

Uso do fotobiomodulação no tratamento de osteoartrite de joelhos:avaliação da marcha
Use of photobiomodulation in the treatment of knees osteoarthritis: evaluation of march
Uso de la fotobiomodulación en el tratamiento de la osteoartritis de rodilla: evaluación
de marzo

Recebido: 02/09/2020 | Revisado: 11/09/2020 | Aceito: 16/09/2020 | Publicado: 19/09/2020

Eduardo Santos Trevisan

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2053-3678>

Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, Brasil

E-mail: eduardosantotrevisan@gmail.com

Cintia Cristina Martignago

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3980-6354>

Empresa Ibramed, Brasil

E-mail: csatimartignago@yahoo.com.br

Laurita dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6363-6837>

Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, Brasil

E-mail: laurita.santos@universidadebrasil.edu.br

Livia Assis

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8343-3375>

Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, Brasil

E-mail: livia.assis@universidadebrasil.edu.br

Daniela Bezerra Macedo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7220-5051>

Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, Brasil

E-mail: dani-lohane@hotmail.com

Soraia Salman

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6475-4387>

Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, Brasil

E-mail: soraia.salmam@hotmail.com

Richard Liebano

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8343-3375>

Universidade Federal de São Carlos, Brasil

E-mail: richarliebano@gmail.com

Carla Roberta Tim

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4745-9375>

Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil, Brasil

E-mail: carla.tim@universidadebrasil.edu.br

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar uso da terapia por fotobiomodulação a LED (diodo emissor de luz) na atividade funcional da marcha em animais com OA em joelhos. Para isso, 20 ratos da linhagem Wistar, machos, com dois meses de idade e massa corpórea média de 150 g foram utilizados. A indução da OA (osteoartrite) foi realizada no joelho esquerdo de todos os animais por meio da transecção do ligamento cruzado anterior (TLCA). 4 semanas após a indução da OA os ratos foram divididos aleatoriamente em grupo OA controle (OAC): animais sem nenhuma intervenção terapêutica e grupo OA LED (OAL): animais irradiados com LED. A avaliação da marcha foi realizada antes do início do tratamento com LED e após 4 semanas de tratamento com LED (850 nm, 200 mW, 30 seg, 6 J, 3 vezes por semana). A análise da marcha não demonstrou diferença significativa entre o grupo OAC e OAL. Assim, sugere-se que a terapia por fotobiomodulação a LED não foi capaz de promover alteração da marcha em animais.

Palavras-chave: Cartilagem articular; Osteoartrite; Terapia por fotobiomodulação; LED.

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the use of photobiomodulation therapy by LED (light emitting diode) in the functional activity of gait in animals with knee OA. For this, 20 male Wistar rats, two months old and with an average body mass of 150 g were used. OA (osteoarthritis) induction was performed on the left knee of all animals through the anterior cruciate ligament transection (ACLT). 4 weeks after OA induction, the rats were randomly divided into a control OA group (OAC): animals without any therapeutic intervention and an OA LED group (OAL): animals irradiated with LED. Gait assessment was performed before the start of LED treatment and after 4 weeks of LED treatment (850 nm, 200 mW, 30 sec, 6 J,

3 times a week). The analysis of gait did not lower the difference between the OAC and OAL group. Thus, it is necessary that an LED photobiomodulation therapy was not able to promote gait alteration in animals.

Keywords: Articular cartilage; Osteoarthritis; Photobiomodulation therapy; LED.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el uso de la terapia de fotobiomodulación LED (diodo emisor de luz) en la actividad funcional de la marcha en animales con OA de rodilla. Para ello se utilizaron 20 ratas Wistar macho, de dos meses de edad y con una masa corporal media de 150 g. La inducción de OA (osteoartritis) se realizó en la rodilla izquierda de todos los animales a través de la sección del ligamento cruzado anterior (TLCA). 4 semanas después de la inducción de OA, las ratas se dividieron aleatoriamente en un grupo de control de OA (OAC): animales sin ninguna intervención terapéutica y un grupo de LED de OA (OAL): animales irradiados con LED. La evaluación de la marcha se realizó antes del inicio del tratamiento con LED y después de 4 semanas de tratamiento con LED (850 nm, 200 mW, 30 segundos, 6 J, 3 veces por semana). El análisis de la marcha no redujo la diferencia entre el grupo OAC y OAL. Por tanto, es necesario que una terapia de fotobiomodulación con LED no sea capaz de promover la alteración de la marcha en animales.

