

Mariana Rodrigues

**LASER BAIXA INTENSIDADE NO TRATAMENTO DA  
SÍNDROME DA DOR COMPLEXA REGIONAL – TIPO I:  
MODELO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Dissertação do Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação do Centro de Ciências, Tecnologias e Saúde, Campus Araranguá, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Reabilitação

Orientador: Prof. Dr. Rafael Inácio Barbosa

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre M. Marcolino

Araranguá  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rodrigues, Mariana  
LASER BAIXA INTENSIDADE NO TRATAMENTO DA  
SÍNDROME DA DOR COMPLEXA REGIONAL - TIPO I: MODELO  
EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS : LASER BAIXA  
INTENSIDADE NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DA DOR  
COMPLEXA REGIONAL - TIPO I / Mariana Rodrigues ;  
orientador, Rafael Inácio Barbosa, coorientador,  
Alexandre Marcio Marcolino, 2019.  
54 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Campus Araranguá, Programa de Pós  
Graduação em Ciências da Reabilitação, Araranguá,  
2019.

Inclui referências.

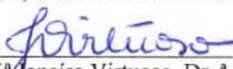
1. Ciências da Reabilitação. 2. Laser Baixa  
Intensidade. 3. Síndrome da Dor Complexa Regional do  
tipo I. 4. Nicotina. 5. Camundongos. I. Barbosa,  
Rafael Inácio. II. Marcolino, Alexandre Marcio.  
III. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação.  
IV. Título.

**LASER BAIXA INTENSIDADE NO TRATAMENTO DA  
SÍNDROME DA DOR COMPLEXA REGIONAL – TIPO I:  
MODELO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS.**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de  
“Mestre” e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-  
Graduação em Ciências da Reabilitação

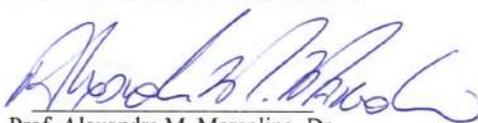
Capture Petang

Araranguá, 13 de fevereiro de 2019.

  
Prof.ª Janeisa Virtuoso, Dr.ª  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

  
Prof. Rafael V. Barbosa, Dr.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
Prof. Alexandre M. Marcolino, Dr.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

  
Prof.ª Marisa de Cássia R. Fonseca, Dr.ª  
Universidade de São Paulo

p/ *frutuoso*  
Prof.ª Elaine C. O. Guirro, Dr.ª (videoconferência)  
Universidade Federal de São Carlos

Prof.ª Janeisa Franck Virtuoso  
Professor Adjunto  
SIAPE 2222578  
UFSC Centro Araranguá

*Alessandro Haupenthal*  
Prof. Alessandro Haupenthal Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado  
primeiramente a Deus e aos meus  
amados pais.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente aos meus pais pelo amor e apoio incondicional.

Sou grata ao meu orientador pela oportunidade, por me apoiar, encorajar e dedicar seu tempo a ensinar-me.

Agradeço ao Programa Ciências da Reabilitação por cada ensinamento que me fez seguir o caminho para a conquista de um sonho. Grata ao laboratório do qual faço parte (LARAL - Laboratório de Avaliação e Reabilitação do Aparelho Locomotor) e ao (LAIF – Laboratório de Autoimunidade e Imunofarmacologia), por abrirem as portas para que eu desenvolvesse meu estudo.

Gratidão pelos professores que fizeram parte desde a minha graduação até a pós-graduação, que foram capazes de com todo seu conhecimento me tornar uma profissional mais humana e competente, e que claro ensinaram a amar a profissão e a vocação de lecionar. Também aos colegas de laboratório e de mestrado, que não mediram esforços para no que for preciso, assim podemos juntos.

## RESUMO

A síndrome da Dor Complexa regional – Tipo I (SDCR – I), é definida como uma situação álgica associada à distúrbios neurovegetativos, sensitivos e motores, sem a ocorrência de lesão nervosa periférica. A nicotina é um dos principais componentes do tabaco e devido as suas propriedades vasoconstritoras, pode atuar com um efeito deletério aos sintomas da SDCR – I. O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos da terapia de fotobiomodulação através do Laser de Baixa Intensidade (LBI) em diferentes comprimentos de onda, na Síndrome da Dor Complexa Regional – Tipo I em camundongos, associada ou não, ao uso da nicotina. Foram utilizados 64 camundongos da linhagem *Swiss*, divididos em 8 grupos: Naive; Sham; Controle; 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J); 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J); Nicotina; Nicotina + 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J) e Nicotina + 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J). A SDCR – I foi induzida pela lesão isquemia-reperfusão (IR), através da colocação de um anel elástico proximal à articulação do tornozelo, da pata posterior direita, com retirada do mesmo após três horas, permitindo a perfusão da pata. Os animais foram avaliados quanto a hiperalgesia térmica ao calor, hiperalgesia mecânica, edema da pata, e atividade locomotora espontânea no período basal e após 4, 7, 14, 21 dias de indução da síndrome. Para a análise estatística a normalidade na distribuição dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, seguido pelo método *Two-Way* ANOVA, com coeficiente de significância de ( $p < 0,05$ ) com o *post-hoc* de Tukey. através do software *GraphPad Prism* 6.0. Dentre os resultados, foi observado que no 21 dia de avaliação ocorreu uma melhorana hiperalgesia mecânica do grupo 660 nm, 830 nm e com associação de nicotina, quando comparados ao controle ( $p < 0,05$ ); na hiperalgesia térmica os grupos 660 nm, 830 nm e associados a nicotina quando comparados ao sham ( $p < 0,05$ ). No edema e atividade locomotora espontânea não houve diferença significativa no último dia de avaliação. Assim, pode-se concluir que, na amostra analisada, o LBI 660 e 830 nm foram eficazes na diminuição da hiperalgesia mecânica e térmica, sendo que o comprimento de onda de 660 nm, apresentou melhores resultados. O efeito deletério da nicotina ficou evidenciado, e estes quando tratados com o laser houve uma redução dos efeitos negativos.

**Palavras-chave:** Terapia com Luz de baixa intensidade; Distrofia Simpática Reflexa; Nicotina; Reabilitação.

## ABSTRACT

Complex Regional Pain Syndrome - Type I (CRPS - I) is defined as pain full situation associated with neurovegetative, sensory and motor disorders, without the occurrence of peripheral nerve damage. Nicotine is one of the main components of tobacco and, due to its vasoconstricting properties, may have a deleterious effect on the symptoms of CRPS - I. The objective of the present study was to verify the effects of photobiomodulation therapy through the Low Level Intensity (LLI) in different wavelengths, in Complex Regional Pain Syndrome - Type I in mice, submitted or not, to the use of nicotine. Sixty-four Swiss mice were divided into 8 groups: Naive; Sham; Control; 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J); 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J); Nicotine; Nicotine + 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J) and Nicotine + 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J). CRPS - I was induced by the ischemia - reperfusion injury (IR), by placing an elastic ring proximal to the ankle joint, of the right hind paw, with removal of the ankle after three hours, allowing the paw reperfusion. The animals were evaluated for thermal hyperalgesia to heat, mechanical hyperalgesia, paw edema, and spontaneous locomotor activity at baseline and after 4, 7, 14, 21 days of induction of the syndrome. For statistical analysis, the normality of the data distribution was verified using the Shapiro-Wilk test, followed by the Two-Way ANOVA method, with a coefficient of significance of ( $p < 0.05$ ) with Tukey post-hoc. through GraphPad Prism 6.0 software. As results we observed that in the 21 day of evaluation, in the mechanical hyperalgesia the 660 nm, 830 nm and with association of nicotine ( $p < 0.05$ ) x control; in thermal hyperalgesia the 660 nm, 830 nm and associated with nicotine ( $p < 0.05$ ) x sham. In spontaneous locomotor edema and attitudes there was no significant difference on the last day of evaluation. We concluded that the photobiomodulation (660 nm and 830 nm) was effective in reducing mechanical hyperalgesia, in reducing thermal hyperalgesia the laser 660 nm presented more significant results at wavelength 830 nm. The deleterious effect of nicotine was evidenced, and these when treated with the laser there was a reduction of the negative effects.

**Keywords:** Low-intensity light therapy; Reflex Sympathetic Dystrophy; Nicotine; Rehabilitation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A) Modelo de isquemia-reperfusão, com alocação de um elástico proximal a articulação da pata traseira direita. B) Sinais da indução da SDCR tipo I, com edema e alteração na coloração. ....	23
Figura 2 - A) Método de avaliação da hiperalgesia mecânica. B) Método de avaliação da hiperalgesia mecânica C) Método de avaliação do edema D) Método de avaliação da atividade locomotora.....	25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados referentes a avaliação da Hiperalgesia Mecânica através do Von Frey (*p<0,05). .....	27
Tabela 2 - Dados referentes a avaliação da Hiperalgesia Térmica através do Hargreaves (*p<0,05).....	29
Tabela 3 - Dados relacionados a avaliação do Edema, através do micrometro digital (*p<0,05). .....	30
Tabela 4 - Dados referentes a Atividade locomotora - quadros cruzados (*p<0,05).....	32
Tabela 5 - Dados referentes a Atividade locomotora - apoio bipodal (*p<0,05).....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AsGaAl: Arseneto de Gálio Aluminizado  
ATP: Adenosina Trifosfato  
CCO: Citocromo C Oxidase  
cm<sup>2</sup>: Centímetro quadrado  
CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal  
CRPS – I: Complex Regional Pain Syndrome – Type I  
DSR: Distrofia Simpática Reflexa  
g: Gramas  
i.p.: Intra-peritoneal  
IR: Isquemia-Reperfusão  
J/cm<sup>2</sup>: Joule por centímetro quadrado  
J: Joule  
LAIF: Laboratório Autoimunidade e Imunofarmacologia  
LARAL: Laboratório de Avaliação e Reabilitação do Aparelho Locomotor  
LBI: Laser de Baixa Intensidade  
mg/Kg/dia: Miligramas por quilo por dia  
min: Minutos  
ml: Mililitros  
mm: Milímetros  
mW: Megawatt  
nm: nanômetro  
NO: Óxido Nítrico  
s: Segundos  
SDCR – I: Síndrome da Dor Complexa regional – Tipo I  
SDCR – II: Síndrome da Dor Complexa regional – Tipo II  
UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1	OBJETIVOS .....	3
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>5</b>
2.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	5
2.2	AMOSTRA .....	5
2.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS .....	5
2.4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	6
<b>2.4.1</b>	<b>Indução da Síndrome da Dor Complexa Regional – Tipo I</b>	<b>6</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Nicotina .....</b>	<b>7</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Fotobiomodulação.....</b>	<b>7</b>
2.5	PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS .....	7
<b>2.5.1</b>	<b>Avaliação da Hiperalgesia Mecânica.....</b>	<b>7</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Avaliação da Hiperalgesia Térmica ao Calor .....</b>	<b>8</b>
<b>2.5.3</b>	<b>Avaliação do Edema de Pata.....</b>	<b>8</b>
<b>2.5.4</b>	<b>Avaliação da Atividade Locomotora Espontânea .....</b>	<b>8</b>
2.6	ENDPOINTS .....	9
2.7	EUTANASIA.....	9
2.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	9
<b>3</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>17</b>
3.1	ARTIGO .....	17
<b>4</b>	<b>NORMA DA REVISTA.....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>APÊNDICE A – Aprovação CEUA .....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A síndrome da Dor Complexa Regional (SDCR) também conhecida como Distrofia Simpática Reflexa (DSR) é definida como uma situação álgica extrema (nociceptiva ou neuropática) associada a distúrbios neurovegetativos, sensitivos e motores, possuindo predomínio distal, com duração, magnitude e intensidade dolorosa desproporcional (BRUEHL, 2015; KOLB et al., 2012).

A SDCR é dividida em tipo I (SDCR – I), sem lesão nervosa e a do tipo II (SDCR – II), com lesão do nervo periférico (BUSSA et al., 2015; ROCKETT, 2014; TODOROVA, 2013). O trauma é a etiologia mais encontrada, envolvendo entorses, fraturas, luxações, lacerações, contusões e distensões, além de imobilização prolongada, gesso e traumas cirúrgicos. Sua fisiopatologia ainda não é totalmente elucidada, mas acredita-se que eventos (trauma ou lesão) afetam o controle autonômico periférico e modificam atividade do sistema nervoso central e periférico, aumentando excitabilidade dos neurônios nociceptivos diminuindo o limiar de dor. Atividade  $\alpha$ -adrenérgica é sensibilizada no corno dorsal da medula, frente a estímulos dolorosos. Ocorre a ativação reflexa de neurônios simpáticos sensoriais, ocasionando uma hiperatividade simpática. (BRUEHL, 2015; MARINUS, 2011).

A SDCR – I engloba manifestações clínicas como a presença de dor, hiperalgesia, alodínea, hiperestesia, hiperatividade autonômica com alterações na coloração da pele e sua temperatura, além de sudorese e edema (BUSSA et al., 2015; BIRKLEIN, 2015), podendo ocorrer o déficit funcional como: a diminuição da motricidade, fraqueza, tremores, espasmos musculares e dificuldade de movimentação do membro (KELMER, SCHOUTEN & GRACEY, 2000). A SDCR possui uma considerável variação entre os sinais e sintomas que geralmente resulta em três fases amplamente definidas da síndrome, a primeira tipificada por hiperemia e edema (fase inflamatória), a segunda por frio, hiperidrose e cianose (fase crônica) e a terceira por distonia, alterações distróficas e incapacidade (BEAN, JOHNSON & KYDD, 2014; SANDRONI et al., 2003).

Estudos sobre a incidência e prevalência da SDCR são escassos, nos EUA as estimativas indicam uma incidência baixa entre 5 e 26 casos por 100.000 pessoas por ano (MARINUS et al., 2011; SCHWARTZMAN, ERWIN & ALEXANDER, 2011). A epidemiologia da SDCR mostra predomínio de ocorrência no gênero feminino, a partir

da quarta década de vida, em apenas um membro, sendo que 57% desenvolvem-se no primeiro mês após a apresentação da lesão (MEENA et al., 2015). Dos indivíduos tratados com SDCR no primeiro ano de lesão, 80% apresentam melhoras significativas; e apenas 50% dos tratados após 1 ano irão ter a resolatividade do quadro (SKIRVEN et al., 2011).

Para o tratamento da SDCR além da terapia medicamentosa, existem estudos que apontam diferentes recursos terapêuticos para o alívio das manifestações clínicas como: terapia manual, exercício terapêutico, terapia do espelho e agentes eletrofísicos (DIMITRIJEVIC et al., 2014; ANDERSON, 2002). Dentre os agentes eletrofísicos, a terapia de fotobiomodulação através do laser de baixa intensidade (LBI), vem ganhando destaque no tratamento da SDCR, atuando nas vias que envolvem o óxido nítrico, os fótons revertem a inibição mitocondrial, potencializando o efeito da bomba de sódio-potássio gerando assim um aumento no metabolismo e proliferação celular (LARANIA et al., 2012; LIMA et al., 2011; POYTON & BALL, 2011). Com o estímulo a produção de ATP, que estimula a microcirculação ocasionando uma inibição a sensibilização periférica e conseqüentemente diminuição de neuropeptídios inflamatórios e aumento na liberação de mecanismos antioxidantes (ALBUQUERQUE et al., 2015; GUPTA et al., 2014). O LBI possui efeitos terapêuticos como analgesia, efeitos anti edematosos e anti-inflamatórios, além de propriedades regenerativas (JI-HUA et al., 2017) e o seu uso pode reduzir custos e diminuir os efeitos adversos durante o tratamento.

