

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO

FERNANDA CORDEIRO DA SILVA

**AVALIAÇÃO SENSORIO-MOTORA E ELETROMIOGRÁFICA DE LESADOS
MEDULARES APÓS TERAPIA COM FOTOBIMODULAÇÃO – ENSAIO
CLINICO, CONTROLADO E CEGO**

São Paulo, SP

2017

FERNANDA CORDEIRO DA SILVA

**AVALIAÇÃO SENSORIO-MOTORA E ELETROMIOGRÁFICA EM LESADOS
MEDULARES APÓS FOTOBIMODULAÇÃO – ENSAIO CLINICO,
CONTROLADO E CEGO**

Tese apresentada à Universidade Nove de
Julho para obtenção do título de Doutor em
Ciências da Reabilitação

Orientador: Prof. Dra. Sandra Kalil Bussadori

São Paulo, SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Fernanda Cordeiro da.

Avaliação sensório-motora e eletromiográfica em lesados medulares após terapia com fotobiomodulação – ensaio clínico, controlado e cego. / Fernanda Cordeiro da Silva. 2017.

133 f.

Tese (doutorado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2017.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Sandra Kalil Bussadori.

1. Lesão Medular. 2. Fototerapia. 3. Fotobiomodulação. 4. Liminares sensoriais. 5. Privação sensorial. 6. Eletromiografia.
- I. Bussadori, Sandra Kalil. II. Título

CDU 615.8

São Paulo, 30 de novembro de 2017.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Fernanda Cordeiro da Silva

Título da Tese: "Avaliação sensório-motora e eletromiográfica após fotobiomodulação em lesados medulares - ensaio clínico, placebo-controlado e cego"

Presidente: PROFª. DRª. SANDRA KALIL BUSSADORI



Membro: PROFª. DRª. DANIELA APARECIDA BIASOTTO GONZALEZ



Membro: PROF. DR. FABIANO POLITTI



Membro: PROFª. DRª. DANIELA DE FÁTIMA TEIXEIRA DA SILVA



Membro: PROFª. DRª. ELAINE MARCILIO SANTOS



DEDICATÓRIA

Dedico este estudo a Deus em primeiro lugar. Ele é a fonte de todo conhecimento, de toda capacitação e de toda ciência. Meu Deus, meu Senhor e meu Salvador!! Aprendi com Deus que sou amada para amar o próximo e esta é a razão central de tudo que fiz e faço em favor dos meus queridos pacientes!!

Ao meu amado esposo Rafael e nosso filhote Gustavo. Vocês foram e são meus maiores incentivadores na vida! Amo cada minutinho que estamos juntos! Meu amor, muito obrigada por teu colo sempre disponível nos momentos que mais precisei e por teu amor em todo tempo! Amo você!

À minha família sempre unida e presente na minha vida! Amo cada um de vocês sem medida!

À minha querida orientadora Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori por tudo nestes anos, pelos incentivos constantes, pelas puxadas de orelha, pelo exemplo de pesquisadora e mulher bem sucedida! Que belo exemplo eu tive!

À Profa. Dra. Daniela de Fátima Teixeira pelo carinho, idéias e eterna paciência com minhas dúvidas estatísticas! Sem você, certamente, eu não conseguiria!

Aos meus queridos e incríveis pacientes! Muito obrigada pela disponibilidade, pelo carinho e incentivo à pesquisa!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha amiga Andréa Oliver pela ajuda constante e risadas mais constantes ainda... Obrigada por tudo Déia!

Agradeço a minha amiga Tamiris da Silva pela ajuda, pelos incentivos, pelas discussões científicas... juntas nós vamos longe amiga querida!!

Agradeço ao meu amigo Paulo Palácio, por estar sempre presente na minha vida, me ajudando e incentivando! Obrigada meu amigo!

As alunas de Iniciação Científica por toda ajuda e interesse científico! É sempre muito bom estar com vocês!

A UNINOVE pela oportunidade de aprendizado desde minha graduação! Muito obrigada pelo apoio a nossa pesquisa!

Serei eternamente grata!

RESUMO

Introdução: A lesão medular é uma condição devastadora com repercussões físicas, emocionais, psicológicas, sociais e financeiras para os indivíduos afetados e suas famílias. Este tipo de lesão impede o desempenho de atividades funcionais devido à interrupção parcial ou total das vias motoras sensoriais e descendentes e ascendentes. A fotobiomodulação é um tratamento não invasivo amplamente utilizado em neurotrauma e doenças neurodegenerativas. No presente estudo, a fotobiomodulação foi administrada na medula espinhal lesada com objetivo de investigar as respostas sensório-motoras e as percepções dos pacientes após o tratamento. **Métodos:** Os 25 voluntários foram alocados aleatoriamente no grupo controle-placebo mais fisioterapia ou grupo fotobiomodulação mais fisioterapia. A fotobiomodulação foi realizada três vezes por semana com um total de 12 sessões. Foi utilizado o comprimento de onda de 810 nm, 5 pontos sendo 25 J por ponto, exatamente sobre a região da medula onde foi lesada, potencia radiante 120 mW, 208 segundos por ponto, exposição radiante 983 J/cm². Todos os indivíduos foram avaliados utilizando a escala ASIA, a entrevista de percepção sensorial e eletromiografia para avaliar a resposta motora antes, imediatamente após e 30 dias após a fotobiomodulação. O grupo controle-placebo foi submetido à fotobiomodulação simulada, ou seja, sem emissão da radiação. Os dados foram analisados estatisticamente, com um $\alpha < 0,05$ considerado indicativo de significância estatística. **Resultados:** Foram relatados 13 tipos de alterações sensório-motoras, com uma diferença significativa entre os grupos em relação aos esboços de contrações. Na análise intragrupo, no grupo fotobiomodulação, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre as avaliações sensoriais pré-intervenção e pós imediata, bem como, entre avaliações sensoriais após intervenção imediata e 30 dias após a fotobiomodulação. Não foram encontradas diferenças significativas no grupo controle em quaisquer uns dos tempos avaliados. Na análise intragrupo, no grupo fotobiomodulação, os valores de frequência mediana do bíceps braquial e do quadríceps femoral foram maiores em repouso e durante a contração isotônica 30 dias após a fotobiomodulação. **Conclusão:** No presente estudo, a fototerapia foi efetiva na promoção de uma resposta motora e sensorial em indivíduos com lesões da medula espinhal, sendo assim, os resultados sugerem que a fotobiomodulação pode ser uma abordagem promissora para o tratamento de alterações sensório-motoras em pacientes com lesões da medula espinhal.

Palavras-chave: Lesão Medular, Fototerapia, Fotobiomodulação, Limiares sensoriais, Privação sensorial, Eletromiografia

ABSTRACT

Background: Spinal injury is a devastating condition with physical, emotional, psychological, social and financial repercussions for affected individuals and their families. This type of injury impedes the performance of functional activities due to the partial or complete interruption of ascending sensory and descending motor pathways. Photobiomodulation is a noninvasive treatment that has been widely used in neurotrauma and neurodegenerative diseases. In the present study, low-level laser therapy was administered in cases of spinal cord injury to investigate the sensory responses and perceptions of patients. The aim of the present study was to investigate the sensory and motor response and perception of the patients with spinal cord injuries submitted to photobiomodulation therapy. **Methods/Design:** The 25 volunteers were randomly allocated in the control group-placebo more physical therapy or group photobiomodulation more physical therapy. Photobiomodulation was performed three times per week for a total of 12 sessions. A wavelength of 810 nm was used, 5 points being 25 J per point, exactly on the region of the cord where it was injured, radiant power, 120 mW, 208 seconds per point and Radiant Exposure 983 J/cm². All individuals were evaluated using the ASIA scale, a sensory perception questionnaire and electromyography to assess the motor response before, immediately after and 30 days after photobiomodulation. The control group-placebo was subjected to photobiomodulation simulated, that is, without emission of radiation. The data were analyzed statistically, with $\alpha < 0.05$ considered indicative of statistical significance. **Results:** Thirteen types of sensorimotor changes were reported, with a significant difference between groups in relation to "trait contractions." In the intragroup analysis of the photobiomodulation group, statistically significant differences were found between the pre-intervention and immediate post-sensory sensory evaluations, as well as between sensory evaluations after immediate intervention and 30 days after photobiomodulation. No significant differences were found in the control group between any of the evaluation times. In the intra-group analysis of the laser group, median frequency values of the brachial biceps and femoral quadriceps muscles were higher at rest and during isotonic contraction 30 days after photobiomodulation. **Conclusion:** In the present study, phototherapy was effective in promoting a motor and sensory response in individuals with spinal cord injuries, so the results suggest that photobiomodulation may be a promising approach for the treatment of sensorimotor changes in patients with lesions of the spinal cord.

Keywords: Spinal Cord Injury, Phototherapy, Photobiomodulation, Sensory Thresholds, Sensory Deprivation, Electromyography

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	X
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
PREFÁCIO.....	XIII
1. CONTEXTUALIZAÇÃO.....	14
1.1. Medula Espinhal.....	14
1.2. Lesão Medular.....	16
1.3. Classificação da Lesão Medular.....	18
1.4. Fisioterapia na Lesão Medular.....	21
1.5. Terapia com Fotobiomodulação.....	22
1.6. Eletromiografia.....	26
1.7. Justificativa.....	27
2. OBJETIVOS.....	28
2.1. Geral.....	28
2.2. Específicos.....	28
3. METODOLOGIA.....	29
3.1. Delineamento do Estudo.....	29
3.2. Casuística.....	29
3.3. Protocolo.....	30
3.4. Avaliações.....	31
3.4.1. Comprometimento Sensorial.....	31
3.4.2. Comprometimento Motor.....	32
3.4.3. Avaliação da Percepção Sensorio- motora.....	33
3.4.4. Avaliação Eletromiográfica.....	34
3.4.5. Fotobiomodulação.....	35
3.5. Protocolo de Fisioterapia.....	39
3.6. Análise estatística.....	39
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Estudo I - Evaluation of sensory-motor response to photobiomodulation for the treatment of spinal injuries: study protocol for a randomized controlled trial.....	41
4.2. Estudo II - Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial.....	43
4.3. Estudo III - Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury.....	51
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
6. REFERENCIAS.....	62
7. ANEXOS.....	70
7.1. Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa.....	70
7.2. Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	73
7.3. Anexo 3 - Avaliação do Comprometimento Sensorio motor (ASIA).....	76
7.4. Anexo 4 – Mapa dos dermatômos.....	77
7.5. Anexo 5 - Entrevista Livre de Percepção Sensorio-motora.....	78
7.6. Anexo 6 - Tabela Revisão dos artigos com fototerapia na lesão medular.....	79
7.7. Anexo 7 - Artigo 1 na íntegra.....	80
7.8. Anexo 8 - Artigo 2 na íntegra.....	104
7.9. Anexo 9 - Artigo 3 na íntegra.....	121

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Classificação de Lesão Medular.....	16
Tabela 2 - Caracterização da amostra.....	26
Tabela 3 - Parametros da fotobiomodulação.....	34
Quadro 1 - Cálculo amostral.....	35
Quadro 2 – Comprovante de submissão do artigo 1.....	37
Quadro 3 – Comprovante de submissão do artigo 2.....	39
Quadro 4 – Comprovante de submissão do artigo 3.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Corte Transversal da Medula Espinal.....	11
Figura 2 - Esquema da medula após lesão.....	13
Figura 3 - Deslocamento de vértebras devido à fratura.....	13
Figura 4 - Protocolo da Eletromiografia.....	31
Figura 5 - Posicionamento dos 5 pontos sobre a coluna cervical.....	32
Figura 6 - Posicionamento dos 5 pontos sobre a coluna torácica.....	33
Figura 7 - Posicionamento da caneta durante irradiação.....	33
Figura 8 – Parâmetros da Fotobiomodulação.....	34
Figura 9 - Fluxograma do estudo.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

SNC – Sistema Nervoso Central

ME – Medula Espinal

NSCISC - National Spinal Cord Injury Statistical Center

ASIA - American Spinal Injury Association

IMSOP - International Medical Society of Paraplegia

LM – Lesão Medular

LASER - Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

nm – nanometro

cm – centímetro

ATP – Adenosina Trifosfato

EMG – Eletromiografia

EMGs – Eletromiografia de superfície

Ddp- Diferença de Potencial

mV – Milivolt

Ag/AgCl – Prata-Cloreto de Prata

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNINOVE – Universidade Nove de Julho

FBM – Fotobiomodulação

SENIAM - Society European Recommendations for Surface Electromyography

CVM – Contração Voluntária Máxima

LLLT – Low Level Laser Therapy

PREFÁCIO

Nesta tese de doutorado foi estudado o uso da fotobiomodulação na reabilitação de lesados medulares associado à fisioterapia.

Iniciou-se, após exaustiva revisão bibliográfica, com uma contextualização sobre lesão medular, desde a anatomia até as mais frequentes injúrias, o público mais acometido e os métodos padronizados de avaliação. Após foi relatado o uso da fotobiomodulação no tratamento de algumas doenças, porém não foram encontrados artigos que avaliaram especificamente a eficácia da fotobiomodulação em indivíduos lesados medulares incompletos associado à fisioterapia, o que caracteriza o caráter pioneiro do nosso estudo.

Os resultados foram demonstrados na forma de três artigos, sendo: *Evaluation of sensory-motor response to photobiomodulation for the treatment of spinal injuries - study protocol for a randomized controlled Trial* (submetido na TRIALS); *Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation - randomized clinical trial* (publicado na Lasers in Medical Science); *Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury* (Submetido na BMC Neurology).

1. Contextualização

1.1. Medula Espinal

O sistema nervoso central (SNC) é formado pela medula espinal, o encéfalo, tronco encefálico e cerebelo, sendo que estes últimos estão localizados no interior do crânio, protegidos por ossos, meninges e líquido cefalorraquidiano ou líquido cerebrospinal. A medula espinal está alojada no interior da coluna vertebral, mas possui o mesmo aparato de proteção das demais estruturas do SNC. A medula não se estende por toda coluna, tem início no canal vertebral no nível do osso occipital, na base do crânio e percorre a coluna até a primeira (L1) ou segunda vértebra lombar (L2)¹.

Macroscopicamente, a medula espinal é uma estrutura tubular de tecido nervoso, com cerca de 43 cm de comprimento e com diâmetro comparável ao dedo polegar. Durante sua extensão existem assimetrias ou dilatações, as chamadas de intumescência. Neste local, encontra-se a maior concentração de tecido nervoso ou de neurônios e a saída dos plexos braquial e lombos sacral que seguem innervando membros superiores, inferiores e alguns órgãos internos, respectivamente. Da medula, emergem 31 pares de nervos espinais, sendo 8 de origem cervical, 12 torácicos, 5 lombares, 5 sacrais e apenas 1 coccígeo^{1,2}.

São constituídos por células nervosas (neurônios) e por longas fibras nervosas chamadas axônios, que são prolongamentos dos neurônios e formam as vias espinais. As vias descendentes conduzem sinais gerados no cérebro, relacionado com o movimento e o controle visceral (sistema nervoso autônomo). As vias ascendentes conduzem sinais relacionados com a sensibilidade, que são gerados na periferia e são levados para o cérebro. Os neurônios estão localizados na parte mais central da medula, na substância cinzenta medular, o qual tem a forma de uma borboleta. Os neurônios localizados nas porções mais posteriores são relacionados com a sensibilidade e os localizados nas porções anteriores, neurônios motores inferiores, estão relacionados com o movimento³.

A medula espinal (ME) é uma estrutura complexa, conforme mostrado em seu corte transversal (figura 1), dividida em quatro porções: cervical,

torácica, lombar e sacral. Os segmentos da medula cervical são oito (C1 a C8) e controlam a sensibilidade e movimento da região cervical e dos membros superiores. Os segmentos torácicos (T1 a T12) controlam o tórax, abdome e parte dos membros superiores. Os segmentos lombares (L1 a L5) estão relacionados com movimentos e sensibilidade dos membros inferiores. Os sacrais (S1 a S5) controlam parte dos membros inferiores, sensibilidade da região genital e funcionamento da bexiga e intestino⁴. Ocupa o nível mais inferior na hierarquia do sistema motor, sendo responsável pelos movimentos reflexos e rítmicos⁵.

Inúmeras atividades subconscientes dependem dos reflexos desencadeados pela ativação dos receptores sensitivos⁶. A transmissão de um impulso nervoso através do axônio do neurônio é acelerada pela mielina, envoltório composto por gordura. A área mais clara, denominada substância branca, é formada por neurônios mielinizados e a área mais escura, a substância cinzenta, é formada pelo corpo celular e dendritos desmielinizados.

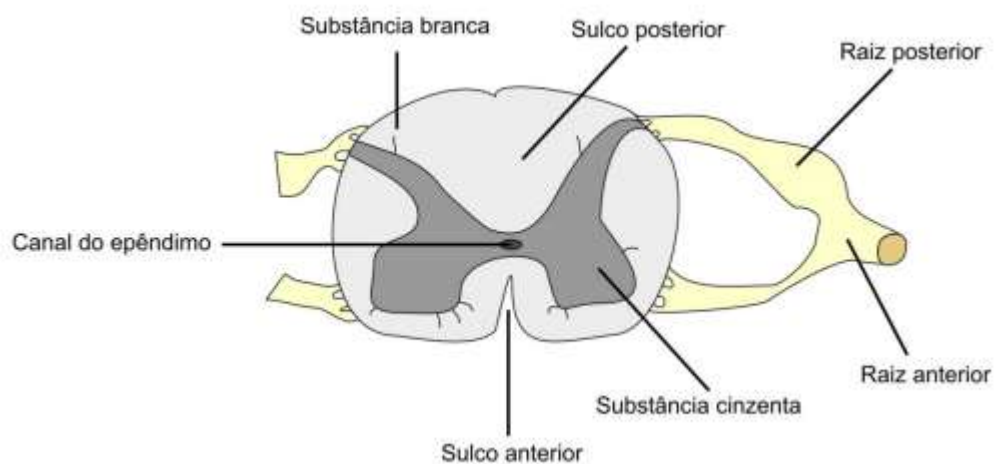


Figura 1. Corte transversal da medula espinal

Fonte - Adaptado de Machado, A.B.M. Neuroanatomia Funiconal. Editora Atheneu. 2ª Edição. 2003

Todos os sinais sensoriais, após entrarem na medula, seguem dois caminhos: primeiro, um ramo do nervo sensorial termina na substância cinzenta da medula, originando reflexos segmentares locais e outros efeitos. Segundo, outro ramo transmite sinais para níveis mais elevados do sistema nervoso central, níveis esses localizados na própria medula, no tronco cerebral ou mesmo no córtex cerebral⁷.

1.2. Lesão Medular

Os Estados Unidos da América possuem sistemáticos programas para notificação de incidência e prevalência de lesão medular (LM). Segundo DeVivo⁸ após uma exaustiva consulta a bancos de dados americanos, como o NSCISC, conclui-se que o país tem o maior número de lesados medulares do mundo. Acontecem aproximadamente 12.000 novos casos por ano, predominando as lesões cervicais incompletas. O relatório anual da National Spinal Cord Injury Statistical Center⁹ aponta que, nos últimos seis anos, os acidentes automobilísticos, seguido por quedas e violência correspondem às principais causas de lesão medular traumática nos países pesquisados. E mais da metade da população acometida corresponde a adultos jovens e profissionalmente ativos durante o período da lesão.

No Brasil, embora dados desta natureza ainda sejam subnotificados e não haja uma estatística precisa da incidência, prevalência e causas de LM, o Ministério da Saúde do Brasil afirma que ocorrem aproximadamente 6 a 8 mil novos casos de lesão medular ao ano e aponta também que mais da metade da população acometida corresponde a adultos jovens e profissionalmente ativos durante o período da lesão¹⁰.

Na ocorrência de uma lesão na ME, ocorre morte dos neurônios da medula e a quebra de comunicação entre os axônios oriundos do cérebro e suas conexões com os neurônios da medula, interrompendo assim, a comunicação com todas as partes do corpo que ficam abaixo da lesão^{5,11}. Após a ocorrência da lesão é formada uma cavidade interna preenchida por uma substância líquida e por diferentes células mortas e estruturas lesionadas, que mais tarde serão processadas pelo organismo (figura 2). Suas bordas são circundadas por cistos, formando uma espécie de cicatriz. Alguns axônios permaneceram intactos, com a camada de mielina totalmente preservada, continuando a conduzir todas as informações. Outros axônios, mesmo sem lesões, não serão capazes de conduzir as informações, pois as camadas de mielina foram destruídas. Os demais foram lesionados, provocando a interrupção das transmissões de comandos e sensações¹².

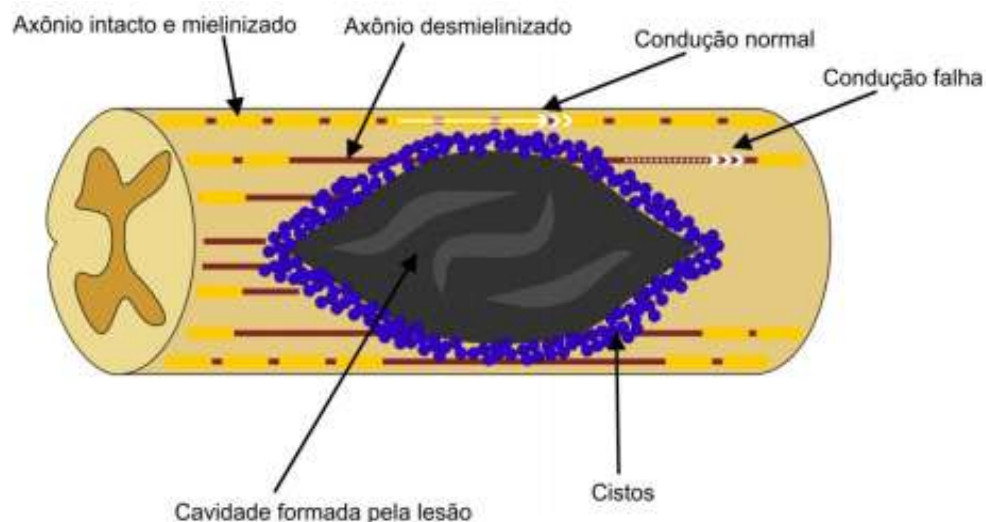


Figura 2. Esquema da medula após lesão
 Fonte - Adaptado de Machado, A.B.M. Neuroanatomia Funiconal. Editora Atheneu. 2º Edição. 2003

A lesão traumática da medula pode variar de uma concussão medular leve até dormência transitória e tetraplegia permanente. Os locais mais comuns dessa lesão são no nível das vértebras cervicais, C5, C6 e C7 e no nível das vértebras torácicas e lombares, T12 e L1¹³ Quando ocorre um trauma na coluna vertebral, ou seja, uma fratura, uma ou mais vértebras podem se deslocar, provocando uma compressão sobre a medula e/ou alguns fragmentos ósseos podem invadir o canal medular, de acordo com a figura 3⁵.

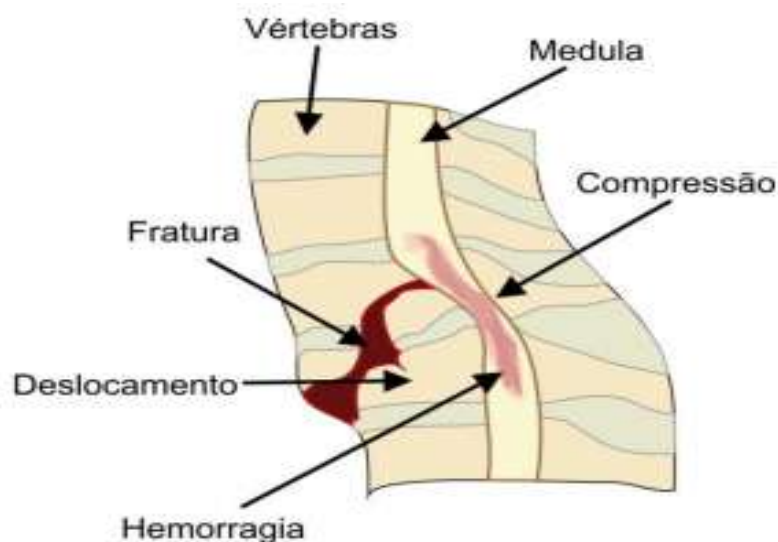


Figura 3. Deslocamento de vértebras devido à fratura

A gravidade do quadro depende do local acometido e do grau de destruição das vias medulares aferentes e eferentes; quanto mais alto o nível e maior a extensão da lesão, menor será a massa muscular disponível para a atividade física e, portanto, menores serão a aptidão física e a independência funcional¹⁴

1.3. Classificação da Lesão Medular

Até meados da década de 80 não havia uma padronização na avaliação e classificação de lesão medular. Mesmo com a existência de algumas escalas, nenhuma delas atendia plenamente a complexidade da avaliação da lesão medular. Com isso, o diálogo entre os profissionais, o acompanhamento longitudinal de indivíduos e a reprodutibilidade de dados não poderiam ser facilmente compreendidos. A partir disso, pesquisadores da American Spinal Injury Association (ASIA) e International Medical Society of Paraplegia (IMSOP) instituíram uma nova escala de avaliação, cujo nome estabelecido foi Standard Neurological Classification of Spinal Cord Injury ou simplesmente ASIA^{14,15}.

Desde sua concepção, a ASIA passou por algumas alterações, tornando-se o paradigma e mais completa alternativa de avaliação do prognóstico funcional da lesão medular, após aglutinar em uma mesma ferramenta escores motor e sensitivo. As funções sensitivas são avaliadas a partir do exame neurológico, que observa a sensibilidade superficial, por um objeto pontiagudo, como uma agulha e por um pequeno pedaço de algodão. Nesta fase, determina-se o nível sensitivo, representado pela altura mais caudal da medula espinhal com sensibilidade preservada em ambos os lados do corpo¹⁶.

A avaliação sensorial acontece em uma região padrão para cada um dos 31 pares de dermatômos¹⁷, que para Machado¹⁶ são territórios cutâneos inervados por fibras de uma única raiz dorsal, recebendo o mesmo nome da raiz que o inerva. O mapa da distribuição dos dermatômos pode ser consultado na íntegra no anexo 4. As possibilidades de classificação da sensibilidade são: 2 - normal 1 – hipoestesia e 0 – ausente. Portanto, na função sensitiva integralmente normal o índice sensitivo total na ASIA pode atingir 112 pontos¹⁸.

