

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

ANA PAULA GOMES DE MORAES

**EFEITO DA TERAPIA LASER DE BAIXA
INTENSIDADE NO REPARO EXPERIMENTAL DE
LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA APÓS TÉCNICA DE
TUBULIZAÇÃO PREENCHIDA COM TECIDO
ADIPOSO**

BAURU
2016

ANA PAULA GOMES DE MORAES

**EFEITO DA TERAPIA LASER DE BAIXA
INTENSIDADE NO REPARO EXPERIMENTAL DE
LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA APÓS TÉCNICA DE
TUBULIZAÇÃO PREENCHIDA COM TECIDO
ADIPOSO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Junior.

BAURU
2016

Moraes, Ana Paula Gomes de

M8275e

Efeito da terapia laser de baixa intensidade no reparo de lesão nervosa periférica após técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo / Ana Paula Gomes de Moraes -- 2016.

27f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Junior.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Lesões Nervosas Periféricas. 2. Regeneração nervosa. 3. Enxerto. 4. Enxerto com tecido adiposo. 5. Laserterapia. I. Rosa Junior, Ana Paula. II. Título.

ANA PAULA GOMES DE MORAES

**EFEITO DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE NO REPARO
EXPERIMENTAL DE LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA APÓS
TÉCNICA DE TUBULIZAÇÃO PREENCHIDA COM TECIDO ADIPOSEO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Junior.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Júnior
Universidade do Sagrado Coração

Biomédica Esp. Thais Caroline Pereira dos Santos
Universidade do Sagrado Coração

Fisioterapeuta Gabriele Candido Bernardo
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 16 de novembro de 2016.

Dedico este trabalho a minha família, que esteve comigo em todos os momentos, incentivando-me para que este sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tantas bênçãos concedidas durante esse período, pela força que me proporcionou quando os momentos difíceis apareciam e por sempre estar me guiando para o melhor caminho.

Agradeço aos meus pais, Paulo e Edna (*in memoriam*), por todo suporte que me deram para que eu pudesse chegar até aqui, pois sem eles nada disso seria possível. Através do amor incondicional sempre mostraram confiança em mim, o que fez de mim uma pessoa sempre disposta a conquistar um pouco mais. Às minhas irmãs, Aline e Josiane, que sempre estiveram me apoiando durante esta jornada, auxiliando-me nas melhores escolhas, e me proporcionando todo carinho necessário no sentido de sempre me incentivar.

Agradeço ao meu namorado, Rafael, por todo apoio, paciência e companheirismo. Nos dias mais difíceis não me deixou desistir e me manteve sempre perseverante. Aos meus cunhados, Renato e Bruno, que também me incentivaram e me auxiliaram durante esta jornada.

Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Geraldo Marco Rosa Júnior, por ter aceitado me orientar e por ter sido, durante toda minha graduação, além de professor também um grande amigo. Agradeço por ter me mostrado a área da pesquisa e ser um grande incentivador da minha vida profissional. Sou extremamente grata por todas as oportunidades que me foram concedidas, pois elas me tornaram uma pessoa muito mais madura e disposta a crescer.

Agradeço ao grupo de estudos GEIM, que tornou possível a realização deste trabalho, e que me possibilitou conhecimentos e amizades antes inimagináveis, além da oportunidade da interdisciplinaridade que o grupo proporciona. Aos professores Carlos, Luis, Rodrigo e Paulo, deixo meus agradecimentos e admiração. Vocês foram imprescindíveis para a minha formação.

Agradeço a todos os mestres que tive durante a graduação; todos extremamente capacitados e dispostos a formar grandes profissionais. Cada um, a sua maneira, mostrou-me que o conhecimento é a melhor forma de se ver um futuro incrível.

E agradeço aos amigos que estiveram comigo durante esta jornada maravilhosa. Cada um de vocês tornou os meus momentos de alguma forma muito mais especiais.

“Algumas pessoas querem que algo aconteça, outras desejam que aconteça, outras fazem acontecer.”
(Michael Jordan)

