

**Artigo original**

# Estudo da emissão de luz por diodo infravermelho na dor neuropática em ratos

## *Study of infrared light emitting diodes infrared on neuropathic pain in rats*

Glauce Regina Pigatto\*, Jones Eduardo Agne, D.Sc.\*\*, Liliane de Freitas Bauermann, D.Sc.\*\*, Juliano Ferreira\*\*, Gabriela Trevisan dos Santos\*\*\*, Robson Borba de Freitas\*\*\*\*, Fernanda Rosa\*\*\*\*\*

.....  
\*Graduada em Fisioterapia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, \*\*Professor da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, \*\*\*Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, \*\*\*\*Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS, \*\*\*\*\*Acadêmica do curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria/RS

### Resumo

**Introdução:** A lesão nervosa periférica pode causar alterações funcionais tanto sensitivas quanto motoras, podendo promover importantes comprometimentos, especialmente a dor neuropática. Dentre os vários tratamentos propostos está o emprego da luz monocromática de baixa intensidade, como o diodo de emissão de luz (LED). **Objetivo:** Avaliar o efeito analgésico do LED no espectro infravermelho em modelo experimental de dor neuropática por constrição do nervo ciático em ratos. **Material e métodos:** Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, randomizados em 4 grupos (n = 6). Grupo I: animais neuropáticos e tratados com LED; grupo II: animais neuropáticos e tratados com o LED desligado (placebo); grupo III: animais Sham e tratados com LED; grupo IV: animais Sham e tratados com LED desligado (placebo). Para avaliar a eficácia do tratamento, foram empregados parâmetros de nocicepção como alodínia mecânica estática, dinâmica e térmica ao frio; hiperalgesia térmica ao calor e nocicepção espontânea. **Resultados:** Os animais neuropáticos desenvolveram alodínia e hiperalgesia ao estímulo mecânico, térmico e nocicepção espontânea em 7 dias (Tempo 0) contados a partir da indução da neuropatia, mantendo essas manifestações até o 14º dia. **Conclusão:** O tratamento contínuo com LED no espectro infravermelho promoveu efeito analgésico em um modelo experimental de dor neuropática em ratos. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que esse recurso físico pode ser utilizado no tratamento de pacientes com dor neuropática.

**Palavras-chave:** dor, neuropatia, diodo de emissão de luz.

### Abstract

**Introduction:** The peripheral nerve injury can cause sensory and motor functional changes, promoting important damages, especially neuropathic pain. The use of monochromatic light of low intensity, such as light-emitting diode (LED) is among different treatments options. **Objective:** This study proposes an evaluation of analgesic effect of LED in the infrared spectrum in experimental model of neuropathic pain induced by constriction of the sciatic nerve in rats. **Methods:** We used 24 male Wistar rats randomized into 4 groups (n = 6). Group I: neuropathic animals, treated with LED; group II: neuropathic animals, treated with LED (placebo); group III: Sham animals treated with LED, group IV: Sham animals treated with LED turned off (placebo). We used nociception parameters such as static mechanical allodynia, thermal (cold) dynamics, thermal (heat) hyperalgesia and spontaneous nociceptive in order to evaluate treatment efficacy. **Results:** All animals developed neuropathic allodynia and hyperalgesia to mechanical stimulation, thermal and spontaneous nociception in 7 days (time 0), starting on induction of neuropathy, maintaining these conditions until the 14th day. **Conclusion:** Continuous LED treatment with infrared spectrum promotes analgesic effect in experimental model of neuropathic pain in rats. The results of this study suggest that this treatment may be used to treat patients with neuropathic pain.

**Key-words:** Pain, neuropathy, light-emitting diode.

Recebido em 17 de outubro de 2012; aceito em 24 de abril de 2013.

**Endereço para correspondência:** Glauce Regina Pigatto, Av. Roraima, 1000, Prédio 21 sala 5229 Bairro Camobi 97105-900 Santa Maria RS  
glaucepigatto.fisio@gmail.com

## Introdução

A dor é um fenômeno que ocorre em todos os tecidos onde existem nociceptores ou estruturas neurais para a sua condução, interpretação e reação emocional para esse fenômeno. Dentro desse contexto, destaca-se a dor originada por lesão neural, denominada dor neuropática que, do ponto de vista epidemiológico, faz parte de várias síndromes neurológicas e que representa aproximadamente 25% dos pacientes atendidos em grandes clínicas de dor. Estima-se que a prevalência de dor neuropática na população esteja entre 7% e 8% [1,2].

Recentemente um novo conceito tem sido proposto, como “dor neuropática sendo consequência direta de lesão ou doença afetando o sistema somatossensitivo periférico ou central”. O dano ao tecido nervoso resulta em aumento da sensibilidade aos estímulos dolorosos sendo assim, os estímulos inócuos passam a serem percebidos como dolorosos. Esta hiperalgesia neuropática pode ser devida, em parte, às alterações centrais ou espinhais, porém um componente relevante provavelmente seja a sensibilização dos aferentes primários periféricos [3].

As queixas principais dos pacientes são a dor em queimação (68,3%), pruriginosa (65,9%), dormente (65,9%) e em fisgada (64,6%). As outras evidências de que se trata de dor neuropática vêm dos achados do exame neurológico, notadamente dos sintomas e sinais negativos e positivos, tais como hipoestesia e hipoalgesia (sinais negativos) e parestesia/disestesia, hiperestesia, hiperalgesia, alodínia e hiperpatia (sinais positivos). A maior dificuldade que o profissional encontra ao se deparar com um paciente com dor neuropática é o desafiador tratamento [4].