Enquanto na avaliação motora 10 pares de músculos chave são utilizados para teste. Durante o procedimento, um examinador solicita que o indivíduo realize a contração muscular e assim movimente o membro examinado. Após isso, a contração realizada receberá uma pontuação, cuja graduação segue os requisitos da *Medical Research Council Scale of Muscle Strength*, que varia de 0 a 5 na escala de força e cada número representa um desempenho na contração: 0 - ausência de movimento (paralisia), 1- não realizada movimento contra gravidade, 2 – realiza movimento em toda amplitude, com gravidade eliminada, 3 – realiza movimento contra gravidade, 4 – realiza movimento contra alguma resistência, 5 – realiza movimento contra resistência total.¹⁸ Na função motora normal, o índice motor atingirá até 100 pontos, pois os 10 pares de músculos são avaliados bilateralmente na ASIA. Nesta fase do exame, a unidade funcional investigada são os miótomos, representados pelo conjunto de fibras musculares inervadas por axônios motores de cada segmento medular. Com isso, se estabelece o nível motor, o segmento medular mais inferior em que músculos-chave apresentam grau força igual a 5 e músculos-chave dos segmentos superiores normais¹⁸. Com a avaliação dos escores motor e sensitivo, o indivíduo com lesão medular poderá ser classificado em cinco categorias: A, B, C, D, E, sendo que cada uma destas implica em diferentes condições clínica e funcional. Na classificação “A”, os indivíduos apresentam ausência das funções motora e sensitiva, além de um sinal restrito a esta classificação, a ausência de reflexo no segmento sacral S4 - S5. A evidência deste último é obtida pelo reflexo bulbo cavernoso, através da pressão na glândula do pênis e respectiva ausência de contração anal, confirmando uma lesão medular completa¹⁸. As demais classes da ASIA contemplam tipos de lesões incompletas (B, C, D) e o estado normal (E) (tabela 1). Portanto, em “B” existe função sensitiva presente, preservação da do segmento sacral S4-S5, mas ausência função motora. Em “C” ambas as funções, motora e sensitiva estão presentes, mas os músculos avaliados abaixo da zona de lesão não realizam movimento contra a gravidade, ou seja, apresenta grau de força inferior ao escore 3. Enquanto em “D” além de preservação das funções motora e sensitiva, os músculos-chaves são capazes de realizar movimento contra gravidade e até mesmo contra resistência, por fim

o escore “E” corresponde ao indivíduo que não apresenta alteração sensitiva e motora de acordo com os itens da ASIA¹⁸.

A LM pode ocorrer em diversas alturas e formas, por diversas causas. Conforme a altura na medula e gravidade da lesão será maior ou menor o comprometimento dos movimentos, sensibilidade, controles de esfínteres, funcionamento dos órgãos, circulação sanguínea e controle de temperatura, pois além da lesão na medula, pode ocorrer também uma lesão ou alterações no sistema nervoso autônomo⁵.

De acordo com o nível da lesão e da perda de funções, utiliza-se a seguinte classificação funcional: paraplegia e tetraplegia. A paraplegia refere-se à deficiência ou perda da função motora e/ou sensorial nos segmentos torácico, lombar ou sacral da medula espinhal, decorrente de lesão dos elementos neurais internos do canal medular. A função dos membros superiores é preservada, mas o tronco, os membros inferiores e os órgãos pélvicos podem ficar comprometidos¹⁹.

A tetraplegia é o termo usado para lesão da medula espinhal que causa perda ou disfunção sensitiva e/ou motora nos segmentos cervicais. Ela promove diminuição da função motora e sensitiva dos membros superiores, membros inferiores e órgãos pélvicos²⁰.

Por meio de exame sistematizado dos dermatômos e miótômos, pode-se determinar o segmento medular afetado pela LM. Este exame fornece vários indicadores do dano neurológico, por exemplo, nível neurológico, nível sensitivo e nível motor (nos lados direito e esquerdo, índice sensitivo (dor e tato fino), índice motor e zona de preservação parcial⁴.

Tabela 1: Classificação de Lesão Medular Espinhal de acordo com *American Spinal Injury Association*

Classificação	ASIA			
	Função Sensitiva	Função Motora	Segmento Sacral (S4 – S5)	Grau de força
A – Completa	-	-	-	-
B – Incompleta	+/-	-	+	-
C – Incompleta	+/-	+	+	<3
D – Incompleta	+/-	+	+	>3
E – Normal	+	+	+	=5

Legenda: (-) Função ausente; (+) Função presente; (+/-) Função ausente ou presente.

Estes déficits advindos de uma LM são devido a dois eventos distintos: a lesão primária ou inicial que ocorre pelo trauma que comprime os elementos neurais, gerando morte celular independente dos mecanismos celulares; e a lesão secundária ou isquêmica que é provocada por alterações bioquímicas e uma cascata de eventos que envolvem processo inflamatório, citotóxico, degeneração do tecido neural e por fim a necrose tecidual resultando em lesões adicionais ao trauma²¹⁻²³.

Infelizmente, os neurônios lesionados no sistema nervoso central não conseguem se regenerar após LM, por isso a regeneração medular continua sendo um desafio para a neurociência e a neurologia²⁴.

Algum tempo após o choque medular, período em que não há nenhum tipo de reflexo ou movimento involuntário, alguns impulsos começam a surgir, provenientes de regiões medulares situadas abaixo da lesão, porém não danificadas. Como consequência, anomalias de movimento tendem a surgir e, de certa forma, tornam a vida funcional do indivíduo com lesão medular mais dificultosa. A espasticidade é uma destas anomalias.

1.4. Fisioterapia na lesão medular

Um dos desafios para os fisioterapeutas que trabalham com LM não é apenas a falta de evidência direta de alta qualidade, mas também a extensa escopo de prática. A fisioterapia durante a fase de reabilitação de lesados medulares se concentra em metas relacionadas a tarefas motoras, como andar, tocar cadeira de rodas e transferências usando os membros superiores.²⁵ A definição de metas para a reabilitação de uma pessoa com LM está repleta de dificuldades, no entanto, os resultados indicaram que a capacidade de marcha em um ano é melhor prevista a partir de cinco variáveis coletadas dentro de 15 dias após a lesão: idade, força do quadríceps, força gastrocnêmica, leve sensação de toque em L3 e em S1).²⁶ Consequentemente, fisioterapeutas que tratam pessoas com LM precisam ter habilidades clínicas diversas.²⁷

Uma revisão sistemática evidenciou que normalmente a fisioterapia em lesados medulares se baseia em diminuir dor e complicações respiratórias,

estimulação elétrica, formular programas de treinamento físico, encorajar pessoas com LM a adotar estilos de vida saudáveis, ensinar esportes adaptados, prescrever órteses, talas e auxiliares, prescrever cadeiras de rodas, aconselhar sobre estratégias para prevenir a dor no ombro e úlceras por pressão, além, de administrar intervenções eletroterapeúticas.²⁷

A maioria desses ensaios foram realizados nos últimos anos e focados em intervenções como treino de marcha com suspensão aérea, treino de marcha robótica, estimulação elétrica e outras intervenções de alta tecnologia e potencialmente onerosas. No entanto, a maioria dos fisioterapeutas ainda dedicam a maior parte do tempo para administrar intervenções simples comumente usadas para tratar deficiências como fraqueza, mobilidade articular limitada, restrição, condicionamento, dor e comprometimento respiratório, com o tempo também sendo dedicado a ensinar as pessoas a caminhar, mover-se sobre a cama, mobilizar em uma cadeira de rodas e usar seus membros superiores.²⁸

O outro desafio para os fisioterapeutas que trabalham nesta área é manter uma mente aberta sobre novas intervenções como terapia com células-tronco e robótica. No entanto, novas intervenções não devem ser utilizadas com base em evidências de baixa qualidade, porque eles podem desperdiçar tempo, dinheiro, recursos e esforços dos pacientes, além de oferecerem aos pacientes uma expectativa de recuperação irreal.²⁹

Esta situação indica uma desconexão entre pesquisadores, prioridades e os tratamentos realizados nas clínicas de reabilitação. É importante frisar que não significa que os fisioterapeutas não estejam oferecendo reabilitação de alta qualidade aos seus pacientes, mas sim que os pesquisadores não estão testando tratamentos administrados nas clínicas.

1.5. Terapia com Fotobiomodulação

A fotobiomodulação (FBM) é um tratamento eficaz para feridas cutâneas e regeneração do nervo periférico³⁰⁻³³. Esta modulação na recuperação é atribuída a um mecanismo de absorção de luz³⁴ ao invés de através da produção de calor^{33, 35,36}. A FBM pode ser uma ferramenta útil e eficaz quando

utilizada para potencializar a reabilitação. Após a LM, a combinação com o transplante resultou em um aumento no brotamento axonal, diminuição da formação de cicatrizes e aumento do peso, e melhora na passada de cães e ratos em comparação ao transplante sozinho. Esses estudos indicam que FBM pode ter uma série de efeitos terapêuticos na LM, potencialmente diminuindo a resposta inflamatória no local da lesão da medula espinhal³⁷⁻³⁹.

Uma séria complicação após a LM é a lesão secundária devido a invasão / ativação de células imunes⁴⁰. Uma variedade de tipos de células invadem ou são ativadas dentro das primeiras horas até dias após a LM, incluindo neutrófilos, macrófagos, microglia, astrocitos e linfócitos T e B⁴¹⁻⁵⁰. Essas células são principalmente ativadas ou atraídas para a área da lesão por citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, expressadas nas primeiras horas após lesão⁵¹.

Evidências recentes sugerem que a alteração da invasão / ativação destas células após a LM melhora a recuperação funcional. A pesquisa demonstrou que o esgotamento de macrófagos melhorou a locomoção, poupou a substância branca, preservou os axônios mielinizados, influenciou a brotação axonal e reduziu a cavitação⁵².

No entanto, até essa data, nenhum estudo avaliou o rebrotamento axonal ou a recuperação de funções locomotoras específicas na medula espinal após lesão aguda e FBM em humanos. Na literatura foi encontrado o estudo de Byrnes et al.⁵³, que investigaram os efeitos da fotobiomodulação dentro do sistema nervoso lesionado de ratos. Evidenciaram que a luz aplicada transcutaneamente no local da LM foi capaz de penetrar no nível da medula espinhal, melhorar significativamente a regeneração axonal e restaurar funções locomotoras específicas ao mesmo tempo em que alterou o sistema imunológico.

Hashmi et al.⁵⁴, estudaram o efeito da FBM na neuroreabilitação em diversas patologias neurológicas como Acidente Vascular Cerebral, Traumatismo Craniano, Doenças degenerativas do SNC, lesão medular e patologias nervosas periféricas. Segundo os autores a FBM ainda mantém-se controversa devido à grande variedade dos parâmetros utilizados.

Rochkind et al.⁵⁵, observaram que a irradiação no nervo periférico lesionado e no seu respectivo segmento espinhal promoveram regeneração do nervo periférico.

Wu et al.⁵⁶, observaram em dois tipos de lesão medular em ratos (contusão e hemiseção dorsal), que a FBM foi capaz de promover brotamento axonal e melhora funcional quando comparado ao grupo controle.

Para que se obtenha a resposta biológica adequada é necessário atingir os parâmetros ideais de radiação, com o comprimento de onda correto e o número de aplicações suficientes para se produzir o efeito desejado. Portanto, no mínimo, os seguintes parâmetros devem ser observados: escolha do comprimento de onda, exposição radiante (dose ou fluência), irradiância, tipo de regime de operação do Laser e número de tratamento⁵⁷.

A terapia com fotobiomodulação tem se mostrado uma possível alternativa para o reparo da lesão em sistema nervoso central²², neovascularização e regeneração de nervos periféricos⁵⁸.

Interação luz-tecido

Os efeitos da interação da luz com os tecidos são os mesmos existentes com outros tipos de radiações eletromagnéticas, tais como reflexão, refração, transmissão, dispersão e absorção. As diferenças dependem das características do tecido em questão, do ângulo de aplicação da radiação (ângulo de incidência) e do comprimento de onda^{59,60}.

Para se ter uma absorção máxima da radiação é necessária que a aplicação seja realizada em contato direto com o tecido, a um ângulo de 90° (ângulo reto). Dessa forma, teremos uma redução significativa da reflexão e da dispersão, tornando o tratamento mais eficaz, já que cerca de 5% a 7% da radiação incidente é refletida pela pele em casos de aplicações feitas em outros ângulos que não o reto⁶⁰.

Uma vez que a radiação penetra nos substratos subsequentes (93% a 97%), ela se dispersa através da reflexão interna, refração e divergência, sendo suas proporções dependentes do comprimento de onda e das

características do tecido. Desta forma, diz-se que o grau relativo de absorção e dispersão só depende do tipo de tecido através do qual a luz está passando, já que o laser, ao penetrar, perde rapidamente a sua coerência devido ao alargamento dos feixes, provocado pela grande variabilidade de índices de refração existentes nos componentes do tecido em questão⁶⁰.

Outro fator que interfere na penetração e absorção dos feixes incidentes pelos substratos é a especificidade das biomoléculas absorvedoras, as quais diferem uma das outras quanto ao seu espectro de absorção (comprimento de onda capaz de absorver)⁶¹.

Ao se ter a absorção da luz com um determinado comprimento de onda pelas moléculas fotorreceptoras, estas adotam um estado excitado eletronicamente nos processos moleculares primários, desencadeando efeitos biológicos específicos em determinadas circunstâncias⁶¹.

Acredita-se que para se ter uma penetração tecidual ótima nos limites do infravermelho, esta tem que ocorrer entre os comprimentos de onda de 700 nm a 1200 nm, pois segundo Karu⁶¹, comprimentos de onda entre 810 nm a 840 nm tem uma fraca absorção pelos cromóforos superficiais da pele, permitindo, assim, uma máxima penetração da luz. Alguns comprimentos de onda podem atingir uma profundidade maior caso haja um estímulo de respostas celulares capazes de desencadear reações em níveis teciduais mais profundos, aumentando desta forma a ação fotoquímica do laser. Com isso, pode-se atingir estruturas com até 5 cm de profundidade, possibilitando também a ocorrência de efeitos sistêmicos⁶².

De acordo com Sandoval-Ortiz et al.⁶², a energia eletromagnética estimula os cromóforos os quais respondem a uma faixa de luz específica, determinando, assim, uma conversão de energia fotoquímica. Vale dizer que para participar do processo de fotobiomodulação o cromóforo necessita ser um dos componentes da cadeia respiratória mitocondrial, fazendo desta forma, parte de uma estrutura chave que controla a homeostase celular. As respostas possíveis de serem desencadeadas pela fotobiomodulação podem ser divididas em 2 grupos: efeitos a curto prazo ou diretos, onde os efeitos podem

ser observados poucos segundos ou minutos após a aplicação da radiação, e efeitos a longo prazo ou indiretos, que podem ser observados horas ou dias após o fim da radiação.⁶³ Dentre os efeitos a curto prazo podemos destacar: Liberação de substâncias pré-formadas, aumento da proliferação celular, presença de mitocôndrias gigantes e aumento do ATP mitocondrial. Em longo prazo os efeitos são antiinflamatório, analgésico e cicatrizante.

1.6. Eletromiografia

A eletromiografia (EMG) consiste no registro e estudo dos fenômenos bioelétricos que acontecem na membrana da fibra muscular, estes podem acontecer durante o repouso, na atividade muscular submáxima ou na contração máxima⁶⁴. A investigação eletromiográfica não se trata de algo simples, pois envolve a interface entre o sistema nervoso e musculoesquelético, composta por um motoneurônio motor que emerge da coluna anterior da medula espinhal e faz sinapse com fibra muscular, a junção neuromuscular⁶⁵. A EMG extrai dados elétricos no processo de despolarização da placa motora membrana, ou seja, o potencial de ação de todas as fibras que compõem a unidade motora, que geralmente são medidos em milivolt (mV). Desta forma, a diferença de potencial (ddp) obtida na membrana da célula muscular tem duração variável de 2 a 10 ms, com amplitude de tensão entre 100µV a 2mV. Apesar destes dados não representarem o potencial de ação da fibra muscular, fornecem informações clinicamente esclarecedoras acerca da condição fisiológica do músculo e são amplamente utilizados na investigação de diversas disfunções neuromusculares e contemplam diversas áreas do conhecimento, tais como: ciências desportivas, engenharia, fisioterapia, medicina, neurologia e psicologia^{66,67}.

A EMG pode ser obtida através de duas formas básicas: direta (invasiva) ou superficial. A primeira utiliza agulhas inseridas diretamente no músculo para obter a ddp de uma unidade motora isolada. Dado comumente utilizado no diagnóstico clínico de doenças neuromusculares. De outra forma, a eletromiografia de superfície (EMGs) captura os potenciais de ação por meio de eletrodos acoplados por gel condutor, dispostos na superfície da pele e no sentido da fibra muscular. Nesta forma, o sinal obtido representa o somatório

dos potenciais de ação da área envolvida pelos eletrodos, estes geralmente, de prata-cloreto de prata (Ag/AgCl), permitem capturar o potencial de ação do sarcolema de forma não invasiva, indolor e de baixo custo, embora mais vulnerável a interferência de alguns fatores externos geradores de ruídos^{68,69}.

Segundo Carvalho⁶⁹ a EMGs apresenta menor precisão diagnóstica quando comparado ao EMG de agulha, isso em virtude do procedimento superficial não ter contato direto com o músculo. Mas, o EMGs pode ser utilizado em grandes grupos musculares para avaliar parâmetros de fadiga muscular, velocidade de condução, além de analisar reflexo de Hoffmann (reflexo H) e resposta motora direta (resposta M), tais fatores impulsionam a crescente adesão à técnica não invasiva.

É uma ferramenta importante de análise clínica, fornecendo informações relevantes sobre o *timing* de ativação da musculatura envolvida no movimento, a intensidade de sua ativação, a duração de sua atividade, variabilidade ciclo a ciclo⁷⁰, a ocorrência de fadiga, a alteração da composição das unidades motoras resultante de programas de treinamento muscular, assim como as estratégias neurais de recrutamento^{71-75,54}.

1.7. Justificativa

A fotobiomodulação consiste em uma abordagem promissora no tratamento da Lesão Medular incompleta, porém a literatura se mostrou escassa de estudos sobre o assunto, principalmente, ensaios clínicos controlados. Segundo Hashmi et al.⁵⁴, a LM é um trauma severo do sistema nervoso ainda sem terapias restauradoras eficazes, no entanto, a fotobiomodulação apresenta efeitos biomoduladores no tecido do sistema nervoso central e periférico. Foi encontrado um estudo de Byrnes et al.⁵⁴ que evidenciaram em dois modelos experimentais de lesão medular que a fotobiomodulação produziu brotamento axonal e melhora funcional. Segundo Wu et al.⁵⁶, a fotobiomodulação apresentou melhora significativa no rebrotamento axonal. No entanto, foram estudos baseados em modelos animais. Nosso estudo justifica-se exatamente devido a escassez em estudos associando fisioterapia e terapia com fotobiomodulação na medula para investigar a melhora funcional destes indivíduos.

2. Objetivos

2.1. Geral

Avaliar o efeito da terapia com fotobiomodulação na resposta sensório-motora de indivíduos com Lesão Medular.

2.2. Específicos

- **Protocolo**

Estudo I - Evaluation of sensory-motor response to photobiomodulation for the treatment of spinal injuries: study protocol for a randomized controlled trial (Submetido na TRIALS - A1)

- **Avaliar a atividade eletromiográfica após fotobiomodulação;**

Estudo II - Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial. (Submetido na LASERS IN MEDICAL SCIENCE - A1)

- **Avaliar a sensibilidade e percepção sensorial após fotobiomodulação;**

Estudo III - Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury. (Submetido na BMC Neurology - B1)

3. Metodologia

3.1 - Delineamentos do estudo

Este estudo é um ensaio clínico, controlado e aleatorizado que foi desenvolvido nas Clínicas de Fisioterapia da Universidade Nove de Julho (UNINOVE), nos períodos entre fevereiro/2015 a outubro/2017.

Seguiu as normas regulamentadoras de pesquisa em seres humanos com submissão e aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Nove de Julho sob o protocolo CAAE: 56952716.2.0000.5511 (Anexo 1). Os participantes ou responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para autorização da participação na pesquisa (Anexo 2). O protocolo deste estudo foi registrado na Clinical Trials em 05 de outubro de 2016 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT 03031223).

3.2. Casuística

Foram recrutados 33 indivíduos nas clínicas de fisioterapia da UNINOVE, segundo os critérios de inclusão e exclusão relacionados abaixo.

Critérios de Inclusão

- Lesados Medulares Incompletos (ASIA B, C e D)
- Tetraplégicos e Paraplégicos
- Nível de lesão de C3 a L5

Critérios de exclusão

- Lesados Medulares Completos
- Comprometimento cognitivo em decorrência de patologias encefálicas prévias

Processo de randomização

Os indivíduos foram alocados nos diferentes grupos com base em números gerados aleatoriamente por um site de randomização (randomization.com). A alocação se deu através do uso de envelopes opacos selados. Cada envelope foi numerado e continha o nome de um participante. Os envelopes foram selecionados aleatoriamente usando o site de

randomização, com a formação do grupo controle-placebo primeiramente (fototerapia simulada), seguidos pelo grupo fotobiomodulação. Os indivíduos foram recrutados nas Clínicas de Fisioterapia da Universidade Nove de Julho segundo amostra de conveniência.

3.3. Protocolo

Os indivíduos recrutados para este estudo foram randomizados e divididos em dois grupos sendo Grupo Controle-Placebo mais fisioterapia (n=12) e Grupo Fotobiomodulação mais fisioterapia (n=13). Os indivíduos foram avaliados por meio da avaliação padronizada da *American Spinal Injury Association* (ASIA)¹⁴, Questionário Livre de Percepção Sensorial e Eletromiografia que foi coletada nos músculos bíceps braquial e quadríceps. Estas avaliações foram realizadas pré, imediatamente após e 30 dias após terapia com fotobiomodulação, segundo tabela abaixo (tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização da Amostra

GRUPOS			
CONTROLE-PLACEBO (n=12)		FOTOBIMODULAÇÃO (n=13)	
VARIÁVEIS	n	VARIÁVEIS	n
Tetraplégicos	6	Tetraplégicos	3
Paraplégicos	6	Paraplégicos	10
Homens	10	Homens	12
Mulheres	2	Mulheres	1
Idade	38,4 ± 9,1	Idade	36,3 ± 15,1
Tempo de Lesão	30,0 ± 20,0	Tempo de Lesão	41,0 ± 43,5
Nível de Lesão	C4 C5 (2) T5 (4) T6 T9 T10 T12 L2	Nível de Lesão	C3 (2) C6 T4 T5 T8 T9 (2) T10 (2) T12 L1 L2

3.4. Avaliações

3.4.1. Comprometimento Sensorial (ASIA)¹⁴ - (Anexo 3)

A avaliação sensitiva foi realizada avaliando dor e tato leve. A dor foi avaliada estimulando-se com alfinete delicado e o tato avaliado com toque leve com uma bola de algodão. Para a dor (alfinetada), o resultado foi classificado como: 2 - normal, 1 – prejudicada (não há diferença entre a picada vigorosa e leve) mas existe a sensibilidade dolorosa; 0 – sem sensibilidade. Para o tato leve, o resultado foi classificado como: 2 – A sensibilidade no corpo e na face é igual; 1- Há sensibilidade, mas, é menor que o tato na face; 0-sem sensibilidade.

Os seguintes dermatômos (e suas referências) foram avaliados:

- C2 - Occipital por trás da orelha
- C3 – Fossa supraclavicular
- C4- Articulação acrômioclavicular
- C5 – Borda lateral da fossa antecubital
- C6 - Superfície dorsal da falange proximal do polegar
- C7 - Superfície dorsal da falange proximal do dedo médio
- C8 - Superfície dorsal da falange proximal do dedo mínimo
- T1- Borda medial da fossa antecubital
- T2- Ápice da axila
- T4- Linha médio clavicular, 4º espaço intercostal, linha mamilar
- T6 - Xifóide
- T10 - Umbigo
- T12 - Linha média do ligamento inguinal
- L1- Ponto médio entre T12 e L2.
- L2 - Face medial da coxa, no meio de uma linha imaginária entre o ponto médio do ligamento inguinal e o Côndilo medial do Fêmur.
- L3 – Côndilo femoral medial, acima do Joelho.
- L4- Maléolo medial
- L5 - Dorso do pé na terceira articulação MTP
- S1 - Borda lateral do calcanhar
- S2 - Fossa poplítea
- S3 - tuberosidade isquiática

- S4,5 - região perianal

3.4.2. Comprometimento Motor (ASIA)¹⁴ – (Anexo 3)

A avaliação motora foi realizada graduando a força do músculo em 0 a 5 (de acordo com o Medical Research Council Scale for Muscle Strength), 0 – paralisia, 1 – movimentos presentes e sem vencer a gravidade, 2 – Movimento em toda a amplitude com a gravidade eliminada, 3 – série completa contra a gravidade, 4 - contra alguma resistência e 5 - contra a resistência total. Se um músculo não puder ser testado define-se como NT (Non tested).

Os músculos chaves foram escolhidos porque são innervados por 2 miótomos. Por convenção, se o músculo tem pelo menos grau 3, o músculo acima é considerado normal.

Os miótomos foram avaliados conforme definidos pela ASIA, de acordo com as instruções abaixo:

- C5 (bíceps) - repouse a mão do paciente sobre o abdômen e peça para mover a mão para o nariz, para eliminar a gravidade. A seguir solicitar ao paciente para flexionar contra a gravidade e manter o movimento. Caso o paciente consiga realizar o movimento, apóie o ombro e aplique resistência.

- C6 (extensor do punho) - pedir ao paciente mover o punho para cima. A seguir paciente peça para mover o punho para cima e manter. Após, empurre o punho para baixo.

- C7 (tríceps) - repouse a mão do paciente sobre o abdômen e peça para esticar o braço, agora peça ao paciente para dobrar o braço e segurar a mão perto da orelha; Se houver movimentação normal, apóie o cotovelo e empurre o braço para baixo, testando contra resistência (não deixe paciente usar ação escapular).

- C8 - separe o dedo do meio, imobilize a articulação interfalangeana proximal e segure a articulação metacarpofalangeana. Peça ao paciente para dobrar o dedo para os lados.

Agora peça para dobrar para cima e segurá-lo. Agora tentar endireitar o dedo e diga ao paciente para resistir a sua ação de resistência.

- T1 (abdutor do dedo mínimo) – Segurar a mão do paciente e pedir que ele tente mover o dedo mínimo para fora. Sinta a presença de movimentação.

Agora peça ao paciente para tentar mover o dedo para fora e manter lá. A seguir teste a resistência contra a resistência, opondo-se á o movimento do V dedo.

- L2 (iliopsoas) – Com o paciente em decúbito dorsal, dobre a coxa do paciente para a barriga. Peça ao paciente para refazer o movimento e sinta a movimentação. Levante a coxa da cama para evitar a fricção e em posição neutra peça ao paciente para dobrar as coxas até 90 graus e segurar lá. Se possível, estabilize a outra coxa e pressione o lado a ser testado para avaliar a força contra resistência.

- L3 (quadríceps) – levante a perna da cama para evitar atrito e em peça ao paciente para estender o joelho e segurar lá. Agora tente empurrar o joelho para baixo, e avalie a movimentação contra resistência.

- L4 (dorsiflexores do tornozelo) - pedir ao paciente para pôr o pé em direção ao joelho. Pedir ao paciente para repetir o movimento e segurar o pé na posição. Agora empurre para baixo o tornozelo para avaliação do movimento contra resistência.

- L5 (extensor longo do Hálux) - Peça para o paciente trazer Hálux em direção ao joelho. Agora peça que o segure lá, e, em seguida empurre para baixo o dedo do pé, apoiando o tornozelo e testando contra resistência.

- S1 (flexores plantares) - pedir ao paciente para pressionar o pé em direção ao chão, como acelerador. Agora fletir a coxa para o abdome e fletir a perna sobre a coxa para descansar o pé sobre a cama. Pedir ao paciente para levantar o calcanhar para fora da cama. Por último pedir ao paciente para pressionar para baixo em sua mão como um acelerador.

3.4.3. Avaliação Percepção Sensório-motora (Entrevista Livre de Percepção Sensorial) – (Anexo 5)

Foi entregue ao indivíduo um questionário onde ele pudesse relatar toda e qualquer alteração sensorial, e até mesmo motora, que ele houvesse observado antes, após as 12 sessões da intervenção e após 30 dias da fotobiomodulação.

