,5 J/cm².

Os animais foram irradiados com no protocolo 1.

Laser

O laser utilizado foi um Dermolaser® diodo, visível (650nm), CW, numa densidade de energia de 1; 2,5 e 5 J/cm² (potência do feixe: 250 mW, aplicação pontual, tempo de aplicação 80 segundos). Os animais irradiados receberam irradiação em 1 ponto, na região plantar da pata inflamada.

Análise dos resultados

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de análise de variância a 5% de probabilidade (ANOVA), e, quando da necessidade de outro teste para determinação da diferença encontrada, foi utilizado o teste de Tukey, também à 5% de probabilidade.

Os resultados estão apresentados sob a for-

ma de gráficos e tabelas, que foram escolhidos de acordo com a melhor representação para cada tipo de experimento.

Resultados

Efeito antiinflamatório do LBP em edema de pata

A análise do efeito antiinflamatório da terapia de laser de baixa potência baseou-se em modelo clássico de inflamação de edema de pata em ratos.

Primeiramente realizou-se 6 protocolos, no modelo de edema de pata em ratos, para determinar a densidade de energia, o número de irradiações necessárias e o momento ideal para início da terapia, a fim de obter o efeito antiinflamatório satisfatório.

Para a análise comparativa do efeito antiinflamatório do laser de baixa potência no edema de pata foi considerado o volume médio (6 animais) extravasado no período de 4 horas.

Observando a Fig.1, pode-se notar que a dose 2,5 J/cm² apresenta um efeito antiinflamatório que inicia-se após a primeira aplicação do laser. Na segunda hora ocorreu uma redução do edema de 47,76% em relação ao grupo controle. O edema permanece sem evolução (44,91% de inibição) na terceira hora, e, ao final do experimento (quarta hora) a inibição do edema foi de 45,47% (P < 0,001), em relação ao grupo controle. As densidades de energia de 1 J/cm² e 5 J/cm² tiveram ao final do experimento uma inibição do edema de 26,96% (P < 0,05) e 1,2%, respectivamente, em relação ao grupo controle.

Fig. 1 – Volume extravasamento (edema), após período de 4 horas, dos animais controle e tratados com três irradiações (1 J/cm², 2,5 J/cm² e 5 J/cm²) na 1^a, 2^a e 3^a hora após indução do edema por carragenina. Os valores estão representados como média ± DP para 6 animais. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 em relação ao controle.

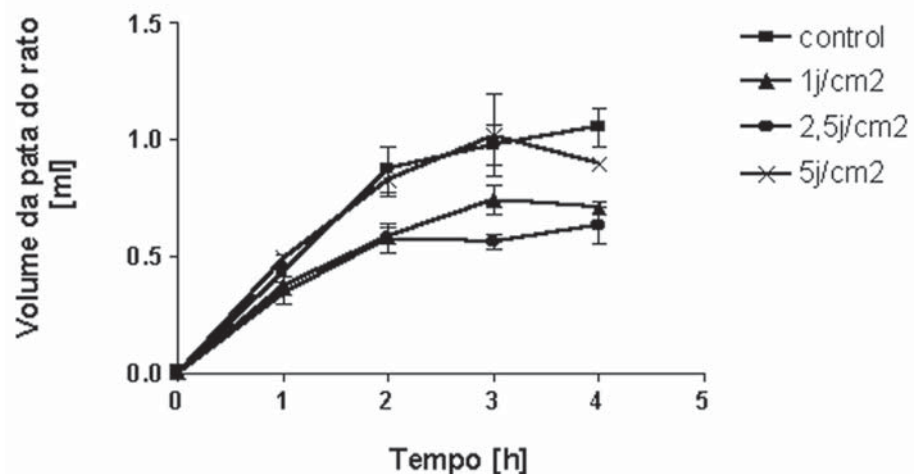


Fig. 2 – Volume extravasamento (edema),após período de 4 horas; dos animais controle, tratados com três irradiações (, 2,5 J/cm²/ 1^o, 2^o e 3^o hora) após indução do edema por carragenina e tratados com diclofenaco de sódio (1mg/kg, 3mg/kg, e 10mg/kg) imediatamente após a indução do edema. Os valores estão representados como média ± DP para 6 animais. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 em relação ao controle.

