

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
CAMPUS VERGUEIRO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO - MESTRADO EM MEDICINA

VANESSA MILANESI HOLANDA

LASER DE BAIXA INTENSIDADE NA MODULAÇÃO DO PROCESSO
INFLAMATÓRIO NA PREVENÇÃO DA
SÍNDROME DO INSUCESSO DA CIRURGIA ESPINHAL

São Paulo
2013

VANESSA MILANESI HOLANDA

LASER DE BAIXA INTENSIDADE NA MODULAÇÃO DO PROCESSO
INFLAMATÓRIO NA PREVENÇÃO DA
SÍNDROME DO INSUCESSO DA CIRURGIA ESPINHAL

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina da Universidade
Nove de Julho – UNINOVE, como requisito para obtenção
do grau de Mestre em Medicina.

Profa. Dra. Maria Cristina Chavantes - Orientadora
Prof. Dr. Jean Gonçalves de Oliveira – Co-Orientador

São Paulo
2013

Holanda, Vanessa Milanesi.

Laser de Baixa Intensidade na modulação do processo Inflamatório na Prevenção da Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal. / Vanessa Milanesi Holanda. 2013.

59 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2013.

Orientador (a): Profa. Dra. Maria Cristina Chavantes.

1. Laser. 2. Cicatrização. 3. Inflamação. 4. Analgesia. 5. Citosinas.

I. Chavantes, Maria Cristina. II. Título

CDU 615.831

São Paulo, 18 de dezembro de 2013.

TERMO DE APROVAÇÃO

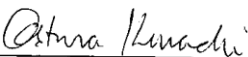
Aluno(a): Vanessa Milanesi de Holanda

Título da Dissertação: "Laser de baixa intensidade na modulação do processo inflamatório na prevenção da síndrome do insucesso da cirurgia espinhal"

Presidente: PROFA. DRA. Maria Cristina Chavantes



Membro: PROFA. DRA. Cristina Kurachi



Membro: PROFA. DRA. Ivone da Silva Duarte



**“A mente que se abre a uma nova ideia,
jamais volta ao seu tamanho inicial”**

ALBERT EINSTEIN

AGRADECIMENTOS

À Coordenadora do Mestrado em Medicina para as Ciências da Saúde, Profa. Dra. Fernanda Colombo, agradeço a oportunidade em frequentar este Mestrado que muito contribuiu para o enriquecimento da minha formação acadêmica e científica.

À Profa. Dra. Maria Cristina Chavantes, expresso o meu profundo agradecimento pela orientação e apoio incondicionais, pelas horas de aprendizado e discussão a fio ao longo das noites e, por vezes, madrugadas. Agradeço por sua dedicação e pelo sentido de responsabilidade que me incutiu em todas as fases do Projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro com a minha bolsa do mestrado.

Às Profas. Dras. Cristiane França e Daniela Silva, pelo apoio desde o início e por ter proporcionado as condições necessárias para a elaboração da minha Tese.

Ao Prof. Dr. Rodolfo de Paula Vieira, pelos ensinamentos tanto nas aulas, como no laboratório, os quais foram essenciais para a finalização do meu projeto.

Aos Neurocirurgiões do Centro de Neurologia e Neurocirurgia Associados (CENNA) do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, em especial ao Dr. Carlos Vanderlei Medeiros de Holanda, por possibilitar a minha participação no mestrado e a realização deste projeto, ao Dr. Carlos Alberto Afonso Ribeiro e ao Dr. Samuel Miranda de Moura pela sua disponibilidade e colaboração e ao Prof. Dr. Jean Gonçalves de Oliveira pelo apoio e incentivo ao meu ingresso no mestrado.

Aos meus amigos, em especial aos residentes do Centro de Neurologia e Neurocirurgia Associados - CENNA (Bartolomeu, Benedito e Miguel) pelo auxílio na solicitação e coleta dos exames. Sem o apoio de vocês, não seria possível a realização deste projeto.

À aluna da iniciação científica, Kelly Ferreira e à colega do mestrado, Flávia Greiffo, pelo auxílio no transporte e análise das amostras coletadas do dreno. O apoio de vocês foi essencial para a viabilidade do projeto.

À minha família, meus pais (Ida Paula Vidigal Milanesi Holanda e José Venilton de Almeida Holanda), meus irmãos (Vívian, Virgínia e Venilton) e meus avós, o meu muito obrigada por acreditarem e torcerem sempre pelo que faço. Espero que esta etapa, que agora termino, possa, de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que me oferecem. A eles, dedico este trabalho..

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribuição dos grupos entre os sexos no gráfico pizza.....	28
Gráfico 2: Idade no grupo placebo e laser demonstrada no gráfico boxplot.....	29
Gráfico 3: IMC do grupo placebo e laser demonstrada no gráfico boxplot.....	29
Gráfico 4: Distribuição da Hipertensão arterial sistêmica entre os grupos Laser e Placebo.....	30
Gráfico 5: Distribuição do <i>Diabetes mellitus</i> entre os grupos Laser e Placebo.....	30
Gráfico 6: Avaliação da temperatura.....	31
Gráfico 7: Avaliação da Proteína C reativa (PCR).....	31
Gráfico 8: Avaliação da Escala Visual Analógica (EVA).....	32
Gráfico 9: Avaliação do Exsudato do Dreno.....	33
Gráfico 10: Avaliação da Desidrogenase Láctica (DHL).....	34
Gráfico 11: Avaliação da Creatinoquinase (CK).....	35
Gráfico 12: Avaliação das Interleucinas.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Avaliação da temperatura digital.....	25
Figura 2: Escala Visual Analógica	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATP	Adenosina Trifosfato
°C	grau Celsius
CK	Creatinoquinase
cm ²	centímetro quadrado
DHL	Desidrogenase Láctica
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EVA	Escala Visual Analógica
GaAIAs	Laser de diodo semiconductor de Arseneto de Gálio e Alumínio
λ	comprimento de onda
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
IASP	International Association for the Study of Pain
IL-1	Interleucina 1
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IMC	Índice de Massa Corpórea
IPEN	Instituto de Pesquisas Nucleares
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
LAP	Laser de Alta Potência
LDH	Lactate Dehydrogenase
LBI	Laser de Baixa Intensidade
LED	Light Emitting Diode
LLLT	Low Level Laser Therapy
PCR	Proteína C reativa
PO	Pós operatório
PGs	Proteoglicanos
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
s	segundos
W	Watts

Resumo

A cada ano, mais de um milhão de pessoas ao redor do mundo são submetidas à cirurgia da coluna vertebral, com uma taxa de insucesso superior a 40%. A fibrose epidural pós-laminectomia é apontada como a principal causa da síndrome do insucesso da cirurgia espinhal e está associada ao aumento do risco de complicações durante a cirurgia de revisão. A cicatriz pós-operatória peridural pode causar compressão extradural, resultando em dor radicular recorrente e déficits neurológico. Inúmeros estudos sinalizam que o laser de baixa intensidade (LBI) tem sido descrito como eficaz no auxílio do decréscimo da inflamação e cicatrização de feridas cirúrgicas. Objetivos: Delinear e analisar os efeitos da laserterapia em cirurgia da coluna vertebral. Metodologia: Estudo prospectivo randomizado e controlado por placebo com 48 pacientes submetidos à laminectomia, divididos aleatoriamente em 2 grupos. No primeiro grupo, 25 pacientes receberam Laser no infravermelho ($\lambda=804\text{nm}$), Potência= 40mW, Fluência= 7.44 J/cm^2 durante a cirurgia nas seguintes áreas: durante o transoperatório na dura-máter, sobre subcutâneo e sobre a pele; além do leito da ferida cirúrgica em 24h e 72h após a cirurgia. No segundo grupo, 23 pacientes foram induzidos a acreditar que receberam o mesmo tratamento. Antes da cirurgia, além dos dias 2 e 5 pós operatórios (PO), foram coletadas amostras de sangue do paciente para estudo de PCR, DHL e CK. Antes e após a laserterapia, a temperatura corpórea foi medida por meio de termômetro digital e a dor foi avaliada por meio de escala analógica visual. Nos dias 1º e 2º PO, o débito do dreno foi coletado e analisado as citocinas foram avaliadas por ELISA interleucinas 1, 4, 6, 8, 10 e TNF-alfa do exsudato. Resultados: Demonstraram uma diminuição de temperatura, alívio da dor e cicatrização acelerada no grupo laser, além de uma redução do débito do dreno, contribuindo para redução da perda sanguínea e evitando infecção. O LBI facilita a reparação de feridas, devido a uma resolução mais rápida do processo inflamatório agudo, como foi sugerido pela maior queda do PCR do 2º para o 5º dia pós-operatório. A fase de proliferação da cicatrização foi antecipada, já que os valores de CK revelaram uma queda mais rápida no grupo do laser, sugerindo que esses marcadores inflamatórios podem nortear o tratamento com LBI. Conclusão: Demonstramos que três aplicações do LBI podem reduzir a inflamação, auxiliar na drenagem e estimular uma melhor cicatrização de feridas, ajudando no processo de

analgesia no pós-operatório na cirurgia de coluna vertebral.

Palavras-chave: Laser. Terapia. Analgesia. Cicatrização. Inflamação. Citocinas. Laminectomia.

Abstract

Every year, over one million individuals worldwide were submitted to laminectomies, with a rate failure higher than 40%. Post laminectomy epidural adhesion is implicated as a main cause of “failed back surgery syndrome” and associated with high risk of complications during the revision surgery. The postoperative epidural scar can cause extradural compression or dural tethering, which lead to recurrent radicular pain and physical impairment. Several studies in the literature are signaling that Low-Level-Laser-Therapy (LLLT) is proven to be an effective tool to assist the inflammatory process and wound healing, as well to prevent infection and dehiscence. The objectives of this project are to delineate and evaluate the LLLT effects in spinal surgery. A prospective randomized, controlled trial with a total of 48 patients, who underwent to laminectomy, were divided into 2 groups, as following: in 25 randomized patients, LLLT infrared, Power = 40mW, Fluence= 7.44 J/cm² was applied during transoperative phase, on the laminectomy site, on the subcutaneous tissue and surrounding the wound site. In the second group, 23 patients were induced to believe that they were getting the same treatment, avoiding psychological effect, although LLLT was not operating. In those groups, C reactive protein (CRP), lactic dehydrogenase and creatine kinase (CK) were assessed in the second and fifth days after surgery, digital temperature and visual analogue scale were measured, pre and post LLLT application. The drainage output were collected in the first and second days, following surgery in both groups. Interleukins 1, 4, 6, 8 and 10 and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) were evaluated. The results indicated temperature decrease, pain relief and accelerated wound healing in laser group. LLLT facilitates the wound cicatrization, due to a prompt resolution while acute inflammation, as suggested by the CRP chiefly drop from second to fifth postoperative day; in which the proliferation phase of healing demonstrated statistically significant values by fast fall in the laser group of CK, suggesting that these markers may guide LLLT treatment evolution. In conclusion, it was demonstrated that only three LLLT applications could assist better wound healing, reduce the lesion inflammation, decrease drainage output and promote analgesia in the PO post laminectomy with cost-effectiveness.

Keywords : Lasertherapy (LLLT). Analgesia. Inflammation. Cytokines. Wound healing. Laminectomy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Cirurgia da coluna vertebral e cicatrização.....	5
2.2. Manejo pós-operatório em cirurgia da coluna vertebral.....	5
2.3. Laserterapia e o reparo tecidual.....	6
2.4. Laser de Baixa Intensidade (LBI).....	6
2.5. Justificativa	7
3 HIPÓTESES.....	8
4 OBJETIVOS.....	10
4.1. Geral.....	11
4.2. Específicos.....	11
5 METODOLOGIA.....	12
5.1. Critérios de Exclusão	13
5.2. Critérios de Inclusão.....	13
5.3. Aleatorização dos pacientes.....	13
5.4. Procedimento Cirúrgico.....	14
5.5. Avaliação do Processo Inflamatório	15
5.6. Avaliação da Dor no Pós-Operatório	15
5.7. Avaliação da Cicatrização	15
5.7.1. Teste de ELISA	16
5.7.2. Análise Estatística	16
6 RESULTADOS.....	17
6.1. Avaliação do Processo Inflamatório	21
6.2. Avaliação da dor no pós operatório	22
6.3. Avaliação da cicatrização	23
7 DISCUSSÃO	27
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
9 CONCLUSÃO	34
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	36
11 ANEXOS	41

1.INTRODUÇÃO

A cada ano, mais de um milhão de pessoas ao redor do mundo são submetidas à cirurgia da coluna vertebral. Apesar do progresso nas técnicas cirúrgicas e expertise dos cirurgiões, ainda alguns pacientes sofrem com a recorrência de dor no pós-operatório, desencadeando a Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal (Farrokhi, 2011).