3.4.4. Avaliação Eletromiográfica

O sinal EMG foi obtido por um sistema de aquisição com 4 canais (EMG 432 C) da EMG System do Brasil Ltda., composto por um módulo condicionador de sinais, eletrodos ativos bipolar, filtro analógico passa banda de 20 a 500 Hz e modo comum de rejeição de 120 dB. A frequência de amostragem de aquisição do sinal foi de 2 kHz, digitalizados por placa de conversão A/D (analógico-digital) com 16 bits de resolução e o programa de aquisição foi o EMGLab (EMG System do Brasil Ltda.). Os eletrodos utilizados foram os bipolares ativos, com pré-amplificação de 20 x.

Para a captação do sinal EMG dos músculos, foram utilizados eletrodos de superfície descartáveis auto-adesivos e do tipo Ag/AgCl (Noraxon), com diâmetro de 10 mm, fixados no ventre muscular do músculo bíceps braquial (no caso de tetraplégicos) e quadríceps (no caso de paraplégicos) direitos. Os eletrodos foram fixados após limpeza com álcool 70%, para diminuir a impedância entre a pele e os eletrodos. À distância inter-eletrodos foi de 20 mm entre os centros, como sugerido pela SENIAM (*Society European Recommendations for Surface Electromyography*)⁷⁶. Como referência, foi utilizado um eletrodo no punho esquerdo dos voluntários para impedir o efeito de interferência de ruídos externos.

A atividade EMG dos músculos foi verificada em três condições: i) repouso; ii) isometria e iii) isotonia. (figura 5). Para a coleta dos dados, os indivíduos que não conseguiram vencer a gravidade para realização da contração do bíceps ou quadríceps, foram posicionados em decúbito lateral a fim de anular a resistência da gravidade. Devido ao grande esforço em se obter alguma contração muscular, foram avaliados somente o bíceps ou quadríceps direitos, pois o esforço motor para a contração afetaria a contração do outro membro.

A primeira condição a ser coletada foi em repouso, posteriormente em isometria e, por fim, foram realizadas as coletas em isotonia. Todas as coletas foram extraídas com corte de 1 segundo antes e 1 segundo depois do centro do sinal eletromiográfico.

Para as coletas da isotonia e isometria foi solicitado ao voluntário que contraísse o músculo avaliado seguindo o comando de voz do avaliador. Caso não houvesse contração visível foi solicitado ao voluntário que fechasse os olhos, imaginasse o movimento e desse o comando ao cérebro imaginando-se realizando o movimento solicitado.

O tempo de coleta para cada porção muscular foi de 10 segundos, sempre respeitando um intervalo de descanso de 2 minutos entre cada coleta, para evitar os efeitos da fadiga.

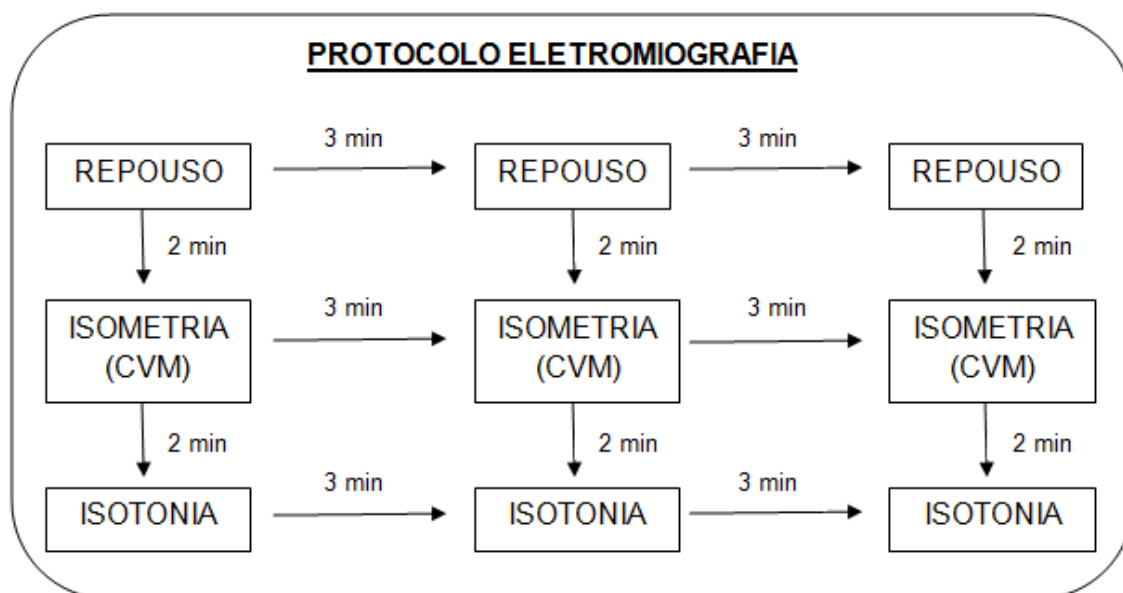


Figura 4 – Protocolo da Eletromiografia

3.4.5. Fotobiomodulação

Quanto ao protocolo da fototerapia, foi baseado em estudos após revisão da literatura. Os artigos de interesse foram identificados a partir da realização de uma pesquisa pelo título e resumo. Os artigos cujo tema não era pertinente à pesquisa foram excluídos. Em um segundo momento, os artigos selecionados foram analisados quanto aos seus objetivos, ao método do estudo, e aos resultados obtidos (Anexo 6). A partir daí, foi criado um protocolo inicial para fotobiomodulação.

Para a irradiação os indivíduos foram posicionados em decúbito lateral com travesseiro entre as pernas. Para encontrar o nível da lesão medular, o avaliador realizou palpação dos processos transversos das respectivas vértebras. Como os segmentos medulares não são topograficamente relacionados com as respectivas vértebras foi acrescentado dois processos transversos abaixo para se localizar o nível da lesão medular (em lesões de C2 até T10).

Foram irradiados 5 pontos (figura 5 e 6) sendo 2 no espaço intervertebral superior, 2 no espaço intervertebral inferior e um no meio do corpo vertebral. A ponta da caneta do laser foi recoberta com papel filme transparente, sem apresentar nenhuma dobra a fim de evitar o espalhamento da luz, e como consequência, perda de energia e manteve-se sempre perpendicular a medula (figura 7). Cada ponto foi irradiado com 25 J, 120 (mW) e 03 min e 28 seg por ponto (figura 8) (Tabela 3).

Os indivíduos do grupo Controle-Placebo foram posicionados da mesma maneira e receberam os mesmos comandos verbais do avaliador, a única diferença com o grupo fotobiomodulação foi que não houve a emissão da irradiação. Foi utilizado o mesmo equipamento.



Figura 5 - Posicionamento dos 5 pontos sobre a coluna cervical
Fonte: Imagem arquivo pessoal

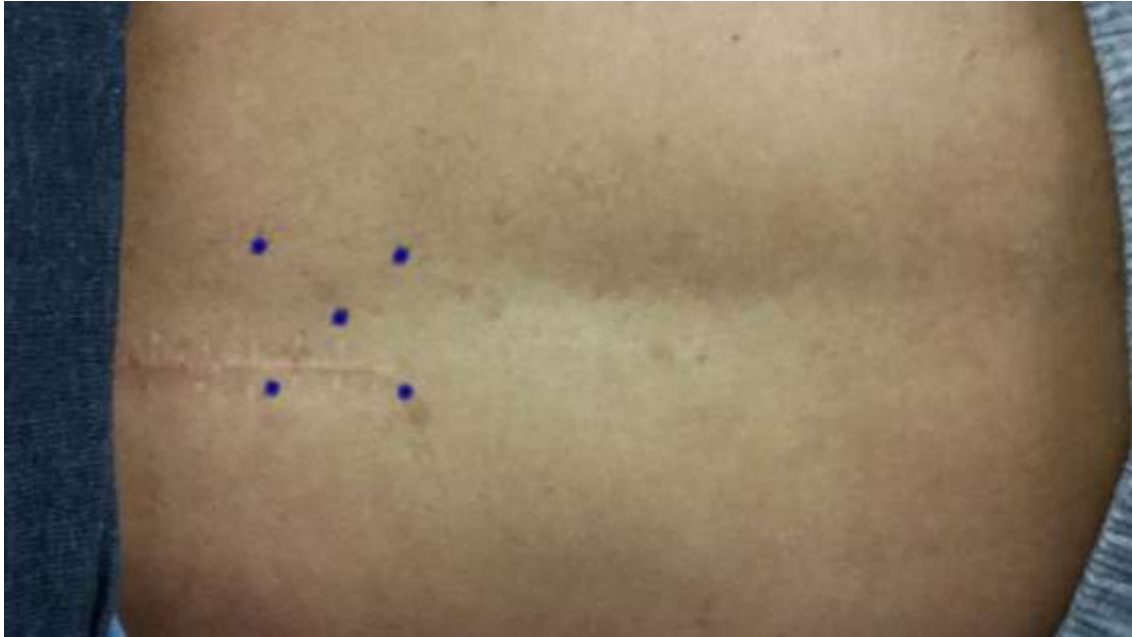


Figura 6 - Posicionamento dos 5 pontos sobre a coluna torácica
Fonte: Imagem arquivo pessoal



Figura 7 - Posicionamento da caneta durante irradiação
Fonte: Imagem arquivo pessoal



Figura 8 – Parâmetros da Fotobiomodulação
Fonte: Imagem arquivo pessoal

Tabela 3 - Parâmetros da fotobiomodulação

Parâmetros	Laser infravermelho
Comprimento de onda [nm]	808
Largura de faixa espectral [nm]	10
Modo de operação	Contínuo
Média radiante de energia [mW]	120
Polarização	Randomizado
Diâmetro da abertura [cm]	0.18
Irradiância de abertura [W/cm ²]	4.72
Tamanho do feixe no alvo [cm ²]	0.0254
Irradiância no alvo [W/cm ²]	4.72
Duração da exposição [s]	208 (por ponto) - 1040 (total)
Exposição radiante [J/cm ²]	983
Densidade de energia na abertura [J/cm ²]	983
Energia radiante [J]	25 (por ponto)
Número de pontos irradiados	5
Área irradiada [cm ²]	0.0254
Técnica de aplicação	Contato
Número e a frequência das sessões de tratamento	Três por semana, durante quatro semanas (12 sessões)

3.5. Protocolo de Fisioterapia

A fisioterapia foi realizada 3 vezes por semana, após a fotobiomodulação. Foram realizados exercícios, dependendo do nível da lesão, com enfoque funcional, priorizando os terapias proprioceptivas e sensoriais. Foram realizados alongamentos, fortalecimentos da musculatura íntegra ou parcialmente ativada através de eletroterapia associado a halteres e/ou faixas elásticas, treinos de transferências cadeira/tablado, treino da passagem de sedestação para ortostatismo além de marcha na esteira com suporte parcial de peso. Lembrando que em todos estes treinamentos foram associados texturas diversas a fim de oferecer estímulos sensoriais.

3.6. Análise estatística

Foi utilizado o software OriginPro 8 (Origin Lab Corporation, EUA) para estimar o tamanho da amostra em dois grupos (controle e fotobiomodulação), usando o teste t para amostras independentes. (Quadro 1)

Quadro 1 – Cálculo amostral

Sample Size (s) for Hypothetical Power(s)					
Effect Size f	α err prob	Power (1- β err prob)	Number of groups	Number of measurements	Total Sample size
0,25	0.05	0.80	2	2	30

Dados extraídos da referência “Clinical and electromyographic evaluation of mastication within different facial growth patterns”, artigo de Prates et al.⁷⁶

Os dados foram analisados em relação à normalidade através dos testes Kolmogorov-Smirnov. Os dados normais foram expressos em média e desvio-padrão. Os dados não normais foram expressos em mediana e intervalo interquartil. A proporção entre paraplégicos e tetraplégicos foi comparada entre os grupos através do teste Qui-Quadrado com a correção do Exato de Fisher e significância $\alpha=5\%$. Para as análises intragrupo foi utilizado o teste Kruskal-Wallis.

4. Resultados

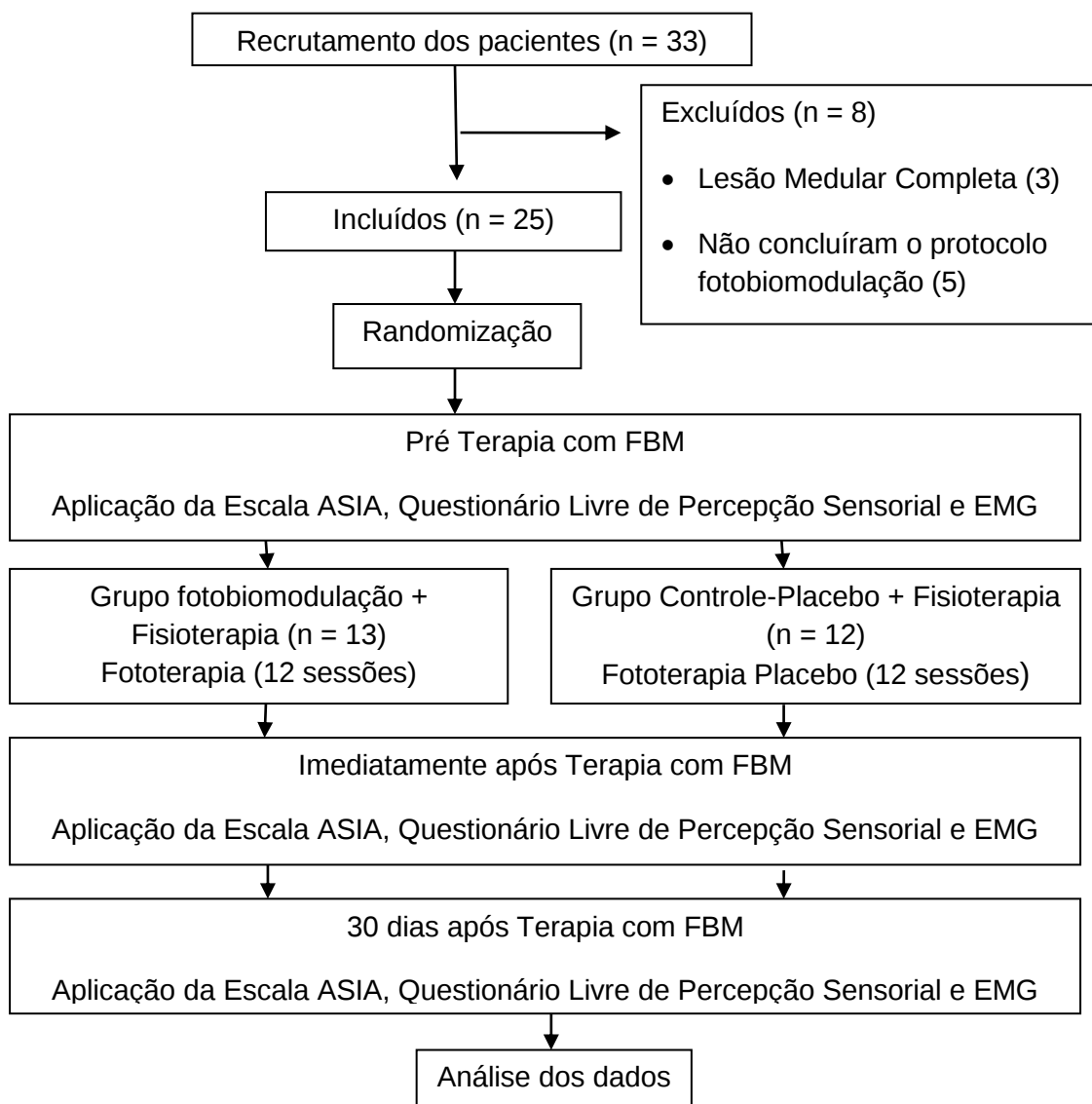


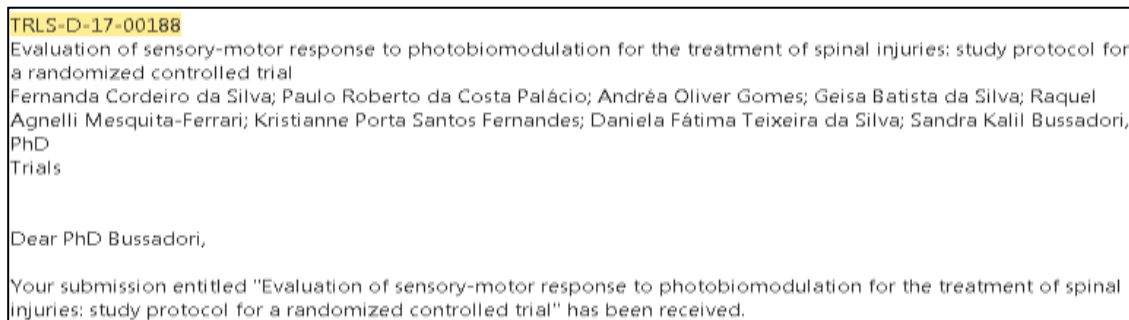
Figura 9 - Fluxograma do estudo

Os resultados da presente Tese serão apresentados no formato de artigos. O estudo I, intitulado “*Evaluation of sensory-motor response to photobiomodulation for the treatment of spinal injuries: study protocol for a randomized controlled trial*” submetido na *Trials*, o estudo II, intitulado “*Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial*”, submetido na *Lasers in Medical Science* e o estudo III, intitulado “*Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury*”, submetido na *BMC Neurology*.

4.1. Estudo I

Evaluation of sensory-motor response to photobiomodulation for the treatment of spinal injuries: study protocol for a randomized controlled trial

Quadro 2 – Comprovante de submissão do artigo1.



4.1.1 – Introduction

Spinal cord injuries have become increasingly frequent due mainly to the increase in urban violence. The growing number of automobile collisions and violence-related events merits particular attention, as such occurrences can lead to death or disability stemming from a spinal injury.¹ The Brazilian Health Ministry reports the occurrence of approximately 8750 cases of spinal cord injuries every year, more than half of which involve young adults who were professionally active at the time of the injury.²

The severity of the consequences depends on the location affected and degree of destruction of afferent and efferent spinal cord pathways, with higher, more extensive injuries leading to less physical fitness and functional independence.³ According to the American Spinal Injury Association (ASIA), a spinal cord injury can be either complete or partial and leads to a reduction in or loss of motor, sensory or anatomic function due to the impairment of neuronal elements within the spinal canal. An injury below T1 can cause paraplegia or paraparesis, whereas an injury above this level can cause quadriplegia or quadriparesis.⁴

Unfortunately, injured neurons of the central nervous system are unable to regenerate following a spinal injury and spinal cord regeneration is therefore a major challenge to researchers in the fields of neuroscience and neurologia.⁵ Considering this fact, many of the most interesting applications of phototherapy,

such as low-level laser, are found in the field central and peripheral neurology. Upon receiving an external stimulus, the central nervous system is believed to adapt and reorganize itself using mechanisms to compensate for neuronal loss and promote, even if partially, the remodeling of remaining synaptic connections, leading to new neuronal sprouting.⁶

According to McDonald et al.,⁷ the best treatment for a spinal injury is that which both diminishes the repercussions of the injury and stimulates the repair process. Low-level laser therapy (LLLT) has proven to be a possible option for the stimulation of the repair process in the central nervous system.⁸ It is plausible that this type of therapy can offer the same benefits previously established in other types of tissues, such as an increased production or inhibition of mediating agents involved in the inflammatory process, acceleration of the tissue repair process,⁹ stimulation of fibroblast proliferation, analgesia, a reduction in edema,¹⁰ the stimulation of bone formation,¹¹ neovascularization and the regeneration of peripheral nerves.¹² To achieve an adequate biological response, it is necessary to employ the ideal radiance parameters, such as the proper wavelength, energy density (dose or fluence), power density (intensity) and operating mode, as well as a sufficient number of applications to produce the desired effect.¹³

Research groups have investigated the efficacy of LLLT for the treatment of spinal cord injuries and have demonstrated that laser therapy administered simultaneously to an injured sciatic nerve and corresponding segment of the spinal cord accelerates the regeneration process of the injured peripheral nerve.¹⁴ According to Wu et al.¹⁵ LLLT leads to a significant improvement in axonal sprouting. These results suggest that phototherapy is a promising method in the rehabilitation process following a spinal injury. However, clinical trials on this subject are scarce in the literature.

Objectives

General objective – Evaluate the effect of photobiomodulation on the sensory-motor response in individuals having suffered a spinal cord injury.

Specific objectives – Investigate the maintenance of the possible sensory-motor response through electromyographic analyses conducted before LLLT and as well as one and 30 days after the intervention; evaluate functional

independence and quality of life in individuals having suffered a spinal cord injury.

4.2. Estudo II

Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial

Quadro 3 – Comprovante de submissão do artigo 2.

Re: "Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial"

Full author list: Fernanda Cordeiro da Silva; Andréa Oliver Gomes, M.D; Paulo Roberto da Costa Palácio; Fabiano Politti; Daniela de Fátima Teixeira da Silva; Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari; Kristianne Kristianne Porta Santos Fernandes; Sandra Kalil Bussadori

Dear Mrs Fernanda Cordeiro da Silva,

We have received the submission entitled: "Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial" for possible publication in Lasers in Medical Science, and you are listed as one of the co-authors.

4.2.1- Introduction

Spinal cord injury (SCI) can lead to paraplegia or quadriplegia, with a significant impact on quality of life and life expectancy as well as economic burden in the form of the considerable costs associated with primary care and the loss of income [1].

The regenerative process after the occurrence of SCI is very complex and current therapeutic approaches fail to promote functional recovery. However, it is generally agreed that it is essential to modulate the initial inflammatory process and control secondary tissue loss related to SCI in order to offer a more appropriate environment for the stimulation of neuroplastic processes [2,3].

Although there are no fully restorative treatments for SCI, many rehabilitative, cellular and molecular therapies have been tested using animal models. Among these treatments, the stimulatory effects of photobiomodulation on biological tissues have been highlighted [1, 2]. Phototherapy has been found to stimulate mitochondrial activity/function as well as increase the synthesis of ATP, the amount of reactive oxygen species and the activity of cytochrome c oxidase [5]. Using an experimental SCI model in rats, Song et al. [3] found that 810 nm laser altered the polarization state to an M2 tendency, reporting the potential for reducing inflammation, regulating macrophage/microglia polarization and

promoting neuronal survival. Also using an experimental SCI model in rats, Wu et al. [4] found that low-level laser therapy (LLLT) (810 nm, 150 mV, 1589 J/cm²) increased axonal regeneration and improved functional recovery.

An important systematic review reports that all studies involving animal models demonstrate the positive results of phototherapy with regard to spinal tissue regeneration and functional improvement. The only study involving humans showed that the combination of cell transplantation and laserpuncture (irradiation at acupuncture points rather than at the injury site) was able to promote some voluntary activity below the level of the SCI. The different laser parameters produced similar results, but the variety of parameters shows the lack of standardization in the studies, making it difficult for researchers and clinicians to know which parameters to employ [5].

To enable a better evaluation of the motor response in muscles, electromyography (EMG) has been employed as an important complementary method that captures information on the electrical activity of muscles of interest. EMG can assist in the determination of ducts and demonstrate the results obtained through specific therapies as well as offer information on different forms of muscular contraction [6, 12].

The main question guiding the present study regards possible modifications in the behavior of muscles affected by spinal cord injury submitted to photobiomodulation with regard to electrical activity and muscle contraction, starting from the hypothesis that such modifications would be expected.

4.2.2 - Results

Table 2 – Characterization of sample

GRUPS			
PLACEBO-CONTROL (n=12)		PHOTOBIMODULATION (n=13)	
VARIABLES	n	VARIABLES	n
Quadriplegic	6	Quadriplegic	3
Paraplegic	6	Paraplegic	10
Men	10	Men	12
Women	2	Women	1
Age	38,4 ± 9,1	Age	36,3 ± 15,1
Time of njury	30,0 ± 20,0	Time of njury	41,0 ± 43,5
Level of injury	C4 C5 (2) T5 (4) T6 T9 T10 T12 L2	Level of injury	C3 (2) C6 T4 T5 T8 T9 (2) T10 (2) T12 L1 L2

Median frequency values of the EMG signals were compared to determine differences between the control and laser groups under the conditions of rest and isotonic contraction. Fig. 3 displays the results expressed in median and interquartile range (25 to 75%).

In the intra-group analysis of the laser group, median frequency values of the brachial biceps and femoral quadriceps muscles were higher at rest and during isotonic contraction 30 days after photobiomodulation ($p = 0.0258$; Mann-Whitney test). No significant results were found regarding the rest and isotonic conditions in the pre-photobiomodulation period ($p = 0.950$) or immediately

following photobiomodulation (p = 0.262).

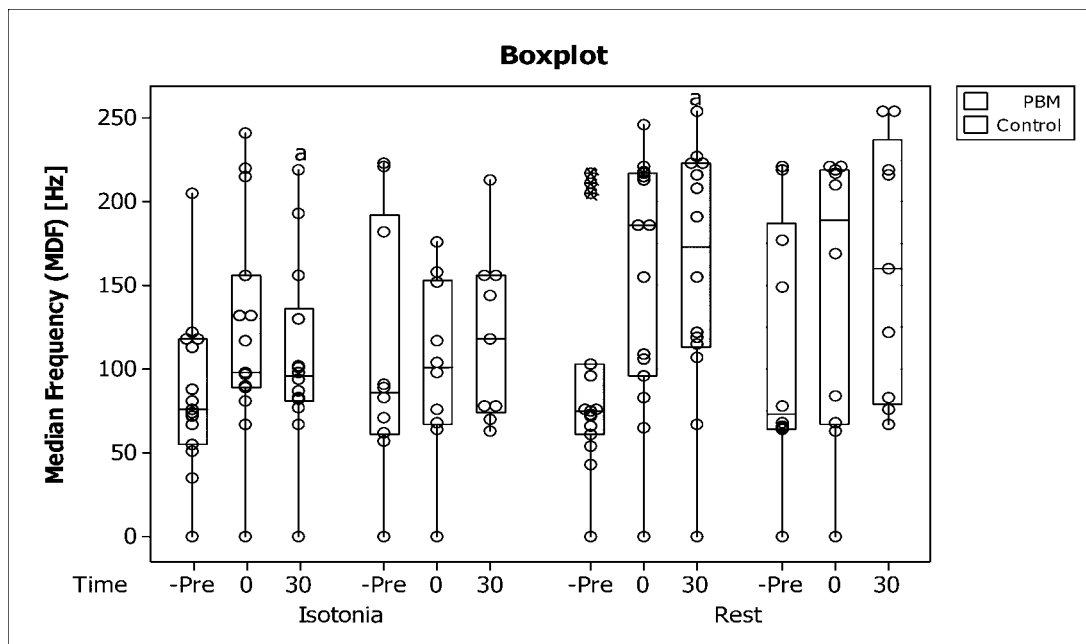
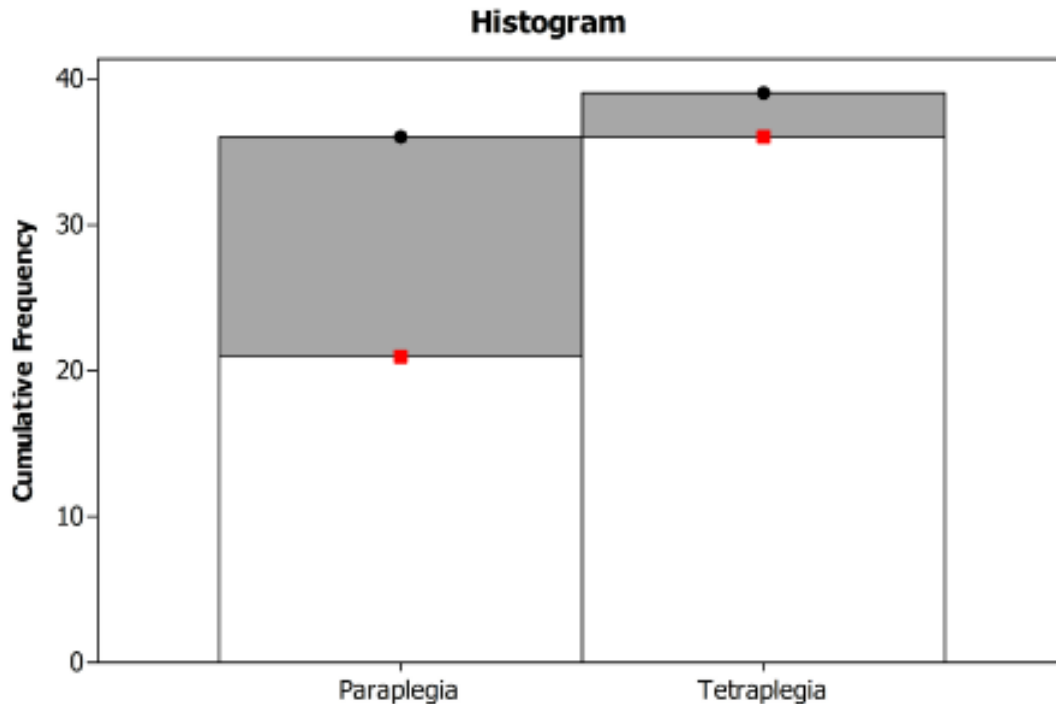


Fig 3 – Median (25%, 75% quartile) of median frequency recorded at rest and during isotonic contraction. The letter “a” indicates statistically significant difference ($p = 0.0258$).