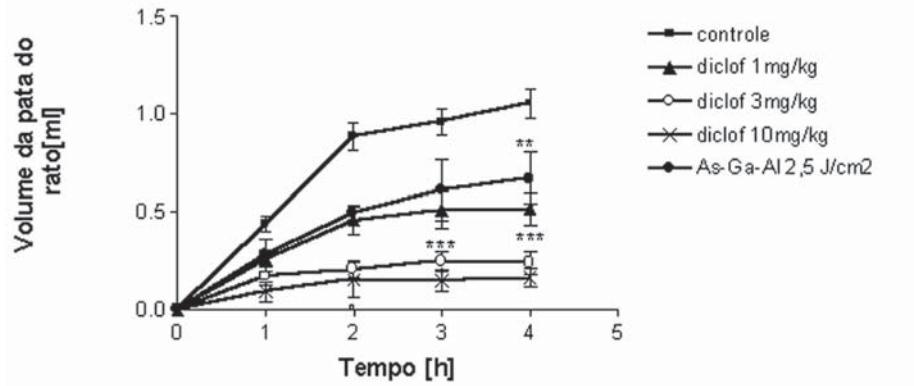


Fig. 3 – Volume extravasamento (edema), após período de 4 horas; dos animais controle e tratados com duas irradiações (2,5 J/cm²) variando o início da terapia após a indução do edema por carragenina. Os valores estão representados como média ± DP para 6 animais. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 em relação ao controle.

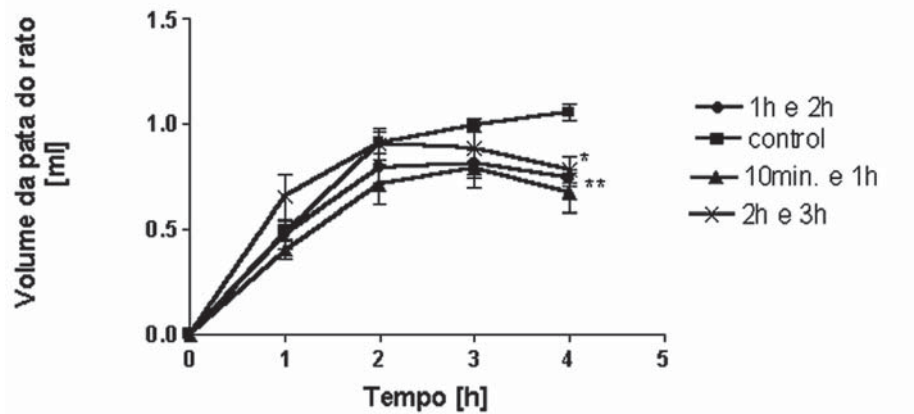
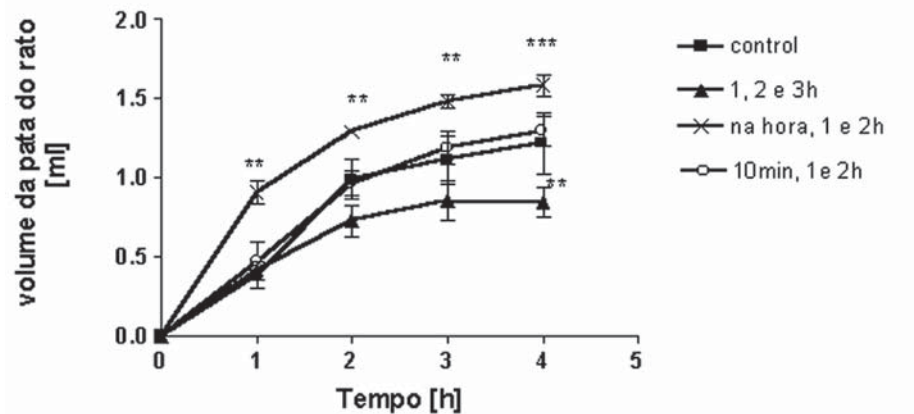