A nicotina é um alcaloide tóxico e um dos principais componentes do tabaco, responsável pela maioria dos efeitos deletérios causados pelos cigarros (ZENZES, 2000). Devido as propriedades da nicotina de elevar os níveis plasmáticos de epinefrina e norepinefrina, substâncias vasoconstritoras, isto pode levar uma diminuição do fluxo sanguíneo nas extremidades, sendo um fator de piora dos sintomas da SDCR e até mesmo de risco para o desencadeamento da síndrome (BERLEY, YAMANO & SUKOTJO, 2010; PINTO et al., 2002).

Apesar da sintomatologia e do déficit funcional dos indivíduos com SDCR – I, além de sua baixa incidência, pesquisas pré-clínicas podem fornecer uma melhor padronização nos parâmetros utilizados. Assim, o modelo apresentado primeiramente por (Coderre et al., 2004) e adaptado para camundongos por (Millecamps et al., 2010), no qual é realizada uma isquemia-reperfusão (IR) de três horas na pata de

camundongos, através de um torniquete próximo a região do tornozelo, induz os sintomas da SDCR – I, com repercussões como hiperemia e edema, seguida de dor neuropática. Os estudos sobre o modelo, revelam que não há sinal de lesão do nervo periférico devido ao torniquete (MARTINS et al., 2015; CODERRE & BENNETT, 2010).

Os estudos que utilizam recursos terapêuticos têm grande importância, devido a sua aplicabilidade na prática clínica. O LBI é amplamente utilizado em pesquisas que envolvem a redução de sintomas inflamatórios, como a dor e o edema. Contudo, existe uma escassez de estudos clínicos que abordem os agentes eletrofísicos e SDCR – I, e esses não apresentam um consenso quanto à metodologia, com variações quanto ao comprimento de onda, densidade de energia e o modo de pulso utilizado, proporcionando assim conclusões controversas, além do fato, do baixo número de ensaios clínicos, devido a baixa epidemiologia da mesma, apesar do desprendimento de altos custos médicos e sociais relacionados a perda de produtividade, incapacidade (MEENA et al, 2015).

O presente estudo é inovador na comparação de diferentes comprimentos de onda da fotobiomodulação associado ou não ao uso da nicotina em um modelo de IR.

Frente ao exposto, este estudo, analisou, o efeito do LBI na SDCR – Tipo I, induzida por isquemia-reperusão em um modelo animal. Com a hipótese de reduzir os sintomas dos animais além da nicotina atuar como fator deletério a resolução do quadro.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos da terapia de fotobiomodulação através do Laser de Baixa Intensidade (LBI) em diferentes comprimentos de onda, na Síndrome da Dor Complexa Regional – Tipo I em camundongos, submetidos ou não ao uso da nicotina.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Analisar os efeitos do LBI (660 e 830 nm), associado ou não ao uso da nicotina, no hiperalgesia mecânica.

Analisar os efeitos do LBI (660 e 830 nm), associado ou não ao uso da nicotina, no hiperalgesia térmica.

Analisar os efeitos do LBI (660 e 830 nm), associado ou não ao uso da nicotina, no edema.

Analisar os efeitos do LBI (660 e 830 nm), associado ou não ao uso da nicotina, na atividade locomotora espontânea, tanto no número de quadrados cruzados quanto no número de apoio bipodal.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os protocolos e procedimentos utilizados neste estudo se encontram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC, número de protocolo nº 1474140817).

### 2.2 AMOSTRA

Para os experimentos foram utilizados camundongos *Swiss* adultos, machos, com peso médio de 30-40 gramas, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e mantidos no biotério setorial do Campus Araranguá-UFSC. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas com no máximo 5 animais em cada, com ventilação, controle de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e umidade (60 - 80%) em ciclo de 12 horas claro-escuro, água e ração ad libitum. Os experimentos foram realizados na sala cirúrgica e comportamental do Biotério Setorial da UFSC/Araranguá, durante a fase clara do ciclo (7 - 19 horas) e os animais mantidos no laboratório para aclimação por pelo menos 30 minutos antes da realização das avaliações.

### 2.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para definir o tamanho da amostra foi utilizado o teste de estimativas aplicado a fórmula descrita abaixo, definida na literatura.

$$n = \left\{ \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta}) * s}{\sigma} \right\}^2$$

1. O valor de alfa foi fixado em 0,05. Assim o valor de  $z_{\alpha}$  baseado na tabela de valores de  $z$  para distribuição bi-caudal é de 1,96;
2. O valor de beta foi fixado em 0,10. Assim o valor de  $z_{\beta}$  baseado na tabela de valores de  $z$  distribuição unicaudal é de 1,28;
3. O valor da diferença entre as médias dos grupos ( $\sigma$ ) como sendo pelo menos 40%, baseado em dados experimentais do nosso grupo de pesquisa.
4. O valor do desvio padrão ( $s$ ) como sendo em média 35% do valor das médias, baseado em dados experimentais do nosso grupo de pesquisa.

Assim, aplicando os valores a fórmula acima ficou definido o número de 8 animais por grupo, totalizando 64 camundongos, divididos aleatoriamente em:

- Naive (n=8) – não submetidos ao protocolo experimental de IR.
- Sham (n=8) – anestesiados e submetidos a simulação do protocolo experimental de IR.
- Controle (n=8) – submetidos ao protocolo experimental de IR.
- 660 nm (n=8) – submetidos ao protocolo experimental de IR e irradiação do LBI com 30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J.
- 830 nm (n=8) – submetidos ao protocolo experimental de IR e irradiação do LBI com 30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J.
- Nicotina (n=8) – submetidos a administração de nicotina (2 mg/Kg/dia), por 28 dias e após indução do protocolo experimental de IR.
- Nicotina + 660 nm (n=8) – submetidos a administração de nicotina (2 mg/Kg/dia), por 28 dias e após indução do protocolo experimental de IR, com irradiação do LBI de 30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J.
- Nicotina + 830 nm (n=8) – submetidos a administração de nicotina (2 mg/Kg/dia), por 28 dias e após indução do protocolo experimental de IR, com irradiação do LBI de 30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J.

## 2.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 2.4.1 Indução da Síndrome da Dor Complexa Regional – Tipo I

A SDCR – I foi induzida pela lesão isquemia-reperfusão (IR) em camundongos (CODERRE et al., 2004; MILLECAMPs et al, 2010). Os animais foram pesados e então anestesiados com uma combinação de Cetamina a 10% (0,1 ml/100 g peso corpóreo) e Xilazina a 2% (0,07 ml/100 g peso corpóreo) com reforços de 20% do volume inicial no final da primeira e segunda hora, sendo administradas por via intraperitoneal (i.p.). Após a verificação da perda do estado de consciência do animal, por meio do pinçamento da cauda e das pregas interdigitais, foi posicionado um anel elástico com 1,3 mm de diâmetro interno (elástico ligadura 60.03.302, marca: Morelli) proximal à articulação do tornozelo

da pata posterior direita. Após o período de isquemia de três horas, o anel foi cortado permitindo a reperfusão da pata. Posteriormente ao procedimento de IR, os animais permaneceram próximos a uma lâmpada para aquecimento até retornarem a deambular pela caixa, voltando para o biotério de experimentação.

Todos os procedimentos e simulações foram realizados na região plantar da pata traseira direita dos camundongos.

#### **2.4.2 Nicotina**

A nicotina administrada nos respectivos grupos (Nicotina Sulfato L-1 Metil-2 (3-Piridil) -Pirrolidina Sulfato; grau II; PM 422-6; SIGMA ALDRICH®), diluída com solução salina e injetada nos tecidos subcutâneos dos camundongos (2 mg/Kg/dia), por 28 dias antes da indução da SDCR – Tipo I (NEVES et al., 2017).

#### **2.4.3 Fotobiomodulação**

Foram utilizados dois comprimentos de onda diferentes: 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J/dia com feixe contínuo, totalizando 12,6 J) e 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J/dia, com feixe contínuo, totalizando 25,2 J) do Ibramed Medical Devices™ (Laserpulse, Amparo, São Paulo, Brasil) (NEVES et al., 2017).

As aplicações do LBI foram realizadas em um único ponto no dorso da pata traseira direita. A caneta posicionada a 90° em relação ao tecido cutâneo, sendo utilizada a técnica pontual com contato. A irradiação do LBI foi realizada imediatamente após a indução da SDCR – Tipo I e tratados por um período de 21 dias.

### **2.5 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS**

#### **2.5.1 Avaliação da Hiperalgisia Mecânica**

O procedimento de avaliação da hiperalgisia mecânica feito através da utilização dos Filamentos de Von Frey (VFH, Stoelting, Chicago, Estados Unidos) pelo método de frequência de retirada (0-100%). Os animais foram alocados individualmente em caixas de acrílico (9x7x11cm) em plataformas de arame elevadas, as quais permitem o

acesso à superfície plantar da pata traseira direita dos animais. A frequência da resposta de retirada foi avaliada após 10 aplicações, com intervalo de 1 segundo. O filamento (0,4 g) configurado a partir de estudos anteriores para produzir uma frequência de retirada média de cerca de 15%, adequado para medir a hiperalgesia mecânica (QUINTÃO et al., 2005 & BORTOLANZA et al., 2002).

### **2.5.2 Avaliação da Hiperalgesia Térmica ao Calor**

Para avaliar a hiperalgesia térmica, realizado com o equipamento Hargreaves (UgoBasile, Comerio, Itália). Sendo mensurada a latência de retirada da pata traseira direita dos animais após a aplicação do estímulo térmico. O tempo de 22 segundos foi determinado como cut-off, a fim de evitar possíveis danos teciduais na pata dos animais. Foram realizadas três medidas do tempo de resposta, em intervalos de 20 segundos (FERNANDES et al., 2016).

### **2.5.3 Avaliação do Edema de Pata**

Os procedimentos para avaliar o diâmetro ou edema da pata dos animais, foram realizados com o micrômetro digital (Digimess, São Paulo, Brasil), com capacidade de 0-25 mm e exatidão 0.001 mm), que propicia uma avaliação ântero-posterior da região da pata traseira direita dos animais, ocasionando uma mínima compressão da pata. Realizado uma média de três compressões repetidas, os dados obtidos expressos em milímetros (VIEIRA et al., 2017).

### **2.5.4 Avaliação da Atividade Locomotora Espontânea**

Para avaliação da atividade locomotora espontânea, utilizamos o método do campo aberto, que consiste de uma caixa de madeira medindo (40x60x50cm) e o fundo desta arena é dividido em 12 quadrados idênticos. Todos os camundongos submetidos ao estudo, foram avaliados individualmente na arena e observados por um período de 5 min. Foram quantificados o número de quadrados cruzados por todas as patas do animal e também o número de vezes que o animal ficou em apoio bipodal (MEOTTI et al., 2006).

Todas as avaliações acima descritas foram realizadas antes e após 4, 7, 14 e 21 dias da indução da SDCR – Tipo I.

## 2.6 ENDPOINTS

O Guia Brasileiro de Criação e Utilização de Animais para Atividades de Ensino e Pesquisa, o qual contempla uma das competências do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), preconiza: que a prevenção de dor e distresse potencial requerem conhecimento do controle e manuseio do animal, seu comportamento normal e o que pode ser esperado se os procedimentos utilizados causarem efeitos adversos nele. Protocolos experimentais que envolvem morte como desfecho provável, a escolha de um ponto final humanitário adequado é ainda mais importante para abreviar o sofrimento de animais que progredirão inexoravelmente para a morte. O uso de pontos finais humanitários contribui para o refinamento provendo uma alternativa aos pontos finais experimentais no caso de dor ou distresse grave nos animais.

Quando foram observada lesões em regiões anatômicas como cauda, orelha e pata o referido animal foi separado dos demais. Quando o aumento da dor e/ou do distresse impossibilitaram a avaliação das variáveis do estudo, o animal foi eutanasiado, para que esses fatores fossem prevenidos, aliviados ou finalizados (DENNIS, 2000).

## 2.7 EUTANASIA

A eutanásia foi efetuada pelo uso excessivo de anestésico: Cetamina e Xilazina seguindo as recomendações da Lei n. 11.794/2008, do decreto n. 6.899/2009 e demais resoluções do CONCEA.

## 2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 6.0 (San Diego, CA, USA). Antes da análise de cada grupo, a normalidade na distribuição dos dados foi verificada por meio dos procedimentos da estatística descritiva, utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Após o teste de normalidade, estes foram submetidos a análise estatística realizada pelo método Two-Way ANOVA, com

coeficiente de significância de ( $p < 0,05$ ) utilizando o post-hoc teste de Tukey.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE-PONTES, G. M., VIEIRA, R. P., TOMAZONI, S. S., et al. Effect of pre-irradiation with different doses, wavelengths, and application intervals of low-level laser therapy on cytochrome c oxidase activity in intact skeletal muscle of rats. *Lasers Med Sci.* 2015;30:59–66.

ANDERSON, D. M. *Mosby's Medical, Nursing & Allied Health Dictionary.* 6th Edition. St. Louis: Mosby; 2002: 2134.

BEAN, D. J., JOHNSON, M. H., KYDD, R. R. The outcome of complex regional pain syndrome type 1: A systematic review. *J Pain.* 2014; 15: 677– 690.

BERLEY, J., YAMANO, S., SUKOTJO, C. The effect of systemic nicotine on osseointegration of titanium implants in the rat femur. *The Journal of Oral Implantology.* 2010; 36(3):185-193.

BIRKLEIN, F., O'Neill, D., SCHLERETH, T. Complex regional pain syndrome: Na optimistic perspective. *Neurology Jan.* 2015; 84(1): 89- 96.

BORTOLANZA, L. B., FERREIRA, J., HESS, S. C., et al. Anti-allodynic action of the tormentic acid, atriterpene isolated from plant, against neuropathic and inflammatory persistentpain in mice. *Eur J Pharmacol.* 2002; 25(453):203-8.

BRUEHL, S. Complex regional pain syndrome. *BMJ.* 2015;351(10):h2730.

BUSSA, M., GUTTILLA, D., LUCIA, M., et al. Complex regional pain syndrome type I: a comprehensive review. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica.* 2015;59(6): 685-97.

CODERRE, T. J., BENNETT, G. J. A Hypothesis for the Cause of Complex Regional Pain Syndrome - Type I (Reflex Sympathetic Dystrophy): Pain Due to Deep-Tissue Microvascular Pathology. *Pain Med.* 2010; 11(8): 1224–1238.

CODERRE, T. J., XANTHOS D. N., FRANCIS, L., et al. Chronic post-ischemia pain (CPIP): a novel animal model of complex regional pain syndrome-type I (CRPS-I; reflex sympathetic dystrophy) produced by prolonged hind paw ischemia and reperfusion in the rat. *Pain*. 2004; 112:94–105.

DENNIS, M. B. Humane endpoints for genetically engineered animal models. *ILAR J*. 2000; 41:94-98.

