

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE DOIS TIPOS DE RAIOS LASER DE BAIXA POTÊNCIA E SEUS RESPECTIVOS EFEITOS SOBRE A REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA

A Comparative Study Between Two Types of Low-power Lasers and Their Respective Effects in Peripheral Nerve Regeneration

CAMARGO, Vanessa Marques¹
COSTA, Janaína¹
ANDRÉ, Edison Sanfelice²

Resumo

O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos da laserterapia de baixa potência sobre os processos de regeneração do tecido nervoso periférico em 18 ratos *Wistar* adultos onde se realizou o estrangulamento do nervo ciático. Para tal, realizaram-se aplicações consecutivas de *laser*, seguidas de análise funcional da marcha. Para o estudo comparativo dos possíveis efeitos dos emissores de *laser* HeNe (632,8nm) e AsGa (904nm), dividiu-se os animais operados em 3 grupos distintos (grupo HeNe na dose 9J/cm²; grupo AsGa na dose 4J/cm²; grupo “sham” (falso tratado). Esses animais foram avaliados pelo Índice Funcional do Ciático. As análises foram realizadas 24 horas, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a lesão do nervo. Ao serem feitas as comparações entre o IFC dos grupos HeNe x AsGa, HeNe x Sham e AsGa x Sham, observou-se que independente do tipo de *laser*, houve aceleração da recuperação funcional, embora os animais tratados com HeNe tenham demonstrado os melhores resultados. Assim, parece não existir uma relação direta entre o comprimento de onda do *laser*, a profundidade da lesão e a ação específica do *laser* na regeneração nervosa periférica.

Palavras-chave: Sistema Nervoso Periférico, Índice Funcional do Ciático, Laserterapia, AsGa, HeNe, Ratos.

¹ Fisioterapeutas formadas pela Universidade Regional de Blumenau (FURB). Laboratório de Fisioterapia Neurológica Experimental (LFNE) † *In memoriam*

² Universidade Regional de Blumenau – FURB. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Fisioterapia. Rua Antônio da Veiga, 140, sala J-105. 89010-971 – Blumenau, SC, Brasil. e-mail: sanfelice@furb.br
homepage: <http://home.furb.br/sanfelice>

Abstract

The objective of this study was to compare the effects of low-power laser therapy on the process of regeneration in peripheral nerve tissue in 18 adult *Wistar* in which there had been crushed the sciatic nerve. Consecutive applications of laser treatment were applied, followed by functional analysis of the gait. For the comparative study of the possible effects of laser emissions from HeNe (632.8nm) and AsGa (904nm), the animals operated were divided into three separate groups (group HeNe irradiated with 9J/cm²; AsGa irradiated with of 4J/cm² and a 'sham' group submitted to the application procedure but without laser irradiation). These animals were evaluated through Sciatic Function Index. Analyses were made at each 24 hours, 7, 14, 21, 28 35, and 42 days after the nerve lesion. After, comparisons were made between HeNe x AsGa, HeNe x Sham and AsGa x Sham, and it were observed that independent of the type of laser, there was accelerated functional recuperation, although the animals treated with HeNe had obtained better results. Thus, there does not seem to be a direct relationship between the wave length of the laser, the depth of the lesion and the specific laser in regeneration of peripheral nervous tissue.

Keywords: Peripheral Nervous System, Sciatic Function Index, Laser Therapy, AsGa, HeNe, Rats.

Introdução

As lesões nervosas periféricas constituem um problema de saúde importante. Embora ocorra recuperação na maioria dos casos, esse é um processo muito lento e freqüentemente incompleto (1,2). Nervos periféricos são altamente vulneráveis à pressão, e a quantidade do dano depende do nervo envolvido, da magnitude, do tipo de pressão e do tempo em que o nervo ficou comprimido. Se a quantidade e a duração da pressão forem leves, a maioria dos nervos se recuperará imediatamente ou logo após o trauma. Porém, se a pressão for intensa e de grande duração, a recuperação é prolongada e freqüentemente parcial (3).