A fibrose pós-operatória epidural é o depósito de tecido fibrótico no espaço peridural, adjacente à dura mater, após laminectomia. Ela está associada com um aumento na taxa de complicações na cirurgia de revisão da coluna, como fístula dural, injúria da raiz nervosa e sangramento. Além disso, está relacionada à causa dos sintomas em 8-14% dos pacientes com Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal (Yildiz, 2007). Determinando, assim, uma importante morbidade e impacto social (Temiz, 2009), visto que boa parte dos pacientes submetidos à cirurgia da coluna vertebral, encontra-se em fase funcional laborativa. A fibrose epidural origina-se a partir de um tecido de granulação no músculo eretor da espinha, causando tração na dura mater e raízes nervosas, resultando em dor lombar crônica.

A infecção do sítio cirúrgico é uma das complicações pós-operatórias mais comuns nos Estados Unidos, ocorre em 2% a 15% dos pacientes após artrodese da coluna vertebral. Morbidade substancial vem sendo associada, incluindo um aumento do risco de mortalidade, da hospitalização na unidade de terapia intensiva e de readmissão hospitalar para antibioticoterapia e tratamento da dor (Chen, 2009), além de elevar exponencialmente os custos de saúde (Xiu-Tong, 2013).

A primeira publicação sobre a terapia a laser de baixa intensidade (LBI) apareceu há quase 50 anos na Hungria (Mester, 1968). Desde então, um grande número de estudos vem demonstrando resultados positivos do LBI em células in vitro, modelos animais e relatórios clínicos (Brosseau, 2000).

O mecanismo biológico básico dos efeitos do LBI é a absorção da luz infravermelha por cromóforos contidos nos componentes protéicos da cadeia respiratória nas mitocôndrias, em particular, o citocromo c oxidase (Karu, 2005). Esta absorção de energia provoca fotodissociação do óxido nítrico a partir da inibição do citocromo c oxidase, levando ao aumento da atividade da enzima, do transporte de elétrons e da produção de ATP (Karu, 1995). Além disso, o laser de baixa intensidade mostrou estimular a expressão de vários genes relacionados à migração celular, proliferação e modulação dos fatores de crescimento e citoquinas (Zhang, 2003).

Com o intuito de se buscar um auxílio na prevenção e tratamento da dor do paciente em pós-operatório de cirurgia da coluna vertebral com laminectomia, além

da prevenção de complicações, como infecções e comorbidades, a laserterapia entra como uma importante ferramenta, já que vem sendo apontada como um tratamento eficaz, reduzindo o processo inflamatório e auxiliando a cicatrização de feridas (Pinto, 2010; Silva, 2006). Assim, através deste projeto, buscamos delinear e analisar os efeitos do laser de baixa intensidade não pós-operatório de cirurgia da coluna vertebral.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Cirurgia da Coluna Vertebral e Cicatrização

De acordo com a International Association for the Study of Pain (IASP), a síndrome de insucesso da cirurgia espinhal é definida com uma dor lombar de origem desconhecida, que persiste na mesma localização apesar da intervenção cirúrgica ou com início após a intervenção cirúrgica (Teixeira et al., 2011). Essa definição se aplica a todas as cirurgias da coluna vertebral que se designam a tratar uma dor lombar progressiva localizada ou irradiada, incluindo as cirurgias para tratamento da hérnia discal lombar. Para tanto, faz-se necessária a realização de laminectomia, afastamento da raiz e retirada do fragmento herniado. A laminectomia consiste da ressecção das lâminas vertebrais e do processo espinhoso de determinada vértebra.

Teixeira et al (2011), verificaram que mais de 300.000 laminectomias são realizadas por ano nos Estados Unidos, com uma taxa de 40% de falha. Algumas causas do insucesso são mecânicas, como erro na identificação de instabilidade da coluna, remoção incompleta do disco e instabilidade facetária. Dentre as causas não-mecânicas têm-se a fibrose peridural, a aracnoidite, a discite e fatores psicossociais.

Os ferimentos cirúrgicos fazem com que as células basais marginais aumentem e migrem para a solução de continuidade da ferida operatória, a fim de que a área seja restaurada. A migração é facilitada pelas glicoproteínas de aderência, bem como pelos queratinócitos que depositam a laminina, além de colágeno IV. Estes também podem tornar-se colunares e se dividirem à medida que as camadas da epiderme, derme, subcutâneo e tecidos mais profundos são formados (Wang & Shen et al, 2000).

O espessamento epitelial subsequente, incluindo dos tecidos adjacentes, produz reações adversas com a presença de grande quantidade de tecido de granulação dentro do espaço vertebral, podendo desenvolver, em última análise, a fibrose tecidual.

2.2. Manejo Pós-operatório em Cirurgia da Coluna Vertebral

O tratamento convencional utilizado para evitar a dor no pós-operatório é a administração medicamentosa de antiinflamatórios e analgésicos potentes, que, em uma grande parte dos pacientes, agem por um determinado período e não conseguem sustar de forma definitiva a dor, sendo necessárias novas intervenções cirúrgicas na coluna vertebral. Apesar da remoção das adesões fibróticas e liberação das raízes na cirurgia de revisão, as adesões irão recorrer após o procedimento (Oehmichen, 2004; Lee, 2012).

A maioria dos autores acredita que o melhor caminho para evitar a ocorrência de fibrose peridural é prevenindo a sua formação (Tao, 2009). Uma vez formada a fibrose, não há tratamento efetivo.

Dessa forma, faz-se necessário o desenvolvimento de um procedimento terapêutico que realmente venha a reduzir a formação de fibrose epidural e adesões cicatriciais sem causar efeitos colaterais (Oehmichen, 2004).

2.3. Laserterapia e o Reparo Tecidual

O termo *LASER* é um acrônimo da expressão inglesa *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, ou seja, Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação (Sobottke, 2009).

Os princípios que tornariam possível a tecnologia médica a laser foram introduzidos em 1916 por Albert Einstein, vindo a receber o Prêmio Nobel em Física através do Efeito Fotoelétrico, como parte de seu trabalho em mecânica quântica. Cerca de 40 anos depois, Theodore Maiman observou a primeira emissão estimulada de um cristal de Rubi, desenvolvendo o primeiro equipamento laser.

Pouco tempo depois, os pesquisadores de todo o mundo desenvolveram uma ampla gama de materiais capaz de emitir laser, abrindo caminho para o rápido desenvolvimento das aplicações médicas multidisciplinares, iniciada em 1962 (Sobottke, 2009).

As características básicas do laser são: coerência (sincronia temporal e espacial), colimação (unidirecionalidade), monocromaticidade (comprimento de onda bem definido) e polarização (Chavantes & Zamorano, 1994).

A radiação eletromagnética do laser interage com sistemas físicos e biológicos, tais como átomos, moléculas, íons, células e tecidos biológicos, mediante transferência de energia entre esses sistemas. Os lasers podem ser classificados, de uma forma didática, segundo a potência: lasers de alta potência ou cirúrgicos, e lasers de baixa intensidade (LBI) ou laser terapêuticos (Chavantes, 2009).

2.4. Laser de Baixa Intensidade (LBI)

Este tipo de laser deve apresentar uma potência menor que 1 W e aquecimento do tecido alvo inferior ao gradiente de 1°C (Baxter, 1994). Assim, pode-se dizer que a laserterapia é uma modalidade terapêutica atérmica.

A interação da radiação eletromagnética ocorre, principalmente, em um meio

onde há estado redox instável (típico em situações de estresse fisiológico), estimulando determinadas moléculas fotoceptoras existentes tanto na membrana celular, quanto na crista interna da membrana mitocondrial, sendo capaz de auxiliar o tecido lesionado na busca da homeostase tecidual (Karu et al, 1988; Sandoval, 2008).

Inicialmente, tem-se como efeito primário ou imediato a estabilização da membrana celular e o aumento do metabolismo celular, acarretando em síntese de endorfinas e liberação de transmissores nociceptivos, como a bradicinina e a serotonina, os quais promovem uma ação analgésica (Karu et al, 1989; Bolton et al, 1995).

A laserterapia resulta numa modulação das atividades celulares, como na glicólise, acelerando a síntese de ATP, a replicação do DNA e a mitose celular, numa resposta integrada e sistêmica. A biomodulação do laser se traduz através do efeito fotofísicoquímico, em nível molecular do tecido alvo, em estruturas da célula, ocasionando normalização das funções celulares e orgânicas. É importante salientar que a biomodulação é verificada em organismos que não estejam em homeostase. Outro tópico digno de menção é a dose aplicada, pois caso esta seja demasiadamente alta, não haverá estimulação celular, mas sim o efeito de bioinibição (Chavantes, 2009).

Rochkind et al. (2007) realizaram um estudo investigando a efetividade do tratamento da dor em paciente com lesão incompleta do nervo periférico e plexo braquial com aplicação do LBI ($\lambda = 780$ nm). Foi encontrada uma gradual melhora da função do nervo periférico, levando a uma significativa recuperação funcional.

2.5. Justificativa

Com os resultados encontrados na literatura, como o efeito antiinflamatório e de reparação tecidual, bem como a contenção do processo edematoso, o presente trabalho visa determinar a possível ação do laser de baixa intensidade na cicatrização e dor pós-operatória de pacientes laminectomizados, avaliando-se a síntese das interleucinas 1, 4, 6, 8, 10 e TNF- α , a modulação dos marcadores inflamatórios, como a proteína C reativa, creatinoquinase e a desidrogenase láctica.

Frente ao considerável índice de complicações no pós operatório da cirurgia da coluna vertebral, seja devido à síndrome do insucesso da cirurgia espinal, sangramento ou infecção, à escassez de medidas preventivas eficazes a essas complicações e aos resultados positivos com o uso de laser de baixa intensidade em outros tipos de cirurgias, justifica-se o uso do laser de baixa no transoperatório, POI e terceiro pós operatório para auxiliar a diminuir as complicações e a co-morbidade na cirurgia da coluna vertebral.

Foram formuladas cinco hipóteses:

O LBI auxilia na diminuição da dor no pós-operatório de cirurgia da coluna vertebral em pacientes submetidos à laminectomia, avaliada por escala analógica visual de dor.

O LBI é capaz de diminuir o processo inflamatório em ferida operatória, avaliado por meio da visualização do eritema, da medição da temperatura corpórea, e do marcador inflamatório proteína C reativa (PCR).

O LBI melhora a cicatrização muscular em leito cirúrgico, avaliada por fotografias e pela medição da creatinoquinase (CK) e da desidrogenase láctica (DHL).

O LBI é capaz de diminuir o débito do dreno deixado em leito cirúrgico no pós-operatório de cirurgia da coluna vertebral em pacientes submetidos à laminectomia, diminuindo o risco de infecção no pós-operatório.

O LBI altera a produção das citocinas, como as interleucinas 1, 6, 10 e TNF-alfa, no infiltrado intersticial do leito cirúrgico.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

Determinar a ação do LBI no pós operatório da coluna vertebral em pacientes submetidos à laminectomia.

4.2. Específicos

Estudar o efeito do LBI através da análise de citocinas e marcadores inflamatórios no processo de reparação tecidual no pós-operatório de cirurgia da coluna espinhal.

Avaliar o efeito do LBI sobre a dor no pós-operatório de cirurgia da coluna vertebral.

