

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA**

ANA LAURA MARTINS DE ANDRADE

**EFEITO DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE
(808nm) NO CONTROLE DA DOR NEUROPÁTICA EM
CAMUNDONGOS**

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto

SÃO CARLOS-SP

2016

ANA LAURA MARTINS DE ANDRADE

**EFEITO DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE
(808nm) NO CONTROLE DA DOR NEUROPÁTICA EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fisioterapia.

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto

SÃO CARLOS-SP

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A553e Andrade, Ana Laura Martins de
Efeito da terapia laser de baixa intensidade
(808nm) no controle da dor neuropática em
camundongos / Ana Laura Martins de Andrade. -- São
Carlos : UFSCar, 2016.
88 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2016.

1. Dor. 2. Terapia laser de baixa intensidade. 3.
Constricção crônica do nervo ciático. I. Título.




UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS


Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia

Folha de Aprovação

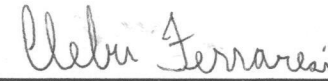
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Ana Laura Martins de Andrade, realizada em 26/02/2016:



Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto
UFSCar



Prof. Dr. Richard Eloin Liebano
UFSCar



Prof. Dr. Cleber Ferraresi
HMS

*Dedico esse trabalho aos meus queridos pais, **Arioswaldo e Juçara** por todo o incentivo e por caminharem sempre junto a mim.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço imensamente o Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizzoto por toda atenção, e por me abrir as portas da ciência, sempre com sua calma e sutileza, deixando em cada palavra um grande ensinamento. Uma pessoa extremamente admirável, sendo uma grande fonte de inspiração pessoal e profissional. Agradeço pela confiança depositada, pelos conhecimentos compartilhados e principalmente pela paciência, compreensão, incentivo e amizade.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me guiar e dar forças em todos os momentos desta jornada.

Aos meu pais Arioswaldo Rizzo de Andrade e Juçara Maria Martins de Andrade, por sempre me apoiarem e incentivarem, proporcionando sempre muito carinho e atenção em todos os momentos.

Aos meus irmãos Rita de Cássia Martins de Andrade Maquiaveli e Arioswaldo Martins de Andrade, por sempre se fazerem presentes em todos os momentos e serem além de meus irmão meus melhores amigos.

Ao Prof. Dr. Paulo Sérgio Bossini, por dispor sempre toda atenção a este trabalho, me aconselhando e auxiliando em cada etapa. Obrigada pela amizade e incentivo constante.

A Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza pela grande contribuição a este projeto e pela disponibilidade de seu laboratório.

A técnica Lara do Laboratório de Psicologia da Aprendizagem, UFSCAR, pela grande ajuda nas avaliações nociceptivas.

Aos membros da banca de qualificação e defesa pela disponibilidade e sugestões que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho

As minhas grandes amigas Larissa Nascimento, Julia Parisi e Iara Soares, que nesses dois anos me mostraram que a amizade vai além dos dias de pesquisas. Obrigada por me ouvirem e aconselharem tanto nestes anos.

Aos amigos do Laboratório de Recursos Fisioterapêuticos da UFSCAR, em especial a Daiana Orth, que contribuíram não só para a execução deste projeto como para meu crescimento acadêmico.

Ao Gustavo Moreira Ramos, que me acompanhou em cada dificuldade e alegria desta jornada, sempre me trazendo calma e tranquilidade.

À aluna de iniciação científica Ariane Dutra Sanchez pela dedicação em nosso trabalho.

Aos meus familiares, em especial a Katia Fagioli, Wladimir Fagioli, Luis Filipe de Fagioli, Luis Gustavo Fagioli, João Bosco Fagioli, Andreia Duarte e Filipe Maquiaveli, por sempre me apoiarem e torcerem pelas minhas conquistas.

Enfim, a todos que contribuíram para cada etapa desta jornada.

Muito Obrigada!

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

RESUMO

A dor, segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), pode ser definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável que está associada com lesões reais ou potenciais ou descrita em termos de tais lesões”. Lesões do sistema nervoso central ou periférico podem levar a um tipo especial de dor, denominado dor neuropática. Os métodos utilizados para o tratamento da dor por lesões neuropáticas incluem medicamentos, fisioterapia, psicoterapia e procedimentos anestésicos e neurocirúrgicos. Dentre os recursos utilizados pelos fisioterapeutas a terapia laser de baixa intensidade (LLLT) vem apresentando bons resultados no controle da dor neuropática. Devido a poucos estudos e dados controversos sobre a dosimetria do laser em dor neuropática julga-se de grande importância a investigação no estabelecimento de parâmetros adequados para a aplicação deste recurso terapêutico. Foram utilizados 50 camundongos da cepa Suíço-albino, machos, pesando 25-30 gramas. O modelo experimental de neuropatia utilizado foi através da lesão parcial do nervo ciático através da cirurgia de constrição crônica do nervo ciático (CCI). Os animais foram distribuídos de forma aleatória em 5 grupos: grupo sham (GS): simulação da cirurgia de constrição crônica do nervo isquiático (CCI); grupo controle (GC): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação do laser desligado; grupo terapia laser 10 J/cm² (GL10): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação da LLLT (808 nm), com fluência de 10J/cm²; Grupo terapia laser 20 J/cm² (GL20): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação da LLLT (808nm), com fluência de 20J/cm²; grupo terapia laser 40 J/cm² (GL40): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação da LLLT (808nm), com fluência de 40J/cm². O tratamento da dor foi realizado através da LLLT 3 vezes por semana, em dias alternados, em um período de noventa dias com diferentes dosimetrias (10J/cm², 20J/cm², 40J/cm²). Para as avaliações nociceptivas foram utilizados o Teste de

Placa Quente para hiperalgesia ao térmica e para hiperalgesia mecânica o teste de Randall e Selitto. Foi utilizado o ensaio ELISA para quantificação de β -endorfina. Os resultados demonstraram que a LLLT induziu um aumento significativo no limiar nociceptivo principalmente nos grupos que utilizaram a LLLT com maiores fluências (20 J/cm², 40 J/cm²), além de demonstrar um aumento nos níveis de β -endorfina nos mesmos grupos. Assim podemos concluir que a LLLT reduz significativamente a dor neuropática, sendo um dos mecanismo a estimulação de β -endorfina.

Palavras-chave: dor; terapia laser de baixa intensidade; constrição crônica do nervo ciático.

ABSTRACT

Pain, according to the International Association for the Study of Pain (IASP) can be defined as "an unpleasant sensory and emotional experience that is associated with actual or potential damage or described in terms of such damage". Lesions of the central or peripheral nervous system can lead to a special type of pain, called neuropathic pain. The methods used for the treatment of neuropathic pain injuries include medications, physical therapy, psychotherapy and anesthetics and neurosurgical procedures. Among the resources used by physiotherapists to low intensity laser therapy (LLLT) has been showing good results in controlling neuropathic pain. Because few studies and controversial data on the laser dosimetry in neuropathic pain judges is of great importance to research in establishing appropriate parameters for the application of this therapeutic resource. 50 mice of Swiss-albino strain were used, males weighing 25-30 grams. The experimental model of neuropathy was used by the partial sciatic nerve injury by chronic constriction surgery sciatic nerve (CCI). The animals were divided randomly into 5 groups: sham (GS) Group: Simulation of chronic constriction surgery sciatic nerve (CCI); control group (CG): induction of neuropathy by CCI surgery with application of laser off; laser therapy group 10 J / cm² (GL10): induction of neuropathy by CCI surgery with application of LLLT (808 nm), with fluency of 10 J / cm²; Laser therapy group 20 J / cm² (GL20): induction of neuropathy by CCI surgery with application of LLLT (808nm), with fluency of 20J / cm²; gupo laser therapy 40 J / cm² (GL40): induction of neuropathy by CCI surgery with application of LLLT (808nm), with fluency of 40J / cm². Pain treatment was performed by LLLT 3 times a week, every other day, in a ninety days period with different dosimetry (10 J / cm², 20 J / cm², 40J / cm). For nociceptive evaluations were used the Hot Plate Test for the thermal hyperalgesia and mechanical hyperalgesia and the Ralndall Selitto test. ELISA assay was used to quantify β -endorphin. The results showed that LLLT induced a significant increase in nociceptive

threshold mainly in the groups using LLLT with higher fluence (20 J / cm², 40 J / cm²), and demonstrate an increase in β -endorphin levels in the same groups. Thus we can conclude that LLLT significantly reduces neuropathic pain, being a mechanism of stimulation of β -endorphin.

Keyword: pain; Low-intensity laser therapy; chronic constriction of the sciatic nerve.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	= Análise de Variância
AsGa	= Arseneto de Gálio
AsALGa	= Arseneto Gálio Alumínio
AlGaInP	= Alumínio, gálio, índio e fósforo
cm	= Centímetro
cm ²	= Centímetro Quadrado
CCI	= Constrição crônica do nervo ciático
ELISA	= <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPM	= Erro padrão da média
EUA	= Estados Unidos da América
g	= gramas
GS	= Grupo Sham
GC	= Grupo Controle
G1	= Grupo terapia laser 10J/cm ²
G2	= Grupo terapia laser 20J/cm ²
G3	= Grupo terapia laser 40J/cm ²
h	= horas

HeNe	= Hélio Neônio
IASP	= Associação Internacional de Estudos da Dor
LLLT	= Terapia Laser de Baixa Intensidade
J	= Joule
J/cm ²	= Joule por centímetro quadrado
Mg/Kg	= miligrama por kilograma de massa corporal
mW	= MilliWatts
μl	= microlitro
n°	= número
nm	= nanômetro
s	= segundos
SNC	= Sistema Nervoso Central
Ufscar	= Universidade Federal de São Carlos
rpm	= Rotações por minuto
W	= Wattis
%	= Porcentagem
°C	= Graus Celsius
±	= Mais ou Menos
≥	= maior ou igual

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fibras sensoriais aferentes primárias. Forma ilustrativa das fibras sensoriais e os diferentes tipos de estímulos conduzidos. Fibras A α e A β , detecção de estímulos não nocivos, caracterizadas por possuírem maior diâmetro e grande quantidade de mielina, conseqüentemente a velocidade de condução aos estímulos é mais rápida que os demais tipos de fibras. Fibras A δ e C, detecção de estímulos nocivos, A δ possuem maior diâmetro e maior quantidade de mielina que as Fibras C, portanto sua velocidade de condução é maior.....20
- Figura 2:** Realização do procedimento cirúrgico de constrição crônica do nevo isquiático. A: tricotomia da região glútea e pata esquerda; B: Exposição do nervo isquiático; C: Colocação das quatro ligaduras com fio mononylon 5.0; D: Sutura do musculo e pele.....32
- Figura 3:** Hot Plate (*Insight*®). Equipamento utilizado para avaliação da hiperalgesia térmica.....35
- Figura 4:** *Randall-Selitto tes* (*Insight*®). Instrumento utilizado para as avaliações de hiperalgesia mecânica, através do limiar de retirada da pata em gramas.....36
- Figura 5:** Sequências dos procedimentos experimentais. As avaliações nociceptivas foram realizadas através das avaliações de hiperalgesia térmica e mecânica utilizando os testes de Placa Quente e Randall e Selitto respectivamente.....37
- Figura 6:** A: Multiskan FC, Thermo Scientific®, equipamento utilizado para a leitura do teste ELISA; B: Wellwach AC, Thermo Scientific , equipamento utilizado para a lavagem da placa do teste de ELISA.....38
- Figura 7:** Diagrama de fluxo das diferentes fases da revisão sistemática recomendado pelo PRISMA³²44
- Figura 8:** Avaliação de hiperalgesia térmica. Limiar de retirada da pata, mensurado em segundos (seg), dos grupos GC, GL10, GL20, GL40 durante o teste de Placa Quente nos

períodos pré-cirúrgico (Pré-Ci), 48 horas após a cirurgia de CCI (48h Pós-Ci) e durante os 90 dias de tratamento em que as avaliações ocorriam a cada 15 dias. * diferença estatística significativa quando comparadas com o período pré-cirúrgico.....64

Figura 9: Avaliação de hiperalgesia mecânica; Limiar de retirada da pata, mensurado em gramas(g), dos grupos GC, GL10, GL20 e GL40, realizado pelo teste de pressão de Randall e Selitto nos períodos pré-cirúrgico (Pré-Ci), 48 horas após a cirurgia de CCI (48h Pós-Ci) e durante os 90 dias de tratamento em que as avaliações ocorriam a cada 15 dias. * diferença estatística significativa quando comparadas com o período pré cirúrgico.....65

Figura 10: Limiar de retirada da pata, mensurado em segundos (seg) pelo teste de placa quente e mensurado em gramas(g) pelo teste de Randall e Selitto do grupo sham nos períodos pré-cirúrgico (Pré-Ci), 48 horas após a cirurgia de CCI (48h Pós-Ci) e durante os 90 dias de tratamento em que as avaliações ocorriam a cada 15 dias.....66

Figura 11: Avaliação de hiperalgesia térmica e mecânica nos momentos pré e pós cirúrgico para todos os grupos avaliados. #: diferença estatisticamente significativa do GS com os demais grupos.....67

Figura 12: Absorbância(pg/ml) de β -endorfina encontrada através da análise de ELISA. * Diferença estatisticamente significativa do GL20 com o GC.....67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comprimento de onda, regime, feixe e potência de pico dos LBP.....	27
Tabela 2: Descrição detalhada dos parâmetros utilizados na LLLT durante o tratamento.....	33
Tabela 3: Relação de artigos selecionados com as respectivas descrições dos tipos de lasers, parâmetros, protocolos de aplicações dos e a eficácia do tratamento com a LLLT.....	46
Tabela 4: Média e mediana da potência, fluência, energia por ponto e energia total dos estudos experimentais analisados.....	48
Tabela 5: LLLT na dor neuropática: características dos ensaios clínicos e efeitos no período de 2 semanas.....	49

SUMÁRIO

PARTE I	17
1. REVISÃO DA LITERATURA/CONTEXTUALIZAÇÃO	Erro! Indicador não definido.
1.1 Dor – Considerações gerais	18
1.2 Dor Neuropática	21
1.3 Modelo Experimental de Dor Neuropática	23
1.4 Tratamentos	25
1.4.1 Terapia Laser de Baixa Intensidade	25
2. OBJETIVOS	30
2.1 Objetivo Geral	30
2.2 Objetivos Específicos	30
3. METODOLOGIA	30
3.1 Protocolo Experimental	30
3.2 Animais	31
3.3 Modelo experimental de dor neuropática	31
3.4 Delineamento do Estudo	32
3.5 Aplicação do Laser	33
3.6 Avaliações Nociceptiva	34
3.6.1 Hiperalgisia Térmica	34
3.6.2 Hiperalgisia Mecânica	35
3.7 Eutanásia	36

3.8	Análise sanguínea de beta-Endorfina	37
3.9	Análise estatística	38
PARTE II		39
4.	ESTUDO 1	40
4.1	Resumo:	40
4.2	Introdução	41
4.3	Materiais e Métodos	43
4.4	Resultados	44
4.5	Discussão	49
4.6	Conclusão	53
4.7	Referências	54
5.	ESTUDO II	58
5.1	Resumo	58
5.2	Introdução	59
5.3	Materiais e Métodos	60
5.3.1	Indução da Neuropatia	61
5.3.2	Terapia Laser de Baixa Intensidade	62
5.3.3	Avaliações Nociceptiva	62
5.3.3.1	Hiperalgisia Térmica	63
5.3.3.2	Hiperalgisia Mecânica	63

5.3.4	Análise de Beta-endorfina	63
5.3.5	Análise estatística	64
5.4	Resultados	64
5.5	Discussão	69
5.6	Conclusão	72
5.7	Referências	73
PARTE III		77
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	78
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
ANEXOS		85
ANEXO A		
ANEXO B		

PARTE I

1. REVISÃO DA LITERATURA/CONTEXTUALIZAÇÃO

2. OBJETIVOS

3. MATERIAIS E MÉTODO

1. REVISÃO DA LITERATURA/CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 Dor – Considerações gerais

A ciência descreve a dor como uma reação evolutiva cuja principal função é a comunicação de danos estruturais ou funcionais do corpo através de informações concernentes à localização e à intensidade dos estímulos nocivos e potencialmente lesivos, de forma que alguma reação de defesa ou de fuga possa ser tomada, evitando danos maiores e preservando a integridade do indivíduo (MILLAN, 1999).

A dor pode ser considerada uma experiência subjetiva complexa, que não envolve apenas a transdução de um estímulo nocivo ambiental, mas também o processamento cognitivo e emocional pelo encéfalo (JULIUS e BASBAUM, 2001). Assim, a dor foi conceituada, em 1984, pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência sensorial e emocional desagradável que está associada com lesões reais ou potenciais ou descrita em termos de tais lesões (MERSKEY e BOGDUK, 1994).

A transmissão da informação nociceptiva é de responsabilidade de neurônios que possuem, na periferia, terminações não mielinizadas (nociceptores) responsáveis pela detecção dos estímulos nocivos. Os nociceptores, estão amplamente distribuídos na pele, músculos, articulações e vísceras, esses desempenham participação em diversos segmentos da dor, como na transdução do estímulo nocivo, na condução do potencial de ação, encontrado na periferia, para o córtex e na transmissão da informação para o Sistema Nervoso Central (SNC) (WOOLF e COSTIGAN, 1999; JULIUS e BASBAUM, 2001).

A dor no processo inflamatório pode acontecer por duas maneiras, espontaneamente e/ou ainda por fenômenos de sensibilização, caracterizados tanto pela resposta exacerbada a

estímulos nocivos (hiperalgesia), como também pela presença de dor em resposta a estímulos não nocivos (alodinia) (BESSION, 1999; URBAN, 2011).

De acordo com a IASP em 1994, hiperalgesia é uma resposta aumentada a um estímulo que normalmente é doloroso, enquanto alodinia é uma resposta dolorosa a uma estimulação normalmente inócua. A hipernocicepção é o resultado da excitabilidade de neurônios localizados na coluna posterior da medula espinal e a ação de mediadores químicos sob os nociceptores no processo inflamatório (MILLAN, 1999; URBAN e GEBHART, 1999).