RESUMO

Lesões nervosas periféricas são comuns e podem desencadear ao paciente uma grande perda sensitiva e funcional. A fim de minimizar essa perda e o prognóstico funcional final deste paciente com qualidade de vida, muitas técnicas e tratamentos cirúrgicos e pós-cirúrgicos são estudados. A técnica de neurografia término-terminal (NTT), pode ser utilizada no reparo de lesões de nervos periféricos para fazer a união dos cotos proximais e distais lesados através de uma sutura, mas caso a distância entre os cotos apresentar aproximadamente 5 cm, recomenda-se o uso de enxerto de nervo autólogo, estratégia de reparo nervoso considerada padrão ouro em humanos, entretanto, acarretará perda sensitiva para o paciente. Como recurso terapêutico complementar, a terapia laser de baixa intensidade tem ganhado destaque por ser um tratamento não invasivo e possuir resultados positivos na regeneração e recuperação funcional. Essa pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito da terapia laser de baixa intensidade no reparo de lesão nervosa periférica após a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo. Foram utilizados 60 ratos da linhagem Wistar, machos, com 80 dias de vida, fornecidos pelo Biotério da Universidade do Sagrado Coração, divididos aleatoriamente em seis grupos experimentais com 10 animais cada: Grupo Controle (GC), Grupo Desnervado (GD), Grupo Tubulização (GT), Grupo Tubulização com Gordura (GTG), Grupo Tubulização e Laser (GTL) e Grupo Tubulização com Gordura e Laser (GTGL). Os grupos GTL e GTGL foram submetidos ao tratamento com laser 3 vezes por semana com duração de 96 segundos, durante 90 dias. Nas avaliações funcionais o grupo GTGL obteve o melhor resultado. Dessa forma, com os resultados obtidos, pudemos concluir que a associação de gordura na tubulização, bem como a utilização da terapia laser de baixa intensidade que proporcionou resultados positivos no processo de reparo nervoso periférico e melhora funcional.

Palavras-chaves: Lesões Nervosas Periféricas. Regeneração Nervosa. Enxerto. Tecido Adiposo. Terapia laser.

ABSTRACT

Peripheral nerve lesions are common and can trigger the patient a great loss of sensory and functional. In order to minimize this loss and the final functional prognosis of this patient with quality of life, many surgical and post-surgical techniques and treatments are studied. The end-to-end neurorafone technique (NTT) can be used to repair peripheral nerve lesions to join the proximal and distal stumps injured through a suture, but if the distance between the stumps is approximately 5 cm, If the use of autologous nerve graft, a nervous repair strategy considered gold standard in humans, however, will entail sensorial loss for the patient. As a complementary therapeutic resource, laser therapy has gained prominence because it is a non-invasive treatment and has positive results in regeneration and functional recovery. This study aimed to evaluate the effect of laser therapy on the repair of peripheral nerve damage after the tubulization technique filled with adipose tissue. We used 60 Wistar rats, males, with 80 days of life, supplied by the vivarium of University Sacred Heart random divided in to six groups of 10 animal search: Control Group (CG), denervated group (GD), entubulation Group (GT), entubulation Group with fat (GTG), tubing and Laser Group (GTL) and tubing group with fat and Laser (GTGL). The GTG and GTGL group sunder went laser treatment three times a week lasting 96 seconds for 90 days. In the functional evaluation GTGL the group obtained the best result. Thus, with the results, we concluded that the combination of fat in the tubing, and the use of laser therapy provided positive results in peripheral nerve repair and functional improvement process.

Keywords: Nerve Injuries. Nerve Regeneration. Graft. Adipose Tissue. Therapy laser.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Massas médias, iniciais e finais, e ganhos de peso em porcentagem.	19
Tabela 2 – Resultados médios da análise funcional dos grupos estudados.	20
Tabela 3 – Média e desvio padrão da amplitude (mV).	21
Tabela 4 – Média de desvio padrão da latência (ms).	21
Tabela 5 – Média dos resultados do teste de força.	22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL	12
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	12
3	METODOLOGIA	13
3.1	ANIMAIS	13
3.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	13
3.3	CIRURGIA.....	14
3.4	APLICAÇÃO DO LASER.....	15
3.5	AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA MARCHA	15
3.6	TESTE ELETROFISIOLÓGICO	16
3.7	TESTE DE FORÇA	16
3.8	EUTANÁSIA.....	17
4	RESULTADOS	18
4.1	OBSERVAÇÕES EXTERNAS.....	18
4.2	PESO DOS ANIMAIS	18
4.3	ANÁLISE FUNCIONAL <i>CATWALK</i>	18
4.4	TESTE ELETROFISIOLÓGICO	19
4.5	TESTE DE FORÇA	20
5	DISCUSSÃO	22
6	CONCLUSÃO	24
	REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

Lesões nervosas periféricas sejam elas traumáticas, inflamatórias, neoplásicas, tóxicas, metabólicas ou genéticas (GIROLAMI; ANTHONY; FROSH, 2000) são comuns e frequentes em ambientes clínicos e fisioterapêuticos, podendo desencadear ao paciente uma grande perda sensitiva e funcional, comprometendo suas atividades rotineiras e profissionais. (DALY; YAO; ZEUGOLIS, 2012).