Fig. 4 – Volume extravasamento (edema),após período de 4 horas; dos animais controle e tratados com três irradiações (2,5 J/cm²) variando o início da terapia sendo o edema induzido por carragenina. Os valores estão representados como média ± DP para 6 animais. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 em relação ao controle.



Em relação à eficácia do laser como método antiinflamatório, nota-se na figura 4.2 que seu efeito é comparável ao diclofenaco sódico na dose de 1 mg/kg. Nesta dose a inibição do edema foi de 47,19% (P < 0,01) e a inibição do laser 2,5 J/cm², de 40,47% (P < 0,05). Para as doses de 3 mg/kg e 10 mg/kg tem-se uma inibição do edema de 73,59% e 83,34% (P < 0,001), respectivamente, em relação ao grupo controle.

Nota-se na Fig.3 que a redução do edema foi significativa com 2 aplicações, somente ao

final do experimento (na 4 horas), para as aplicações 10 min antes da indução do edema e 1 hora após a indução do edema quando se tem uma inibição de 23,48% (P < 0,01); e para 1 e 2 horas após a indução do edema teve-se 16,18% (P < 0,05). Nas aplicações realizadas na 2a e 3a hora após a indução do edema, a inibição não foi significativa, inibindo 8,9 % (P > 0,05). Na Fig. 4 observa-se que alterando-se o início da terapia, temos resultados bastante distintos ou seja, para aplicação do laser imediata-

Fig. 5 – Volume extravasamento (edema), após período de 4 horas; dos animais controle e tratados com três irradiações (1 J/cm², 2,5 J/cm² e 5 J/cm²) na 1^o, 2^o e 3^o hora após indução do edema pelo composto 48/80. Os valores estão representados como média ± DP para 6 animais. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 em relação ao controle.

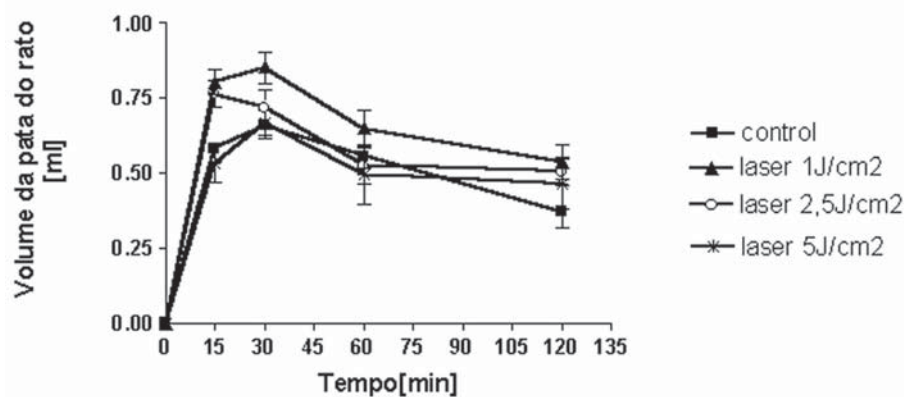
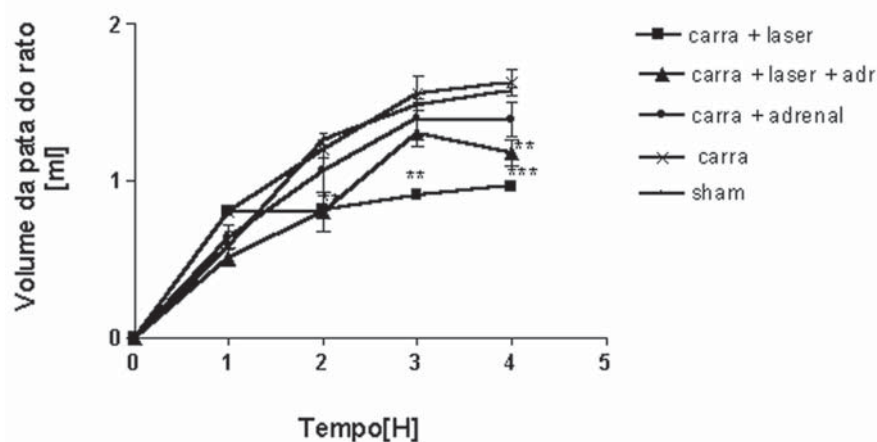