Uma das causas da compressão nervosa é o estrangulamento, e diversos modelos animais têm sido utilizados como meios válidos de estudo dessa afecção neurológica (4,5). O resultado habitual depois de uma lesão é a degeneração axonal anterógrada e retrógrada dos neurônios correspondentes da medula espinhal, seguida por uma regeneração muito lenta ou até mesmo ausente (6). Numerosas tentativas têm sido realizadas para aumentar e/ou acelerar a recuperação dos nervos periféricos feridos e dentre elas destaca-se a irradiação laser de baixa potência (7).

O laser é um tipo de energia que pertence ao espectro das radiações eletromagnéticas, do mesmo modo que outros recursos utilizados na fisioterapia, tais como a diatermia por ondas curtas, microondas, irradiação ultravioleta, infravermelha, etc. Porém, o que o diferencia das demais formas de irradiação eletromagnética são as suas características de monocromaticidade (banda espectral muito estreita), coerência (paralelismo),

unidirecionalidade e alta concentração fotônica (8,9,10).

Baxter (8) relata que o laser pode interagir com o tecido irradiado de duas formas, afirmando que esta interação é, por definição, atérmica, ocorrendo por espalhamento nos diferentes tecidos, e pela absorção da luz incidente por um cromóforo (uma molécula capaz, por meio de suas configurações eletrônicas ou atômicas, de ser excitada por fótons incidentes). Por outro lado, Tunér e Hode (10) afirmam que se avaliarmos as dimensões microscópicas e moleculares, fica difícil imaginar que nesse nível não ocorra aquecimento do tecido bombardeado com laser, embora sua potência nominal esteja na grandeza dos miliwatts. Independentemente de qual hipótese fotoquímica ou fotobiológica seja a correta, inúmeros trabalhos têm fornecido fortes evidências de que a irradiação laser é capaz de promover a regeneração de diferentes tecidos biológicos, inclusive de neurônios (11).

Por esses motivos, a proposta do presente trabalho foi investigar os efeitos diretos das aplicações laser de baixa potência (AsGa e HeNe) sobre a regeneração do nervo ciático de ratos submetidos à axoniotmese, utilizando como referência o índice funcional do ciático, que é um instrumento válido para a quantificação da recuperação nervosa periférica.

A escolha desses dois lasers derivou do senso comum (no meio fisioterápico) que defende a hipótese regenerativa de tecidos superficiais pelo HeNe, e de tecidos mais profundos pelo AsGa. Além disso, talvez o aspecto mais interessante deste tipo de pesquisa em animais seja a revelação do potencial terapêutico demonstrado pela irradiação a laser como meio restaurador de nervos,

concomitantemente à recuperação funcional das estruturas (12,13).

Materiais e Métodos

Todos os procedimentos aqui descritos respeitaram os preceitos éticos postulados pelo OLAW/NIH (14) e foram aprovados pelo comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Regional de Blumenau (CEEA-FURB, protocolo n.º 014/03-B).

Foram utilizados 18 ratos *Wistar* adultos machos, (com peso entre 250 e 450g), fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Regional de Blumenau. Ao chegarem ao laboratório, os animais foram alojados em gaiolas individuais colocadas em ambiente com temperatura controlada (~22°C), ciclo claro-escuro de 12h (07h00-19h00 – fotoperíodo claro sob luz artificial) e receberam água e alimentação livremente. Os animais foram submetidos a um treinamento numa pista de caminhada por 10 dias consecutivos (10x cada animal), antecedentes aos procedimentos cirúrgicos, para facilitar a coleta das pegadas (para detalhes *vide* ref. 15). Os procedimentos cirúrgicos foram realizados com o objetivo de produzir uma lesão nervosa por esmagamento (axoniotmese) como segue: aplicação ip. de 0,1ml (dose fixa) de Cloridrato de xilazina solução aquosa a 2% de cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina (Rompun, Bayer) associada a 0,3ml/100g de cloridrato de cetamina (50mg/ml, Ketalar, Parke-Davis). Após a verificação do estado de consciência do animal (observada por meio do pinçamento da cauda e das pregas interdigitais), realizou-se a exposição do nervo ciático. Com o auxílio de uma pinça hemostática, procedeu-se o estrangulamento do referido nervo por 30 segundos. Em seguida foi realizada a assepsia com antisséptico local (Povidine,) e o fechamento do campo cirúrgico com fio mononylon 3-0. Ao final, os animais foram alojados em gaiolas individuais nas mesmas condições inicialmente descritas. Decorridas 24 horas de período pós-cirúrgico, começou-se a aplicação dos *lasers*. Para tal, utilizou-se um aparelho gerador de raios *laser* AsGa, da série *Laser Plus Standard New*, da marca KW (infravermelho - 904 nm, emissão pulsada, potência de pico de 25 W) e um gerador de *laser* HeNe (vermelho - 623,8nm, emissão contínua, potência nominal de 3 mW), da série LHN879 da marca KLD.