A incidência de lesões em nervos periféricos é maior em indivíduos na faixa etária de 25 a 40 anos. Dessa forma, podendo causar importantes consequências econômicas e sociais devido à incapacidade funcional precoce, pois estão, na maioria das vezes, no ápice de sua capacidade produtiva profissional. Assim, qualquer tratamento que leva a uma recuperação funcional mais acelerada dos nervos periféricos, após um trauma, é de grande valor a toda sociedade. (WHITLOCK, 2009 apud MELO, 2011).

Seddon (1943) classificou essas lesões em três tipos de acordo com seu nível de gravidade: neuropraxia, axonotmese e neurotmeze. A neuropraxia é uma lesão de regeneração rápida e espontânea, no qual há apenas a desmielinização das fibras nervosas sem interromper a condução axonal. A axonotmese já apresenta um quadro de perda da continuidade axonal e de bainha de mielina, precisando de técnicas fisioterapêuticas para potencializar o reparo nervoso, apesar de apresentar um potencial de regeneração espontânea. Já a neurotmeze é uma lesão de pior prognóstico por tratar-se de uma secção integral do nervo, interrompendo o crescimento axonal. (GRINSELL; KEATING, 2014; BOZKURT; BROOK; DEUMENS; JOOSTEN; MEEK; MARCUS; WEIS; 2014).

A neurorrafia término-terminal (NTT) é uma técnica utilizada no reparo de lesões de nervos periféricos para fazer a união dos cotos proximais e distais lesados através de uma sutura, desde que o nervo seccionado não tenha sofrido perda tecidual, e seus cotos permaneçam visíveis e íntegros (CHEN et al., 2015), (ROVAK; CEDERNA; KUZON, 2001). No entanto, dependendo do mecanismo da lesão, pode não haver a possibilidade de uma sutura término-terminal. Isto ocorre principalmente quando há perda tecidual, sendo mais indicado o enxerto autólogo de um nervo sensitivo, os chamados "*cable-graft*", que tem por finalidade a orientação do crescimento axonal. Nestes casos, acontece uma grande perda tecidual, dessa forma, é realizada a remoção de um segmento de nervo sensitivo de outra área sem

causar comprometimento funcional, diminuindo os efeitos de reação a corpo estranho. (BUCHAIM, 2014; GRINSELL; KEATING, 2014; GRIFFIN, 2014; SIEMIONOW; BRZEZICKI, 2009).

A técnica de enxerto autólogo apresenta consequências negativas ao paciente, como por exemplo, a perda da função sensitiva da área doadora, formação de neuromas e risco de infecções. Diante dessas situações adversas, pesquisadores continuam a investigar novas técnicas e materiais que apresentassem melhores resultados no processo de regeneração. A literatura apresenta vários tipos de enxertos desenvolvidos como alternativas para a recuperação de lesões de nervos periféricos, como por exemplo, a técnica de tubulização, que visa o crescimento das fibras nervosas através de um tubo interposto entre os segmentos do nervo lesionado. Uma das técnicas de reparo tubular é a utilização de tecidos autólogos, devido à biocompatibilidade ao enxerto, produzidos a partir de estruturas presentes no próprio organismo do paciente, como artérias e veias com e sem preenchimentos (SEBBEN; LICHTENFELS; SILVA, 2011).

Como recurso terapêutico efetivo no tratamento complementar das lesões, a terapia laser de baixa intensidade tem ganhado destaque nos protocolos de intervenção fisioterapêuticos principalmente por ser um tratamento não invasivo e possuir resultados positivos na regeneração e recuperação funcional. Entre esses benefícios podem ser citados o efeito anti-inflamatório e antiedematoso, o potencial para cicatrização de feridas, alívio da dor, aumento da respiração mitocondrial, aumento da síntese de ATP, aumento da proliferação de fibroblastos, estimula a proliferação das células de *Schwann* que secretam fatores neurotróficos para regeneração do nervo, entre outros fatores (HUANG et al., 2011; MARTINS et al., 2015; WANG, 2015, 2014).

Frente aos dados expostos, supõe-se que a terapia laser de baixa intensidade auxilia no reparo de lesão nervosa periférica e na recuperação funcional após a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da terapia laser de baixa intensidade no reparo experimental de lesão nervosa periférica após a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Confirmar a eficácia da terapia laser de baixa intensidade na recuperação funcional após reparo experimental de lesão nervosa periférica utilizando a técnica de tubulização preenchida com tecido adiposo.

3 METODOLOGIA

3.1 ANIMAIS

Todos os procedimentos estavam de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e passou pela análise da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Sagrado Coração – USC, registrado pelos protocolos nº 8853300315 e nº 4474300315 aprovados em reunião no dia 14/04/2015.

Os animais foram fornecidos pelo Biotério da Universidade do Sagrado Coração. Foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus*) machos da linhagem *Wistar*, com 80 dias de vida.