A óptica que rege o tratamento poderia basear-se na etiologia, nos sintomas ou nos mecanismos. Os mecanismos relacionados à dor neuropática não são completamente esclarecidos, mas experimentos em animais de laboratório indicam o envolvimento da sensibilização de neurônios aferentes periféricos e centrais. Para tentar compreender esses mecanismos, muitos modelos animais foram desenvolvidos e se dividem em nociceptivos e neuropáticos. Nos modelos animais de dor crônica, detectam-se seus sinais através das mudanças de vários comportamentos [5].

A Fisioterapia utiliza recursos que promovem a analgesia de maneira não farmacológica e não invasiva tais como a Luz Amplificada por emissão Estimulada de Radiação (LASER) e Luz Emitida por Diodo (LED) [6]. A aplicação do LASER e LED em nervos tem sido muito utilizada na prática clínica e descrita na literatura, sendo reconhecidas como adjuvantes efetivos de diferentes resultados cicatríciais e neurofisiológicos [7,8]. Como a dor e a nocicepção são pouco compreendidas, parece estar estabelecido que a terapia do LASER e do LED influencie na síntese, na liberação e no metabolismo de inúmeras substâncias envolvidas na analgesia como endorfinas, óxido nítrico de prostaglandinas, bradicinina, acetilcolina e serotonina. Além desses efeitos neurofarmacológicos, há evidência

experimental para a diminuição da inflamação, diminuição da atividade das fibras C, aumento da circulação sanguínea e redução da excitabilidade do sistema nervoso [9-11].

O modelo de neuropatia por constrição do nervo ciático em ratos simula a condição clínica de compressão crônica nervosa, ficando estabelecido que o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito analgésico do LED no espectro infravermelho aplicado localmente neste modelo de neuropatia.

## Material e métodos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais sob o protocolo 0802011(2) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), estando de acordo com a Resolução 196/96. Trata-se de um estudo experimental laboratorial randomizado.

Foram utilizados 24 ratos machos da raça Wistar, pesando entre 200 e 300g. A amostra foi separada em quatro grupos de seis animais, acondicionados em caixas de propileno nas dimensões de 41 x 34 x 16 cm. Permaneceram no biotério setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Santa Maria, sob ciclo claro/escuro de 12 horas e receberam água e alimento *ad libitum*. Vinte e quatro horas após a última aplicação de LED os animais foram eutanasiados através de anestesia profunda com Tio-pental e Pentobarbital sódico, injetado via intravenosa na dose de 100 mg/Kg.

Os animais foram divididos em quatro grupos, sendo: I – animais neuropáticos e tratados com LED; II – animais neuropáticos e tratados com LED desligado (placebo); III – animais Sham e tratados com LED; IV – animais Sham e tratados com LED desligado (placebo). Após o procedimento cirúrgico todos os animais foram tratados por 20 minutos diariamente, durante 21 dias pelo período da manhã. Como controle, animais falso-operados (Sham) tiveram o nervo ciático exposto, porém não foi realizada nenhuma compressão ou lesão.

### *Indução da neuropatia*

O processo cirúrgico da neuropatia por constrição do nervo ciático ocorreu no centro cirúrgico do Hospital Veterinário da UFSM. Os animais foram anestesiados com cetamina na dose de 90 mg/Kg de peso corporal (PC) e xilaxina na dose de 3 mg/Kg (PC), administradas intraperitonealmente (IP). Após este procedimento, foi realizada uma incisão na região mediana da coxa esquerda para a exposição do nervo ciático. A neuropatia foi realizada através da constrição do nervo ciático (ICC) na região próxima à sua trifurcação [12]. Para isto, o nervo ficou pressionado, durante 30 segundos, utilizando-se uma pinça hemostática traumática de Halsted adaptada [13]. Após, a incisão foi suturada e realizou-se a assepsia da região com álcool iodado.

## *Irradiação do LED*

Para as aplicações de LED, foi utilizado o aparelho Anodyne®, diodo de luz infravermelha calibrado a 890 nm de acordo a escala de ROHS, GaAIAs de Hetero Duplo”, com potência de 780 mW. Os animais receberam uma potência de 390 mW equivalendo a densidade de energia de 124,8 J/cm<sup>2</sup>.

## *Testes comportamentais*

Durante os processos nociceptivos prolongados, a sensibilização central e periférica pode levar o organismo a perceber de forma exagerada estímulos nocivos, caracterizando um estado de hiperalgesia a estímulos térmicos e mecânicos [14]. Para avaliar esse evento foram realizados os testes para observar o desenvolvimento de alodínia mecânica estática, alodínia mecânica dinâmica, alodínia térmica ao frio, hiperalgesia térmica ao calor e nocicepção espontânea. Para isso, primeiramente os animais foram testados para avaliar o limiar basal aos diversos estímulos. E após o tratamento com LED o potencial analgésico deste foi observado nos períodos de setes dias pós-operatório (PO, tempo 0), vinte quatro horas pós-tratamento (tempo 1) e 7º, 14º e 21º dia PO.

## *Avaliação de alodínia mecânica estática*

A alodínia ao estímulo mecânico foi avaliada segundo Chaplan *et al.* [15], utilizando o método de “Up-and-Down” descrito por Dixon [23], utilizando filamentos de Von Frey. Os animais foram brevemente aclimatados em caixas de vidros elevadas, com fundo formado por uma tela de metal, permitindo ao experimentador livre acesso às patas do animal. Em cada pata traseira esquerda foram utilizados filamentos com intensidade de 6, 8, 10, 15, 26, 60 e 100g. Primeiramente, foi utilizado o filamento de 15 g. Caso o animal apresentasse um comportamento de retirada de pata, era feita uma nova estimulação com o próximo filamento de intensidade menor. Caso não retirasse, era realizada uma nova estimulação com o próximo filamento, agora, de maior intensidade, completando um total de seis estimulações ou quatro estimulações para menos ou para mais consecutivamente. O limiar de retirada de pata é expresso em gramas e calculado como descrito previamente por Dixon [16].