Um estudo clínico prospectivo randomizado foi realizado em 48 pacientes distribuídos aleatoriamente em dois grupos, sendo 25 pacientes do grupo laser (L) e 23 pacientes do grupo placebo (P). O projeto foi submetido à Comissão de Ética do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo (Protocolo Plataforma Brasil 12288113.1.0000.5511) e ao Comitê de Ética de Pesquisa em Humanos da Universidade Nove de Julho (Protocolo Plataforma Brasil 12288113.1.0000.5511).

A assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1) foi solicitada aos pacientes que preencheram os critérios de inclusão e não estiveram nos critérios de exclusão descritos a seguir.

5.1. Critérios de Exclusão

- a) Distúrbios de coagulação, tais como uso de anticoagulantes, hepatopatas, plaquetopênicos.
- b) Câncer ativo.
- c) Quadro infeccioso.
- d) Lesão dural durante o procedimento
- e) Raça negra.

5.2. Critérios de Inclusão

- a) Pacientes submetidos à cirurgia da coluna vertebral com laminectomia de vértebras lombares.

5.3. Aleatorização dos Pacientes

Depois de verificada a elegibilidade, antes do procedimento cirúrgico, os pacientes receberam um envelope lacrado com a alocação, a ser entregue ao cirurgião imediatamente antes da cirurgia. A aleatorização dos pacientes foi realizada assim: um indivíduo, sem conhecimento dos pacientes ou do tratamento, lançou ao ar uma moeda não viciada e em dependência da face que caiu, foi escrito no papel A ou B. A seguir, ele colocou o papel em um envelope opaco e o lacrou, até completar 25 de um

e 23 do outro. Na sequência em que foram criados, os envelopes foram entregues à auxiliar, que por sua vez, os distribuiu aos pacientes em ordem de chegada. Somente o cirurgião sabia que A se referia ao grupo placebo e B ao tratado com LBI.

5.4. Procedimento Cirúrgico

No centro cirúrgico do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo foi realizada cirurgia da coluna lombar com laminectomia de vértebras lombares em 48 pacientes.

Os pacientes, após anestesia geral, foram posicionados em decúbito ventral e foi realizada assepsia e antissepsia com posterior posicionamento dos campos estéreis em região lombar. Foi realizada uma incisão mediana longitudinal na pele, diretamente sobre os processos espinhosos, com cerca de 10 cm. A fáscia lombar foi exposta e a musculatura paravertebral dissecada bilateralmente até a exposição dos processos transversos das vértebras lombares bilateralmente. As vértebras lombares foram determinadas através de visualização sob radioscopia. Para seccionar os processos espinhosos e lâminas correspondentes às vértebras lombares foram utilizados uma goiva, uma cureta angulada e um Kerrison 5 mm (Aesculap®, Alemanha). O ligamento amarelo e a gordura epidural foram removidos, expondo a dura mater, com grande cuidado para que não houvesse lesão da mesma. Ao longo do canal medular, ocorreu a irradiação com LBI durante 60 segundos, perpendicularmente e em contato com a região de laminectomia.

A síntese da musculatura e do subcutâneo foi realizada com fio de sutura Vicryl 1.0 (Ethicon®, EUA), após a colocação de dreno Zammivac 3:2 (Trisima®, Brasil) em espaço epidural e subcutâneo, seguindo-se a irradiação por mais 60 s. Após a sutura da pele com fio Mononylon 3.0 (Ethicon®, EUA) foi feita irradiação por mais 120 s, em toda a ferida cirúrgica.

Em 25 pacientes aleatórios, foi aplicado o LBI (B-Cure, Good Energies®, Israel), um laser de diodo semiconductor de Arseneto de Gálio e Alumínio (GaAlAs) no trans-operatório ($\lambda = 804 \pm 2$ nm, tempo total de exposição de 240 s, densidade de energia de $2,48 \text{ J/cm}^2$, potência média de 40 mW, área do spot de $3,876 \text{ cm}^2$), no modo contato, sendo 60 s em sítio da laminectomia, 60 s em subcutâneo e 120 s na pele ao longo do leito da ferida operatória.

No primeiro e segundo dias após a cirurgia, foi coletado o infiltrado intersticial do leito cirúrgico acumulado no dreno para a análise das interleucinas 1, 4, 6, 8 e 10 (IL-1, IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

5.5. Avaliação do Processo Inflamatório

O processo inflamatório foi avaliado por meio das medições de PCR antes, no segundo e quinto dias PO. A temperatura também foi um indicador para esse quesito, sendo medida antes e após a aplicação do LBI no primeiro e terceiro dias pós-operatório por meio de um termômetro digital. Termômetros desse tipo proporcionam um diagnóstico exato, sem contato e não-invasivo, permitindo a determinação de mudanças na temperatura da superfície da pele usando sensores infravermelhos.



Figura 1. Avaliação da temperatura digital.

5.6. Avaliação da Dor no Pós-Operatório

A avaliação da dor dos pacientes será realizada através da Escala Visual Analógica (EVA) aplicada antes e após a aplicação do LBI no primeiro e terceiro dias pós-operatório (figura 2).

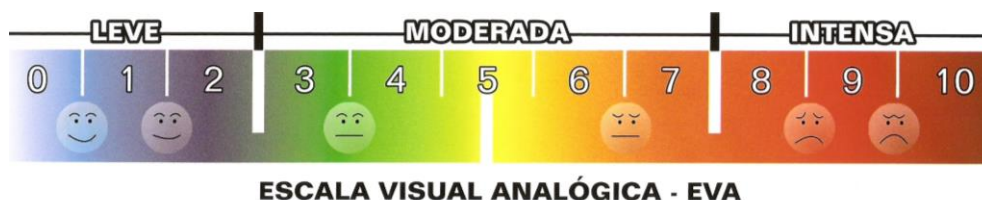


Figura 2. Escala Visual Analógica

5.7. Avaliação da Cicatrização

Para a avaliação da cicatrização muscular serão coletados DHL e CK no pré-operatório, no segundo e quinto dias pós-operatório. A cicatrização epitelial foi

avaliada por intermédio de fotografias no segundo e quarto dias pós-operatório, e no pós-operatório tardio. As fotografias foram obtidas com uma máquina SONY® de 12,1 MPixel, com e sem flash, sempre posicionada a 40 cm do paciente.

Para avaliar o processo de cicatrização no local da laminectomia, foi coletado no primeiro e segundo dias do pós-operatório o infiltrado intersticial do dreno para quantificação de seu volume e posterior avaliação das interleucinas 1, 4, 6, 8, 10 e TNF- α . O dreno foi deixado sem vácuo em todos os pacientes estudados. O infiltrado foi centrifugado e aliquoteado em tubo *ependorf* de 2 ml e imediatamente congelado a -80°C para o teste de ELISA.

5.7.1. Teste de ELISA

Os testes foram conduzidos em duplicata, de acordo com as instruções do fabricante de cada kit (IL-1 – cat KAC1191, IL-4, IL-6 - cat KHC0061C, IL-8, IL-10, TNF- α todos da Invitrogen, Life Technologies do Brasil).

5.7.2. Análise Estatística

Os dados não paramétricos foram avaliados com comparação das medianas através do teste estatístico de Kruskal-Wallis para amostras independentes. O nível de significância adotado foi de 95%.

A análise dos dados foi realizada em software Minitab 16 (Minitab Inc., USA). A apresentação dos resultados foi organizada em gráficos do tipo boxplot e gráficos de barra, os quais serão apresentados nos resultados.

6. RESULTADOS

No período de setembro de 2012 a novembro de 2013, 67 pacientes foram submetidos a cirurgia da coluna vertebral com laminectomia de vértebras lombares L4 e L5. Desses pacientes, 19 estavam dentro os critérios de exclusão, sendo 11 pacientes negros e 8 apresentando lesão dural durante o procedimento, o que poderia causar risco de fístula liquórica e difícil cicatrização. Os demais critérios de exclusão, como distúrbio de coagulação e infecção, também são contra-indicações para o procedimento. Não houve paciente com neoplasia maligna ativa submetido a laminectomias durante esse período.

Dos 48 pacientes restantes, 25 (48,6%) eram do sexo masculino e 23 (51,4%) do sexo feminino, com idade de 40 a 80 anos, com média de 55 anos, no grupo placebo e de 26 a 89 anos, com média de 49 anos no grupo laser. Com índice de massa corpórea (IMC) média de 27,11 no grupo placebo e 25,22 no grupo laser.

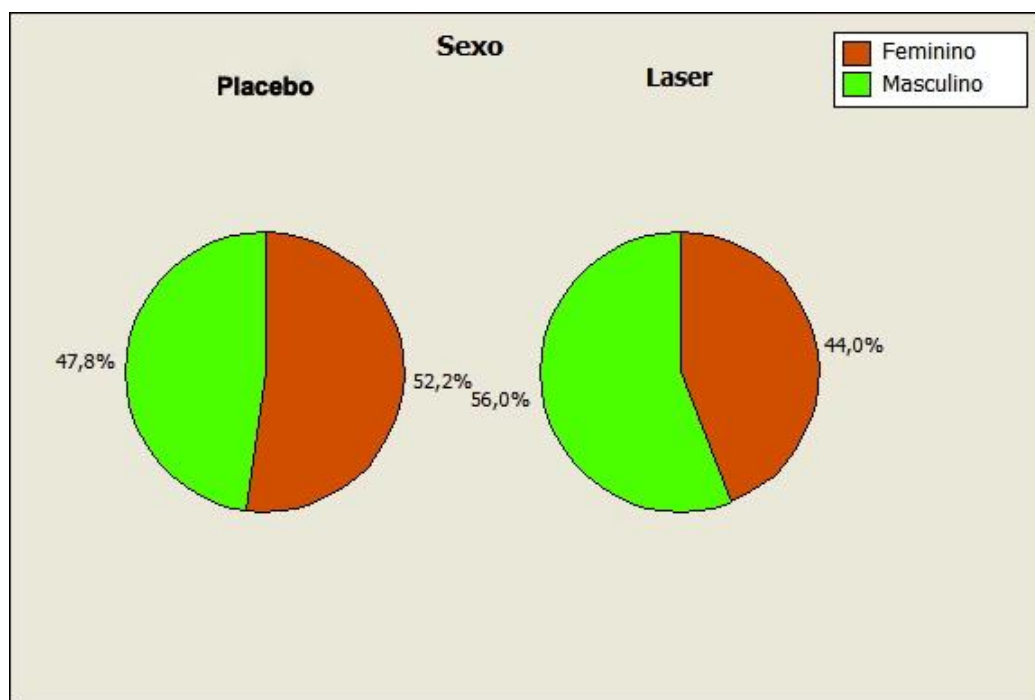


Gráfico 1. Distribuição dos grupos entre os sexos no gráfico pizza.

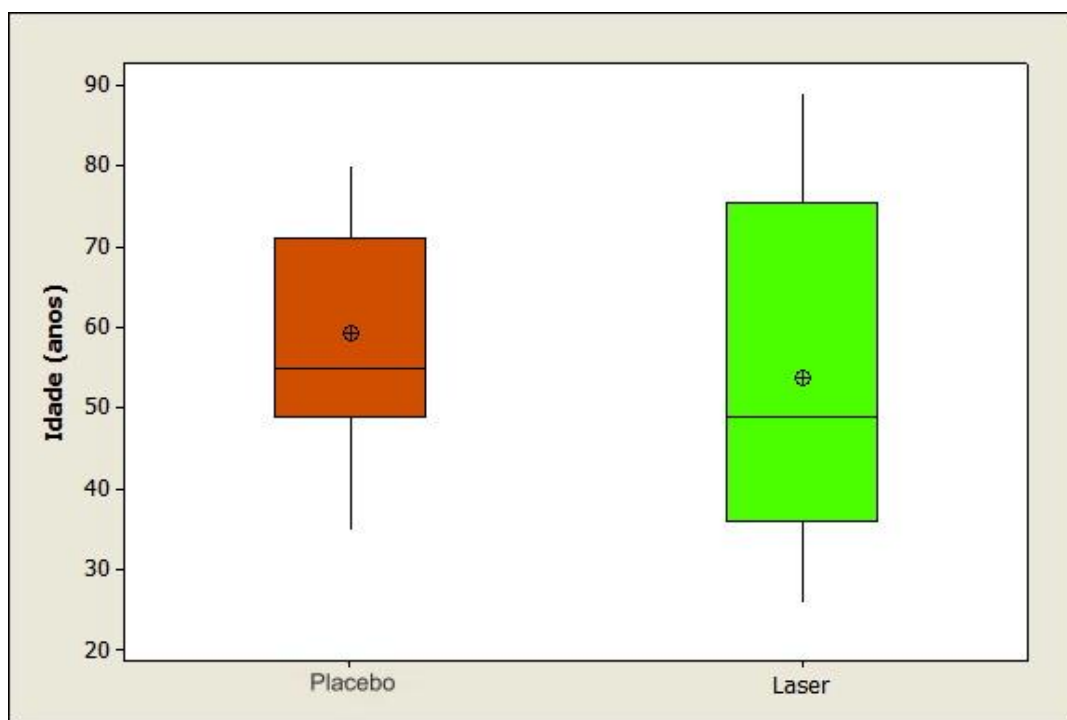


Gráfico 2. Idade no grupo placebo e laser demonstrada no gráfico boxplot.