Os animais ficaram mantidos em caixas apropriadas de polipropileno, contendo 4 animais em cada caixa, em temperatura controlada ($24 \pm 2^{\circ}\text{C}$), ciclo claro-escuro de 12 horas, com ração e água *ad libitum*, até o momento da eutanásia.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 60 animais foram aleatoriamente distribuídos em seis grupos, constituídos por 10 animais. Todos os animais foram sacrificados com cento e setenta dias de vida, noventa dias após o início do experimento e foram assim distribuídos nos seguintes grupos:

Grupo Controle (GC): Nesse grupo os animais não sofreu qualquer tipo de intervenção.

Grupo Desnervado (GD): Para garantir a desnervação o nervo fibular comum foi seccionado e seus cotos foram invertidos 180 graus, o coto proximal foi transpassado por uma incisão na musculatura glútea e suturado em sua porção externa a fim de impedir reinervação motora. O coto distal foi suturado na tela subcutânea.

Grupo Tubulização (GT): Neste grupo os animais foram submetidos à técnica de tubulização sem preenchimento.

Grupo Tubulização com Gordura (GTG): Neste grupo os animais foram submetidos à técnica de tubulização com preenchimento de tecido adiposo.

Grupo Tubulização e Laser (GTL): Neste grupo os animais foram submetidos à técnica de tubulização sem preenchimento e foram submetidos a um protocolo de terapia laser de baixa intensidade.

Grupo Tubulização com Gordura e Laser (GTGL): Neste grupo os animais foram submetidos à técnica de tubulização com preenchimento de tecido adiposo e foram submetidos ao protocolo de terapia laser de baixa intensidade.

3.3 CIRURGIA

Nos grupos que foram aplicadas as técnicas de tubulização, foi realizada uma incisão paramediana unilateral de aproximadamente 3 centímetros no pescoço, onde foi retirado 2 cm da veia Jugular Externa. Neste mesmo local, foi coletado tecido adiposo para realizar o preenchimento da veia nos grupos GTG e GTGL. Num segundo tempo cirúrgico, foi realizada a exposição do nervo isquiático do lado direito e com o auxílio de uma lupa cirúrgica seccionado e retirado um segmento de aproximadamente 0,5 cm de comprimento do referido nervo. Após a secção, o nervo isquiático direito recebeu o enxerto da veia jugular externa com ou sem preenchimento restabelecendo a comunicação entre o coto proximal e distal. O espaço da lesão entre os cotos foi de 1,5 cm.

Todos os procedimentos cirúrgicos e a coleta de materiais foram realizados pelo mesmo pesquisador a fim de se padronizar o método. Os animais foram anestesiados com uma combinação das drogas Cloridrato de Ketamina (100 mg/kg) e Cloridrato de Xilasina (10 mg/kg), aplicado intramuscular, em cada procedimento cirúrgico.

O Cloridrato de Xilasina é um relaxante muscular que provocou estado de sedação e analgesia nos animais. O Cloridrato de Ketamina é um anestésico geral de uso injetável (BPR GUIA DE REMÉDIOS®, 2010-2011), promovendo um estado de inconsciência chamado anestesia “dissociativa”, interrompendo a condução de estímulos nervosos ao cérebro e bloqueando a transmissão de impulsos dolorosos ao local da cirurgia. (P.R. VADE-MÉCUM, 2009-10).

No pós-operatório os animais foram observados quanto à dor, considerando os seguintes sinais: vocalização, piloereção, postura encurvada, hipotermia, ato de lambem-se, maior agressividade, relutância em interagir, alteração no consumo de

água e alimentos e por último, a perda de peso. A analgesia pós-operatória foi realizada com acetaminofenol (paracetamol) 2 mg/mL de água, na água do bebedouro, durante uma semana.

No dia da eutanásia os animais foram posicionados em decúbito ventral na placa de cortiça, fixando os membros pélvicos com fita adesiva, e posteriormente efetuando uma incisão longitudinal na face dorso-lateral da coxa direita. A pele do membro inferior foi rebatida para a exposição e dissecação dos músculos, após a retirada, as amostras foram fixadas com solução de formaldeído a 10%. Após a fixação as amostras passaram pelo protocolo de inclusão em parafina e foram coradas por hematoxilina e eosina (HE).

3.4 APLICAÇÃO DO LASER

Os animais dos grupos GTGL e GTL receberam o tratamento com o Laser AsGa (Arseneto de Gálio), com comprimento de onda de 830 nm, 6J/cm², por 24 segundos/local aplicado, em quatro pontos do local operado. O laser foi mantido em contato com a pele do animal, perfazendo 96 segundos o tempo total de aplicação. O laser foi aplicado no pós-cirúrgico imediato e três vezes por semana, até o período correspondente ao da eutanásia, totalizando 38 aplicações. (GIGO BENATO, 2010). Em todas as aplicações, as emissões do feixe de laser foram calibradas no próprio aparelho (Laserpulse IBRAMED®). Para isso, os animais foram imobilizados por contenção manual, expondo-se apenas o local de cirurgia onde foi aplicado o laser.

