

Efeitos da aplicação do *laser* de baixa potência na regeneração do nervo isquiático de ratos

Effects of low-power laser on injured rat sciatic nerve regeneration

Renata Batagini Gonçalves¹, Jucilene Camilo Marques¹, Vanessa Vilela Monte-Raso², Ariane Zamarioli³, Leonardo César Carvalho², Valéria Paula Sassoli Fazan⁴, Marcelo Rodrigo Tavares²

Estudo desenvolvido no Curso de Fisioterapia da Unifenas – Universidade José do Rosário Velano, Alfenas, MG, Brasil

¹ Graduandas em Fisioterapia na Unifenas

² Profs. Drs. do Curso de Fisioterapia da Unifenas

³ Pós-graduanda do Depto. de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da FMRP/USP – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP

⁴ Profa. Dra. do Depto. de Cirurgia e Anatomia da FMRP/USP

ENDEREÇO PARA
CORRESPONDÊNCIA

Vanessa V. Monte-Raso
Laboratório de Bioengenharia do RAL/FMRP/USP
Av. dos Bandeirantes 3.900
Campus Universitário
14049-900 Ribeirão Preto SP
e-mail:
vanmonteraso@yahoo.com.br

O estudo contou com bolsa de iniciação científica do Pibic – Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Unifenas

APRESENTAÇÃO
maio 2009

ACEITO PARA PUBLICAÇÃO
jan. 2010

RESUMO: Os nervos periféricos sofrem constantes lesões de origem traumática, o que resulta em perdas funcionais. A terapia com laser de baixa potência vem sendo utilizada para minimizar os efeitos maléficos da inflamação e acelerar o processo de cicatrização dos tecidos lesados. Este estudo teve como objetivo verificar o efeito da irradiação do laser 830 nm no comportamento do nervo isquiático de ratos submetido a esmagamento. Foram utilizados 20 ratos, todos tendo tido o nervo isquiático esmagado, divididos em 4 grupos (n=5): P7 e P14, tratamento placebo por 7 e 14 dias; L7 e L14, tratamento por laser (dosagem de 4 J/cm²) por 7 e 14 dias. Os animais dos grupos P7 e P14 foram submetidos aos mesmos procedimentos, mas com o laser desligado. Os parâmetros analisados foram presença de infiltrado inflamatório e fibroblastos, destruição da bainha de mielina e degeneração axonal. Na análise estatística foi observada diferença estatística com relação a três parâmetros: os animais do grupo L14 apresentaram maior quantidade de fibroblastos ($p=0,0001$), menor degeneração da bainha de mielina ($p=0,007$) e menor quantidade de infiltrado inflamatório ($p=0,001$). A aplicação do laser de baixa potência contribuiu para a redução do processo inflamatório decorrente da lesão do nervo isquiático de ratos.

DESCRIPTORES: Nervo ciático; Regeneração nervosa; Síndromes de compressão nervosa/reabilitação; Terapia a laser de baixa intensidade

ABSTRACT: Peripheral nerves are commonly subject to traumatic injuries, leading to functional loss. Low-power laser therapy has been used in order to minimize harmful effects of inflammation and to accelerate healing of injured tissues. The purpose of this study was to assess the effect of 830 nm-laser irradiation on rat sciatic nerves submitted to crush. Twenty male Wistar rats had their sciatic nerve crushed and were divided into 4 groups (n=5): Sham7 and Sham14, placebo-treated for 7 and 14 days; L7 and L14, laser-treated (at 4 J/cm²) for 7 and 14 days. Sham group animals were submitted to the same procedures, but with the laser turned off. Assessed parameters were inflammatory infiltrates, fibroblasts, myelin sheath destruction, and axonal degeneration. The statistical analysis showed significant differences in three parameters: L14 animals showed more fibroblasts ($p=0.0001$), lesser myelin sheath degeneration ($p=0.007$), and lesser inflammatory infiltrates ($p=0.001$). Low-power laser therapy hence contributed to reduce the inflammatory process due to rat sciatic nerve injury.