Palabras clave: Cartílago articular; Artrosis; Terapia de fotobiomodulación; LED.

1. Introdução

Osteoartrite (OA) acomete a cartilagem articular sinovial e é caracterizada por sua degeneração, remodelamento do osso adjacente, assim como presença de osteófitos (Akhavan et al., 2018). É uma doença crônica que acarreta déficit nas AVDs (atividades de vida diária), pois é caracterizada por dor, rigidez, sensibilidade nas articulações e limitação de movimento (Kraan et al., 2017).

O uso de medicamentos que promovem a analgesia e anti-inflamatórios não esteroidais são as opções de tratamento para a OA. Medicamentos que proporcionam o alívio da dor, como os analgésicos são comumente prescritos e estão associados a efeitos colaterais significativos, especialmente em populações idosas (Hasegawa et al., 2018). A literatura demonstra que o exercício físico e/ou a redução de peso melhoram os sintomas da OA, entretanto, alguns fatores como fadiga, comorbidades e o processo de degeneração da cartilagem devido o processo artrítico dificultam a participação do paciente nessas

intervenções. Desta forma, a investigação de recursos terapêuticos efetivos para o tratamento da OA, especialmente de joelho, ainda é uma prioridade na pesquisa e prática clínica (Assis et al., 2018; Sit et al., 2018).

Diante do exposto, a terapia por fotobiomodulação (TFBM) tem se mostrado uma alternativa eficaz, essa terapia usa fontes de luz não ionizantes com finalidade terapêutica dentre estas fontes de luz o LED (diodo emissor de luz). Esta terapia tem mostrado a capacidade de prevenir a degradação da cartilagem articular e modular o processo inflamatório (Hamblin, 2013; Illescas-Montes et al., 2019). Entretanto, os efeitos da terapia por fotobiomodulação nas alterações funcionais promovidas pela OA pouco se sabe. Assim, foi hipotetizado que a TFBM a LED poderia modular a expressão de fatores que contribuem significativamente para atenuar ou minimizar o desenvolvimento e progressão das alterações estruturais, assim como a atividade funcional, constituindo uma terapêutica mais eficaz para o tratamento da OA de joelho.

2. Material e Métodos

O estudo foi conduzido seguindo as recomendações éticas do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals* e aprovado pela Comissão de Ética em Uso Animal sob o protocolo 9259140817 (Clark et al., 1996).

Foi desenvolvido um estudo quantitativo baseado em estudos anteriores (Appleton et al., 2007; Assis et al., 2018; Pereira et al., 2018). Para isso foram utilizados 20 ratos *Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia, Mammalia*, da linhagem *Wistar*, machos adultos com peso corporal médio de 150 g e 60 dias de idade. Para determinar o número de animais utilizados no estudo foi realizado o cálculo amostral com base em dados publicados na literatura. Assim, determinou que seriam necessários 10 animais por grupo.

Para a indução de OA foi realizada no joelho esquerdo de todos os animais a transecção do ligamento cruzado anterior (TLCA). Então, para a anestesia os ratos foram pesados e administrado Ketamina (80mg/Kg) e Xilazina (10 mg/Kg) em associação via intraperitoneal. Em seguida, a tricotomia e a incisão longitudinal na pele sobre o joelho esquerdo foram realizadas. Então, a patela foi deslocada lateralmente, isolado o ligamento cruzado anterior (LCA) e realizado a sua ruptura completa e por fim, a pele foi suturada. Os animais receberam analgesia subcutânea (dornil 0,2 mg/kg) por 7 dias. É sabido que 4 semanas após a ruptura do LCA gera alterações significativas no tecido articular (Appleton et al., 2007).

A indução da OA ocorreu em todos os animais e foram aleatorizados em 2 grupos experimentais:

- Grupo OAC: Animais não receberam nenhuma intervenção (N=10 animais).
- Grupo OAL: Animais irradiado com LED (N=10 animais).

A irradiação com a TFBM a LED iniciou 4 semanas após a indução da OA. Foi utilizada o equipamento LED emissão em modo contínuo, comprimento de onda de 850 nm, área do feixe de 0,5 cm², potência de saída de 200 mW, tempo de irradiação de 30 segundos, aplicação em 2 pontos (um na linha articular medial e outro na lateral do joelho) totalizando a energia total de 6 J. O tratamento foi realizado por 4 semanas com aplicações 3 vezes por semana em dias alternados, totalizando 12 sessões.