## *Avaliação de alodínia mecânica dinâmica*

Os ratos foram colocados em caixas de vidro para uma ambientação prévia (20 minutos). A avaliação foi realizada com o auxílio de um pincel chato número 4 sendo utilizado como indicativo de alodínia dinâmica. O contato do pincel foi realizado em toda a superfície plantar da pata esquerda no tempo máximo de 15 segundos [17].

## *Avaliação de alodínia térmica ao frio*

A alodínia térmica ao frio foi mensurada usando uma modificação do método da gota de acetona descrito por Choi *et al.* [18]. Depois de os animais serem ambientados, uma gota de acetona (50 µL) foi colocada na superfície da pele da pata esquerda. As respostas comportamentais para a gota de acetona foram ranqueadas de acordo com a seguinte escala de escores: 0 = nenhuma resposta; 1= retirada rápida, batida ou tremor da pata (menor que 1 segundo); 2= repetição da batida, tremor ou elevação da pata (menor que 3 segundos); 3= comportamentos de suspensão ou de lambedura de pata (por mais que 3 segundos); 4= comportamentos de suspensão e por lambedura de pata (por mais de 3 segundos). Um ponto adicional foi acrescentado se ocorresse alguma vocalização.

## *Avaliação de hiperalgesia térmica ao calor*

Os animais foram submetidos ao teste plantar (Ugo Basile, modelo 7371), descrito por Hargreaves *et al.* [19]. Brevemente, os animais foram habituados no local de observação. Em seguida, cronometrou-se o tempo necessário para o animal retirar a pata esquerda do estímulo com feixe de luz infravermelha emitido por uma lâmpada de 60 W e considerou-se como índice de nocicepção (latência de retirada, em segundos). Uma diminuição significativa dessa latência significou um aumento da sensibilidade a um estímulo aversivo térmico, caracterizando um quadro de hiperalgesia térmica. Em diferentes tempos, novas medidas foram realizadas.

## *Avaliação de nocicepção espontânea*

Para verificação da presença de nocicepção espontânea, em todos os tempos observados, os animais foram classificados conforme seu comportamento de apoiar a pata esquerda em uma escala de nocicepção espontânea (sem a necessidade de estímulo) que varia de 0 a 4, conforme Butler *et al.* [20], com algumas modificações. Nesta escala considera-se 0 para peso do corpo distribuído normalmente sobre as quatro patas, 1 para peso do corpo ligeiramente depositado sobre a ponta da pata, 2 para peso do corpo levemente depositado sobre a pata posicionada de lado e, 3 para pata totalmente recolhida.

## *Análise estatística*

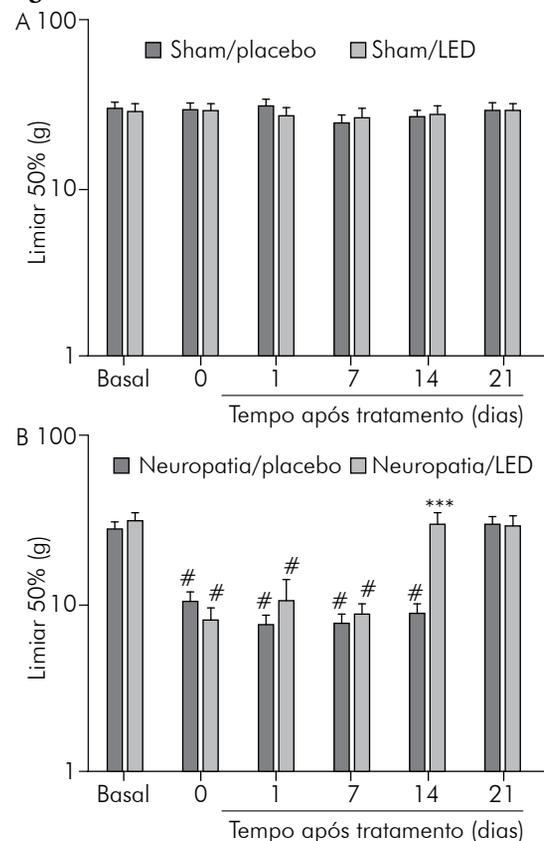
Após a determinação de todos os parâmetros experimentais citados anteriormente, calculou-se as médias e erros padrões das médias de cada grupo. Na análise estatística foi utilizado o software *GraphPad Prisma*, versão 5.0 (*GraphPad Software*, San Diego, Califórnia, EUA). Foi realizada a análise de variância de duas vias (*two-way ANOVA*) com o teste complementar de Bonferroni. Diferenças estatísticas foram consideradas para um  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Alodínia mecânica estática

Os animais neuropáticos (grupos I e II) apresentaram uma redução no limiar mecânico caracterizando o desenvolvimento de alodínia mecânica através de filamentos de Von Frey, no tempo 0 e no tempo 1, 7º e 14º dia, não sendo observadas diferenças significativas entre os grupos III e IV (Sham). Com referência às respostas terapêuticas com LED observamos o aumento do limiar para níveis de pré-operatório (Basal) após 14 dias de tratamento, relativos à décima quarta aplicação (Figura 1).