KEY WORDS: Laser therapy, low level; Nerve compression syndromes/rehabilitation; Nerve regeneration; Sciatic nerve

INTRODUÇÃO

Os nervos periféricos são alvos de constantes lesões e podem originar *deficit* motor e sensitivo, gerando seqüelas para os indivíduos, dependentes do grau da lesão^{1,2}. Nervos saudáveis têm a capacidade de estiramento e deslizamento, para permitir aumento do comprimento necessário para o movimento fisiológico dos membros^{3,4}. Para que ocorra função normal, é preciso que esses movimentos estejam em harmonia. A lesão traumática de um nervo provoca alterações em suas propriedades mecânicas e neuroquímicas⁵⁻⁷, levando à perda da característica de acomodação dos movimentos, com conseqüente *deficit* mecânico.

Nervos periféricos são extremamente vulneráveis à pressão. O acometimento não depende do nervo específico envolvido, mas sim da magnitude, do tipo de pressão e do tempo da compressão. Se a intensidade e a duração da compressão forem pequenas, os nervos recuperam-se imediatamente ou pouco tempo após o trauma, mas se a pressão for intensa e/ou a duração for longa, a recuperação será prolongada e freqüentemente parcial⁸. A velocidade de regeneração de um nervo depende de alguns fatores, como tipo, extensão e gravidade da lesão, idade do indivíduo, tipo de intervenção (invasiva por meio de cirurgia, no caso da neurotome, ou não-invasiva), mielinização do axônio, espessura da bainha de mielina, dentre outros^{9,10}.

Inflamação é uma resposta inespecífica do corpo a diferentes lesões e é essencialmente uma resposta de proteção, que inicia o processo de reparo tecidual. Na resposta fisiológica que ocorre imediatamente após um estímulo agressivo, as células inflamatórias ficam acumuladas no sítio da lesão^{11,12}. No processo inflamatório após esmagamento de nervo, de acordo com George et al.¹³, os macrófagos, recrutados durante os primeiros dias da degeneração walleriana, bem como as células de Schwann, contribuem para o aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias locais. Segundo Tavares et al.¹⁴, o *laser* terapêutico na dose de 4 J/cm² influencia diretamente os estágios iniciais da rea-

ção inflamatória, minimizando a presença de células inflamatórias, ou seja, o *laser* atua como moderador da reação inflamatória local nos estágios iniciais da lesão tissular.

Para aprofundar o conhecimento do processo de reparo, após lesão nervosa por esmagamento, estudos experimentais produzem lesões do tipo esmagamento em animais. Para produzir tais lesões no nervo isquiático de ratos, Bridge et al.¹⁵ utilizaram pinças hemostáticas, ou pinças de relojoeiro, observando que a lesão produzida foi do tipo axoniotme (para gerar axoniotme em nervos, a aplicação da pressão deve ser alta). Também validaram o método das pinças, demonstrando sua confiabilidade e reprodutibilidade. Varejão et al.¹⁶, que também produziram lesões nervosas em experimentos em animais, usaram pinças padronizadas para produção de pinça padronizada para minimizar a variabilidade das lesões produzidas.

A aplicação de recursos fisioterapêuticos é realizada com o propósito de melhorar a capacidade funcional de estruturas anatômicas deficitárias^{2,14,17}. O papel terapêutico do *laser* em casos envolvendo destruição de tecidos é bem conhecido. A irradiação do *laser* de baixa potência tem sido utilizada terapêuticamente para cicatrização de lesões, tratamento de artrite reumatóide, dor musculoesquelética, entre outras aplicações clínicas. Efeitos benéficos são atribuídos à fotoestimulação dos tecidos, como melhora de cicatrização de lesões ulcerativas em indivíduos diabéticos e outros tipos de úlceras^{18,19}, além de efeitos analgésicos²⁰ e antiinflamatórios²¹, estímulo à proliferação de células de diferentes origens^{19,22-24} e estimulação do reparo ósseo^{18,24}. Os benefícios originados pela radiação *laser* de baixa potência são gerados pelos mecanismos não-térmicos da interação da luz com os tecidos, resultando em efeitos biomodulatórios por meio de interações fotoquímicas^{8,24}.