Fig. 6 – Volume extravasamento (edema), após período de 4 horas; dos animais controle (adrenalectomizados e não-adrenalectomizados) e tratados com 2,5 J/cm² irradiações na 1^o, 2^o e 3^o hora após indução do edema por carragenina. Os valores estão representados como média ± DP para 6 animais. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001 em relação ao controle.



mente à indução do edema temos efeito pró-inflamatório, a qual provoca aumento do edema de 31,96% (P < 0,05), em relação ao controle, se a aplicação é realizada 10 min (antes da indução do edema), 1 e 2 horas (após a indução do edema) não se tem efeito significativo na redução do edema com inibição de 3,36%. Mas, se a aplicação do laser for iniciada 1 hora após a indução do edema temos efeito antiinflamatório, ou seja, a redução do edema é de 28,48% (P < 0,01).

Na Fig. 5 nota-se que o laser não teve ação antiinflamatória no edema provocado por 48/80, pois, os resultados não foram estatisticamente significativos.

Na Fig. 6 podemos observar que os animais que foram adrenalectomizados desenvolveram edema 13,13% menor que os animais controles não-adrenalectomizados. E também que os animais adrenalectomizados tiveram a inibição do edema menor que os animais não-adrenalectomizados, sendo a inibição de 26,64% (p < 0,01) e 31,21% (p < 0,001), respectivamente em relação ao controle não adrena-

lectomizado. Mas, se consideramos os animais adrenalectomizados, os animais tratados com laser não tiveram resultados significativos em relação à inibição do edema.

Na Fig. 7 podemos confirmar a adrenalectomia realizada nos animais, constatamos que os animais adrenalectomizados têm a dosagem de cortisol inferior a 0,20 g % e os animais não adrenalectomizados, 0,21 a 0,32 g.

Discussão

No presente trabalho, determinamos os parâmetros de irradiação LBP no processo inflamatório agudo, em ratos. Os efeitos do laser de baixa potência (LBP) são baseados nos mecanismos não térmicos [10], ou seja, a partir da interação da luz com o tecido, promovendo efeitos de biomodulação [10].

Muitos pesquisadores têm procurado entender o mecanismo ação dos LBP, bem como, determinar o comprimento de onda, número de aplicação, tempo de irradiação e densidade de energia mais apropriados [16]. Tunér e

Hode [17] realizaram uma análise crítica dos estudos da terapia LBP e concluíram que os parâmetros para a irradiação são determinantes para a validação da terapia.

A escolha do comprimento de onda está de acordo com Kolari [18], que descreveu que a radiação com laser de diodo Arseneto-Gálio-Alumínio (As-Ga-Al) mostrou-se simples e segura por se tratar de um aparelho pequeno, de fácil aplicação à pele, de baixo custo e ainda, pelo fato do aparelho fornecer um feixe de luz com as características de monocromaticidade, coerência e colimação e dentro dos limites de sensibilidade de potência e densidade de energia para promover efeitos biológicos sem dano.