Figura 1 - Alodínia mecânica estática



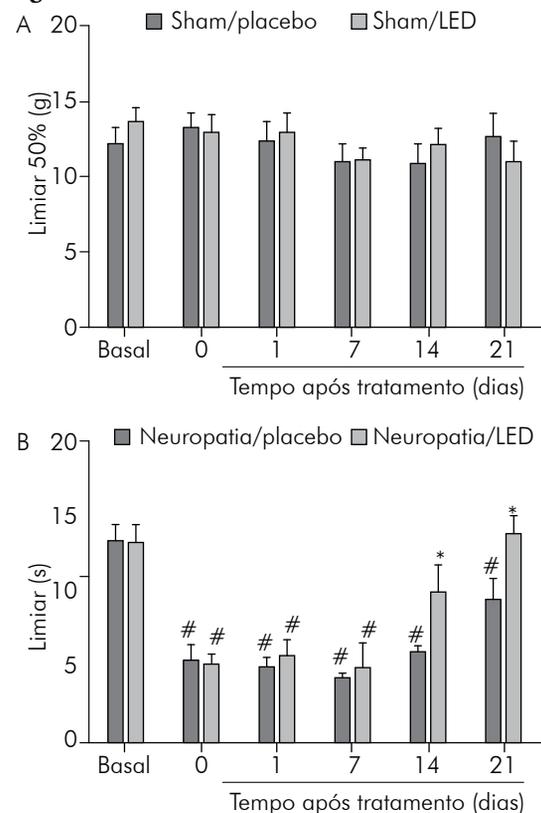
A - Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos B - # Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no tempo 0 e no 1º, 7º e 14º dia em comparação ao basal para  $p < 0,05$ . \*\*\*Diferença significativa entre o grupo Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no 14º dia para um  $p < 0,001$ . Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão da média (DV).

### Alodínia mecânica dinâmica

Os animais neuropáticos (grupos I e II) apresentaram uma redução no tempo de retirada da pata com este estímulo inócuo (pincel) caracterizando a presença de alodínia dinâmica, no tempo 0 e no tempo 1, 7º, 14º e 21º dia, não sendo

observadas diferenças significativas entre os grupos III e IV (Sham). Com referência as respostas terapêuticas com LED, observou-se o aumento do limiar para níveis de pré-operatório (Basal) após 14 e 21 dias de tratamento, relativos à décima quarta e vigésima primeira aplicação (Figura 2).

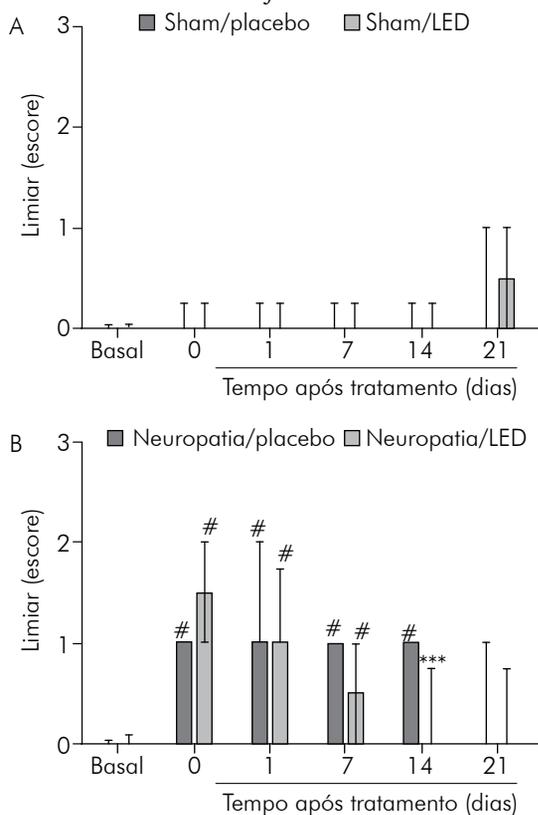
Figura 2 - Alodínia mecânica dinâmica.



A - Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos B - # Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no tempo 1, 7º e 14º e 21º dia em comparação ao basal para  $p < 0,05$ . \*Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no 14º e 21º dia para  $p < 0,05$ . Os dados foram expressos em média  $\pm$  DV.

### Alodínia térmica ao frio

Observou-se que os animais neuropáticos apresentaram um limiar de resposta térmica ao frio (acetona) caracterizando a presença da alodínia térmica ao frio no tempo 0, tempo 1, 7º e 14º dia, não sendo observadas diferenças significativas entre os grupos III e IV (Sham). Com referência as respostas terapêuticas com LED, observou-se uma diminuição do limiar para níveis de pré-operatório (basal) após 14 dias de tratamento, relativos à décima quarta aplicação. (Figura 3).

**Figura 3 - Alodínia térmica ao frio.**

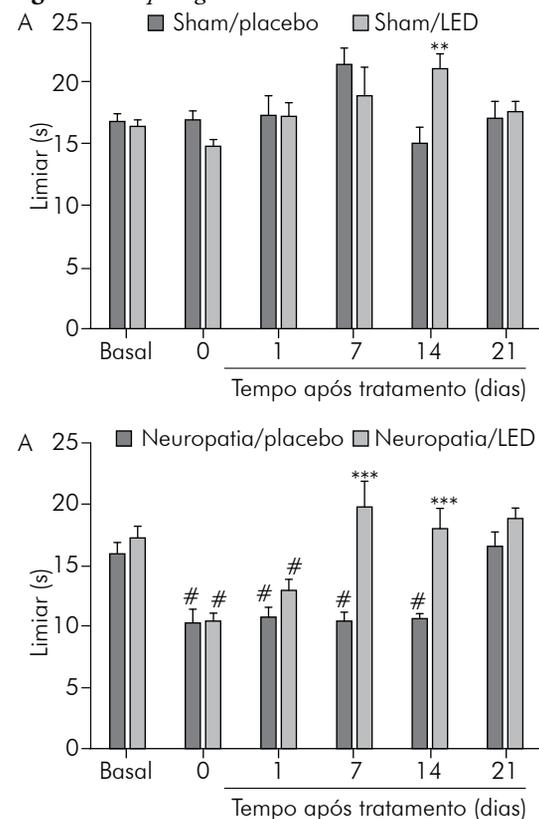
A - Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos

B - # Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no tempo 0 e no 1, 7º e 14º dia  $p < 0,05$ .

\*\*\*Diferença significativa entre o grupo Neuropatia/placebo e o Neuropatia/LED no 14º  $p < 0,001$ . Os dados foram expressos em média  $\pm$  DV.