In the intra-group analysis of the control group, no statistically significant results were found regarding the rest and isotonic conditions in the pre-photobiomodulation period ($p = 0.850$), immediately after photobiomodulation ($p = 0.226$) or 30 days after photobiomodulation ($p = 0.184$).

In the intergroup analysis (Kruskal-Wallis test), no statistically significant differences were found at rest immediately after photobiomodulation ($p = 0.934$) or 30 days after photobiomodulation ($p = 0.900$). Moreover, no statistically significant differences were found during isotonic contraction immediately after photobiomodulation ($p = 0.542$) or 30 days after photobiomodulation ($p = 0.850$).



A proportion between paraplegia and tetraplegia was compared between the groups with Chi-Square corrected by Fisher's exact test and significance $\alpha=5\%$. There was no significant difference between groups ($p= 0.0730$).

4.2.3 - Discussion

Skeletal muscles are innervated by inferior motor neurons from the ventral horn of the spinal cord. The axons of these neurons form the ventral roots, which joint with the dorsal roots (that transmit sensory information) and either form mixed spinal nerves or project through spaces between the vertebrae. The inferior motor neurons are classified as alpha and gamma and are responsible for the innervation of muscle fibers and the generation of force by muscles. A motor unit is formed by the motor neuron and the extrafusal muscle fibers that the neuron innervates; the number of muscle fibers that compose a motor unit varies depending on the muscle and its specialization in the composition of a given movement [6, 7].

When a motor unit is activated, the muscle contracts and action potentials are generated that can be captured and recorded in the extracellular space with the use of electromyography. In this exam, the sum of the potentials are transformed into analog signals (graphs) that represent the discharge of all muscle fibers pertaining to the alpha motor unit [6, 7, 12].

In the investigation of the force or velocity of a muscle contraction, the amplitude of the EMG signal can be affected by factors that are not relevant to the production of force, such as the shape of the wave of the action potential of the motor unit. Moreover, the non-linear relationship between the response size and amplitude of the rectified EMG signal as well as changes in the amplitude of movement of the signal due to cancelling limit the possibility of using the amplitude of the EMG signal as a variable to indicate the specific characteristics of the brachial biceps and femoral quadriceps muscles evaluated in the present study. Another disadvantage of analyses in the time domain is the need to record an additional EMG signal during the maximum volumetric period that can serve as a parameter for the normalization of the crude EMG signal [12]. Many studies in the literature use the median frequency (MDF) to investigate muscle fatigue. This index can also be used to investigate other muscle phenomena. Due to the difficulty many patients have in performing voluntary muscle contractions, we used MDF as the parameter, since the root mean square (RMS) amplitude requires normalizing the signal by maximum voluntary contraction.

Few studies have addressed the use of LLLT in cases of SCI. Paula et al. [13] found faster motor evolution in rats with spinal contusion submitted to LLLT, with the maintenance of the effectiveness of the urinary system, the preservation of nerve tissue in injured areas, inflammation control and an increased number of nerve cells and connections. Using a spinal cord crush injury model in rats, Song et al. [3] found that LLLT altered the polarization state to a tendency toward M2 and increased levels of interleukin 4 and interleukin 3, demonstrating the potential to reduce inflammation, regulate macrophage/microglia polarization and promote neuronal survival.

Only one study involving human subjects was conducted to evaluate the capacity of cell transplantation (olfactory ensheathing glia [OEG]) combined with Laserpuncture® with regard to restoring voluntary muscle activity below the level of the injury [16]. Three clinical cases (two men and three women aged 25 to 37 years) of SCI between T4 and T9 classified as paraplegics were analyzed. Several months after being submitted to OEG transplantation, the patients underwent 40 to 57 sessions of laserpuncture involving infrared laser applied to

eight points following the paths of the acupuncture meridians (kidneys, stomach, *Ren Mai* and *Dai Mai* in the anterior region of the body and *Chong Mai*, bladder and *Daí Mai* in the posterior region of the body as well as over dermatomes that are not part of classic acupuncture). Twenty-minute sessions were held twice a day (morning and afternoon) five days a week with an interval of eight weeks between each two sets of sessions (each ten sessions). The Laserpuncture® properties and parameters were not divulged due to the proprietary nature of the technique. For the evaluation of muscle activity, adhesive electrodes were attached to the skin 15 cm above the patella on the belly of the right and left quadriceps muscles. The results suggest some degree of voluntary muscle contraction below the level of the injury in the three individuals. The author suggests that the transplant helps restore the spinal cord tissue and laserpuncture assists in the passage of nerve impulses from the brain to spinal cord areas below the injury through an electromagnetic wave (wavelength) and not through electrochemical conduction (neurotransmitters), thereby complementing transplant therapy.

This is the first randomized controlled study in which the role of phototherapy was evaluated in patients with spinal cord injury. The results demonstrate that phototherapy stimulated the injured tissue, achieving an improved motor response. The EMG data demonstrate a difference in comparison to the pre-intervention evaluation, with higher MDF values at rest and during isotonic contraction 30 days after the end of treatment. MDF is related to the firing and synchronism of motor units. An increase in MDF indicates either an improvement in the firing synchronism of the motor units or an increase in the firing frequency of the motor units. Thus, LLLT may contribute to an improvement in motor recruitment.

The activity of a motor neuron is controlled by three pathways that modulate different aspects of its activity. The first pathway is formed by ganglion cells of the dorsal root that inform the length of the muscle innervated by the alpha neuron. The second pathway is important to the initiation of the control of voluntary movement that stems from motor neurons of the brainstem and motor cortex. The third pathway is composed of interneurons of the spinal cord and is responsible for spinal motor programs [6,7]. One may suggest that

phototherapy in the present study promoted the firing of motor neurons through the early activation of the third pathway of inferior motor neurons, as demonstrated by the increase in the median frequency of the EMG signal. In a scan of the literature, we found no studies that employed median frequency analysis in patients with SCI.

The findings of this initial investigation demonstrate that LLLT exerted positive effects on the behavior of motor function, especially at rest and during isotonic contraction of the muscles stimulated. It therefore appears that long-term LLLT could result in improvements in the motor function of affected limbs. As this is the first randomized clinical trial involving patients with SCI submitted to photobiomodulation, further studies should be developed to furnish more information and evaluate the effects of phototherapy on neuroplasticity following a spinal cord injury.

4.2.4 - Conclusion

In the present study, phototherapy was effective at promoting a motor response in individuals with spinal cord injuries, as demonstrated by the electromyographic analysis. Studies investigating the effects of different laser parameters on spinal cord recovery are important to determining the effectiveness and safety of laser irradiation as well as the treatment parameters necessary for stimulation.

4.3.Estudo III

Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury

Quadro 5 – Comprovante de submissão do artigo 3.

NURL-D-17-00549
 Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury
 Fernanda Cordeiro da Silva; Paulo Roberto Palácio da Costa; Andréa Oliver Gomes; Tamiris da Silva; Daniela de Fátima Teixeira da Silva; Lara Jansiski Motta; Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari; Kristianne Porta Santos Fernandes; Sandra Kalil Bussadori, PhD

Dear author:

You are receiving this email because you have been listed as an author on a manuscript recently submitted to BMC Neurology. The manuscript details are below.

Title: Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury
 Authors: Fernanda Cordeiro da Silva; Paulo Roberto Palácio da Costa; Andréa Oliver Gomes; Tamiris da Silva; Daniela de Fátima Teixeira da Silva; Lara Jansiski Motta; Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari; Kristianne Porta Santos Fernandes; Sandra Kalil Bussadori, PhD
 Corresponding author: DR. Sandra Kalil Bussadori

4.3.1 - Introduction

Spinal injury is a devastating condition with physical, emotional, psychological, social and financial repercussions for affected individuals and their families.^{1,2} This type of injury impedes the performance of functional activities due to the partial or complete interruption of ascending sensory and descending motor pathways.^{3,4}

Following a spinal cord injury, the superior centers (such as the cerebral cortex) become disconnected from circuits below the level of the injury, including central pattern generators, which are responsible for coordinating activities of locomotion.^{5,6} This disconnection results in the death of diverse neurons in and around the injury.⁵ The conduction of sensory and motor information is affected by the interruption of ascending and descending spinal tracts, respectively. This leads to the loss of the adequate perception of sensory stimuli (epicritical and protopathic sensations) and imprecision in the organization of motor behavior.⁴

The sensations of pressure, touch, vibration and pain are extremely diminished when the dorsal columns of the spinal cord are affected. The individual becomes incapable of discriminating different sensations and the characteristics of these sensations, such as frequency, duration and intensity.

This has a direct negative impact on motor control, which depends on sensory feedback.⁷

The American Spinal Injury Association (ASIA) defines a spinal cord injury as a reduction in or loss of motor and/or sensory and/or anatomic function. Such injuries can be complete or incomplete, depending on the degree of impairment of the neuronal elements within the vertebral canal. The manifestation of the injury is classified as paraplegia or paraparesis if the injury is below the T1 level and quadriplegia or tetraparesis if the injury is above this level.⁸

ASIA created an impairment scale based on the type of injury (complete or incomplete) to classify spinal injuries in the following manner: ASIA A: complete injury, absent motor and sensory function at S4-5. ASIA B: incomplete injury, intact sensory function, but absent motor function below the neurological level of the injury and inclusion of the S4-5 level. ASIA C: incomplete injury, intact motor function below the level of the injury and more than half of the key muscles below the neurological level with muscle grade less than 3 on a scale of zero to 5. ASIA D: incomplete injury, motor function intact below the level of the neurological injury and more than half of the key muscles below this neurological injury with a muscle grade equal to or greater than 3. ASIA E: normal, motor and sensory functions intact.⁹

Upon receiving an external stimulus, the central nervous system adapts and reorganizes itself using mechanisms to compensate for the neuronal loss and promote, even if partially, the remodeling of connections and new neuronal sprouting.^{10,11} Unfortunately, injured neurons in the central nervous system are unable to regenerate after a spinal cord injury and this continues to pose a challenge to neuroscience and neurology.¹² Considering this gap in knowledge, many of the most interesting light therapies using photobiomodulation are in the field of neurology (central and peripheral).

The aim of the present study was to investigate the sensory response and perception of the patients with spinal cord injuries submitted to photobiomodulation therapy.

4.3.2 - Results

The sample comprised 25 individuals (22 men and three women). Nine individuals were paraplegic and 16 were quadriplegic. After the random allocation process, the photobiomodulation group comprised 13 participants and the control group comprised 12 participants. The most frequent causes of spinal cord injury were firearm incident, fall from a height, automobile accident, spinal cord tumor, herniated disc, fall from a bicycle, diving into shallow water and hypoxia of the abdominal aorta.

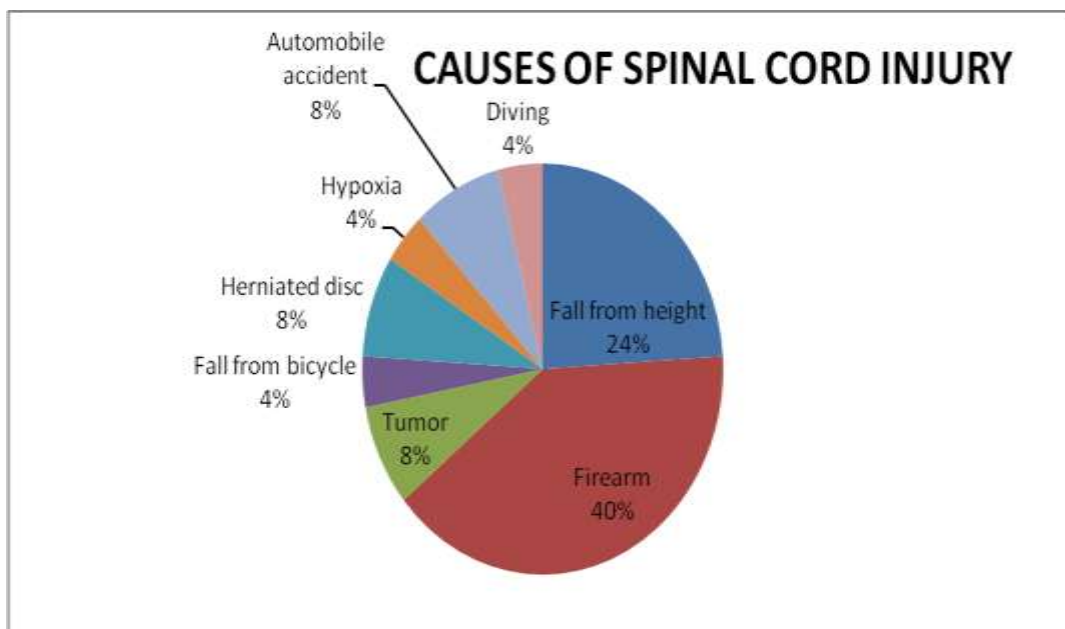


Table 2 – Reports of sensory-motor perception of patients 30 days after photobiomodulation (quadriplegic)

Variables	p *
Tingling	0,801 ##
Tactile sensitivity	0,589 ##
Temperature	Not reported
Pressure	Not reported
Pain sensitivity	Not reported
Pelvic region sensitivity	0,833 ##
Ease of defecating	0,565 ##
Piloerection	0,503 ##
Balance	0,590 ##
Spasms	0,517 ##
Trace contractions	0,843 ##
Strengthening of trunk	0,500 ##
Strengthening of lower limbs	Not reported
Pearson's chi-square test	
## Fisher's exact test	
* $p \leq 0.05$	

The responses to the sensory-motor perception questionnaire enabled the quantification of the changes reported by the quadriplegics participants after 12 sessions of photobiomodulation. Thirteen types of sensory-motor changes were reported. The chi-square test with correction by Fisher's exact test was used for the statistical analysis of the frequency with which such changes occurred in the different groups: tingling ($p = 0.801$), tactile sensitivity ($p = 0.589$), pelvic region sensitivity ($p = 0.833$), perceived desire to defecate ($p = 0.565$), piloerection ($p = 0.503$), improved balance ($p = 0.590$), muscle spasms ($p = 0.517$), trace contractions ($p = 0.843$) and strengthening of trunk ($p = 0.500$). Perceptions of temperature, pressure, pain sensibility and strengthening in the lower limbs were not reported by volunteers.

Table 3 – Reports of sensory-motor perception of patients 30 days after photobiomodulation (paraplegic)

Variables	p *
Tingling	0,430 ##
Tactile sensitivity	0,255 ##
Temperature	0,458 ##
Pressure	0,542 ##
Pain sensitivity	0,370 ##
Pelvic region sensitivity	0,542 ##
Ease of defecating	0,542 ##
Piloerection	0,124 ##
Balance	0,263 ##
Spasms	0,220 ##
Trace contractions	0,015 ***
Strengthening of trunk	0,091 ##
Strengthening of lower limbs	0,542 ##

Pearson's chi-square test

Fisher's exact test

* $p \leq 0.05$

The responses to the sensory-motor perception questionnaire enabled the quantification of the changes reported by the paraplegics participants after 12 sessions of photobiomodulation. Thirteen types of sensory-motor changes were reported. The chi-square test with correction by Fisher's exact test was used for the statistical analysis of the frequency with which such changes occurred in the different groups: tingling ($p = 0.430$), tactile sensitivity ($p = 0.255$), temperature ($p = 0.458$), pressure ($p = 0.542$), pain sensitivity ($p = 0.370$), pelvic region sensitivity ($p = 0.542$), perceived desire to defecate ($p = 0.542$), piloerection ($p = 0.124$), improved balance ($p = 0.263$), muscle spasms ($p = 0.220$), trace contractions ($p = 0.015$), strengthening of trunk ($p = 0.091$) and strengthening of lower limbs ($p = 0.542$).

Table 4 – Means on ASIA between groups before and after photobiomodulation (quadriplegic)

VARIABLE	PERIOD	PHOTOBIO MODULATION	CONTROL	p*
Motor index	Pre	35.0 ± 20.2	7.63 ± 4.41	0.323
	Post	37,6 ± 21.7	8.88 ± 5.13	0.349
	Follow up	36.0 ± 20.7	6.42 ± 3.71	0.344
Tactile sensitivity	Pre	44.6 ± 25.7	0.57 ± 0.33	0.140
	Post	43.6 ± 25.2	0.57 ± 0.33	0.118
	Follow up	44.4 ± 25.6	0.57 ± 0.33	0.077
Pain sensitivity	Pre	46.5 ± 26.8	0.57 ± 0.33	0.120
	Post	39.7 ± 22.9	0.57 ± 0.33	0.068
	Follow up	45.0 ± 26.0	1.15 ± 0.66	0.078

Independent Student's t-test

*p ≤ 0.05

Table 5 – Means on ASIA between groups before and after photobiomodulation (paraplegic)

VARIABLE	PERIOD	PHOTOBIOIMODULATION	CONTROL	p*
Motor index	Pre	12.4 ± 3.92	16.4 ± 5.48	0.865
	Post	15.3 ± 4.85	9.98 ± 3.32	0.283
	Follow up	15.8 ± 5.00	13.5 ± 4.52	0.257
Tactile sensitivity	Pre	8.44 ± 2.67	16.7 ± 5.57	0.267
	Post	7.61 ± 2.40	15.5 ± 5.18	0.558
	Follow up	8.85 ± 2.79	16.7 ± 5.58	0.613
Pain sensitivity	Pre	7.59 ± 2.40	16.0 ± 5.34	0.232
	Post	8.44 ± 2.67	16.7 ± 5.57	0.235
	Follow up	8.17 ± 2.58	15.7 ± 5.24	0.632

Independent Student's t-test

*p ≤ 0.05

Table 6 – Intra-group comparison of means on ASIA scale in photobiomodulation group at different evaluation times

VARIABLES	MOTOR INDEX	p*	TACTILE SENSITIVITY	p*	PAIN SENSITIVITY	p*
Pre x Post	-2.92 ± 4.97	0.056	- 2.76 ± 3.72	0.020*	- 1.07 ± 7.64	0.621
Pre x Follow up	-6.00 ± 5.59	0.002*	- 7.15 ± 8.66	0.012*	- 5.69 ± 5.75	0.004*
Post x Follow up	-3.07 ± 3.30	0.006*	- 4.38 ± 7.45	0.056	- 4.61 ± 5.31	0.009*

Paired Student's t-test

*p ≤ 0.05

In the intragroup analysis of the photobiomodulation group, statistically significant differences were found between the pre-intervention and follow-up evaluations (p = 0.004) as well as the post-intervention and follow-up

evaluations ($p = 0.009$). However, no significant differences were found between the pre-intervention and post-intervention evaluations ($p = 0.621$).

Table 7 – Intra-group comparison of means on ASIA scale in control group at different evaluation times

VARIABLES	MOTOR INDEX	p*	TACTILE SENSITIVITY	p*	PAIN SENSITIVITY	p*
Pre x Post	1.33 ± 6.28	0.478	0.58 ± 3.89	0.614	- 0.41 ± 1.24	0.269
Pre x Follow up	-1.00 ± 4.26	0.434	- 1.16 ± 6.69	0.559	- 0.50 ± 4.31	0.696
Post x Follow up	-2.33 ± 3.82	0.058	- 1.75 ± 4.86	0.239	- 0.08 ± 3.75	0.940

Paired Student's t-test

* $p \leq 0.05$

In the intragroup analysis of the control group, no statistically significant differences were found between any of the evaluation times: pre-intervention vs. post-intervention ($p = 0.269$), pre-intervention vs. follow up ($p = 0.696$) and post-intervention vs. follow up ($p = 0.940$).

Tables 6 and 7 displays the results of the comparisons of the motor index, tactile sensitivity and pain sensitivity between the photobiomodulation and control groups at the pre-intervention, post-intervention and follow-up evaluations. A tendency toward an improvement in these variables was found in the photobiomodulation group, but no statistically significant differences were found at any of the evaluation periods.

4.3.3 - Discussion

Spinal cord injury constitutes severe trauma to the central nervous system for which no effective restorative therapy yet exists. However, photobiomodulation exerts important biomodulating effects on tissues of the central and peripheral nervous system.

In the present study, spinal injury was more frequent among the male sex and firearm wounds were the most frequent cause of injury. These findings are

in agreement with data described by the US National Spinal Cord Injury Statistical Center.¹⁶

Sensory systems represent the portion of the nervous system directly related to the reception, transmission and initial processing of information originating from the organism itself or the surrounding environment and used in the organization of the most varied responses. In the present study, an increase in the perception of trace contractions below the spinal cord injury was found 30 days after photobiomodulation therapy. This perception is of the utmost importance, as it is related to sensory improvement. An important aspect to consider is that motor behavior is not characterized solely by movements, but by the integration of different sensory subsystems. Bensmaia and Miller¹⁷ found that anesthesia of the hand makes it impossible to handle small objects, which confirms the importance of sensory integration prior to motor actions.

Statistically significant differences were found in the comparison of the pre-intervention, post-intervention and 30-day follow-up evaluations. The findings demonstrate the possible residual effects of photobiomodulation, as a significant sensory improvement was found 30 days after the completion of the treatment protocol. This is similar to findings described by Rochkind et al.,¹⁸ who found that photobiomodulation promoted the maintenance of the functional improvement of an injured nerve over time. In another study, Rochkind et al.¹⁹ demonstrated that photobiomodulation on an injured peripheral nerve led to a significant improvement in nerve recovery and diminished the degeneration of corresponding neurons in segments of the spinal column. In an extensive review article of experimental studies, Gigo-Benato et al.²⁰ also report the potential of photobiomodulation to promote the recovery of severely injured peripheral nerves.

No statistically significant differences were found in the control group between any of the evaluation times. This suggests the photobiomodulation administered directed over the spinal cord promotes an improvement in functional recovery, as no such improvement was found in the group submitted to the sham protocol. This finding is in agreement with data described by

Rochkind et al.,¹⁹ who report that irradiation directly on the spinal cord led to an improvement in the recovery of the corresponding injured peripheral nerve.

The sensory and perceptual results indicate that photobiomodulation, specifically laser irradiation at a wavelength of 808 nm, is capable of penetrating into the depth of the injured spinal cord, promoting sensory-motor improvements and, therefore, functional recovery. Likewise, Byrnes et al.¹³ report an significant increase in the number of axons and the distance of axonal sprouting.

No adverse effects of photobiomodulation were found in the present study, demonstrating that this is a promising therapy for the rehabilitation of a spinal cord injury in humans, which is in agreement with results reported by Wu et al.,²¹ and promotes benefits in cases of brain diseases, as demonstrated in several studies.²²⁻²⁷

4.3.4 - Conclusion

The sensory improvement observed and the perception of this improvement by the patients in this study offer valuable clinical evidence that photobiomodulation is a promising, noninvasive, effective technique for the treatment of sensory-motor alterations in individuals with spinal injuries.

5. Considerações finais

A lesão medular continua sendo um grande desafio para equipe multiprofissional responsável pela reabilitação dos indivíduos lesados medulares. Segundo McDonald et al.⁷⁷ o melhor tratamento para a lesão medular seria aquele que não apenas diminuísse a lesão, mas também estimulasse seu processo de reparação e promovesse melhora funcional.

Observamos em nosso estudo que a terapia com fotobiomodulação mostrou-se promissora ao promover respostas sensório-motoras aos indivíduos com lesão medular. Os resultados demonstraram aumento da sensibilidade superficial, como toque leve e dor, principalmente após 30 dias da terapia, o que nos permite inferir sobre os efeitos benéficos em longo prazo da fotobiomodulação, além de, estimular uma série de respostas sensoriais como formigamento, aumento da sensibilidade da região genital e melhora da percepção miccional. Embora estes últimos dados não se demonstraram estatisticamente significantes foi possível observar melhoras clínicas mesmo que ainda sutis. Uma melhora sensorial é de extrema importância, pois todo ato motor inicia-se através de um estímulo sensorial.

Quanto às melhoras motoras, observamos em nosso estudo que a fotobiomodulação foi capaz de promover uma ativação precoce do motoneurônio inferior. Isso nos sugere que houve uma comunicação eficaz entre o motoneurônio superior e inferior seja por rebrotamento axonal, ou até mesmo maximização das vias eferentes parcialmente íntegras. Acredita-se que ao receber estímulo externo o sistema nervoso central possa se adaptar e reorganizar utilizando mecanismos para compensar a perda neuronal e promover, ainda que parcial, o remodelamento das conexões sinápticas remanescentes, e conseqüentemente, novas brotamentos neuronais¹⁵.

Este estudo buscou investigar e apresentar a fotobiomodulação como uma possibilidade para a reabilitação funcional dos indivíduos com lesão medular, tornando-se uma alternativa acessível e de fácil utilização.

6. Referencias

1. Herlihy B, Maebius NK. Anatomia e Fisiologia do Corpo Humano Saudável e Enfermo. 1. ed. São Paulo: Manole, 2002.
2. Rowley S, Forde H, Glickman S, Middleton FRI. Lesão de Medula Espinhal. In: Stokes M (ed.). Neurologia para Fisioterapeutas. São Paulo: Premier, 2000.
3. Barros Filho TE. Avaliação padronizada nos traumatismos raquimedulares. Rev Bras. Ortop. 1994; 29(3):99-102.
4. Costa AC de S. Lesão Medular. Educação Física Adaptada II. Material Didático. Ministrada no Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium – UNISALESIANO, 2009.
5. Chaves PC, Albuquerque RR, Moreira AL. Aula Teórico-Prática: Reflexo Osteotendíneos. Texto de apoio. Ministrada na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto – Serviço de Fisiologia, Porto, 2001.
6. Guyton ACMD. Funções motoras da medula espinhal: os reflexos medulares. In: Tratado de fisiologia médica. 9º Ed. 1997. Capítulo 54; p. 515b.
7. Devivo MJ. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications. Spinal Cord. 2012; 50(5): 365-72.
8. National Spinal Cord Injury Statistical Center (NSCISC). Annual Report for the Spinal Cord Injury. Complete Public Version 2012. Birmingham, Alabama. Disponível em: <http://www.nscisc.uab.edu/PublicDocuments/reports/pdf/2012%20NSCISC%20Annual%20Statistical%20Report%20Complete%20Public%20Version.pdf>.
9. Anderson KD. Targeting recovery: priorities of the spinal cord-injured population. J Neurotrauma. 2004; 21:1371-83.
10. Brasil. Diretrizes de Atenção à Pessoa com Lesão Medular, Poder Executivo, Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2012. Disponível em: 85 http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_atencao_pessoa_lesao_medular.pdf>.
11. De Campos, S. Lesão Medular. Neurologia/Neurociências, 2003.