A nocicepção é de responsabilidade de fibras nervosas do tipo aferentes primárias, as quais possuem pequeno diâmetro, sendo denominadas fibras C e A δ . As fibras do tipo C, também chamadas de fibras do grupo IV, são caracterizadas por não serem mielinizadas, possuem velocidade de condução baixa (<1 m/s), apresentam resposta a estímulos térmicos, mecânicos ou químicos, e por serem responsáveis pela dor de longa duração. As fibras A δ possuem como características velocidade de condução de 5-30 m/s, apresentam pouca mielina, são chamadas de fibras do grupo III e respondem a estímulos térmicos, sendo responsáveis pela dor de curta duração, aguda e lancinante, sentida após uma estimulação nociva mecânica (JULIUS e BASBAUM, 2001; BASBAUM et al., 2009).

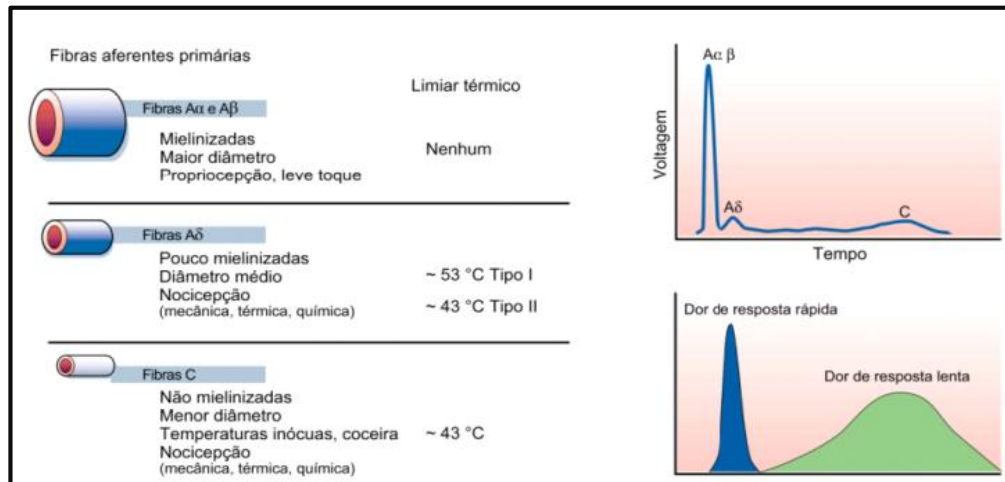


Figura 1: Fibras sensoriais aferentes primárias

Forma ilustrativa das fibras sensoriais e os diferentes tipos de estímulos conduzidos. Fibras Aα e Aβ, detecção de estímulos não nocivos, caracterizadas por possuírem maior diâmetro e grande quantidade de mielina, conseqüentemente a velocidade de condução aos estímulos é mais rápida que os demais tipos de fibras. Fibras Aδ e C, detecção de estímulos nocivos, Aδ possuem maior diâmetro e maior quantidade de mielina que as Fibras C, portanto sua velocidade de condução é maior.

Fonte: Julius, Basbaum, 2001

A transmissão da informação dolorosa das regiões periféricas para o SNC é realizada através das vias neuronais aferentes, conduzidas pelas fibras aferentes primárias de pequeno diâmetro (fibras C e Aδ). Essas fibras formam conexões diretas ou indiretas com uma das três populações de neurônios do corno dorsal da medula: a) interneurônios, subdivididos em excitatórios e inibitórios; b) neurônios proprioespinhais que se estendem por múltiplos segmentos espinhais e estão envolvidos com a atividade reflexa; c) neurônios de projeção (JESSELL e KELLEY, 1991; BASBAUM e JESSEL, 2000). Os neurônios de projeção levam a informação nociceptiva, por diferentes vias ascendentes, para estruturas do tronco encefálico e diencefalo. Dentre as principais vias ascendentes estão os tratos espinomesencefálico, espinoreticular e espinotalâmico (JESSELL e

KELLEY, 1991; PISERA, 2005). A via espinotalâmica transmite informações da medula espinal para o tálamo sobre dor, temperatura, pressão e tato. Cursa lateralmente no tronco encefálico, envia projeções ao núcleo do tálamo projetando-se para o córtex somatosensorial. No tálamo ocorre a recepção, integração e transferência do potencial nociceptivo para o córtex cerebral, onde a informação pode ser somatotopicamente organizada (CRAIG e ROLLMAN, 1999). Nesse processo originam-se qualidades mais precisas, como tipo de dor, localização e ansiedade emocional. Dessa maneira, a informação nociceptiva alcança as áreas sensoriais do córtex somestésico, onde aspectos como qualidade, intensidade, localização e duração do estímulo nociceptivo foram integrados e componentes afetivos e emocionais foram interpretados e contextualizados, levando à percepção total do estímulo nociceptivo (RUSSO e BROSE, 1998; MILLAN, 1999).

1.2 Dor Neuropática

Lesões do sistema nervoso central ou periférico podem levar a um tipo especial de dor, na ausência de nocicepção, denominado dor neuropática (DICKENSON e SUZUKI, 2005).

Enquanto a dor fisiológica ou por nocicepção é fundamental para a preservação da integridade do indivíduo, porque alerta para a ocorrência de lesões nos diversos tecidos corporais, a dor neuropática é mal-adaptativa, não tem valor biológico e é uma importante causa de incapacidade permanente, principalmente quando cronicada (BENBOUZID et al., 2007).

Atualmente, a dor neuropática, segundo a IASP, pode ser definida como a dor iniciada ou causada por uma lesão ou disfunção primária do sistema nervoso, podendo decorrer de lesão do nervo periférico (amputações, desaferentações), infecções (neuralgia pós-herpética),

compressão do nervo (acidentes, cirurgias, tumores), infarto, distúrbios metabólicos (neuralgia diabética) ou ser idiopática (BACKONJA, 2002). A dor neuropática é classificada de acordo com sua causa intrínseca ou pela localização da lesão nervosa - central ou periférica (CHONG e BAJWA, 2003). Esse tipo de dor possui uma grande complexidade com relação aos mecanismos biológicos que se encontram pouco esclarecidos.

Em condições normais, as propriedades funcionais dos axônios e das unidades centrais precisam estar íntegras para que o processamento da informação sensitiva ocorra de modo adequado. Em indivíduos com neuropatias periféricas ou centrais há modificações anatômicas, eletrofisiológicas e neuroquímicas significativas das vias nervosas periféricas e dos núcleos e tratos implicados no processamento sensitivo, gerando alterações permanentes que resultam em dor espontânea ou gerada por estímulos não nocivos (alodinia) e resposta exacerbada aos estímulos nocivos (hiperalgesia) (UEDA, 2006).

Esse tipo de dor persiste mesmo após a retirada do estímulo causador, em especial nos casos crônicos, apontando alterações na transmissão da informação pelos neurônios (THACKER, 2007). A dor neuropática apresenta ainda, além do sofrimento físico, morbidades como depressão, ansiedade, falta de motivação e prejuízos nas atividades laborativas e sociais (MACHELSKA, 2011), pois ela promove a ativação de regiões encefálicas importantes nas reações afetivas à dor, como a área parabraquial, núcleo central da amígdala, substância cinzenta periaquedutal e áreas do córtex cerebral relacionadas às emoções (HUNT e BESTER, 2005).

A fisiopatologia da dor neuropática tem sido relacionada a mecanismos neuronais de plasticidade sináptica na medula espinhal e regiões corticais, bem como à participação de células da glia, como astrócitos e microglíocitos (ZHUO *et al.*, 2011; CHIANG, 2012).

Na dor neuropática, diversas são as alterações neuronais que ocorrem, caracterizando assim esse tipo de dor, como a geração de impulsos ectópicos, brotamento de fibras nervosas

degeneradas em locais não usuais, brotamento de fibras do sistema nervoso periférico simpático, a diminuição ou perda dos neurônios inibitórios, o aumento da atividade facilitadora descendente e a diminuição da atividade inibitória descendente da transmissão dolorosa (LEONARD et al., 2009). É importante ressaltar que além dessas alterações, a dor neuropática é responsável por modificar a síntese de neurotransmissores e a expressão e sinalização de receptores e canais iônicos (especialmente os canais de sódio), consequentemente levando a um aumento na sensibilização periférica e central, ocasionando a diminuição do limiar doloroso e aumento da resposta aos estímulos centrais e periféricos (MACHELSKA, 2011).

Na prática clínica, a dor neuropática é considerada de difícil tratamento, pois a fisiopatologia e os mecanismos que envolvem esse tipo de dor não estão totalmente esclarecidos (OSSIPOV, 1999; KOLTZENBURG, 2005), além de se tratar de uma experiência multidimensional, que integra funcionalmente estruturas do sistema límbico e cortical, para iniciar a percepção da dor e as respostas a esta injúria (HUNT e MANTYH, 2001).

1.3 Modelo Experimental de Dor Neuropática

Na tentativa de se obter um maior entendimento sobre a síndrome neuropática humana, uma grande variedade de modelos experimentais tem sido desenvolvida. A grande maioria dos modelos animais de dor neuropática foi gerada a partir do final dos anos 1980, utilizando ratos como principal espécie. Porém, recentemente modelos de dor originalmente desenvolvidos em ratos foram transpostos para uso em camundongos (COLLEONI, 2009).

Alterações morfológicas e eletrofisiológicas decorrentes das neuropatias periféricas geralmente são investigadas através de ligações, constrictões ou secções de nervos periféricos

em roedores (ratos e camundongos) (KOLTZENBURG, 2005), enquanto que as alterações decorrentes de danos no SNC são estudadas através do uso de modelos animais de trauma, isquemia ou lesão tóxica das estruturas do sistema nervoso supra-segmentar (WIESENFELD-HALLIN ET AL., 1997) ou medula espinhal (YEZIERSKI, 1996).

Dentre esses modelos experimentais podemos destacar a transecção parcial ou total do nervo, constrição do nervo isquiático, inflamação perineural e diabetes experimental. (BENNETT e XIE, 1988; SELTZER et al., 1990; ALEY et al., 1996). Em animais com neuropatia, alguns parâmetros fisiológicos e comportamentais como alterações do comportamento exploratório, autolimpeza, interação social, perda de peso, autotomia (morder diretamente o tecido desnervado), flexão espontânea do membro lesado ou mudanças no comportamento geral são utilizados para aferir a sensibilidade dolorosa anormal dos animais (KAUPPILA, 1998; LIU et al., 2000; COLLEONI, 2009).

Dentre os modelos citados anteriormente, o método de constrição crônica do nervo isquiático (CCI) vem sendo amplamente investigado devido à sua alta confiabilidade, por ser facilmente reproduzido e por apresentar o desenvolvimento de hiperalgias térmica e mecânica e alodinia, sendo esses sintomas semelhantes aos que ocorrem em humanos portadores de neuropatias (KIM, 1997; BENNETT, 1988; REIS, 2007; COLLEONI, 2009).

O modelo de dor neuropática em que é realizada a lesão parcial do nervo isquiático pela constrição crônica em ratos foi descrita inicialmente por Bennett e Xie em 1988, sendo caracterizada como um dos modelos mais frequentemente utilizados como material experimental na investigação sobre dor neuropática, (SOMERS e CLEMENTE, 1998; SOMERS e CLEMENTE, 2006; SERAFIM et al., 2012) em que o animal apresenta sinais de dor espontânea e hiperalgesia térmica e mecânica 24 horas após a lesão, permanecendo por cerca de 4 meses (BENNETT e XIE, 1988; REIS, 2011). Em 1997, Sommer e Schäfers

(1998) realizaram um estudo no qual foi descrito o mesmo modelo de dor neuropática com a utilização de camundongos.

1.3 Tratamentos

Um dos métodos mais utilizados para o tratamento da dor são os fármacos, porém sabe-se que as indústrias farmacêuticas têm como principal fármaco para o tratamento da dor a utilização de analgésicos, sendo que esses têm demonstrado somente 30% de efetividade em pacientes com dores neuropáticas (RICHEIMER, 1997; FINNERUP, 2001; SCHESTATSKY, 2008). Uma outra alternativa medicamentosa utilizada para diminuição da dor, em especial a neuropática, é o uso de antidepressivos e anticonvulsivos, devido à ação nos canais iônicos, entretanto, muitas são as contraindicações e os efeitos colaterais, além de existir diferentes tipos destes medicamentos, sendo muitos deles ineficazes para alguns indivíduos (RICHEIMER, 1997; FINNERUP, 2001; BACKONJA, 2002). Assim, diversos pesquisadores vêm buscando formas alternativas à farmacológica para o tratamento deste tipo de dor, como por exemplo: fisioterapia, acupuntura, psicoterapia e procedimentos anestésicos e neurocirúrgicos (RUSSO e BROSE, 1998; DAVIS, 2007; REIS et al., 2007).

Dentre os recursos utilizados pelos fisioterapeutas, a Terapia Laser de Baixa Intensidade (LLLT) destaca-se pela eficácia na diminuição de processos dolorosos e vem, cada vez mais, apresentando bons resultados no controle de dores crônicas e neuropáticas (CHOW, 2009; LORENZINI et al., 2010; MEIRELES, 2012).

1.3.1 Terapia laser de baixa intensidade no controle da dor

A luz laser é caracterizada como sendo uma luz coerente, colimada, monocromática e polarizada, com grande concentração de energia, capaz de provocar alterações físicas e biológicas no tecido (TUNER e HODE, 1999, GUIRRO e GUIRRO, 2004).

Os efeitos demonstrados pela LLLT no tecido incluem: a estimulação da angiogênese, aumento da resistência à tração das cicatrizes, aceleração da reepitelização, ação anti-inflamatória, redução do edema e analgesia (SOBANKO et al, 2008).

Atualmente são descritos quatro tipos de LLLT, sendo eles: HeNe (hélio neônio), AlGaInP (alumínio, gálio, índio e fósforo), AsGaAl (arseneto, gálio e alumínio) e o AsGa (arseneto de gálio), que se diferem quanto ao comprimento de onda, feixe e potência de pico (Tabela 1).

Tabela 1: Comprimento de onda, regime, feixe e potência de pico das LLLT

Tipo de laser	Comprimento de onda (nm)	Regime/feixe	Potência de pico (mw)
HeNe	632,8	Contínuo visível	2 a 10
AsGa	904	Pulsado Não Visível	15 e 30
AlGaInP	660	Contínuo visível	15 e 30
AsGaAl	830	Contínuo Não visível	30

Fonte: Guirro, Guirro, 2004.

Existem dois tipos de irradiação na faixa do comprimento de luz visível, sendo estes: vermelho (V), HeNe e AlGaInP, e infravermelho (IV), AsGa e AsGaAl. Quando uma célula é irradiada no comprimento de luz V, ocorre reações a níveis de organelas celulares, mais precisamente no interior da mitocôndria, na cadeia respiratória, levando ao incremento ou depleção do Adenosina Trifosfato (ATP). Quando a célula é irradiada na faixa do IV, atua no

potencial de membrana mitocondrial, aumentando ou diminuindo a concentração de ATP (CHAVANTES, 2009).

A LLLT tem sido amplamente utilizada em investigações sobre redução de diversos tipos de dor, como por exemplo a dor neuropática em seus diversos aspectos (SOUSA, *et al.*; 2009. GONCALVES, *et al.*; 2010, BERTOLINI, *et al.*; 2011). Essa terapia vem ganhando grande destaque devido ao baixo custo, o fato de não ser invasiva, apresentar poucas contraindicações e raros efeitos colaterais (ASSIS, 2012).

A LLLT leva à emissão de fótons que atingem as mitocôndrias, as membranas celulares de fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais, permitindo a absorção da energia luminosa pelos cromóforos celulares e convertendo a energia eletromagnética em energia fotoquímica no interior da célula (KARU, 1999; HAWKINS e ABRAHAMSE, 2007). Essa terapia apresenta ainda, efeitos na redução dos níveis de fibrinogênio, de edema e no conteúdo de células inflamatórias, atuando no processo inflamatório através da modulação de mediadores químicos, divisão celular, vasodilatação, aumento de síntese proteica e de cortisol (KUJAWA, 2004; SERRA, 2010; MEIRELES, 2012). Além disso, a LLLT altera a permeabilidade de membranas celulares, facilitando as trocas entre mitocôndria e núcleo, aumentando o metabolismo oxidativo e normaliza a função celular. Secundário aos efeitos locais da LLLT, efeitos à distância como aumento da síntese de endorfina e diminuição da bradicinina são alterações cruciais que resultam no alívio da dor (HAWKINS e ABRAHAMSE, 2007; PINTO, 2008).

Os efeitos analgésicos induzidos pela laserterapia podem então ser justificados por meio da modulação dos mediadores químicos da inflamação, além do estímulo à síntese de beta endorfina. Esses fatores associados tendem a limitar a redução do limiar de excitabilidade dos receptores dolorosos e eliminar substâncias alogênicas (CAMPANA, 1999; KARU, 1999).

Achados clínicos demonstraram excelentes resultados da LLLT nos casos de dor crônica, em especial para o Laser infravermelho, sendo uma boa alternativa não invasiva para o tratamento de dor e manutenção da analgesia (CHOW, 2009).

A ação da LLLT é dependente dos parâmetros utilizados, em especial da fluência empregada. Segundo alguns autores (KITCHEN; BAZIN, 1996; BAXTER, 1997; LONGO; MESTER, 1998; LOW; REED, 2001), acredita-se que exista uma “janela terapêutica” para uma fotoestimulação efetiva acima de um valor limiar. Normalmente não se obtém resposta satisfatória quando fluências são empregadas em sub ou superdosagem uma vez que, baixas fluências regulam ou aceleram o transporte de elétrons da cadeia respiratória mitocondrial, enquanto fluências elevadas causam danos nesses transportadores da cadeia, entretendo em doses apropriadas é observado efeito analgésico eficaz (KARU, 1989; SCHINDL, 2003; MEIRELES, 2012).

A fluência pode ser definida como a energia total transmitida por um feixe laser por unidade de área, sendo expressa em J/cm², representada através do cálculo abaixo:

$$\text{Fluência (J/cm}^2\text{)} = \frac{\text{potência (W)} \times \text{tempo (s)}}{\text{Área transversa do feixe (cm}^2\text{)}}$$

As fluências adequadas para a LLLT ainda permanecem controversas na literatura. Sendo necessário o cálculo preciso e o registro dessas fluências para todas as aplicações, de forma que os tratamentos possam ser aplicados com segurança (BAXTER, 1995; ORTIZ et al., 2001).