As reações atômicas ocorrem com densidade de potência 0,1 - 10 w/cm² e densidade de energia 0,1 - 10 J/cm² [19] e as aplicações com objetivos clínicos devem estar na faixa da 1-4 J/cm² [10]. Dessa forma, o aparelho utilizado está dentro das especificações com densidade de potência de 0,625-6,25 mw/cm² e densidade de energia de 0,06 -37,5 J/cm².

Nossos resultados demonstraram que o LBP, no modelo de edema de pata induzido por carragenina, possui efeitos antiinflamatórios quando utilizado com densidade de energia 2,5 J/cm², e irradiado por no mínimo de 2 aplicações, a partir da 1ª hora da indução do edema. Contudo, se a terapia for repetida por 3 vezes, temos resultados mais pronunciados, obtendo inibição de 50% no volume de líquido extravasado. Esses resultados corroboram com estudos de Honmura *et al.* [20] que analisaram o efeito terapêutico do LBP (As-

Ga-Al), em modelo inflamatório de edema de pata induzido por carragenina utilizando num total de 3 aplicações obtendo de 20 a 30% de redução do edema. Além disso, quando trataram os animais com a mesma densidade de energia, mas com apenas uma aplicação não obteve redução do edema.

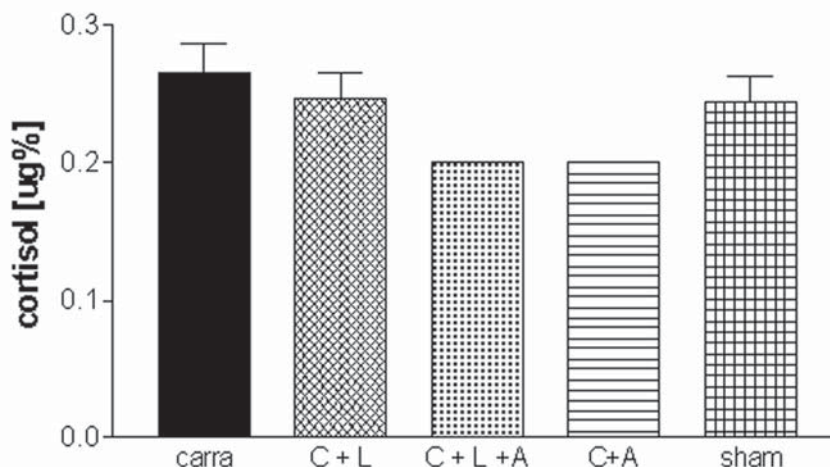
A respeito do mecanismo de ação do LBP na redução do edema, alguns autores sugerem que os componentes celulares (fotorreceptores) podem absorver fótons fornecidos através da energia do LBP e acelerar a produção de ATP fornecendo energia para célula, que por sua vez podem modular a resposta inflamatória [21-24]. Vários estudos clínicos evidenciaram efeitos benéficos da laserterapia em patologias inflamatórias como bursites, tendinites, fasciite plantar e síndrome do túnel do carpo.

Sabe-se que comprimentos de onda entre 600-700 nm (região visível) correspondem a região do espectro eletromagnético que pode ser absorvido no ciclo respiratório, e essa energia eletromagnética é absorvida por componentes (fotorreceptores) do ciclo respiratório estimulando a cadeia respiratória, aumentando a produção de ATP mitocondrial [23].

Neste mesmo contexto, Wilden e Karthein [23] relatam que a absorção da luz fornece energia à célula como as ligações químicas e cada comprimento de onda corresponde a um tipo de ligação química que resulta em diferentes energias, sendo que na região do visível temos a energia das ligações iônicas ou seja, $3,2 \cdot 10^{-19}$ - $6,4 \cdot 10^{-19}$ J.