3.5 AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA MARCHA

Antes da análise eletrofisiológica e eutanásia, os animais foram submetidos à avaliação funcional da marcha, utilizando o Índice Funcional do Ciático. A distância entre as impressões dos membros posteriores foi avaliada segundo a equação descrita por Bain, Hunter e Mackinnon (1989), com base nos estudos de De Medinaceli, Freed e Wyatt (1982). Para essa avaliação, os animais caminharam por um aparelho denominado de *CatWalk*®, no qual as pegadas no assoalho foram identificadas automaticamente e utilizadas para a análise funcional. Este procedimento foi repetido duas vezes com cada animal.

3.6 TESTE ELETROFISIOLÓGICO

A realização do teste eletrofisiológico precedeu a eutanásia, sendo que os animais foram mantidos em temperatura ambiente de 25°C.

Após a anestesia com a combinação das drogas Cloridrato de Ketamina (100 mg/kg) e Cloridrato de Xilasina (10 mg/kg), intramuscular, os animais foram imobilizados em decúbito ventral. Foi realizada uma ampla incisão no membro pélvico direito previamente operado, permitindo o acesso aos nervos isquiático, fibular comum e tibial, e músculo tibial cranial. O potencial de ação foi registrado por eletrodos de agulha ativo e de referência.

O eletrodo de referência foi colocado no tendão do músculo tibial cranial do animal; o eletrodo ativo, no ventre do músculo tibial cranial; e o eletrodo dispersivo foi induzido em local distante da região estudada. Os eletrodos registraram a área, a duração, a amplitude e a latência do potencial de ação muscular.

3.7 TESTE DE FORÇA

Para a análise de força muscular, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina (100 mg/kg) e Cloridrato de Xilasina (10 mg/kg), aplicado intramuscularmente, e imobilizados em placas de cortiça em decúbito ventral. Foi realizada assepsia e ampla incisão no membro posterior direito permitindo acesso ao tendão distal do músculo Tibial Cranial onde foi seccionado e conectado a um transdutor de força FT03 Grass Technologies Company, Astro-Med, Inc. (West Warwick, RI) usando um fio monofilamentar de náilon 4-0. O comprimento ideal do músculo foi mantido em uma carga de pré tensão de 0,18 N (*newton*) e que era zerada entre os testes.

A estimulação elétrica foi gerada diretamente no músculo tibial cranial exposto. O teste constitui em três aplicações sequenciais de um segundo de duração, com tensão muscular reajustada entre as mensurações e a contração tetânica foi realizada com 100 mA e frequência de 100Hz.

3.8 EUTANÁSIA

Após a realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais receberam dose letal de 150 mg/kg de pentobarbital sódico e lidocaína a 2% (10 mg/mL), administrados intramuscular.

4 RESULTADOS

4.1 OBSERVAÇÕES EXTERNAS

Nos animais submetidos a cirurgia de desnervação, pudemos observar uma paralisia do membro pélvico denominada de “*Walters tip hand*” (mão de garçom), características semelhantes encontradas em lesões altas do plexo braquial (C5; C6). A característica era mais acentuada no grupo GD.

4.2 PESO DOS ANIMAIS

Todos os animais apresentaram ganho de massa (g) durante a realização do tratamento. Na tabela 1 pode ser observado as massas iniciais, finais e a porcentagem de ganho.

Tabela 1 – Massas médias, iniciais e finais, e ganhos de peso em porcentagem.

GRUPOS	massa inicial (g)	massa final (g)	percentual de ganho (%)
GC	274,5	482,1	75,6
GD	278,3	487,6	75,2
GT	272,4	479,9	76,2
GTG	269,9	485,1	79,7
GTL	270,2	479,4	77,4
GTGL	275,7	484,7	75,8

Fonte: Elaborada pela autora.

4.3 ANÁLISE FUNCIONAL CATWALK

Na análise funcional utilizando o aparelho *catwalk*, foi observado que nenhum grupo obteve resultado semelhante ao GC ($-9,82 \pm 6,95$). O GD obteve o pior resultado ($-93,05 \pm 23,61$), confirmando a efetividade da desnervação e o prejuízo funcional adquirido. Avaliando os grupos cirúrgicos, o grupo GTGL apresentou resultado estatisticamente melhor ($-38,58 \pm 20,19$) seguindo pelo grupo GTG ($-50,47 \pm 18,73$), GTL ($-63,84 \pm 16,88$), e GT ($-78,31 \pm 19,54$).