### Hiperalgisia térmica ao calor

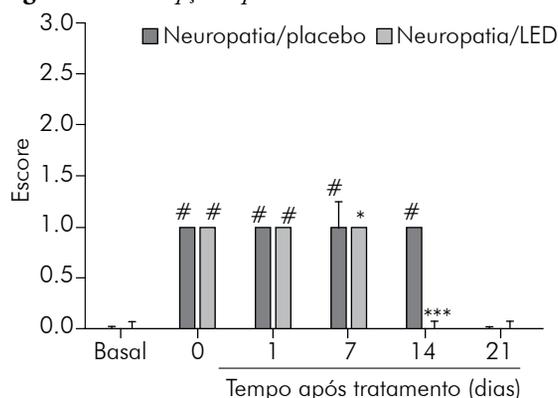
Observou-se que os animais neuropáticos apresentaram uma redução no limiar caracterizando o desenvolvimento de hiperalgisia ao calor com feixe de luz infravermelha emitido por uma lâmpada de 60 W no tempo 0, tempo 1, 7º e 14º dia, não sendo observadas diferenças significativas entre os grupos III e IV (Sham). Com referência as respostas terapêuticas com LED observamos um aumento do limiar para níveis de pré-operatório (Basal) no 14º dia para o grupo Sham tratado com LED e após 7 e 14 dias de tratamento para os animais neuropáticos, relativos à sétima e à décima quarta aplicação (Figura 4).

**Figura 4 - Hiperalgisia térmica ao calor.**

A - \*\*Diferença significativa entre Sham/placebo e Sham/LED no 14º dia para  $p < 0,01$ . B - # Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no tempo 0, 1º, 7º e 14º dia em comparação ao basal para  $p < 0,05$ . \*\*\*Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e Neuropatia/LED no 7º e 14º dia para  $p < 0,001$ . Os dados foram expressos em média  $\pm$  DV.

### Nociceção espontânea

Os animais neuropáticos apresentaram o escore de nociceção espontânea em relação ao comportamento da pata no tempo 0, tempo 1, 7º e 14º dia. Quanto as respostas terapêuticas com LED, observou-se uma diminuição do limiar para níveis de pré-operatório (Basal) após 7 e 14 dias de tratamento, relativos à sétima e décima quarta aplicação (Figura 5). Os animais sham não apresentaram nociceção espontânea em nenhum dos tempos observados (dado não mostrado).

**Figura 5** - *Nociceção espontânea.*

#Diferença significativa entre o grupo Neuropatia/placebo no tempo 0 e no 1°, 7°, 14° dia e para o grupo Neuropatia/LED no tempo 0 e 1 em comparação ao basal para o  $p < 0,05$  \*Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e o Neuropatia/LED no 7° dia.  $p < 0,05$  \*\*\* Diferença significativa entre os grupos Neuropatia/placebo e o Neuropatia/LED no 14° dia  $p < 0,001$ . Os dados foram expressos em média  $\pm$  DV.

## Discussão

A inervação ciática pode ser acometida por várias afecções especialmente o esmagamento, transecção e congelamento, o que acarreta dificuldade nutricional e conseqüente hipoatividade neural [21]. Posteriormente, desencadeia quadros algícos (hiperalgesia, alodínia, hipoestesia), bem como parestesia e parestesia [22]. Dessa forma, modelos experimentais para a compressão do nervo ciático de ratos têm sido usados para avaliar a funcionalidade nervosa e a dor crônica.

Neste estudo, utilizou-se um modelo de compressão do nervo ciático de ratos que reproduz a sintomatologia descrita [19] para avaliar a evolução da dor após terapia de LED com comprimento de onda de 890 nm (espectro infravermelho) com uma potência de 390 mW e densidade de energia de 124,8 J/cm<sup>2</sup>. Os testes empregados foram: análise de alodínia mecânica estática, alodínia mecânica dinâmica, alodínia térmica ao frio, hiperalgesia térmica ao calor e nociceção espontânea. A utilização do equipamento desligado, simulando assim a aplicação do LED, é importante, pois a presença de um grupo placebo é essencial para comprovar os reais efeitos gerados por esse tipo de energia.

A introdução no estudo dos grupos Sham corrobora a ideia de que para o desenvolvimento da síndrome neuropática é necessário que ocorra lesão do nervo [23]. Nesses grupos houve somente o corte da pele com a exposição do nervo sem afetá-lo. O estudo em questão confirma essa prática, pois esses grupos não apresentaram diferenças significativas em relação às alterações analisadas.

Testes de hipersensibilidade a dor, usando filamentos de Von Frey para limiar de retirada mecânica e para latência de retirada térmica (Hargreaves), estão bem estabelecidos e são

medidas quantitativas confiáveis de hipersensibilidade à dor em pequenos animais. A sua utilização, em combinação com modelos de dor neuropática, são difundidas e permite comparações diretas de sensibilidade da pata a estímulos mecânicos e térmicos entre as diferentes estirpes de ratos [24].

A sensibilização ocorre após a ocorrência da inflamação periférica com redução no limiar e do aumento na excitabilidade dos terminais periféricos de nociceptores em resposta a mediadores inflamatórios sensibilizantes [25,26].

A alodínia mecânica responde a vários mecanismos como: sensibilização central de fibras A $\beta$ ; reorganização central e perda das vias inibitórias descendentes. A hiperalgesia (mecânica e térmica) possivelmente é medida por fenômenos de sensibilização periférica e central, com interferência das fibras A $\delta$  e C e de *wind-up* [27].

Os animais do presente estudo com neuropatia ciática constritiva desenvolveram alodínia e hiperalgesia o que corrobora a literatura, a qual cita que a dor neuropática é circundada por um número variado de síndromes de dor, com etiologias variadas. Entretanto, tem em comum a presença de hiperalgesia e alodínia, dor espontânea e parestesia, sugerindo que existem mecanismos fundamentais que são comuns nas diferentes síndromes. Existem relatos que a presença de alodínia é um sintoma de dor neuropática crônica [28].