DIMITRIJEVIC, I. M., LAZOVIC, M. P., KOCIC, M. N., et al. Effects of Low-Level Laser Therapy and Interferential Current Therapy in the Treatment of Complex Regional Pain Syndrome. *Physical Therapy of Complex Regional Pain Syndrome*. 2014; 60:98-105.

FERNANDES, E. S., RUSSELL, F. A., ALAWI, K. M., et al. Environmental cold exposure increases blood flow and affects pain sensitivity in the knee joints of CFA-induced arthritic mice in a TRPA1-dependent manner. *Arthritis Res Ther*. 2016; 18(7):905-15.

GUPTA, A., KESHRI, G. K., YADAV, A., et al. Superpulsed (Ga-As, 904 nm) low-level laser therapy (LLLT) attenuates inflammatory response and enhances healing of burn wounds. *J Biophotonics*. 2014; 8(6)489-501.

JI-HUA, L., MIN-HSUAN, C., PING-HO, C., et al. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy on human periodontal ligament cells: in vitro study. *Lasers Med Sci*. 2017; 33(3):2376-6.

KELMER, M. A., SCHOUTEN, H. J. A., GRACEY, R. H. Diagnosing sensory abnormalities with either normal values or values from contralateral skin: comparison of two approaches in complex regional pain syndromes. *Anesthesiology*. 2000; 93:718-727.

KOLB, L., LANG, C., SEIFERT, F., et al. Cognitive correlates of “neglect- like syndrome” in patients with complex regional pain syndrome. *Pain* 2012; 153:1063-73.

LARAIA, E. M., SILVA, I. S., PEREIRA, D. M., et al. Effect of low-level laser therapy (660 nm) on acute inflammation induced by tenotomy of Achilles tendon in rats. *PhotochemPhotobiol.* 2012; 88(6):1546

LIMA, F. M., VILLAVERDE, A. B., ALBERTINI, R., et al. Dual Effect of low-level laser therapy (LLLT) on the acute lung inflammation induced by intestinal ischemia and reperfusion: action on anti- and proinflammatory cytokines. *Lasers Surg Med.* 2011; 43(5):410–420.

MARINUS, J., MOSELEY, G. L., BIRKLEIN, F., et al. Clinical features and pathophysiology of complex regional pain syndrome. *Lancet Neurology.* 2011; 10(7):637–48.

MARTINS, D. F., PRADO, M. R. B., DURUGE-NETO, E., et al. Caffeine prevents antihyperalgesic effect of gabapentin in an animal model of CRPS-I: evidence for the involvement of spinal adenosine A1 receptor. *Journal of the Peripheral Nervous System.* 2015; 20:403–409.

MEENA, S., SHARMA, P., GANGARY, S. K., et al. Role of Vitamin C in Prevention of Complex Regional Pain Syndrome After Distal Radius Fractures: A Meta-Analysis. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2015; 25(4), 637-641.

MEOTTI, F. C., Luiz AP, Pizzolatti MG, et al. Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006; 316(2):789-96.

MILLECAMPS, M., LAFERRIERE, A., RAGAVENDRAN, J. V., et al. Role of peripheral endothelin receptors in an animal model of complex regional pain syndrome type 1 (CRPS-I). *Pain.* 2010; 151(1): 174–183.

NEVES, L.M., LEITE, G. P. M. F., MARCOLINO, A.M., et al. Laser photobiomodulation (830 and 660 nm) in mast cells, VEGF, FGF, and CD34 of the musculocutaneous flap in rats submitted to nicotine. *Lasers Med Science.* 2017;32:335–341.

PINTO, J. R.; BOSCO, A. F.; OKAMOTO, T.; et al. Effects of Nicotine on H of Extraction Sockets in Rats. A Histological Study. *Braz. Dent. J. Ribeirão Preto*. 2002; 13(1):3-9.

POYTON, R. O., BALL, K. A. Therapeutic photobiomodulation: nitric oxide and a novel function of mitochondrial cytochrome c oxidase. *Discov Med*. 2011; 11(57):154–159.

QUINTÃO, N. L., MEDEIROS, R., SANTOS, A. R., et al. The effects of diacerhein on mechanical allodynia in inflammatory and neuropathic models of nociception in mice. *Anesth. Analg*. 2005; 101:1763–1769.

ROCKETT, M. Diagnosis, mechanisms and treatment of complex regional pain syndrome. *Curr. Opin. Anaesthesiol*. 2014; 27:494–500.

SANDRONI, P., BENRUD-LARSON, L. M., McCLELLAND, R. L., et al. Complex regional pain syndrome type I: Incidence and prevalence in Olmsted county, a population-based study. *Pain*. 2003; 103:199–207.

SCHWARTZMAN, R. J., ERWIN, K. L., ALEXANDER, G. M. The natural history of complex regional pain syndrome. *Clinical journal of Pain*. 2009; 25(4):273-80.

SKIRVEN, T. M., OSTERMAN, A. L., FEDORCZYK, J., et al. *Rehabilitation of the Hand and Upper Extremity*. Sixth edition. Philadelphia: Elsevier Mosby. 2011; 115: 1470-1492.

TODOROVA, J., DANTCHEV, N., PETROVA, G. Complex regional pain syndrome acceptance and the alternative denominations in the medical literature. *Medical Principles and Practice*. 2013; 22(3):295–300.

VIEIRA, G., CAVALLI, J., GONÇALVES, E. C. D., et al. Effects of simvastatin beyond dyslipidemia: exploring its antinociceptive action in an animal model of complex regional pain syndrome- type I. *Frontiers in Pharmacology*. 2017; (8)584.

ZENZES, M. T. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Hum Reprod.* 2000; 6:122–131.



### 3 RESULTADOS

#### 3.1ARTIGO

##### **ESTUDO ORIGINAL (*Lasers in Medical Science*)**

#### **EFEITO DA FOTOBIMODULAÇÃO ASSOCIADO A NICOTINA EM NA SÍNDROME DA DOR COMPLEXA REGIONAL – TIPO I: MODELO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS**

**Mariana Rodrigues<sup>1</sup>, Ramon Bauer Cardoso<sup>2</sup>, Alexandre Márcio Marcolino<sup>1</sup>, Rafael InácioBarbosa<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Federal de Santa Catarina / UFSC – campus Araranguá, Brasil.

<sup>2</sup> Curso de Fisioterapia da Universidade Federal de Santa Catarina / UFSC – campus Araranguá, Brasil.

Corresponding author: Rafael Inácio Barbosa, PhD. Laboratory of Assessment and Rehabilitation of Locomotor System, Federal University of Santa Catarina (LARAL / UFSC), Rua Pedro João Pereira, 150. CEP 88905-120, Araranguá, Santa Catarina, Brazil. E-mail: rafael.barbosa@ufsc.br

## RESUMO

Objetivo: Verificar os efeitos da terapia de fotobiomodulação em um modelo experimental de Síndrome da Dor Complexa Regional – Tipo I, associada ou não ao uso da nicotina. Métodos: Foram utilizados 64 camundongos da linhagem *Swiss*, divididos em: Naive; Sham; Controle; 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J); 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J); Nicotina; Nicotina + 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J) e Nicotina + 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J). A SDCR – I foi induzida por um modelo experimental de isquemia-reperfusão (IR). Os animais foram avaliados quanto a hiperalgesia mecânica e térmica ao calor, edema da pata e atividade locomotora espontânea; no período basal e após 4, 7, 14, 21 dias da indução. A análise estatística foi feita pelo método *Two-Way* ANOVA, com coeficiente de significância de  $p < 0,05$  utilizando o *post-hoc* de Tukey. Resultados: No 21 dia de avaliação ocorreu uma melhora na hiperalgesia mecânica do grupo 660 nm, 830 nm e com associação de nicotina, quando comparados ao controle ( $p < 0,05$ ); na hiperalgesia térmica os grupos 660 nm, 830 nm e associados a nicotina quando comparados ao sham ( $p < 0,05$ ). No edema e atividade locomotora espontânea não houve diferença significativa no último dia de avaliação. Assim, pode-se concluir que, na amostra analisada, o LBI 660 e 830 nm foram eficazes na diminuição da hiperalgesia mecânica e térmica, sendo que o comprimento de onda de 660 nm, apresentou melhores resultados. O efeito deletério da nicotina ficou evidenciado, e estes quando tratados com o laser houve uma redução dos efeitos negativos.

**Palavras-chave:** Laser de baixa intensidade; Dor neuropática, Inflamação, Síndrome da Dor Complexa Regional, Reabilitação.

## INTRODUÇÃO

A síndrome da Dor Complexa Regional (SDCR) primariamente conhecida como Distrofia Simpática Reflexa (DSR) ou Distrofia de Sudeck é definida como uma síndrome incapacitante, associada a uma condição dolorosa extrema (nociceptiva ou neuropática) e distúrbios sensitivos, motores sudomotores, vasomotores, edema e tróficos [1,2].

De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), SDCR é dividida em tipo I (SDCR – I), sem lesão nervosa periférica e a do tipo II (SDCR – II), com lesão associada [3,4]. O trauma é a etiologia mais encontrada, envolvendo entorses, fraturas, luxações, lacerações, contusões e distensões, além de imobilização prolongada, gesso e traumas cirúrgicos [5,6]. Sua fisiopatologia ainda não é totalmente elucidada, mas acredita-se que algum trauma ou evento lesivo possa afetar o controle autonômico periférico e modificar atividade do sistema nervoso central, aumentando excitabilidade dos neurônios nociceptivos diminuindo o limiar de dor [1,6].

A epidemiologia da SDCR mostra predomínio de ocorrência distal, no gênero feminino, a partir da quarta década de vida, em apenas um membro, sendo que 57% desenvolvem-se no primeiro mês após a apresentação da lesão [7]. Dos indivíduos tratados com SDCR no primeiro ano de lesão, 80% apresentam melhoras significativas; e apenas 50% dos tratados após 1 ano irão ter a resolatividade do quadro [8].

A SDCR – I engloba sinais e sintomas como a presença de dor, hiperalgesia, alodínea, hiperestesia, alterações na coloração da pele e sua temperatura, sudorese, edema [3,5]. Há também um grande comprometimento funcional como a diminuição da motricidade, fraqueza, tremores, espasmos musculares e dificuldade de movimentação do membro [9]. A progressão da síndrome ocorre em paralelo com a transição dos sintomas passando de uma fase - “quente” inflamatória, para uma de característica autonômica - “fria” [1,10].

Através da sua fisiopatologia, estima-se que na SDCR o vasoespasmo é patogênico, sendo que alguns estudos sugerem que os indivíduos devem evitar o uso do tabaco. A nicotina é um alcaloide tóxico e um dos principais componentes do tabaco, responsável pela maioria dos efeitos deletérios causados pelos cigarros [11]. Devido as propriedades da nicotina de elevar os níveis plasmáticos de epinefrina e norepinefrina, substâncias vasoconstritoras, isto pode levar uma diminuição do fluxo sanguíneo nas extremidades, sendo um fator de piora dos sintomas da

SDCR e até mesmo de risco para o desencadeamento da síndrome [12,13].

Apesar da sintomatologia e do déficit funcional dos indivíduos com SDCR – I, além de sua baixa incidência, pesquisas pré-clínicas podem fornecer uma melhor padronização nos parâmetros utilizados. Assim, o modelo apresentado primeiramente por Coderre et al.[14], e adaptado para camundongos por Millecamps et al.[15], no qual é realizada uma isquemia-reperusão (IR) de três horas na pata de camundongos, através de um torniquete próximo a região do tornozelo, induz os sintomas da SDCR – I, com repercussões como hiperemia e edema, seguida de dor neuropática. Os estudos sobre o modelo, revelam que não há sinal de lesão do nervo periférico devido ao torniquete [16,17]. Como reconhecido de tratamento difícil, o modelo criado em laboratórios permite a investigação de novos tratamentos complementares a terapia já existente, com o objetivo de reduzir custos e diminuir os efeitos adversos durante o tratamento.

Estudos apontam diferentes recursos terapêuticos para o alívio das manifestações clínicas como: terapia manual, exercício terapêutico, terapia do espelho e agentes eletrofísicos [18,19]. Dentre os agentes eletrofísicos, o laser de baixa intensidade (LBI) vem ganhando destaque no tratamento complementar da SDCR, na qual a fotobiomodulação produz efeitos benéficos nas células e tecidos, reduzindo a inflamação e consequentemente o edema e a dor, além das propriedades regenerativas [20]. A luz é absorvida pelos fótons, e age aumentando a atividade da enzima citocromo c oxidase (CCO), enzima responsável pela produção de Adenosina Trifosfato (ATP), devido a sua ação de dissociação do óxido nítrico (NO), impedindo que ocorra a inibição do CCO [21]. Com o aumento da produção de ATP na cadeia mitocondrial, existe um aumento no metabolismo e proliferação celular ocasionando uma diminuição de neuropeptídios inflamatórios e aumento na liberação de mecanismos anti-oxidantes [22,23].

Os estudos que utilizam recursos terapêuticos têm grande importância, devido a sua aplicabilidade e baixo custo na prática clínica. Contudo, existe uma escassez de estudos que abordem agentes eletrofísicos e SDCR – I, e esses não apresentam um consenso quanto à metodologia, proporcionando assim conclusões controversas, além de que, os pacientes que sofrem da doença estão associados ao desprendimento de altos custos médicos e sociais relacionados a perda de produtividade, incapacidade [7].

O presente estudo é inovador na comparação de diferentes comprimentos de onda da fotobiomodulação associado ou não ao uso da nicotina em um modelo de IR, a fim de trazer uma perspectiva de parâmetros para futuros estudos clínicos.

Frente ao exposto, este estudo, analisou, o efeito do LBI na SDCR – Tipo I, induzida por isquemia-reperusão em um modelo animal. Com a hipótese de reduzir os sintomas dos animais além da nicotina atuar como fator deletério a resolução do quadro e com objetivo de verificar os efeitos da terapia de fotobiomodulação em um modelo experimental de Síndrome da Dor Complexa Regional – Tipo I, submetidos ao uso da nicotina.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Aspectos éticos

Os protocolos e procedimentos utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC, protocolo 1474140817).

### Grupos experimentais

A partir do cálculo amostral, ficou definido o uso de 8 animais por grupo, totalizando 64 camundongos machos da linhagem *Swiss*, com peso médio de 30-40 gramas, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e mantidos no biotério setorial do Campus Araranguá-UFSC.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos:

- Naive (n=8) – não submetidos ao protocolo experimental de IR.
- Sham (n=8) – anestesiados e submetidos a simulação do protocolo experimental de IR.
- Controle (n=8) – submetidos ao protocolo experimental de IR.
- 660 nm (n=8) – submetidos ao protocolo experimental de IR e irradiação do LBI com 30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J.
- 830 nm (n=8) – submetidos ao protocolo experimental de IR e irradiação do LBI com 30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J.
- Nicotina (n=8) – submetidos a administração de nicotina (2 mg/Kg/dia), por 28 dias e após indução do protocolo experimental de IR.