Tabela 2 – Resultados médios da análise funcional dos grupos estudados

Grupos	Valores das marchas	
	Média	D.P
GD	-93,05 ^a	23,61
GC	-9,82 ^b	6,95
GT	-78,31 ^c	19,54
GTG	-50,47 ^d	18,73
GTL	-63,84 ^e	16,88
GTGL	-38,58 ^f	20,19

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Letras iguais não apresentam diferença significativa estatisticamente.

4.4 TESTE ELETROFISIOLÓGICO

Na análise eletrofisiológica, avaliando amplitude (mV) e latência (ms), nenhum grupo cirúrgico apresentou resultado semelhante ao GC (24,02±0,04 / 1,63±0,04) respectivamente. Os valores do grupo GD (0,0±0 / 10±0) foram atribuídos para realizar a análise estatística, pois não foi realizada neurografia nos animais do grupo.

Na comparação dos grupos cirúrgicos o GTGL apresentou resultado estatisticamente melhor (19,97±0,07 / 1,82±0,07) seguido pelo GTG (13,58±0,06) e pela semelhança dos resultados dos grupos GTL e GT (10,04±0,08 / 2,06±0,08 e 9,97±0,07 / 2,09±0,07).

Tabela 3 – Média e desvio padrão da amplitude (mV)

Grupos	Amplitude	
	Média	D.P
GD	0 ^a	0
GT	9,97 ^b	0,07
GTG	13,58 ^c	0,06
GTL	10,04 ^b	0,08
GTGL	19,97 ^d	0,07
GC	24,02 ^e	0,04

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Letras iguais não apresentam diferença significativa estatisticamente.

Tabela 4 - Média de desvio padrão da latência (ms)

Grupos	Latência	
	Média	D.P
GD	10 ^a	0
GT	2,09 ^b	0,07
GTG	1,91 ^c	0,06
GTL	2,06 ^b	0,08
GTGL	1,82 ^d	0,07
GC	1,63 ^e	0,04

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Letras iguais não apresentam diferença significativa estatisticamente.

4.5 TESTE DE FORÇA

No teste de força nenhum grupo cirúrgico obteve resultado semelhante ao GC (1,32±0,02) e o grupo GD obteve o pior resultado (0,14±0,02).

Na análise dos grupos cirúrgicos, o grupo GTGL apresentou resultado estatisticamente melhor ($1,17 \pm 0,03$) seguido pelo GTG ($0,98 \pm 0,02$), GTL ($0,83 \pm 0,02$) e GT ($0,71 \pm 0,03$).

Tabela 5 – Média dos resultados do teste de força (Newton)

Grupos	Teste de Força (N)	
	Média	D.P
GD	0,14 ^a	0,02
GT	0,71 ^b	0,03
GTG	0,98 ^c	0,02
GTL	0,83 ^d	0,02
GTGL	1,17 ^e	0,03
GC	1,32 ^f	0,02

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Letras iguais não apresentam diferença significante estatisticamente.

5 DISCUSSÃO

Para este experimento, foi utilizado ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, normalmente empregados por vários pesquisadores nesta mesma linha de investigação, envolvendo lesão, reparação e regeneração de nervos periféricos e músculos estriados esqueléticos (ITOH et al., 1996; MACKINNON et al., 1985; SCHMALBRUCH; LEWIS, 2000). Além disso, são de fácil manejo e baixo custo de manutenção (FERREIRA et al., 2005).

Hems e Glasby (1992) optaram pela utilização de coelhos como modelo experimental, e a justificativa apresentada foi a capacidade regenerativa ser menor se comparado com o rato, fazendo com que esse modelo se aproxime mais dos humanos. Entretanto, estudos mais recentes mostram que o processo de degeneração e regeneração dos ratos se assemelham com o dos humanos (FERREIRA; FERREIRA, 2003).

Com relação ao sexo, foram utilizados apenas machos, com o intuito de anular as variáveis de ritmos hormonais e circadianas, decorrentes do ciclo estral e ação dos hormônios adenohipofisários. (LH e FSH) (LINCOLN, 1980; CARANDENTE et al., 1989; FRAHER et al., 1990).

Os animais utilizados nesta pesquisa eram jovens, essa padronização é importante, pois em animais adultos a velocidade de regeneração é menor. (LUNDBORG, 1987; FAWCETT, 1986; VAUGHAN, 1992; MIDRONI et al., 1995; VERDÚ et al., 1995; BATTISTON et al., 2000; TOS et al., 2007; RODRIGUES; SILVA, 2001; BARCELOS et al., 2003; FERREIRA et al., 2005).