12. Thuret S, Moon LDF, Gage FH. Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nature*. 2006;7:628-43.
13. Steinberg, L. Esporte paraolímpico. In: Cohen, M.; Abdala, R. Lesões nos esportes – diagnóstico, prevenção e tratamento. Rio de Janeiro: ed. Revinter, 2003.
14. National Spinal Cord Injury Statistical Center. Annual Report for the Spinal Cord Injury Model Systems 2010. University of Alabama at Birmingham, mar. 2011. Disponível em <https://www.nscisc.uab.edu/PublicDocuments/reports/pdf/2010%20NSCISC%20Annual%20Statistical%20Report%20Complete%20Public%20Version.pdf>
15. Speciali JG. Semiotécnica Neurológica. *Medicina*. Ribeirão Preto, 29, 1996; 19-31.
16. Machado ABM. Neuroanatomia funcional. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005, 363 p.
17. American Spinal Cord Injury Association (ASIA). Disponível em: < <http://www.asia-spinalinjury.org/index.php>>.
18. Greve JMD, Casalis MEF, Filho TEPB. Diagnóstico e Tratamento da Lesão da Medula Espinhal. 1ª Ed. São Paulo, Editora Roca Ltda., 2001.
19. Rodrigues BG de S, Brito CS, Barros C. Lesão da Medula Espinhal. 2006. Disponível em: http://wgate.com.br/conteudo/medicinaesaude/fisioterapia/neuro/lesao_espinhal/lesao_espinhal_brena.htm.
20. Albuquerque ALP, Freitas CHA, Jorge MSB. Interpretando as experiências da hospitalização de pacientes com lesão medular. *Rev Bras Enferm*. 2009;62:552-6.
21. Paula AA, Nicolau RA, Lima MO, Salgado MAC, Cogo JC. Low-intensity laser therapy effect on the recovery of traumatic spinal cord injury. *Lasers Med Sci*. 2014;29:1849-59.

22. Abreu LM, Batista LV, Pereira GL, Fonseca LA, Kerppers II, Oliveira CS. Efeito do laser de baixa intensidade no trauma agudo medular: Estudo piloto. *ConSci Saúde*. 2011;10:11-6.
23. Paula AA, Leite NCS, Fernandes CT, Kerppers II, Nicolau RA, Lima MO et al. Análise do efeito clínico do laser de baixa intensidade em ratos Portadores de lesão medular traumática. X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2010, 6p.
24. Maluf AP, Ughini GC, Maluf RP, Pagnoncelli RM. Utilização de laser terapêutico em exodontia de terceiros molares inferiores. *RGO*. 2006;54:182-4.
25. Harvey L. Management of spinal cord injuries: a guide for physiotherapists. London: Elsevier; 2008
26. Scivoletto G, Di Donna V. Prediction of walking recovery after spinal cord injury. *Brain Res Bull*. 2009;78:43–51.
27. Harvey LA. Physiotherapy rehabilitation for people with spinal Cord injuries. *Journal of Physiotherapy*. 2016; 62:4–11.
28. Van Langeveld SA, Post MW, Van Asbeck FW, Gregory M, Halvorsen A, Rijken H, et al. Comparing content of therapy for people with a spinal cord injury in postacute inpatient rehabilitation in Australia, Norway, and the Netherlands. *Phys Ther*. 2011;91:210–223.
29. Harvey L, Wyndaele JJ. Are we jumping too early with locomotor training programs?. *Spinal Cord*. 2011;49:947.
30. Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. *Lasers Surg Med*. 1989;9(2):174-182.
31. Whelan HT, Smits RL, Jr., Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, Cevenini V, Stinson H, Ignatius R, Martin T, Cwiklinski J, Philippi AF, Graf WR, Hodgson B, Gould L, Kane M, Chen G, Caviness J. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. *J Clin Laser Med Surg*. 2001;19(6):305-314.

32. Snyder SK, Byrnes KR, Borke RC, Sanchez A, Anders JJ. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser treatment. *Lasers Surg Med* 2002;31(3):216–222.
33. Anders JJ, Borke RC, Woolery SK, Van de Merwe WP. Low power laser irradiation alters the rate of regeneration of the rat facial nerve. *Lasers Surg Med*.1993;13(1):72–82.
34. Karu T. The science of low power laser therapy. Amsterdam, The Netherlands: Gordon Breach Science Publishers; 1998.
35. Mochizuki-Oda N, Kataoka Y, Cui Y, Yamada H, Heya M, Awazu K. Effects of near-infra-red laser irradiation on adenosine triphosphate and adenosine diphosphate contents of rat brain tissue. *Neurosci Lett*.2002;323(3):207–210.
36. Castro ESO Jr., Zucoloto S, Marcassa LG, Marcassa J, Kurachi C, Melo CA, et al. Spectral response for laser enhancement in hepatic regeneration for hepatectomized rats. *Lasers Surg Med*.2003;32(1): 50–53.
37. Rochkind S, Barr-Nea L, Bartal A, Nissan M, Lubart R, Razon N. New methods of treatment of severely injured sciatic nerve and spinal cord. An experimental study. *Acta Neurochir Suppl*.1988;43:91–93.
38. Rochkind S, Ouaknine GE. New trend in neuroscience: Low-power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies). *Neurol Res*.1992;14(1):2–11.
39. Rochkind S, Shahar A, Nevo Z. An innovative approach to induce regeneration and the repair of spinal cord injury. *Laser Ther*.1997;9:151–152.
40. Popovich PG, Guan Z, McGaughy V, Fisher L, Hickey WF, Basso DM. The neuropathological and behavioral consequences of intraspinal microglial/macrophage activation. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2002;61(7):623–633.
41. Lagord C, Berry M, Logan A. Expression of TGFbeta2 but not TGFbeta1 correlates with the deposition of scar tissue in the lesioned spinal cord. *Mol Cell Neurosci*. 2002;20(1): 69–92.

42. Fitch MT, Silver J. Activated macrophages and the blood–brain barrier: Inflammation after CNS injury leads to increases in putative inhibitory molecules. *Exp Neurol*.1997;148(2):587–603.
43. McKeon RJ, Schreiber RC, Rudge JS, Silver J. Reduction of neurite outgrowth in a model of glial scarring following CNS injury is correlated with the expression of inhibitory molecules on reactive astrocytes. *J Neurosci*.1991;11:3398–3411.
44. Isaksson J, Farooque M, Holtz A, Hillered L, Olsson Y. Expression of ICAM-1 and CD11b after experimental spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma*. 1999;16(2):165–173.
45. Carlson SL, Parrish ME, Springer JE, Doty K, Dossett L. Acute inflammatory response in spinal cord following impact injury. *Exp Neurol*. 1998;151(1):77–88.
46. Bartholdi D, Schwab ME. Expression of pro-inflammatory cytokine and chemokine mRNA upon experimental spinal cord injury in mouse: An in situ hybridization study. *Eur J Neurosci*.1997;9(7):1422–1438.
47. Perry VH, Gordon S. Modulation of CD4 antigen on macrophages and microglia in rat brain. *J Exp Med*. 1987; 166:1138–1143.////
48. Frisen J, Haegerstrand A, Fried K, Piehl F, Cullheim S, Risling M. Adhesive/repulsive properties in the injured spinal cord: Relation to myelin phagocytosis by invading macrophages. *Exp Neurol*.1994;129(2):183–193.
49. Dai CF, Kanoh N, Li KY, Wang Z. Study on facial motoneuronal death after proximal or distal facial nerve transection. *Am J Otol*. 2000;21(1):115–118.
50. Popovich PG, Wei P, Stokes BT. Cellular inflammatory response after spinal cord injury in Sprague–Dawley and Lewis rats. *J Comp Neurol*.1997;377(3):443–464.
51. Pan JZ, Ni L, Sodhi A, Aguanno A, Young W, Hart RP. Cytokine activity contributes to induction of inflammatory cytokine mRNAs in spinal cord following contusion. *J Neurosci Res*. 2002;68(3):315–322.
52. Popovich PG, Guan Z, Wei P, Huitinga I, van Rooijen N, Stokes BT. Depletion of hematogenous macrophages promotes partial hindlimb recovery and neuroanatomical repair after experimental spinal cord injury. *Exp Neurol*. 1999; 158(2):351–365.

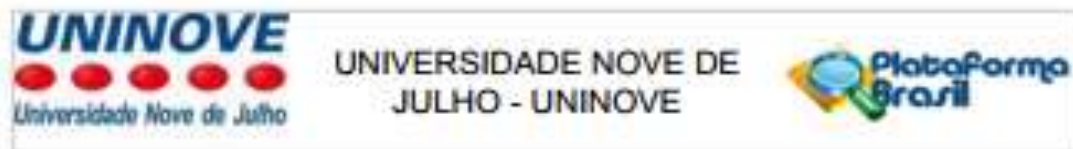
53. Byrnes KR, Waynant R, Ilev IK., Wu X, Barna L, Smith K., Heckert R, et al. Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. *Lasers Surg Med.* 2005; 36: 171-85.
54. Hashmi JT, Huang YY, Osmani BZ, Sharma SK, et al. Role of Low-Level Laser Therapy in Neurorehabilitation. *PMR.* 2010; 2(12 suppl 2): 292-305.
55. 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; 25:436–442.
56. Wu X, Dmitriev AE, Cardoso MJ, et al. 810 nm Wavelength light: an effective therapy for transected or contused rat spinal cord. *Lasers Surg Med.* 2009; 41:36–41.
57. Demidova-Rice TN, Salomatina EV, Yaroslavsky AN, Herman IM, Hamblin MR. Low-level light stimulates excisional wound healing in mice. *Lasers Surg Med.* 2007; 39(9): 706-15.
58. Kitchen SS & Partridge CJ. A review of low level laser therapy. Part I: background, physiological effects and hazards. *Physiotherapy.* 1991;77(3):161-70.
59. Low L, Reed A *Eletroterapia explicada: Princípios e Prática.* 3º. Ed., Barueri – SP: Manole, 2001.
60. Baxter GD. *Thrapeutic lasers: theory and practice.* United States of America: Ed. Churchill Livingstone. 1997.
61. Karu TI Mechanisms of low-power laser light action on cellular level. In: Karu TI & Lubart R. *Effects of low Power light on biological systems V.* Amsterdam, Netherlands: Proceedings of SPIE. 2000; 4159: 01-17.
62. Sandoval-Ortiz MC, Carrinho PM, Santo A, Gonçalves R. Laser de baixa intensidade: princípios e generalidades – Parte 1. *Fisioterapia Brasil.* 2001; 2(1):221-40.

63. Marchetti PH, Duarte M. Instrumentação Eletromiográfica. Laboratório de Biofísica, Escola de Educação Física e Esporte. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.
64. Machado N, Strini P, Branco C, Borges R, Mazzetto M, Fernandes NA, Fonseca R. Eletromiografia Aplicada às Desordens Temporomandibulares. Rev Odontol Bras Central. 2010; 19(51):280-4
65. Figueiredo PAP, Silva EM, Brentano MA, Black GL, Cabral P, Junior RN. et al. Análise Eletromiográfica Temporal de Exercícios Abdominais Realizados em Meio Aquático e Terrestre. Rev Bras Biomec 2008; 9(17):81-6.
66. Prudente CN. Padrão de coordenação neuromuscular dos membros inferiores de hemiparéticos crônicos durante o movimento sentado para de pé. [Dissertação], Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
67. Macedo FS, Rocha AF, Santos CC, Mateus SRM. Estimulação elétrica funcional da tosse sincronizada com o eletromiograma do músculo peitoral maior em pacientes com tetraplegia: uma nova perspectiva. Pan American Health Care Exchanges (PAHCE), 2013, Medellín. Anais, 7-12.
68. Internacional Society of Electrophysiology and Kinesiology (ISEK), 2013 Disponível em: http://www.isek-online.org/standards_emg.html.
69. Carvalho LC. Instrumentação Médico-Hospitalar. 1º ed. Barueri: Editora Manole, 2008, p. 336.
70. Soderberg GL, Knutson LM. A guide for use and interpretation of kinesiological electromyographic data. Physical Therapy. 2000;80(5):485-98.
71. Macisaac D, Parker PA, Scott RN. The short-time Fourier transform and muscle fatigue assessment in dynamic contractions. J Elect Kinesiol. 2001;11:439-49.
72. Stashuk, D. EMG signal decomposition: how can it be accomplished and used? Journal of Electromyography and Kinesiology. 2001;11:151-73.
73. Hogrel, JY. Use of surface EMG for studying motor unit recruitment during isometric linear force ramp. J of Elect Kinesiol 2003; 13:417-23.

74. Farina D, Merletti R. Comparison of algorithms for estimation of EMG variables during voluntary isometric contractions. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 2000; 10:337-49.
75. Rau G, Schulte E, Disselhorst-Klug C. From cell to movement: to what answers does EMG really contribute? *J Electr Kinesiol.* 2004;14:611-17.
76. Hermes HJ, Frerik B. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *J. Electromyogr Kinesiol.* 2000; 10(5):361-74.
77. McDonald, JW, Liu, XZ, Quy, Y, Liu S, Mickey, SK, Turetsky D. et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med.* 1999; 5:1410-12.

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA RESPOSTA SENSORIO-MOTORA APÓS TRATAMENTO COM LASER EM BAIXA INTENSIDADE EM LESADOS MEDULARES e ENSAIO CLÍNICO, CONTROLADO E ALEATORIZADO

Pesquisador: Fernanda Cordeiro da Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 56952716.2.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.813.598

Apresentação do Projeto:

As lesões medulares são cada vez mais frequentes devido, principalmente, ao aumento da violência urbana. Os acidentes de trânsito e osterimentos por arma de fogo são as causas mais comuns. A definição de lesão medular segundo a American Spinal Injury Association (ASIA) é a diminuição ou perda da função motora e/ou sensoria e/ou anatômica, podendo ser uma lesão completa ou incompleta, devido ao comprometimento dos elementos neuronais dentro do canal vertebral. Pode ser classificada como paraplegia ou paraparesia, se a lesão for abaixo do nível medular T1, e tetraplegia ou tetraparesia, se for acima deste nível. Infelizmente, os neurônios lesionados no sistema nervoso central não conseguem se regenerar após LM, por isso a regeneração medular continua sendo um desafio para a neurociência e a neurologia¹⁴. Analisando esta lacuna, muitas das aplicações mais interessantes das terapias com luz por meio do LBI estão no campo da neurologia (central e periférico). Além disso, no sistema nervoso periférico o LBI podem ser utilizados eficazmente para a regeneração do nervo e o alívio da dor. A EMGS permite avaliar o grau e a duração da atividade muscular, a ocorrência de fadiga, a alteração da composição das Unidades Motoras resultante de programas de treinamento muscular, assim como as estratégias neurais de

Endereço: VERGUEIRO nº 235/049

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3385-9197

E-mail: comitedetica@uninove.br

recrutamento. A gravidade do quadro depende do local acometido e do grau de destruição das vias medulares aferente e eferente; quanto mais alto o nível e maior a extensão da lesão, menor será a massa muscular disponível para a atividade física e, portanto, menores serão a aptidão física para sua independência funcional e qualidade de vida. A Medida de Independência Funcional (MIF) é um instrumento que tem como objetivo a mensuração do nível de independência funcional dos indivíduos. A MIF serve para avaliar o impacto do traumatismo raquimedular (TRM) sobre as atividades de vida diária e vem ganhando espaço na preferência das equipes de reabilitação, pois demonstra através de uma pontuação específica a magnitude e o potencial incapacitante das lesões. A Organização Mundial da Saúde Qualidade de Vida - BREF (WHOQOL - bref) o questionário é uma ferramenta e que avalia de forma clara perspectiva de vida de pessoas em qualquer estudo, mede paciente resultados relatados e foi validado em vários estudos para medir qualidade de vida em indivíduos afetados por lesão medular.

Objetivo da Pesquisa:
Objetivo Primário:

Avaliar a eficácia do LBI na resposta sensório-motora de indivíduos com Lesão Medular.

Objetivo Secundário:

Avaliar a manutenção da possível resposta sensório-motora, através da realização da eletromiografia, pré e pós intervenção com a TLBI, (nos dias:

1, 15, 30, 45 e 60), a independência funcional e qualidade de vida em indivíduos com Lesão Medular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Riscos:

Os riscos são mínimos, pois o indivíduo será acompanhado, durante toda avaliação e tratamento, pelo avaliador. Todas as possíveis dúvidas serão sanadas.

Benefícios:

Possível resposta sensório-motora, ou seja, o indivíduo após irradiação com laser poderá apresentar melhora da sensibilidade da motricidade

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa importante e promissora para a área de estudo.

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

CEP: 01.504-001

UF: SP Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)3385-9197

E-mail: comiteetica@uninove.br

Continuação do Parecer: 1.613.588

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos obrigatórios de acordo.

Recomendações:

Deve ser inserido no TCLE a definição de comitê de ética em experimentação humana.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_732965.pdf	13/06/2016 10:13:45		Aceito
Orçamento	previsao_orcamentaria.doc	13/06/2016 10:12:10	Fernanda Cordeiro da Silva	Aceito
Cronograma	Cronograma_Projeto_de_Pesquisa.doc	13/06/2016 10:02:30	Fernanda Cordeiro da Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	doutorado_Fer_Cordeiro_FINALIZADO.doc	13/06/2016 09:57:22	Fernanda Cordeiro da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_corrigido.doc	13/06/2016 09:49:28	Fernanda Cordeiro da Silva	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_COEP_assinada.pdf	13/06/2016 09:38:11	Fernanda Cordeiro da Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 29 de Junho de 2016

Assinado por:
Stella Regina Zamuner
(Coordenador)

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

UF: SP

Telefone: (11)3385-0197

Município: SAO PAULO

CEP: 01.504-001

E-mail: comitedetica@uninove.br

7.2. Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO

Termo de Consentimento para Participação em Pesquisa Clínica:

Nome do Voluntário: _____
Endereço: _____
Telefone para contato: _____ Cidade: _____ CEP: _____
Email: _____

As Informações contidas neste prontuário foram fornecidas pela aluna de doutorado Fernanda Cordeiro da Silva (Mestre em Ciências da Reabilitação) e Profa. Dra Sandra Kalil Bussadori, objetivando firmar acordo escrito mediante o qual, o voluntário da pesquisa autoriza sua participação com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho Experimental: Avaliação da resposta sensório-motora após intervenção com laser em baixa intensidade em lesados medulares – ensaio clínico, controlado, aleatorizado e duplo cego, ou seja, Avaliação do aumento da sensibilidade e/ou contração muscular após a aplicação do laser o indivíduo com lesão medular.

2. Objetivos: O objetivo deste estudo é avaliar se a aplicação do laser sobre a lesão promove algum aumento da sensibilidade ou da contração muscular em indivíduos que sofreram uma lesão medular.

3. Justificativa: Este estudo justifica-se uma vez que se verifica uma escassez de estudos referente ao aumento da sensibilidade e/ou da contração muscular após a aplicação de laser em baixa intensidade em indivíduos que sofreram uma lesão medular.

4. Procedimentos da Fase Experimental: O participante inicialmente responderá alguns questionários. Após será avaliado o grau da sensibilidade e contração muscular através de uma escala chamada ASIA. Primeiramente avaliaremos a parte da sensibilidade, onde o participante ficará deitado de barriga pra cima enquanto um avaliador treinado passará um pequeno pincel na pele (em pontos pré-determinados) e após espetará levemente uma pequena agulha de ponta grossa em pontos da pele (pré-determinados). Imediatamente após, será avaliado a contração muscular, onde será solicitado ao participante realizar alguns

movimentos com os braços e/ou pernas. Para o tratamento, durante 14 dias consecutivos, o participante receberá a aplicação de laser em baixa intensidade exatamente sobre a pele na altura da lesão medular. O participante ficará deitado confortavelmente de lado e um terapeuta treinado aplicará o laser com um aplicador encostado na pele por 50 minutos ininterruptos. Por fim, será avaliada a atividade elétrica dos músculos que são inervados pelo “nervo” que sai da medula bem na altura da lesão, através de um aparelho de eletromiografia, onde serão utilizados 4 eletrodos auto-colantes aderidos a pele através de um gel. Esta última avaliação será refeita imediatamente ao final do tratamento com laser e se repetirá após 30 dias. Todos os participantes serão sorteados aleatoriamente para fazer parte do grupo que receberá o tratamento real e o grupo que receberá um tratamento fictício, a fim de verificarmos se existe realmente eficácia no tratamento com laser. Porém, é importante ressaltar, que todos os participantes que forem sorteados para ficarem no grupo do tratamento fictício, receberão, imediatamente após o término do estudo, o real tratamento com laser, para que não fique em desvantagem em relação ao outro grupo.

5. Desconforto ou Riscos Esperados: Os riscos esperados são mínimos, pois o participante será avaliado e receberá o tratamento em um local fechado, com a presença somente de um familiar (se necessário) e do pesquisador para evitar qualquer tipo de constrangimento. O pesquisador acompanhará o participante em todo trajeto a fim de evitar possíveis quedas. Explicará detalhadamente cada avaliação que o indivíduo participará e o tratamento que receberá, posicionando-o com cuidado. Durante o tratamento com laser poderá ocorrer um pequeno incomodo, pois o participante deverá permanecer de lado por 50 minutos, embora deitado o mais confortável possível. O pesquisador permanecerá durante toda a avaliação e a aplicação com laser com luvas descartáveis.

6. Informações: O voluntário tem garantia que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com pesquisa. Também os pesquisadores citados assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando.

Qualquer dúvida os responsáveis poderão ser contatados pelos fones: Profa. Dra. Sandra Kalil (11) 98381-7453 ou Ft. Ms. Fernanda Cordeiro da Silva (11) 96773-9714. Dúvidas sobre questões éticas deverão ser encaminhadas ao Comitê de ética e pesquisa da Uninove através do email: comiteetica@uninove.br.

7. Métodos Alternativos Existentes: A pesquisa citada dispensa qualquer método alternativo.

8. Retirada do Consentimento: o voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

9. Aspecto Legal: Elaborados de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos atendendo à Resolução n.º 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

10. Garantia do Sigilo: Os pesquisadores asseguram a privacidade dos voluntários quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

11. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da participação na Pesquisa: Serão ressarcidas despesas com eventuais deslocamentos.

12. Local da Pesquisa: A pesquisa será desenvolvida nas Clínicas de Fisioterapia da UNINOVE, localizadas nos Campus do Memorial (Rua Dr. Adolfo Pinto, 109 – Barra Funda) e no Campus da Vila Maria (Rua Profa. Maria José Barone Fernandes, 300 – Vila Maria).

Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da Uninove: Av. Francisco Matarazzo, nº 612 1º andar – Prédio C – Água Branca – 05001100
3665-9310/ 3665-9309

13. Nome Completo e telefones dos pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato:

Orientador: Prof.^a Dr^a Sandra Kalil Bussadori – Tel (11) 98381-7453
Pesquisador: Ft. Ms. Fernanda Cordeiro da Silva – Tel (11) 96824-9579

14. Consentimento pós-informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo no meio científico.

* Não assine este termo se ainda tiver alguma dúvida a respeito.

São Paulo, ____ de _____ de 20__ .

Nome (por extenso): _____

Assinatura: _____

1ª via: Instituição

2ª via: Voluntário

7.3. Anexo 3 – Avaliação do Comprometimento Sensório motor (ASIA)

ASIA **STANDARD NEUROLOGICAL CLASSIFICATION OF SPINAL CORD INJURY**

MOTOR

KEY MUSCLES

	R	L
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
T1		
T2		
T3		
T4		
T5		
T6		
T7		
T8		
T9		
T10		
T11		
T12		
L1		
L2		
L3		
L4		
L5		
S1		
S2		
S3		
S4-5		

Elbow flexors
Wrist extensors
Elbow extensors
Finger flexors (distal phalanx of middle finger)
Finger abductors (little finger)

0 = total paralysis
1 = palpable or visible contraction
2 = active movement, gravity eliminated
3 = active movement, against gravity
4 = active movement, against some resistance
5 = active movement, against full resistance
NT = not testable

Hip flexors
Knee extensors
Ankle dorsiflexors
Long toe extensors
Ankle plantar flexors

☐ Voluntary anal contraction (Yes/No)

TOTALS + = MOTOR SCORE (MAXIMUM) (50) (50) (100)

SENSORY

KEY SENSORY POINTS

	R	L
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
T1		
T2		
T3		
T4		
T5		
T6		
T7		
T8		
T9		
T10		
T11		
T12		
L1		
L2		
L3		
L4		
L5		
S1		
S2		
S3		
S4-5		

0 = absent
1 = impaired
2 = normal
NT = not testable

Any anal sensation (Yes/No) ☐

TOTALS + = PIN PRICK SCORE (MAX) (112)

+ = LIGHT TOUCH SCORE (MAX) (112)

NEUROLOGICAL LEVEL
(The most caudal segment with normal function)

R L

SENSORY

MOTOR

COMPLETE OR INCOMPLETE? ☐

Incomplete = Any sensory or motor function in S4-S5

ASIA IMPAIRMENT SCALE

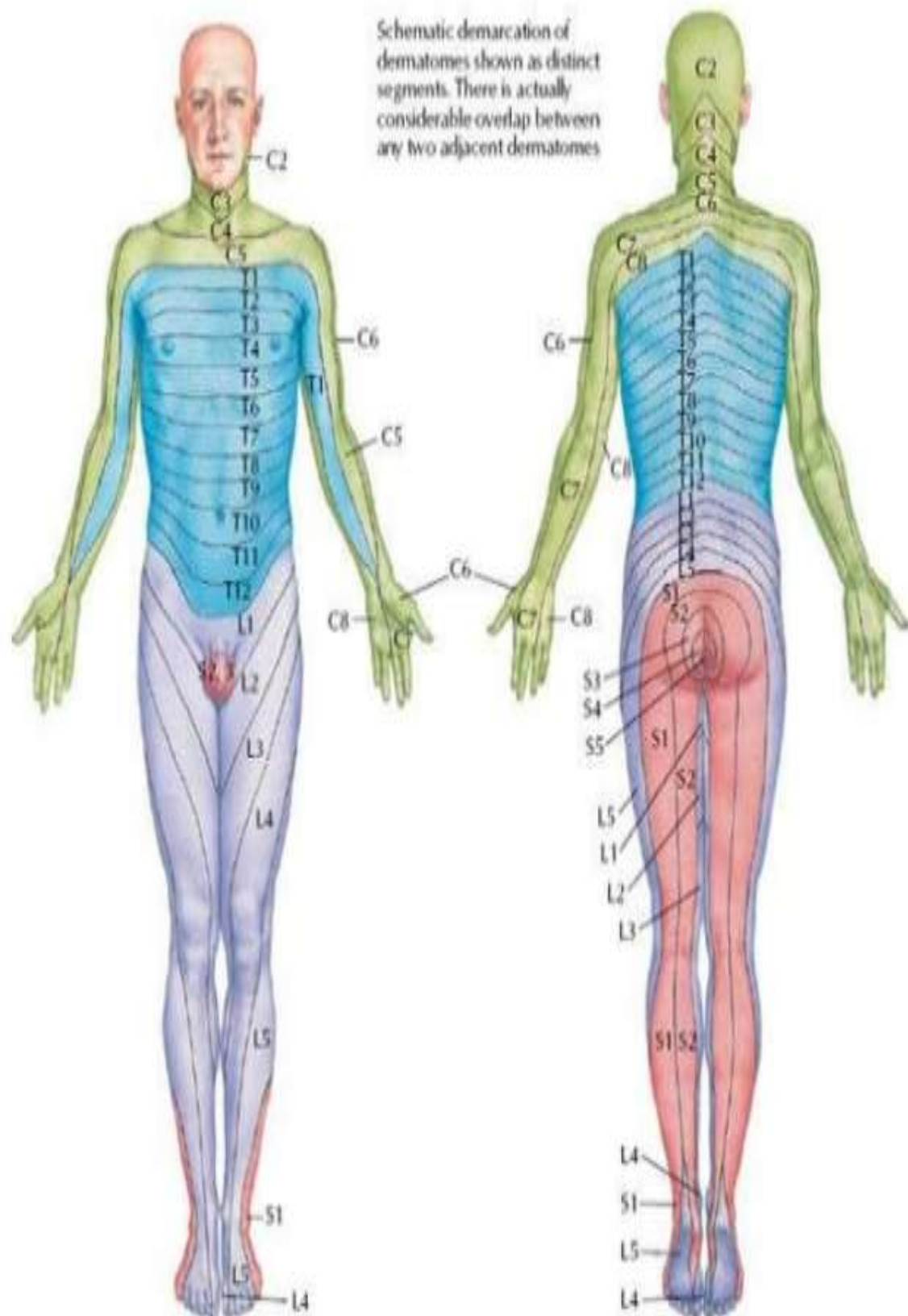
ZONE OF PARTIAL PRESERVATION
(Caudal extent of partially innervated segments)

R L

SENSORY

MOTOR

7.4. Anexo 4 – Mapa dos Dermátomos



7.5. Anexo 5 – Entrevista de Percepção Sensório-motora

Programa de Doutorado em Ciências da Reabilitação

Questionário Livre de Percepção Sensório-Motora

Nome _____ data _____

1) Descreva detalhadamente quaisquer mudanças sensoriais ocorridas após a terapia com laser.