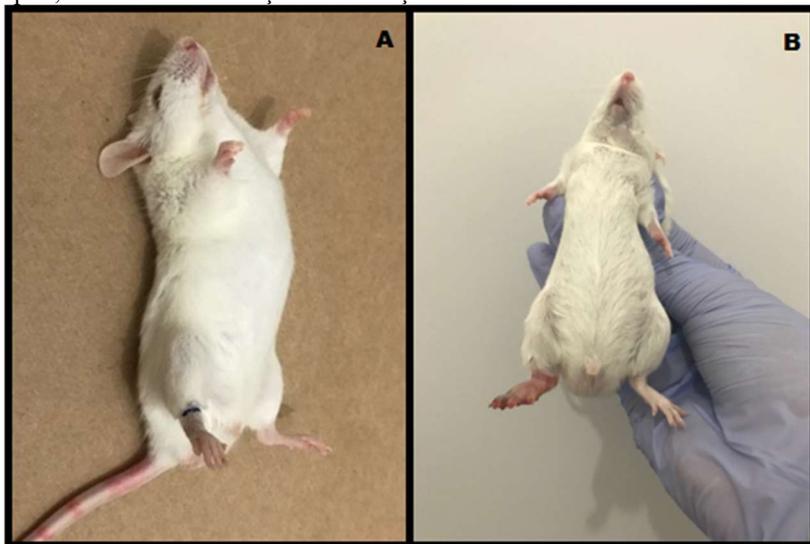
•Nicotina + 660 nm (n=8) – submetidos a administração de nicotina (2 mg/Kg/dia), por 28 dias e após indução do protocolo experimental de IR, com irradiação do LBI de 30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J.

•Nicotina + 830 nm (n=8) – submetidos a administração de nicotina (2 mg/Kg/dia), por 28 dias e após indução do protocolo experimental de IR, com irradiação do LBI de 30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J.

### **Indução da síndrome da dor complexa regional – Tipo I**

A SDCR – I foi induzida pela lesão isquemia-reperfusão (IR) nos camundongos [15,16]. Os animais foram anestesiados com uma combinação de Cetamina a 10% (Syntec do Brasil Ltda, Rhobifarma<sup>TM</sup>, Hortolândia, São Paulo, Brasil - 0,1 ml/100 g peso corpóreo) e Xilazina a 2% (Syntec do Brasil Ltda, Rhobifarma<sup>TM</sup>, Hortolândia, São Paulo, Brasil -0,07 ml/100 g peso corpóreo) com reforços de 20% do volume inicial no final da primeira e segunda hora. Após a indução da anestesia, foi posicionado um anel elástico com 1,3 mm de diâmetro interno (elástico ligadura 60.03.302, marca: Morelli) proximal à articulação do tornozelo da pata posterior direita (Figura 1). Após o período de isquemia de três horas, o anel foi cortado permitindo a reperfusão da pata. Todos os procedimentos e simulações foram realizados na região plantar da pata traseira direita dos camundongos.

Figura 1 - A) Modelo de isquemia-reperfusão, com alocação de um elástico proximal a articulação da pata traseira direita. B) Sinais da indução da SDCR tipo I, com edema e alteração na coloração.



Fonte 1: Arquivo pessoal.

## Nicotina

A nicotina administrada nos respectivos grupos (Nicotina Sulfato L-1 Metil-2 (3-Piridil) -Pirrolidina Sulfato; grau II; PM 422-6; SIGMA ALDRICH®), diluída com solução salina e injetada nos tecidos subcutâneos dos camundongos (2 mg/Kg/dia), por 28 dias antes da indução da SDCR – Tipo I (NEVES et al., 2017).

## Fotobiomodulação

Foram utilizados dois comprimentos de onda diferentes: 660 nm (30 mW, 0,06 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 20 s, 0,6 J/dia com feixe contínuo, totalizando 12,6 J) e 830 nm (30 mW, 0,116 cm<sup>2</sup>, 10 J/cm<sup>2</sup>, 40 s, 1,2 J/dia, com feixe contínuo, totalizando 25,2 J) do Ibramed Medical Devices™ (Laserpulse, Amparo, São Paulo, Brasil) [24].

As aplicações do LBI foram realizadas com a caneta posicionada em 90° em contato com um único ponto no dorso da pata traseira direita.

As irradiações do LBI foram feitas imediatamente após a indução da SDCR – Tipo I e tratados por um período de 21 dias.

### **Avaliação da hiperalgesia mecânica**

Os animais foram alocados individualmente em caixas de acrílico (9x7x11cm) em plataformas de arame elevadas, as quais permitem o acesso à superfície plantar da pata traseira direita dos animais (Figura 2A). As frequências da resposta de retirada foram avaliadas após 10 aplicações com intervalo de 1 segundo, do filamento Von Frey (VFH, Stoelting, Chicago, Estados Unidos). O filamento (0,4 g) configurado a partir de estudos anteriores para produzir uma frequência de retirada média de cerca de 15%, adequado para medir a hiperalgesia mecânica [25, 26].

### **Avaliação da hiperalgesia térmica ao calor**

Através do Hargreaves (UgoBasile, Comerio, Itália), foram mensuradas as latências de retirada da pata traseira direita dos animais após a aplicação do estímulo térmico (Figura 2B). O tempo de 22 segundos foi determinado como cut-off, a fim de evitar possíveis danos teciduais na pata dos animais. Foram realizadas três medidas do tempo de resposta, em intervalos de 20 segundos [27].

### **Avaliação do edema de pata**

O diâmetro ou edema da pata dos animais, foram mensuradas usando o Micrômetro digital (Digimess, São Paulo, Brasil), com capacidade de 0-25mm e exatidão 0.001mm), que propicia uma avaliação ântero-posterior da região da pata traseira direita dos animais. Realizando três compressões repetidas, os dados obtidos foram expressos em milímetros (Figura 2C) [28].

### **Avaliação da atividade locomotora espontânea**

Todos os camundongos submetidos ao estudo foram avaliados individualmente pelo método campo aberto, que consiste em uma arena

de madeira (40x60x50cm) com o fundo dividido em 12 quadrados idênticos e observados por um período de 5 min (Figura 2D). Foram quantificados o número de quadrados cruzados por todas as patas do animal e também o número de vezes que o animal permaneceu em apoio bipodal [29].

Figura 2 - A) Método de avaliação da hiperalgesia mecânica. B) Método de avaliação da hiperalgesia mecânica C) Método de avaliação do edema D) Método de avaliação da atividade locomotora.



Fonte 2 - Arquivo pessoal.

Todas as avaliações acima descritas foram realizadas antes do procedimento (medida basal) e após 4, 7, 14 e 21 dias do procedimento experimental de indução da SDCR – Tipo I.

Para os desfechos humanitários e eutanásia dos animais foram utilizados o uso excessivo de anestésicos: Cetamina (300 mg/Kg) e Xilazina (30 mg/Kg) [30].

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *GraphPad Prism* 6.0 (colocar os dados da cidade, país...etc). A

normalidade na distribuição dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Após o teste de normalidade, estes foram submetidos a análise estatística pelo método *Two-Way* ANOVA, com coeficiente de significância de ( $p < 0,05$ ) utilizando o *post-hoc* de Tukey.

## RESULTADOS

Durante a fase de experimentação fez-se necessário a eutanásia de um animal do Grupo Nicotina no 7º dia de avaliação devido a necrose severa da pata e autotomia, a fim de evitar distresse, sendo necessária a substituição do animal. Os resultados são descritos nas tabelas abaixo.

A Tabela 1 refere-se aos resultados da avaliação da Hiperalgia Mecânica, expressos com valores da média, intervalo de confiança e diferença estatisticamente significativa ( $*p < 0,05$ ). A avaliação intergrupos feita nos tempos 0, 4, 7, 14 e 21 dias. No 7, 14 e 21 dia de avaliação os grupos 660nm; Nicotina + 660nm; 830nm mostraram diferença estatisticamente significativa comparado ao grupo controle ( $*p < 0,05$ ). O grupo Nicotina + 830nm obteve ( $*p < 0,05$ ) no 7 e 21 dia comparado ao controle. A comparação entre nicotina e 660nm e também com 830nm obteve diferença ( $*p < 0,05$ ) no 14 dia de avaliação.

Tabela 1 - Dados referentes a avaliação da Hiperalgesia Mecânica através do Von Frey (\*p&lt;0,05).

HIPERALGESIA MECÂNICA	0			4			7			14			21		
	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor
Controle x LBI 660 nm	-0,38	-3,23 to 2,48	> 1,00	1,50	-1,35 to 4,35	0,74	4,25	1,40 to 7,10	*0,05	4,00	1,15 to 6,85	*0,05	5,13	2,27 to 7,98	*< 0,05
Controle x Nicotina + LBI 660nm	-2,38	-5,23 to 0,48	0,18	0,75	-2,10 to 0,60	0,99	4,25	1,40 to 7,10	*0,05	4,75	1,90 to 7,60	*< 0,05	4,75	1,90 to 7,60	*< 0,05
Controle x Nicotina	-1,25	-4,10 to 1,60	0,88	0,13	-2,73 to 2,98	> 1,00	2,13	-0,73 to 4,98	0,31	0,38	-2,48 to 3,23	> 1,00	3,50	0,65 to 6,35	*0,05
Controle x Sham	0,67	-3,19 to 4,53	1,00	1,50	-2,36 to 5,36	0,93	4,21	0,35 to 8,07	*0,05	5,33	1,47 to 9,19	*0,05	3,63	-0,24 to 7,49	0,08
Controle x Naive	-1,33	-5,19 to 2,53	0,96	0,83	-3,03 to 4,69	1,00	4,21	0,35 to 8,07	*0,05	3,33	-0,53 to 7,19	0,15	4,96	1,10 to 8,82	*0,05
Controle x LBI 830nm	0,13	-2,73 to 2,98	> 1,00	2,00	-0,85 to 4,85	0,39	5,75	2,90 to 8,60	*< 0,05	4,13	1,27 to 6,98	*0,05	4,88	2,02 to 7,73	*< 0,05
Controle x Nicotina + LBI 830nm	-2,38	-5,23 to 0,48	0,18	2,25	-0,60 to 5,10	0,24	4,63	1,77 to 7,48	*< 0,05	2,25	-0,60 to 5,10	0,24	4,00	1,15 to 6,85	*0,05
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 660nm	-2,00	-4,85 to 0,85	0,39	-0,75	-4,26 to 2,10	0,99	0,00	-2,85 to 2,85	> 1,00	0,75	-2,10 to 3,60	0,99	-0,38	-3,23 to 2,48	> 1,00
LBI 660 nm x Nicotina	-0,88	-3,73 to 1,98	0,98	-1,38	-4,23 to 1,48	0,82	-2,13	-4,98 to 0,727	0,31	-3,63	-6,48 to 0,77	*0,05	-1,63	-4,48 to 1,23	0,66
LBI 660 nm x Sham	1,04	-2,82 to 4,90	0,99	0,00	-3,86 to 3,86	> 1,00	-0,04	-3,90 to 3,82	> 1,00	1,33	-2,53 to 5,19	0,96	-1,50	-5,36 to 2,36	0,93
LBI 660 nm x Naive	-0,96	-4,82 to 2,90	0,99	-0,67	-4,53 to 3,19	1,00	-0,04	-3,90 to 3,82	> 1,00	-0,67	-4,53 to 3,19	1,00	-0,17	-4,03 to 3,69	> 1,00
LBI 660 nm x LBI 830nm	0,50	-2,35 to 3,35	1,00	0,50	-2,35 to 3,35	1,00	1,50	-1,35 to 4,35	0,74	0,13	-2,73 to 2,98	> 1,00	-0,25	-3,10 to 2,60	> 1,00
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 830nm	-2,00	-4,85 to 0,85	0,39	0,75	-2,10 to 0,60	0,99	0,38	-2,48 to 3,23	> 1,00	-1,75	-4,60 to 1,10	0,57	-1,13	-3,98 to 1,73	0,93
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina	1,13	-1,73 to 3,98	0,93	-0,63	-3,48 to 2,23	1,00	-2,13	-4,98 to 0,73	0,31	-4,38	-7,23 to -1,52	*0,05	-1,25	-4,10 to 1,60	0,88
Nicotina + LBI 660nm x Sham	3,04	-0,82 to 6,90	0,24	0,75	-3,11 to 4,61	1,00	-0,04	-3,90 to 3,82	> 1,00	0,58	-3,28 to 2,44	1,00	-1,13	-4,99 to 2,74	0,99
Nicotina + LBI 660nm x Naive	1,04	-2,82 to 4,90	0,99	0,08	-3,78 to 3,94	> 1,00	-0,04	-3,90 to 3,82	> 1,00	-1,42	-5,28 to 4,44	0,95	0,21	-3,65 to 4,07	> 1,00
Nicotina + LBI 660nm x LBI 830nm	2,50	-0,35 to 5,35	0,13	1,25	-1,60 to 4,10	0,88	1,50	-1,35 to 4,35	0,74	-0,63	-3,48 to 2,23	1,00	0,13	-2,73 to 2,98	> 1,00
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina + LBI 830nm	0,00	-2,85 to 2,85	> 1,00	1,50	-1,35 to 4,35	0,74	0,38	-2,48 to 3,23	> 1,00	-2,50	-5,35 to 0,35	0,13	-0,75	-3,60 to 2,10	0,99
Nicotina x Sham	1,92	-1,94 to 5,78	0,80	1,38	-2,49 to 5,24	0,96	2,08	-1,78 to 5,94	0,72	4,96	1,10 to 8,82	*0,05	0,13	-3,74 to 3,99	> 1,00
Nicotina x Naive	-0,08	-3,94 to 3,78	> 1,00	0,71	-3,15 to 4,57	1,00	2,08	-1,78 to 5,94	0,72	2,96	-0,90 to 6,82	0,27	1,46	-2,40 to 5,32	0,94
Nicotina x LBI 830nm	1,38	-1,48 to 4,23	0,82	1,88	-0,98 to 4,73	0,48	3,63	0,77 to 6,48	*0,05	3,75	0,90 to 6,60	*0,05	1,38	-1,48 to 4,23	0,82
Nicotina x Nicotina + LBI 830nm	-1,13	-3,98 to 1,73	0,93	2,13	-0,73 to 4,98	0,31	2,50	-0,35 to 5,35	0,13	1,88	-0,98 to 4,73	0,48	0,50	-2,35 to 3,35	1,00
Sham x Naive	-2,00	-6,66 to 2,66	0,89	-0,67	-5,32 to 3,99	1,00	0,00	-4,66 to 4,66	> 1,00	-2,00	-6,66 to 2,66	0,89	1,33	-3,32 to 5,99	0,99
Sham x LBI 830nm	-0,54	-4,40 to 3,32	1,00	0,50	-3,36 to 4,36	> 1,00	1,54	-2,32 to 5,40	0,92	-1,21	-5,07 to 2,65	0,98	1,25	-2,61 to 5,11	0,98
Sham x Nicotina + LBI 830nm	-3,04	-6,90 to 0,82	0,24	0,75	-3,11 to 4,61	1,00	0,42	-3,44 to 4,28	> 1,00	-3,08	-6,94 to 0,78	0,23	0,38	-3,49 to 4,24	> 1,00
Naive x LBI 830nm	1,46	-2,40 to 5,32	0,94	1,17	-2,69 to 5,03	0,98	1,54	-2,32 to 5,40	0,92	0,79	-3,90 to 4,65	1,00	-0,08	-3,94 to 3,78	> 1,00
Naive x Nicotina + LBI 830nm	-1,04	-4,90 to 2,82	0,99	1,42	-2,44 to 5,28	0,95	0,42	-3,44 to 4,28	> 1,00	-1,08	-4,94 to 2,78	0,99	-0,96	-4,82 to 2,90	0,99
LBI 830nm x Nicotina + LBI 830nm	-2,50	-5,35 to 0,35	0,13	0,25	-2,60 to 3,10	> 1,00	-1,13	-3,98 to 1,73	0,93	-1,88	-4,73 to 0,98	0,48	-0,88	-3,73 to 1,98	0,98

A Tabela 2 refere-se aos resultados da avaliação da Hiperalgesia Térmica, expressos com valores da média, intervalo de confiança e diferença estatisticamente significativa (\*p<0,05). A avaliação intergrupos feita nos tempos 0, 4, 7, 14 e 21 dias. O grupo 660nm apresentou diferença (\*p<0,05) no tempo 0, 4 e 14 dia comparado ao grupo nicotina.