Os animais, embora de mesma idade, apresentaram variações no peso antes do início do experimento. No dia da cirurgia, os animais com pesos semelhantes foram separados e divididos entre os grupos controles e experimentais permitindo uma distribuição mais homogênea da amostra entre os grupos (VIEIRA; HOSSNE, 2002).

Em todos os procedimentos cirúrgicos foi utilizado o microscópio cirúrgico DF Vasconcelos, pois neste tipo de lesão, propicia uma maior precisão cirúrgica na sua reparação (MILLESSE, 1990; NOAH et al., 1997).

Os sacrifícios aconteceram 90 dias pós-operatório. Este tempo foi padronizado, pois alguns autores acreditam que as maiores respostas funcionais e histomorfométricas acontecem até a 12ª semana pós-cirurgia, em períodos

superiores não é encontrado alterações significantes que justifiquem um período superior a este (FRAHER et al., 1990; WANG et al., 1993 e 1995, FOIDART-DESSALLE et al., 1997; CANPOLAT et al., 1999; BATTISTON et al., 2000; TOS et al., 2007; KARACAOGLU et al., 2001; RODRIGUES; SILVA, 2001; BARCELOS et al., 2003; WALKER et al., 2004; FARRAG et al., 2007). Com o período de 150 dias, o equivalente a 20 semanas acreditamos que as respostas funcionais e histomorfométricas já estão estabelecidas, portanto, podemos obter valores reais da resposta neuromuscular mediante a nova inervação.

Quanto ao anestésico, foi utilizado Cloridrato de Tiletamina, associado com Cloridrato de Zolazepam, administrado por via intramuscular conforme descrito por Tos et al., (2007). A perda de animais foi mínima e não houve necessidade de complementação anestésica.

6 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos, pudemos concluir que a associação de gordura na tubulização, bem como a utilização da terapia laser de baixa intensidade proporcionou resultados positivos no processo de reparo nervoso periférico e melhora funcional.

REFERÊNCIAS

BARCELOS, A.S. et al. Inside-out vein graft and inside-out artery graft in rat sciatic nerve repair. **Microsurgery**, New York, v. 23, n. 1, p. 66-71, 2003.

BATTISTON, B. et al. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts II. Morphological Analysis of Regeneration. **Microsurgery**, New York, v. 20, n.6, p. 37-41, 2000.

BUCHAIM, D. V. **Reparo do nervo facial com sutura epineural término-término e coaptação com adesivo de fibrina em ratos associados ou não a laserterapia**. 2014, Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2014.

CANPOLAT, L. et al. Ultrastructural and Morphometric Analysis of Peripheral Nerve Repair Regeneration Within Silicone Tubes. **Journal of Medical Sciences**, v. 29, p. 203-209, 1999.

CHEN, T. Y. et al. Far-infrared therapy promotes nerve repair following end-to-end neurorrhaphy in rat models of sciatic nerve injury. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 2015, 2015.

DALY W, YAO L, ZEUGOLIS D, et al. A biomaterials approach to peripheral regeneration: bridging the peripheral nerve gap and enhancing functional recovery. **Journal of the Royal Society Interface**. 2012;v.9, n.67, p. 202–221. Feb. 2014.

DE MEDINACELI, L.; FREED, W. J.; WYATT, R. J. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. **Experimental Neurology**, New York, v. 77, n. 3, p. 634-643, 1982.

FARRAG, T. Y. et al. Effect of Platelet Rich Plasma and Fibrin Sealant on Facial Nerve Regeneration in a Rat Model. **Laryngoscope**, St. Louis, v. 117, n.1 p. 157-165, Jan. 2007.

FAWCETT J. W.; KEYNES R. J. Muscle basal lamina: a new graft material for peripheral nerve repair. **Journal of Neurosurgery**, Chicago, v. 65, n. 3, p. 354-363, Sep. 1986.

FERREIRA, L. M.; FERREIRA, L. R. K. Experimental model: historic and conceptual revision. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Rio Claro, v.18, p.1-3, 2003.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Rio Claro, v.20 (Supl.), p. 28-34, 2005.

FRAHER, J.P. et al. Relative growth and maturation of axon size and myelin thickness in the tibial nerve of the rat. I. Normal animals. **Acta Neuropathol**, Berlin, v. 79, p.364-374, 1990.

FOIDART-DESSALE, M. et al. Sciatic Nerve Regeneration through Venous or Nervous Grafts in the Rat. **Experimental Neurology**, Orlando, v. 148, p. 236-246, 1997.

GIROLAMI, U. D.; ANTHONY, D. C.; FROSCH, M. P. Nervo periférico e músculo esquelético. In: COTRAN, R. S.; KUMAN, V.; COLLINS, T. **Robbins patologia estrutural e funcional**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 1135-1154.