O uso da terapia luminosa através de LED no espectro infravermelho demonstrou, neste estudo, sua aplicabilidade favorável na reabilitação neural, confirmada através dos testes previamente demonstrados. No caso da alodínia mecânica estática, ficou evidenciada nos animais neuropáticos (grupos I e II), quando apresentaram uma redução no limiar mecânico, o que não ocorreu nos animais Sham. Com referência as respostas terapêuticas com LED, foi observado um aumento do limiar quando comparado com o nível Basal (Figura 1). Hsieh *et al.* [29] investigaram os efeitos de LASER de baixa intensidade no limiar de retirada mecânica da pata e no controle da dor neuropática após constrição do nervo ciático em ratos. Observaram assim que o limiar de retirada mecânica da pata em animais com ICC reduziu significativamente no pós-operatório imediato e no 7° dia de tratamento houve um aumento significativo neste limiar, em comparação com a condição basal (ambos  $p < 0,001$ ). Volkert *et al.* [30] avaliaram em 272 pacientes o efeito da energia monocromática infravermelha (MIRE), combinada com a terapia manual na dor neuropática, diminuição da sensibilidade e déficit de equilíbrio, que no início do estudo estavam presentes em 93% dos pacientes. Foi utilizada a escala analógica visual (VAS) e os monofilamentos de *Semmes Weinstein* antes e após o tratamento em tempos de 30 a 40 minutos por dia. Os resultados preliminares sugerem que a MIRE e a terapia manual produziu melhoria da dor, do equilíbrio e da sensibilidade em pacientes com neuropatia periférica.

Na alodínia mecânica dinâmica, o estudo evidenciou que os animais neuropáticos (grupos I e II) apresentaram uma redução no tempo de retirada da pata, já nos grupos II

e IV (Sham) não foi observado. Com referência as respostas terapêuticas com LED, foi observado um aumento do limiar quando comparado ao nível Basal (Figura 2). Souza [31] avaliou a ação do LASER de baixa potência em 16 pacientes na recuperação dos tecidos neurosensoriais após cirurgias de lateralização do nervo alveolar inferior. Foram realizados dois tipos de avaliações mecânicas, sendo a primeira por toque/pressão através de monofilamentos de nylon com diâmetro de 2,5 mm descrita para alodínia mecânica estática e a segunda avaliação descrita alodínia mecânica dinâmica realizada com pincel nº 6. Essas avaliações foram executadas nas regiões posteriores, médias e anteriores da mucosa gengival, lingual e vestibular, lábio e região externa do mento. Os resultados mostraram melhoria do retorno neurosensorial e redução parestesia.

A presença da alodínia térmica ao frio foi constatada nos animais neuropáticos, não sendo observada entre os grupos III e IV (Sham). Com referência as respostas terapêuticas com LED, notou-se uma diminuição do limiar entre o nível Basal (Figura 3). Kayser e Christensen [32] verificaram que ratos com lesão por constrição unilateral do nervo ciático exibiram claramente sensibilidade anormal para a dor, com diminuição do limiar para a vocalização para estímulo mecânico e redução da latência em resposta ao estímulo térmico pelo frio (a uma temperatura de 10°C). Frost *et al.* [33] citaram em seus estudos que alodínia ao frio é um sintoma característico de dor neuropática, sendo particularmente resistente às intervenções farmacológicas. As respostas terapêuticas com LED evidenciaram resultados satisfatórios no estudo em questão o que remete para novas investigações que possam elucidar a sua ação.

Observou-se que os animais neuropáticos apresentaram uma redução no limiar de resposta térmica caracterizando o desenvolvimento de hiperalgesia ao calor produzido por uma lâmpada de 60 W, não sendo observadas entre os grupos III e IV (Sham). Porém com referência as respostas terapêuticas com LED, observamos aumento do limiar quando comparados ao nível Basal tanto no grupo Sham como nos animais neuropáticos (Figura 4). A aplicação do LASER de baixa potência tem efeito de bioestimulação sobre as fibras neurovasculares e de analgesia nos pontos de hiperalgesia, devendo ser utilizada no trajeto dos feixes com transtornos neurosensoriais [34]. Outro estudo demonstrou o efeito do LASER com 780nm sobre a inibição da hiperalgesia induzida na pata de ratos por injeção de carragenina, quando usaram duas irradiações sobre a região inflamada imediatamente antes e depois da injeção [35]. Um possível mecanismo sobre o aumento do limiar de resposta térmica dos grupos Sham e neuropático poderá ser através da luz monocromática infravermelha, a qual tem como finalidade a liberação do Óxido Nítrico (ON). Este promove o relaxamento dos vasos sanguíneos e consequentemente aumenta a circulação local, o suprimento de nutrientes, a oxigenação e a diminuição da dor. A versão localizada de óxido nítrico melhora a função

dos nervos e também é importante para o crescimento de novos vasos sanguíneos e células da pele necessária para a cicatrização de feridas [36].