2) Descreva detalhadamente quaisquer mudanças motoras ocorridas após a terapia com laser.

Muito obrigada!

7.6 - Anexo 6 - Tabela revisão dos artigos com fotobiomodulação na lesão medular

Autores	Potencia (mW)	Tempo (seg)	Exposição Radiante (J/cm ²)	Energia Total (J)	Comprimento de onda (nm)	Tipo de estudo
Rochkind et al., 2002 ⁶⁶	250	30'	-	-	780	in vivo
Byrnes et al., 2005 ⁶⁷	150	2,997"	1,589	-	810	in vivo
Wu et al., 2009 ⁶³	150	2,997"	1, 589	-	810	in vivo
Bohbot, 2010 ⁶⁸	-	20'	-	-	-	Ensaio clínico
Abreu et al., 2011 ⁶⁹	40	-	20	-	904	in vivo
Ando et al., 2013 ⁷⁰	-	2'20"	6	-	780	in vivo
Paula et al., 2014 ²²	-	2'20"	6	-	780	in vivo

7.7 - Anexo 7 - Artigo 1 - Protocolo

Evaluation of sensory-motor response to photobiomodulation for the treatment of spinal injuries: study protocol for a randomized controlled trial

Fernanda Cordeiro da Silva, Paulo Roberto da Costa Palácio, Andréa Oliver Gomes, Geisa Batista da Silva, Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Kristianne Porta Santos Fernandes, Daniela de Fátima Teixeira da Silva, Sandra Kalil Bussadori

Abstract

Background: Traumatic spinal cord injury can range from mild medullary concussion to transient dormancy and permanent quadriplegia. The most common sites of this lesion are at the level of the cervical vertebrae, C5, C6 and C7 and at the level of the thoracic and lumbar vertebrae, T12 and L13. The literature is unclear as to an effective therapy to improve the quality of life of patients with spinal cord injury. Phototherapy is a promising resource in musculoskeletal injuries, so the role of this study is to assess the potential of phototherapy in patients with sensorimotor deficit.

Methods/Design: A randomized controlled clinical trial that will evaluate the functional independence and quality of life of 30 patients who have suffered spinal cord injury and will undergo phototherapy treatment. The evaluations will be made through the WHOQOL-bref (quality of life) and Functional Independence Measure (MIF) and bi-weekly electromyographic analyzes.

Patients will be allocated to two experimental groups and evaluated before and at the end of treatment.

Discussion: This is the first randomized controlled study in which the role of phototherapy will be evaluated in patients with spinal cord injury. The results will offer valuable clinical evidence for objective assessment of the potential benefits and risks of procedures.

Trial registration: ClinicalTrials.gov Identifier: NCT 03031223. Registered 05 October 2016.

Keywords: Spinal injuries, phototherapy, quality of life.

Introduction

Spinal cord injuries have become increasingly frequent due mainly to the increase in urban violence. The growing number of automobile collisions and violence-related events merits particular attention, as such occurrences can lead to death or disability stemming from a spinal injury.¹ The Brazilian Health Ministry reports the occurrence of approximately 8750 cases of spinal cord injuries every year, more than half of which involve young adults who were professionally active at the time of the injury.²

The severity of the consequences depends on the location affected and degree of destruction of afferent and efferent spinal cord pathways, with higher, more extensive injuries leading to less physical fitness and functional independence.³ According to the American Spinal Injury Association (ASIA), a

spinal cord injury can be either complete or partial and leads to a reduction in or loss of motor, sensory or anatomic function due to the impairment of neuronal elements within the spinal canal. An injury below T1 can cause paraplegia or paraparesis, whereas an injury above this level can cause quadriplegia or quadriparesis.⁴

Unfortunately, injured neurons of the central nervous system are unable to regenerate following a spinal injury and spinal cord regeneration is therefore a major challenge to researchers in the fields of neuroscience and neurologia.⁵ Considering this fact, many of the most interesting applications of phototherapy, such as low-level laser, are found in the field central and peripheral neurology. Upon receiving an external stimulus, the central nervous system is believed to adapt and reorganize itself using mechanisms to compensate for neuronal loss and promote, even if partially, the remodeling of remaining synaptic connections, leading to new neuronal sprouting.⁶

According to McDonald et al.,⁷ the best treatment for a spinal injury is that which both diminishes the repercussions of the injury and stimulates the repair process. Low-level laser therapy (LLLT) has proven to be a possible option for the stimulation of the repair process in the central nervous system.⁸ It is plausible that this type of therapy can offer the same benefits previously established in other types of tissues, such as an increased production or inhibition of mediating agents involved in the inflammatory process, acceleration of the tissue repair process,⁹ stimulation of fibroblast proliferation, analgesia, a reduction in edema,¹⁰ the stimulation of bone formation,¹¹ neovascularization and the regeneration of peripheral nerves.¹² To achieve an adequate biological

response, it is necessary to employ the ideal radiance parameters, such as the proper wavelength, energy density (dose or fluence), power density (intensity) and operating mode, as well as a sufficient number of applications to produce the desired effect.¹³

Research groups have investigated the efficacy of LLLT for the treatment of spinal cord injuries and have demonstrated that laser therapy administered simultaneously to an injured sciatic nerve and corresponding segment of the spinal cord accelerates the regeneration process of the injured peripheral nerve.¹⁴ According to Wu et al.¹⁵ LLLT leads to a significant improvement in axonal sprouting. These results suggest that phototherapy is a promising method in the rehabilitation process following a spinal injury. However, clinical trials on this subject are scarce in the literature.

Objectives

General objective – Evaluate the effect of photobiomodulation on the sensory-motor response in individuals having suffered a spinal cord injury.

Specific objectives – Investigate the maintenance of the possible sensory-motor response through electromyographic analyses conducted before LLLT and as well as one, 15, 30, 45 and 60 days after the intervention; evaluate functional independence and quality of life in individuals having suffered a spinal cord injury.

Methodology

Participant selection: The study will be conducted at the Physical Therapy

Clinics of University Nove de Julho (UNINOVE) in the city of São Paulo, Brazil.

Original hypothesis

The low-intensity laser therapy approach appears to increase levels of β -endorphin, lymphatic flow, and blood supply.

Specifically, the purpose of this study is to determine if the application of low intensity laser with specific parameters is able to stimulate and exert positive effects on the motor sensory response mechanism in patients with spinal cord injury.

Inclusion criteria: partial spinal injury, patients with tetraplegia or paraplegia, injury between C3 and L5, up to one year elapsed since injury.

Exclusion criteria: complete spinal cord injury, cognitive impairment.

Study design and intervention

A randomized, placebo-controlled trial of individuals with spinal cord injury. A total of 30 patients aged between 18 and 80 years old male and female with the above requirements will be recruited. Figure 1 shows a summary of the study scheme. All individuals received information about the study's goals and procedures and signed a statement of informed consent agreeing to their voluntary participation.

Patients will be randomized into experimental groups, and follow-up will be done at the physiotherapy clinic of the university.

Randomization and blinding process

The individuals will be allocated to the different groups based on numbers randomly generated by a computer program. Allocation will be concealed with the use of sealed opaque envelopes. Each envelope will be numbered on the outside and will contain the name of a participant on the inside. The envelopes will be randomly selected using a computer program, with the formation of the control group first, followed by the treatment group. There will be no blindness during the randomization process.

Characterization of sample

The OriginPro 8 software (Origin Lab Corporation, USA) will be used to estimate the size of the sample in two groups (control and irradiated) using the t-test for independent samples.

Sample Size (s) for Hypothetical Power(s)					
Effect Size f	α err prob	Power (1- β err prob)	Number of groups	Number of measurements	Total Sample size
0,25	0.05	0.80	2	2	30

Data extracted from reference article by Prates et al. (2015): “Clinical and electromyographic evaluation of mastication within different facial growth patterns”

(Figure 1)

Experimental protocol

The volunteers will be randomly allocated to a control group or treatment group. Evaluations will be conducted before and after the intervention using electromyography of the myotome corresponding to the injured spinal nerve root.

PHOTOTHERAPY: The treatment group will receive phototherapy following the protocol outlined below- *LLLT protocol* – Based on Byrnes et al.¹⁶ and Holanda et al.,¹⁷ radiance will be administered to the injury site transcutaneously at a wavelength of 808 nm using a Twin Flex Evolution diode laser (MMO Equipment Opto-Eletronicos, Brazil). Twelve sessions will be held (three per week over four weeks) using the parameters described in Table 1. According to the literature, this dose is capable of enhancing functional recovery following an injury.¹⁸

(Table 1)

Sensory-Motor Evaluation

Sensitive Assessment (ASIA)^{8,9}

Sensory evaluation will be done for pain and mild touch. The pain will be evaluated by stimulating itself with a delicate pin and the feel assessed with light touch with a cotton ball. (Figure 1)

For Pain (pinned), the result will be classified as: 2 - normal, 1 - impaired (there is no difference between the sting vigorous and light) but there is the painful sensitivity; 0 - no sensitivity.

- For light touch, the result will be classified as: 2 - Sensitivity in body and face are equal; 1 - There is sensitivity, but it is smaller than the touch on the face; 0- no sensitivity.

The following dermatomes (and their references) will be evaluated:

- C2 - Occipital behind the ear
- C3 - Supraclavicular fossa
- C4- Acromioclavicular joint
- C5 - lateral border of the antecubital fossa
- C6 - Dorsal surface of the proximal phalanx of the thumb
- C7 - Dorsal surface of the proximal phalanx of the middle finger
- C8 - Dorsal surface of the proximal phalanx of the little finger
- T1- Medial border of the antecubital fossa
- T2- Armpit apex
- T4- Clavicular midline, 4th intercostal space, nipple line
- T6 - Xiphoid
- T10 - Navel
- T12 - Inguinal ligament midline

- L1- Midpoint between T12 and L2.
- L2 - Medial face of the thigh, in the middle of an imaginary line between the midpoint of the inguinal ligament and the medial condyle of the femur.
- L3 - Medial femoral condyle, above the knee.
- L4- Medial malleolus
- L5 - Back of the foot at the third MTP joint • S1 - lateral edge of the heel
- S2 - Popliteal fossa
- S3 - sciatic tuberosity
- S4.5 - perianal region

Motor Assessment (ASIA)^{8,9}

The motor assessment will be performed by grading muscle strength at 0-5 (according to the Medical Research Council Scale for Muscle Strength), 0 - paralysis, 1 - movements present and without overcoming gravity, 2 - Movement in full amplitude with The severity eliminated, 3 - complete series against gravity, 4 - against some resistance and 5 - against total resistance. If a muscle can not be tested, it is defined as NT (Non tested). (Figure 2)

The main muscles are chosen because they are innervated by 2 myotomes. By convention, if the muscle has at least grade 3, the above muscle is considered normal. Myotomes will be assessed as defined by ASIA, as follows:

- C5 (biceps) - Rest the patient's hand on the abdomen and ask to move the hand to the nose to eliminate gravity. Then ask the patient to flex against gravity and keep moving. If the patient is able to perform the movement, support the shoulder and apply resistance.
- C6 (wrist extensor) - have the patient move the wrist upward. Next patient ask to move the handle up and keep. Afterwards, push the handle down.
- C7 (triceps) - rest the patient's hand on the abdomen and ask to stretch the arm, now ask the patient to bend the arm and hold the hand close to the ear; If there is normal movement, support the elbow and push the arm down, testing against resistance (do not let patient use scapular action).
- C8 - separate the middle finger, immobilize the proximal interphalangeal joint, and grasp the metatarsophalangeal joint. Ask the patient to bend the finger to the sides.

Now ask to fold up and hold it. Now try straightening your finger and tell the patient to resist their resistance action.

- T1 (abductor of the little finger) - Hold the patient's hand and ask him to try to move the little finger outward. Feel the movement presence. Now ask the patient to try to move the finger out and keep it there. Then test the resistance against resistance by opposing the movement of the V finger.
- L2 (iliopsoas) - With the patient in the supine position, bend the thigh of the patient to the belly. Ask the patient to redo the movement and feel the movement. Lift the thigh of the bed to avoid friction and in neutral position ask

the patient to bend the thighs up to 90 degrees and hold there. If possible, stabilize the other thigh and press the side to be tested to assess the strength against resistance.

- L3 (quadriceps) - raise the leg of the bed to avoid friction and in the patient's part to extend the knee and hold it there. Now try to push the knee down, and evaluate the movement against resistance.
- L4 (ankle dorsiflexors) - Ask the patient to put the foot toward the knee. Ask the patient to repeat the movement and hold the foot in position. Now push down the ankle for evaluation of movement against resistance.
- L5 (Longus extensor) - Have the patient bring Hallux toward the knee. Now ask him to hold it there, and then push down the toe, supporting the ankle and testing against resistance.
- S1 (plantar flexors) - Ask the patient to press the foot toward the ground as an accelerator. Now flex the thigh to the abdomen and flex the leg over the thigh to rest the foot on the bed. Ask the patient to lift the heel out of the bed. Finally ask the patient to press down on his hand as an accelerator.

(Figure 2)

Electromyography

The EMG signal will be obtained by a 4 channel acquisition system (EMG 432 C) from EMG System do Brasil Ltda., Consisting of a signal conditioning module, bipolar active electrodes, analog band pass filter from 20 to 500 Hz and common mode Rejection rate of 120 dB. The sample acquisition frequency of

the signal will be 2 kHz, scanned by A / D (analog-digital) conversion board with 16 bits resolution and the acquisition program was EMGLab (EMG System do Brasil Ltda.). The electrodes used will be active bipolar, with a pre-amplification of 20 x.

For the capture of the EMG signal of the muscles), will be used self-adhesive disposable surface electrodes and Ag / AgCl type (Nexoran), with a diameter of 10 mm, fixed in the muscular womb in the region that presents greater tonus. The electrodes will be fixed after cleaning with 70% alcohol, to decrease the impedance between the skin and the electrodes. At the inter-electrode distance was 20 mm between the centers, as suggested by SENIAM (Society European Recommendations for Surface Electromyography) (FRERIKS, 2000). As a reference, an electrode will be used in the left hand of the volunteers to prevent the effect of interference from external noise.

The EMG activity of the muscles will be verified in three conditions: i) rest; li) isometry (CVM) and iii) isotonia. For the data collection, the individuals will remain in the signaled positions according to SENIAM to collect the electromyographic signal.

The first condition to be collected will be at rest, later the isometry (CVM) will be collected and, finally, the isotonic collections will be performed. All collections will be extracted with a cut of 1 second before and 1 second after the center of the electromyographic signal.

For the normalization of the electromyographic data, the average of the values obtained in three collections with maximum voluntary contraction (CVM) will be

used, using the muscular function test suggested by Kendall (1993). The collection time for each muscle portion will be 10 seconds, always respecting a rest interval of 2 minutes between each collection, to avoid the effects of fatigue.

(Figure 3)

Functional Independence Measure (MIF)

The following descriptions and procedures were stipulated according to the original version of the manual "Guide For the Uniform Data Set for Medical Rehabilitation - version 5.1", 1997 - version translated and validated in Brazil by Ribeiro et al.

In Table 3 the MIF scale is represented, it is organized in two dimensions, motor and cognitive, subdivided into categories with 18 items, defined to evaluate the independence of the individual in performing satisfactorily and effectively basic activities.

Quality of Life Questionnaire (WHOQOL-bref)⁶⁵

All 26 items WHOQOL-BREF are based on a five-point Likert Scale. Among these items, 24 items are grouped into four domains of quality of life: physical health (7 items), psychological well-being (6 items), social relations (3 items) and environment (8 items). In addition, two other items are examined separately. An item is an individual's overall perception of quality of life and the other is the general perception of an individual's own health. WHOQOL-BREF

demonstrates satisfactory internal consistency and validity among patients with LM. (Table 4).

Statistical Analysis

The data will be tabulated and treated using the SPSS 20.0 program for Windows™. The data will be submitted to descriptive statistical analysis. The chi-square test and Fisher's exact test will be used to establish the associations of the categorical variables. The Student's t-test will be used for the comparison of mean electromyographic signals. Pearson's correlation coefficients will be calculated for the analysis of the correlation of the continuous variables. The level of significance will be 95% ($p < 0.05$).¹⁹

Ancillary and post-trial care: At the end of the study, all volunteers allocated to the control group will receive LLLT with the same protocol administered to the treatment group to avoid any inequality regarding treatment among the individuals.

Discussion

The biological challenge comprises a number of aspects involved in regeneration, including the response of the cell body next to the lesion, the regenerating axon and its ability to find its way in a complex cellular and molecular environment as well as changes that occur in the segment of the distal nerve Chronically denervated and in the target organ distal to the lesion

Analyzing this gap, many of the most interesting applications of light therapy through LBI are in the field of neurology (central and peripheral). In addition, in the peripheral nervous system LLLT can be used effectively for nerve regeneration and pain relief. Numerous experimental and clinical studies suggest that laser therapy modulates cellular metabolic processes, which leads to an increase in the regenerative potential of biological tissues, mitochondrial functionality, resulting in a greater capacity for regeneration and tissue healing, besides not provoking degenerative action on irradiated specimens. According to Henriques et al.³³, laser light stimulates cells that are growing poorly at the time of irradiation. So if the tissue is fully functional at the time of irradiation, there is nothing for the stimulate laser irradiation and no therapeutic effect will be observed, however if the tissue is damaged, the laser irradiation will attempt to normalize cellular function, restore homeostasis and stimulate the healing and repair³³..

This is the first randomized controlled trial in which the role of phototherapy will be evaluated in patients with spinal cord injury. In order to obtain the appropriate biological response it is necessary to achieve the ideal radiation dose with the correct wavelength and the number of applications sufficient to produce the desired effect.

Trials status: We are currently recruiting volunteers and doing the initial evaluations.

Abbreviations

EMG: Electromyography

ASIA:American Spinal Injury Association

LLLT: Low Level Laser Therapy

Declarations

Ethical considerations: The investigator submitted the study protocol and any subsequent changes, along with any accompanying material provided to the patient, in addition to any publicity material, to a Human Research Ethics Committee at the University Nove de Julho (UNINOVE). The written approval of the Committee was obtained under the number 1.613.598.

Availability of support data

We declare the availability of all supporting data from this study for the collaboration of this manuscript.

Consent to Publish:Informed consent form and signed by the research volunteers to publish the results obtained in the research.

Competing interests: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: There was no funding from a research-funding agency, only support from the Nove de Julho University, which provided the clinical research laboratory.

Authors' contributions

FCS study conception bibliographic survey, data collection, manuscript writing.

PRCP study conception bibliographic survey, data collection. AOG manuscript

writing. SKB study conception and design, financial support and revision of manuscript. RAMF revision of manuscript. KPSF revision of manuscript. DFTS revision of manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments:

University Nove de Julho (UNINOVE) - São Paulo, Brazil – for use of equipment and laboratories.

Authors' Information

Fernanda Cordeiro da Silva, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Universidade Nove de Julho

(UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil – fera2408@hotmail.com

Paulo Roberto da Costa Palácio, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil – paulopalacio@live.com

Andréa Oliver Gomes, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Universidade Nove de Julho

(UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil –

an_oliver@hotmail.com

Geisa Batista da Silva, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Universidade Nove de Julho

(UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil –

geisinhabsz@gmail.com

Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences and Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil –raquel.mesquita@gmail.com

Kristianne Porta Santos Fernandes, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences and Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil –kristianneporta@uninove.br

Daniela de Fátima Teixeira da Silva, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences and Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil –dfteixeira@uninove.br

Sandra Kalil Bussadori, Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences and Program in Biophotonics Applied to Health Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), R. Vergueiro, 235 – Liberdade, São Paulo - SP, CEP 01504-001, Brazil –sandra.skb@gmail.com

References

1. Ninomyia AF, Jesus CLM, Auletta LL, Rimkus CM, Ferreira DM, Zoppi Filho A, et al. Análise clínica e ultrassonográfica dos ombros de pacientes lesados medulares em programa de reabilitação. *Acta Ortop Bras.* 2007; 15(2):109-13.
2. Anderson, K. D. Targeting recovery: priorities of the spinal cord-injured population. *J. Neurotrauma* 21, 1371–1383 (2004).
3. Steinberg, L. Esporte paraolímpico. In: Cohen, M.; Abdala, R. Lesões nos esportes – diagnóstico, prevenção e tratamento. Rio de Janeiro: ed. Revinter, 2003.
4. Maynard FM, Bracken MB, Creasey G. International standards for neurological and functional classification of spinal cord injury. *Spinal Cord* 1997; 35: 266-274.
5. Paula AA, Leite NCS, Fernandes CT, Kerppers II, Nicolau RA, Lima MO et al. Análise do efeito clínico do laser de baixa intensidade em ratos Portadores de lesão medular traumática. X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2010, 6p.
6. Rossignol S, Schwab M, Schwartz M, Fehlings MG. Spinal Cord Injury: Time to Move? *The Journal of Neuroscience.* V.27, n. 44 p. 11782-11792,2007.
7. McDonald, JW, Liu, XZ, Quy, Y, Liu S, Mickey, SK, Turetsky D. et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med.* V. 5 p.1410-12, 1999.
8. Paula, AA, Nicolau, RA, Lima, MO, Cogo, JC. Efeito da terapia com laser de baixa potência na reparação neuronal do sistema nervoso central – revisão sistemática. *Revista Terapia Manual*, julho, 2009.
9. Demidova-Rice, TN, Salomatina, EV, Yaroslavsky, AN, Herman, I.M.; Hamblin, M. R. Low-level light stimulates excisional wound healing in mice. *Lasers Surg Med.* V.39 n.9. p.706– 715, 2007.

10. Turhani, D, Scheriau, M, Kapral, D, Benesch, T, Jonke, E, Bantleon, HP. Pain relief by single low-level laser irradiation in orthodontic patients undergoing fixed appliance therapy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* v. 130, n. 3, p. 371-377, 2006.

11. Nicolau, RA, Jorgetti, V, Rigau, J, Pacheco, TTM, Reis, LM, Zangaro, RA. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers in Medical Science*. V. 18, n. 2, p. 89-94, 2003.

12. Belchior, ACG, Reis, FA, Nicolau, RA, Silva, SI, Pereira, DM, Carvalho, PTC. Influence of laser (660 nm) on functional recovery of the sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers in Medical Science*, v.24, 2009.

13. Abreu EMC, Nicolau RA. Low intensity laser therapy on regeneration of nervous tissue after spinal cord injury. *Rev Neurocienc* 2015;23(2):297-304.

14. Rochkind S, Barr-Nea L, Bartal A, et al. New methods of treatment of severely injured sciatic nerve and spinal cord. An experimental study. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1988; 43:91–93.

15. Wu X, Dmitriev AE, Cardoso MJ, et al. 810 nm Wavelength light: an effective therapy for transected or contused rat spinal cord. *Lasers Surg Med*. 2009; 41:36–41. [PubMed: 19143019].

16. Byrnes, K. R., Waynant, R. W., Ilev, I. K., Wu, X., Barna, L., Smith, K., Heckert, R., Gerst, H. and Anders, J. J. (2005), Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. *Lasers Surg. Med.*, 36: 171–185. doi: 10.1002/lsm.20143).

17. Holanda VM, Chavantes MC, Silva DFT, Holanda CVM, Oliveira JO, et al. Photobiomodulation of the dorsal root ganglion for the treatment of low back pain: A pilot study. *Lasers Surg Med*. 2016 May 2. doi: 10.1002/lsm.22522.

18. Rochkind S, Ouaknine GE. New trend in neuroscience: Lowpower laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, preclinical and clinical studies). *Neurol Res* 1992;14(1):2–11].
19. Dancey C, Reidy J. Estatística sem matemática para psicologia: usando SPSS para Windows. Porto Alegre, Artmed, 2006.