A aplicação do *laser* em nervos também tem sido muito utilizada na prática clínica e descrita na literatura, sendo a laserterapia reconhecida como um adjuvante efetivo da regeneração ner-

vosa^{8,25-30}. A recuperação da função e morfologia após lesão nervosa geralmente é incompleta e imperfeita, justificando o recurso terapêutico. A radiação *laser* de baixa potência, aplicada direta ou transcutaneamente sobre o nervo periférico esmagado, revelou-se efetiva na recuperação e diminuição da degeneração retrógrada dos neurônios correspondentes nos segmentos espinhais⁸.

Este estudo teve como objetivo analisar os efeitos do *laser* de baixa-potência na lesão experimental do nervo isquiático de ratos.

METODOLOGIA

A realização deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Unifenas – Universidade de José do Rosário Velano.

Foram utilizados 20 ratos machos adultos da linhagem Wistar, com peso médio de 300 g. Os animais foram divididos em quatro grupos, de cinco animais cada: P7, com tratamento placebo por 7 dias após a lesão; L7, tratado com *laser* por 7 dias após a lesão; P14, com tratamento placebo por 14 dias após a lesão; e L14, tratado com *laser* por 14 dias após a lesão. O tratamento começou imediatamente após a cirurgia.

Os animais dos grupos P7 e L7 foram submetidos à eutanásia no 7º dia após a lesão e os animais dos grupos P14 e L14, no 14º dia. Todos os animais foram submetidos à lesão nervosa por esmagamento. Para isso, foram anestesiados com associação de ketamina e xilazina a 50% a 0,1 ml/100g e mantidos sob contenção em uma prancha operatória apropriada. Em seguida, foi feita a tricotomia do membro inferior direito do animal e assepsia da região com álcool iodado 700 (2%). Foi efetuada secção do tegumento que recobre o músculo glúteo maior e as fibras musculares foram submetidas à divulsão, com introdução de uma pinça hemostática na região mediana do músculo. A abertura dos ramos da pinça separou as fibras musculares expondo assim a porção proximal do nervo isquiático. Em todos os animais o nervo isquiático direito foi lesionado 3 mm distal à sua emergência

com uma pinça regulável³¹ calibrada com carga de 5 kg/cm² que foi mantida no nervo isquiático por dez minutos. A pinça foi calibrada por uma máquina universal de ensaios com célula de carga de 500 N (Kratos, modelo IKE-01). Em seguida, os músculos e a pele do animal foram suturados.

Para as aplicações de *laser*, foi utilizado o aparelho *Laserpulse* (Ibramed) com comprimento de onda de 830 nm, densidade de energia de 4 J/cm², área de feixe 0,62 cm², potência de emissão de 30 mW, regime de irradiação contínuo e o tempo de aplicação foi calculado pelo aparelho (4 s). Os animais dos grupos L7 e L14 receberam aplicação pontual do *laser*, sendo disparado apenas uma vez sobre a área do nervo isquiático lesado, ou seja, região posterior do membro inferior direito. Durante as aplicações diárias, os animais não foram sedados. Os grupos P7 e P14 foram submetidos ao mesmo procedimento dos demais grupos, mas com o *laser* desligado.

Após sete aplicações de *laser* os animais dos grupos P7 e L7 foram submetidos à eutanásia, o mesmo ocorrendo com os dos grupos P14 e L14 após 14 aplicações. Os animais foram submetidos à eutanásia por meio de dose excessiva de anestésico Tiopental 0,5 ml/100 g e os nervos foram dissecados e fixados em paraformaldeído tamponado por 24 horas, em seguida incluídos em parafina e então cortados em micrótomo a uma espessura de 5 micrômetros. Na etapa final os cortes foram corados pela técnica do HE (hematoxilina-eosina) e também TG (tricômico de Gomori), para então ser realizada a verificação microscópica de possíveis alterações no tecido.