Na literatura são apresentados diversos estudos que apresentam a LLLT como uma técnica eficaz para redução de processos dolorosos, em especial a dor neuropática, entretanto a uma grande diversidade de parâmetros de estimulação, o que dificulta a reprodutibilidade da

técnica de maneira adequada (BERTOLINI et al., 2011; LORENZINI et al., 2010; MEDALHA et al., 2012; SERAFIM et al., 2012).

Diante dos expostos, surgiu a hipótese de que a utilização da LLLT, com diferentes fluências (10 J/cm², 20 J/cm² e 40 J/cm²), no tratamento da dor neuropática poderia ser capaz de aumentar os níveis de β -endorfina e, associada à ação anti-inflamatória produzida pela terapia, poderá produzir o efeito analgésico e conseqüentemente reduzir de forma eficaz a dor neuropática.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito da LLLT, em diferentes fluências, no controle da dor neuropática em camundongos.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da LLLT no controle da hiperalgesia mecânica e térmica, após compressão do nervo isquiático em camundongos;
- Comparar o efeito de diferentes fluências com a LLLT no controle da dor neuropática em modelo animal;
- Avaliar os níveis de expressão de beta-endorfina nos animais placebo comparando-os com os animais tratado com LLLT.

3. METODOLOGIA

3.1. Protocolo Experimental

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa pela Universidade Federal de São Carlos sob o protocolo nº026/2014 (ANEXO 1).

3.2 Animais

Foram utilizados 50 camundongos da linhagem Suíço-albino, machos, pesando 25-30 gramas, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. Os animais foram agrupados em gaiolas coletivas (41x 34x16cm, 6 por gaiola), mantidos em condições controladas de temperatura (19-23 °C), umidade (55 +/- 5%), luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, luzes acesas às 7:00 horas e apagadas às 19:00 horas) e livre acesso ao alimento e água, exceto durante as breves sessões de teste. Todos os experimentos seguirão as normas de ética estabelecidas para experimentação com animais, recomendadas pela IASP (*International Association for the Study of Pain*) (Zimmermann, 1983).

3.3 Modelo experimental de dor neuropática

Para a indução da neuropatia foi utilizado o modelo experimental de Constrição Crônica do Nervo Isquiático (CCI), esse modelo tem sido amplamente utilizado em diversos estudos (MAVES, 1993; COSTA, 2005; COLLEONI, 2009) devido à grande confiabilidade e à proximidade do comportamento doloroso, com as características de dor espontânea, hiperalgesia e alodínia, semelhante com os de seres humanos. (BENNET, 1988; KIM, 1997; REIS, 2006). Além disso, os sintomas se iniciam cerca de 24 horas após a lesão e perduram por cerca de quatro meses, caracterizando assim a cronicidade deste tipo de dor (BENNET, 1988; REIS, 2011).

O método foi iniciado com a anestesia de Ketamina (1µl/kg) e Xilasina (0.5µl/kg) (90mg/Kg, intraperitoneal), com o animal deitado em decúbito ventral, elevação da perna direita. A seguir foi realizada a secção entre a fáscia do glúteo e o bíceps femoral e posteriormente foi realizada a exposição do nervo isquiático direito próximo à sua trifurcação.

O tecido ao redor do nervo foi cuidadosamente cortado a uma distância de aproximadamente 8 mm, em sequência foi realizada a compressão do nervo através da colocação de quatro ligaduras com fio estéril não inflamatório mononylon 5.0. Ao final foi realizada a sutura da pele.



Figura 2: Realização do procedimento cirúrgico de constrição crônica do nevo isquiático. **A:** tricotomia da região glútea da pata esquerda; **B:** Exposição do nervo isquiático; **C:** Colocação das quatro ligaduras com fio mononylon 5.0; **D:** Sutura do musculo e pele.

Fonte: do Autor

3.4 Delineamento do Estudo

Após a cirurgia de CCI os animais foram mantidos no biotério do departamento de fisioterapia sendo lá alocados, de modo aleatório, em 5 grupos, sendo cada grupo foi composto por 10 animais.

Os grupos foram divididos em:

- Grupo Placebo (GP): os animais foram induzidos à neuropatia pela CCI e foi realizado a simulação do tratamento com LLLT.
- Grupo Laser 10 J/cm² (GL10): os animais foram induzidos à neuropatia pela CCI e tratado com LLLT a uma fluência de 10 J/cm².

- Grupo Laser 20 J/cm² (GL20): os animais foram induzidos à neuropatia pela CCI e tratado com LLLT a uma fluência de 20 J/cm².
- Grupo Laser 40 J/cm² (GL40): os animais foram induzidos à neuropatia pela CCI e tratado com LLLT a uma fluência de 40 J/cm².
- Grupo Sham (GS): Simulação da cirurgia de CCI, com a exposição do nervo porém, sem a colocação das ligaduras.

3.5 Aplicação do Laser

Três dias após a cirurgia para constrição do nervo isquiático, os animais foram submetidos à irradiação com laser infravermelho de arseneto de gálio alumínio (AsALGa) com comprimento de onda de 808 nanômetros, contínuo, com potência de 30 mW e área transversa do feixe de 0,028 cm².

Os animais, subdivididos em quatro grupos, receberam a aplicação da LLLT nos parâmetros descritos na tabela abaixo:

Tabela 2: Descrição detalhada dos parâmetros utilizados na LLLT durante o tratamento.

Grupo	Potência	Fluência	Tempo	Energia
GL10	30 mW	10 J/cm ²	9 seg	0,27 J
GL20	30 mW	20 J/cm ²	18 seg	0,54 J
GL40	30 mW	40 J/cm ²	37 seg	1.1 J

A irradiação foi realizada três vezes por semana, em dias alternados (segunda, quarta e sexta), durante 90 dias, com a técnica de contato, em um ponto, sendo determinado no local da compressão do nervo. Para melhor aplicação da LLLT os animais foram imobilizados por uma manta de algodão.

3.6 Avaliações Nociceptiva

As avaliações nociceptivas foram iniciadas no período pré-cirúrgico, para que os dados servissem como linha de base para o estudo. Essas avaliações consistiram em testes de hiperalgesia mecânica e hiperalgesia térmica. Após 48 horas da cirurgia os animais foram reavaliados para demonstrar o surgimento dos sintomas de dor espontânea e hiperalgesia, comprovando o surgimento da neuropatia.

Durante o período de tratamento, 90 dias, as avaliações foram realizadas a cada 15 dias, totalizando 8 avaliações, sendo também avaliado a massa corporal dos animais.

Vale ressaltar que os animais passaram por um processo de adaptação aos equipamento, 24 horas antes do início dos testes.

3.6.1 Hiperalgesia Térmica

A hiperalgesia térmica foi avaliada através do teste de Placa Quente (*Hot Plate, Insight®*, Equipamentos científicos Ltda, Brasil), em que foi registrado o tempo, em segundos, para a manifestação de uma resposta como, por exemplo, pular ou retirar a pata traseira, que revela o limiar de tolerância máxima da dor após aplicação de calor a 52 °C (51,8-52,4 °C), que é descrito na literatura como a temperatura máxima utilizada para evitar danos ao animal através do teste da placa quente (Liu et al, 2002). O tempo máximo de permanência do animal sobre a placa foi de 25 segundos, para evitar possíveis lesões (KURAISHI et al, 1983).

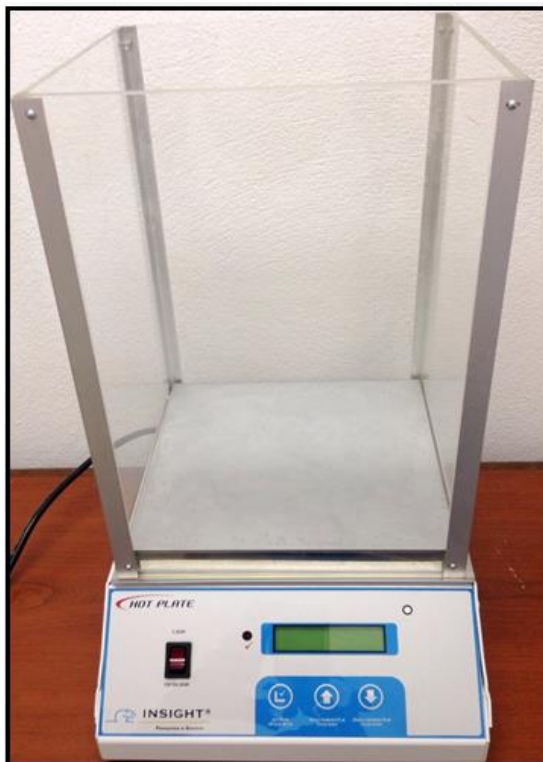


Figura 3: Hot Plate (*Insight*®, Equipamentos Científicos Ltda, Brasil). Equipamento utilizado para avaliação da hiperalgesia térmica.

Fonte: do Autor

3.6.2 Hiperlgesia Mecânica

A hiperlgesia ao estímulo mecânico foi avaliada através do teste de “Randall e Selitto” (Randall e Selitto, 1957). Esse teste é composto por um analgesímetro, que gerava um aumento linear da força (em gramas) sobre a superfície dorsal da pata lesada do animal até que o mesmo produzia uma resposta, caracterizada pela retirada da pata. O reflexo de retirada da pata é considerado representativo do limiar hipernociceptivo, ou seja, a força necessária aplicada à pata para que induza uma resposta aversiva a um estímulo nocivo (Limiar Nociceptivo de Retirada da Pata - LNRP). A força necessária para que o animal exibisse tal resposta foi registrada em gramas.



Figura 4: *Randall-Selitto tes (Insight®*, Equipamentos Científicos Ltda, Brasil). Instrumentos utilizados para as avaliações de hiperalgesia mecânica, através do limiar de retirada da pata.

Fonte: do Autor

3.7 Eutanásia

O sacrifício dos animais foi realizado no 95º dia após o início do procedimento experimental (Figura 5), através da decapitação por guilhotina.

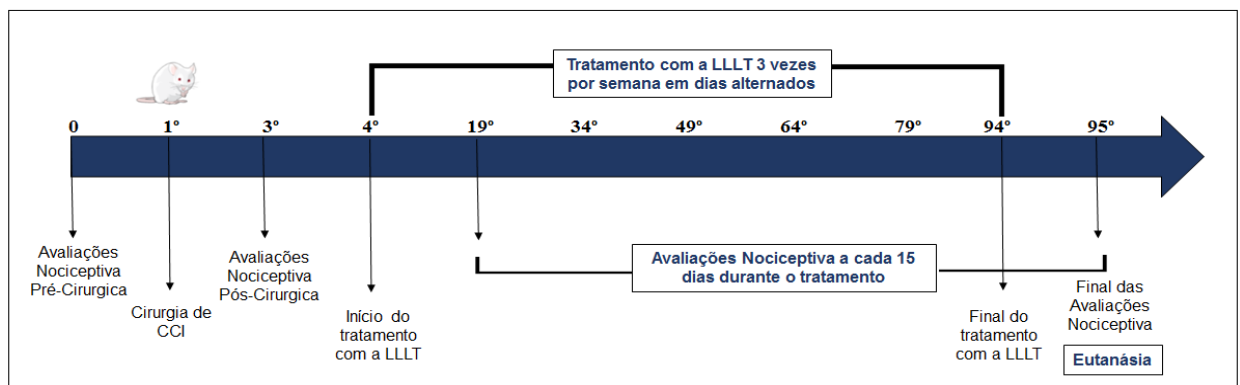


Figura 5: Sequências dos procedimentos experimentais. As avaliações nociceptiva foram realizadas através das avaliações de hiperalgesia térmica e mecânica utilizando os testes de Placa Quente e Randall e Selitto respectivamente.

3.8 Análise sanguínea de beta-Endorfina

Para a realização da dosagem sanguínea de beta-endorfina foi utilizado o kit *β -END ELISA* (MyBiosource, Califórnia, EUA). Foi realizada a coleta de sangue através da decapitação dos animais, sendo coletado de cerca de 100 μ l de sangue, posteriormente centrifugados durante 15 minutos à 1500 rpm para a separação entre o plasma e o soro, o qual foi utilizado para a análise da beta-endorfina. As amostras foram armazenadas a -80°C sendo analisadas posteriormente. O kit utilizado era composto de placas de poliestireno com 96 cavidades de base cônica, já sensibilizadas para a análise. Foram utilizadas pipetas multicanais automáticas de vários volumes, de 0,5 μ L até 1000 μ L, microtubos e cubetas de poliestireno para o preparo de soluções e transferência de volumes. Utilizou-se para a “lavagem” das placas o equipamento *Wellwach AC* (Thermo Scientific®) e o leitor de microplacas *Multiskan FC* (Thermo Scientific®). A absorvância para a β -endorfina referida foi mensurada através do leitor de microplacas a 450 nm. Todas as amostras, incluindo a curva padrão, foram analisadas em duplicata e todas as análises seguiram as recomendações do fabricante.

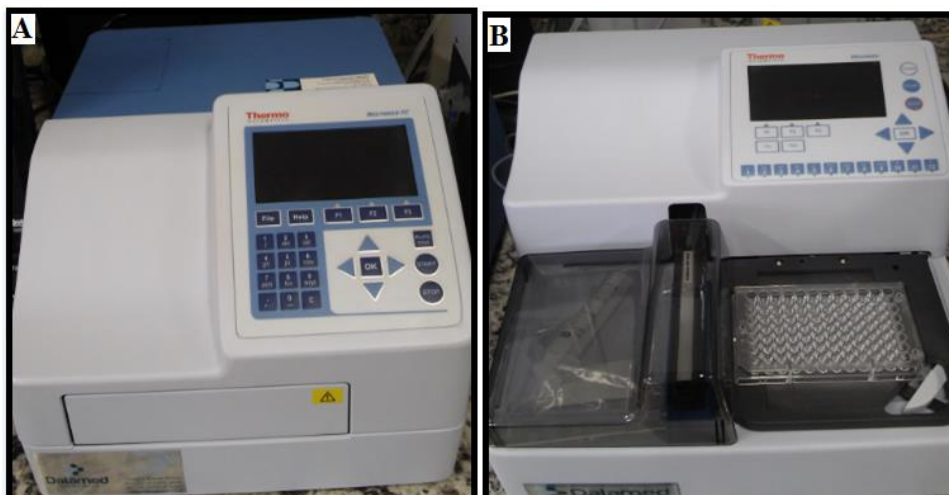


Figura 6: **A:** Multiskan FC, Thermo Scientific®, equipamento utilizado para a leitura do ensaio ELISA; **B:** Wellwach AC, Thermo Scientific, equipamento utilizado para a lavagem da placa do ensaio ELISA.

Fonte: do Autor

3.9 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A análise dos resultados foi realizada através do *Software* Graph PadPrism 5.0. Foi realizado o teste de Shapiro Wilk para avaliar a normalidade dos dados. Para a avaliação intra-grupo foi realizado o teste de análise de variância (ANOVA) *one-way* e para as comparações entre grupos o teste *two-way*. Para as comparações múltiplas foi utilizado o teste *post-hoc* de Tukey. O nível de significância será de $P < 0,05$.

PARTE II

4. ESTUDO I

“Utilização da LLLT no controle da dor neuropática: uma revisão sistemática”

Submetido pelo periódico “*Lasers in Medical Science*” (ANEXO B)

5. ESTUDO II

“Efeito da Terapia Laser de Baixa Intensidade (808nm) no controle da dor neuropática em camundongos”

4. ESTUDO I

“Utilização da LLLT no controle da dor neuropática: uma revisão sistemática”

Ana Laura Martins de Andrade¹, Paulo Sérgio Bossini², Nivaldo Antônio Parizotto¹.

¹ Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, Brasil.

² Programa de Mestrado em Fisioterapia, Universidade Sagrado Coração (USC), Bauru, SP, Brasil

4.1 Resumo: A dor neuropática pode ser definida como dor iniciada ou causada por uma lesão primária ou disfunção do sistema nervoso central ou periférico. LBI ganhou grande proeminência como um tratamento deste tipo de dor, no entanto, os parâmetros de aplicação ainda são controversos na literatura. Os objetivos deste estudo foi revisar a literatura sobre a utilização da laserterapia de baixa potência (LLLT) em dor neuropática com a intenção de estabelecer uma "janela terapêutica" para o uso efetivo deste tratamento. Analisados 14 artigos, 10 estudos em animais experimentais e quatro em humanos. Os resultados são apresentados em três tabelas, sendo o primeiro para a comparação dos parâmetros de aplicação utilizados nos estudos, a segunda média e os parâmetros médios estudos experimentais e terceira formas de realização de estudos clínicos. Em relação aos estudos experimentais, observou-se que LBI e laser infravermelho poderes acima 70mW mostrar melhores resultados. Estudos clínicos são conclusivos quanto aos parâmetros de aplicação, devido à discrepância, porém todos demonstram a eficácia do LBI. De acordo com os dados apresentados, concluiu-se que a laserterapia tem efeitos positivos sobre o controle da analgesia para a dor neuropática, mas novos estudos com alto rigor científico são necessários a fim de definir os protocolos de tratamento que otimizam a ação do LBI em neuropática dor.

Palavras-chaves: terapia laser de baixa intensidade; dor neuropática; revisão sistemática

4.2 Introdução

A ciência descreve a dor como uma reação evolutiva, cuja principal função é a comunicação de danos estruturais ou funcionais do corpo através de informações concernentes à localização e à intensidade dos estímulos nocivos e potencialmente lesivos, de forma que alguma reação de defesa ou de fuga possa ser tomada, evitando danos maiores e preservando a integridade do indivíduo¹.

Quando há ocorrências de lesões no sistema nervoso central ou periférico um tipo especial de dor é desenvolvido, caracterizado pela ausência de nocicepção, este tipo de dor é denominado de dor neuropática². Enquanto a dor fisiológica ou por nocicepção é fundamental para a preservação da integridade do indivíduo porque alerta para a ocorrência de lesões nos diversos tecidos corporais, a dor neuropática é mal-adaptativa e é uma importante causa de incapacidade permanente, principalmente quando cronicada³.