Dessa forma, considerando que a absorção

Fig. 7 – As colunas representam a concentração de cortisol (mg%) presente no sangue dos animais após a indução de inflamação com carragenina. As colunas carra (carragenina), C+ L (carragenina + laser 2,5J/cm²) e Sham (animais operados sem retirada da glândula adrenal) representam os animais que não foram adrenalectomizados, e as colunas C+ A (carragenina + laser + adrenalectomia) e C+A (carragenina + adrenalectomia), os animais adrenalectomizados.



de luz fornece às células energia e que essa energia é absorvida pelo citocromo da mitocôndria então, a célula utiliza essa energia no ciclo respiratório para produzir ATP. Estes dados em conjunto estão de acordo com a nossa proposta que o mínimo de energia para catalisar as reações foi obtido com 2 aplicações de laser e que 3 aplicações seriam o ideal pois, com essa repetição tivemos uma redução do edema de quase 50%.

Ainda assim, o tratamento conversador com a terapia de LBP é indicado nas afecções inflamatórias como, bursites, tendinites, DORT, fasciite plantar para minimizar a dor e sintomas inflamatórios (para revisão ver Huang [24]). Ainda assim, o mecanismo de ação do LBP na inflamação aguda ainda não está totalmente elucidado .

Campana *et al.* [25] quantificaram o nível de fibrinogênio plasmático (FP) em modelo de lesão tecidual induzida por laparotomia e tratada com LBP e diclofenaco de sódio. Nesse modelo experimental os resultados mostraram que o nível de FP que se encontrava aumentado no tecidos lesados retornaram a níveis normais após o tratamento com LBP, sendo que esse mesmo resultado ocorreu no tratamento com diclofenaco de sódio. Esses resultados sugerem que a resposta inflamatória pode ser normalizada ou reduzida pela ação fotoquímica do LBP agindo como seletivo da enzima ciclooxigenase (COX) ou em nível superior na cascata de produção de mediadores inflamatórios, visto que a redução do FP obtida com LBP foi semelhante a do diclofenaco sódico.

Sattayut *et al.* [26] investigaram o efeito do laser As-Ga-Al (820 nm) com densidade de energia de 4 J/cm² e 19 J/cm² na produção de PGE2 em culturas de células estimulada com IL-I e obtiveram como resultado que a inibição da síntese de PGE2 ocorreu com 19 J/cm² sugerindo ser este o mecanismo analgésico para as dores músculo-esqueléticas.

Campana *et al.* [27] avaliaram a inflamação em modelo de artrite reumatóide, em ratos, induzida por hidroxapatita e tratada com LBP (632,8 nm) com densidade de energia de 8 J/cm² no momento da irradiação, 24 e 48 horas após o estímulo, e obtiveram como resultados que o nível de FP, PGE2 plasmático e PGE2 sinovial estavam reduzidos em relação ao con-

trole. Entretanto, as lesões histológicas permaneceram sem diferenciação entres os grupos tratados e não tratados, sendo sugerido que o LBP é capaz de inibir os efeitos quimiotáticos dos estágios iniciais da inflamação ou podem interferir com os mediadores químicos assim inibir a COX/ COX2.

Tomados em conjuntos esses resultados corroboram com os nossos que mostraram que a terapia com LBP foi capaz de reduzir o edema induzido por carragenina como o diclofenaco sódico na dose de 1 mg/kg. Dessa forma, é razoável sugerir que o mecanismo ação do LBP pode estar interferindo na ativação da COX, entretanto nota-se que existem divergências a respeito desse mecanismo.

De acordo com a Fig.5 evidenciamos que a ação do LBP não reduz a degranulação dos mastócitos pois, o laser foi incapaz de inibir o edema provocado pelo composto de 48/80, que é um irritante que tem a ação de degranular mastócitos. Silveira & Lopes [28] realizaram estudos onde observaram a comportamento de mastócitos em duas áreas, sendo um área tratada com laser de baixa potência (Zona B) e a outra área não tratada. Os resultados demonstraram que o número de mastócitos degranulados aumentou de maneira significativa no zona B (laser) o que evidencia o fenômeno de desgranulação total e completa dos grânulos liberados.