Os grupos de animais neuropáticos apresentaram o escore de nociceção espontânea em relação ao comportamento da pata esquerda. Com referência as respostas terapêuticas com LED, observamos uma diminuição do limiar para níveis relativos ao período Basal (Figura 5). O sistema nociceptivo é capaz de sofrer alterações nos mecanismos de percepção e condução dos impulsos, denominados neuroplasticidade a qual pode aumentar a magnitude da percepção da dor e pode contribuir para o desenvolvimento de síndromes dolorosas crônicas [37]. A hipersensibilidade é a principal característica da dor patológica e resulta de alterações denominadas plasticidade do sistema nervoso, é um fenômeno que acontece periféricamente por redução do limiar de ativação dos nociceptores, bem como centralmente, pela responsividade aumentada da medula espinhal aos estímulos sensoriais [38,39]. Reis *et al.* [40] verificaram o efeito do LASER em ratos com ICC quanto à hiperalgesia e nociceção espontânea, durante 12 semanas. Os animais tratados com LASER apresentaram uma diminuição nas alterações quanto ao limiar térmico ao calor e o comportamento de apoiar a pata já na primeira semana de tratamento, já que, na 12ª semana, houve recuperação total dos movimentos. Um dos mecanismos propostos para a melhora do quadro de ICC é que luz de baixa intensidade aplicada sob o nervo parece normalizar a velocidade de transmissão do impulso nervoso que é alterada pelo edema e inflamação. Estudos como de Nicolau [41] expressam a eficácia da radiação LASER em diferentes tecidos biológicos e comprova a existência do seu efeito sobre a transmissão neuromuscular, e que este efeito é fortemente dependente do comprimento de onda e da dose. O efeito do LASER de baixa potência na regeneração neurovascular pode acontecer pela ação direta em diferentes componentes intra e extracelulares, assim como em ação indireta nos tecidos inervados pelas fibras neurovasculares que estão em reparação [42]. Outros estudos também relataram efeitos positivos do LASER de baixa intensidade, especialmente na promoção dos processos de reparação do nervo periférico, aumentando o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e fator de crescimento (NGF) [43,44]. A analgesia pode também ser creditada a diminuição na sensibilização nociceptiva dentro do processo inflamatório, ou mesmo a uma redução dos mediadores inflamatórios, tais como PGE233 [45,46]. Estudos clínicos sobre a síndrome do túnel do carpo também apresentou melhora significativa da dor e condução nervosa em pacientes submetidos ao LASER de baixa intensidade sobre a área do túnel do carpo [47]. Nobel *et al.* [48] realizaram um estudo da condução do nervo mediano em humanos para avaliar os efeitos neurofisiológicos da irradiação na pele que recobre o nervo usando irradiação infravermelha monocromática de diodos (890 nm). Os resultados sugerem que o LED emitido pelo sistema anodyne pode produzir efeitos neurofisiológicos

como o aumento da velocidade de condução do nervo mediano. Harkless *et al.* [49] avaliaram 2239 pacientes com o diagnóstico de neuropatia periférica após o tratamento com o MIRE, sendo que 93% apresentaram perda de sensibilidade e 70% de dor neuropática. Os resultados pós-tratamento mostraram que 66% dos pacientes não apresentavam mais perda de sensibilidade.

De acordo com Hagiwara *et al.* [18], a redução da dor causada pelo LASER de 830 nm pode resultar de efeitos sobre a liberação de opioides endógenos. Tanto no grupo neuropático placebo como no neuropático tratado houve uma diferença significativa da sintomatologia dolorosa antes de iniciar o tratamento, e a diferença persistiu pelo menos até a sétima aplicação do LED. Alterações estas que são fundamentais para a compreensão dos mecanismos da dor neuropática e identificação de novos alvos analgésicos. Quando comparados os grupos placebos e experimental, encontrou-se um aumento do limiar de dor, o que corrobora alguns estudos na obtenção dos efeitos analgésicos [17,50].

## Conclusão

O LED no espectro infravermelho promoveu efeito analgésico em modelos experimentais submetidos à constrição do nervo ciático, observado através dos testes de alodínia mecânica e térmica ao frio, hiperalgesia térmica ao calor e nocicepção espontânea. Os resultados obtidos com nosso estudo sugerem que esse recurso físico pode ser utilizado no tratamento de pacientes com dor neuropática.

## Referências

- Bouhassira D, Lanteri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain* 2008;136:380-7.
- Dieleman JP, Kerklaan J, Huygen FJ, Bouma PA, Sturkenboom MC. Incidence rates and treatment of neuropathic pain conditions in the general population. *Pain* 2008;137:681-8.
- Huang J, Zhang X, McNaughton PA. Inflammatory pain: the cellular basis of heat hyperalgesia. *Curr Neuropharmacol* 2006;4:197-206.
- Bourassira D, Attal N, Fermanian J, Alchaar H, Gautron, Masquelier E, et al. Development and validation of the neuropathic pain symptom inventory. *Pain* 2004; 108(3):248-57.
- Dworkin RH, O'Connor AB, Backonja M, Farrar JT, Finnerup NB et al. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain* 2007;132:237-51
- Fare JC, Nicolau RA. Clinical analysis of the effect of laser photobimodulation (GaAs – 904nm) on temporomandibular joint dysfunction. *Rev Bras Fisioter* 2008;12(1):37-42.
- Shin DH, Lee E, Hyun JK, Lee SJ, Chang YP, Kim JW et al. Growth-associated protein-43 is elevated in the injured rat sciatic nerve after low-power laser irradiation. *Neurosci Lett* 2003;344:71-4.
- Endo C, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Low-power laser therapy accelerates peripheral nerves regeneration. *Acta Ortop Bras* 2008;16(5):305-10.
- Agne JE. Eu sei eletroterapia. Santa Maria: Pallotti; 2009.
- Chow RT, Johson MI, Lopes-Martins RA, Bjodal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet* 2009;374(9705):1897-908.
- Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, Noguchi T. Pre-Irradiation of blood by gallium aluminum arsenide (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Anesth Analg* 2008;107:1058-63.
- Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33:87-107.
- Fernandes KCBG, Polacow MLO, Guirro RRJ, Campos GER, Somazz, MC, Pinto VF, et al. Análise morfométrica dos tecidos muscular e conjuntivo após desnervação e estimulação elétrica de baixa frequência. *Rev Bras Fisioter* 2005;9(2):235-41.
- Loeser JD, Treede RD. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain* 2008;31:473-77.
- Chaplan SR, Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Meth* 1994;53:55-63.
- Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1980;20:441-62.
- Weissman-Fogel I, Dashkovsky A, Rogowski Z, Yarnitsky D. An animal model of chemotherapy-induced vagal neuropathy. *Muscle Nerve* 2008;38:1634-37.
- Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kom SH. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 1994;59:369-76.
- Hargreaves KM, Troullos ES, Dionne RA, Schmidt EA, Schafer SC, Joris JL. Bradykinin is increased during acute and chronic inflammation: therapeutic implications *Clin Pharmacol Ther* 1988;44:613-21.
- Butler SH, Godefroy F, Besson JM, Weil-Fugazza J. A limited arthritic model for chronic pain studies in the rat. *Pain* 1992;48:73-81.
- Cox JM. Dor lombar: mecanismo, diagnóstico e tratamento. São Paulo: Manole; 2002.
- Bennett GJ. An animal model of neuropathic pain: a review. *Muscle Nerve* 1993;16:1040-8.
- Deleo JA. Basic science of pain. *J Bone Joint Surg* 2006;88:58-62.
- Bennett GJ, Chung JM, Honore M, Seltzer Z. Models of neuropathic pain in the rat. *Curr Protoc Pharmacol* 2003;9(9)14.
- Pisera D. Fisiologia da dor. In: Dor avaliação e tratamento em pequenos animais. Otero PE. São Paulo: Interbook; 2005. p. 30-74.
- Schaible HG. Pathophysiology of pain. *Orthopade* 2006;36(1):8-16.
- Dworkin RH, Backonja M, Rowbotham MC, Allen RR, Argoff CR et al. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. *Arch Neurol* 2003;60:1524-34.
- Woolf CJ, Ma Q. Nociceptors-noxious stimulus detectors. *Neuron* 2007;55:353-64.
- Yueh-Ling H, Li-Wei C, Pei-Lin C, Chen-Chia Y, Mu-Jung K, Chang-Zern H. Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury—possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). *J Comp Neurol* 2012;520(13):2903-16.