Atualmente, segundo a International Association for the Study of Pain (IASP) a dor neuropática pode ser definida como a dor iniciada ou causada por uma lesão ou disfunção primária do sistema nervoso, podendo decorrer de lesão do nervo periférico (amputações), infecções (neuralgia pós-herpética), compressão do nervo (acidentes, cirurgias, tumores), infarto, distúrbios metabólicos (neuralgia diabética) ou ser idiopática⁴. A dor neuropática é classificada de acordo com sua causa intrínseca ou pela localização da lesão nervosa - central ou periférica⁵, porém a fisiopatologia e os mecanismos biológicos que a envolvem não estão totalmente esclarecidos⁶.

Na tentativa de se obter um maior entendimento sobre a síndrome neuropática humana, uma grande variedade de modelos experimentais tem sido desenvolvida. Dentre estes, podemos destacar a transecção parcial ou total do nervo, a inflamação perineural, diabetes experimental e constrição crônica do nervo isquiático⁷⁻¹².

Atualmente, os métodos mais utilizados para o tratamento da dor são os medicamentos analgésicos, porém sabe-se que estes têm demonstrado somente 30% de efetividade em pacientes com dores neuropáticas¹³⁻¹⁵. Assim, diversos pesquisadores vêm buscando formas alternativas à farmacológica para o tratamento deste tipo de dor, tais como, os procedimentos anestésicos e neurocirúrgicos, a psicoterapia, e os recursos fisioterapêuticos¹⁶⁻¹⁹.

Dentre os recursos da fisioterapia, a LLLT tem sido amplamente utilizada em investigações sobre regeneração tecidual e redução da dor. Esta terapia vem ganhando grande destaque devido ao baixo custo, ao fato de não ser invasiva, apresentar poucas contraindicações e raros efeitos colaterais²⁰⁻²³. A LLLT apresenta efeitos na redução dos níveis de fibrinogênio, do edema e no conteúdo de células inflamatórias, sugerindo analgesia por redução do processo inflamatório^{23, 24}. Durante o processo inflamatório a LLLT atua através da modulação de mediadores químicos, vasodilatação, aumento da síntese protéica e do cortisol^{23, 25}, além de produzir aumento da síntese de endorfinas^{26, 27}.

O primeiro trabalho encontrado na literatura que aborda a LLLT no controle da dor neuropática foi descrito por Gustafsson *et al.*, (2003)²⁸. Neste estudo, os autores utilizaram um laser de 532 nm, com potência de 70 mW e fluências de 263 J/cm², 656 J/cm² e 1312 J/cm². Outros trabalhos como de Cidral-Filho *et al.*, (2012)²⁹ abordaram a LLLT no tratamento da dor neuropática com fluências bem menores do que as utilizadas no estudo de Gustafsson *et al.*, (2003)²⁸, sendo empregadas fluências de 1 J/cm², 2.5 J/cm² e 4 J/cm², no entanto, em ambos os estudos a LLLT se mostrou eficaz.

A partir disso, diversos outros estudos abordaram a ação da LLLT no controle da analgesia em pacientes portadores de neuropatias^{21, 30, 31}, entretanto, os parâmetros utilizados nestes estudos foram muito discrepantes, como os descritos anteriormente, em especial a fluência e a energia aplicada. Na literatura são encontrados estudos com a LLLT no tratamento de dores neuropáticas utilizando fluências que variam de 1 J/cm² a 1312 J/cm²,

sendo que, na maioria dos estudos os resultados são positivos mesmo com a grande discrepância entre as fluências, além de apresentarem outros parâmetros como potência e energia total com valores também divergentes. Desse modo, julgou-se necessária a elaboração de uma revisão sistemática com intuito de estabelecer uma “janela terapêutica” para o tratamento da dor neuropática com a LLLT, objetivando um tratamento mais efetivo e um melhor entendimento dos mecanismos de ação deste recurso terapêutico.

4.3 Materiais e Métodos

A revisão sistemática da literatura foi realizada após levantamento bibliográfico junto aos bancos de dados Medilane/PubMed, Lilacs, Embase, Scielo, Scopus e por busca ativa em lista de referências bibliográficas dos artigos selecionados até novembro de 2015. Para a busca dos artigos foram seguidas as orientações dadas pelo PRISMA³² (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis*). A busca nos bancos de dados foi realizada utilizando às seguintes terminologias para ensaios em laboratório: terapia laser de baixa intensidade ou terapia laser e lesão crônica nervosa e dor neuropática e dor. Para os estudos clínicos, as terminologias utilizadas foram: terapia laser de baixa intensidade ou terapia laser e dor neuropática ou neuropatia e estudos clínicos.

Como critérios de inclusão foram selecionados artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais no idioma inglês, espanhol e português, que abordaram o objetivo desta revisão a partir da primeira publicação sobre o tema até novembro de 2015. Foram adotados como critérios de exclusão os artigos publicados em outras línguas, que não as citadas acima, estudos que abordavam a LLLT em modelo experimental que não utilizaram como amostra roedores ou humanos, pesquisas com outro tipo de dor, resultados publicados apenas em resumos e artigos de revisão.

4.4 Resultados

Na busca por estudos clínicos foram encontrados 34 estudos (PubMed: 11; Lilacs: 5; Scopus 18), e para os estudos laboratoriais 218 (PubMed: 111; Lilacs: 50; Scopus 55, Scielo:1 e 1 estudo por busca ativa em lista de referências bibliográficas), totalizando 252 estudos. Após a remoção dos estudos duplicados resultaram-se 192 e, após a exclusão dos artigos devido ao título e o resumo não condizerem com a proposta desta revisão, totalizaram-se 15 artigos (Figura 7).

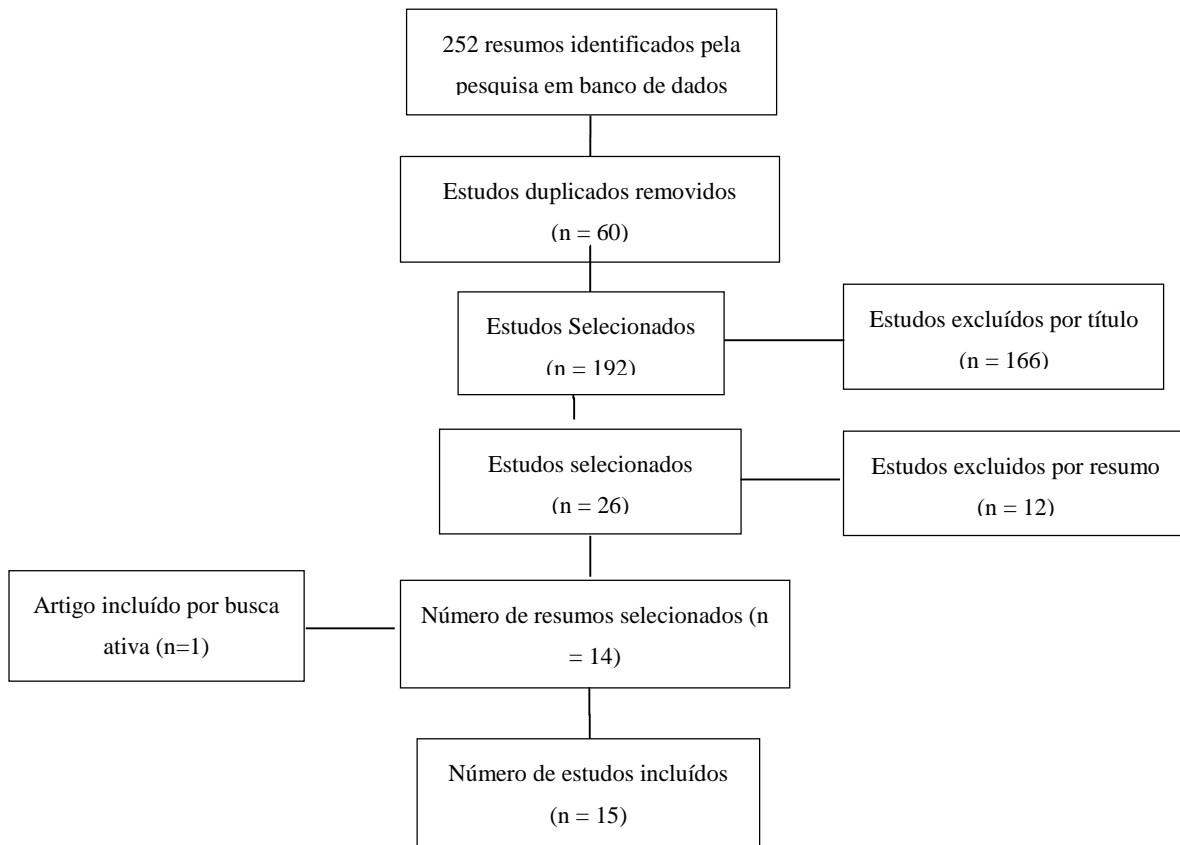


Figura 7: Diagrama de fluxo das diferentes fases da revisão sistemática recomendado pelo PRISMA³²

Dos 15 estudos selecionados, dez foram realizados em modelo experimental em animais (nove em roedores e um em falcão) e cinco em humanos. Dentre os artigos que utilizaram modelo animal, um foi excluído por se tratar de um modelo experimental não

utilizado frequentemente na literatura (falcão) e entre os trabalhos com humanos, um também foi excluído devido à publicação ser em sérvio, não se encaixando assim no critério de inclusão de estudos em inglês, português ou espanhol.

Na tabela 3, estão representados os 13 artigos que foram incluídos neste estudo, com a descrição dos principais parâmetros utilizados na aplicação da LLLT. Para a construção da tabela alguns parâmetros foram calculados, a partir de dados já existentes, com intuito de facilitar a comparação entre os estudos.

Tabela 3: Relação de artigos seleccionados com as respectivas descrições dos tipos de lasers usados, dos parâmetros utilizados, dos protocolos de aplicações dos lasers, assim como os resultados obtidos.

Estudo	λ	Potência de saída	Área de secção trav. Feixe	Técnica de aplicação	Fluência	Energia por ponto	Nº de pontos irradiados	Energia Total	Total de aplicação (sessões)	Resultados
Gustafsson <i>et al.</i>, 2003 ²⁸	532nm	70mW	0.032	Pontual	262 J/cm ² 656 J/cm ² 1312 J/cm ²	8,4J 21J 42J	1	8,4J 21J 42J	1	+
Zinman <i>et al.</i>, 2004 ³⁰	905nm	60 mW	1cm ²	Pontual	9J/cm ²	9J	2	18J	8	-
Ali-Asgarzadeh <i>et al.</i>, 2011 ³³	980nm	200mW	**	Pontual	**	10J	8	80J	12	+
Bertolini <i>et al.</i>, 2011 ³¹	830nm	30mW	0,11	Pontual	4J/cm ² 8J/cm ²	0,42 J 0,88	1	0,42J 0,88	5	+
Khamseh <i>et al.</i>, 2011 ³⁴	808nm 905nm	25mW	1cm ²	Pontual	10J/cm ²	10J	10	100J	10	+

Yan et al., 2011 ³⁵	650nm	35mW	**	Pontual	**	1,05J	4	4,2J	1	+
	808nm	450mW				13,5J		54J		
Cidral-Filho et al., 2012 ²⁹	950nm	80mW	1cm ²	Pontual	2,5J/cm ²	2,5J	1	2,5J	14	+
					1J/cm ²	1J	1	1J		
					4J/cm ²	4J	1	4J		
Hsieh et al., 2012 ³⁶	660nm	30mW	0,2cm ²	Pontual	9J/cm ²	1,8J	4	7,2J	7	+
Ribas et al., 2012 ³⁷	830nm	70mW	0,028 cm ²	Pontual	8J/cm ²	0,21J	1	0,21J	9	+
					15J/cm ²	0,42J	1	0,42J		
Bashiri et al., 2013 ³⁸	780nm	**	**	Pontual	2,5J/cm ²	**	**	**	8	+
Jameie et al., 2013 ¹⁸	980nm	70mW	0,24	Pontual	4j/cm ²	0.91J	2	1,82J	14	+
Coradini et al., 2014 ³⁹	830nm	30mW	0,11	Pontual	8J/cm ²	0.87J	2	1,74J	2	+
Masoumpoor et al., 2014 ¹⁹	660nm	100mW	0,24	Pontual	4J/cm ²	0.9J	3	2.7J	14	+
	980nm	70mW			4J/cm ²	0.91J		2.73J		

Com relação ao tipo de laser utilizado para o tratamento da dor neuropática, um estudo utilizou o laser no comprimento de onda verde (532 nm), três estudos no vermelho (650 nm a 670 nm) e 11 estudos utilizaram o laser infravermelho (780 nm a 980 nm). Além disso, verificou-se também nos trabalhos analisados a utilização de diferentes potências, variando entre 25 mW a 450 mW. A potência mais empregada nos trabalhos foi a de 70 mW, coincidindo assim com a mediana encontrada na tabela 3.

A partir da análise dos dados da tabela 3, foi possível estabelecer a média e a mediana de alguns parâmetros, tais como potência, fluência, energia por ponto e energia total. Na tabela 4, são apresentados estes parâmetros com os valores mínimos e máximos para cada um dos parâmetros nos estudos experimentais.

Tabela 4: Média e mediana da potência, fluência, energia por ponto e energia total dos estudos experimentais analisados.

	Potência (mW)	Fluência (J/cm²)	Energia por ponto (J)	Energia Total (J)
Mínima	25	1	0.21	0.21
Máxima	450	1312	42	100
Média	88	129,05	6.49	17.82
Mediana	70	8	1.42	4.1

A somatória do número de participantes nos estudos clínicos foi 130. Sendo que em todos os estudos, os participantes tinham idade superior a 18 anos e não havia restrição quanto ao gênero, porém, predominou-se em todos os estudos o sexo feminino. Os pacientes apresentados não faziam uso de nenhum medicamento para dor e haviam sido diagnosticado com polineuropatia diabética, apresentando assim histórico de dor neuropática. Em todos os estudos clínicos, a LLLT foi aplicada com laser infravermelho. Três dos estudos clínicos

utilizaram como método de avaliação a escala visual analógica (EVA), obtendo melhora da dor em todos os estudos, com duas semanas de tratamento. As fluências utilizadas nos estudos clínicos foram muito próximas, entretanto a energia aplicada demonstrou-se discrepante (Tabela 5).

Tabela 5: LLLT na dor neuropática: características dos ensaios clínicos e efeitos no período de 2 semanas.

Estudo	Tipo de Laser	Fluência (j/cm ²)	Energia (J)	Nº de participantes	Período de Tratamento	EVA (Antes)	EVA (Após)
Khamseh et al., 2011 ³⁴	Infravermelho	10	10	17	2 semanas	n.a.	n.a.
Bashiri et al., 2013 ³⁸	Infravermelho	2,5	**	60	2 semanas	8,17	6,2
Zinman et al., 2004 ³⁰	Infravermelho	9	9	50	2 semanas	7,1	5,8
Ribas et al., 2012 ³⁷	Infravermelho	8	0,21	3	2 semanas	8,3	2,3
		15	0,42				

4.5 Discussão

Os resultados desta revisão demonstram que a LLLT possui grande eficácia no controle da dor neuropática, embora os parâmetros não sigam um padrão específico nos diferentes estudos apresentados.

Na tabela 3, observa-se que na literatura pesquisada existem diversos estudos que utilizaram lasers com diferentes comprimentos de onda e encontraram resultados significativos no aumento da analgesia^{28, 30, 31}. A maioria dos estudos demonstraram resultados positivos da aplicação da LLLT no tratamento da dor neuropática, no entanto, as fluências, potências e tempo de aplicação quase sempre são distintas.

Vários pesquisadores tem relatado em seus estudos a importância da LLLT no tratamento de dores em pacientes com neuropatia diabética como forma alternativa aos medicamentos, devido às ações de biomodulação e efeitos antioxidantes do laser^{41,42}.

Bjordal *et al.*, (2006)⁴⁰ realizaram um estudo de revisão em que indicaram o mecanismo de ação da LLLT na dor de três maneiras. Primeiramente, através da modulação do processo inflamatório, depois através da alteração da excitação e da condução dos nervos periféricos e, por último, pela estimulação no aumento da síntese de endorfina. Novas hipóteses sobre os mecanismos da LLLT, como efeitos sistêmicos por meio de síntese de óxido nítrico (NOS), não podem ser descartadas, mas no momento são apenas possibilidades experimentais que precisam ser mais exploradas.

Masoumipoor *et al.*, (2014)¹⁹ e Yan *et al.*, (2011)³⁵ apresentaram estudos comparativos entre lasers com diferentes comprimentos de onda em dor neuropática. Ambos compararam um laser infravermelho com um laser vermelho, no entanto, em ambos os estudos os diferentes comprimentos de onda apresentaram resultados positivos quanto ao aumento da analgesia. Contudo, quando comparados entre si os resultados foram controversos, Masoumipoor *et al.*, (2014)¹⁹ relataram que o laser vermelho apresentou resultados mais satisfatórios, enquanto Yan *et al.*, (2011)³⁵ encontraram melhores resultados com o laser infravermelho. Entretanto, observou-se que em ambos os estudos, o grupo que apresentou melhores resultados havia utilizado potências mais elevadas, atribuindo assim o aumento da analgesia à potência empregada.

Nos estudos apresentados por Gustafsson *et al.*, (2003)²⁸ e Cidral-Filho *et al.*, (2012)²⁹ com a utilização da LLLT em dor neuropática em modelo animal, ambos compararam diferentes fluências, fixando os demais parâmetros. Os dois estudos observaram que maiores fluências apresentaram resultados mais significativos. Entretanto, Cidral-Filho *et al.*, (2012)²⁹ comparando três fluências diferentes, 1 J/cm², 2.5 J/cm² e 4 J/cm², demonstraram que as

fluências de 2.5 J/cm² e 4 J/cm² apresentaram resultados positivos sem diferenças significativas entre as mesmas, afirmando que devido ao menor tempo de aplicação a utilização da fluência de 2.5 J/cm² seria mais indicada.

No mesmo trabalho de Gustafsson *et al.*, (2003)²⁸, foi observada uma grande discrepância em relação as fluências empregadas na LLLT em comparação aos demais estudos. As fluências encontradas eram de 263 J/cm², 656 J/cm² e 1312 J/cm², no entanto, essas altas fluências foram empregadas devido a uma particularidade do equipamento laser utilizado no estudo, sendo um Nd:YAG com uma fibra de 200 a 220 µm de diâmetro. A maioria dos lasers, assim como os utilizados nos estudos desta revisão, utilizam uma fibra de 600 a 650 µm de diâmetro, justificando assim a utilização de altas fluências no trabalho de Gustafsson *et al.*, (2003)²⁸.