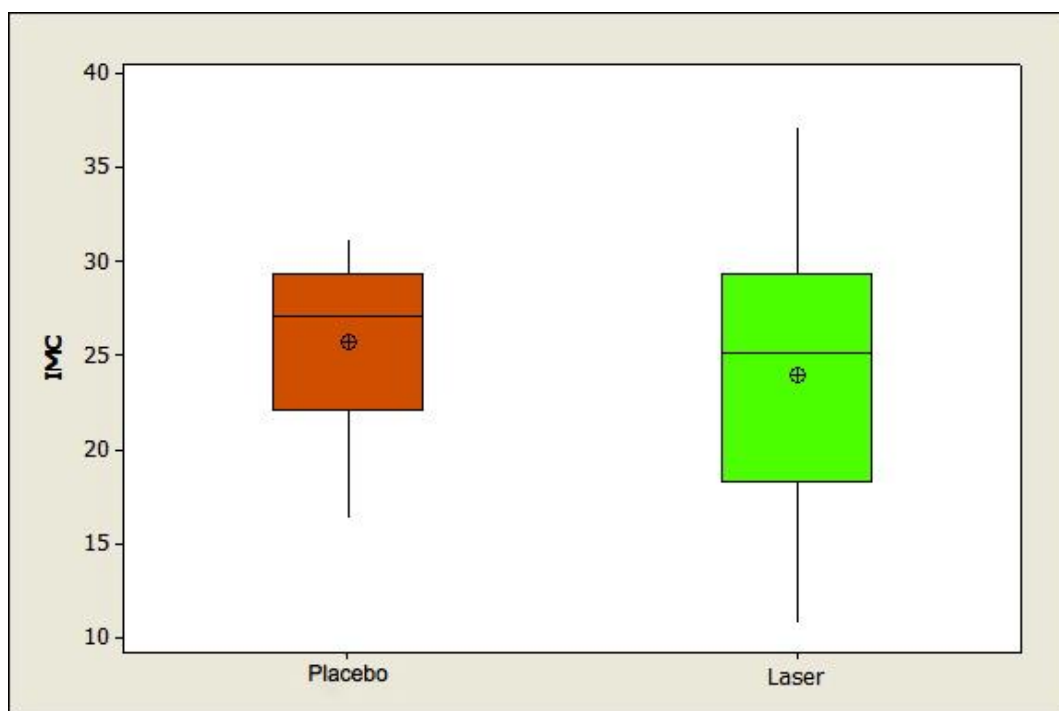


Gráfico 3. IMC do grupo placebo e laser demonstrada no gráfico boxplot.

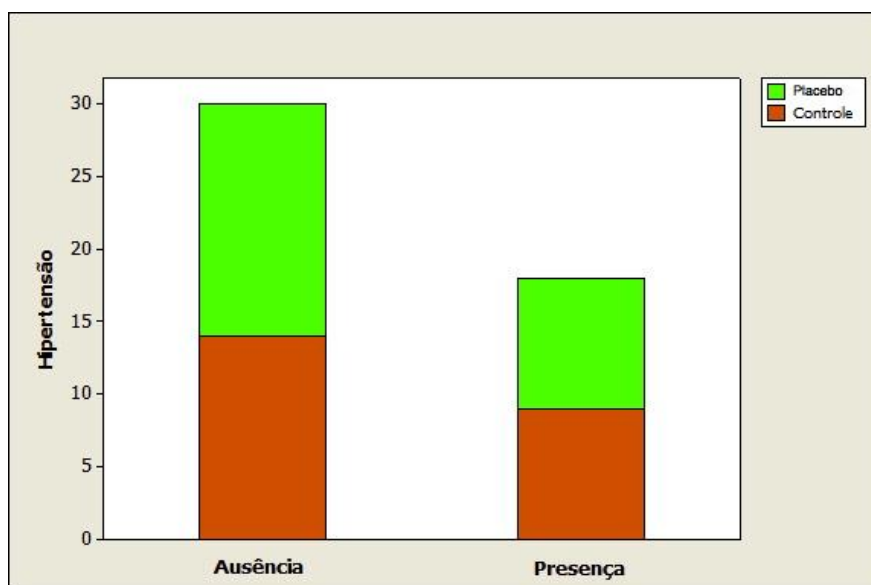


Gráfico 4. Distribuição da Hipertensão arterial sistêmica entre os grupos Laser e Placebo.

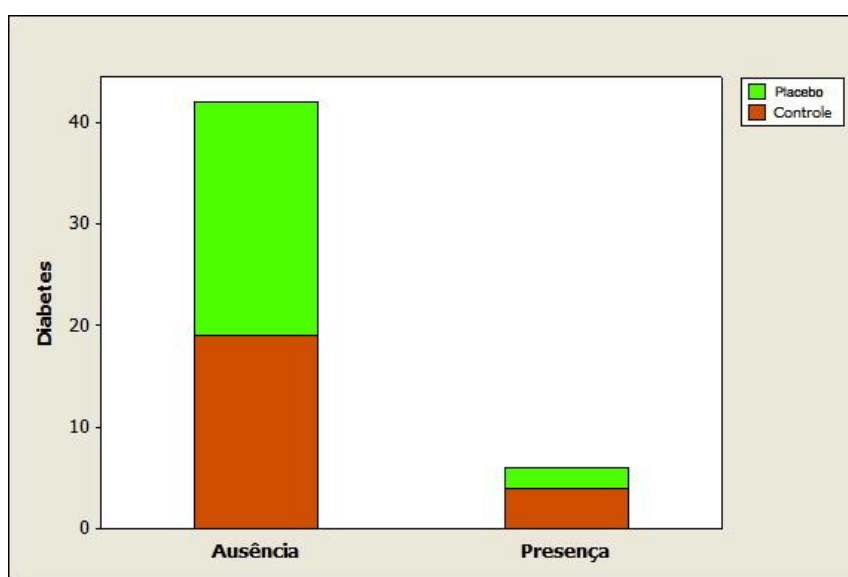


Gráfico 5. Distribuição do *Diabetes mellitus* entre os grupos Laser e Placebo.

Não houve síndrome do insucesso da cirurgia espinhal, infecção e nem necessidade de nova cirurgia em nenhum dos dois grupos.

5.1. Avaliação do Processo Inflamatório

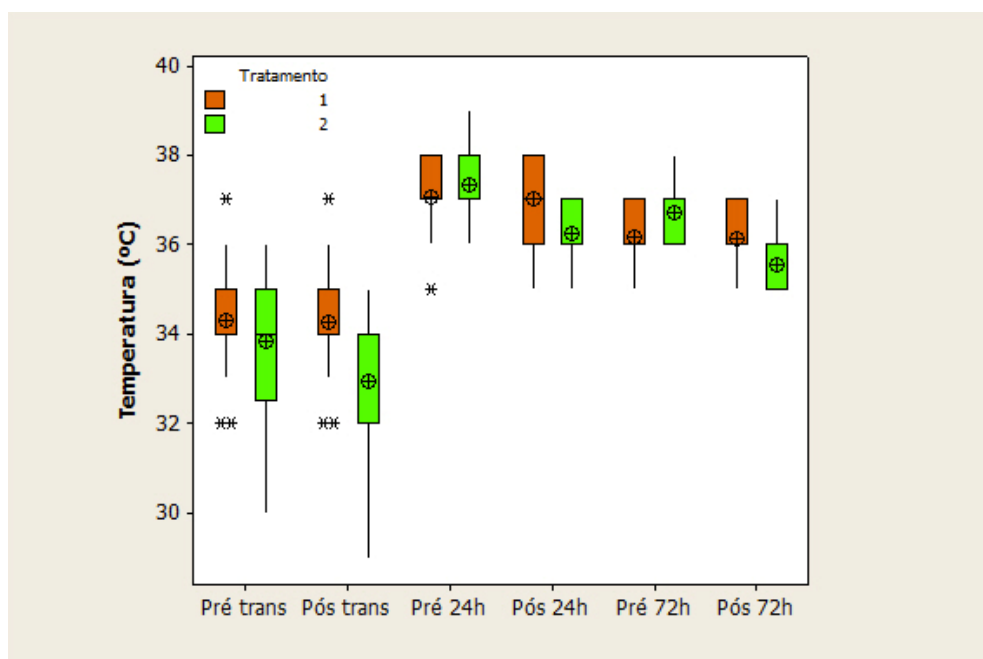


Gráfico 6. Avaliação da temperatura durante o trans operatório, 24h e 72h antes e após a aplicação do LBI. 1: grupo placebo; 2: grupo laser. (trans $p=0,017$) (24h $p=0,005$) (72h $p=0,010$).

Os gráficos boxplot demonstram uma queda estatisticamente significante na temperatura após a aplicação do LASER de baixa intensidade.

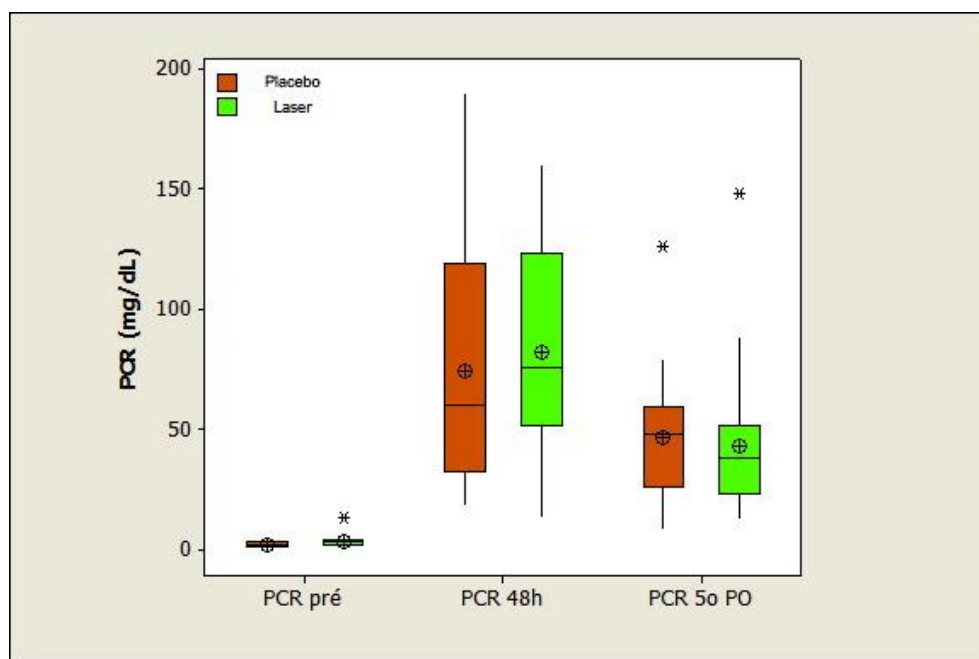


Gráfico 7. Avaliação da Proteína C reativa (PCR). (pré $p=0,014$) (48h $p=0,353$) (5º PO $p=0,445$).