30. Volkert W, Hassan A, Hassan MA, Smock VL, Connor JP, Mcfee B, et al. Effectiveness of monochromatic infrared photo energy and physical therapy for peripheral neuropathy: Changes in sensation, pain, and balance – A preliminary, multi-center study. *Phys Occup Ther Geriatr* 2006;24(2).
31. Souza AMA. O uso do laser de baixa potência na recuperação neurossensorial de pacientes submetidos à cirurgia de lateralização do nervo alveolar inferior [Dissertação]. IPEN: São Paulo; 2009. 89p.
32. Kayser V, Christensen D. Antinociceptive effect of systemic gabapentin in mononeuropathic rats depends on stimulus characteristics and level of test integration. *Pain* 2000;88:53-60.
33. Frost SA, Raja SN, Campbell JN. Does hyperalgesia to cooling stimuli characterize patients with sympathetically maintained pain (reflex sympathetic dystrophy)? In: Dubner R, Gebhart GF, Bond MR. *Pain Research and Clinical Management*. Amsterdam: Elsevier; 1988:151-6.
34. Genovese WJ. *Laser de baixa intensidade - Aplicações terapêuticas em odontologia*. São Paulo: Lovise; 2000.
35. Honmura A, Ishii A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin-induced inflammation. *Lasers Surg Med* 1993;13(4):463-9.
36. Yeh NG, WU C, Cheng TC. Light-emitting diodes - their potential in biomedical applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2010;14:2161-6.
37. Petersen-Felix S, Curatolo M. Neuroplasticity – an important factor in acute and chronic pain. *Swiss Medical Weekly* 2002;132(21-22):273-8.
38. Tranquilli WJ. Fisiologia da dor aguda. In: GREENE, S. A. *Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor*. Porto Alegre: Artmed; 2004. p. 399-402.
39. Schaible HG. Pathophysiology of pain. *Orthopade* 2006;36(1):8-16.
40. Reis LM, Lopes JAM, Brisola ML, Santos MM, Bittencourt JC, Vasconcelos LAP. The influence of asalga laser on the neuropathic pain-like syndrome in rats submitted to a peripheral nerve constrictive lesion. *Revista Dor* 2007;8(2):1000-9.
41. Nicolau RA. Efeito do laser de baixa potência em diferentes biosistemas [Tese]. São José dos Campos: Univap; 2004.
42. Pogrel MA, Thamy S. Permanent nerve involvement resulting from inferior alveolar nerve blocks. *Jada* 2000;131:901-7.
43. Rochkind S, Geuna S, Shainberg A. Phototherapy in peripheral nerve injury: effects on muscle preservation and nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol* 2009;87:445-64.
44. Gigo-Benato D, Russo TL, Tanaka EH, Assis L, Salvini TF, Parizotto NA. Effects of 660 and 780 nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med* 2010;42:673-82.
45. Ferreira DM, Zângaro RA, Villaverde AB, Cury Y, Frigo L, Pico G. Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. *Photomed Laser Surg* 2005;23:177-81.
46. Mizutani K, Musya Y, Wakae K, Kobayashi T, Tobe M, Taira K, Harada T. A clinical study on serum prostaglandin E2 with low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg* 2004;22:537-9.
47. Ekim A, Armagan O, Tascioglu F, Oner C, Colak M. Effect of low level laser therapy in rheumatoid arthritis patients with carpal tunnel syndrome. *Swiss Med Wkly* 2007;137:347-52.
48. Noble J, Gareth LAS, Baxter GD. Monochromatic infrared irradiation (890 nm): effect of a multisource array upon conduction in the human median nerve. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19(6):291-5.
49. Harkless LB, DeLellis S, Carnegie DH, Burke TJ. Improved foot sensitivity and pain reduction in patients with peripheral neuropathy after treatment with monochromatic infrared photo energy - MIRE. *J Diabetes Complications* 2006;20(2):81-7.
50. Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Joensen J, Couppe C, Ljunggren AE, Stergioulos A. A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). *BMC Musculoskelet Disord* 2008;29:9-75.