O grupo 830nm apresentou diferença (\* $p < 0,05$ ) no tempo 4 e 7 dia comparado ao grupo nicotina. Nicotina + 660nm comparado ao grupo nicotina, mostrou diferença estatística (\* $p < 0,05$ ) no 4 e 7 dia de avaliação. O grupo 660nm obteve (\* $p < 0,05$ ) comparado ao 830nm no 14 dia. Nicotina + 660nm obteve (\* $p < 0,05$ ) comparado a nicotina + 830nm no 4 e 7 dia de avaliação.

Tabela 2 - Dados referentes a avaliação da Hiperalgesia Térmica através do Hargreaves (\*p&lt;0,05).

HIPERALGESIA TÉRMICA	0			4			7			14			21		
	Média	95% IC	P valor												
Controle x LBI 660 nm	0,89	-5,14 to 6,92	1,00	-2,50	-8,53 to 3,53	0,91	-1,10	-7,13 to 4,93	1,00	-4,99	-11,00 to 1,04	0,19	-5,71	-11,70 to 0,32	0,08
Controle x Nicotina + LBI 660nm	3,28	-2,76 to 9,31	0,71	-5,75	-11,80 to 0,28	0,07	-5,19	-11,20 to 0,84	0,15	-0,44	-6,47 to 5,59	> 1,00	-1,98	-8,01 to 4,06	0,97
Controle x Nicotina	8,36	2,33 to 14,40	*0,05	5,73	-0,31 to 11,80	0,08	3,29	-2,74 to 9,32	0,71	4,11	-1,92 to 10,10	0,43	-0,21	-6,24 to 5,82	> 1,00
Controle x Sham	-0,33	-8,50 to 7,83	> 1,00	-4,37	-12,50 to 3,80	0,73	-8,03	-16,20 to 0,13	0,06	-11,50	-19,70 to -3,38	*0,05	-16,80	-25,00 to -8,65	*< 0,05
Controle x Naive	-1,67	-9,83 to 6,50	1,00	-1,37	-9,54 to 6,80	1,00	-10,90	-19,10 to -2,77	*0,05	-11,70	-19,90 to -3,55	*0,05	-13,10	-21,30 to -4,95	*< 0,05
Controle x LBI 830nm	4,39	-1,64 to 10,40	0,34	-1,54	-7,57 to 4,49	0,99	-3,84	-9,87 to 2,19	0,52	1,69	-4,34 to 7,72	0,99	-1,96	-7,99 to 4,07	0,97
Controle x Nicotina + LBI 830nm	5,70	-0,33 to 11,70	0,08	4,31	-1,72 to 10,30	0,36	1,09	-4,94 to 7,12	1,00	1,48	-4,56 to 7,51	1,00	-0,61	-6,64 to 5,42	> 1,00
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 660nm	2,39	-3,64 to 8,42	0,93	-3,25	-9,28 to 2,78	0,72	-4,09	-10,10 to 1,94	0,44	4,55	-1,48 to 10,60	0,29	3,74	-2,29 to 9,77	0,56
LBI 660 nm x Nicotina	7,48	1,44 to 13,50	*0,05	8,23	2,19 to 14,30	*0,05	4,39	-1,64 to 10,40	0,34	9,10	3,07 to 15,10	*0,05	5,50	-0,53 to 11,50	0,10
LBI 660 nm x Sham	-1,22	-9,39 to 6,95	1,00	-1,87	-10,00 to 6,30	1,00	-6,93	-15,10 to 1,23	0,16	-6,56	-14,70 to 1,61	0,22	-11,10	-19,30 to -2,93	*0,05
LBI 660 nm x Naive	-2,55	-10,7 to 5,61	0,98	1,13	-7,04 to 9,30	1,00	-9,83	-18,00 to -1,67	*0,05	-6,73	-14,90 to 1,44	0,19	-7,40	-15,60 to 0,77	0,11
LBI 660 nm x LBI 830nm	3,50	-2,53 to 9,53	0,64	0,96	-5,07 to 6,99	1,00	-2,74	-8,77 to 3,29	0,86	6,68	0,64 to 12,70	*0,05	3,75	-2,28 to 9,78	0,55
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 830nm	4,81	-1,22 to 10,8	0,23	6,81	0,78 to 12,80	*0,05	2,19	-3,84 to 8,22	0,95	6,46	0,43 to 12,50	*0,05	5,10	-0,93 to 11,10	0,17
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina	5,09	-0,94 to 11,10	0,17	11,50	5,44 to 17,50	*< 0,05	8,48	2,44 to 14,50	*0,05	4,55	-1,48 to 10,60	0,29	1,76	-4,27 to 7,79	0,99
Nicotina + LBI 660nm x Sham	-3,61	-11,80 to 4,56	0,88	1,38	-6,79 to 9,55	1,00	-2,85	-11,00 to 5,32	0,96	-11,10	-19,30 to -2,94	*0,05	-14,80	-23,00 to -6,67	*< 0,05
Nicotina + LBI 660nm x Naive	-4,94	-13,10 to 3,22	0,59	4,38	-3,79 to 12,50	0,73	-5,75	-13,90 to 2,42	0,38	-11,30	-19,40 to -3,11	*0,05	-11,10	-19,30 to -2,97	*0,05
Nicotina + LBI 660nm x LBI 830nm	1,11	-4,92 to 7,14	1,00	4,21	-1,82 to 10,20	0,39	1,35	-4,68 to 7,38	1,00	2,13	-3,91 to 8,16	0,96	0,01	-6,02 to 6,04	> 1,00
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina + LBI 830nm	2,43	-3,61 to 8,46	0,92	10,10	4,03 to 16,10	*< 0,05	6,28	0,24 to 12,30	*0,05	1,91	-4,12 to 7,94	0,98	1,36	-4,67 to 7,39	1,00
Nicotina x Sham	-8,70	-16,90 to -0,53	*0,05	-10,10	-18,30 to -1,93	*0,05	-11,30	-19,50 to -3,15	*0,05	-15,70	-23,80 to -7,49	*< 0,05	-16,60	-24,80 to -8,43	*< 0,05
Nicotina x Naive	-10,00	-18,20 to -1,86	*0,05	-7,10	-15,30 to 1,07	0,14	-14,20	-22,40 to -6,05	*< 0,05	-15,80	-24,00 to -7,66	*< 0,05	-12,90	-21,10 to -4,73	*< 0,05
Nicotina x LBI 830nm	-3,98	-10,00 to 2,06	0,47	-7,26	-13,20 to 1,23	*0,05	-7,13	-13,20 to -1,09	*0,05	-2,43	-8,46 to 3,61	0,92	-1,75	-7,78 to 4,28	0,99
Nicotina x Nicotina + LBI 830nm	-2,66	-8,69 to 3,37	0,88	-1,41	-7,44 to 4,62	1,00	-2,20	-8,23 to 3,83	0,95	-2,64	-8,67 to 3,39	0,88	-0,40	-6,43 to 5,63	> 1,00
Sham x Naive	-1,33	-11,2 to 8,52	> 1,00	3,00	-6,85 to 12,80	0,98	-2,90	-12,7 to 6,95	0,99	-0,17	-10,00 to 9,68	> 1,00	3,70	-6,15 to 13,50	0,95
Sham x LBI 830nm	4,72	-3,45 to 12,90	0,64	2,83	-5,33 to 11,00	0,96	4,20	-3,97 to 12,40	0,77	13,20	5,07 to 21,40	*< 0,05	14,90	6,68 to 23,00	*< 0,05
Sham x Nicotina + LBI 830nm	6,03	-2,13 to 14,20	0,32	8,68	0,52 to 16,80	*0,05	9,12	0,95 to 17,30	*0,05	13,00	4,85 to 21,20	*< 0,05	16,20	8,03 to 24,40	*< 0,05
Naive x LBI 830nm	6,05	-2,11 to 14,20	0,32	-0,17	-8,33 to 8,00	> 1,00	7,10	-1,07 to 15,30	0,14	13,40	5,23 to 21,60	*< 0,05	11,20	2,98 to 19,30	*0,05
Naive x Nicotina + LBI 830nm	7,37	-0,78 to 15,50	0,11	5,68	-2,48 to 13,80	0,40	12,00	3,85 to 20,20	*0,05	13,20	5,02 to 21,40	*< 0,05	12,50	4,33 to 20,70	*0,05
LBI 830nm x Nicotina + LBI 830nm	1,31	-4,72 to 7,34	1,00	5,85	-0,18 to 11,90	0,06	4,93	-1,11 to 11,00	0,20	-0,21	-6,24 to 5,82	> 1,00	1,35	-4,68 to 7,38	1,00

A Tabela 3 refere-se aos resultados da avaliação do Edema, expressos com valores da média, intervalo de confiança e diferença estatisticamente significativa (\*p<0,05). A avaliação intergrupos feita nos tempos 0, 4, 7, 14 e 21

dias. O grupo 830nm apresentou diferença estatisticamente significativa (\* $p < 0,05$ ) comparado ao grupo nicotina + 830nm no 14 dia de avaliação.

Tabela 3 - Dados relacionados a avaliação do Edema, através do micrometro digital (\* $p < 0,05$ ).

EDEMA	0			4			7			14			21		
	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor									
Controle x LBI 660 nm	0,07	-0,58 to 0,72	> 1,00	-0,05	-0,70 to 0,60	> 1,00	0,13	-0,52 to 0,78	1,00	0,50	-0,15 to 1,15	0,27	0,60	-0,05 to 1,25	0,09
Controle x Nicotina + LBI 660nm	-0,12	-0,77 to 0,52	1,00	0,14	-0,50 to 0,79	1,00	0,15	-0,50 to 0,79	1,00	0,26	-0,39 to 0,90	0,93	0,60	-0,051 to 1,25	0,10
Controle x Nicotina	-0,51	-1,16 to 0,14	0,25	-0,17	-0,82 to 0,48	0,99	-0,16	-0,81 to 0,49	1,00	0,16	-0,49 to 0,81	1,00	0,33	-0,32 to 0,98	0,79
Controle x Sham	-0,46	-1,34 to 0,42	0,75	-0,35	-1,23 to 0,53	0,93	-0,62	-1,50 to 0,26	0,38	0,19	-0,69 to 1,07	1,00	0,03	-0,85 to 0,91	> 1,00
Controle x Naive	-0,71	-1,59 to 0,17	0,22	-0,35	-1,23 to 0,53	0,93	-0,16	-1,04 to 0,72	1,00	-0,14	-1,02 to 0,74	1,00	0,25	-0,62 to 1,13	0,99
Controle x LBI 830nm	-0,35	-1,00 to 0,30	0,71	-0,20	-0,85 to 0,45	0,98	0,11	-0,54 to 0,76	1,00	-0,11	-0,78 to 0,54	1,00	0,02	-0,63 to 0,66	> 1,00
Controle x Nicotina + LBI 830nm	-0,35	-1,00 to 0,30	0,72	0,13	-0,52 to 0,78	1,00	0,09	-0,56 to 0,74	1,00	0,56	-0,09 to 1,21	0,15	0,41	-0,24 to 1,06	0,54
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 660nm	-0,20	-0,85 to 0,45	0,98	0,20	-0,45 to 0,84	0,98	0,02	-0,63 to 0,67	> 1,00	-0,25	-0,89 to 0,40	0,94	0,00	-0,65 to 0,65	> 1,00
LBI 660 nm x Nicotina	-0,58	-1,23 to 0,07	0,12	-0,11	-0,76 to 0,53	1,00	-0,29	-0,94 to 0,36	0,88	-0,34	-0,99 to 0,30	0,74	-0,28	-0,92 to 0,37	0,90
LBI 660 nm x Sham	-0,53	-1,41 to 0,35	0,59	-0,29	-1,17 to 0,58	0,97	-0,75	-1,63 to 0,13	0,16	-0,31	-1,19 to 0,57	0,96	-0,58	-1,45 to 0,30	0,48
LBI 660 nm x Naive	-0,78	-1,66 to 0,10	0,12	-0,30	-1,18 to 0,58	0,97	-0,29	-1,16 to 0,59	0,98	-0,64	-1,52 to 0,24	0,34	-0,35	-1,23 to 0,53	0,93
LBI 660 nm x LBI 830nm	-0,43	-1,07 to 0,22	0,48	-0,15	-0,80 to 0,50	1,00	-0,02	-0,67 to 0,63	> 1,00	-0,61	-1,25 to 0,04	0,09	-0,59	-1,24 to 0,06	0,11
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 830nm	-0,42	-1,07 to 0,23	0,49	0,18	-0,47 to 0,83	0,99	-0,04	-0,69 to 0,61	> 1,00	0,06	-0,59 to 0,71	> 1,00	-0,19	-0,84 to 0,46	0,98
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina	-0,38	-1,03 to 0,27	0,62	-0,31	-0,96 to 0,34	0,83	-0,30	-0,95 to 0,35	0,84	-0,10	-0,75 to 0,55	1,00	-0,27	-0,92 to 0,38	0,91
Nicotina + LBI 660nm x Sham	-0,34	-1,21 to 0,54	0,94	-0,49	-1,37 to 0,39	0,69	-0,77	-1,65 to 0,11	0,14	-0,06	-0,94 to 0,87	> 1,00	-0,57	-1,45 to 0,31	0,49
Nicotina + LBI 660nm x Naive	-0,58	-1,46 to 0,29	0,46	-0,49	-1,37 to 0,39	0,68	-0,30	-1,18 to 0,58	0,97	-0,40	-1,28 to 0,48	0,87	-0,35	-1,22 to 0,53	0,93
Nicotina + LBI 660nm x LBI 830nm	-0,23	-0,88 to 0,42	0,96	-0,34	-0,99 to 0,31	0,74	-0,03	-0,68 to 0,61	> 1,00	-0,36	-1,01 to 0,29	0,69	-0,58	-1,23 to 0,07	0,11
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina + LBI 830nm	-0,23	-0,87 to 0,42	0,96	-0,01	-0,66 to 0,64	> 1,00	-0,06	-0,71 to 0,59	> 1,00	0,31	-0,34 to 0,94	0,84	-0,19	-0,84 to 0,46	0,99
Nicotina x Sham	0,05	-0,83 to 0,93	> 1,00	-0,18	-1,06 to 0,70	1,00	-0,47	-1,35 to 0,41	0,74	0,04	-0,84 to 0,91	> 1,00	-0,30	-1,18 to 0,58	0,97
Nicotina x Naive	-0,20	-1,08 to 0,68	1,00	-0,18	-1,06 to 0,70	1,00	0,00	-0,88 to 0,88	> 1,00	-0,30	-1,18 to 0,58	0,97	-0,07	-0,95 to 0,81	> 1,00
Nicotina x LBI 830nm	0,16	-0,49 to 0,80	1,00	-0,03	-0,68 to 0,62	> 1,00	0,27	-0,38 to 0,92	0,91	-0,26	-0,91 to 0,39	0,92	-0,31	-0,96 to 0,34	0,82
Nicotina x Nicotina + LBI 830nm	0,16	-0,49 to 0,81	1,00	0,30	-0,35 to 0,95	0,86	0,25	-0,40 to 0,89	0,94	0,40	-0,27 to 1,05	0,55	0,08	-0,57 to 0,73	> 1,00
Sham x Naive	-0,25	-1,31 to 0,81	1,00	0,00	-1,06 to 1,06	> 1,00	0,47	-0,59 to 1,53	0,88	-0,33	-1,39 to 1,07	0,98	0,23	-0,83 to 1,29	1,00
Sham x LBI 830nm	0,11	-0,77 to 0,99	> 1,00	0,15	-0,73 to 1,03	1,00	0,73	-0,14 to 1,61	0,18	-0,30	-1,18 to 0,58	0,97	-0,01	-0,89 to 0,87	> 1,00
Sham x Nicotina + LBI 830nm	0,11	-0,77 to 0,99	> 1,00	0,48	-0,40 to 1,36	0,71	0,71	-0,16 to 1,59	0,21	0,37	-0,51 to 1,25	0,91	0,38	-0,50 to 1,26	0,89
Naive x LBI 830nm	0,36	-0,52 to 1,24	0,92	0,15	-0,73 to 1,03	1,00	0,27	-0,61 to 1,15	0,98	0,04	-0,84 to 0,92	> 1,00	-0,24	-1,12 to 0,64	0,99
Naive x Nicotina + LBI 830nm	0,36	-0,52 to 1,24	0,92	0,48	-0,40 to 1,36	0,70	0,25	-0,63 to 1,12	0,99	0,70	-0,18 to 1,58	0,23	0,15	-0,72 to 1,03	1,00
LBI 830nm x Nicotina + LBI 830nm	0,00	-0,65 to 0,65	> 1,00	0,33	-0,32 to 0,98	0,78	-0,02	-0,67 to 0,63	> 1,00	0,66	0,01 to 1,31	*0,05	0,39	-0,26 to 1,04	0,59