Para o estudo comparativo dos possíveis efeitos dos geradores de *laser* HeNe e AsGa, dividiu-se os animais operados em 3 grupos distintos (HeNe, n=6; AsGa, n=6; Sham, n=6). Os animais do grupo HeNe foram irradiados com uma dose de 9J/cm², em 5 pontos perpendiculares de acordo com o trajeto do nervo, durante 42 dias consecutivos, iniciando-se 24h após a lesão. O grupo AsGa foi irradiado com *laser* de AsGa na dose 4 J/cm², em 5 pontos perpendiculares de acordo com o trajeto do nervo, também durante 42 dias consecutivos, iniciando-se 24h após a lesão. O grupo “Sham” (falso tratado) sofreu estrangulamento do nervo ciático e foi submetido aos mesmos procedimentos de irradiação, mas com o aparelho desligado. As aplicações foram realizadas com os animais contidos firmemente pela mão do experimentador, envoltos em tecido de algodão. Após, os animais eram colocados numa pista de deambulação e caminhavam com suas patas posteriores impregnadas com tinta nanquim sobre papel milimetrado. Essas impressões foram obtidas 24 horas, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a cirurgia, dando origem às variáveis necessárias para o cálculo do índice funcional do ciático (IFC), coletadas com o auxílio de um paquímetro digital. A obtenção do IFC se deu por meio de uma fórmula desenvolvida por De Medinacelli, Freed e Wyatt (16), e alterada por Bain, Mackinnon e Hunter (17), que usa os seguintes parâmetros: o comprimento da pegada (PL), a largura total da pegada (TS, distância entre 1º e 5º artelho), e a largura interna da pegada (IT, distância entre 2º e 4º artelho), sendo precedidos pela letra “N” derivados da pata normal, e pela letra “E” derivados da pata lesionada:

$$\text{IFC} = - 38.3 (\text{EPL} - \text{NPL} / \text{NPL}) + 109.5 (\text{ETS} - \text{NTS} / \text{NTS}) + 13.3 (\text{EIT} - \text{NIT} / \text{NIT}) - 8.8$$

Este índice é utilizado como meio de quantificar a melhora funcional de modelos experimentais envolvendo o nervo ciático (18,19,20). Finalmente, os dados foram inseridos em planilha eletrônica e analisados quantitativamente (estatística descritiva, análise de variância e teste *t* de Student) em programa específico (Statistica, versão 5.5). Como nível de significância foi estabelecido o $p < 0,05$.

Resultados

Na tabela 1, observa-se que 24 horas após o ato cirúrgico, os valores de IFC estão próximos a -120% (perda funcional marcante), não havendo diferenças significantes, revelando homogeneidade do procedimento de estrangulamento entre os grupos. No 7º dia, o grupo Sham demonstrou uma média de IFC de -100,81%, o grupo AsGa de -89,45% e o grupo HeNe de -82,01%, não havendo diferenças estatísticas, apesar de as médias apontarem uma tendência de melhora para o grupo HeNe. No 14º dia, o grupo HeNe foi estatisticamente diferente dos demais, alcançando valores médios do IFC de -52,45%; o grupo AsGa alcançou valores médios de -79,44%, enquanto o grupo controle apresentou -84,55% de perda funcional. Exatamente na metade do tratamento (21º dia) os grupos AsGa e HeNe apresentaram-se com médias -26,98% e -18,97% respectivamente, enquanto que o grupo Sham se manteve com média de -51,30%. Apesar dessas diferenças, somente o gru-