Dentre os quatro estudos clínicos que utilizaram a aplicação do laser infravermelho como recurso de tratamento para dor neuropática, somente o estudo de Zinman *et al.*, (2004)³⁰, apresentou resultados não significativos. Este estudo utilizou a LLLT com comprimento de onda de 905 nm em 50 pacientes portadores de polineuropatia diabética, sendo estes pacientes alocados em um grupo sham e um grupo tratado. Quando o grupo tratado foi comparado ao grupo *sham* não foi observada melhora significativa, destacando assim a importância da inclusão de grupos placebo/*sham* em pesquisas clínicas, contudo, quando a dor foi comparada antes e após o tratamento houve uma diminuição significativa na EVA do grupo tratado. Apesar da maioria dos estudos clínicos apresentarem resultados significativos quanto a LLLT no tratamento de dor neuropática, o número de estudos são muito escassos, evidenciando assim, a necessidade de novos estudos para que a ação da LLLT na dor neuropática seja efetivamente reconhecido como uma alternativa de tratamento.

Através desta revisão, foi também observada uma grande dificuldade de comparação entre os estudos apresentados devido à maioria destes não apresentarem alguns dos principais

parâmetros empregados na aplicação da LLLT, dificultando a definição de protocolos de tratamentos eficazes e o entendimento dos possíveis mecanismos de ação da LLLT.

Quando não aplicada de maneira adequada, respeitando cada caso, fluências elevadas podem provocar danos aos tecidos, como descrito por Hawkins e Abrahamse (2005)⁴³. Por outro lado, estudos como de Núñez *et al.*, (2004)⁴⁴, utilizando um laser HeNe com fluência de 1 J/cm² e potência de 10 mW, não encontraram alterações biológicas sobre os tecidos irradiados devido à baixa fluência da LLLT.

Em um estudo de revisão realizado por Bjordal *et al.* (2006)⁴⁰ sobre a utilização de lasers infravermelho no controle da dor neuropática os autores concluíram que efeitos positivos podem ser observados com até 1.8 Joules por ponto, sendo que a energia total deve ser próxima ou superior a 5 J.

Desse modo, é possível observar que LLLT pode ser muito eficaz para o tratamento de dor neuropática sendo sugerido à utilização de um laser com comprimento de onda infravermelho, devido à maioria dos estudos utilizarem esse comprimento de onda e apresentarem resultados significativos quando comparado com os demais tipos de laser, com potências superiores a 70 mW, não ultrapassando 100 mW. Com relação aos parâmetros de fluências os estudos clínicos e experimentais sugerem valores próximo de 7 J/cm², já as energias aplicadas são muito discrepantes entre os estudos, observando a necessidade de novos estudos, principalmente clínicos.

4.6 Conclusão

A partir desta revisão conclui-se que a LLLT no tratamento da dor neuropática exerce efeitos positivos no controle da analgesia. Além disso, diante dos dados apresentados é possível estabelecer parâmetros eficazes no tratamento desse tipo de dor. Contudo, são necessários novos estudos com maior rigor científico, principalmente, com relação à descrição de todos os parâmetros da LLLT utilizados no tratamento, visando assim a comparação entre os resultados, com intuito de definir protocolos de tratamentos que otimizem a ação da LLLT na dor neuropática.

4.7 Referências

1. Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.* 1999; 57, 1-164.
2. Dickenson A, Suzuki R. *Targets in pain and analgesia*. Ed. Oxford University Press. 2005
3. Benbouzid M, Pallage V, Rajalu M, Et Al. Sciatic nerve cuffing in mice: A model of sustained neuropathic pain. *European Journal of Pain.* 2007.
4. Backonja MM. Defining neuropathic pain. *Anesthesia & Analgesia.* 2003; 97(3):785.
5. Chong MS, Bajwa ZH. Diagnosis and treatment of neuropathic pain. *J Pain Symptom Manage.* 2003;25: 4-11.
6. Thacker MA, Clark AK, Marchand F, McMahon SB. Pathophysiology of peripheral neuropathic pain: immune cells and molecules. *Anesth Analg.* 2007;105:838–847.
7. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain.* 1988.
8. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain.* 1990; 43(2): 205 – 218.
9. Liu Xj, White Td, Sawynok J. Enhanced release of adenosine in rat hind paw following spinal nerve ligation: involvement of capsaicin-sensitive sensory afferents. *Neuroscience.* 2002; 114: 379-87.
10. Nitanda A, Yasunami N, Tokumo K, Fujii H, Hirai T, Nishio H. Contribution of the peripheral 5-HT 2A receptor to mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. *Neurochem Int.* 2005: 47: 394-400.
11. Gerard E, Spengler RN, Bonoiu AC, Mahajan SD, Davidson BA, Ding H, et al. Chronic constriction injury-induced nociception is relieved by nanomedicine-mediated decrease of rat hippocampal tumor necrosis factor. *Pain.* 2015.
12. Mika J, Jurga AM, Starnowska J, Wasylewski M, Rojewska E, Makuch W, et al. Effects of chronic doxepin and amitriptyline administration in naive mice and in neuropathic pain mice model. *Neuroscience.* 2015;294:38-50.
13. Richeimer SH, Bajwa ZH, Kahraman SS, Ransil BJ, Warfield, CA. Utilization patterns of tricyclic antidepressants in a multidisciplinary pain clinic: a survey. *Clin J Pain.* 1997; 13(4):324-329.
14. Finnerup NB, Johannesen IL, Sindrup SH, Bach FW, Jensen TS. Pain and dysesthesia in patients with spinal cord injury: A postal survey. *Spinal Cord.* 2001; 39(5):256-262.

15. Schestatsky P, Llado-Carbo E, Casanova-Molla J, Alvarez-Blanco S, Valls-Sole J. Small fibre function in patients with meralgia paresthetica. *Pain*. 2008; 139: 342-8.
16. Teixeira MJ. Dor por avulsão de raízes nervosas. *Rev. Méd.* 1999; 78(2): 197-200.
17. Lima MC. Et Al . Estimulação cerebral para o tratamento de dor neuropática. *Psicol. teor. prat.* 2007; 9(2).
18. Jameie SB, Masoumpoor M, Janzadeh A, Nasirinezhad F, Kerdari M, Soleimani M. Combined therapeutic effects of low power laser (980nm) and CoQ10 on Neuropathic Pain in adult male rat. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. 2014; 28-58.
19. Masoumpoor M, Jameie SB, Janzadeh A, Nasirinezhad F, Soleimani M, Kerdary M. Effects of 660- and 980-nm low-level laser therapy on neuropathic pain relief following chronic constriction injury in rat sciatic nerve. *Lasers Med Sci*. 2014; 29:1593–1598.
20. Chow RT; Lopes -Martins R., Johnson M., Bjordal J.M. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised, placebo and active treatment controlled trials. *Lancet*. 2009; 374: 1897-1908.
21. Lorenzini L, Giuliani A, Giardino L, Calza L. Laser acupuncture for acute inflammatory, visceral and neuropathic pain relief: an experimental study in the laboratory rat. *Res Vet Sci*. 2010; 88:159–65.
22. Assis TO, Soares MS, Victor MM. O uso do laser na reabilitação das desordens temporomandibulares. *Fisioter.* 25(2): 453-459.
23. Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Silva LI, Bonfleur ML, Bertolini GRF. Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em joelho de ratos Wistar. *Rev. dor*. 2012; 13(2): 152-155.
24. Serra AP, Ashmawi HA. Influência da naloxona e metisergida sobre o efeito analgésico do laser em baixa intensidade em modelo experimental de dor. *Rev Bras Anesthesiol*. 2010;60(3):302-10.
25. Kujawa J, Talar J, Gworys K, Gworys P, Pieszyński I, Janiszewski M. The analgesic effectiveness of laser therapy in patients with gonarthrosis: an evaluation. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2004; 30(3):356-66.
26. Hawkins D, Abrahamse H. Phototherapy - a treatment modality for wound healing and pain relief. *African Journal of Biomedical Research*. 2007; 10; 99 – 109.
27. Hagiwara S, Iwasaka H, Okuda K, Noguchi T. GaAlAs (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Lasers Surg Med*. 2007;39(10):797-802.

28. Gustafsson H, Flood K, Berge O-G, Brodin E, Olgart L, Stiller C-O. Gabapentin reverses mechanical allodynia induced by sciatic nerve ischemia and formalin-induced nociception in mice. *Experimental Neurology*. 2003; 182 (2), 427-434.
29. Cidral-Filho FJ, Martins DF, Moré, AOO, Mazzardo-Martins L, Silva MD, Cargnin-Ferreira E, Santos ARS Light-emitting diode therapy induces analgesia and decreases spinal cord and sciatic nerve tumour necrosis factor- α levels after sciatic nerve crush in mice. *European Journal of Pain*. 2013; 17: 1193–1204.
30. Zinman LH, Ngo M, Ng ET, New KT, Gogov S, Bril V. Low-intensity laser therapy for painful symptoms of diabetic sensorimotor polyneuropathy: a controlled trial. *Diabetes Care*. 2004; 27(4):921-4
31. Bertolini GRF, Artifon EL, Silva TS, Cunha DM, Vigo PR. Low-level laser therapy, at 830 nm, for pain reduction in experimental model of rats with sciatica. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011; 69(2-B): 356-359.
32. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg*. 2010;8(5):336-41
33. Ali-Asgarzadeh A, Agha-Mohammadi D, Movasaghi R, Shahsavari P. Effect of low-intensity laser on lower limb neuropathic pain in patients with diabetes mellitus. *JAP*. 2011; 1(4) :48-60
34. Khamseh Me, Kazemikho N, Aghili R, Forough B, Lajevardi M, Dabaghian Fh, Goushegir A, Malek M: Diabetic distal symmetric polyneuropathy: effect of low-intensity laser therapy. *Lasers in medical science* 2011; 26(6):831–835.
35. Yan W, Chow R, Armati PJ. Inhibitory effects of visible 650-nm and infrared 808-nm laser irradiation on somatosensory and compound muscle action potentials in rat sciatic nerve: implications for laser-induced analgesia. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2011; 16: 130–135.
36. Hsieh YL, Chou LW, Chang PL, Yang CC, Kao MJ, Hong CZ. Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury: Possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α). *J. Comp. Neurol*. 2012; 520: 2903–2916.
37. Ribas ESC, Paiva WS, Pinto NC, Yeng LT, Okada M, Fonoff ET, Teixeira MJ. Use of low intensity laser treatment in neuropathic pain refractory to clinical treatment in amputation stumps. *International Journal of General Medicine*. 2012; 5: 739–742.
38. Bashiri H. Evaluation of low level laser therapy in reducing diabetic polyneuropathy related pain and sensorimotor disorders. *Acta Med Iran*. 2013;51(8):543-7.
39. Coradini JG, Mattjie TF, Bernardino GR, Peretti AL, Kakihata CMM, Errero TK, Esche AR, Bertolini GRF. Comparação entre o laser de baixa potência, ultrassom terapêutico e associação, na dor articular em ratos Wistar. *Rev. Bras. Reumatol*. 2014 ; 54(1): 07-12.

40. Bodnar Pm, Peshko AO, Prystupiuk OM, Voronko AA, Kyriienko DV, Mykhal'chyshyn HP, Naumova MI. et al. Laser therapy in diabetes mellitus. *Lik Sprava*. 1999;(6):125-8.
41. Kalinina OV, Alekseeva NV, Burtsev EM. Infrared laser therapy in distal diabetic polyneuropathy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 1998;98(6):23-5.
42. Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RA. y. *Photomed Laser Surg*. 2006; 24:158-68.
43. Hawkins D, Abrahamse H. Biological effects of helium-neon laser irradiation on normal and wounded human skin fibroblasts. *Photomed Laser Surg*. 2005 Jun; 23(3):251-9.
44. Núñez SC, Nogueira GE, Ribeiro MS, Garcez AS, Lage-Marques JL. He-Ne laser effects on blood microcirculation during wound healing: a method of in vivo study through laser Doppler flowmetry. *Lasers Surg Med*. 2004; 35(5):363-8.

5. ESTUDO II

“Efeito da terapia laser de baixa intensidade (808nm) no controle da dor neuropática em camundongos”

Ana Laura Martins de Andrade¹, Paulo Sérgio Bossini², Azair Liane Matos do Canto de Souza³, Nivaldo Antonio Parizotto¹

¹ Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, São Paulo, Brazil.

² Programa de Mestrado em Fisioterapia, Universidade do Sagrado Coração (USC), Bauru, São Paulo, Brazil.

³ Departamento de Psicologia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, São Paulo, Brazil.

5.1 Resumo

Background and Objectives: A dor neuropática pode ser definida como a dor iniciada ou causada por uma lesão ou disfunção primária do sistema nervoso central ou periférico. Dentre os recursos fisioterapêuticos utilizados para analgesia, destaca-se a terapia laser de baixa intensidade (LLLT), entretanto, os parâmetros de aplicação, principalmente a fluência, permanecem controversos na literatura. Assim esse trabalho teve como objetivo investigar o efeito da LLLT, em diferentes fluências, no controle da dor neuropática em camundongos

Study Design/Patients and Methods: Foram utilizados 50 camundongos, sendo estes induzidos a neuropatia através da cirurgia de constrição crônica no nervo isquiático (CCI), tratados com a LLLT e divididos em cinco grupos: GP (simulação da LLLT), GS (sham), GL10, GL20, GL40 (LLLT, fluências de 10J/cm², 20 J /cm² e 40 J /cm²). As avaliações foram realizadas através do teste de Placa quente e de Randall e Selitto, antes e após a cirurgia de CCI e a cada 15 dias, sendo 90 dias o total do experimento. Foi também realizada a dosagem sanguínea de β -endorfina.

Results: Para os testes de placa quente e Randall e Selitto, os grupos GL10 e GL20 apresentaram diminuição do limiar nociceptivo a partir do 30 dia de tratamento, o GL40 somente após o 75 dia e o GP não apresentou melhora ao longo de todo o experimento. A dosagem de β -endorfina foi maior para todos os grupos quando comparados ao GP, entretanto, somente o GL20, apresentou um aumento significativo.

Conclusion: Os dados desse estudo demonstram que a LLLT em fluências maiores, 20J/cm² e 40 J/cm² são mais eficazes no controle da dor neuropática.

5.2 Introdução

A dor é descrita como uma experiência subjetiva complexa, que não envolve apenas a transdução de um estímulo nocivo ambiental, mas também o processamento cognitivo e emocional pelo encéfalo [1,2]. No processo inflamatório, a dor pode acontecer por duas maneiras, espontaneamente e/ou ainda por fenômenos de sensibilização, caracterizados tanto pela resposta exacerbada a estímulos nocivos (hiperalgesia), como também pela presença de dor em resposta a estímulos não nocivos (alodinia) [3-5].

Lesões do sistema nervoso central ou periférico podem levar a um tipo especial de dor, na ausência de nocicepção, denominado dor neuropática [6]. Como nos demais tipos de dor crônica, a dor neuropática promove a ativação de regiões encefálicas como a área parabraquial, núcleo central da amígdala, substância cinzenta periaquedutal e áreas do córtex cerebral relacionadas às emoções, à integração sensorial e à personalidade, o que favorece o surgimento de co-morbidades, como a ansiedade e depressão, gerando um grande comprometimento social do indivíduo [7].

Para um maior entendimento sobre a síndrome neuropática diversos modelos experimentais têm sido desenvolvidos. Dentre estes, podemos destacar a transecção parcial ou total do nervo, a inflamação perineural, diabetes experimental e constrição crônica do nervo isquiático [8-13]. O método de constrição crônica do nervo isquiático (CCI) tem sido amplamente investigado devido a sua alta confiabilidade, ser facilmente reproduzido e apresentar o desenvolvimento de hiperalgesias térmica e mecânica e alodinia, sendo estes sintomas semelhantes aos que ocorrem em humanos portadores de neuropatias [8,14-16]. Os sinais de dor espontânea e hiperalgesia térmica e mecânica surgem 24 horas após a cirurgia (CCI), permanecendo por cerca de quatro meses [8].

Atualmente as indústrias farmacêuticas têm como principal fármaco para o tratamento da dor a utilização de analgésicos, sendo que estes têm demonstrado somente 30% de efetividade em pacientes com dores neuropáticas [17-19]. Assim diversos pesquisadores vêm buscando formas alternativas a farmacológica para o tratamento deste tipo de dor como, por exemplo: fisioterapia, acupuntura, psicoterapia e procedimentos anestésicos e neurocirúrgicos.

Dentre os recursos utilizados pelos fisioterapeutas a Terapia Laser de Baixa Intensidade (LLLT) vem apresentando bons resultados no controle da dor neuropática e crônica [20-22]. Os efeitos analgésicos induzidos pela laserterapia podem ser justificados por meio da modulação dos mediadores químicos da inflamação, além do estímulo à síntese de beta endorfina [23,24]. Esses fatores associados tendem a limitar a redução do limiar de excitabilidade dos receptores dolorosos e eliminar substâncias alogênicas [25,26]. Entretanto diversos estudos que apresentam a utilização da LLLT como tratamento para dor neuropática relatam o uso de diferentes parâmetros, sendo esses muitas vezes discrepantes, principalmente em relação à fluência [21, 27, 28].

Desse modo, a investigação experimental com uso de modelos animais se torna relevante para o estabelecimento de parâmetros adequados de aplicação deste recurso terapêutico na prática clínica, uma vez que, tais parâmetros permanecem controversos na literatura.

5.3 Materiais e métodos

O presente estudo foi conduzido de acordo com o Guia de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) (Parecer 026/2014). Os animais foram mantidos no Biotério do Departamento de Fisioterapia da UFSCar durante todo o período experimental e foram alojados individualmente em gaiolas apropriadas de polietileno padrão, em condições

ambientais controladas (19-23°C e ciclo claro/escuro de 12/12 horas), com livre acesso a água e ração própria.