Maillet [29] relata que a ação dos fótons emitidos pela radiação do LBP atua na membrana celular de mastócitos, provocando a sua ruptura, já que são células especialmente vulneráveis a qualquer tipo de estímulo [30].

Tendo vista os experimentos de Silveira e Lopes [28] relatados acima cabe-nos discutir sobre a diferença de resultados encontrada ao analisarmos os resultados de edema de pata em ratos.

Silveira e Lopes [28] relatam que a irradiação laser com 9 J/cm² determina a desgranulação de mastócitos numa intensidade maior do que em condições fisiológicas, o que favorece a ocorrência de alterações circulatórias locais, em especial a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, este fato justifica no nosso experimento de edema de pata termos encontrado maior volume com a irradiação de 5 J/cm², e como a análise do efeito

antiinflamatório em pata de ratos, é baseado no volume extravasado, temos então a falsa idéia que a terapia com 5 J/cm² não foi eficaz.

De acordo com os resultados descritos acima é razoável admitir as divergências no padrão ótimo de densidade energia para terapia com LBP. Nossos resultados nos conduzem a admitir que a melhor densidade de energia é a de 2,5 J/cm², visto que com essa densidade de energia conseguimos reduzir o volume do edema da pata do rato.

Outro mecanismo de ação que podemos sugerir a partir dos resultados apresentados na Fig. 6 é que o laser aumenta a liberação de cortisol endógeno, uma vez que quando realizamos adrenalectomia e tratamento com LBP, este foi incapaz de inibir a formação do edema. Apesar disso, ao dosar o cortisol, não conseguimos detectar diferenças na concentração deste no sangue, mas este fato pode ter ocorrido porque o método utilizado para a dosagem não foi sensível para detectar a diferença. Estes resultados sugerem fortemente que o mecanismo de ação do efeito antiinflamatório da Terapia com Laser de Baixa Potência parece envolver um mecanismo endócrino de liberação de cortisol endógeno que estaria atuando na inibição da reação inflamatória. Esta hipótese estaria de acordo com diversos trabalhos que atribuem os efeitos analgésicos do LBP a liberação de endorfinas pelo hipotálamo, uma vez que começa a se delinear na literatura a possibilidade do LBP em atuar em todo o eixo hipófise-hipotálamo-adrenal.