As lâminas foram analisadas por microscopia de luz e os dados encontrados registrados por análise semi-quantitativa da reação inflamatória, de acordo com Tavares *et al.*¹⁷, sendo definida por presença de infiltrado inflamatório e de fibroblastos, degeneração da bainha de mielina e degeneração axonal. Esses parâmetros foram classificados em graus que variaram de ausente (-), presença leve (+), presença moderada (++) e presença acentuada (+++). Em seguida esses dados foram

substituídos por valores numéricos da seguinte maneira: 0 para (-), 1 para (+), 2 para (++) e 3 para (+++); foram também considerados valores intermediários, tais como 0,5 para (-/+), 1,5 para (+/++) e 2,5 para (+/+++). Esses registros foram baseados na observação de dois examinadores, sendo calculada a média dos valores por eles encontrados. Para análise, esses valores foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e ao pós-teste de Dunn, pelo programa estatístico Minitab.

RESULTADOS

Os resultados, sintetizados na Figura 1, mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos com relação à degeneração axonal ($p=0,29$). Em relação à degeneração da bainha de mielina, o grupo P7 apresentou degeneração significativamente maior ($p=0,007$) que o grupo L14. Quanto ao infiltrado inflamatório, que ocorre logo

após a lesão, nas lâminas do grupo L14 foi encontrada quantidade significativamente menor do que em todos os demais grupos ($p=0,001$). E, quanto à presença de fibroblastos, novamente no grupo L14 a quantidade foi significativamente maior do que nos demais ($p=0,0001$).

A análise das lâminas mostrou que, após 7 dias de tratamento, no grupo tratado L7 o perineuro tinha aspecto histológico normal, enquanto no P7 apresentava-se espessado, ainda com intensos sinais inflamatórios ao redor (Figura 2). Após o tratamento por 14 dias, nas lâminas do grupo L14 podiam-se notar axônios regenerados e grande quantidade de colágeno endoneural, produzido por fibroblastos, promovendo a sustentação das estruturas do endoneuro, enquanto no grupo placebo (P14) sinais de reação inflamatória ainda estavam presentes, tanto no perineuro quanto no endoneuro, sem evidências de regeneração axonal (Figura 2).