po HeNe apresentou significância estatística em relação ao grupo Sham. No 28º dia, os valores globais de IFC continuaram diminuindo, mas com diferença somente entre os grupos Sham e HeNe (-29,28% e -9,76% respectivamente). Nesse mesmo dia, o grupo AsGa atingiu -11,22%, mas sem apresentar diferenças tanto com o grupo HeNe quanto com o grupo Sham. Com 35 dias de evolução, os grupos irradiados com *laser* (HeNe = -0,11%; AsGa = -3,86%) diferenciaram-se e também foram diferentes do grupo Sham (-15,75%). Na última etapa do estudo (42º dia), os grupos AsGa e HeNe mostraram valores de IFC significativamente diferentes do grupo Sham, porém sem exibir diferenças entre si (*vide*: tabela 1 e figura 1). Resumidamente, os dados do IFC, coletados durante 42 dias de experimentação, demonstraram que ocorreu recuperação funcional em todos os grupos estudados, apesar de ter sido possível observar que os animais irradiados com *laser* apresentaram os melhores resultados, com o grupo HeNe promovendo recuperação mais brevemente.

Tabela 1: tabela resumo dos resultados da ANOVA, média aritmética do IFC e do teste t de Student durante os 42 dias de experimentação. (*) Diferenças estatisticamente significantes.

| Tempo | ANOVA | Média | Teste t |
|----------|------------------------------------|---------------|--|
| 24 horas | [F(2, 15) = 0,05, $p = 0,85$] | Sham: -119,64 | Sham x AsGa - $t = -0,005$; $p = 0,99$ |
| | | AsGa: -119,59 | Sham x HeNe - $t = -0,8$, $p = 0,70$ |
| | | HeNe: -117,04 | AsGa x HeNe - $t = -0,24$, $p = 0,81$ |
| 7 dias | [F(2, 15) = 2,55, $p = 0,11$] | Sham: -100,81 | Sham x AsGa - $t = -1,58$, $p = 0,14$ |
| | | AsGa: -89,45 | Sham x HeNe - $t = -1,89$, $p = 0,86$ |
| | | HeNe: -82,01 | AsGa x HeNe - $t = -0,95$, $p = 0,36$ |
| 14 dias | [F(2, 15) = 11,79, $p = 0,0008$]* | Sham: -84,55 | Sham x AsGa - $t = -1,16$, $p = 0,27$ |
| | | AsGa: -79,44 | Sham x HeNe - $t = -4,17$, $p = 0,001$ * |
| | | HeNe: -52,45 | AsGa x HeNe - $t = -3,16$, $p = 0,01$ * |
| 21 dias | [F(2, 15) = 5,13, $p = 0,02$]* | Sham: -51,30 | Sham x AsGa - $t = -1,99$, $p = 0,73$ |
| | | AsGa: -26,98 | Sham x HeNe - $t = -4,70$, $p = 0,0008$ * |
| | | HeNe: -18,97 | AsGa x HeNe - $t = -0,68$, $p = 0,50$ |
| 28 dias | [F(2, 15) = 3,82, $p = 0,04$]* | Sham: -29,28 | Sham x AsGa - $t = -2,22$, $p = 0,50$ |
| | | AsGa: -11,22 | Sham x HeNe - $t = -3,00$, $p = 0,01$ * |
| | | HeNe: -9,76 | AsGa x HeNe - $t = -0,16$, $p = 0,87$ |
| 35 dias | [F(2, 15) = 7,09, $p = 0,006$]* | Sham: -15,75 | Sham x AsGa - $t = -2,29$, $p = 0,04$ * |
| | | AsGa: -3,86 | Sham x HeNe - $t = -3,14$, $p = 0,006$ * |
| | | HeNe: -0,11 | AsGa x HeNe - $t = -1,27$, $p = 0,22$ |
| 42 dias | [F(2, 15) = 19,61, $p = 0,0006$]* | Sham: -3,87 | Sham x AsGa - $t = -4,59$, $p = 0,0009$ * |
| | | AsGa: 3,46 | Sham x HeNe - $t = -5,32$, $p = 0,0003$ * |
| | | HeNe: 3,45 | AsGa x HeNe - $t = 0,009$, $p = 0,99$ |