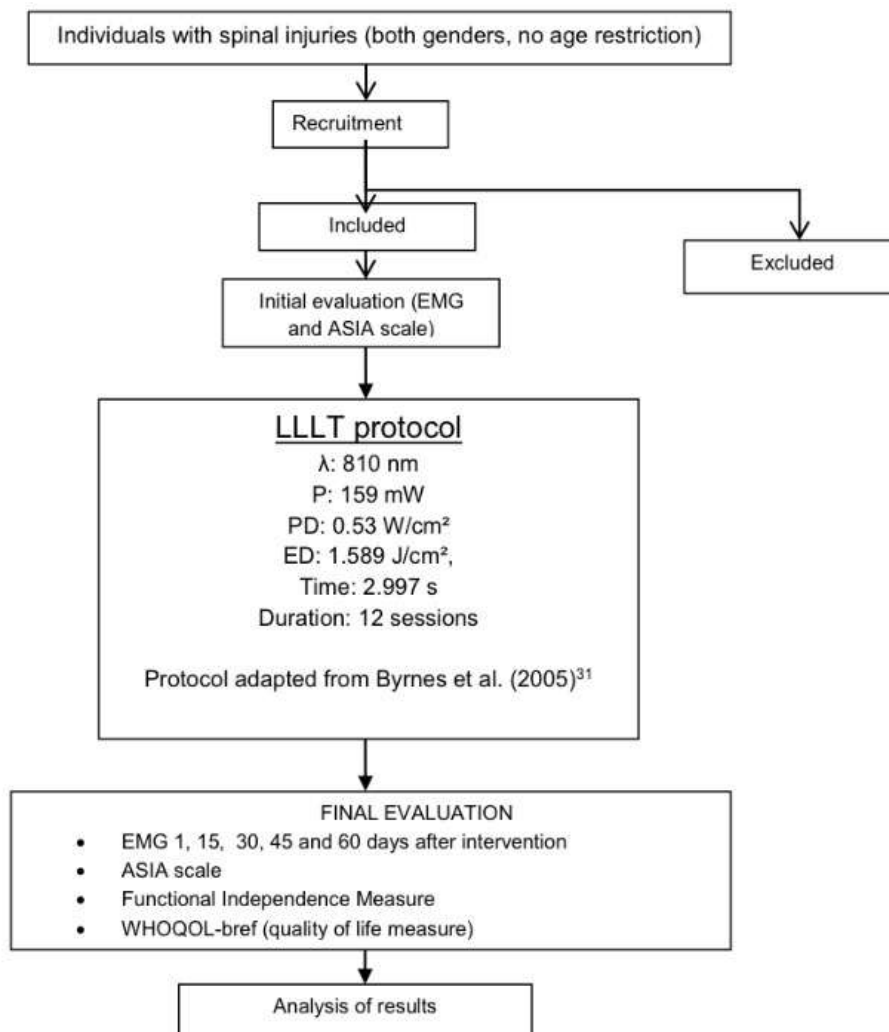


Figure 1. Trial scheme

Parameters	Infrared
Wavelength (nm)	808
Mean radiant power (mW)	120
Aperture diameter (cm)	0.18
Power density (W/cm ²)	4.72
Energy density (J/cm ²)	983
Exposure time (seconds)	208
Total radiant energy (J)	25
Beam size (cm ²)	0.0254
Application method	Contact
Number of sessions	12
Operating mode	Continuous wave
Number of points irradiated	5

Table 1. Laser parameters

STANDARD NEUROLOGICAL CLASSIFICATION OF SPINAL CORD INJURY

MOTOR

KEY MUSCLES

	R	L
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
T1		
T2		
T3		
T4		
T5		
T6		
T7		
T8		
T9		
T10		
T11		
T12		
L1		
L2		
L3		
L4		
L5		
S1		
S2		
S3		
S4-5		

Elbow flexors
 Wrist extensors
 Elbow extensors
 Finger flexors (distal phalanx of middle finger)
 Finger abductors (little finger)

0 = total paralysis
 1 = palpable or visible contraction
 2 = active movement, gravity eliminated
 3 = active movement, against gravity
 4 = active movement, against some resistance
 5 = active movement, against full resistance
 NT = not testable

☐ Hip flexors
☐ Knee extensors
☐ Ankle dorsiflexors
☐ Long toe extensors
☐ Ankle plantar flexors

☐ Voluntary anal contraction (Yes/No)

TOTALS + = **MOTOR SCORE**
 (MAXIMUM) (50) (50) (100)

SENSORY

KEY SENSORY POINTS

0 = absent
 1 = impaired
 2 = normal
 NT = not testable

LIGHT TOUCH PIN PRICK

	R	L	R	L
C2				
C3				
C4				
C5				
C6				
C7				
C8				
T1				
T2				
T3				
T4				
T5				
T6				
T7				
T8				
T9				
T10				
T11				
T12				
L1				
L2				
L3				
L4				
L5				
S1				
S2				
S3				
S4-5				

☐ Any anal sensation (Yes/No)

TOTALS + = **PIN PRICK SCORE** (max: 112)
 (MAXIMUM) (56) (56) (56) (56)

TOTALS + = **LIGHT TOUCH SCORE** (max: 112)
 (MAXIMUM) (56) (56) (56) (56)

NEUROLOGICAL LEVELS

The most caudal segment with normal function

SENSORY
MOTOR

COMPLETE OR INCOMPLETE? ☐
 Incomplete = Any sensory or motor function in S4-S5
ASIA IMPAIRMENT SCALE

ZONE OF PARTIAL PRESERVATION
 Partially innervated segments

SENSORY
MOTOR

Figure 2. Standardization of the Neurological Classification of Spinal Cord Injury

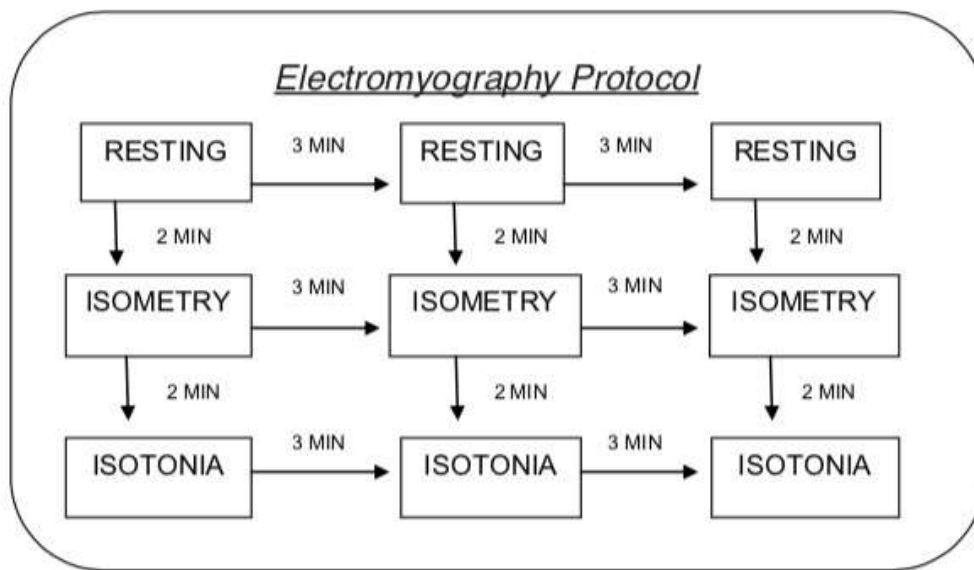


Figure 3. Electromyography protocol

7.8. Anexo 8 - Artigo 2 -

Photobiomodulation improves motor response in patients with spinal cord injury submitted to electromyographic evaluation: randomized clinical trial

Fernanda Cordeiro da Silva, Andréa Oliver Gomes, Paulo Roberto da Costa Palácio, Fabiano Politti, Daniela de Fátima Teixeira da Silva, Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Kristianne Porta Santos Fernandes, Sandra Kalil Bussadori

Abstract

Background: Photobiomodulation is a treatment that has been widely used in neurotrauma and neurodegenerative diseases. In the present study, low-level laser therapy was administered to patients with spinal cord injury.

Methods: Twenty-five individuals were divided into two groups: placebo photobiomodulation plus physiotherapy and active photobiomodulation plus physiotherapy. Electromyographic evaluations were performed before and after 12 sessions of phototherapy as well as 30 days after the end of treatment.

Results: In the active phototherapy group, median frequency values of the brachial biceps and femoral quadriceps muscles were higher at rest and during isotonic contraction 30 days after photobiomodulation ($p = 0.0258$). No significant results were found regarding the rest and isotonic conditions in the pre-photobiomodulation period ($p = 0.950$) or immediately following photobiomodulation ($p = 0.262$).

Conclusion: The data provide evidence that phototherapy improves motor responses in individuals with spinal cord injury, as demonstrated by differences in the EMG signal before and after treatment.

Trial registration: NCT 03031223.

Keywords: Spinal injuries, phototherapy, electromyography.

Introduction

Spinal cord injury (SCI) can lead to paraplegia or quadriplegia, exerting a significant impact on quality of life and life expectancy as well as economic burden in the form of the considerable costs associated with primary care and the loss of income [1].

The regenerative process after the occurrence of SCI is very complex and current therapeutic approaches fail to promote functional recovery. However, it is generally agreed that it is essential to modulate the initial inflammatory process and control secondary tissue loss related to SCI in order to offer a more appropriate environment for the stimulation of neuroplastic processes [2,3].

Although there are no fully restorative treatments for SCI, many rehabilitative, cellular and molecular therapies have been tested using animal models. Among these treatments, the stimulatory effects of photobiomodulation on biological tissues have been highlighted [1, 2]. Photobiomodulation has been found to stimulate mitochondrial activity/function as well as increase the synthesis of ATP, the amount of reactive oxygen species and the activity of cytochrome c oxidase [5]. As the mechanism of photobiomodulation is proposed to rest on the absorption of photons by cytochrome c oxidase (CCO), which is the terminal enzyme in the mitochondrial respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to energy metabolism, an increase in CCO activity translates to greater oxygen uptake and energy metabolism is produced through mitochondrial oxidative phosphorylation. As CCO is an inducible enzyme, a longer metabolic effect is achieved by the concentration of CCO regulated by LLLT, which improves the capacity for the metabolism of cellular oxygen. As neurons are highly dependent on the metabolism of oxygen, this photon-bioenergetic effect results in metabolic and hemodynamic changes that facilitate neuronal functioning. A previous study involving neuron cultures demonstrated that the most effective wavelengths were near the infrared band, parallel to the absorption peaks of CCO, demonstrating that the effects of

phototherapy on CCO depend on the wavelength of the laser used for stimulation [17, 18].

Using an experimental SCI model in rats, Song et al. [3] found that 810 nm laser altered the polarization state to an M2 tendency, reporting the potential for reducing inflammation, regulating macrophage/microglia polarization and promoting neuronal survival. Also using an experimental SCI model in rats, Wu et al. [4] found that low-level laser therapy (LLLT) (810 nm, 150 mV, 1589 J/cm²) increased axonal regeneration and improved functional recovery.

An important systematic review reports that all studies involving animal models demonstrate the positive results of phototherapy with regard to spinal tissue regeneration and functional improvement. The only study involving humans showed that the combination of cell transplantation and laserpuncture (irradiation at acupuncture points rather than at the injury site) was able to promote some voluntary activity below the level of the SCI. Different laser parameters, such as different wavelengths, produce similar results, but the variety of parameters shows the lack of standardization in studies, making it difficult for researchers and clinicians to know which parameters to employ [5].

To enable a better evaluation of the motor response in muscles, electromyography (EMG) has been employed as an important complementary method that captures information on the electrical activity of muscles of interest. EMG can assist in the determination of ducts, demonstrate results obtained through specific therapies and offer information on different forms of muscular contraction [6, 12].

The main question guiding the present study regards possible modifications in the behavior of muscles affected by spinal cord injury submitted to photobiomodulation with regard to electrical activity and muscle contraction, starting from the hypothesis that such modifications would be expected.

Methods

This study received approval from the Human Research Ethics Committee of the university under protocol CAAE: 56952716.2.0000.5511. All participants or their legal guardians received clarifications regarding the objectives and

procedures of the study and those agreeing to participate signed a statement of informed consent.

Recruitment: Individuals were recruited from the physical therapy clinics of University Nove de Julho (São Paulo, Brazil) as well as spinal injury associations.

Inclusion criteria: Partial spinal injury, patients with quadriplegia or paraplegia, injury between C3 and L5 and up to one year elapsed since the injury and ASIA B, C and D.

Exclusion criteria: Complete spinal cord injury, cognitive impairment, ASIA A and E.

Randomization and blinding procedures

Individuals were allocated to different groups based on numbers randomly generated by a randomization site (randomization.com). Allocation was concealed with the use of sealed opaque envelopes. Each envelope was numbered and contained the name of a participant. The envelopes were randomly selected using the randomization site, with the formation of the control group (placebo photomodulation plus physiotherapy) or PBM group (active photobiomodulation plus physiotherapy). EMG evaluations were performed before and after the intervention as well as 30 days after the end of treatment.

Physiotherapy protocol

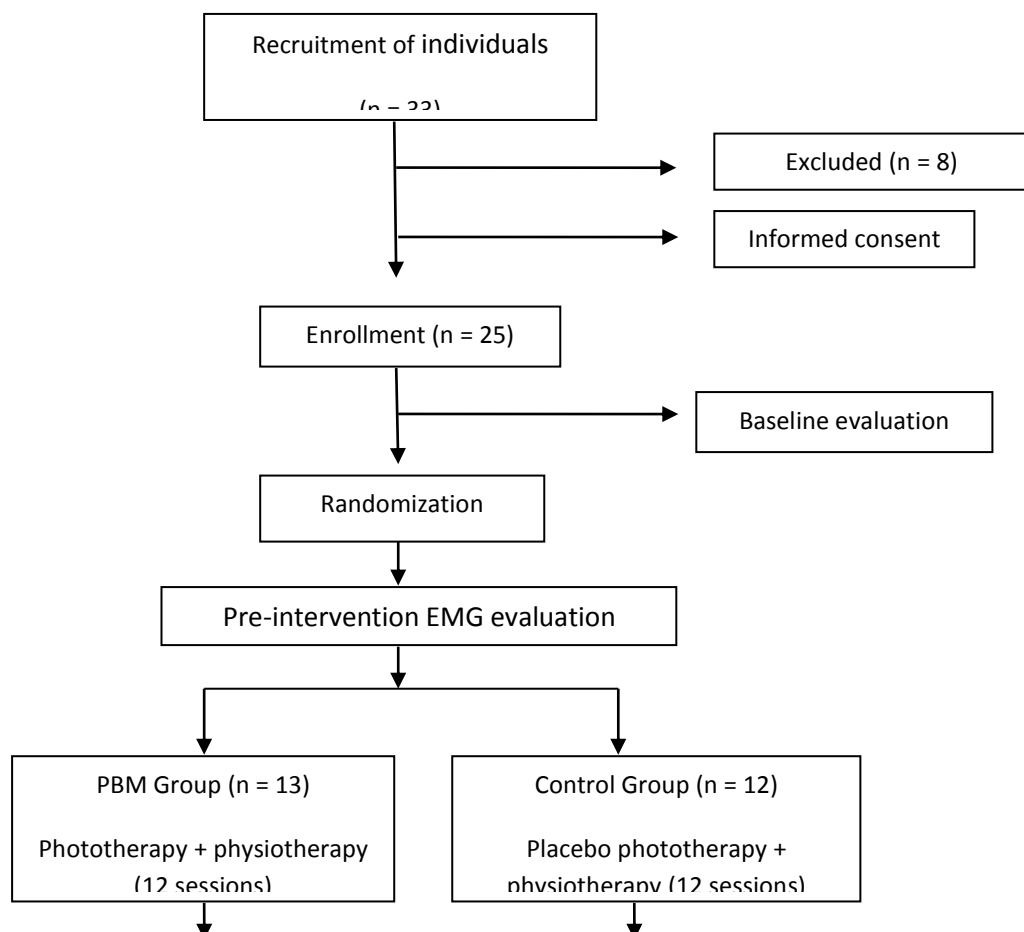
All individuals in both groups underwent physiotherapy at the Physiotherapy Clinics of Nove de Julho University prior to receiving photobiomodulation. Forty-minute sessions of conventional physiotherapy (stretching, strengthening, sensory training and proprioceptive training) were held three times a week for four weeks.

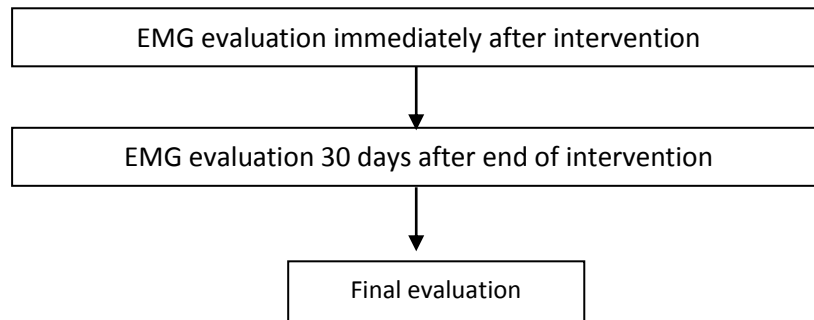
Experimental protocol

Thirty-three individuals with spinal cord injury were recruited. Eight individuals were excluded: two patients had a diagnosis of complete spinal cord injury and the other six patients did not complete the phototherapy protocol. A larger number of patients were recruited than the minimum number determined by the sample calculation to compensate for possible losses of individuals during the study. The volunteers were randomly allocated to either the control group or treatment group. Evaluations were conducted before and after the intervention using electromyography to assess the motor response.

The phototherapy protocol was the same for both groups. The individuals were placed in lateral decubitus. The spinal injury was located through palpation of the transverse processes of the vertebrae. The operator placed the laser tip in contact with the skin at the previously marked spot. The device emits the same sound delineating the beginning and end of stimulation, giving the patient sound stimuli, but no irradiation was emitted in the placebo group.

Figure 1. Flowchart





The treatment group received phototherapy using a protocol based on Byrnes et al. [10] and Holanda et al.¹¹ Irradiation was administered transdermally to the injury site at a wavelength of 808 nm using a Quantum diode laser (Ecco Fibras e Dispositivos, Brazil). Twelve sessions were held (three per week over four weeks) using the parameters described in Table 1. According to the literature, this dose is capable of enhancing functional recovery following an injury.¹⁸

Table 1 – Laser parameters

Parameter	Infrared laser
Center wavelength [nm]	808
Spectral bandwidth [nm]	10
Operating mode	Continuous
Average radiant power [mW]	120
Polarization	Random
Aperture diameter [cm]	0.18
Irradiance at aperture [W/cm ²]	4.72
Beam spot size at target [cm ²]	0.0254
Irradiance at target [W/cm ²]	4.72
Exposure duration [s]	208 (per point)
Radiant exposure [J/cm ²]	983 (per point)

Energy density at aperture [J/cm ²]	983 (per point)
Radiant energy [J]	25 (per point)
Number of points irradiated	5
Area irradiated [cm ²]	0.0254
Application technique	Contact
Number and frequency of treatment sessions	Three per week over four weeks (12 sessions)

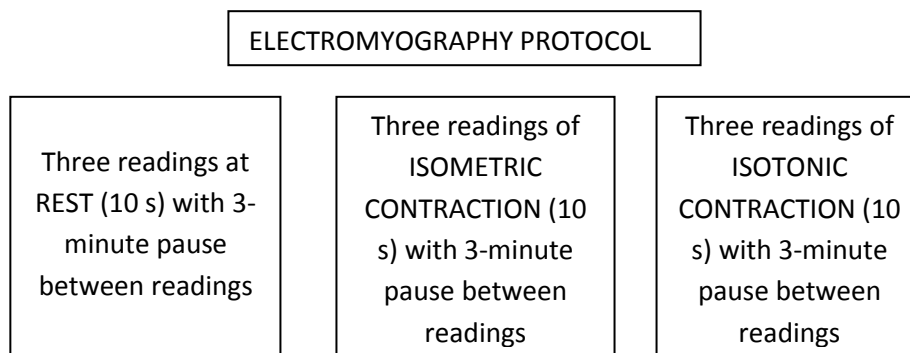
Electromyography

The EMG signals were captured using a four-channel acquisition system (EMG 432 C, EMG System do Brasil Ltda.) consisting of a signal conditioning module, bipolar active electrodes, analog band pass filter from 20 to 500 Hz and common mode rejection ratio of 120 dB. The sampling frequency was 2 kHz, scanned using analog/digital (A/D) conversion board with 16 bits of resolution. The acquisition program was the EMG Lab (EMG System do Brasil Ltda.). Active bipolar electrodes with 20-fold pre-amplification were used. After cleaning the skin with 70% alcohol to decrease impedance, self-adhesive disposable Ag/AgCl surface electrodes (Nexoran) with a diameter of 10 mm were attached to the belly of the muscle in the region of greatest tonus. The inter-electrode distance was 20 mm center to center, as suggested by the European Society Recommendations for Surface Electromyography (SENIAM) (FRERIKS, 2000). The electrodes were placed on the right brachial biceps muscle in quadriplegic patients and the right femoral quadriceps muscle in paraplegic patients. As reference, an electrode was placed in the left hand of the individuals to prevent the effect of interference from external noise.

The EMG activity of the muscles was determined under three conditions: i) rest, ii) isometric contraction (maximum voluntary clenching – MVC) and

isotonic contraction. The individuals were placed in the positions recommended by SENIAM to collect the EMG signals. The resting signal was collected first, followed by isometric contraction and finally isotonic contraction. All readings were extracted with a cut of one second before and one second after the center of the EMG signal. For the normalization of the EMG data, the mean of three MVC readings was used, employing the muscle function test suggested by Kendall (1993). Each reading lasted 10 seconds, always respecting a rest two-minute interval between conditions to avoid the effects of fatigue (Figure 2). The individuals were asked to perform isometric contraction for the purposes of normalizing the EMG signal. However, as some individuals did not exhibit visually perceptible contractions, it was not possible to use this evaluation. Thus, the electromyographic response was evaluated based on median frequency.

Figure 2. Electromyography protocol



Statistical analysis

The level of significance for all statistical tests was $\alpha = 5\%$. The Anderson-Darling test was used to determine the normality of the data, which proved to be not normally distributed, requiring nonparametric tests. Thus, the Kruskal-Wallis was used to determine difference between groups and the Mann-Whitney test was used for the analysis of the variables within the same group.

Results

Table 2 – Characterization of sample

Gender	Frequency	Percent
Male	22	88.0
Female	3	12.0
Level of Injury		
Paraplegic	16	64.0
Quadriplegic	9	36.0
Groups		
Control	12	48.0
Laser	13	52.0

Median frequency values of the EMG signals were compared to determine differences between the control and laser groups under the conditions of rest and isotonic contraction. Fig. 3 displays the results expressed in median and interquartile range (25 to 75%).

In the intra-group analysis of the laser group, median frequency values of the brachial biceps and femoral quadriceps muscles were higher at rest and during isotonic contraction 30 days after photobiomodulation ($p = 0.0258$; Mann-Whitney test). No significant results were found regarding the rest and isotonic conditions in the pre-photobiomodulation period ($p = 0.950$) or immediately following photobiomodulation ($p = 0.262$).

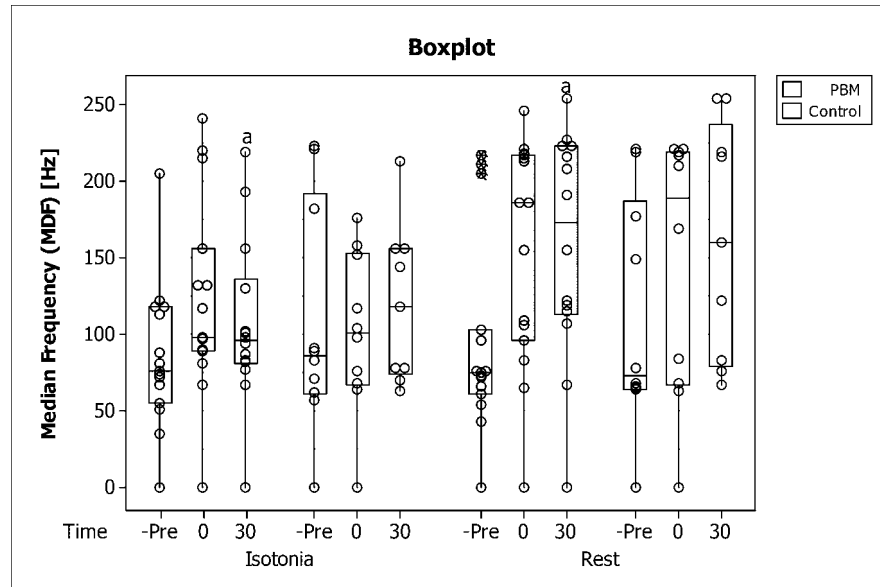


Fig 3 – Median (25%, 75% quartile) of median frequency recorded at rest and during isotonic contraction before (pre), immediately after treatment (time 0) and 30 days after treatment (time 30). Letter “a” indicates statistically significant difference ($p = 0.0258$).

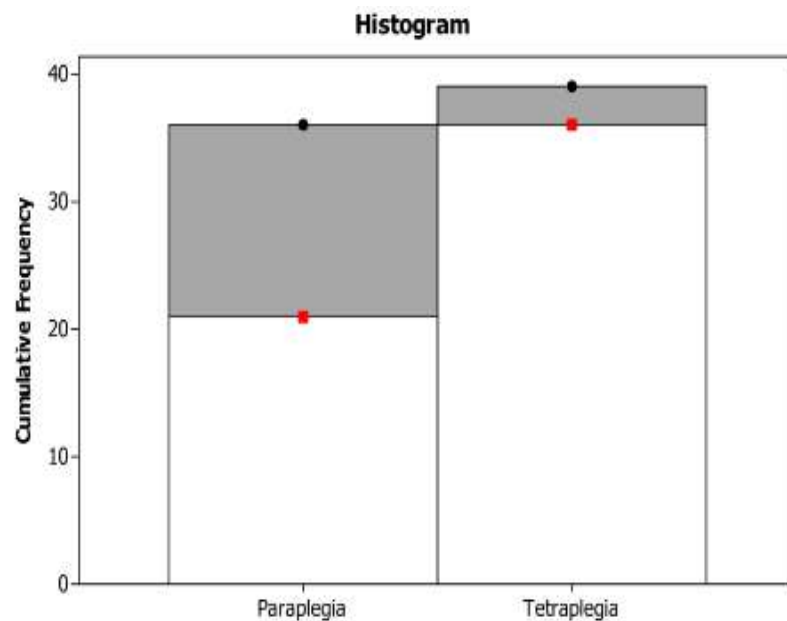


Figure 4 – Proportion between paraplegic and quadriplegic patients (histogram)

The proportion between paraplegia and quadriplegia was compared between groups using the chi-square test corrected by Fisher's exact test, with the level

of significance set at $\alpha = 5\%$. No significant difference was found between groups ($p = 0.0730$) (Figure 4).

In the intra-group analysis of the control group, no statistically significant results were found regarding the rest and isotonic conditions in the pre-photobiomodulation period ($p = 0.850$), immediately after photobiomodulation ($p = 0.226$) or 30 days after photobiomodulation ($p = 0.184$).

In the intergroup analysis (Kruskal-Wallis test), no statistically significant differences were found at rest immediately after photobiomodulation ($p = 0.934$) or 30 days after photobiomodulation ($p = 0.900$). Moreover, no statistically significant differences were found during isotonic contraction immediately after photobiomodulation ($p = 0.542$) or 30 days after photobiomodulation ($p = 0.850$).

Discussion

Skeletal muscles are innervated by inferior motor neurons from the ventral horn of the spinal cord. The axons of these neurons form the ventral roots, which join with the dorsal roots (that transmit sensory information) and either form mixed spinal nerves or project through spaces between the vertebrae. The inferior motor neurons are classified as alpha and gamma and are responsible for the innervation of muscle fibers and the generation of force by muscles. A motor unit is formed by the motor neuron and the extrafusal muscle fibers that the neuron innervates; the number of muscle fibers that compose a motor unit varies depending on the muscle and its specialization in the composition of a given movement [6, 7].

When a motor unit is activated, the muscle contracts and action potentials are generated that can be captured and recorded with the use of electromyography. In this exam, the sum of the potentials are transformed into analog signals (graphs) that represent the discharge of all muscle fibers pertaining to the alpha motor unit [6, 7, 12].

In the investigation of the force or velocity of a muscle contraction, the amplitude of the EMG signal can be affected by factors that are not relevant to the production of force, such as the shape of the wave of the action potential of the motor unit. Moreover, the non-linear relationship between the response size and amplitude of the rectified EMG signal as well as changes in the amplitude of movement of the signal due to cancelling limit the possibility of using the amplitude of the EMG signal as a variable to indicate the specific characteristics of the brachial biceps and femoral quadriceps muscles evaluated in the present study. Another disadvantage of analyses in the time domain is the need to record an additional EMG signal during the maximum volumetric period that can serve as a parameter for the normalization of the crude EMG signal [12]. Many studies in the literature use the median frequency (MDF) to investigate muscle fatigue. This index can also be used to investigate other muscle phenomena. Due to the difficulty many patients have in performing voluntary muscle contractions, we used MDF as the parameter, since the root mean square (RMS) amplitude requires normalizing the signal by maximum voluntary contraction.