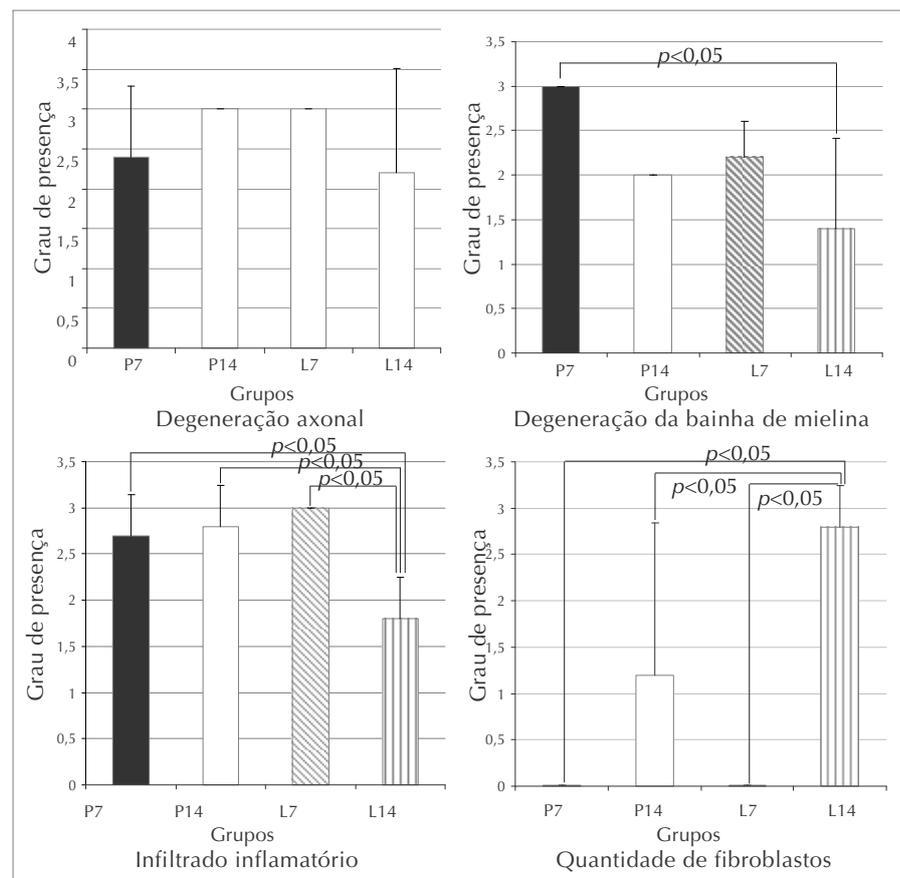


Figura 1 Degeneração axonal, degeneração da bainha de mielina, infiltrado inflamatório e proliferação de fibroblastos (média do grau de presença detectada) nas lâminas nos grupos P7, P14, L7, e L14

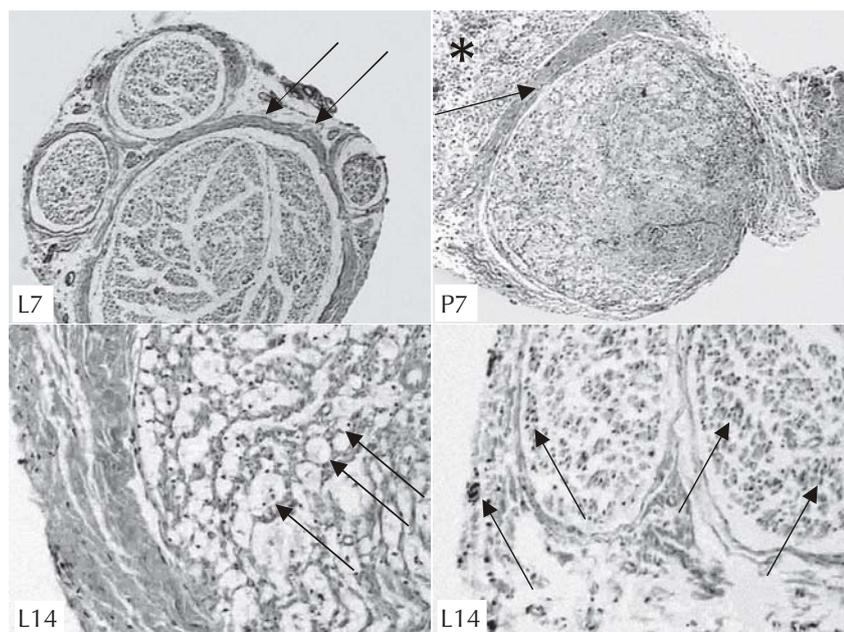


Figura 2 Morfologia dos grupos placebo e tratado: perineuro (setas) normal no grupo tratado por 7 dias (L7), espessado no grupo que recebeu placebo por 7 dias (P7), com intensos sinais inflamatórios ao redor (*) (aumento final de 200X); em L14, presença de axônios regenerados (setas); em P14, sinais de reação inflamatória (setas) ainda presentes (aumento final de 400X)

DISCUSSÃO

O estudo do nervo isquiático de rato é um modelo experimental largamente utilizado para avaliação da função sensitiva e motora de nervos, devido ao baixo custo desse animal, fácil aquisição e manuseio. A capacidade de regeneração de ratos é similar à regeneração nervosa de primatas¹⁵ e, apesar de ser mais rápida que a regeneração em humanos, apresenta semelhança com relação à morfologia e processos fisiológicos e biológicos envolvidos.