Discussão

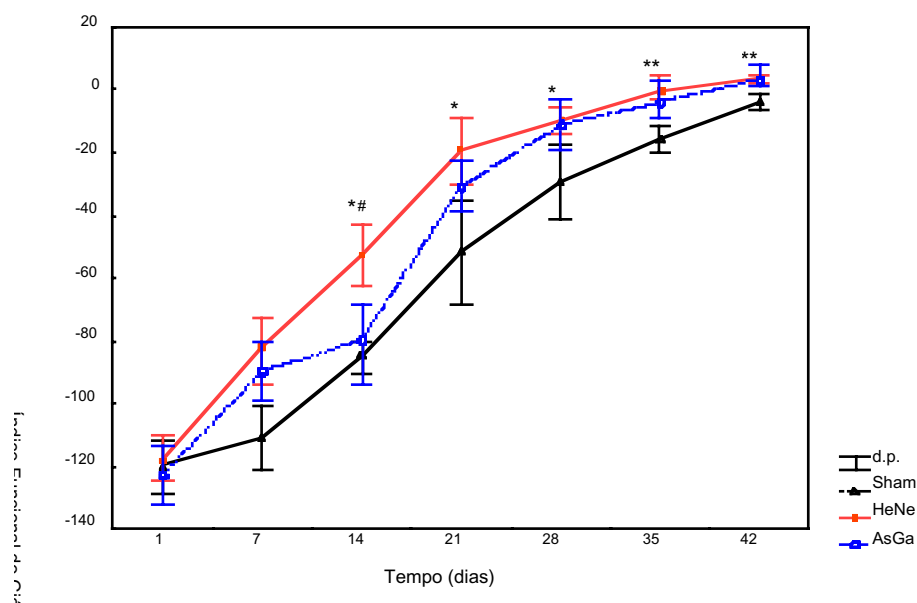
Revisões frequentes da literatura realizadas pela nossa equipe entre 2003 e 2005 não acusaram qualquer trabalho que tivesse comparado os efeitos dos lasers AsGa e HeNe sobre a regeneração nervosa periférica.

Neste estudo observou-se que aplicações diárias de laser de baixa potência (AsGa e HeNe) promovem aceleração do processo regenerativo do nervo ciático de ratos, com destaque para a irradiação HeNe que provocou melhora no IFC a partir do 14º dia após axoniotmese.

Uma provável explicação para os baixos valores IFC dos grupos no 7.º dia pós-lesão seria a ainda baixa interação dos lasers com o tecido neural durante os sete primeiros dias, não atingindo um limiar energético suficiente para desencadear reações observáveis sobre os tecidos. Essa suspeita está em consonância com o que descreveram Olson, Schimmerling e Tobias (21), que observaram o nível de excitabilidade neuronal de acordo com a densidade energética aplicada por um laser

de 694nm e concluíram que, aparentemente, existe um efeito crescente e cumulativo de energia, necessário para atingir um dado limiar e desencadear a resposta neuronal. Essa excitabilidade, que parece ser fundamental para a manutenção da viabilidade do coto proximal do axônio, decorre de uma interação bidirecional entre o axônio e o pericário, desencadeando respostas bioquímicas dependentes de uma série de substratos, inclusive energéticos (21). Nossos dados apontam para tal evidência, que pode ser constatada pelos dados obtidos no 14º (HeNe) e 21º dia (AsGa) após a lesão (figura 1). Outras evidências que corroboraram nossa suspeita foram publicadas por Buerger *et al.* (11). Esses autores avaliaram a ação das aplicações contínuas e intercaladas do laser de GaAlInP (diodo de Gálio-Alumínio-Índio-Fósforo, 658nm, 6 J/cm²) no processo de regeneração do nervo ciático estrangulado de ratos e demonstraram diferenças significantes entre as duas rotinas de aplicação, isto é, o grupo irradiado diariamente apresentou melhores resultados que o grupo irradiado intercaladamente.