Os gráficos boxplot demonstram uma tendência à redução nos valores da PCR do segundo para o quinto dia do pós-operatório nos pacientes do grupo LASER, assinalando uma aceleração da resposta inflamatória nesse grupo.

5.2. Avaliação da dor no pós operatório

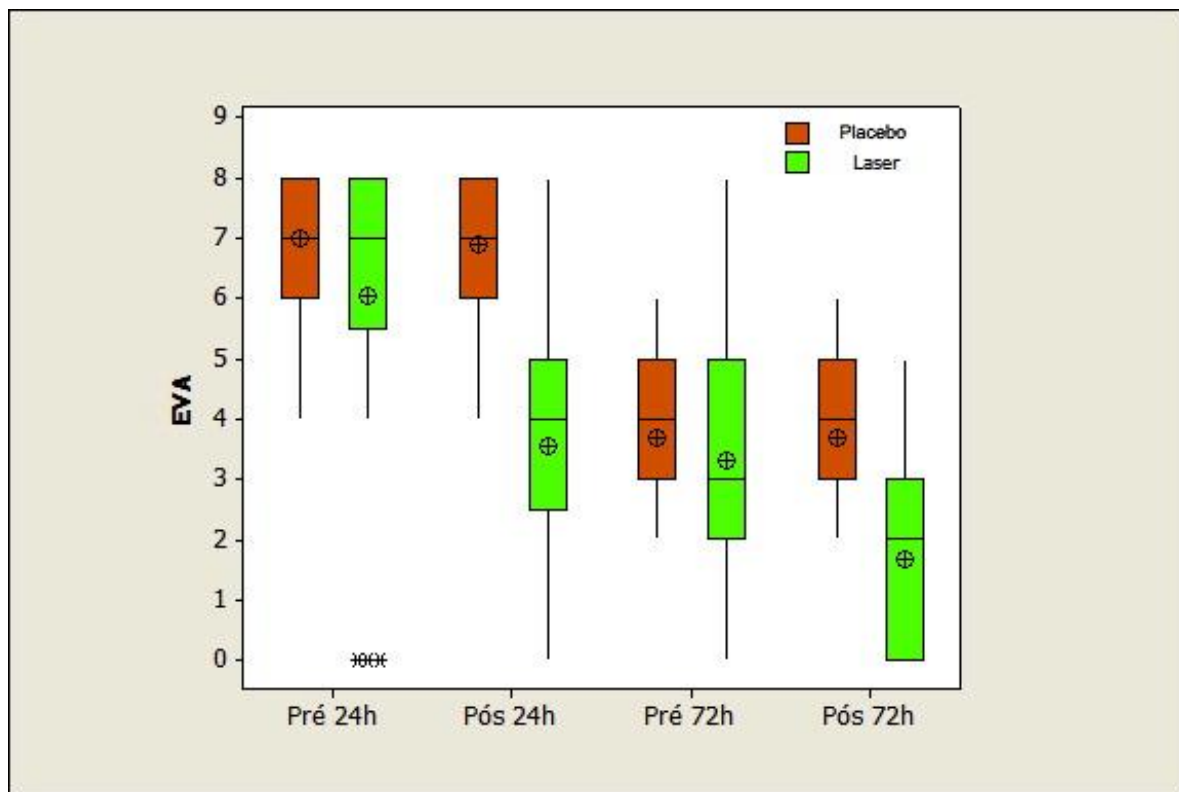


Gráfico 8. Avaliação da Escala Visual Analógica (EVA). (24h $p=0,0001$) (72h $p=0,0001$).

Os gráficos boxplot demonstram queda estatisticamente significativa na pontuação da Escala Visual Analógica da dor após a aplicação do LASER de baixa intensidade no primeiro dia e terceiro dia de pós operatório.

5.3. Avaliação da cicatrização

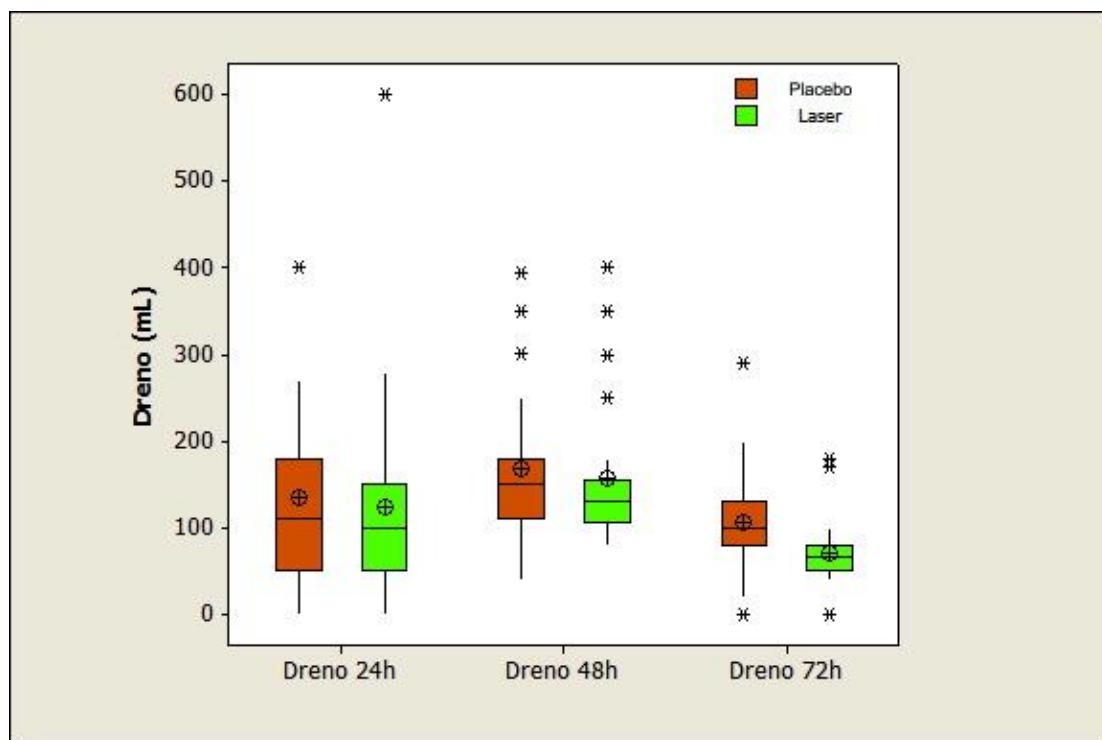


Gráfico 9. Avaliação do exsudato do dreno. (24h $p=0,421$) (48h $p=0,332$) (72h $p=0,004$).

Os gráficos boxplot demonstram uma redução estaticamente significativa do volume drenado do 2o para o 5o dia no pós-operatório nos pacientes do grupo LASER, facilitando a retirada mais precoce do dreno e auxiliando na redução do risco de infecção da ferida no pós-operatório.

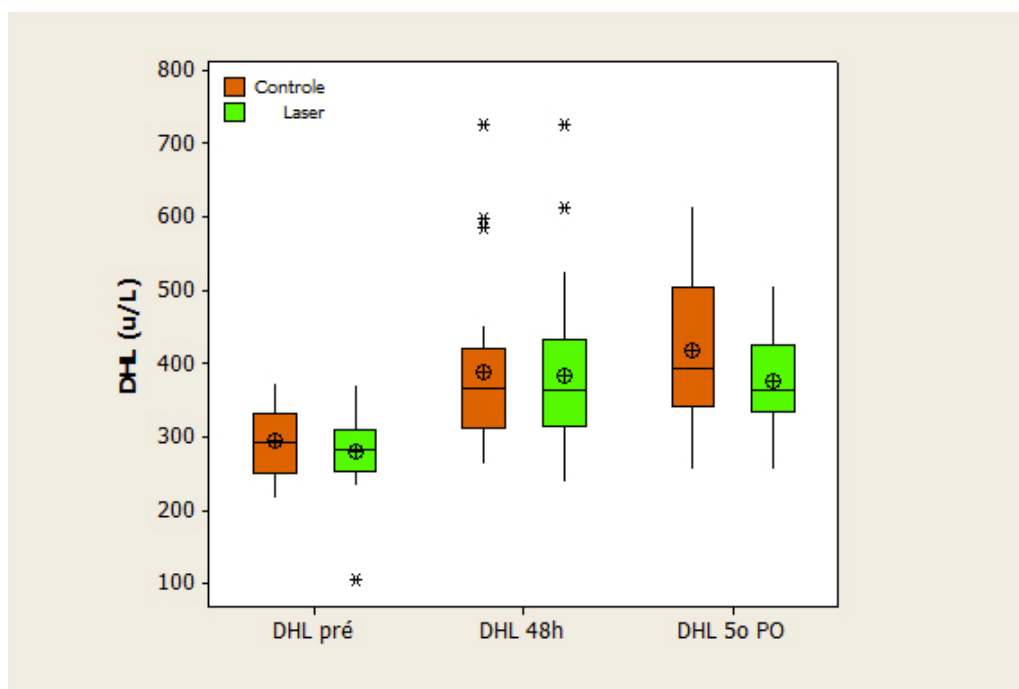


Gráfico 10. Avaliação da Desidrogenase Láctica (DHL). (pré $p=0,469$) (48h $p=0,865$) (5º PO $p=0,131$). Teste de Kruskal-Wallis.

Em nosso estudo piloto, os gráficos boxplot sinalizavam um aumento mais expressivo da DHL no pós operatório dos pacientes do grupo LASER, o qual poderia estar relacionado a uma cicatrização muscular mais rápida nesse grupo. Entretanto, essa tendência não foi confirmada com o aumento da quantidade de pacientes.

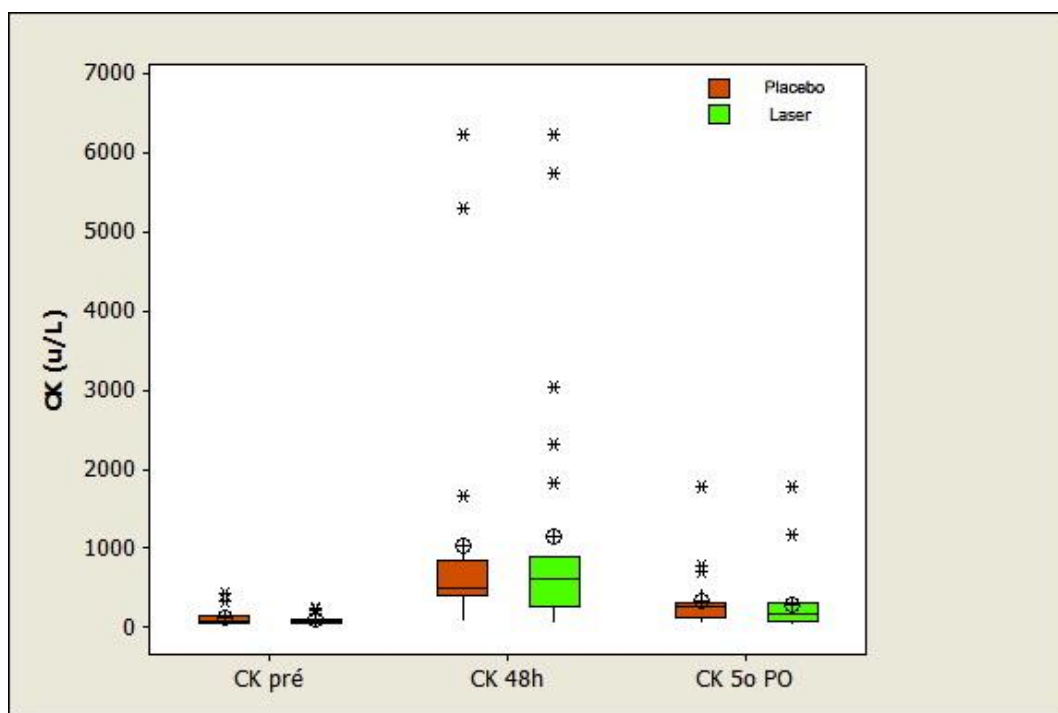


Gráfico 11. Avaliação da Creatinoquinase (CK). (pré $p=0,312$) (48h $p=0,840$) (5o PO $p=0,205$). Teste de Kruskal-Wallis.