A lesão por esmagamento utilizando uma pinça³¹ foi selecionada neste estudo por permitir a padronização da intensidade das lesões. Além disso, trata-se de uma técnica simples que preserva a estrutura de sustentação do nervo e não necessita reparo cirúrgico³⁰.

O *laser* terapêutico é empregado para o tratamento fisioterapêutico de muitas doenças do sistema musculoesquelético. Nos últimos anos, a comunidade científica tem se voltado para o estudo da ação do *laser* de baixa potência na

regeneração nervosa periférica^{13,25-29}, tendo definido aspectos da metodologia de aplicação, como o melhor comprimento de onda, número de aplicações e período de irradiação¹². Apesar dos vários estudos, a determinação do tratamento mais eficaz para recuperação de lesão nervosa ainda não está totalmente elucidada^{25,32,33}. De acordo com Anders *et al.*³⁴, há grande variedade metodológica entre os estudos, desde o comprimento de onda do *laser* até os tipos de lesões provocadas, além dos parâmetros de avaliação. Apesar dos mecanismos biológicos na interação *laser*-tecido ainda não estarem totalmente elucidados, é evidente que a laserterapia de baixa potência influencia a regeneração do nervo periférico.

Oliveira *et al.*³⁵ demonstraram, num estudo experimental com nervo isquiático de ratos, que a gravidade da lesão por esmagamento é proporcional à carga aplicada e que a regeneração após o esmagamento está diretamente relacionada à gravidade da lesão inicial. Os autores mostraram também que a função motora retorna ao normal ou próximo

disso no prazo de 60 dias, mesmo nas lesões produzidas por carga de 15 kgf aplicada por 10 minutos.

No estudo de Endo *et al.*³⁰ foi utilizado *laser* de baixa potência As-Ga para verificar sua ação na recuperação de nervo submetido à lesão por esmagamento com carga de 15 kg. Os animais foram tratados com dosagem de 4 J/cm² durante dez dias consecutivos. Os autores observaram, por meio da análise histológica e morfológica dos nervos, que o *laser* de baixa potência As-Ga apresenta importante papel no processo regenerativo do nervo. Sotelo *et al.*³⁶ observaram que a aplicação de *laser* HeNe proporcionou melhor regeneração do nervo lesado. Embora, no presente estudo, tenha sido utilizado o *laser* As-Ga, nos parâmetros já mencionados, os resultados aqui encontrados corroboram os achados de Sotelo *et al.*³⁶, em que foi observada maior degeneração da bainha de mielina no grupo placebo de 7 dias do que no grupo tratado por 14 dias. Esse resultado sugere que a utilização da laserterapia por um período mais longo pode minimizar os efeitos do esmagamento do nervo.

No presente estudo também foi observado que o grupo submetido à aplicação do *laser* por 14 dias apresentou menor quantidade de infiltrado inflamatório que os demais grupos. Esse achado está de acordo com os de outros autores sobre a ação antiinflamatória do *laser*^{3,13,17,22}. Os resultados de Albertini *et al.*¹³ mostraram que a resposta inflamatória pode ser normalizada ou reduzida pelo efeito fotoquímico da irradiação *laser*. Tavares *et al.*¹⁶ também demonstraram a ação antiinflamatória da laserterapia. No entanto, os autores avaliaram outra estrutura, o tendão. Assim, o *laser* mostrou-se um eficiente antiinflamatório para tendões e nervos.

Devido ao fato de a lesão de nervos periféricos ser muito comum na prática clínica, a radiação *laser* de baixa potência é considerada um efetivo coadjuvante no tratamento para melhorar a regeneração neuronal¹⁷. Neste estudo não foi observada diferença significativa entre os diferentes grupos com relação

à degeneração axonal. No entanto, a quantidade de fibroblastos foi maior no grupo submetido à irradiação *laser* por 14 dias. Esse dado sugere que o *laser* facilita a regeneração nervosa periférica, corroborando estudos prévios^{9,24,25}. Por outro lado, Tavares *et al.*¹⁶ não encontraram diferença significativa quanto à presença de fibroblastos entre grupos

submetidos ou não à ação do *laser*.