GRIFFIN, M. F. et al. Suppl 1: Peripheral nerve injury: principles for repair and regeneration. **The Open Orthopaedics Journal**, v. 8, p. 199, 2014.

GRINSELL, D.; KEATING, C. P. Peripheral nerve reconstruction after injury: a review of clinical and experimental therapies. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, 2014.

HUANG, Y. Y. et al. Biphasic dose response in low level light therapy-an update. **Dose-Response**, Thousand Oaks, v. 9, n. 4, p. 602-618, 2011.

ITOH, S et al. Experimental study on nerve regeneration through the basement membrane tubes of the nerve, muscle, and artery. **Microsurgery**, New York, v.17, n.10, p. 525-534, 1996.

KARACAOGLU, E. et al. Nerve regeneration through an epineural sheath: its functional aspect compared with nerve and vein grafts. **Microsurgery**, New York, v. 21, n. 5, p. 196-201, 2001.

LINCOLN, G. A.; SHORT, R. V. Seasonal breeding nature's contraceptive. **Reprod. Prog. Horm. Res**, New York, v.36, p. 1-52, 1980.

LUNDBORG G. Nerve regeneration and repair – a review. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, Basingstoke, v. 58, n. 2, p. 145-169, Apr.1987.

MARTINS, F. et al. Low-level laser therapy modulates musculoskeletal loss in a skin burn model in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Rio Claro, v. 30, n. 2, p. 94-99, 2015.

MELO, C. G. S. **Enxerto sintético e biológico, com e sem preenchimento de veia jugular externa, no reparo de nervo periférico em ratos**. 2011, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2011.

MIDRONI, G. et al. M. **Biopsy diagnosis of peripheral neuropathy**. Washington: Butterworth-Heinemann, p.477, 1995.

MILLES, H. Peripheral nerve surgery today: turning point or continuous development. **Journal of hand surgery**, Washington, v.15, p. 281-287, Aug. 1990.

NOAH, E. M. et al. A new animal model to investigate axonal sprouting after end-to-side neurorrhaphy. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 13, p. 317-325, 1997.

RODRIGUES, A.C.; SILVA, M.D.P. Inside-out versus standart artery graft to repair a sensory nerve in rats. **Microsurgery**, New York, v.21, p.102 - 107, 2001.

ROVAK, J. M.; CEDERNA, P. S.; KUZON, W. M. Termino lateral neurorrhaphy: a review of the literature. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 17, n. 8, p. 615-624, Nov. 2001.

SEBEN, A. D.; LICHTENFELS, M.; SILVA, J. L. B. Regeneração de nervos periféricos: terapia celular e fatores neurotróficos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 46, n. 6, p. 643-649, 2011.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, v. 66, p. 237-288, 1943.

SIEMIONOW, M; BRZEZICKI, G. Chapter 8: current, techniques and concepts in peripheral nerve repair. In: STEFANO, G.; PIERLUIGI, T.; BRUNO, B. (Ed.). **International review of neurobiology**, San Diego, CA: Academic Press, 2009. P. 141-172.

TOS, P.; BATTISTON, M. D.; NICOLINO, S.; RAIMONDO, S.; FORNARO, M.; LEE, J. M.; CHIRILA, M. D.; GEUNA, S.; PERROTEAU, I. Comparison of fresh and predegenerated muscle-vein-combined guides for the repair of rat median nerve. **Microsurgery**, New York, v.27, n. 1, p. 48-55, 2007.

VAUGHAN, D. W. Effects of advancing age on peripheral nerve regeneration. **The Journal of comparative neurology**, New York, v.323,n. 2, p. 219-237, 1992.

VERDÚ, E.; BUTI, M.; NAVARRO, X. The effect of aging on efferent nerve regeneration in mice. **Brain Research**, Amsterdam, v.696, p. 76-82, 1995.

VIEIRA, S; HOSSNE, W.S. **Metodologia Científica para a Área de Saúde**. Rio de Janeiro: Campus, p. 27-48, 2002.

WALKER, J. C. et al. Effect of peripheral Window Size on Nerve Regeneration, Blood-Nerve Barrier Integrity, and Functional Recovery. **Journal of Neurotrauma**, New York, v. 21, n. 2, p. 217-227, 2004.

WANG, C. Z. et al. Low-level laser irradiation improves functional recovery and nerve regeneration in sciatic nerve crush rat injury model. **PloS One**, San Francisco, v. 9, n. 8, p. e103348, Aug. 2014.

WANG, L. et al. Modulation of extracellular ATP content of mast cells and drg neurons by irradiation: studies on underlying mechanism of low-level-laser therapy. **Mediators of Inflammation**, Sylvania, v. 2015, 2015.