Os gráficos boxplot demonstram uma redução mais expressiva nos valores das medianas da creatinoquinase do segundo para o quinto dia do pós operatório no grupo laser (de 619,5 para 168), comparado ao grupo placebo (de 513 para 257), assinalando uma aceleração da cicatrização muscular no grupo laser.

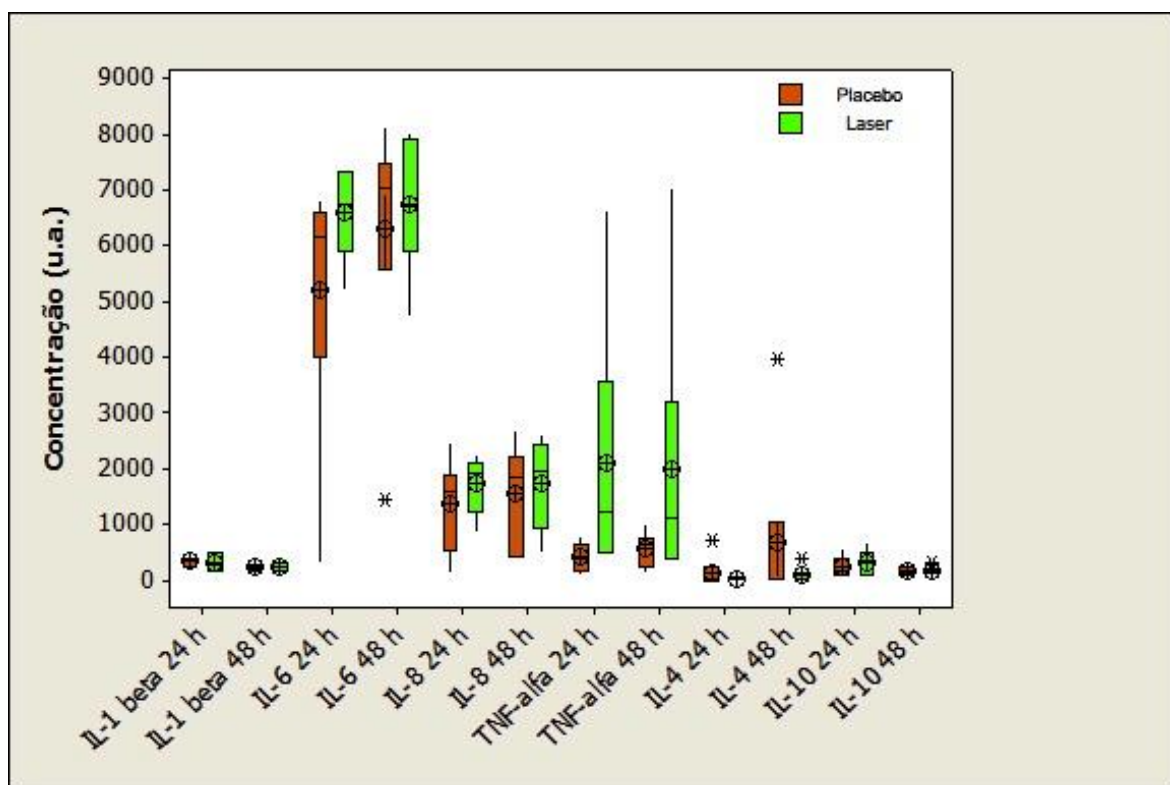


Gráfico 12. Avaliação das Interleucinas. (IL-1 24h p=0,749) (IL-1 48h p=0,575) (IL-6 24h p=0,150) (IL-6 48h p=0,749) (IL-8 24h p=0,337) (IL-8 48h p=0,575) (TNF α 24h p=0,0078) (TNF α 48h p=0,0200) (IL-4 24h p=0,749) (IL-4 48h p=1,000) (IL-10 24h p=0,423) (IL-10 48h p=0,575). Teste de Kruskal-Wallis.

Houve um aumento estatisticamente significativo no nível do TNF α nas primeiras 24h, mas com uma redução nas primeiras 48h no grupo laser. Entretanto, no grupo placebo, em 48h, encontramos o nível de TNF alfa ainda mais aumentado do que nas primeiras 24h, significando que o laser possivelmente antecipou a resposta inflamatória, enquanto o grupo placebo apresentou um aumento dos níveis como seria no curso natural da reparação tecidual. As outras interleucinas não apresentaram diferença estatística significativa.

A síndrome do insucesso da cirurgia espinhal ocorre entre 40% e 80% dos pacientes submetidos a cirurgia na coluna vertebral. Os sintomas dessa síndrome incluem recorrência da dor lombar e/ou irradiação para os membros inferiores depois de uma ou mais cirurgias (Burton, 1991). A fibrose epidural é uma das causas aceitas concorrendo para a síndrome de insucesso da cirurgia espinhal, sendo responsável por 6-25% das queixas álgicas na clínica (Keskin, 2010). La Rocca et al. observaram que a migração dos fibroblastos (provenientes do músculo eretor da espinha) para o hematoma no espaço epidural determina uma formação cicatricial intensa e fibrose epidural. Enquanto, a fibrose peridural em si não é dolorosa, ela pode produzir dor através do aprisionamento das raízes nervosas, de modo que o movimento produz tensão nos nervos da coluna vertebral.

A causa precisa deste processo álgico pode ser difícil de ser determinada em cada paciente, em função da complexa interação de aspectos biológicos e psicossociais, causas orgânicas possíveis incluem: fibrose epidural, aracnoidite, fatores mecânicos, inflamação e doença degenerativa lombar (Chan, 2011). Os pacientes em nosso estudo, foram avaliados quanto a comorbidades, como *Diabetes mellitus*, hipertensão arterial sistêmica e obesidade, que pudessem alterar o processo inflamatório e acarretar o desenvolvimento mais exacerbado da síndrome do insucesso da cirurgia espinhal. A distribuição de idade e sexo, bem como do IMC, DM e HAS não revelou diferença estatística entre o grupo laser e o placebo, demonstrando uma boa distribuição entre os grupos (Gráficos 1, 2 e 3).

A drenagem de sucção fechada tem sido tradicionalmente utilizada para evitar hematoma pós-operatório. Além disso, considerando-se que o hematoma proporciona um excelente meio de cultura facilitando infecções, e a evacuação do mesmo é aconselhável para evitar infecções no pós-operatório (Kanayama, 2010). O hematoma em um espaço fechado forma um excelente meio para a colonização e proliferação de bactérias, além da presença de fluido aumentando em um espaço fechado pode resultar em uma neuropraxia por compressão microvascular. O conceito de drenagem da ferida parece intrinsecamente lógico. A redução da formação de hematoma pode diminuir a possibilidade de equimoses, infecção e deiscência da ferida cirúrgica (Scuderi, 2005). O maior decréscimo do débito do dreno nos pacientes submetidos à aplicação do laser de baixa intensidade (gráfico 9) sugere tanto uma cicatrização tecidual mais rápida da musculatura, da pele, vasos e tecido ósseo lesados durante a cirurgia, como corrobora também para a diminuição do risco das tão temidas infecções no pós operatório da cirurgia da coluna vertebral.

Nosso estudo é o primeiro prospectivo randomizado a avaliar o uso do Laser de Baixa Intensidade durante e após a cirurgia da coluna espinhal. Não houve necessidade de reoperação, infecção ou deiscência da ferida operatória em nenhum dos pacientes operados, em ambos os grupos estudados.

Segundo Sandoval (2008), a laserterapia é capaz de auxiliar na cicatrização e prevenir

a formação de deiscências pós-cirúrgicas, levando à recuperação funcional mais célere e reduzindo o tempo de internação hospitalar. Tal efeito é devido à fotobiomodulação celular/tissular, onde a energia da radiação atua no comportamento de organelas e membranas celulares envolvidas, auxiliando no processo de reparação tissular (Karu, 2008; Chavantes, 2009). Em nosso estudo piloto, os resultados demonstraram uma cicatrização mais acelerada (gráficos 9, 10 e 11) no grupo laser em comparação ao grupo placebo. O LBI pode facilitar a cicatrização da ferida cirúrgica, devido a uma resolução mais rápida da inflamação aguda, sugerida pela maior queda do PCR no segundo para o quinto dia de pós-operatório, sendo que à fase de proliferação da cicatrização se iniciar mais cedo, demonstrada com valores estatisticamente significantes através da queda mais acentuada no grupo laser da creatinoquinase. Esta é uma importante enzima reguladora da produção de ATP no músculo esquelético (gráfico 11), porém com o acréscimo do número de pacientes de nossa amostra essa tendência não se confirmou.

O LBI é capaz de provocar um processo de biomodulação que pode ocasionar efeitos tanto de bioestimulação quanto de bioinibição auxiliando, deste modo, na reparação tecidual e no processo algico, respectivamente (Chavantes, 2009). Em nosso trabalho, a avaliação da dor (gráfico 8) demonstrou uma melhora funcional mais rápida do grupo tratado com LBI em comparação ao controle, deixando os pacientes mais dispostos para deambulação precoce no pós-operatório, o que corrobora para a redução dos riscos de trombose venosa profunda e tromboembolia pulmonar (Clements, 2009).

No Instituto de Pesquisas Nucleares (IPEN) da Universidade de São Paulo, foi avaliada a polarização do laser, verificada também a potência que o aparelho emitia. A polarização encontrada foi linear e paralela ao menor eixo. A direção da polarização do laser é paralela às linhas de tensão (linhas de Langer), que compreendem o equivalente anatômico composto por orientação paralela preferencial e um alinhamento de feixes de colágeno. Assim, é possível levantar a hipótese de que a memória de polarização é melhor preservada paralela do que perpendicularmente às linhas de tensão e, portanto, poderia ajudar na melhoria da cicatrização de feridas operatórias (Silva, 2006). Por isso, todas as nossas aplicações do LBI foram realizadas com o sentido da polarização paralelo às linhas de Langer, auxiliando ainda mais na reparação tecidual no POI.

O LBI utilizado em nosso estudo foi um laser de diodo semicondutor com $\lambda = 804 \pm 2$ nm (infravermelho), tempo total de exposição de 240 s, densidade de energia por minuto de 0.62 J/cm^2 , potência média de 40 mW, área do spot de 3.876 cm^2 . A dose total empregada no nosso estudo foi de 7.44 J/cm^2 , sendo corroborada com as doses sugerida pela World Association of Laser Therapy, que recomenda uma fluência de 4 a 8 J/cm^2 para lasers infravermelho (780 - 860nm), auxiliando no pronto restabelecimento da reparação na área tratada.

Bae et al. (2004) estudaram a aplicação do laser de baixa intensidade infravermelho

na regeneração da lesão do nervo ciático de ratos e verificaram que o LBI pode auxiliar na reparação do dano mecânico do ciático, estimulando a regeneração do nervo periférico. O efeito da irradiação do LBI ($\lambda = 830$ nm) sobre a condução do nervo mediano *in vivo* em humanos, tem uma ação hipoalésgica, segundo Baxter et al (1994). Em nossos resultados, observamos um decréscimo da temperatura que foi estatisticamente significativa no grupo laser como também uma redução do eritema neste grupo, o que corrobora uma modulação do processo inflamatório na região da ferida operatória (gráfico 6), seguindo-se os conceitos da tríade de Virchow (Bagot, 2008).

Outro ponto importante, a ser mencionado é que, ao empregar o LBI em fibroblastos, observa-se que essas células se perfilam ao serem irradiadas, possibilitando um certo grau de alinhamento de colágenos, que evitam o desalinho das fibras, não permitindo formação de fibrose e consequentemente a ausência da Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal. Estudos *in vitro* e *in vivo* corroboram com esta possibilidade de resposta celular e tissular após utilização do Laser (Karu, 1990; Fukuda, 2010; Pinto, 2010).

Diversos trabalhos na literatura versam sobre os efeitos da irradiação laser em células associadas à resposta inflamatória, como em fibroblastos (Karu, 1989; Pereira et al., 2002), macrófagos (Dube et al., 2003), fatores de crescimento celular (Safavi et al., 2008) e citocinas (Bjordan et al., 2006; Zhevago, 2006). As citocinas, entre elas as interleucinas, desempenham importante função como mediadores de respostas inflamatórias, atuando na ativação de células específicas tanto na aceleração quanto na reparação de processos flogísticos (Schroder et al., 2006; Hrabak et al., 2008).