Assim, os resultados apresentados sugerem que o *laser* de baixa potência facilita a regeneração nervosa periférica após lesão de nervo periférico de ratos^{9,17,25}, fundamentando a utilização do *laser* para acelerar processos cicatríciais, em estudos experimentais e na prática clínica¹⁶.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que a terapia com aplicação do *laser* 830 nm, com dosagem de 4 J/cm², por 14 dias, contribuiu para a diminuição do processo inflamatório decorrente da lesão por esmagamento do nervo isquiático de ratos.

REFERÊNCIAS

- 1 Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *J Neurosci Methods*. 2005;142:185-92.
- 2 Monte-Raso VV. Índice funcional do ciático nas lesões por esmagamento do nervo ciático de ratos: avaliação da reprodutibilidade do método de examinadores. *Acta Ortop Bras*. 2006;14:133-6.
- 3 Shacklock M. *Neurodynamics. Physiotherapy*. 1995;81:9-16.
- 4 Boyd BS, Puttlitz C, Gan J, Topp KS. Strain and excursion in the rat sciatic nerve during a modified straight leg raise are altered after traumatic nerve injury. *J Orthop Res*. 2005;23:764-0.
- 5 Smith DS, Pate Skene JH. A transcription-dependent switch controls competence of adult neurons for distinct modes of axon growth. *J Neurosci*. 1997;17(2):646-58.
- 6 Cai F, Tomlinson DR, Fernyhough P. Effect of sciatic nerve crush on local and target tissue production of neurotrophin-3 transcripts in rats. *Neurosci Lett*. 1998;252:45-8.
- 7 Kato N, Nemoto K, Arino H, Fujikawa K. Treatment of the chronic inflammation in peripheral target tissue improves the crushed nerve recovery in the rat: histopathological assessment of the nerve recovery. *J Neurol Sci*. 2002;202:69-74.
- 8 Rochkind S, Nissan M, Alon M, Shamir M, Salame K. Effects of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. *laser. Surg Med*. 2001;28:216-9.
- 9 Sunderland S. *Nerve and nerve injury*. 2nd ed. London: Churchill Livingstone; 1985.
- 10 Stainki DR, Raiser AG, Graça DL, Becker C, Fernandez GMS. A radiação laser arseneto de gálio (AsGa) na regeneração do nervo radial submetido a reparação cirúrgica secundária. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 1998;35(1):37-40.
- 11 Khalil Z, Helme RD. The quantitative contribution of nitric oxide and sensory nerves to bradykinin-induced inflammation in rat skin microvasculature. *Brain Res*. 1992;589:102-8.
- 12 Albertini R, Aimbire FSC, Correa FI, Ribeiro W, Cogo JC, Antunes E, et al. Effects of different protocol doses of low-power gallium-alluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw oedema. *J Photochem Photobiol B*. 2004;24:101-7.
- 13 George A, Buehl A, Sommer C. Wallerian degeneration after crush injury of rat sciatic nerve increases endo- and epineural tumor necrosis factor-alpha protein. *Neurosci Lett*. 2004;372:215-9.
- 14 Tavares MR, Mazzer N, Pastorello M. Efeito do laser terapêutico na cicatrização tendinosa: estudo experimental em ratos. *Rev Fisioter Bras*. 2005;6(2):96-100.
- 15 Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, et al. Nerve crush injuries: a model for axonotmesis. *Exp Neurol*. 1994;127:284-90.
- 16 Varejão, ASP, Cabrita AM, Patricio JA, Bulas-Cruz J, Gabriel RC, Melo-Pinto P, et al. Functional assessment of peripheral nerve recovery in the rat: gait kinematics. *Microsurgery*. 2001;21:383-8.
- 17 Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low-intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*. 2003;129:183-90.
- 18 Lagan KM, Mc Donough SM, Clements BA, Baxter GD. A case report of low-intensity laser therapy (LILT) in the management of venous ulceration: potential effects of wound debridement upon efficacy. *J Clin Laser Med Surg*. 2000;18:15-22.
- 19 Souza SC, Munin E, Alves LP, Salgado MAC, Pacheco MTT. Low-power radiation at 685 nm stimulates stem-cell proliferation rate in *Dugesia tigrina* during regeneration. *J Photochem Photobiol B*. 2005;80:203-7.
- 20 Tam G. Low-power laser therapy and analgesic action. *J Clin Laser Med Surg*. 1999;17:29-33.