Figura 1 : Gráfico comparativo entre as médias do índice funcional do ciático (IFC) dos três diferentes grupos ao longo de 42 dias após o estrangulamento do nervo ciático. *Legenda:* d.p. = desvio padrão; Sham = grupo falsamente irradiado; HeNe = grupo irradiado com laser HeNe; AsGa = grupo irradiado com laser AsGa. (*) Diferenças significantes em relação ao grupo Sham. (#) Diferenças significantes em relação ao grupo AsGa. $p < 0,05$.



Laakso et al. (22) relataram que a luz visível é melhor absorvida que aquelas com comprimentos de onda na faixa do infravermelho, mas devido à refração, à reflexão e à dispersão, os diferentes comprimentos de onda tornam-se difíceis de se localizar nas áreas restritas de tecido irradiado. Além disso, a especificidade de um pigmento pode afetar a penetração e a absorção do laser. Assim, as biomoléculas contidas num tecido irradiado com laser diferenciam-se de outras em seu espectro de absorção e, portanto, nos comprimentos de onda que elas podem absorver (8). Na mesma linha de raciocínio, Karu (23,24) defende que o comprimento da onda é mais importante que a monocromaticidade, devendo estar no espectro de absorção das moléculas fotoceptoras, as quais têm mostrado possuir uma estreita faixa de absorvância. Para Laakso et al. (22), tais moléculas são altamente específicas e isto pode ser visto no caso do laser com comprimento de onda curto (de 400nm a 700nm), que é altamente absorvido pela melanina, pela hemoglobina e pela mioglobina. Esses pesquisadores consideram que os comprimentos de onda infravermelhos têm pouca especificidade para esses fotoceptores e os primeiros meios absorventes são as proteínas e a água, consumindo ou desviando a energia que seria dirigida às estruturas mais profundas. Provavelmente por esse motivo a irradiação com AsGa tenha produzido efeitos tão tardiamente e a com HeNe mais brevemente.

De mesma importância que as substâncias citadas acima são os ácidos nucléicos e os aminoácidos. Os aminoácidos têm alta absorção na faixa intermediária do espectro ultravioleta (UV) e também nos comprimentos de onda menores que o UV, e os ácidos nucléicos têm seu espectro de absorção nas mesmas faixas dos aminoácidos além da região infravermelha (8). Em função dessas observações, seria de se esperar uma resposta regenerativa mais acentuada para as aplicações com AsGa, uma vez que ácidos nucléicos participam fortemente da síntese responsável pela produção das proteínas do citoesqueleto dos cones de crescimento axonal. No entanto, não foi possível observar tal resposta brevemente, tal qual o observado com as irradiações de HeNe. Talvez, por conta de as aplicações terem sido dirigidas especificamente à região estrangulada e imediações (cotos proximal e distal), e não sobre o pericário dos motoneurônios, os resultados do laser AsGa não

corroborem os apresentados na literatura, pelo menos nos períodos intermediários do estudo.

A respeito dos mecanismos gerais de ação dos lasers de baixa potência no processo inflamatório, alguns autores sugerem que certos cromóforos podem absorver fótons dessa forma de luz e acelerar a produção de ATP intracelular, que por sua vez pode modular favoravelmente a resposta inflamatória (25,26,27,28). Nesse sentido, podemos inferir que o comprimento de onda da radiação passa, sem sombra de dúvida, a ser um fator primordial para o efeito biológico observado, uma vez que tal modulação é fundamental para que as células de Schwann realizem a função de favorecer a expansão dos cones de crescimento axonal (29). Moléculas fotoceptoras componentes da cadeia respiratória são capazes de absorver energia da radiação laser entre 600nm e 700nm (e.g., citocromo-c-oxidase), aumentando a produção de AMPc intracelular e de ATP mitocondrial (24,28). Assim, acredita-se que o efeito regenerativo observado no 14º dia de aplicação de laser HeNe decorra dessa interação.