Citocina é o termo genérico empregado para designar um grupo extenso de moléculas (proteínas), produzidas principalmente pelas células T, macrófagos e algumas células endoteliais. As citocinas estão envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes e de reparo, podendo se enquadrar em diversas categorias: interleucinas (IL), interferons (IFN), fator de transformação do crescimento (TGF), fator de necrose tumoral (TNF), entre outras (Naoum, 2001).

O TNF- α , a IL-1 e a IL-6 são conhecidas como citocinas pró-inflamatórias, tendo um papel importante como mediadores de processos inflamatórios e imunológicos, proteólise, recrutamento celular e reparo tecidual. O TNF- α tem uma posição essencial na cascata de liberação de citocinas, pois também promove a estimulação de outras citocinas como a IL-6. O TNF- α é uma das primeiras citocinas a ser liberada, alcançando a ferida no período de até 30 minutos, a interleucina 6 aparece mais tardiamente, levando mais de 6 h para ser produzida. Além disto, estes mediadores inflamatórios sensibilizam os nociceptores aferentes primários, aumentando a sensibilidade dolorosa (Yamaura et al., 2009). Segundo autores na literatura internacional relatam que o LBI é capaz de auxiliar na síntese de endorfinas e liberação de

transmissores nociceptivos, como a bradicinina e a serotonina, os quais promovem uma ação analgésica (Chow, 2009; Bolton, 1995). Em nosso estudo, as citocinas pró-inflamatórias apresentaram uma queda da mediana no grupo laser, enquanto o placebo apresentou uma elevação de 24h para 48h, demonstrando um efeito antiinflamatório do laser.

O método de ELISA foi empregado para análise dos níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias, como nos trabalhos de Aimbire et al. (2006) e Yamaura et al. (2009). Este é um método padronizado e validado para mensuração da concentração de citocinas e por esta razão, foi escolhido no presente estudo (Eberle et al., 2010; Fukuda et al., 2010; Hernandez et al., 2010). Em nosso estudo, o TNF- α apresentou um aumento estatisticamente significativo no seu nível nas primeiras 24h, mas com uma redução importante nas primeiras 48h no grupo laser. Entretanto, no grupo placebo, em 48h, o nível de TNF- α apresentou-se ainda mais aumentado do que nas primeiras 24h, significando que o laser possivelmente antecipou a resposta inflamatória, enquanto o grupo placebo revelou um aumento dos níveis como seria no curso natural da reparação tecidual. As outras interleucinas não apresentaram diferença estatística significativa.

A proteína C reativa é um dos principais reagentes de fase aguda que é produzido pelo fígado em resposta à inflamação, infecção, malignidade e danos no tecido. A síntese de PCR é rapidamente regulada positivamente, principalmente nos hepatócitos, sob o controle das citocinas pró-inflamatórias (Honsawek, 2011). A proteína C reativa foi utilizada para demonstrar que através da sua dosagem na corrente sanguínea podemos inferir a organização do processo inflamatório de uma maneira geral. Em nossos resultados, encontramos uma alteração estatisticamente significativa na avaliação pré-operatória do PCR ($p=0,014$) em que os valores do grupo laser foram maiores que os do grupo placebo e foi encontrada uma redução do segundo para o quinto dia pós operatório da mediana dos valores do PCR no grupo laser em relação ao grupo placebo, sendo de 75.5 para 37.9 e de 60.2 para 47.9, respectivamente.

Algumas limitações do nosso estudo devem ser apontadas. A raridade da complicação de infecção, deiscência e da síndrome do insucesso da cirurgia espinal limitaram o nosso estudo, talvez por um curto período de *follow up* ainda não observamos nenhum paciente com a síndrome. No serviço em que os pacientes foram operados, há uma taxa de infecção e síndrome do insucesso da cirúrgica espinal mais baixa que os índices apresentados na literatura. Por fim, a avaliação das interleucinas foi feita em apenas 12 pacientes, talvez por isso ainda não obtivemos valores expressivos estatisticamente.

Apesar das limitações do trabalho, a questão do uso do laser de baixa intensidade como ferramenta para prevenção de infecção em cirurgia da coluna lombar vem à tona. Portanto, a realização de trabalhos multicêntricos randomizados duplo-cego, para avaliação desse ponto, se torna necessário.

A compreensão dos mecanismos celulares e biomoleculares envolvidos, que controlam a cicatrização da ferida cirúrgica induzida pela fototerapia, irá revelar novos entendimentos e possibilidade do desenvolvimento de novos alvos para a criação de terapêuticas inovadoras. Este tipo de fototerapia poderá vir a auxiliar na cicatrização da ferida cirúrgica, reduzindo complicações (infecções, deiscências), como a fibrose epidural e a Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal. A laserterapia pode proporcionar uma analgesia no pós operatório da cirurgia da coluna vertebral, além de reduzir possivelmente o tempo de internação e custos efetivos tanto para o paciente como para instituições envolvidas.

9. CONCLUSÃO

Concluindo, nós demonstramos que apenas três aplicações do Laser de Baixa Intensidade reduzem o processo inflamatório na ferida operatória e estimulam uma melhor reparação tecidual, com decréscimo de possível fibrose pós-operatória.

O uso do Laser interferiu na diminuição do débito do dreno e demonstrou que as interleucinas nos pacientes tratados com laserterapia apresentaram uma redução mais rápida das interleucinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF) e um aumento maior inicial das citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10), sinalizando uma aceleração do processo cicatricial no pós operatório.

A aplicação do LBI auxilia de forma eficaz na analgesia no pós operatório da cirurgia da coluna vertebral, reduzindo a morbidade (como a Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal) e, sobretudo, melhorando a qualidade de vida dos pacientes neurocirúrgicos.

- Farrokhi MR, Vasei M, Fareghbal S, et al. The effect of methylene blue on peridural fibrosis formation after laminectomy in rats: an experimental novel study. *The Spine Journal*, 2011; 11:147-152.
- Yildiz KH, Gezen F, Is M, et al. Mitomycin C, 5-fluorouracil, and cyclosporin A prevent epidural fibrosis in an experimental laminectomy model. *Eur Spine J*, 2007; 16:1525-1530.
- Temiz C, Temiz P, Sayin M, et al. Effect of cepae extract-heparin and allantoin mixture on epidural fibrosis in a rat hemilaminectomy model. *Turkish Neurosurg*, 2009; 19:387-392.
- Chen S, Anderson MV, Cheng WC, Wongworawat MD. Diabetes Associated with Increased Surgical Site Infections in Spinal Arthrodesis. *Clin Orthop Relat Res*, 2009; 467:1670–1673.
- Xiu-tong F, Wood KB. Management of postoperative instrumented spinal wound infection. *Chinese Medical Journal* 2013;126.
- Mester E, Ludany G, Sellyei M, Szende B, Gyenes G, Tota GJ. Studies on the inhibiting and activating effects of laser beams. *Langenbecks Arch Chir* 1968;322:1022–1027.
- Brosseau L, Welch V, Wells G, Tugwell P, de Bie R, Gam A, Harman K, Shea B, Morin M. Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: A metaanalysis. *J Rheumatol* 2000;27(8):1961–1969.
- Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Laser Surg* 2005;23(4):355–361.
- Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B* 1995;27(3):219–223.
- Zhang Y, Song S, Fong CC, Tsang CH, Yang Z, Yang M. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. *J Invest Dermatol* 2003;120 (5):849–857.
- Pinto FC, Chavantes MC, Pinto NC, Alho EJ, Yoshimura EM, Matushita H, Krebs VL, Teixeira MJ. Novel Treatment Immediately After Myelomeningocele Repair Applying Low-Level Laser Therapy in Newborns: A Pilot Study. *Pediatric Neurosurgery*, 2010; 46: 249-254.
- Silva DFT, Vidal BC, Zezell DM, Zorn TM, Nunez SC, Ribeiro MS. Collagen birefringence in skin repair in response to red polarized-laser therapy. *Journal of Biomedical Optics*, 2006; 11(2): 024002.
- Teixeira MJ, Yeng LT, Garcia OG, Fonoff ET, Paiva WS, Araujo JO. Failed back surgery pain syndrome: therapeutic approach descriptive study in 56 patients. *Rev Assoc Med Bras*, 2011;57(3):282-7.
- Wang R, Ghahary A, Shen Q et al. Hypertrophic scar tissues and fibroblasts produce more transforming growth factor- β 1 mRNA and protein than normal skin and cells. *Wound Rep Reg*. 2000; 8:128-137.
- Oehmichen M. Vitality and time course of wounds. *Forensic Science International*, 2004; 144: 221-231.

- Lee JH, Lee S. Clinical Effectiveness of Percutaneous Adhesiolysis using Navicath for the Management of Chronic Pain Due to Lumbosacral Disc Herniation. *Pain Physician*, 2012; 15: 213-221.
- Tao H, Fan H. Implantation of amniotic membrane to reduce postlaminectomy epidural adhesions. *Eur Spine J*, 2009; 18:1202-1012.
- Sobottke R, Schuter-Brust K, Kaulhausen T, et al. Interspinous implants (X Stop®, Wallis®, Diam®) for the treatment of LSS: is there a correlation between radiological parameters and clinical outcome? *Eur Spine J*. 2009; 18:1494-503.
- Chavantes MC, Zamorano L. Aplicación del Laser en Patología Cerebrovascular. In: *Enfermedades Cerebrovasculares Isquémicas y Hemorrágicas*. Mendez J, Leiguarda RC (eds). Publ. Tec. Mediterráneo, Santiago-Chile. 1994; 53: 533-599.
- Chavantes MC. Principios Laser. Capítulo 1-5. In: CHAVANTES, M. C. *Laser em Bio-Medicina: Princípios e Prática*. 2009. Atheneu (ed), São Paulo. p. 5-41.
- Baxter GD. *Therapeutic Lasers*. 1994 Churchill, Livingstone (eds), Edinburgh.
- Karu, T. I. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation. *Lasers Life Science*, 1988; 2 (1):53-74.
- Sandoval MA, Hernandez-Vaquero D. Preventing epidural fibrosis with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Eur Spine J*, 2008; 17:451-455.
- Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health Physics*. 1989;56(5):691-704.
- Burton CV. Causes of failure of surgery on the lumbar spine: ten-year follow-up. *Mt Sinai J Med*. 1991;58(2):183–187.
- Keskin F, Esen H. Comparison of the Effects of an Adhesion Barrier and Chitin on Experimental Epidural Fibrosis. *Turkish Neurosurgery*, 2010; 20 (4): 457-463.
- LaRocca H, Mancab I: The laminectomy membrane. Studies in its evolution, carachteristics, effects and prophylaxis in dogs. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1974; 56B(3): 545-550.
- Chan CW, Peng P. Failed back surgery syndrome. *Pain Med*. 2011 Apr;12(4):577-606.
- Kanayama M, Oha F, Togawa D, Shigenobu K, Hashimoto T. Is Closed-suction Drainage Necessary for Single-level Lumbar Decompression? Review of 560 Cases. *Clin Orthop Relat Res* (2010) 468:2690–2694.
- Scuderi GJ, Brusovanik GV, Fitzhenry LN, Vaccaro AR. Is wound drainage necessary after lumbar spinal fusion surgery? *Med Sci Monit*, 2005; 11(2): CR64-66.