Referências (cont.)

- 21 Freitas AC, Pinheiro ALB, Miranda P, Thiers FA, Vieira ALB. Assessment of anti-inflammatory effect of 830 nm laser light using c-reactive protein levels. *Braz Dent J.* 2001;12:187-90.
- 22 Vinck EM, Cagnie BJ, Cornelissen MJ, Declercq HA, Cambier DC. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2003;18:89-94.
- 23 Kreisler M, Christoffers AB, Willershausen B, Hoedt BD. Low-level 809 nm GaAlAs laser irradiation increases the proliferation rate of human laryngeal carcinoma cells in vitro. *Lasers Med Sci.* 2003;18:100-3.
- 24 Nicolau RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MTT, Reis LM, Zângaro RA. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci.* 2003;18:89-94.
- 25 Shin DH, Lee E, Hyun JK, Lee SJ, Chang YP, Kim JW, et al. Growth-associated protein-43 is elevated in the injured rat sciatic nerve after low-power laser irradiation. *Neurosci Lett.* 2003;344:71-4.
- 26 Gigo-Benato D, Geuna S, Rodrigues AC, Tos P, Fornaro M, Boux E, et al. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurorrhaphy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. *Lasers Med Sci.* 2004;19(1):57-65.
- 27 Mohammed IFR, Al-Mustawfi N, Kaká LN. Promotion of regenerative processes in injured peripheral nerve induced by low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg.* 2007;25:107-11.
- 28 Basford J. Laser therapy: scientific basis and clinical role. *Orthopedics.* 1993;16:541-7.
- 29 Nelson JS, Orenstein A, Liaw L-HL, Berns MW. Mid-infrared erbium:YAG laser ablation of bone: the effect of laser osteotomy on bone healing. *Lasers Surg Med.* 1989;9(4):362-74.
- 30 Endo C, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Low-power laser therapy accelerates peripheral nerves regeneration. *Acta Ortop Bras.* 2008;16(5):305-10.
- 31 Monte-Raso VV, Moro CA, Mazzer N, Fonseca MCR, Fasan VPS, Barbieri G, et al. Uma nova pinça regulável para a produção de lesões por esmagamento do nervo ciático do rato. *Acta Ortop Bras.* 2009;17(4):236-8.
- 32 Yuen EC, Mobley WC. Therapeutic potential of neurotrophic factors for neurological disorders. *Ann Neurol.* 1996;40:346-54.
- 33 Lazar DA, Curra FP, Mohr B, McNutt LD, Kliot M, Mourad PD. Acceleration of recovery after injury to the peripheral nervous system using ultrasound and other therapeutic modalities. *Neurosurg Clin N Am.* 2001;12:353-7.
- 34 Anders JJ, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy promotes regeneration and functional recovery of injured peripheral nerve. *Neurol Res.* 2004;26(2):233-9.
- 35 Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg.* 2001;17:69-75.
- 36 Sotelo PR, Sosa VMR, Martinez RT, Barry HG. El laser de helio-neon em la regeneracion del nervio ciático seccionado y saturado. *Rev Cubana Cir.* 1996;35:84-9.