Para avaliar a marcha, as duas patas traseiras dos animais foram marcadas com tinta e então foram colocados para caminhar em uma pista (60 cm de comprimento x 7 cm de largura) coberta com um papel branco. No final da pista havia uma câmara escura para atrair os animais. Em seguida, este papel com as pegadas foi digitalizado (300 *dpi*) e realizado 5 medições (Cunha et al., 2019):

- (a) distância do calcanhar para o terceiro dedo da pata que fornece a informação do comprimento da pata;
- (b) distância entre o primeiro dedo para o quinto dedo da pata que fornece a informação da largura da pata;
- (c) distância a partir do calcanhar da primeira passada até o calcanhar da passada seguinte que fornece a informação do comprimento da passada;
- (d) distância lateral entre a pata esquerda e a pata direita seguinte que fornece a informação da largura do passo;
- (e) ângulo da pata foi mensurado usando como referência calcanhar, terceiro dedo e quinto dedo.

O teste foi realizado 4 e 8 semanas após a indução da OA.

O teste de normalidade Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a distribuição de cada variável. As medições no mesmo grupo em tempos diferentes (intra-grupo) e medições no mesmo tempo em grupos diferentes (inter-grupos) foram realizadas pelo teste t-Student (dados com distribuição gaussiana) ou teste Mann-Whitney (dados com distribuição não

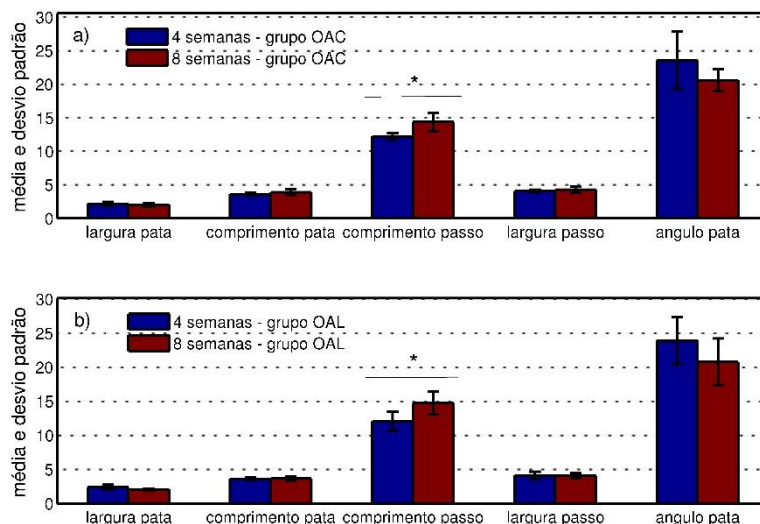
gaussiana). Para a análise estatística foi utilizado o *software* GraphPrism e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes com intervalo de confiança de 95 %.

3. Resultados

3.1 Análise da Marcha

A análise demonstra que a OA instaurou alterações durante a realização a marcha. É possível observar que quando foi realizado o teste pareado intra-grupo, comparando antes (4 semanas) e após (8 semanas) de tratamento ou grupo controle, para a medidas de comprimento do passo apresentou diferença estatística significativa. A Figura 1 traz a análise da marcha mensurada pelo teste de impressão da pata considerando a comparação intragrupo, ou seja, a evolução de cada animal para 4 semanas e 8 semanas. É possível observar que há aumento médio da variável relacionada ao comprimento do passo comparando 4 e 8 semanas em ambos os grupos (controle e LED). Ambas comparações apresentam diferença estatística significativa com p-valor $< 0,05$.

Figura 1. Análise da marcha mensurada pelo teste de impressão da pata considerando a comparação intragrupo para 4 semanas e 8 semanas.