- Clements RH, Yellumahanthi K, Ballem N, Wesley M, Bland KI. Pharmacologic prophylaxis against venous thromboembolic complications is not mandatory for all laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass procedures. *J Am Coll Surg*. 2009;208(5):917–921.
- Bae CS, Lim SC et al. Effect of Ga-Al-As Laser on the regeneration of injured sciatic nerves in the rat- *In Vivo*. 2004; 18(4): 489-495.
- Bagot CN, Arya R. Virchow and his triad: a question of attribution. *Br J Haematol*. 2008; 143:180-90.
- Karu TI. Low-intensity laser light action upon fibroblasts and lymphocytes. 1991. In: *Progress in Laser Therapy*. T.Ohshiro and R.G.Calderhead (eds). Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore: J.Wiley and Sons,175-180.
- Pinto NC, Baptista, I, Pereira MHC, Chavantes MC. Can red and infrared laser be useful to prevent major complications post cardiovascular surgery? Abstracts in *Lasers Surgery and Medicine*. 29th Annual ASLMS Conference 2009. National Harbor, Maryland.
- Chow R, Johnson MI, Martins RBL, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo or active-treatment controlled trials. *The Lancet*, 2009; Volume 374, Issue 9705, Pages 1897:1908.
- Karu T.I. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochemistry and Photobiology*, 2008; 84, 1091-1099.
- Bolton P, Young-se K, Dyson M. The direct effect of 830 nm light on cell proliferation and on succinic deshydrogenate activity of human fibroblasts in vitro. *Laser Therapy*, 1995; 7: 55-60.
- Rochkind S, Drory V, Alon M et al. Laser phototherapy (780 nm), a new modality in treatment of long-term incomplete peripheral nerve injury: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Photomed Laser Surg*, 2007; 25 (5):436-42.
- Pereira NA, Eduardo CP, Matson E, Marques MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg Med*. 2002;31:263-7.
- Dube A, Bansal H, Gupta PK. Modulation of macrophage structure and function by low level He-Ne laser irradiation. *Photochem Photobiol Sci*. 2003;2:851-55.
- Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RAB. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser*

- Surg. 2006;24(2):158-68.
- Zhevago NA, Samoilova KA. Pro- and anti-inflammatory cytokine content in human peripheral blood alter its transcutaneous (in vivo) and direct (in vitro) irradiation with polychromatic visible and infrared light. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(2):129-39.
- Schroder AK, Ohe M, Kolling U, Alstaedt J, Uciechowski P, Fleischer D, et al. Polymorphonuclear leucocytes selectively produce anti-inflammatory interleukin-1 receptor antagonist and chemokines, but fail to produce pro-inflammatory mediators. *Immunology.* 2006;119:317-27.
- Hrabak A, Bajor T, Csuka I. The effect of various inflammatory agents on the phagocytosis and cytokine profile of mouse and rat macrophages. *Inflamm. Res.* 2008;57:75-83.
- Naoum PC. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2001;23(2):111-9.
- Yamaura M, Yao M, Yaroslavsky I, Cohen R, Smotrich M, Kochevar IE. Low level light effects on inflammatory cytokine production by rheumatoid arthritis synoviocytes. *Lasers Surg Med.* 2009;41:282-90.
- Aimbire F, Albertini R, Pacheco MTT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PSL, Iversen VV. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF- α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(1):33-7.
- Eberle T, Doganci B, Kramer H, Fechir M, Wagner I, Sommer C, et al. Mechanical but not painful electrical stimuli trigger TNF α release in human skin. *Exp Neurol.* 2010;221:246-50.
- Fukuda, TY, Tanji MM, Jesus JF, Sato MN, Duarte AJS, Plapler H. Single session to infrared low level diode laser on TNF- α and IL-6 cytokines release by mononuclear spleen cells in mice: a pilot study. *Lasers Surg Med.* 2010;42:584-8.
- Hernandez ME, Becerril E, Perez M, Leff P, Anton B, Estrada S, et al. Proinflammatory cytokine levels in fibromyalgia patients are independent of body mass index. *BMC Research Notes.* 2010;3:156.
- Honsawek S, Deepaisarnsakul B et al. Relationship of serum IL-6, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, and knee skin temperature after total knee arthroplasty: a prospective study *International Orthopaedics (SICOT)*, 2011; 35:31–35.

Anexo 01. Termo de consentimento livre e informado

Título do trabalho: “Laser de Baixa Intensidade na modulação do processo Inflamatório na Prevenção da Síndrome do Insucesso da Cirurgia Espinhal”

Durante a leitura do documento abaixo fui informado que posso interromper para fazer qualquer pergunta, com objetivo de tirar dúvidas, para o meu melhor esclarecimento.

Eu,..... fui convidado (a) pela Dra Vanessa Milanesi Holanda, médica, CRM-SP 136779, durante meu atendimento no Hospital Real e Benemerita Sociedade Portuguesa de Beneficência de São Paulo, para participar do projeto de pesquisa com o título acima citado, que tem por finalidade determinar o efeito do laser de baixa intensidade (LBI) na cicatrização e na dor; estudar a resposta através da avaliação da ferida operatória por meio de fotos e de exame laboratorial após cirurgia de coluna vertebral, além de que para a ciência, seria uma contribuição, pois poucos trabalhos na literatura versam sobre este tema. A dra Vanessa explicou-me o que é um laser com potência baixa, que não causa aumento de temperatura, nem dor e como este seria utilizado durante e após a minha cirurgia, caso eu esteja no grupo em que o laser será utilizado e que o mesmo não traria risco algum ao meu tratamento e por conseguinte à minha saúde. Ela ainda me explicou que eu posso estar no grupo controle, em que o laser não será aplicado. Além de que declaro para os devidos fins, que:

- 1) Fui informado (a) pelo médico (a), com base nas avaliações e nos exames realizados, sobre as minhas condições de saúde;
- 2) Recebi todas as explicações necessárias quanto aos riscos, benefícios, alternativas de tratamento, bem como fui informado(a) sobre os riscos e/ou benefícios de não ser tomada nenhuma atitude terapêutica diante da natureza da(s) enfermidade(s) diagnosticada(s);
- 3) Estou ciente de que, durante o(s) exame(s) e/ou procedimento(s) para tentar curar, poderão ocorrer situações imprevisíveis ou fortuitas;
- 4) Estou ciente de que em procedimentos médicos cirúrgicos, como o citado, podem ocorrer complicações gerais como sangramento, infecção, problemas cardiovasculares, respiratórios e renais;
- 5) Estou ciente de que para realizar o(s) procedimento(s) acima especificado(s) será necessário o emprego de anestesia, cujos métodos, técnicas e fármacos

anestésicos serão de indicação exclusiva do médico anestesista ou do cirurgião, quando anestesia local, estando também ciente dos riscos, benefícios e alternativas de cada procedimento anestésico;

- 6) Estou ciente de que para participar dessa pesquisa não precisarei ter qualquer tipo de gasto.
- 7) Por livre iniciativa autorizo que o(s) procedimento(s) seja(m) realizado(s) da forma como foi exposto no presente termo, excluindo-se os procedimentos necessários para tentar solucionar as situações imprevisíveis, emergenciais, as quais deverão ser conduzidas e resolvidas de acordo com a particularidade de cada evento;
- 8) Esta autorização é dada ao(a) médico(a) responsável pela cirurgia, bem como ao(s) seu(s) assistente(s) e/ou outros(s) profissional(is) por ele selecionado(s) a intervir no(s) procedimento(s) e de acordo com o seu julgamento profissional, quanto à necessidade de coparticipação;
- 9) Tive a oportunidade de esclarecer todas as minhas dúvidas relativas ao(s) procedimento(s), após ter lido e compreendido todas as informações deste documento, antes de sua assinatura;
- 10) Consinto, portanto, de forma voluntária, ao(s) médico(s) abaixo identificado(s) a realizar(em) o(s) procedimento(s) e permito que ele (s) utilize(m) seu(s) julgamento(s) técnico(s) para que eles escolham os meios apropriados ao seu alcance para obter os melhores resultados possíveis através dos recursos conhecidos na atualidade pela Medicina e disponíveis no local onde se realiza o(s) tratamento(s).
- 11) Permito, que os meus dados, bem como minhas imagens sejam utilizadas, no desenvolvimento do estudo em questão e que a qualquer momento estou livre para sair do projeto.

Fui informado que em casos de urgências ou emergências eu receberei atendimento médico necessário no Hospital Real e Benemerita Sociedade Portuguesa de Beneficência de São Paulo, situado a Rua Maestro Cardim, 769, a qualquer momento que ache necessário; foi explicado a minha pessoa, que caso algum indivíduo se sinta lesado, a possibilidade deste vir a ser ressarcido será analisado por todos os envolvidos no trabalho, inclusive com o próprio; deixamos bem claro que porventura o estudo cause algum mal, ou acarrete danos aos pacientes, a pesquisa será subitamente interrompida.

Após todas as explicações, ela me convidou a participar do estudo e me informou ainda que meu nome, nem outro dado que possa me identificar serão

publicados ou divulgados. Fui informado que eu poderei sair deste estudo, a qualquer momento, caso decida, e que esse trabalho antes de ser iniciado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e que os resultados da pesquisa serão publicados em revista médica SEM constar o meu nome (ou as iniciais do meu nome) ou o meu endereço. Assim, considero-me satisfeito com as explicações deste documento, e também as explicações recebidas inclusive durante a leitura desse documento que foi realizada de forma pausada e clara, quando também tive a oportunidade de fazer perguntas. Qualquer dúvida que me ocorra no transcurso deste estudo, eu poderei contactar a Dra Vanessa Milanesi Holanda pelo telefone (11) 96443-0345, e-mail: vanessamila@gmail.com, e poderei desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, e que mesmo assim eu poderei manter o meu acompanhamento médico se assim o desejar.

São Paulo, ____/____/____

NOME: . _____

Assinatura ⇒ _____

e-mail: _____

Telefone: _____

Nome: Vanessa Milanesi Holanda

Anexo 02. Trabalhos submetidos e premiação

PHOTOMEDICINE
and LASER SURGERY

[Edit Account](#) | [Instructions & Forms](#) | [Log Out](#) | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Vanessa Holanda

Submission
Confirmation



Thank you for submitting your manuscript to *Photomedicine and Laser Surgery*.

Manuscript ID: PHO-2014-3718

Title: LOW LEVEL LASER THERAPY AS A POSSIBLE INTERVENTION

Authors: Pinto, Nathali
Holanda, Vanessa
Tomimura, Suely
Pinto, Fernando
Teixeira, Manoel
Chavantes, Maria Cristina

Date Submitted: 02-Feb-2014

 Print  Return to Dashboard

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Photomedicine and Laser Surgery*.

Manuscript ID: PHO-2014-3717

Title: Role of Diode Laser Polarization

Authors: Holanda, Vanessa
Pereira, Benedito
Silva, Daniela
França, Cristiane
de Oliveira, Jean
de Holanda, Carlos Vanderlei
Pinto, Nathali
Tomimura, Suely
Chavantes, Maria Cristina

Date Submitted: 02-Feb-2014



Print



Return to Dashboard

Dear Vanessa:

Congratulations! You were recently selected to receive an ASLMS travel grant to attend and present at the 2014 Annual Conference of the American Society for Laser Medicine and Surgery. The Annual Conference this year received many fine submissions. You are among that group and we all look forward to hearing your talk.

In addition to a waived Annual Conference registration, you will be reimbursed **up to \$1,000** (U.S. funds) for travel, hotel, and registration fees for courses and/or luncheons.

- Maximum \$75.00 per diem for food expenses.
- Maximum \$258 per night for hotel room expenses which is consistent with the total cost for a single/double room at the Sheraton Phoenix Downtown Hotel.
- Allowable travel expenses include airfare, car rental, gas mileage, toll booths, cab fare, public transportation, and airport shuttle.
- Course and/or luncheon registration fees.

Please register as a student/resident for the Annual Conference at <http://s4.goeshow.com/aslms/annual/2014/>. Your conference registration fee will be waived.

As a travel grant recipient, you are required to submit a scientific paper based on your presentation at the Annual Conference to *Lasers in Surgery and Medicine*, the official Society journal by the next Annual Conference abstract deadline (October 15, 2014). Please note that if your manuscript is not submitted by the deadline indicated, your supervisor will be responsible for reimbursing the ASLMS for the full amount of the grant.

LSM has the largest circulation of any peer-reviewed scientific journal dedicated to biomedical applications of lasers. Since all papers must conform to the LSM editorial format, please follow the instructions carefully.

***Lasers in Surgery and Medicine* Instructions to Contributors:**

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jabout/34073/ForAuthors.html>)