A Tabela 4 refere se aos resultados da avaliação da Atividade Locomotora Espontânea, quantificando o número de quadrados cruzados por todas as patas do animal, expressos com valores da média, intervalo de confiança e diferença estatisticamente significativa ( $*p < 0,05$ ). A avaliação intergrupos feita nos tempos 0, 4, 7, 14 e 21 dias. O grupo 830nm comparado ao grupo nicotina + 830nm apresentou uma diferença estatística ( $*p < 0,05$ ) no 4 dia de avaliação.

Tabela 4 - Dados referentes a Atividade locomotora - quadros cruzados (\*p&lt;0,05).

ATIVIDADE LOCOMOTORA - QUADROS CRUZADOS	0			4			7			14			21		
	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor
Controle x LBI 660 nm	10,40	-33,50 to 54,20	1,00	15,40	-28,50 to 59,20	0,96	13,50	-30,40 to 57,40	0,98	-0,75	-44,60 to 43,10	> 1,00	-7,38	-51,20 to 36,50	1,00
Controle x Nicotina + LBI 660nm	12,60	-31,20 to 56,50	0,99	18,10	-25,70 to 62,00	0,91	-4,00	-47,90 to 39,90	> 1,00	12,10	-31,70 to 56,00	0,99	16,90	-27,0 to 60,70	0,94
Controle x Nicotina	13,30	-30,60 to 57,10	0,98	21,50	-22,40 to 65,40	0,81	-3,38	-47,20 to 40,50	> 1,00	12,40	-31,50 to 56,20	0,99	9,00	-34,90 to 52,90	1,00
Controle x Sham	13,70	-45,70 to 73,10	1,00	26,30	-33,10 to 85,70	0,88	-0,58	-60,00 to 58,80	> 1,00	11,50	-47,90 to 70,80	1,00	-14,00	-73,40 to 45,30	1,00
Controle x Naive	35,70	-23,70 to 95,10	0,59	6,29	-53,10 to 65,70	> 1,00	-5,58	-65,00 to 53,80	> 1,00	11,50	-47,90 to 70,80	1,00	9,96	-49,40 to 69,30	1,00
Controle x LBI 830nm	-10,60	-54,50 to 33,20	1,00	-2,38	-46,20 to 41,50	> 1,00	-19,40	-63,20 to 24,50	0,88	-3,88	-47,70 to 40,00	> 1,00	26,30	-17,60 to 70,10	0,60
Controle x Nicotina + LBI 830nm	22,10	-21,70 to 66,00	0,78	21,00	-22,90 to 64,90	0,83	27,90	-16,00 to 71,70	0,52	10,80	-33,10 to 54,60	1,00	13,50	-30,40 to 57,40	0,98
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 660nm	2,25	-41,60 to 46,10	> 1,00	2,75	-41,10 to 46,60	> 1,00	-17,50	-61,40 to 26,40	0,93	12,90	-31,00 to 56,70	0,99	24,30	-19,60 to 68,10	0,69
LBI 660 nm x Nicotina	2,88	-41,00 to 46,70	> 1,00	6,13	-37,70 to 50,00	1,00	-16,90	-60,70 to 27,00	0,94	13,10	-30,70 to 57,00	0,98	16,40	-27,50 to 60,20	0,95
LBI 660 nm x Sham	3,33	-56,00 to 62,70	> 1,00	10,90	-48,50 to 70,30	1,00	-14,10	-73,50 to 45,30	1,00	12,20	-47,20 to 71,60	1,00	-6,67	-66,00 to 52,70	> 1,00
LBI 660 nm x Naive	25,30	-34,00 to 84,70	0,90	-9,08	-68,50 to 50,30	1,00	-19,10	-78,50 to 40,30	0,98	12,20	-47,20 to 71,60	1,00	17,30	-42,00 to 76,70	0,99
LBI 660 nm x LBI 830nm	-21,00	-64,90 to 22,90	0,83	-17,80	-61,60 to 26,10	0,92	-32,90	-76,70 to 11,00	0,30	-3,13	-47,00 to 40,70	> 1,00	33,60	-10,20 to 77,50	0,27
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 830nm	11,80	-32,10 to 55,60	0,99	5,63	-38,20 to 49,50	> 1,00	14,40	-29,50 to 58,20	0,97	11,50	-32,40 to 55,40	0,99	20,90	-23,00 to 64,70	0,83
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina	0,63	-43,20 to 44,50	> 1,00	3,38	-40,50 to 47,20	> 1,00	0,63	-43,20 to 44,50	> 1,00	0,25	-43,60 to 44,10	> 1,00	-7,88	-51,70 to 36,00	1,00
Nicotina + LBI 660nm x Sham	1,08	-58,30 to 60,50	> 1,00	8,17	-51,20 to 67,50	1,00	3,42	-56,00 to 62,80	> 1,00	-0,67	-60,00 to 58,70	> 1,00	-30,90	-90,30 to 28,50	0,75
Nicotina + LBI 660nm x Naive	23,10	-36,30 to 82,50	0,93	-11,80	-71,20 to 47,50	1,00	-1,58	-61,00 to 57,80	> 1,00	-0,67	-60,00 to 58,70	> 1,00	-6,92	-66,30 to 52,50	> 1,00
Nicotina + LBI 660nm x LBI 830nm	-23,30	-67,10 to 20,60	0,74	-20,50	-64,40 to 23,40	0,84	-15,40	-59,20 to 28,50	0,96	-16,00	-59,90 to 27,90	0,95	9,38	-34,50 to 53,20	1,00
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina + LBI 830nm	9,50	-34,40 to 53,40	1,00	2,88	-41,00 to 46,70	> 1,00	31,90	-12,00 to 75,70	0,34	-1,38	-45,20 to 42,50	> 1,00	-3,38	-47,20 to 40,50	> 1,00
Nicotina x Sham	0,46	-58,90 to 59,80	> 1,00	4,79	-54,60 to 64,20	> 1,00	2,79	-56,60 to 62,20	> 1,00	-0,92	-60,30 to 58,50	> 1,00	-23,00	-82,40 to 36,30	0,94
Nicotina x Naive	22,50	-36,90 to 81,80	0,94	-15,20	-74,70 to 44,20	0,99	-2,21	-61,60 to 57,20	> 1,00	-0,92	-60,30 to 58,50	> 1,00	0,96	-58,40 to 60,30	> 1,00
Nicotina x LBI 830nm	-23,90	-67,70 to 20,00	0,71	-23,90	-67,70 to 20,00	0,71	-16,00	-59,90 to 27,90	0,95	-16,30	-60,10 to 27,60	0,95	17,30	-26,60 to 61,10	0,93
Nicotina x Nicotina + LBI 830nm	8,88	-35,00 to 52,70	1,00	-0,50	-44,40 to 43,40	> 1,00	31,30	-12,60 to 75,10	0,37	-1,63	-45,50 to 42,20	> 1,00	4,50	-39,40 to 48,40	> 1,00
Sham x Naive	22,00	-49,60 to 93,60	0,98	-20,00	-91,60 to 51,60	0,99	-5,00	-76,60 to 66,60	> 1,00	0,00	-71,60 to 71,60	> 1,00	24,00	-47,60 to 95,60	0,97
Sham x LBI 830nm	-24,30	-83,70 to 35,00	0,91	-28,70	-88,00 to 30,70	0,82	-18,80	-78,20 to 40,60	0,98	-15,30	-74,70 to 44,00	0,99	40,30	-19,10 to 99,70	0,43
Sham x Nicotina + LBI 830nm	8,42	-51,00 to 67,80	1,00	-5,29	-64,70 to 54,10	> 1,00	28,50	-39,90 to 87,80	0,82	-0,71	-60,10 to 58,50	> 1,00	27,50	-31,80 to 86,90	0,85
Naive x LBI 830nm	-46,30	-106,00 to 13,00	0,25	-8,67	-68,00 to 50,70	1,00	-13,80	-73,20 to 45,60	1,00	-15,30	-74,70 to 44,00	0,99	16,30	-43,10 to 75,70	0,99
Naive x Nicotina + LBI 830nm	-13,60	-73,00 to 45,80	1,00	14,70	-44,70 to 74,10	1,00	33,50	-25,90 to 92,80	0,67	-0,71	-60,10 to 58,70	> 1,00	3,54	-55,80 to 62,90	> 1,00
LBI 830nm x Nicotina + LBI 830nm	32,80	-11,10 to 76,60	0,31	23,40	-20,50 to 67,20	0,73	47,30	3,40 to 91,10	0,05	14,60	-29,20 to 58,50	0,97	-12,80	-56,60 to 31,10	0,99

A Tabela 5 refere se aos resultados da avaliação da Atividade Locomotora Espontânea, quantificando o número de vezes que o animal permaneceu em apoio bipodal, expressos com valores da média, intervalo de confiança e

diferença estatisticamente significativa (\* $p < 0,05$ ). A avaliação intergrupos feita nos tempos 0, 4, 7, 14 e 21 dias. O grupo 830nm comparado ao grupo nicotina + 830nm apresentou uma diferença estatística (\* $p < 0,05$ ) no 4 e 7 dia de avaliação. O grupo 660nm comparado ao grupo 830nm apresentou (\* $p < 0,05$ ) no 4 e 7 dia de avaliação. O grupo Nicotina obteve (\* $p < 0,05$ ) ao LBI 830nm no 4º dia de avaliação. O grupo Nicotina + 660nm obteve diferença significativa (\* $p < 0,05$ ) comparado ao 830nm no 4 dia de avaliação.

Tabela 5 - Dados referentes a Atividade locomotora - apoio bipodal (\*p&lt;0,05).