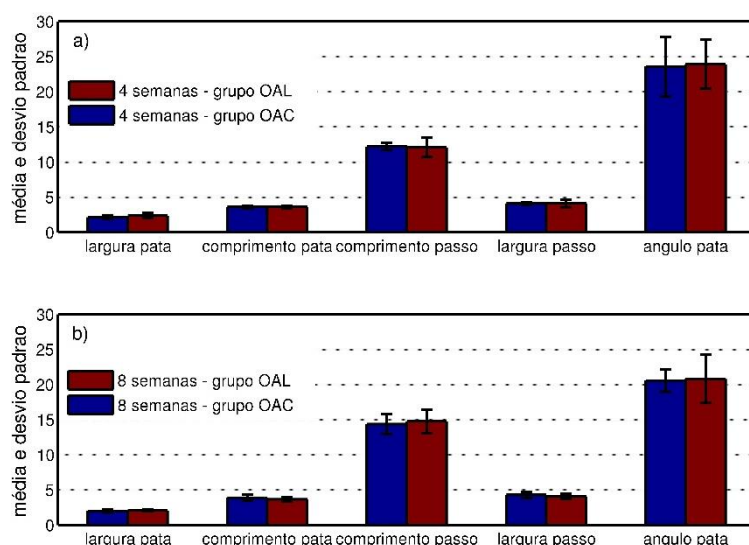


OAC: Animais submetidos à indução da OA, sem nenhuma intervenção; OAL: Animais submetidos à indução da OA tratados com LED. * $p < 0,05$. Fonte: Autores.

No entanto, quando foi realizado a comparação entre os grupos (intergrupo), a análise da marcha não demonstrou diferença estatisticamente significativa para nenhum parâmetro avaliado conforme ilustrado na Figura 2. Neste contexto intergrupo, observa-se que não houve

variação expressiva dos valores das variáveis mensuradas entre 4 e 8 semanas, onde o valor médio obtido manteve-se muito próximo para ambas as situações. Entretanto, considerando-se a análise visual, as variáveis largura da pata, comprimento do passo e ângulo da pata apresentam um pequeno aumento nos valores médios para o grupo LED em relação ao grupo controle, mas sem diferença estatística significativa demonstrada.

Figura 2. Análise da marcha mensurada pelo teste de impressão da pata considerando a comparação intergrupo para 4 semanas e 8 semanas. A) 4 semanas e b) 8 semanas.



OAC: Animais submetidos à indução da OA, sem nenhuma intervenção; OAL: Animais submetidos à indução da OA tratados com LED. Fonte: Autores.

4. Discussão

Este estudo investigou os efeitos da terapia por fotobiomodulação na avaliação da marcha de ratos com OA de joelho.

OA apresenta alta prevalência e é apontado como a doença mais comum que acomete a cartilagem articular. A maioria dos indivíduos acometidos com a OA apresentam alterações em suas AVDs, pois manifestam algum tipo de limitação funcional tais como rigidez matinal e redução da mobilidade articular (Cisternas et al., 2016). Desta forma, evidencia-se a importância investigar novos recursos terapêuticos para tratar e prevenir o processo degenerativo da cartilagem articular (Henrotin et al., 2012). A TFBM é um recurso não invasivo e seu potencial para o tratamento de OA tem sido amplamente investigado (Hamblin, 2013). Assim, este estudo avaliou os efeitos da utilização da TFBM a LED nas alterações

funcionais promovidas pela OA. No entanto, o presente estudo não observou diferenças estatísticas entre os grupos na avaliação da marcha.

Não encontramos, em bancos de dados, nenhum estudo que avaliaram as alterações funcionais da marcha em ratos com OA de joelho e foram tratados com a terapia por fotobiomodulação. Entretanto, a literatura evidencia alguns aspectos relacionados aos testes funcionais que foram previamente caracterizados em ratos com OA induzidos pelo modelo experimental de TLCA. A cinemática da marcha em modelo animal com OA foram avaliados por alguns estudos e não foi evidenciado diferenças entre os grupos osteoartritico e sham nas medidas de comprimento da pata, largura da pata, comprimento da passada, largura do passo e o ângulo da pata (Ruan et al., 2013). Interessantemente, é conhecido que indivíduos com OA apresentam menor velocidade de caminhada, menor cadência, menor comprimento do passo e fase de apoio único mais curta. Entretanto, não parece ser prejudicada a capacidade de deambular de animais, pelo menos durante as curtas explosões exploratórias geradas sob condições exreximentais. Além disso, pode-se sugerir que animais, especificamente ratos com OA, exercem menos pressão sobre as patas traseiras e mais pressão nos dedos dos pés ou nos membros anteriores (Clarke et al., 1997; Jacobs et al., 2014).

5. Considerações Finais

Os achados do presente estudo demonstraram que a terapia por fotobiomodulação a LED não foi eficaz em melhorar as alterações funcionais promovidas pela OA de joelho. Entretanto, devido o estudo limitar-se a um período curto de tratamento e avaliação (4 semanas), análises de longo prazo para fornecer informações sobre os efeitos da terapia por fotobiomodulação a LED nas alterações de marcha em ratos com OA de joelho precisam ser fornecidas. Ainda, este recurso deve ser clinicamente investigado como uma opção de tratamento não invasivo de doenças da cartilagem articular, tais como OA. Além disso, mais estudos são necessários para investigar parametros de irradiação LED ideal para o tratamento da OA e contribuir para o desenvolvimento de protocolos de tratamento clínico.