Few studies have addressed the use of phototherapy in cases of SCI. Paula et al. [13] found faster motor evolution in rats with spinal contusion submitted to phototherapy, with the maintenance of the effectiveness of the urinary system, the preservation of nerve tissue in injured areas, inflammation control and an increased number of nerve cells and connections. Using a spinal cord crush injury model in rats, Song et al. [3] found that phototherapy altered the polarization state to a tendency toward M2 and increased levels of interleukin 4 and interleukin 3, demonstrating the potential to reduce inflammation, regulate macrophage/microglia polarization and promote neuronal survival.

Only one study involving human subjects was conducted to evaluate the capacity of cell transplantation (olfactory ensheathing glia [OEG]) combined with Laserpuncture® with regard to restoring voluntary muscle activity below the level of the injury [14]. Three clinical cases (two men and three women aged 25 to 37 years) of SCI between T4 and T9 classified as paraplegics were analyzed.

Several months after being submitted to OEG transplantation, the patients underwent 40 to 57 sessions of laserpuncture involving infrared laser applied to eight points following the paths of the acupuncture meridians (kidneys, stomach, *Ren Mai* and *Dai Mai* in the anterior region of the body and *Chong Mai*, bladder and *Daí Mai* in the posterior region of the body as well as over dermatomes that are not part of classic acupuncture). Twenty-minute sessions were held twice a day (morning and afternoon) five days a week with an interval of eight weeks between each two sets of sessions (each ten sessions). The Laserpuncture® properties and parameters were not divulged due to the proprietary nature of the technique. For the evaluation of muscle activity, adhesive electrodes were attached to the skin 15 cm above the patella on the belly of the right and left quadriceps muscles. The results suggest some degree of voluntary muscle contraction below the level of the injury in the three individuals.

This is the first randomized controlled study in which the role of phototherapy was evaluated in patients with spinal cord injury. The results demonstrate that phototherapy stimulated the injured tissue, achieving an improved motor response. The EMG data demonstrate a difference in comparison to the pre-intervention evaluation, with higher MDF values at rest and during isotonic contraction 30 days after the end of treatment. MDF is related to the firing and synchronism of motor units. An increase in MDF indicates either an improvement in the firing synchronism of the motor units or an increase in the firing frequency of the motor units. Thus, LLLT may contribute to an improvement in motor recruitment.

The activity of a motor neuron is controlled by three pathways that modulate different aspects of its activity. The first pathway is formed by ganglion cells of the dorsal root that inform the length of the muscle innervated by the alpha neuron. The second pathway is important to the initiation of the control of voluntary movement that stems from motor neurons of the brainstem and motor cortex. The third pathway is composed of interneurons of the spinal cord and is responsible for spinal motor programs [6,7]. One may suggest that phototherapy in the present study promoted the firing of motor neurons through

the early activation of the third pathway of inferior motor neurons, as demonstrated by the increase in the median frequency of the EMG signal. In a scan of the literature, we found no studies that employed median frequency analysis in patients with SCI.

The findings of this initial investigation demonstrate that phototherapy exerted positive effects on the behavior of motor function, especially at rest and during isotonic contraction of the muscles stimulated. It therefore appears that long-term phototherapy could result in improvements in the motor function of affected limbs. As this is the first randomized clinical trial involving patients with SCI submitted to photobiomodulation, further studies should be developed to furnish more information and evaluate the effects of phototherapy on neuroplasticity following a spinal cord injury.

Conclusion

In the present study, phototherapy was effective at promoting a motor response in individuals with spinal cord injuries, as demonstrated by the electromyographic analysis. Studies investigating the effects of different laser parameters on spinal cord recovery are important to determining the effectiveness and safety of laser irradiation as well as the treatment parameters necessary for stimulation.

Ancillary and post-trial care – At the end of the study, all volunteers allocated to the control group received phototherapy with the same protocol administered to the treatment group to avoid any inequality regarding treatment among the individuals.

Competing interests – The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Thuret S, Moon LDF, Gage FH. Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nature* 2006;7:628-43. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn1955>
2. Veronez, S., Assis, L., Del Campo, P., de Oliveira, F., de Castro, G., Renno, A. C. M., & Medalha, C. C. (2016). Effects of different fluences of low-level laser therapy in an experimental model of spinal cord injury in rats. *Lasers in Medical Science*, 1-7.
3. Song, J. W., Li, K., Liang, Z. W., Dai, C., Shen, X. F., Gong, Y. Z., ... & Wang, Z. (2017). Low-level laser facilitates alternatively activated macrophage/microglia polarization and promotes functional recovery after crush spinal cord injury in rats. *Scientific Reports (Nature Publisher Group)*, 7, 1.
4. Wu, X., Dmitriev, A. E., Cardoso, M. J., Viers-Costello, A. G., Borke, R. C., Streeter, J., & Anders, J. J. (2009). 810 nm Wavelength light: an effective therapy for transected or contused rat spinal cord. *Lasers in surgery and medicine*, 41(1), 36-41.
5. Abreu, E.M.C., Nicolau R.A. (2015). Low intensity laser therapy on regeneration of nervous tissue after spinal cord injury. *Rev Neurocienc*, 23 (2), 297-304.
6. <https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/medicina/neuronio-motor-periferico/16308> (citado em 05/2017).
7. http://midia.atp.usp.br/impressos/redefor/EnsinoBiologia/Fisio_2011_2012/Fisiologia_v2_semana02.pdf (citado em 05/2017).
8. Alves, A. N., Ribeiro, B. G., Fernandes, K. P. S., Souza, N. H. C., Rocha, L. A., Nunes, F. D., Mesquita-Ferrari, R. A. (2016). Comparative effects of low-level laser therapy pre-and post-injury on mRNA expression of

- MyoD, myogenin, and IL-6 during the skeletal muscle repair. *Lasers in medical Science*, 31(4), 679-685.
9. Nguyen DH, Cho N, Satkunendrarajah K, Austin JW, Wang J, Fehlings MG (2012) Immunoglobulin G (IgG) attenuates neuroinflammation and improves neurobehavioral recovery after cervical spinal cord injury. *J Neuroinflammation* 21:224. doi:10.1186/1742- 2094-9-224
 10. Byrnes, K. R., Waynant, R. W., Ilev, I. K., Wu, X., Barna, L., Smith, K., Heckert, R., Gerst, H. and Anders, J. J. (2005), Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. *Lasers Surg. Med.*, 36: 171–185. doi: 10.1002/lsm.20143).
 11. Holanda VM, Chavantes MC, Silva DFT, Holanda CVM, Oliveira JO, et al. Photobiomodulation of the dorsal root ganglion for the treatment of low back pain: A pilot study. *Lasers Surg Med.* 2016 May 2. doi: 10.1002/lsm.22522.
 12. Politti, F., Casellato, C., Kalytczak, M. M., Garcia, M. B. S., & Biasotto-Gonzalez, D. A. (2016). Characteristics of EMG frequency bands in temporomandibular disorders patients. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 31, 119-125.
 13. Paula AA, Nicolau RA, Lima MO, Salgado MAC, Cogo JC. Low-intensity laser therapy effect on the recovery of traumatic spinal cord injury. *Lasers Med Sci* 2014; 29: 1849-59. <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-014-1586-4>
 14. Bohbot A. Olfactory Ensheathing Glia Transplantation Combined With Laserpuncture® in Human Spinal Cord Injury: Results Measured by Electromyography Monitoring. *Cell Transplant* 2010;19:179-84. <http://dx.doi.org/10.3727/096368910X492643>

15. X. Wang, F. Tian, S. S. Soni, F. Gonzalez-Lima, and H. Liu, "Interplay between up-regulation of cytochrome-c-oxidase and hemoglobin oxygenation induced by near-infrared laser," *Sci Rep*, vol. 6, p. 30540, 2016.
16. X. Wang, F. Tian, D. D. Reddy, S. S. Nalawade, D. W. Barrett, F. Gonzalez-Lima, et al., "Up-regulation of cerebral cytochrome-c-oxidase and hemodynamics by transcranial infrared laser stimulation: A broadband near-infrared spectroscopy study," *J Cereb Blood Flow Metab*, p. 271678X17691783, Jan 01 2017.

7.9. Anexo 9 - Artigo 3

Sensory responses and perceptions following photobiomodulation administered to patients with incomplete spinal cord injury

Fernanda Cordeiro da Silva, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, fera2408@hotmail.com;

Paulo Roberto da Costa Palácio, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, paulopalacio@live.com;

Andréa Oliver Gomes, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, an_oliver@hotmail.com;

Tamiris da Silva, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, tamiris.slv@hotmail.com;

Daniela de Fátima Teixeira da Silva, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, fatesi@uol.com.br;

Lara Jansiski Motta, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, larajmotta@terra.com.br;

Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, raquel.mesquita@gmail.com;

Kristianne Porta Santos Fernandes, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, kristianneporta@uninove.br;

Sandra Kalil Bussadori, Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brazil, sandra_skb@gmail.com;

Abstract

Background: Photobiomodulation is a noninvasive treatment that has been widely used in neurotrauma and neurodegenerative diseases. In the present

study, low-level laser therapy was administered in cases of spinal cord injury to investigate the sensory responses and perceptions of patients.

Methods/Design: Twenty-five patients were divided into two groups: placebo controlled plus physiotherapy and photobiomodulation plus physiotherapy. Photobiomodulation was performed three times per week for a total of 12 sessions. The control group was submitted to sham photobiomodulation. All individuals were evaluated using the ASIA scale and a sensory perception questionnaire before, immediately after and 30 days after photobiomodulation. The data were analyzed statistically, with a p-value < 0.05 considered indicative of statistical significance.

Results: Thirteen types of sensory-motor changes were reported, with a significant difference between groups regarding “trace contractions” ($p = 0.041$). In the intragroup analysis of the photobiomodulation group, statistically significant differences were found between the pre-intervention and follow-up evaluations ($p = 0.004$) as well as between the post-intervention and follow-up evaluations ($p = 0.009$), but no significant differences were found between the pre-intervention and post-intervention evaluations (0.621). No significant differences were found in the control group between any of the evaluation times.

Conclusion: The results offer valuable clinical evidence for the objective evaluation of the potential benefits and risks of such procedures and demonstrate that photobiomodulation is a promising, noninvasive, effective approach for the treatment of sensory-motor alterations in patients with spinal cord injuries.

Trial registration: NCT 03031223.

Keywords: Spinal Injury, Phototherapy, Sensory Thresholds, Sensory Deprivation.

Background

Spinal injury is a devastating condition with physical, emotional, psychological, social and financial repercussions for affected individuals and their families.^{1,2} This type of injury impedes the performance of functional activities due to the partial or complete interruption of ascending sensory and descending motor pathways.^{3,4}

Following a spinal cord injury, the superior centers (such as the cerebral cortex) become disconnected from circuits below the level of the injury, including central pattern generators, which are responsible for coordinating activities of locomotion.^{5,6} This disconnection results in the death of diverse neurons in and around the injury.⁵ The conduction of sensory and motor information is affected by the interruption of ascending and descending spinal tracts, respectively. This leads to the loss of the adequate perception of sensory stimuli (epicritical and protopathic sensations) and imprecision in the organization of motor behavior.⁴

The sensations of pressure, touch, vibration and pain are extremely diminished when the dorsal columns of the spinal cord are affected. The individual becomes incapable of discriminating different sensations and the characteristics of these sensations, such as frequency, duration and intensity. This has a direct negative impact on motor control, which depends on sensory feedback.⁷

The American Spinal Injury Association (ASIA) defines a spinal cord injury as a reduction in or loss of motor and/or sensory and/or anatomic function. Such injuries can be complete or incomplete, depending on the degree of impairment of the neuronal elements within the vertebral canal. The manifestation of the injury is classified as paraplegia or paraparesis if the injury is below the T1 level and quadriplegia or tetraparesis if the injury is above this level.⁸

ASIA created an impairment scale based on the type of injury (complete or incomplete) to classify spinal injuries in the following manner: ASIA A: complete injury, absent motor and sensory function at S4-5. ASIA B: incomplete

injury, intact sensory function, but absent motor function below the neurological level of the injury and inclusion of the S4-5 level. ASIA C: incomplete injury, intact motor function below the level of the injury and more than half of the key muscles below the neurological level with muscle grade less than 3 on a scale of zero to 5. ASIA D: incomplete injury, motor function intact below the level of the neurological injury and more than half of the key muscles below this neurological injury with a muscle grade equal to or greater than 3. ASIA E: normal, motor and sensory functions intact.⁹

Upon receiving an external stimulus, the central nervous system adapts and reorganizes itself using mechanisms to compensate for the neuronal loss and promote, even if partially, the remodeling of connections and new neuronal sprouting.^{10,11} Unfortunately, injured neurons in the central nervous system are unable to regenerate after a spinal cord injury and this continues to pose a challenge to neuroscience and neurology.¹² Considering this gap in knowledge, many of the most interesting light therapies using photobiomodulation are in the field of neurology (central and peripheral).

The aim of the present study was to investigate the sensory response and perception of the patients with spinal cord injuries submitted to photobiomodulation therapy.

Material and Methods

This study received approval from the Human Research Ethics Committee of the university (certificate number: 56952716.2.0000.5511). All participants or their legal guardians received clarifications regarding the objectives and procedures of the study and those agreeing to participate signed a statement of informed consent.

Recruitment: Individuals were recruited from the physical therapy clinics of University Nove de Julho (São Paulo, Brazil) as well as spinal injury associations.

Inclusion criteria: Partial spinal injury, patients with quadriplegia or paraplegia, injury between C3 and L5, up to one year elapsed since the injury and ASIA B, C and D.

Exclusion criteria: Complete spinal cord injury, cognitive impairment, ASIA A and E.

Randomization and blinding procedures

The participants were allocated to different groups based on numbers randomly generated using a randomization site (randomization.com). Allocation was concealed with the use of sealed opaque envelopes. Each envelope was numbered and contained the name of a participant. The envelopes were randomly selected with the formation of the control group first (placebo controlled plus physiotherapy group), followed by the photobiomodulation plus physiotherapy group.

Experimental protocol

Thirty-three patients with spinal cord injury were recruited. Eight patients were excluded: two patients had a diagnosis of complete spinal cord injury and the other six patients did not complete the phototherapy protocol. A larger number of patients were recruited than the minimum number determined by the sample calculation to compensate for possible dropouts during the study. The volunteers were randomly allocated to either the placebo controlled plus physiotherapy group (PC+P) or photobiomodulation plus physiotherapy group (P+P). Evaluations were conducted before and after the intervention using the ASIA scale for the evaluation of dermatomes and myotomes as well as a sensory-motor perception questionnaire.

Physiotherapy protocol

All individuals, both the Placebo Controlled Group and the Photobiomodulation Group, underwent physiotherapy at the Physiotherapy Clinics of Nove de Julho University prior to receiving the photobiomodulation. There were 40 minutes sessions, three times a week for four weeks where conventional physiotherapy

was performed, such as: stretching, strengthening, sensory and proprioceptive training.

Figure 1. Flowchart

The treatment group received phototherapy using a protocol based on Byrnes et al.¹³ and Holanda et al.¹⁴ Irradiation was administered to the injury site transcutaneously at a wavelength of 808 nm using a Quantum diode laser (Ecco Fibras e Dispositivos, Brazil). Twelve sessions were held (three per week over four weeks) using the parameters described in Table 1. According to the literature, this dose is capable of enhancing functional recovery following an injury.¹⁵

Table 1 – Laser parameters

Sensitivity was evaluated using the ASIA impairment scale based on the type of injury (incomplete or complete) and sensory-motor function.⁸ Two types of surface sensitivity were analyzed: pain and light touch. Pain was evaluated through stimulation with a sharp pin and light touch was evaluated using a cotton ball following the dermatome map.

The individuals were instructed to fill out a sensory-motor perception questionnaire after the photobiomodulation protocol as well as 30 days after the last photobiomodulation session. On the questionnaire, the individuals reported their perceptions regarding sensory-motor improvement or loss.

Statistical analysis

The level of significance for all statistical tests was $\alpha = 5\%$. The Shapiro Wilk test was used to determine the normality of the data, which proved to be parametric. The independent Student's t-test was used to determine differences between groups and the paired Student's t-test was used for the analysis of

variables within the same group. The chi-square test with correction of Fisher's exact test was used to analyze the frequency of sensory-motor symptoms reported by the patients.

Results

The sample comprised 25 individuals (22 men and three women). Nine individuals were paraplegic and 16 were quadriplegic. After the random allocation process, the photobiomodulation group comprised 13 participants and the control group comprised 12 participants. The most frequent causes of spinal cord injury were firearm incident, fall from a height, automobile accident, spinal cord tumor, herniated disc, fall from a bicycle, diving into shallow water and hypoxia of the abdominal aorta (figure 2)

Figure 2

Table 2

The responses to the sensory-motor perception questionnaire enabled the quantification of the changes reported by the participants after 12 sessions of photobiomodulation. Thirteen types of sensory-motor changes were reported. The chi-square test with correction by Fisher's exact test was used for the statistical analysis of the frequency with which such changes occurred in the different groups: tingling ($p = 0.561$), tactile sensitivity ($p = 0.561$), temperature ($p = 0.593$), pressure ($p = 1.000$), pain sensitivity ($p = 0.645$), pelvic region sensitivity ($p = 1.000$), perceived desire to defecate ($p = 0.593$), piloerection ($p = 0.593$), improved balance ($p = 0.220$), muscle spasms ($p = 0.202$), trace contractions ($p = 0.041$), strengthening of trunk ($p = 0.097$) and strengthening of lower limbs ($p = 1.000$).

Table 3

Table 3 displays the results of the comparisons of the motor index, tactile sensitivity and pain sensitivity between the photobiomodulation and control groups at the pre-intervention, post-intervention and follow-up evaluations. A tendency toward an improvement in these variables was found in the photobiomodulation group, but no statistically significant differences were found at any of the evaluation periods.

Table 4

In the intragroup analysis of the photobiomodulation group, statistically significant differences were found between the pre-intervention and follow-up evaluations ($p = 0.004$) as well as the post-intervention and follow-up evaluations ($p = 0.009$). However, no significant differences were found between the pre-intervention and post-intervention evaluations ($p = 0.621$).

Table 5

In the intragroup analysis of the control group, no statistically significant differences were found between any of the evaluation times: pre-intervention vs. post-intervention ($p = 0.269$), pre-intervention vs. follow up ($p = 0.696$) and post-intervention vs. follow up ($p = 0.940$).

Discussion

Spinal cord injury constitutes severe trauma to the central nervous system for which no effective restorative therapy yet exists. However, photobiomodulation exerts important biomodulating effects on tissues of the central and peripheral nervous system.

In the present study, spinal injury was more frequent among the male sex and firearm wounds were the most frequent cause of injury. These findings are in agreement with data described by the US National Spinal Cord Injury Statistical Center.¹⁶

Sensory systems represent the portion of the nervous system directly related to the reception, transmission and initial processing of information originating from the organism itself or the surrounding environment and used in the organization of the most varied responses. In the present study, an increase in the perception of trace contractions below the spinal cord injury was found 30 days after photobiomodulation therapy. This perception is of the utmost importance, as it is related to sensory improvement. An important aspect to consider is that motor behavior is not characterized solely by movements, but by the integration of different sensory subsystems. Bensmaia and Miller¹⁷ found that anesthesia of the hand makes it impossible to handle small objects, which confirms the importance of sensory integration prior to motor actions.

Statistically significant differences were found in the comparison of the pre-intervention, post-intervention and 30-day follow-up evaluations. The findings demonstrate the possible residual effects of photobiomodulation, as a significant sensory improvement was found 30 days after the completion of the treatment protocol. This is similar to findings described by Rochkind et al.,¹⁸ who found that photobiomodulation promoted the maintenance of the functional improvement of an injured nerve over time. In another study, Rochkind et al.¹⁹ demonstrated that photobiomodulation on an injured peripheral nerve led to a significant improvement in nerve recovery and diminished the degeneration of corresponding neurons in segments of the spinal column. In an extensive review article of experimental studies, Gigo-Benato et al.²⁰ also report the potential of photobiomodulation to promote the recovery of severely injured peripheral nerves.

No statistically significant differences were found in the control group between any of the evaluation times. This suggests the photobiomodulation administered directed over the spinal cord promotes an improvement in functional recovery, as no such improvement was found in the group submitted

to the sham protocol. This finding is in agreement with data described by Rochkind et al.,¹⁹ who report that irradiation directly on the spinal cord led to an improvement in the recovery of the corresponding injured peripheral nerve.

The sensory and perceptual results indicate that photobiomodulation, specifically laser irradiation at a wavelength of 808 nm, is capable of penetrating into the depth of the injured spinal cord, promoting sensory-motor improvements and, therefore, functional recovery. Likewise, Byrnes et al.¹³ report an significant increase in the number of axons and the distance of axonal sprouting.

No adverse effects of photobiomodulation were found in the present study, demonstrating that this is a promising therapy for the rehabilitation of a spinal cord injury in humans, which is in agreement with results reported by Wu et al.,²¹ and promotes benefits in cases of brain diseases, as demonstrated in several studies.²²⁻²⁷

Conclusion

The sensory improvement observed and the perception of this improvement by the patients in this study offer valuable clinical evidence that photobiomodulation is a promising, noninvasive, effective technique for the treatment of sensory-motor alterations in individuals with spinal injuries.

Limitations of the study – Due to restricted locomotion, some patients were unable to complete the photobiomodulation protocol.

Ancillary and post-trial care – At the end of the study, all volunteers allocated to the control group received active photobiomodulation with the same protocol administered to the treatment group to avoid any inequality regarding treatment among the individuals.

Competing interests – The authors declare no conflicts of interest.

Lista de abreviações

ASIA - American Spinal Injury Association

PC+P - placebo controlled plus physiotherapy group

P+P - photobiomodulation plus physiotherapy group

Referencias

1. Thuret S, Moon LDF, Gage FH. Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nature Reviews Neuroscience* 7, 628-643 (2006)
2. Joseph MS, Ying Z, Zhuang Y, Zhong H, Wu A, Bhatia HS, Cruz R, Tillakaratne NJ, Roy RR, Edgerton VR, Gomez-Pinilla F. Effects of diet and/or exercise in enhancing spinal cord sensorimotor learning. *PLoS One*. 2012;7(7):e41288
3. Hulsebosch CE, Hains BC, Crown ED, Carlton SM. Mechanisms of Chronic Central Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury. *Brain research reviews*. 2009;60(1):202-213. doi:10.1016/j.brainresrev.2008.12.010.
4. Dulin JN, Lu P. Bridging the injured spinal cord with neural stem cells. *Neural Regeneration Research*. 2014;9(3):229-231. doi:10.4103/1673-5374.128212.5. (Bradbury e McMahon, 2006;
6. Chet T. Moritz, Steve I. Perlmutter, Eberhard E. Fetz. Direct control of paralysed muscles by cortical neurons. *Nature* 456, 639-642 (2008).
7. Liao C-C, DiCarlo GE, Gharbawie OA, Qi H-X, Kaas JH. Spinal cord neuron inputs to the cuneate nucleus that partially survive dorsal column lesions: a pathway that could contribute to recovery after spinal cord injury. *The Journal of comparative neurology*. 2015;523(14):2138-2160. doi:10.1002/cne.23783.
8. Maynard FM, Bracken MB, Creasey G. International standards for neurological and functional classification of spinal cord injury. *Spinal Cord* 1997; 35: 266-274.
9. Delisa JA, Gans BM. *Tratado de Medicina de Reabilitação: Princípios e prática.*, 3ª edição, São Paulo, Editora Manole, 1ª edição brasileira, 2002.
10. Maluf AP, Ughini GC, Maluf RP, Pagnoncelli RM. Utilização de laser terapêutico em exodontia de terceiros molares inferiores. *RGO*. 2006;54:182-4.

11. Barreto JG, Salgado CG. Clinic-epidemiological evaluation of ulcers in patients with leprosy sequelae and the effect of low-level laser therapy on wound healing: a randomized clinical trial. *BMC InfectDis.* 2010;10:237-45.
12. Paula AA, Leite NCS, Fernandes CT, Kerppers II, Nicolau RA, Lima MO et al. Análise do efeito clínico do laser de baixa intensidade em ratos Portadores de lesão medular traumática. X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2010, 6p.
13. Byrnes, K. R., Waynant, R. W., Ilev, I. K., Wu, X., Barna, L., Smith, K., Heckert, R., Gerst, H. and Anders, J. J. (2005), Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. *Lasers Surg. Med.*, 36: 171–185.
14. Holanda VM, Chavantes MC, Silva DFT, Holanda CVM, Oliveira JO, et al. Photobiomodulation of the dorsal root ganglion for the treatment of low back pain: A pilot study. *Lasers Surg Med.* 2016 May 2.
15. Midha, R, Zager, EL. Nerve regeneration and nerve repair. *Neurol. Res.*, v. 30, p. 997-998, dec. 2008.
16. National Spinal Cord Injury Statistical Center. Spinal cord injury: facts and figures at a glance. *J Spinal Cord Med*, v. 36, n. 6, p. 715-716, 2013.
17. Bensmaia ,S. J., Miller L. E. (2014). Restoring sensorimotor function through intracortical interfaces: progress and looming challenges. *Nat. Rev. Neurosci.* 15, 313–325. 10.1038/nrn3724
18. Rochkind S, Drory V, Alon M, Nissan M, Ouaknine G. Laser phototherapy (780 nm), a new modality in treatment of long-term incomplete peripheral nerve injury: a randomized double-blind placebo controlled study. *Photomedicine and Laser Surgery*, 25 (5), 2007; 436-442.
19. Rochkind S, Barr-Nea L, Volger I. Spinal Cord response to laser treatment injured peripheral nerve. *Spine.* 15,6-10.
20. Gigo-Benato D, Geuna S and Rochkind S. (2005) Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: A review of the literature. *Muscle Nerve.* 31, 694-701.

21. Veronez S, Assis L, Del Campo P et al. Effects of different fluences of low-level laser therapy in an experimental model of spinal Cord injury in rats. *Lasers Med Sci* (2017) 32:343-349.
22. Wu X, Dmitriev AE, Cardoso MJ et al. 810 nm wavelength light: an effective therapy for transected or contused rat spinal cord. *Lasers Surg Med*. 2009; 41:36-41.
23. Giacci MK, Wheeler L, Lovett S, Dishington E, Majda B, Bartlett CA, Thornton E et al. Differential effects of 670 and 830 nm red near infrared irradiation therapy: a comparative study of optic nerve injury, retinal degeneration, traumatic brain and spinal cord injury. *PLoS One* 9:e104565.
24. Anders JJ. The potential of light therapy for central nervous system injury and disease. *Photomed. Laser Surg*. 27 (3), 379-380 (2009).
25. L. Detaboadá et al. Transcranial application of low-energy laser irradiation improves neurological deficits in rats following acute stroke. *Lasers Surg. Med*. 38 (1), 70-73 (2006).
26. P A Lapchak et al., Safety profile of transcranial near-infrared laser therapy administered in combination with thrombolytic therapy to embolized rabbits. *Stroke* 39 (11), 3073-3078 (2008).
27. A Oron et al. Low-level laser therapy applied transcranially to mice following traumatic brain injury significantly reduces long-term neurological deficits. *J. Neurotrauma* 24(4), 651-656 (2007).
28. T Ando et al. Comparison of therapeutic effects between pulsed and continuous wave 810nm wavelength laser irradiation for traumatic brain injury in mice. *Plos One* 6(10), e26212 (2011).
29. Wu et al. Pulsed light irradiation improves behavioral outcome in a rat model of chronic mild stress. *Lasers Surg. Med* 44(3), 227-232 (2012).