Um total de 50 camundongos, da cepa *Suíço-albino*, machos, pesando 25-30 gramas, foram utilizados neste estudo. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos, alocando-se 10 animais em cada: grupo sham (GS): simulação da cirurgia de constrição crônica do nervo isquiático (CCI); grupo placebo (GP): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação do laser desligado; grupo terapia laser 10 J/cm² (GL10): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação da LLLT (808 nm), com fluência de 10J/cm²; Grupo terapia laser 20 J/cm² (GL20): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação da LLLT (808nm), com fluência de 20J/cm²; grupo terapia laser 40 J/cm² (GL40): indução da neuropatia por meio da cirurgia CCI, com aplicação da LLLT (808nm), com fluência de 40J/cm².

5.3.1 Indução da Neuropatia

Foi utilizado o modelo experimental de CCI para a indução da neuropatia. O método foi realizado inicialmente através da anestesia de Ketamina (1µl/kg) e Xilasina (0.5µl/kg) (90mg/Kg, intraperitoneal). O animal foi posicionado em decúbito ventral, com elevação da perna direita, com o fêmur a 90° e a pata fixada usando fita adesiva. A seguir, foi realizada a secção entre a fáscia do glúteo e o bíceps femoral expondo assim o nervo isquiático direito próximo a sua trifurcação. O tecido ao redor do nervo foi cuidadosamente cortado a uma distância de aproximadamente 8 mm sendo realizada a compressão do nervo através da colocação de quatro ligaduras com fio estéril não inflamatório mononylon 5.0 [14-16].

5.3.2 Terapia Laser de Baixa Intensidade

Três dias após a cirurgia de CCI, os animais receberam a primeira aplicação da LLLT. A LLLT foi realizada com um laser infravermelho (Photon Lase III, DMC, São Carlos, Brasil), com comprimento de onda de 808nm, potência de saída de 30 mW e área do feixe de 0,028 cm². Os parâmetros utilizados por cada grupo laser foram: GL10 - fluência de 10 J/cm², energia total de 0,27J e tempo de aplicação de 9segundos; GL20 - fluência de 20 J/cm², energia total de 0,54J e tempo de aplicação de 18segundos; GL40 - fluência de 40 J/cm², energia total de 1,1J e tempo de aplicação de 37 segundos

O tratamento com a LLLT foi realizado três vezes por semana, com início 48 horas após a cirurgia, por um período de 90 dias. Nas aplicações, foi utilizada a técnica pontual em contato, sendo a caneta do equipamento posicionada perpendicularmente ao tecido e as irradiações foram realizadas sempre no mesmo horário.

5.3.3 Avaliações Funcionais

As avaliações foram iniciadas no período pré-cirúrgico, para que os dados servissem como linha de base para o estudo. Após 48 horas da CCI foram realizadas novas avaliações para comprovar a eficácia da cirurgia e durante os 90 dias de tratamento as avaliações eram realizadas a cada 15 dias. O total de avaliações ao longo de todo experimento foi de oito para cada grupo.

5.3.3.1 Hiperalgisia Térmica

O teste de placa quente é comumente utilizado para a avaliação de hiperalgisia térmica em camundongos. Os animais foram colocados sobre a placa aquecida (Hot Plate, Insight,

Brasil), a uma temperatura aproximada de 52°C e as respostas ao estímulo térmico (retirada e lambida das patas traseiras ou dianteiras), foram cronometradas [29]. O máximo de permanência sobre a placa é de 25 segundos.

5.3.3.2 Hiperalgisia Mecânica

Para a realização desta avaliação foi utilizado um equipamento apropriado denominado analgesímetro (Analgesímetro Randall Selito, Insight, Brasil), este é responsável por gerar um aumento linear da força (em gramas) sobre a superfície dorsal da pata do animal, até que o mesmo produza uma resposta caracterizada pela retirada da pata. O reflexo de retirada da pata é considerado representativo do limiar hipernociceptivo, ou seja, a força necessária aplicada à pata para que induza uma resposta aversiva a um estímulo nocivo. A força necessária para que esse animal exiba tal resposta é registrada em gramas [30].

5.3.4 Análise de β -endorfina

Para a dosagem de β -endorfina, foi realizada a coleta de amostras de sangue através da decapitação dos animais ao final do experimento. As amostras foram centrifugadas para separação de plasma e soro, sendo este utilizado para análise. Utilizou-se o kit *β -END ELISA* (MyBioSource, Califórnia, USA.), com placas de poliestireno com 96 cavidades de base cônica (Mybiosource, Califórnia, EUA), recobertas com fitas adesivas de acetato. Foram utilizadas pipetas multicanais automáticas de vários volumes, de 0,5 mL até 1000 mL, microtubos e cubetas de poliestireno foram utilizados para o preparo de soluções e transferência de volumes. Lavador de placas (Wellwach AC, Thermo Scientific®) e um leitor

de placas (Multiskan FC, Thermo Scientific®) também foram empregados. A absorbância para a β -endorfina referida foi mensurada através do leitor de microplacas a 450nm.

5.3.5 Análise estatística

Os dados foram processados pelo programa GraphPad Prisma, sendo representados em média e desvio padrão. Foi realizado o teste de Shapiro Wilk para normalidade. Foram realizadas análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas para avaliação intra-grupo e two-way para comparações entre os grupos. Foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Tukey ao final das análises. O nível de significância adotado foi de 5%.

5.4 Resultados

Os animais foram pesados e avaliados pelo teste da placa quente e Randall e Selitto antes da cirurgia. No dia seguinte, os animais foram submetidos à cirurgia de CCI e após 48 horas da cirurgia foram novamente pesados e avaliados demonstrando o surgimento de sintomas de hiperalgesia, alodínia e redução do peso corporal, além de apresentar uma tríplice flexão do membro afetado, o que caracteriza a existência da dor neuropática.

Nas avaliações de hiperalgesia térmica, realizadas pelo teste de placa quente, foi observado que o GP não apresentou melhora significativa da dor, sendo que a média obtida no período pré-cirúrgico foi de $19 \pm 6s$ e a maior média obtida durante todo o período experimental foi de $12,8 \pm 2,2s$, não havendo assim a restauração da sensibilidade. Os grupos GL10, GL20, GL40 apresentaram restauração completa da sensibilidade ao final do tratamento, porém no GL10 essa restauração foi observada somente a partir do 75º dia de

tratamento ($p < 0,05$), enquanto que os grupos GL20 e GL40 apresentaram melhora da dor e restauração completa da sensibilidade a partir do 30º dia ($p < 0,0001$) (Figura 1).

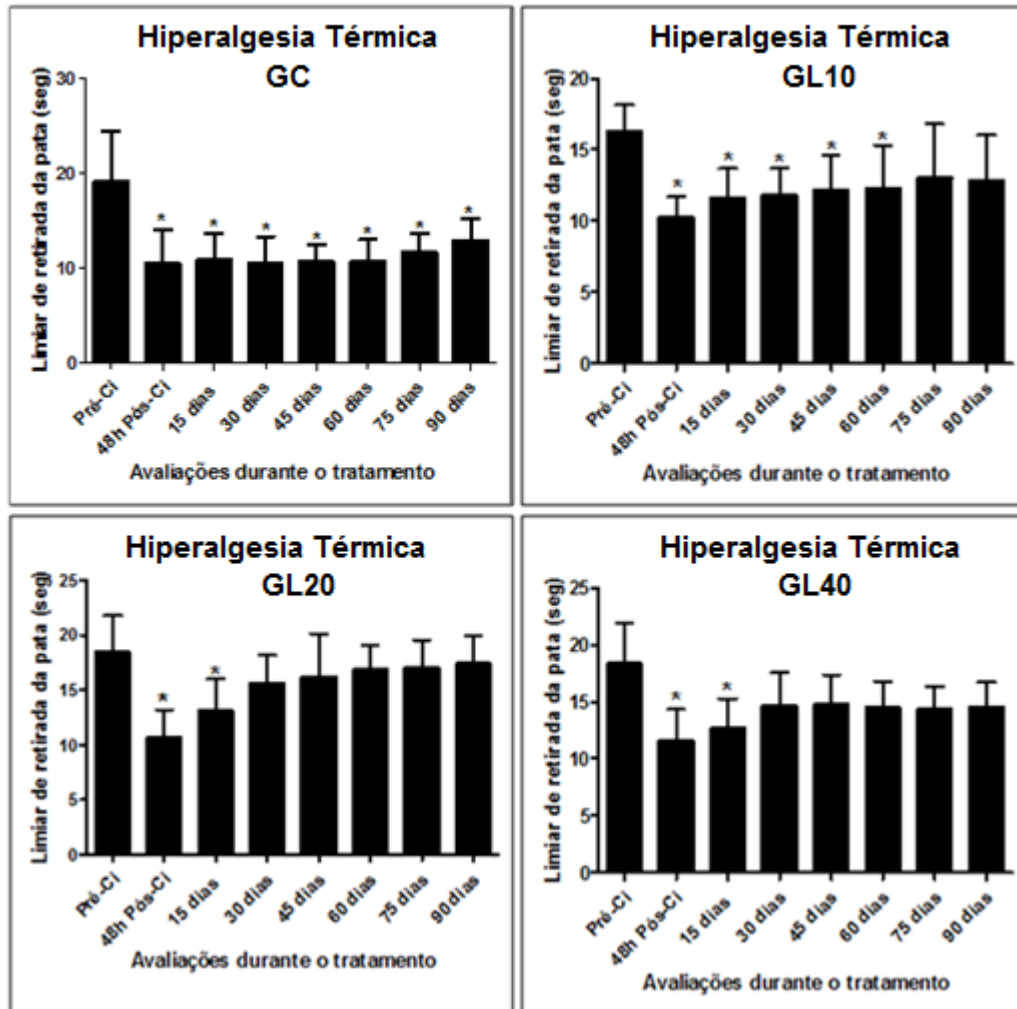


Figura 8: Avaliação de hiperalgesia térmica. Limiar de retirada da pata, mensurado em segundos (seg), dos grupos GP, GL10, GL20, GL40 durante o teste de Placa Quente nos períodos pré-cirúrgico (Pré-Ci), 48 horas após a cirurgia de CCI (48h Pós-Ci) e durante os 90 dias de tratamento em que as avaliações ocorriam a cada 15 dias. * diferença estatística significativa quando comparadas com o período pré-cirúrgico.

Em relação às avaliações de hiperalgesia mecânica, realizadas pelo teste de pressão de Randall e Selitto, também foram observadas melhora significativa da dor e diminuição dos sintomas de alodínia e hiperalgesia nos grupos GL10, GL20 e GL40, porém no grupo GL20, o

tratamento demonstrou efetividade a partir do 30º dia, no GL40 a partir do 45º dia de tratamento e no GL10 essa efetividade foi observada somente na última avaliação realizada. O GP não apresentou melhora dos sintomas, demonstrando a eficácia e duração da cirurgia durante todo o tempo do experimento (Figura 2).

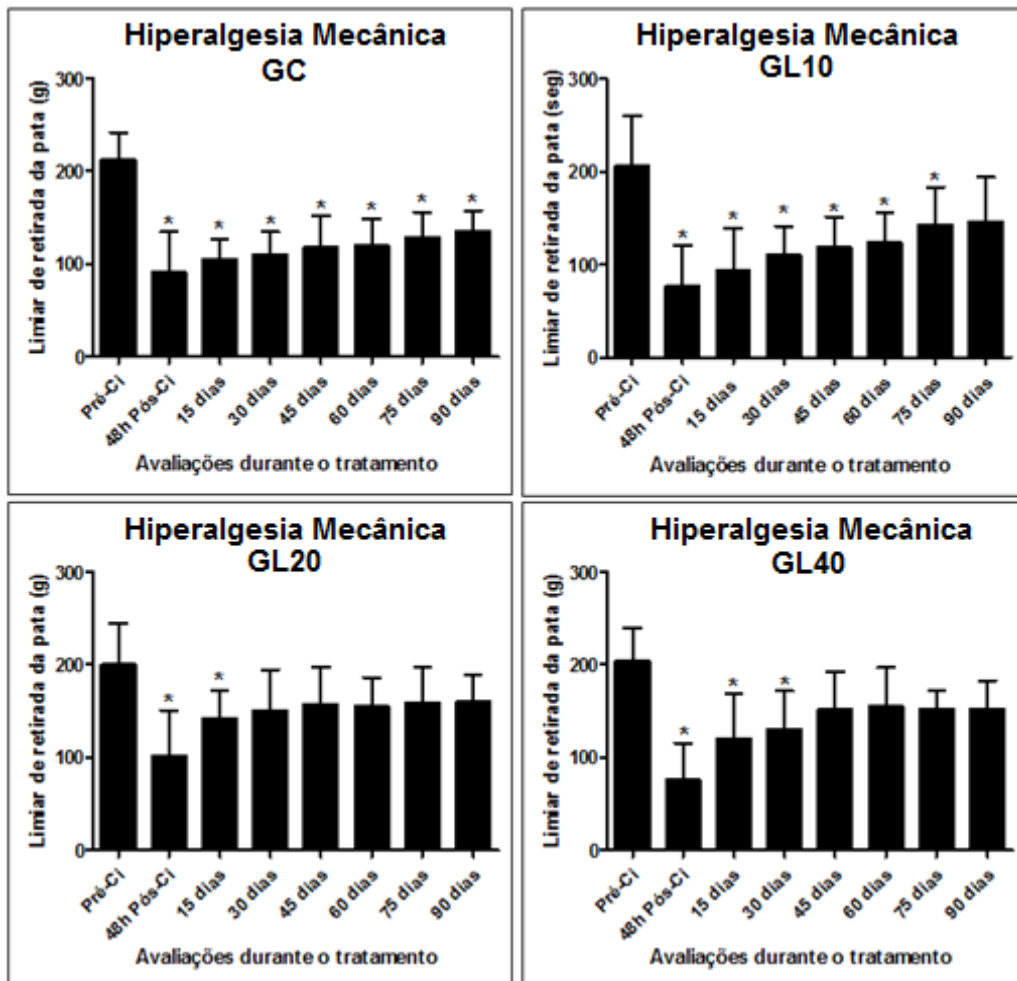


Figura 9: Avaliação de hiperalgesia mecânica; Limiar de retirada da pata, mensurado em gramas(g), dos grupos GP, GL10, GL20 e GL40, realizado pelo teste de pressão de Randall e Selitto nos períodos pré-cirúrgico (Pré-Ci), 48 horas após a cirurgia de CCI (48h Pós-Ci) e durante os 90 dias de tratamento em que as avaliações ocorriam a cada 15 dias. * diferença estatística significativa quando comparadas com o período pré cirúrgico.

O GS não apresentou alterações significativas dos dados em nenhum momento do experimento, tanto para o teste de hiperalgesia térmica, quanto para o de hiperalgesia mecânica (Figura 3).

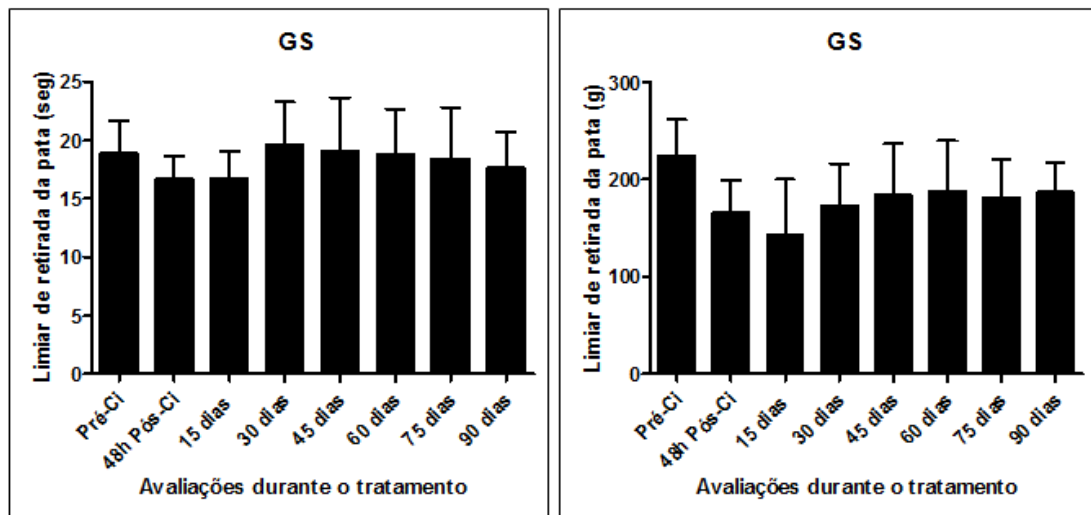


Figura 10: Limiar de retirada da pata, mensurado em segundos (seg) pelo teste de placa quente e mensurado em gramas(g) pelo teste de Randall e Selitto do grupo sham nos períodos pré-cirúrgico (Pré-Ci), 48 horas após a cirurgia de CCI (48h Pós-Ci) e durante os 90 dias de tratamento em que as avaliações ocorriam a cada 15 dias.

Nos resultados entre grupos nas avaliações nociceptiva, foram observadas melhora dos sintomas e restauração da sensibilidade significativas com a utilização da LLLT com fluências de 20 J/cm² e 40 J/cm², grupo GL20 e GL40 respectivamente. Entretanto não foram observadas diferenças significativas entre estas duas fluências de tratamento. Quando se comparou o GP na avaliação de hiperalgesia térmica e mecânica, os dados não demonstraram diferenças significativas em comparação com o GL10 em nenhum dos tempos avaliados, porém quando comparados com GL20 e GL40 foram observadas diferenças significativas a partir do 30º dia de tratamento, demonstrando assim a maior eficácia dos tratamentos dos grupos GL20 e GL40.

Vale ressaltar que no período pré-cirúrgico nenhum dos cinco grupos apresentaram diferenças significativas em nenhuma das avaliações, já no período pós-cirúrgico apenas o GS apresentou diferença significativa em relação aos demais grupos, evidenciando assim a eficácia da cirurgia de CCI nos demais grupos (Figura 4). Quando comparado os grupos ao final do experimento, nas avaliações nociceptiva, foi possível observar que o GS, GL10, GL20 e GL40, apresentaram resultados próximos aos valores do período pré-cirúrgico, evidenciando assim a eficácia da LLLT.