Referências

Akhavan, N. S., Ormsbee, L., Johnson, S. A., George, K. S., Foley, E. M., Elam, M. L., Ezzat-Zadeh, Z., Panton, L. B., & Arjmandi, B. H. (2018). Functionality in Middle-Aged and

Older Overweight and Obese Individuals with Knee Osteoarthritis. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 6(3), 74.

Appleton, C. T. G., McErlain, D. D., Henry, J. L., Holdsworth, D. W., & Beier, F. (2007). Molecular and histological analysis of a new rat model of experimental knee osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1117(1), 165-174.

Assis, L., Tim, C., Magri, A., Fernandes, K. R., Vassão, P. G., & Renno, A. C. M. (2018). Interleukin-10 and collagen type II immunoexpression are modulated by photobiomodulation associated to aerobic and aquatic exercises in an experimental model of osteoarthritis. *Lasers in medical science*, 33(9), 1875-1882.

Cisternas, M. G., Murphy, L., Sacks, J. J., Solomon, D. H., Pasta, D. J., & Helmick, C. G. (2016). Alternative methods for defining osteoarthritis and the impact on estimating prevalence in a US population-based survey. *Arthritis care & research*, 68(5), 574-580.

Clark, J. D., Gebhart, G. F., Gonder, J. C., Keeling, M. E., & Kohn, D. F. (1997). The 1996 guide for the care and use of laboratory animals. *ILAR journal*, 38(1), 41-48.

Clarke, K. A., Heitmeyer, S. A., Smith, A. G., & Taiwo, Y. O. (1997). Gait analysis in a rat model of osteoarthrosis. *Physiology & behavior*, 62(5), 951-954.

Cunha, J. E., Barbosa, G. M., de Souza Castro, P. A. T., Luiz, B. L. F., Silva, A. C. A., Russo, T. L., & Salvini, T. F. (2019). Knee osteoarthritis induces atrophy and neuromuscular junction remodeling in the quadriceps and tibialis anterior muscles of rats. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.

Hamblin, M. R. (2013). Can osteoarthritis be treated with light? *Arthritis Res Ther*. 15(5), 120.

Hasegawa, M., Naito, Y., Yamaguchi, T., Wakabayashi, H., & Sudo, A. (2018). Factors contributing to patient satisfaction and expectations following computer-assisted total knee arthroplasty. *The journal of knee surgery*, 31(05), 448-452.

Illescas-Montes, R., Melguizo-Rodríguez, L., García-Martínez, O., de Luna-Bertos, E., Manzano-Moreno, F. J., Ruiz, C., & Ramos-Torrecillas, J. (2019). Human Fibroblast Gene Expression Modulation Using 940 NM Diode Laser. *Scientific reports*, 9(1), 1-7.

Kraan, P. M. (2017). Factors that influence outcome in experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 25(3), 369-375.

Henrotin, Y., Pessesse, L., & Sanchez, C. (2012). Subchondral bone and osteoarthritis: biological and cellular aspects. *Osteoporosis International*, 23(8), 847-851.

Jacobs, B. Y., Kloefkorn, H. E., & Allen, K. D. (2014). Gait analysis methods for rodent models of osteoarthritis. *Current pain and headache reports*, 18(10), 456.

Sit, R. W. S., Chan, K. K. W., Yip, B. H. K., Zhang, D. D., Reeves, K. D., Chan, Y. H., & Wong, S. Y. S. (2018). Clinical effectiveness of patella mobilisation therapy versus a waiting list control for knee osteoarthritis: a protocol for a pragmatic randomised clinical trial. *BMJ open*, 8(3).

Ruan, M. Z., Patel, R. M., Dawson, B. C., Jiang, M. M., & Lee, B. H. L. (2013). Pain, motor and gait assessment of murine osteoarthritis in a cruciate ligament transection model. *Osteoarthritis and cartilage*, 21(9), 1355-1364.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Eduardo Santos Trevisan – 20 %

Cintia Cristina Martignago – 10 %

Laurita dos Santos – 10 %

Livia Assis – 10 %

Daniela Bezerra Macedo – 10 %

Soraia Salman – 10 %

Richard Liebano – 10 %

Carla Roberta Tim – 20 %