ATIVIDADE LOCOMOTORA - APOIO BIPODAL	0			4			7			14			21		
	Média	95% IC	P valor	Média	95% IC	P valor									
Controle x LBI 660 nm	-0,75	-15,00 to 13,50	> 1,00	6,63	-7,61 to 20,90	0,85	1,13	-13,10 to 15,40	> 1,00	-3,13	-17,40 to 11,10	1,00	-7,88	-22,10 to 6,36	0,69
Controle x Nicotina + LBI 660nm	-0,38	-14,60 to 13,90	> 1,00	9,25	-4,99 to 23,50	0,49	-4,75	-19,00 to 9,49	0,97	0,63	-13,60 to 14,90	> 1,00	-1,00	-15,20 to 13,20	> 1,00
Controle x Nicotina	-0,75	-15,00 to 13,50	> 1,00	10,10	-4,11 to 24,40	0,37	-1,25	-15,50 to 13,00	> 1,00	3,75	-10,50 to 13,00	0,99	2,38	-11,90 to 16,60	1,00
Controle x Sham	-1,29	-20,60 to 18,00	> 1,00	13,70	-5,57 to 33,00	0,37	-0,17	-19,40 to 19,10	> 1,00	4,54	-14,70 to 23,80	1,00	-5,92	-25,20 to 13,40	0,98
Controle x Naive	7,71	-11,60 to 27,00	0,92	4,38	-14,90 to 23,70	1,00	-2,50	-21,80 to 16,80	> 1,00	2,21	-17,10 to 21,50	> 1,00	1,08	-18,20 to 20,40	> 1,00
Controle x LBI 830nm	-11,60	-25,90 to 2,61	0,20	-9,50	-23,70 to 4,74	0,46	-13,80	-28,00 to 0,47	0,07	-7,63	-21,90 to 6,61	0,73	1,13	-13,10 to 15,40	> 1,00
Controle x Nicotina + LBI 830nm	-1,13	-15,40 to 13,10	> 1,00	5,75	-8,49 to 20,00	0,92	4,63	-9,61 to 18,90	0,98	-2,63	-16,90 to 11,60	1,00	-3,13	-17,40 to 11,10	1,00
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 660nm	0,38	-13,90 to 14,60	> 1,00	2,63	-11,60 to 16,90	1,00	-5,88	-20,10 to 8,36	0,91	3,75	-10,50 to 18,00	0,99	6,88	-7,36 to 21,10	0,82
LBI 660 nm x Nicotina	0,00	-14,20 to 14,20	> 1,00	3,50	-10,70 to 17,70	1,00	-2,38	-16,60 to 11,9	1,00	6,88	-7,36 to 21,10	0,82	10,30	-3,99 to 24,50	0,35
LBI 660 nm x Sham	-0,54	-19,80 to 18,70	> 1,00	7,08	-12,20 to 26,40	0,95	-1,29	-20,60 to 18,0	> 1,00	7,67	-11,60 to 26,90	0,93	1,96	-17,30 to 21,20	> 1,00
LBI 660 nm x Naive	8,46	-10,80 to 27,70	0,88	-2,25	-21,50 to 17,00	> 1,00	-3,63	-22,90 to 15,7	1,00	5,33	-13,90 to 24,60	0,99	8,96	-10,30 to 28,20	0,85
LBI 660 nm x LBI 830nm	-10,90	-25,10 to 3,36	0,28	-16,10	-30,40 to -1,89	*0,05	-14,90	-29,10 to -0,64	*0,05	-4,50	-18,70 to 9,74	0,98	9,00	-5,24 to 23,20	0,53
LBI 660 nm x Nicotina + LBI 830nm	-0,38	-14,60 to 13,90	> 1,00	-0,88	-15,10 to 13,4	> 1,00	3,50	-10,70 to 17,70	1,00	0,50	-13,70 to 14,70	> 1,00	4,75	-9,49 to 19,00	0,97
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina	-0,38	-14,60 to 13,90	> 1,00	0,88	-13,40 to 15,10	> 1,00	3,50	-10,70 to 17,70	1,00	3,13	-11,10 to 17,40	1,00	3,38	-10,90 to 17,60	1,00
Nicotina + LBI 660nm x Sham	-0,92	-20,20 to 18,40	> 1,00	4,46	-14,80 to 23,70	1,00	4,58	-14,70 to 23,90	1,00	3,92	-15,40 to 20,20	1,00	-4,92	-24,20 to 14,40	0,99
Nicotina + LBI 660nm x Naive	8,08	-11,20 to 27,40	0,90	-4,88	-24,20 to 14,40	0,99	2,25	-17,00 to 21,50	> 1,00	1,58	-17,70 to 20,90	> 1,00	2,08	-17,20 to 21,40	> 1,00
Nicotina + LBI 660nm x LBI 830nm	-11,30	-25,50 to 2,99	0,24	-18,80	-33,00 to -4,51	*0,05	-9,00	-23,20 to 5,24	0,53	-8,25	-22,50 to 5,99	0,64	2,13	-12,10 to 16,40	1,00
Nicotina + LBI 660nm x Nicotina + LBI 830nm	-0,75	-15,00 to 13,50	> 1,00	-3,50	-17,70 to 10,70	1,00	9,38	-4,86 to 23,60	0,47	-3,25	-17,50 to 11,00	1,00	-2,13	-16,40 to 12,10	1,00
Nicotina x Sham	-0,54	-19,80 to 18,70	> 1,00	3,58	-15,70 to 22,90	1,00	1,08	-18,20 to 20,40	> 1,00	0,79	-18,50 to 20,10	> 1,00	-8,29	-27,60 to 11,00	0,89
Nicotina x Naive	8,46	-10,80 to 27,70	0,88	-5,75	-25,00 to 13,50	0,98	-1,25	-20,50 to 18,00	> 1,00	-1,54	-20,80 to 17,70	> 1,00	-1,29	-20,60 to 18,00	> 1,00
Nicotina x LBI 830nm	-10,90	-25,10 to 3,36	0,28	-19,60	-33,90 to -5,39	*0,05	-12,50	-26,70 to 1,74	0,13	-11,40	-25,60 to 2,86	0,23	-1,25	-15,50 to 13,00	> 1,00
Nicotina x Nicotina + LBI 830nm	-0,38	-14,60 to 13,90	> 1,00	-4,38	-18,60 to 9,86	0,98	5,88	-8,36 to 20,10	0,91	-6,38	-20,60 to 7,86	0,87	-5,50	-19,70 to 8,74	0,94
Sham x Naive	9,00	-14,20 to 32,20	0,94	-9,33	-32,60 to 13,9	0,92	-2,33	-25,60 to 20,90	> 1,00	-2,33	-25,60 to 20,90	> 1,00	7,00	-16,20 to 30,20	0,98
Sham x LBI 830nm	-10,30	-29,60 to 8,94	0,73	-23,20	-42,50 to -3,93	*0,05	-13,60	-32,90 to 5,69	0,38	-12,20	-31,40 to 7,11	0,53	7,04	-12,20 to 26,30	0,95
Sham x Nicotina + LBI 830nm	0,17	-19,10 to 19,40	> 1,00	-7,96	-27,20 to 11,30	0,91	4,79	-14,50 to 24,10	0,99	-7,17	-26,40 to 12,10	0,95	2,79	-16,50 to 22,10	1,00
Naive x LBI 830nm	-19,30	-38,60 to -0,06	*0,05	-13,90	-33,20 to 5,40	0,35	-11,30	-30,50 to 8,03	0,63	-9,83	-29,10 to 9,44	0,77	0,04	-19,20 to 19,30	> 1,00
Naive x Nicotina + LBI 830nm	-8,83	-28,10 to 10,40	0,86	1,38	-17,90 to 20,70	> 1,00	7,13	-12,20 to 26,40	*0,05	-4,83	-24,10 to 14,40	0,99	-4,21	-23,50 to 15,10	1,00
LBI 830nm x Nicotina + LBI 830nm	10,50	-3,74 to 24,70	0,32	15,30	1,01 to 29,50	*0,05	18,40	4,14 to 32,60	0,95	5,00	-9,24 to 19,20	0,96	-4,25	-18,50 to 9,99	0,98

## DISCUSSÃO

Este estudo foi desenhado para investigar o efeito do LBI em diferentes comprimentos de onda (660 nm e 830 nm), além de também investigar se a nicotina possui efeito deletério na SDCR tipo I e se o laser é capaz de minimizá-lo. Assim, usamos o modelo primeiramente descrito por Coderre et al. [14], cujos sintomas mimetizam a SDCR tipo I, após a isquemia-reperusão da pata.

Observamos, durante a indução da síndrome que os animais apresentaram cianose na pata direita na qual foi aplicado o torniquete, e que estes cursam com sintomas de dor neuropática, incluindo hiperalgesia a estimulação mecânica, hiperalgesia térmica e edema. Primeiramente nossos achados mostraram que o LBI foi capaz de atenuar o comportamento nociceptivo, reduzir o edema e melhorar a atividade locomotora.

Como descrito a progressão da síndrome ocorre em paralelo com a transição dos sintomas passando de uma fase - “quente” inflamatória, para uma de característica autonômica - “fria” [1,10]. Ao avaliar os animais no decorrer de um período de 21 dias observamos que a hiperalgesia mecânica foi reduzida a partir do 7º dia de aplicação do laser (660 nm e 830 nm), quanto a hiperalgesia térmica resultados significativos na redução foram observados no 4º dia de avaliação onde a fase crônica da doença ainda nem tinha sido instalada.

O vasoespasma arterial leva a baixa oxigenação muscular e a acumulo de lactato, os quais contribuem para a dor. Portanto, Coderre et al., Xanthos, Bennett & Coderre [14, 31] hipotetizaram que os tratamentos destinados a aumentar a oxigenação dos tecidos através da redução do vasoespasma arterial aliviarão efetivamente a dor no modelo de SDCR. Como podemos observar nos resultados do nosso estudo, no qual os grupos que tiveram a aplicação de LBI reduziram a hiperalgesia mecânica e térmica, mesmo com o efeito deletério da nicotina.

Dimitrijevic e seus colaboradores [18] investigaram o efeito do LBI e da Corrente Interferencial em indivíduos com Síndrome da Dor Complexa Regional do tipo I. Avaliou 50 pessoas durante 20 sessões, obtendo como resultados uma melhora do quadro de dor e edema em ambos os grupos, no entanto o Laser apresentou resultados mais significativos comparado a Corrente Interferencial. Apesar de ser um estudo de difícil reprodutibilidade, é o único estudo que aborda a SDCR tipo I e LBI, e mesmo utilizando parâmetros diferentes do nosso estudo

(Pot = 70 mW; 810 nm; 70 Hz, 640 Hz e 5000 Hz; 8 pontos; área 1,5 J/cm<sup>2</sup>) e sendo um estudo clínico, foi capaz de evidenciar os efeitos benéficos da fotobiomodulação do LBI, corroborando com os resultados do presente estudo.

O LBI atua como agente anestésico, o alívio da dor de ação rápida ocorre a poucos minutos da aplicação, que é resultado de um bloqueio neural dos nervos periféricos e simpáticos. A médio prazo, há uma diminuição do edema local e uma redução da inflamação em horas a dias [32]. Assim explica os efeitos benéficos com o LBI 660 nm e 830 nm encontrados na redução da hiperalgesia térmica e mecânica.

Existe uma falta de consenso quando a parâmetros, portanto este foi um dos intuitos do estudo, comparar comprimentos de onda diferentes, a fim de embasar a literatura e fomentar novos estudos experimentais e clínicos. Podemos observar que o os grupos 660 nm e 830 nm apresentaram resultados semelhantes na redução da hiperalgesia mecânica e já na hiperalgesia térmica o 660 nm mostrou ser mais eficaz.

Em 2017, Pereira et al. [33], também avaliou parâmetros do LBI de comprimento de onda 830 nm, com o objetivo de avaliar o efeito analgésico do LBI em um modelo de incisão plantar (dor pós-operatória) em roedores. Como resultados o estudo sugere que o LBI a 3 ou 8 J/cm<sup>2</sup> modula principalmente o sistema de opióides endógenos, assim reduzindo a dor, corroborando com nossos achados no qual o Laser 830 nm, com fluência de 10 J/cm<sup>2</sup> mostrou resultados significativos na redução da hiperalgesia mecânica e térmica.

Devido a propriedade vasoconstritora da SDCR tipo I, Kocic et al. [34], investigou a mesma, através da termografia, com o intuito de comparar o efeito na temperatura local do laser e corrente interferencial. Concluíram que ambas as intervenções foram eficazes, mas a terapia com LBI (800 nm) foi estatisticamente superior comparada com a terapia de corrente interferencial. Visto que foi utilizado amostras diferentes, isto justifica os resultados positivos mesmo com diferentes comprimentos de onda nos diferentes estudos.

A lesão tecidual isquêmica, causada na SDCR, leva à geração de radicais livres de oxigênio e citocinas pró-inflamatórias, tornando o fluxo capilar lento, sinais de disfunção microvascular [14]. Assim, os animais apresentam dor, alodínia, hiperalgesia devido ao vasoespasmos [35]. A nicotina também promove uma redução do fluxo sanguíneo na periferia [36], somando-se, portanto, o efeito da síndrome e nicotina, isso ocasiona

uma piora dos sintomas e também na resultabilidade do quadro, como constatado no presente estudo.

Os fumantes apresentam maior queixa de dor musculoesqueléticas que não fumantes, são mais graves e perduram mais [37]. Um fator que pode explicar isso é a relação negativa do eixo do hipotalâmico hipofisário, que pode aumentar a dor e sensibilidade [38], explicando nossos achados no qual a nicotina teve efeitos negativos na dor e também no edema, mas estes efeitos foram suprimidos com o tratamento terapêutico com LBI.

Os resultados benéficos encontrados na redução da hiperalgisia mecânica e térmica de ambos os comprimentos de onda (660 nm e 830 nm) traduzem a importância do estudo para o alívio da dor na SDCR tipo I, além disso evidenciamos a relação do efeito deletério da nicotina na síndrome vasoconstritora. Mas ainda são necessários mais estudos para melhor avaliar os efeitos da fotobiomodulação associados ao uso da nicotina em um modelo de SDCR-I.

## CONCLUSÃO

Na amostra analisada, os resultados demonstram que a intervenção com o LBI nos comprimentos de onda (660 nm e 830 nm) foram eficazes na redução da hiperalgisia mecânica e térmica.

O LBI660 nm apresentou resultados mais significativos na redução da hiperalgisia térmica comparado ao comprimento de onda 830 nm.

Pode-se concluir também que os animais submetidos ao protocolo de administração de nicotina obtiveram escores negativos na análise dos dados, comprovando o efeito deletério da mesma, mas com a aplicação do LBI houve uma melhora significativa do quadro.

## REFERÊNCIAS

1. BRUEHL S. Complex regional pain syndrome. **BMJ**. 2015; 351(10):h2730.
2. KOLB L, LANG C, SEIFERT F, et al. Cognitive correlates of “neglect-like syndrome” in patients with complex regional pain syndrome. **Pain**. 2012; 153:1063- 73.
3. BUSSA M, GUTTILLA D, LUCIA M, et al. Complex regional pain syndrome type I: a comprehensive review. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**. 2015; 59(6): 685-97.
4. MAIHÖNER C, SEIFERT F, MARKOVIC K. Complex regional pain syndromes: new pathophysiological concepts and therapies. **Eur. J. Neurol**. 2010; 17: 649–660.
5. BIRKLEIN F, O'Neill D, SCHLERETH T. Complex regional pain syndrome: Na optimistic perspective. **Neurology Jan**. 2015, 84(1): 89- 96.
6. MARINUS J, MOSELEY G L, BIRKLEIN F, et al. Clinical features and pathophysiology of complex regional pain syndrome. **Lancet Neurology**. 2011; 10(7):637–48.
7. MEENA S, SHARMA P, GANGARY S K, et al. Role of Vitamin C in Prevention of Complex Regional Pain Syndrome After Distal Radius Fractures: A Meta-Analysis. **Eur J Orthop Surg Traumatol**. 2015; 25 (4): 637-641.
8. SKIRVEN T M, OSTERMAN A L, FEDORCZYK J, et al. **Rehabilitation of the Hand and Upper Extremity**. Sixth edition. Philadelphia: Elsevier Mosby. 2011; 115-116: 1470-1492.
9. KELMER M A, SCHOUTEN H J A, GRACELY R H. Diagnosing sensory abnormalities with either normal values or values from contralateral skin: comparison of two approaches in complex regional pain syndromes. **Anesthesiology**. 2000; 93:718-727.

10. BEAN D J, JOHNSON M H, KYDD R. R. The outcome of complex regional pain syndrome type 1: A systematic review. **J Pain.** 2014; 15:677– 690.

11. ZENZES, M. T. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. **Hum Reprod.** 2000; 6:122–131.

12. PINTO J R, BOSCO A F, OKAMOTO T, et al. Effects of Nicotine on H of Extraction Sockets in Rats. **A Histological Study. Braz. Dent. J., Ribeirão Preto.** 2002; 13,(1);3-9.

13. BERLEY J, YAMANO S, SUKOTJO C. The effect of systemic nicotine on osseointegration of titanium implants in the rat femur. **The Journal of Oral Implantology.** 2010; 36(3):185-193.

14. CODERRE T J, XANTHOS D N, FRANCIS L, et al. et al. Chronic post-ischemia pain (CPIP): a novel animal model of complex regional pain syndrome-type I (CRPS-I; reflex sympathetic dystrophy) produced by prolonged hind paw ischemia and reperfusion in the rat. **Pain.** 2004; 112:94–105.

15. MILLECAMPS M., LAFERRIERE A, RAGAVENDRAN J V, et al. Role of peripheral endothelin receptors in an animal model of complex regional pain syndrome type 1 (CRPS-I). **Pain.** 2010; 151(1):174–183.

16. MARTINS D F, PRADO M R B, DURUGE-NETO E, et al. Caffeine prevents antihyperalgesic effect of gabapentin in an animal model of CRPS-I: evidence for the involvement of spinal adenosine A1 receptor. **Journal of the Peripheral Nervous System.** 2015; 20:403–409.

17. CODERRE T J, BENNETT G J. A Hypothesis for the Cause of Complex Regional Pain Syndrome - Type I (Reflex Sympathetic Dystrophy): Pain Due to Deep-Tissue Microvascular Pathology. **Pain Med.** 2010; 11(8): 1224–1238.