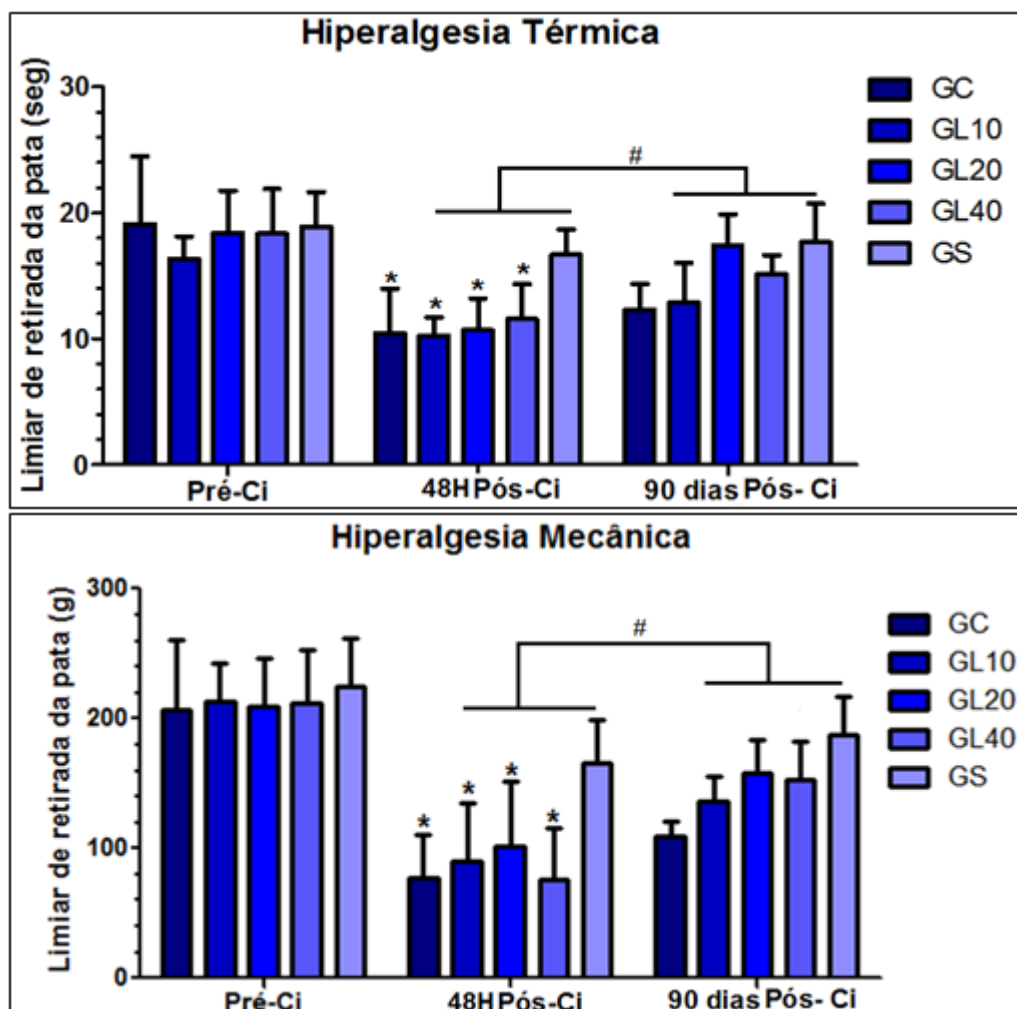


Figura 11: Avaliação de hiperalgésia térmica e mecânica nos momentos pré-cirúrgico, 48h pós-cirurgia e 90 dias pós-cirurgia para todos os grupos avaliados. * diferença significativa em relação ao período pré-cirúrgico; # diferença significativa do GS com os demais grupos.

De acordo com o ensaio de ELISA foi possível observar que quando comparado o GP com os demais grupos, todos apresentaram uma maior quantidade de β -endorfina, entretanto, somente o GL20 e o GL40 apresentaram um aumento estatisticamente significativo.

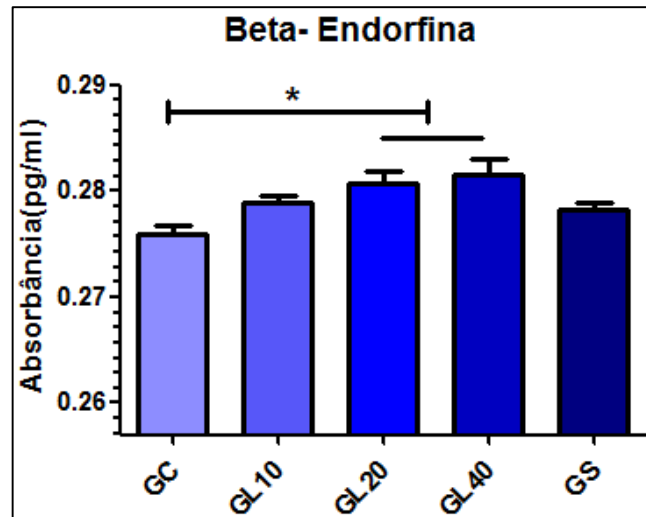


Figura 12: Absorvância (pg/ml) de β -endorfina encontrada através da análise de ELISA. * Diferença estatisticamente significativa do GL20 com o GP.

5.5 Discussão

Sabe-se que processos dolorosos, principalmente crônicos, reduzem drasticamente a qualidade de vida do indivíduo e a persistência dos sintomas podem causar reações emocionais negativas tornando-se debilitante e causadora de sofrimento [31]. O tratamento para esses processos vem sendo cada vez mais desafiador, assim, a procura por novas terapias complementares têm sido muito recorrente na literatura [32]. Recentemente, várias pesquisas têm investigado os mecanismos subjacentes aos efeitos de diferentes terapias, como manipulação articular [33]; acupuntura [34], massagem terapêutica [35] e fototerapia [36].

Os dados apresentados neste trabalho reforçam que a LLLT apresenta um importante efeito analgésico. Além disso, ampliamos os possíveis alvos pelos quais a LLLT atuaria no controle da dor.

O principal achado deste estudo foi que a LLLT, com um laser de 808 nm, age de forma efetiva na redução da dor neuropática, destacando que fluências mais altas são mais eficazes na promoção da analgesia. O fato da LLLT promover analgesia pode ser atribuído ao aumento da produção de β -endorfina, causada por essa terapia, principalmente em fluências mais altas, como apresentado em nosso estudo.

A literatura, atualmente, sugere que a LLLT possui ação efetiva na redução de processos dolorosos [26,37,20,38], destacando que os possíveis mecanismos de ação da LLLT na produção da analgesia podem ser atribuídos à modulação do processo inflamatório, alteração da excitação e da condução dos nervos periféricos e pela estimulação no aumento da síntese de endorfina [24,23,39].

Hagiwara *et al.*, (2008) [40] discutiram em seu estudo os possíveis mecanismos de ação da LLLT sobre a analgesia, destacando que os mecanismos de ação da dor não podem ser relacionados somente ao sistema nervoso central, mas também ao sistema nervoso periférico, relatando que a LLLT age de forma positiva em ambos os sistemas. Os resultados do estudo Hagiwara *et al.*, (2008) [40] demonstraram que a LLLT foi capaz de exercer além de uma ação antiinflamatória a estimulação de opióides periféricos como a β -endorfina apresentando uma ação analgésica significativa. Os dados do trabalho de Hagiwara *et al.*, (2008) [40] corroboram com nosso estudo, uma vez que os grupos tratados com a LLLT, principalmente com fluências mais altas (20J/cm² e 40J/cm²) apresentaram uma maior expressão de β -endorfina no sangue, sendo estes mesmos grupos os que apresentaram melhora significativa da dor confirmado pelas avaliações funcionais.

Yamamoto *et al.*, (1988) [41] foram uns dos primeiros autores a discutirem a ação da LLLT na dor neuropática na literatura, demonstrando que a ação dessa terapia pode estar relacionada ao fato do laser estimular uma maior produção de endorfinas, provocando assim uma significativa analgesia, assim como encontrado em nosso estudo.

Karu (1989) [26] sugere que a eficácia da LLLT está intensamente relacionada a aplicação da fluência adequada, relatando que altas fluências podem gerar danos ao tecido e que fluências baixas podem não produzir efeitos. Assim, acredita-se que o estabelecimento das fluências empregadas para tratamentos devem possuir grande rigor científico. Dessa forma, esse trabalho buscou identificar a fluência mais efetiva para a diminuição da dor neuropática, relatando que fluências entre 20 J/cm² e 40 J/cm² promovem analgesia significativa.

Do mesmo modo, Bertolini *et al.*, (2011) [42] apresentaram um estudo com animais submetidos a compressão do nervo isquiático e posteriormente tratados com a LLLT, com diferentes fluências, 4 J/cm² e 8 J/cm², para redução da dor. Os resultados demonstraram que a LLLT foi eficaz para redução da dor, destacando que a fluência mais alta, conseqüentemente com maior energia, apresentou uma melhora superior a outra dose utilizada, assemelhando-se assim ao nosso estudo, em que as fluências de 20 J/cm² e 40 J/cm² apresentaram respostas mais positivas quando comparadas a fluência de 10J/cm².

Outro estudo realizado por Jameie *et al.*, (2014) [27], utilizaram a LLLT na tentativa de reduzir a dor em animais submetidos a cirurgia de CCI, sendo aplicada uma energia de 0,9 J por ponto e para a avaliação de dor os mesmos testes apresentados em nosso estudo. Os resultados obtidos corroboram com nosso estudo uma vez que os animais tratados pela LLLT apresentaram melhora significativa da dor ao final do experimento. Vale ressaltar que apesar da fluência utilizada por Jameie *et al.*, (2014) [27] não ser próxima a de nosso estudo, a energia aplicada pelo fluência de 8 J/cm² foi de 0,9J, e em nosso estudo a energia aplicada

pelas fluências de 20 J/cm² e 40 J/cm², foram de 0,5J e 1,1J, sendo essas as que apresentaram melhores resultados nas avaliações.

Através dos dados apresentados é possível relatar, que apesar da fluência ser um fator de grande importância no momento de se estabelecer um tratamento, o conhecimento da energia que será aplicada é fundamental na determinação dos parâmetros da LLLT, atribuindo a ação do laser à energia aplicada.

A LLLT em diferentes fluências pode reduzir significativamente processos dolorosos como os produzidos pela neuropatia, atuando na estimulação da liberação de beta-endorfina, sendo esse um neurotransmissor responsável pela analgesia [43,44]. Entretanto, a comparação de estudos sobre a LLLT na redução da dor, em especial da neuropática, ainda é difícil, uma vez que os parâmetros dosimétricos são muito distintos, além do detalhamento destes nem sempre serem apresentados, dificultando assim sua reprodução para tratamento [42, 45]. Assim sugere-se que estudos futuros, com maiores detalhamentos, sejam realizados para elucidar esta questão além da investigação de maiores fluências na tentativa de otimizar a diminuição/controlar a dor neuropática.

5.6 Conclusão

De acordo com os dados apresentados, é possível concluir que a LLLT, 808nm, atua de forma positiva na diminuição e controle da dor neuropática, destacando que fluências mais altas, como 20 J/cm² e 40J/cm², são mais eficazes, além de, estimularem uma maior produção de β -endorfina.

5.7 Referências

1. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*. 2001; 413, 203-10.
2. Dworkin, RH, et al. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. *Mayo Clinic proceedings*. Mayo Clinic. 2010; 85(3):3-14.
3. Besson JM. The neurobiology of pain. *Lancet*. 1999 May 8;353(9164):1610-5.
4. Urban MO, Gebhart GF. Supraspinal contributions to hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul 6;96(14):7687-92.
5. Costigan M, Scholz, J, Woolf JC. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Rev Neurosci*, n.32, p. 1-32, 2009.
6. Dickenson A; Suzuki R, Targets. In *Pain And Analgesia*. In: Hunt, S.P.; Koltzenburg, M. *The neurobiology of pain*. Ed. Oxford University Press. New York, 2005.
7. Hunt SP, Bester H. The ascending pain pathways. In: HUNT, S.P.; KOLTZENBURG, M. *The neurobiology of pain*. Ed. Oxford University Press. New York. 2005; (115-137).
8. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988 Apr;33(1):87-107.
9. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain*. 1990 Nov;43(2):205-18
10. Liu CN, Wall PD, Ben-Dor E, Michaelis M, Amir R, Devor M. Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury. *Pain*. 2000 Apr;85(3):503-21.
11. Nitanda A, Yasunami N, Tokumo K, Fujii H, Hirai T, Nishio H. Contribution of the peripheral 5-HT 2A receptor to mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. *Neurochem Int*. 2005 Nov;47(6):394-400.
12. Gerard E, Spengler RN, Bonoiu AC, Mahajan SD, Davidson BA, Ding H, et al. Chronic constriction injury-induced nociception is relieved by nanomedicine-mediated decrease of rat hippocampal tumor necrosis factor. *Pain*. 2015 Jul;156(7):1320-33.
13. Mika J, Jurga AM, Starnowska J, Wasylewski M, Rojewska E, Makuch W, et al. Effects of chronic doxepin and amitriptyline administration in naive mice and in neuropathic pain mice model. *Neuroscience*. 2015 May 21;294:38-50.
14. Kim KJ, Yoon YW, Chung JM. Comparison of three rodent neuropathic pain models. *Exp Brain Res*. 1997 Feb;113(2):200-6.

15. Reis FJ, Rocha NP. Efeito analgésico de longa duração da dipirona sobre a hiperalgesia persistente induzida pela constrição do nervo isquiático em ratos: participação do óxido nítrico. *Rev. Bras. Cienc. Farm., São Paulo.* 2006; 42 (2) 513-522.
16. Colleoni M, Sacerdote P. Murine models of human neuropathic pain. *Biochim Biophys Acta.* 2010 Oct;1802(10):924-33.
17. Serpell MG. Gabapentin in neuropathic pain syndromes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Pain.* 2002 Oct;99(3):557-66.
18. Meier T, Wasner G, Faust M, Kuntzer T, Ochsner F, Hueppe M, et al. Efficacy of lidocaine patch 5% in the treatment of focal peripheral neuropathic pain syndromes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pain.* 2003 Nov;106(1-2):151-8.
19. Schestatsky P, Llado-Carbo E, Casanova-Molla J, Alvarez-Blanco S, Valls-Sole J. Small fibre function in patients with meralgia paresthetica. *Pain.* 2008 Oct 15;139(2):342-8.
20. Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *Lancet.* 2009 Dec 5;374(9705):1897-908.
21. Lorenzini L, Giuliani A, Giardino L, Calza L. Laser acupuncture for acute inflammatory, visceral and neuropathic pain relief: An experimental study in the laboratory rat. *Res Vet Sci.* 2010 Feb;88(1):159-65.
22. Meireles A, et al . Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em joelho de ratos Wistar. *Rev. dor, São Paulo.* Jun 2012; 13 (2).
23. Laakso EL, Cabot PJ. Nociceptive scores and endorphin-containing cells reduced by low-level laser therapy (LLLT) in inflamed paws of Wistar rat. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb;23(1):32-5.
24. Bjordal JM, Baxter wwwGD. Ineffective dose and lack of laser output testing in laser shoulder and neck studies. *Photomed Laser Surg.* 2006 Aug;24(4):533-4;
25. Campana EA, et al. The relative effects of He Ne laser and meloxicam on experimentally induced inflammation. *Laser Therapy.* 1999; 11(1):36-41.
26. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B.* 1999 Mar;49(1):1-17
27. Jameie SB, Masoumipour M, Janzadeh A, Nasirinezhad F, Kerdari M, Soleimani M. Combined therapeutic effects of low power laser (980nm) and CoQ10 on Neuropathic Pain in adult male rat. *Med J Islam Repub Iran.* 2014; 28:58.
28. Masoumipour M, Jameie SB, Janzadeh A, Nasirinezhad F, Soleimani M, Kerdary M.

- Effects of 660- and 980-nm low-level laser therapy on neuropathic pain relief following chronic constriction injury in rat sciatic nerve. *Lasers Med Sci.* 2014 Sep;29(5):1593-8.
29. Kuraishi Y, et al. Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algesic tests. *Brain Research.* 1983; 273: 245-252.
 30. Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1957 Sep 1;111(4):409-19.
 31. Griffis, CA; Compton, P; Doering, L. The effect of pain on leucocyte cellular adhesion molecules. *Biological Research Nursing.* 2006; 7(4)297-312.
 32. Dray, A. Neuropathic pain: emerging treatments. *British Journal of Anaesthesia.* 2008; 101(1) 48-58.
 33. Martins, D. F. et al. Ankle Joint Mobilization Affects Postoperative Pain Through Peripheral and Central Adenosine A1 Receptors. *Phys Ther,* Jan 10 2013.
 34. Ward, U.; Nilsson, U. G. Acupuncture for postoperative pain in day surgery patients undergoing arthroscopic shoulder surgery. *Clin Nurs Res* 2013; 22(1):130-136.
 35. Mitchinson, A. R. et al. Acute postoperative pain management using massage as an adjuvant therapy: a randomized trial. *Arch Surg.* 2007; 142(12):1158-1167.
 36. Cidral-Filho et al. Light-emitting diode therapy induces analgesia in a mouse model of postoperative pain through activation of peripheral opioid receptors and the L-arginine/nitric oxide pathway. *Lasers Med Sci.* 2014; 29:695-702.
 37. Gur A, Karakoc M, Cevik R, Nas K, Sarac AJ. Efficacy of low power laser therapy and exercise on pain and functions in chronic low back pain. *Lasers Surg Med.* 2003;32(3):233-8.
 38. Medalha CC, Di Gangi GP, Barbosa CB, Fernandes M, Aguiar O, Faloppa F, et al. Low-level laser therapy improves repair following complete resection of the sciatic nerve in rats. *Lasers Med Sci.* 2012 May;27(3):629-35.
 39. Yan W, Chow R, Armati PJ. Inhibitory effects of visible 650-nm and infrared 808-nm laser irradiation on somatosensory and compound muscle action potentials in rat sciatic nerve: implications for laser-induced analgesia. *J Peripher Nerv Syst.* 2011 Jun;16(2):130-5.
 40. Hagiwara S, Iwasaka H, Okuda K, Noguchi T. GaAlAs (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Lasers Surg Med.* 2007 Dec;39(10):797-802.
 41. Yamamoto H, Ozaki A, Iguchi N, Kinoshita S. Antinociceptive effects of laser irradiation of Hoku point in rats. *Pain Clin.* 1988;8:43-48

42. Bertolini GR, Artifon EL, Silva TS, Cunha DM, Vigo PR. Low-level laser therapy, at 830 nm, for pain reduction in experimental model of rats with sciatica. *Arq Neuropsiquiatr.* 2011;69(2b):356-9.
43. Matera JM; Tatarunas AC; Oliveira SM. Uso do laser arseneto de gálio (904nm) após excisão artroplástica da cabeça do fêmur em cães. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2003; 18(2): 102-106.
44. Chavantes MR. *Laser em biomedicina princípios e prática: guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas.* Atheneu São Paulo, 2009.
45. Khamseh Me, Kazemikho N, Aghili R, Forough B, Lajevardi M, Dabaghian Fh, Goushegir A, Malek M: Diabetic distal symmetric polyneuropathy: effect of low-intensity laser therapy. *Lasers in medical science* 2011; 26(6):831–835.