Referências

1. Tedgui A, Mallat Z. Antiinflammatory mechanisms in the vascular wall. *Cir Res* 2001;88:877-887.
2. Siqueira Jr, JF, Dantas, C.J.S. Mecanismos celulares e moleculares da inflamação, ed. Medsi, 238p, 2000.
3. Ali H, Haribabu B, Richardson RM, Snyderman R. Mechanisms of inflammation and leukocyte activation. *Med Clin North Am* 1997;81:1-28.
4. Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenase-2 and its regulation in inflammation mediators of inflammation,5;305-323, 1996.
5. Gersh M.R. Transcutaneous electrical nerve stimulation for management of pain. In: Gersh MR (ed). *Electrotherapy in Rehabilitation*. Philadelphia: FA Davis Co, 1990, p.149-196.
6. Bouwhuijsen F. Terapia de onda curta pulsátil y continua. Al Delft: BV enraf-Nonius, 1986
7. Michlovitz SI. Biophysical principles of heating and superficial heat agents. In: Michlovitz, S.I. (ed.), *Thermal Agents in Rehabilitation*. 2 ed. Philadelphia: FA. Davis Co, 1990, p.88-107.
8. Ziskin MC, Mcdiamid T, Michlovitz SI. Therapeutic ultrasound. In: Michlovitz SI. (ed), *Thermal Agents in Rehabilitation*. 2 ed. Philadelphia: FA Davis Co, 1990, p. 134-169.
9. Villarroya-Aparicio A. *et al.* El laser y el dolor. *Rehabilitación* 1994;28(5):346-53.
10. Basford JR. Low intensity laser therapy-still not na established clinical tool. *Lasers in Surgery and Medicine* 1995;16(4):331-42.
11. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 1960;187:493.
12. Haczeki O, Tamura M. Near infrared quadruple wl. Spectrophotometry of the rat head. *Adv Exper Med Biol* 1989;248:63.
13. Svaasand LO. Bioestimulation with-intensity lasers-physics or metaphysics? *Nordisk Med.* 1990, p.105-172.
14. Fedoseyeva GE, Karu TI, Lyapunova TS, Pomoshnikova NA, Meissel MN. The activation of yeast metabolism with He-Ne laser radiation - I protein synthesis in various cultures. *Lasers life Sci* 1988;2(2):137-146.
15. Honmura A, Akemi I, Masahiro Y, Obata J, Haruki E. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin-induced inflammation. *Lasers in surgery and medicine* 1993;13:463-69.
16. Tatarunas AC, Matera JM, Dagli MLZ. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato domestico. Utilização do laser de baixa potência GaAs (904nm) *Acta Cir Bras* 1998;13(2).
17. Túner J, Hode L. It´s all in the parameters: A critical analysis of some well-known negative studies on low power laser therapy *Journal of Clin Laser med. & Surgery* 1998;16(5):245-248.
18. Kolari PJ. Penetration of unfocused laser light into the skin *Arch Dermatol* 1985;277:342-44.

19. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schön H, Schindl L. Low-intensity laser therapy: a review. *Journal of investigative medicine* 2000;48(5):312-326.
 20. Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Lasers in surgery and medicine* 1992;12:441-9.
 21. Manteifel V, Bakeeva L, Karu T. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with he-ne laser: appearance of giant mitochondria *Journal of Photochem. And Photobiol. B: Biol.* 2000;38:25-30.
 22. Breitbart H, Levinshal T, Cohen N, Friedmann H, Lubart R., Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633nm (HeNe laser) *Journal of Photochem. Photobiol. B:* 1996;34:117-121.
 23. Wilden L, Karthein R. Import of phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. *Journal of Clin laser Med & Surgery* 1998;16(3):159-165.
 24. Huang HH, Queshi AA, Biundo JR. Sports and other soft tissue injuries, tendinitis, bursitis, and occupation-related syndromes *Current Opinion in rheumatology* 2000;12:150-154.
 25. Campana V, Moya M, Gavotto A, Juri H, Palma JA. Effects of diclofenac sodium and HeNe laser irradiation on plasmatic fibrinogen levels in inflammatory processes. *J Clin Laser Med Surg* 1998;16(6):317-20.
 26. Sattayut S, Huges F, Bradley P. 820 nm gallium aluminum arsenide laser modulation of prostaglandin E2 production in interleukin I stimulated myoblasts *Laser Therapy* 1999;11(2):88-95.
 27. Campana VR, Moya M, Gavotto A, Soriano F, Juri HO, Spitale LS, Simes JC, Palma JA. The relative effects of He-Ne laser and meloxicam on experimentally induced inflammation *Laser Therapy* 1999;11(2):6-10.
 28. Silveira JC, Lopes EE. Alguns aspectos do comportamento do mastócito sob a ação do raio laser de As-As 904nm (estudo experimental em cobaias- cavia porcelos) In: Donato AC, Boraks S. *Laser Clínico aplicações em práticas em odonto estomatologia.* Robe p.27-58,1993.
 29. Maillet H. *O laser: princípio e técnicas de aplicação.* SãoPaulo: Manole, 1987. 538p.
 30. Uvnäs B. Release processes in mast cells and their activation by injury *Ann NY Acad Sci* 1964;116:880-890.
-