18. DIMITRIJEVIC I M, LAZOVIC M P, KOCIC M N, et al.

Effects of Low-Level Laser Therapy and Interferential Current Therapy in the Treatment of Complex Regional Pain Syndrome. **Physical Therapy of Complex Regional Pain Syndrome**. 2014; 60:98-105.

19.ANDERSON, D. M. **Mosby's Medical, Nursing & Allied Health Dictionary**. 6th Edition. St. Louis: Mosby; 2002: 2134.

20.JI-HUA L, MIN-HSUAN C, PING-HO C, et al. Anti-inflammatory effects of low- level laser therapy on human periodontal ligament cells: in vitro study. **Lasers Med Sci**. 2017; 33(3):2376-6.

21.ROSSO M, BUCHAIM D V, KAWANO N, et al. Photobiomodulation Therapy (PBMT) in Peripheral Nerve Regeneration: A Systematic Review. **Bioengineering**. 2018; 5(2): 44.

22.ALBUQUERQUE-PONTES G M, VIEIRA R P, TOMAZONI S S, et al. Effect of pre-irradiation with different doses, wavelengths, and application intervals of low- level laser therapy on cytochrome c oxidase activity in intact skeletal muscle of rats. **Lasers Med Sci**; 2015;30:59–66.

23.GUPTA A, KESHRI G K, YADAV A, GOLA S, CHAUHAN S, et al. Superpulsed (Ga-As, 904 nm) low-level laser therapy (LLLT) attenuates inflammatory response and enhances healing of burn wounds. **J Biophotonics**. 2014; 8(6)489-501.

24.NEVES L M, LEITE G P M F, MARCOLINO A M, et al. Laser photobiomodulation (830 and 660 nm) in mast cells, VEGF, FGF, and CD34 of the musculocutaneous flap in rats submitted to nicotine. **Lasers Med Science**. 2017;32:335–341.

25.QUINTÃO N L, MEDEIROS R, SANTOS A R, et al. The effects of diacerein on mechanical allodynia in inflammatory and neuropathic models of nociception in mice. **Anesth. Analg**. 2005; 101:1763–1769.

26.BORTOLANZA L B, FERREIRA J, HESS S C, et al. Anti-allodynic action of the tormentic acid, atriterpene isolated from plant,

against neuropathic and inflammatory persistent pain in mice. **Eur J Pharmacol.** 2002; 25(453):203-8.

27.FERNANDES E S, RUSSELL F A, ALAWI K M, et al. Environmental cold exposure increases blood flow and affects pain sensitivity in the knee joints of CFA-induced arthritic mice in a TRPA1-dependent manner. **Arthritis Res Ther.** 2016; 18(7):905-15.

28.VIEIRA, G., CAVALLI, J., GONÇALVES, E. C. D., et al. Effects of simvastatin beyond dyslipidemia: exploring its antinociceptive action in an animal model of complex regional pain syndrome- type I. **Frontiers in Pharmacology.** 2017; (8)584.

29.MEOTTI F C, LUIZ A P, PIZZOLATTI M G, et al. Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. **J Pharmacol Exp Ther.** 2006; 316(2):789-96.

30.SCHOELL A R, HEUDE B R, WEIR D E, et al. Euthanasia method for mice in rapid time-course pulmonary pharmacokinetic studies. **J Am Assoc Lab Anim Science.** 2009; 48:506–511.

31.XANTHOS D N, BENETTE G J, CODERRE T J. Norepinephrine-induced nociception and vasoconstrictor hypersensitivity in rats with chronic post-ischemia pain. **Pain.** 2008; 137:640–51.

32.HAGIWARA S, IWASAKA H, OKUDA K, et al. GaAlAs (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. **Lasers Surg Med.** 2007; 39(10):797–802.

33.PEREIRA F C, PARISI J R, MAGLIONI C B, et al. Antinociceptive Effects of Low-Level Laser Therapy at 3 and 8 j/cm<sup>2</sup> in a Rat Model of Postoperative Pain: Possible Role of Endogenous Opioids. **Lasers in Surgery and Medicine.** 2017; 69(2)356-359.

34.KOCIC M, LAZOVIC M, DIMITRIJEVIC I, et al. Evaluation of low level laser and interferential current in the therapy of complex regional pain syndrome by infrared thermographic camera. **Vojnosanit Pregl.** 2010; 67(9):755-60.

35. LAFERRIE A, MILLECAMPS M, XANTHOS D N, et al. Cutaneous tactile allodynia associated with microvascular dysfunction in muscle. **Mol Pain.** 2008; 4:49.

36.COSTA W, SILVA A L, COSTA G R, et al. Analysis of effect isoxsuprine hydrochloride and nicotine in the transverse rectus abdominis myocutaneous flap (TRAM) in rats. **Acta Cir Bras.** 2015; 30(7):497–502.

37. HOLLEY A L, LAW E F, THAM S W, et al. Current smoking as a predictor of chronic musculoskeletal pain in young adult twins. **J Pain.** 2013; 14:1131-9.

38.MIAO F J, GREEN P G, BENOWITZ N, et al. Central terminals of nociceptors are targets for nicotine suppression of inflammation. **Neuroscience.** 2004; 123:777-84.

## 4 NORMA DA REVISTA

07/01/2019

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.

SUBDISCIPLINAS REVISTAS LIVROS SERIES LIVROS DIDÁTICOS TRABALHOS DE REFERÊNCIA



### Lasers em Ciências Médicas

Editor-chefe: Keyvan Nouri

ISSN: 0268-8921 (versão impressa) ISSN: 1435-804X (versão eletrônica)

Jornal no. 10103



Taxa pessoal de **US \$ 99,00** apenas para as Américas

Assinatura

Assinatura on-line, válida de janeiro a dezembro do ano atual

Acesso imediato aos problemas deste ano via SpringerLink

1 Volume (-s) com 9 edições (-s) por assinatura anual

Renovação anual automática

Mais informações: >> FAQs // >> Política

SOBRE ESTA REVISTA CONSELHO EDITORIAL SOCIEDADES ÉTICA E DIVULGAÇÕES  
INSTRUÇÕES PARA OS AUTORES

### Instruções para os autores

#### TIPOS DE PAPEIS

Artigo Original - limitado a 4000 palavras, 45 referências, não mais do que 5 figuras

Artigo de Revisão - limitado a 5000 palavras, 50 referências, não mais que 5 figuras

Relatório Breve - limitado a 2000 palavras, 25 referências, não mais do que 4 figuras -

Relatórios de casos não serão aceitos!

Carta ao Editor - até 800 palavras

#### SUBMISSÃO DE MANUSCRITO

##### Submissão de manuscrito

A submissão de um manuscrito implica: que o trabalho descrito não tenha sido publicado antes;

We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

> [Manage Cookies](#)

✓ OK

[https://www.springer.com/medicine/journal/10103?print\\_view=true&detailsPage=pltc\\_1060556](https://www.springer.com/medicine/journal/10103?print_view=true&detailsPage=pltc_1060556)

1/16

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.

Please follow the hyperlink "Submit online" on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

#### TITLE PAGE

##### Title Page

The title page should include:

- ✎ The name(s) of the author(s)
- ✎ A concise and informative title
- ✎ The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- ✎ The e-mail address, and telephone number(s) of the corresponding author
- ✎ If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

##### Abstract

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

- Purpose (stating the main purposes and research question)
- Methods
- Results
- Conclusions

##### Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

#### TEXT

##### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- ✎ Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- ✎ Use italics for emphasis.
- ✎ Use the automatic page numbering function to number the pages.
- ✎ Do not use field functions.
- ✎ Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- ✎ Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- ✎ Use the equation editor or MathType for equations.
- ✎ Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

> [Manage Cookies](#)

✓ OK

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.

and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data).

Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

#### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

#### SCIENTIFIC STYLE

Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.

#### Units and abbreviations

Please adhere to internationally agreed standards such as those adopted by the commission of the International Union of Pure and Applied Physics (IUPAP) or defined by the International Organization of Standardization (ISO). Metric SI units should be used throughout except where non-SI units are more common [e.g. litre (l) for volume].

Abbreviations (not standardized) should be defined at first mention in the abstract and again in the main body of the text and used consistently thereafter.

#### Drugs

When drugs are mentioned, the international (generic) name should be used. The proprietary name, chemical composition, and manufacturer should be stated in full in Materials and methods.

#### REFERENCES

##### Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

##### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should

We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

> [Manage Cookies](#)

✓ OK

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.

Article by DOI

Slička MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med.* <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics.* Blackwell, London

Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) *The politics of nature.* In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics, 3rd edn.* Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. *IOP Publishing PhysicsWeb.* <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure.* Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file `spbasic.bst` which is included in Springer's LaTeX macro package.

TABLES

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

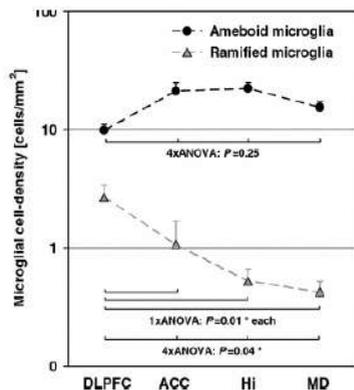
> [Manage Cookies](#)

✓ OK

07/01/2019

Lasers in Medical Science – incl. option to publish open access

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.



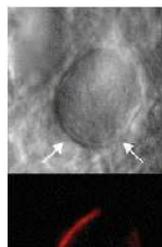
- ⊛ Definition: Black and white graphic with no shading.
- ⊛ Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- ⊛ All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- ⊛ Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- ⊛ Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

#### Half-tone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Half-tones should have a minimum resolution of 300 dpi.



We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

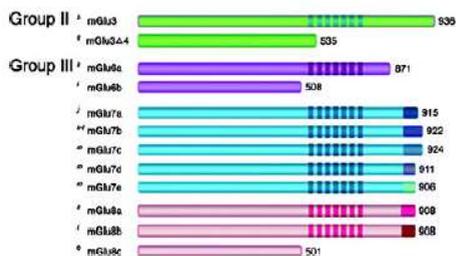
[Manage Cookies](#)

OK

[https://www.springer.com/medicine/journal/10103?print\\_view=true&detailsPage=pltcj\\_1080555](https://www.springer.com/medicine/journal/10103?print_view=true&detailsPage=pltcj_1080555)

5/16

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.



Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

#### Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

#### Figure Lettering

- 1 To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- 2 Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- 3 Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- 4 Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- 5 Do not include titles or captions within your illustrations.

#### Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

> [Manage Cookies](#)

✓ OK

advertising and analytics partners in accordance with our Privacy Policy. You can manage your preferences in Cookie Settings.

provided as the title of the caption.

- ✚ Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- ✚ Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

#### Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

#### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

#### ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

#### Submission

We use cookies to personalise content and ads, to provide social media features and to analyse our traffic. We also share information about your use of our site with our social media,

> [Manage Cookies](#)

✓ OK



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É com base nos fundamentos achados de que o Laser Baixa Intensidade nos comprimentos de onda (660 nm e 830 nm) foram eficazes na minimização da hiperalgesia mecânica, na redução da hiperalgesia térmica o laser 660 nm apresentou resultados mais significativos ao comprimento de onda 830 nm. Constatamos também que a nicotina apresenta efeitos deletérios nos sinais clínicos da síndrome. Por fim, este trabalho contribuiu para mostrar os benefícios do LBI além de investigar diferentes comprimentos de onda no tratamento complementar a SDCR tipo I, incorporando os achados escassos da literatura.



## 6 APÊNDICE A – Aprovação CEUA



Universidade Federal  
de Santa Catarina

Comissão de Ética no  
Uso de Animais



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "LASER FOTOBIMODULAÇÃO NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DA DOR COMPLEXA REGIONAL TIPO-I: MODELO EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGOS", protocolada sob o CEUA nº 1474140817, sob a responsabilidade de **Rafael Inácio Barbosa e equipe; Mariana Rodrigues** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 10/10/2017.

We certify that the proposal "PHOTOBIMODULATION LASER IN THE TREATMENT OF REGIONAL COMPLEX PAIN SYNDROME TYPE-I: EXPERIMENTAL MODEL IN MICE", utilizing 75 Heterogenics mice (75 males), protocol number CEUA 1474140817, under the responsibility of **Rafael Inácio Barbosa and team; Mariana Rodrigues** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 10/10/2017.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 09/2017 a 09/2019

Área: Ciências da Saúde

Origem:	Biotério Central	sexo:	Machos	idade:	6 a 8 semanas	N:	75
Espécie:	Camundongos heterogênicos			Peso:	30 a 40 g		
Linhagem:	Mus musculus/Swiss						

Resumo: Introdução: A síndrome da Dor Complexa regional [] Tipo I (SDCR [] I), nome mais atual para a Distrofia Simpática Reflexa (DSR), é definida como uma situação álgica associada à distúrbios neurovegetativos, sensitivos e motores que se instala em consequência de afecções do organismo, sem lesão nervosa. Engloba manifestações clínicas como dor neuropática, alterações na coloração da pele e sua temperatura, sudorese e edema. Objetivo: Verificar os efeitos da Fotobimodulação através do Laser de Baixa Intensidade (LBI), na Síndrome da Dor Complexa Regional em camundongos. Métodos: Nesse estudo, serão utilizados 75 camundongos da linhagem Swiss, divididos em 5 grupos: Naive, Sham, SDCR Tipo I+Laser 660nm (Fluência = 10 J / cm<sup>2</sup>; Energia Emitida = 0,6 J e Tempo de Exposição = 20 s), SDCR Tipo I+Nicotina - (2 mg/Kg/dia), SDCR Tipo I+Laser660nm (Fluência = 10 J / cm<sup>2</sup>; Energia Emitida = 0,6 J e Tempo de Exposição = 20 s)+Nicotina - (2 mg/Kg/dia). A SDCR [] I será induzida pela lesão isquêmica-reperusão (IR), este modelo consiste na alocação de um anel elástico proximal à articulação do tornozelo da pata posterior direita com retirada do mesmo após três horas, permitindo a reperusão da pata. Dentre as variáveis, serão utilizadas: hiperalgesia térmica ao calor, através do Hargreaves; hiperalgesia mecânica, pelos filamentos de Von Frey; avaliação do edema da pata, utilizando o paquímetro digital e a atividade locomotora espontânea através do campo aberto nos dias 1, 4, 7, 14, 21. A análise estatística será feita através do software GraphPad Prism, após o teste de normalidade, se os dados forem normais, serão submetidos ao teste ANOVA fatorial, se não observado a normalidade será utilizado GLM ou GEE, com coeficiente de significância de p<0,05, utilizando o post-hoc de Bonferroni.

Local do experimento: Departamento: Ciências da Saúde Instituto: Centro Araranguá Laboratório: Laboratório de Autoimunidade e Imunofarmacologia (LAIF) Rodovia Governador Jorge Lacerda, nº 3201 - Km 35,4, Bairro: Jardim das Avenidas, Araranguá - SC, CEP: 88906-072

Florianópolis, 11 de outubro de 2017



Universidade Federal  
de Santa Catarina

UFSC

Prof. Dr. Carlos Rogério Tonussi  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Catarina

Comissão de Ética no  
Uso de Animais



Maria Alcina Martins de Castro  
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Catarina