PARTE III

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

7 REFERÊNCIAS

ANEXOS

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Através das análises e dos resultados obtidos em nossos estudos, foi possível concluir que:

- A LLLT, 808nm, nas fluências de 20J/cm² e 40J/cm² apresentaram resultados positivos no controle da dor neuropática, uma vez que apresentou um aumento do limiar nociceptivo demonstrados pelos testes de hiperalgesia térmica e mecânica, sugerindo uma analgesia significativa.
- A LLLT, nas condições estudadas, demonstraram que fluências mais altas, atuam de forma eficaz no aumento da produção de β -endorfina, sugerindo a diminuição da dor neuropática pela estimulação na produção deste neurotransmissor.
- A LLLT é capaz de reduzir progressivamente a dor neuropática, inclusive quando cronicada, demonstrando a “não acomodação” da terapia.
- Aumentou a latência de retirada da pata no teste de placa quente, possivelmente evidenciando uma ação central.

Apesar da LLLT ser uma técnica muito discutida na literatura para o tratamento de dor, em especial a neuropática, há uma grande discrepância entre os parâmetros utilizados, além da falta de detalhamento destes, o que dificulta o estabelecimento de protocolos eficazes para o tratamento clínico. Assim, sugere-se que estudos futuros, cuja construção seja longitudinal, sejam realizados de forma mais detalhada em relação as técnicas e aos parâmetros de aplicação, para que protocolos mais eficazes possam ser aplicados. Além disso, esses trabalhos devem explorar as possíveis maneiras que a LLLT pode atuar na tentativa de promover analgesia em indivíduos com dor neuropática.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ALEY, K.O.; REICHLING, D.B.; LEVINE, J.D. **Vincristine hyperalgesia in the rat: a model of painful vincristine neuropathy in humans.** Neuroscience, v. 73, n. 1, jul. 1996
- ASSIS, T. O.; SOARES, M. S.; VICTOR, M. M. **O uso do laser na reabilitação dos desordens temporomandibulares.** Fisioter. mov., Curitiba , v. 25, n. 2, June 2012
- BACKONJA, M. M. **Defining neuropathic pain.** Anesthesia & Analgesia, v. 97, n. 3,p. 785, 2003.
- BACKONJA, M.M. **Use of anticonvulsivants for treatment of neuropathic pain.** Neurology. 50, v. 5, p 14-17, 2002.
- BASBAUM, A. I. et al. **Cellular and molecular mechanisms of pain.** Cell, v. 139, n. 2, p. 267-84, Oct 16 2009.
- BASBAUM, A. I.; JESSEL, T. M. **The perception of pain.** In: KANDEL, E. R.; SCHARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. (eds). Principles of neural science. 4. ed. New York: McGraw-Hill, p. 472-491, 2000
- BAXTER, G. A. J. **Therapeutic lasers: Theory and practice.** London: Churchill Livingstone, 1995.
- BAXTER, G.D. **Therapeutic lasers: theory and practice.** United States of America: Ed. Churchill Livingstone, 1997.
- BENBOUZID, M.; PALLAGE, V.; RAJALU, M.; et al.. **Sciatic nerve cuffing in mice: A model of sustained neuropathic pain.** European Journal of Pain. Article in press, 2007.
- BENNETT, G.J.; XIE, Y.K. **A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man.** Pain., 1988.
- BERTOLINI, G.R.F.; ARTIFON, E.L.; SILVA, T.S.; CUNHA, D.M.; VIGO, P.R. **Low-level laser therapy, at 830 nm, for pain reduction in experimental model of rats with sciatica.** Arq Neuropsiquiatr. 69(2-B): 356-359, 2011.
- BESSON, J. M. **The neurobiology of pain.** The Lancet, v. 353(9164), p. 1610-15, 1999.
- CAMPANA, E.A.; MOYA, M.; GAVOTTO, A.; JURI, H.; PALMA, J.A. **The relative effects of He Ne laser and meloxicam on experimentally induced inflammation.** Laser Therapy, 11(1):36-41, 1999.
- CHAVANTES, M.R. **Laser em bio-medicina princípios e prática : guia para iniciantes, pesquisadores e discentes na área de saúde e exatas.** Atheneu São Paulo, 2009.
- CHIANG, C.Y. et al. **Role of Astrocytes in Pain.** Neurochem Res. 37, 2012.

CHONG, M. S.; BAJWA, Z. H. **Diagnosis and treatment of neuropathic pain.** J Pain Symptom Manage, v. 25, n. 5 Suppl., May 2003.

CHOW R.T., LOPES -MARTINS R., JOHNSON M., BJORDAL J.M. **Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised, placebo and active treatment controlled trials.** Lancet 374, 1897-1908, 2009.

COLLEONI, M., SACERDOTE, P. **Murine models of human neuropathic pain.** Biochim. Biophys., 924-933, 2010.

COSTA, B.; TROVATO, A.E.; COLLEONI, M.; GIAGNONI, G.; ZARINI, E.; CROCI, T. **Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR141716, on nociceptive response and nerve demyelination in rodents with chronic constriction injury of the sciatic nerve.** Pain. 116, pp. 52–6, 2005.

CRAIG, J.C., ROLLMAN, G.B. **Somesthesia.** Annu Rev Psychol. 50: 305-31, 1999.

DAVIS, M. P. **What is new in neuropathic pain?** Support Care Cancer, v. 15, n. 4, p. 363-72, Apr 2007.

DICKENSON, A.; SUZUKI, R. **Targets in pain and analgesia.** In: HUNT, S.P.; KOLTZENBURG, M. **The neurobiology of pain.** Ed. Oxford University Press. New York, 2005.

FINNERUP, N. B. et al. **Pain and dysesthesia in patients with spinal cord injury: A postal survey.** Spinal Cord, v. 39, n. 5, p. 256-62, May 2001.

GONCALVES, R.B. et al . **Efeitos da aplicação do laser de baixa potência na regeneração do nervo isquiático de ratos.** Fisioterapia Pesquisa, São Paulo , v. 17, n. 1, mar. 2010.

GUIRRO, E.C.O.; GUIRRO, R.R.J. **Fisioterapia Dermato Funcional: fundamentos, recursos, patologias.** Manole . São Paulo, 2004

HAWKINS, D; ABRAHAMSE, H. **Phototherapy - a treatment modality for wound healing and pain relief.** African Journal of Biomedical Research. 10; 99 – 109, 2007.

HUNT, S.P.; BESTER, H. **The ascending pain pathways.** In: HUNT, S.P.; KOLTZENBURG, M. **The neurobiology of pain.** Ed. Oxford University Press. New York: p.115-137, 2005.

JESSELL, T.M., KELLEY, K.W. **Pain and analgesia.** In: KANDELL, E.R.S, SCHWATZ, J.H.; JESSEL, T.M., editor. Principles of Neural Science; p. 385-99, 1991.

JULIUS, D.;BASBAUM, A.I. **Molecular mechanisms of nociception.** Nature. 413, 203-10, 2001.

KARU, T. **Primary and secondary mechanisms of action of visible-to-near IR radiation on cells.** J Photochem Photobiol B, 49(1):1-17, 1999.

KARU, T.I. **Photobiological fundamentals of low-power laser therapy**. IEEE J. Quant. Electr., v. QE-23, n. 10, p. 1703-17, 1987.

KARU, T.I. **Photobiology of low-power laser therapy**. London: Harwood Academic Publishers, 1989.

KAUPPILA, T. **Correlation between autotomy-behavior and current theories of neuropathic pain**. Neurosci. Biobehav. Rev., v. 23, n. 1, p. 111 - 129, 1998

KIM, K.J.; YOON, Y.W.; CHUNG, J.M. **Comparison of three rodent neuropathic pain models**. Exp Brain Res. 1997

KITCHEN, S.S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. São Paulo: Ed. Manole Ltda, p. 191-210,1996.

KOTZENBURG, M. **Mechanisms of peripheral neuropathic pain**. In: HUNT, S.P.; KOLTZENBURG,M. **The neurobiology**. Ed. Oxford University Press. New York: p.115-137, 2005.

KUJAWA, J. et al. **The analgesic effectiveness of laser therapy in patients with gonarthrosis: an evaluation**. Ortop Traumatol Rehabil, v. 6, n. 3, p. 356-66, Jun 30 2004.

KURAIISHI, Y. et al. **Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algesic tests**. Brain Research., 273: 245-252, 1983.

LEONARD, G. et al. **Evidence of descending inhibition deficits in atypical but not classical trigeminal neuralgia**. Pain, v. 147, n. 1-3, p. 217-23, Dec 15 2009.

LIU, C.N.; WALL, P.D.; BEN-DOR, E.; MICHAELIS, M.; AMIR, R.; DEVOR, M. **Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury**. Pain, v. 85, n. 3, p. 503 – 521, apr. 2000.

LONGO, L.; MESTER, A. **Present and future of laser cicatrization**. In: Proceeding 2nd Congress World Association for Laser Therapy. Kansas City, Missouri, USA, September 2-5, p. 10-1,1998.

LORENZINI, L., GIULIANI, A., GIARDINO, L., CALZA, L.. **Laser acupuncture for acute inflammatory, visceral and neuropathic pain relief: an experimental study in the laboratory rat**. Res Vet Sci; 88:159–65, 2010

LOW, L.; REED, A. **Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática**. 3a ed., Barueri-SP: Ed.Manole Ltda, 2001.

MACHELSKA, H. **Dual peripheral actions of immune cells in neuropathic pain**. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), v. 59, n. 1, p. 11-24, Feb 2011.

MAVES, T.; PECHMAN, P.;GEBBARG, T; MELLE, S. **Possible chemical contribution from chronic gut sutures produces disorders of pain sensation like those seen in man** Pain, 54, 1993.

MEDALHA, C. C.; DI GANGI G. C.; BARBOSA, C. B.; FERNANDES, M.; AGUIAR, O.; FALOPPA, F.; LEITE, V. M.; RENNO A. C. M. **Low-level laser therapy improves repair following complete resection of the sciatic nerve in rats.** *Lasers Med Sci* 27:629–635, 2012.

MEIRELES, A. et al . **Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em joelho de ratos Wistar.** *Rev. dor, São Paulo* , v. 13, n. 2, June 2012 .

MERSKEY H, BOGDUK N. **Classification of chronic pain.** Seattle: IASP Press, 1994.

MILLAN, M.J. **The induction of pain: an integrative review.** *Prog. Neurobiol.* 57, 1-164, 1999.

ORTIZ, M.C.S., et al. **Laser de baixa intensidade: principios e generalidades- part1.** *Fisiot. Brasil*, v. 2, n.4, p. 221-40, 2001.

OSSIPOV, M. H. et al. **Lack of involvement of capsaicin-sensitive primary afferents in nerve-ligation injury induced tactile allodynia in rats.** *Pain*, v. 79, n. 2-3, p. 127-33, Feb 1999.

PINTO, L. G. et al. **Evidence for the involvement of glutamatergic and GABAergic systems and protein kinase A pathway in the antinociceptive effect caused by p-methoxy-diphenyl diselenide in mice.** *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 88: 487-496, 2008.

PISERA, D. **Fisiologia da dor.** In: *Dor avaliação e tratamento em pequenos animais.* Otero PE. São Paulo: Interbook; 2005. p. 30-74.

RALDALL, L.O.; SELITTO, J.J. **A method for measurement of analgesia activity on inflamed tissue.** *Arch Inst Pharmacodyn*, 111:209-19, 1957

REIS, F. J.; ROCHA, N. P. **Efeito analgésico de longa duração da dipirona sobre a hiperalgesia persistente induzida pela constrição do nervo ciático em ratos: participação do óxido nítrico.** *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, São Paulo , v. 42, n. 4, 2006

REIS, L.M. **Avaliação da injeção na substancia cinzenta pariaquedutal de agonista serotoninérgico em camundongos submetidos á constrição crônica do nervo ciático: efeitos no teste de nocicepção e ansiedade.** 2011, 81p, Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

REIS, L.M., et al. **The influence os AsAlGa laser on the neuropathic pain-like syndrome in rats submitted to a perioheral nerve constrictive lesion.** *Revista DOR: Pesquisa, Clínica e Terapêutica.* 8(2): 1000-10009, 2007

RICHEIMER, S. H. et al. **Utilization patterns of tricyclic antidepressants in a multidisciplinary pain clinic: a survey.** *Clin J Pain*, v. 13, n. 4, p. 324-9, Dec 1997.

RUSSO, C.M.; BROSE, W.G. **Chronic pain.** *Annual Review Medicine.* 49:123-133, 1998.

SCHINDL, A., et al. **Direct stimulatory effect of low-intensity 670 nm laser irradiation on human endothelial cell proliferation.** Br J Dermatol 148, 334–336, 2003.

SCHESTATSKY, P. et al. **Small fibre function in patients with meralgia paresthetica.** Pain. 15;139 (2):342-8, Oct 2008.

SELTZER, Z.; DUBNER, R.; SHIR, Y. **A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury.** Pain, v. 43, n. 2, p. 205 – 218, nov. 1990.

SERAFIM K. G.G., et al. **Effects of 940 nm light-emitting diode (led) on sciatic nerve regeneration in rats.** Lasers Med Sci. 27:113–119, 2012.

SERRA, A.P.; ASHMAWI, H.A. **Influência da naloxona e metisergida sobre o efeito analgésico do laser em baixa intensidade em modelo experimental de dor.** Rev Bras Anesthesiol. 60(3):302-10, 2010.

SOBANKO, J. F.; ALSTER, T. S. **Efficacy of low-level laser therapy for chronic cutaneous ulceration in humans: a review and discussion.** Dermatol Surg, v. 34, n. 8, p. 991-1000, Aug 2008.

SOMERS, D.L.; CLEMENTE F.R. **High-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation alters thermal but not mechanical allodynia following chronic constriction injury of the rat sciatic nerve.** Arch Phys Med Rehabil. 79(11):1370-6, 1998.

SOMERS, D.L.; CLEMENTE F.R. **Transcutaneous electrical nerve stimulation for the management of neuropathic pain: the effects of frequency and electrode position on prevention of allodynia in a rat model of complex regional pain syndrome type II.** Phys Ther.86(5):698-709, 2006

SOUSA, F., et al. **Influência da irradiação do laser na regeneração nervosa em diferentes locais de tratamento.** Acta Ortopédica Brasileira. vol.17 no.6 São Paulo, 2009

THACKER, M. A. et al. **Pathophysiology of peripheral neuropathic pain: immune cells and molecules.** Anesth Analg 105:838–847, 2007.

TUNER, J.; HODE, L. **Low level laser therapy. Clinical practice and scientific background.** Sweden: Prima Books, 1999.

UEDA, H. **Molecular mechanisms of neuropathic pain-phenotypic switch and initiation mechanisms.** Pharmacol. Ther., 2006.

UEDA, H. **Molecular mechanisms of neuropathic pain-phenotypic switch and initiation mechanisms.** Pharmacol. Ther. 109: 57-77, 2006.

URBAN, M.O.;GEBHART, G.F..**Supraspinal contributions to hyperalgesia.**Proc Natl Acad Sci USA., 1999.

URBAN, R., et al. **Behavioral indices of ongoing pain are largely unchanged in male mice with tissue or nerve injury-induced mechanical hypersensitivity.** Pain. 152, 990-1000, 2011.

WIESENFELD-HALLIN, Z.; HAO, J.X.; XU, X.J. **Mechanisms of central pain.** In: JESEN, T.S.; TURNER, J.A.; WIESENFELD-HALLIN, Z. Proceedings of the 8th World Congress on Pain. IASP Press. 8: 575-89, 1997.

WOOLF CJ, COSTIGAN M. **Transcriptional and posttranslational plasticity and the generation of inflammatory pain.** Proc Natl Acad Sci U S A; 96(14):7723-30, 1999.

YEZIERSKI, R.P. **Pain following spinal cord injury: the clinical problem and experimental studies.** Pain, 68: 185-94, 1996.

ZHUO, M et al. **Neuronal and microglial mechanisms of neuropathic pain.** Molecular Brain. 4:31, 2011.

ZIMMERMANN, M. **Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals.** Pain. 16, 109-10, 1983.

ANEXO A

PARECER DO COMITE DE ÉTICA E PESQUISA DE USO ANIMAL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
Comissão de Ética no Uso de Animais
Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676
Fones: (016) 3351.8025 / 3351.9679
Fax: (016) 3351.8025
CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil
ceua@ufscar.br - www.propq.ufscar.br

Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais n° 026/2014

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos - CEUA/UFSCar APROVOU o projeto de pesquisa intitulado *Efeito do laser de baixa intensidade no controle da dor neuropática em modelo animal*, submetido pela pesquisadora Ana Laura Martins de Andrade.

São Carlos, 25 de setembro de 2014

Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

ANEXO B

SUBMISSÃO DO ESTUDO I

E-mail recebido no dia 23 de dezembro de 2015 do periódico “*Lasers in Medical Science*” apontando a submissão do artigo intitulado “*Use of low level laser therapy in controlling neuropathic pain: a systematic review*” (Estudo I)

● Acknowledgement of Receipt ★

● **Lasers in Medical Science** <em@editorialmanager.com>

Dez 23 em 5:00 AM ★

Para Ana Laura Andrade

Dear Mrs Andrade:

Thank you for submitting your manuscript, "Use of low level laser therapy in controlling neuropathic pain: a systematic review", to Lasers in Medical Science.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following web site:

<http://lims.edmgr.com/>

Your username is: AnaAndrade

Your password is: available at this link http://lims.edmgr.com/Default.aspx?pg=accountFinder.aspx&firstname=Ana+Laura&lastname=Andrade&email_address=anandrade90@yahoo.com.br

With kind regards,

The Editorial Office
Lasers in Medical Science