Adicionalmente, existem evidências que apontam para o fato de ocorrer estresse oxidativo, isto é, aumento na produção de oxigênio livre (ROS), produção de ânion superóxido (O_2^-) e alteração nas reações de redox, após irradiação laser de baixa potência (30). Entretanto, as reações acima postuladas não coadunam com os eventos relacionados ao processo de manutenção da sobrevivência e/ou regeneração nervosa, que são eventos altamente dependentes de respostas celulares que inibem a produção de radicais livres (31,32). Dessa forma, acreditamos que a regeneração nervosa produzida pelo laser HeNe a partir do 14º dia não depende do estresse oxidativo postulado por Karu (30).

Considerações finais

A regeneração nervosa periférica não é um simples processo linear de expansão dos prolongamentos axonais, mas sim uma integração de processos interativos dinâmicos, que provavelmente envolvem mediadores solúveis, elementos figurados do sangue, produção de matriz extracelular e de moléculas de atração e adesão celular, secreção de fatores tróficos e células parenquimatosas. Uma vez desencadeados, esses processos seguem em uma

seqüência e tempo específicos que devem ser levados em consideração, mesmo na aplicação de alternativas terapêuticas que não especificamente o laser. Essa janela temporal deve ser considerada em todos os casos, justificando a aplicação de laser o mais imediatamente possível, garantindo uma interação mais eficaz entre o laser e os tecidos irradiados, como já foi sugerido em outros trabalhos (7,33,34).

Com os dados aqui apresentados, é possível inferir que aplicações diárias de raio *laser* com comprimento de onda na faixa da luz vermelha visível, iniciadas 24 horas após a axoniotmese, favorecem o processo regenerativo do nervo ciático submetido ao estrangulamento, devendo ser conduzidas, pelo menos, até o 28º dia após a agressão ao nervo. A partir do exposto, concluiu-se que apesar de ter havido melhor recuperação em ambos os grupos irradiados, a mesma tendência de recuperação pôde ser vista no grupo Sham, revelando que a capacidade regenerativa do nervo após axoniotmese permanece ativa mesmo na ausência de procedimentos reconhecidamente favoráveis à recuperação. Finalmente, suspeitamos que com ajustamentos de protocolo terapêutico, a laserterapia possa ser indicada como recurso importante para potencializar os processos biológicos envolvidos com a recuperação de lesões nervosas periféricas *in anima nobile*.

Agradecimentos

Ao Departamento de Fisioterapia e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da FURB pelo apoio financeiro ao projeto, e à Secretaria de Educação do Estado de Santa Catarina pela bolsa de Iniciação Científica (Programa PIPE-2003/2004, art. 170) das acadêmicas Janaína Costa e Vanessa Marques Camargo.

Referências

1. Kierman Y. An experimentation of axonal regeneration in perinepheral nerves and its failure in the central nervous system. *Medical Hypothesis*. 1978;41: 15-26.
2. Rodríguez FJ, Valero-Cabré A, Navarro X. Regeneration and functional recovery following

- peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Models* 2004; 1(2): 177 - 185.
3. Ide C. Peripheral nerve regeneration. *Neuroscience Research* 1996; 25: 101-121,.
4. Groves MJ et al. Profile of adult rat sensory neuron loss, apoptosis and replacement after sciatic nerve crush. *Journal of Neurocytology* 2003;32: 113 - 122.
5. Jacob JM, Croes SA. Acceleration of outgrowth in motor axons from mature and old F344 rats after a conditioning lesion. *Experimental Neurology* 1998;152: 231 - 237.
6. Rochkind S et al. Stimulatory effect of HeNe low dose laser on injured sciatic nerves of rats. *Neurosurgery* 1987; 20 (6): 843-847.
7. Gigo-Benato D, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of literature. *Muscle & Nerve* 2005; 31: 694 - 701.
8. Baxter G. Therapeutic laser: therapy and practice. New York: Churchill-Livingstone; 1997.p. 1-21.
9. Colls J. La terapia laser hoy. Barcelona: Edición Centro Documentación Láser 1985 39-70.
10. Tunér J, Hode L. Laser Therapy: clinical practice and scientific background. Grangesberg: Prima; 2002.
11. Buerger C et al. Efeitos da laserterapia de baixa potência sobre os processos de regeneração do tecido nervoso periférico. *Fisioterapia em Movimento* 2004; 17 (2): 67-74.
12. Rochkind S, Rousso M, Nissan M. Systemic effects of low power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. *Lasers Surgery Medicine* 1989; 9: 174-182.
13. Khullar S, Brodin P, Messelt EB, Haanaes H. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. *European Journal of Oral Sciences* 1995; 5 (103): 299 - 305.
14. OLAW/NIH - Office of Laboratory Animal Welfare. Washington: Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook; 2002.

15. Varejão A et al. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat walking track analysis. *Journal of Neuroscience Methods* 2001; 108: 1-9.
16. De Medinacelli L, Freed W, Wyatt R. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Experimental Neurology* 1982; 77: 6634-643.
17. Bain J, Mackinnon S, Hunter R. Functional evaluation of complete sciatic peroneal and Posterior Tibial Nerve Lesions in the Rat. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1989; 83: 129-138.
18. Kanaya F, Firrel F, Breidenbach, W. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1996; 98: 1224-1271.
19. Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. *Experimental Neurology* 2001; 168: 192-195.
20. Kunkel-Bagden E, Hai-Ning D., Bregman, B. Methods to assess the development and recovery of locomotor function after spinal cord injury in rats. *Experimental Neurology* 1993; 119:153-164.
21. Olson JE, Schimmerling W, Tobias, CA. Laser action spectrum of reduced excitability in nerve cells. *Brain Research* 1981; 204: 436 – 440.
22. Laakso L, Richardson C, Cramond T. Factors affecting low level laser therapy. *Australian Physiotherapy* 1993; 39: 95-99.
23. Karu T. Photobiology Of Low-Power Laser Effects. *Health Physics* 1989; 56 (5): 691 – 704.
24. Karu T. The Science Of Low-Power Laser Therapy. Australia: Gordon And Breach Science Publishers; 1998.
25. Stolik S et al. Measurement of the penetration depths of red and near infrared light in human ex vivo tissues. *Journal of Photochemistry and Photobiology – B: biology* 2000; 57: 90-93.
26. Manteifel V, Bakeeva L, Karu T. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after radiation with HeNe laser: appearance of giant mitochondria. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 1997; 4: 235-248.
27. Breitbart H, Levinsahl T, Cohen N, Fredmann H, Lubart R. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633nm (HeNe laser). *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 1996; 34 (2-3): 117-121.
28. Wilden L, Karthein R. Import of phenomenon of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondria energy transfer. *Journal of Clinical Laser in Medicine and Surgery* 1998; 16 (3): 159-165.
29. Skaper SD, Moore SE, Walsh FS. Cell signaling cascades regulating neuronal growth-promoting and inhibitory cues. *Progress in Neurobiology* 2001; 65: 593 – 698.
30. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 1999; 49: 1 – 17.
31. Block F, Dihné M, Loos, M. Inflammation in areas of remote changes following focal brain lesion. *Progress in Neurobiology* 2005; 75 (5): 342 – 365.
32. Romero FJ. Antioxidants in peripheral nerve. *Free Radical Biology and Medicine* 1996; 20 (7): 925 – 932.
33. Gigo-Benato D et al. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neuroorrhaphy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. *Lasers in Medical Science* 2004; 19: 57 – 65.
34. Rockind S et al. Effects of Laser Irradiation on the Spinal Cord for the Regeneration of Crushed Peripheral Nerve in Rats. *Lasers in Surgery and Medicine* 2001; 28: 216-219.

Recebido em: 24/08/2005
Received in: 08/24/2005

Aprovado em: 17/04/2006
Approved in: 04/17/2006