

**Artigo original**

# Influência do laser arseneto de gálio e arseneto de gálio-alumínio e pomada cicatrizante sobre leucócitos sanguíneos de ratos Wistar após lesão cutânea

## *Influence of the gallium arsenide laser and gallium aluminum arsenide laser and healing ointment on blood leukocytes in Wistar rats after cutaneous lesion*

Reggiani Vilela Gonçalves\*, José Mário da Silveira Mezêncio, D.Sc.\*\*, Clóvis Andrade Neves, D.Sc.\*\*\*, Sérgio Luis Pinto da Mata, D.Sc.\*\*\*\*, Marcus Vinícius de Melo Pinto, Ft. D.Sc.\*\*\*\*\*, Emerson Ferreira Vilela\*\*\*\*\*

.....  
\*Professora substituta de Biologia e Histologia da UFV, \*\*Professor adjunto IV do Departamento de Biologia Geral da UFV, \*\*\*Professor adjunto IV do Departamento de Biologia Geral da UFV, \*\*\*\*Professor associado I do Departamento de Biologia Geral da UFV \*\*\*\*\*Laboratório de Dor, Inflamação e Laser da UNEC, \*\*\*\*\*Curso de Agronomia da UFV

### Resumo

O presente estudo avaliou os efeitos do laser arseneto de gálio-alumínio (GaAsAl), do laser arseneto de gálio (GaAs) e pomada cicatrizante Dersani<sup>®</sup> sobre leucócitos sanguíneos após realização de feridas cutâneas em ratos Wistar. Os parâmetros analisados foram os valores hematológicos dos animais. Foram utilizados 30 ratos Wistar, adultos jovens, machos, provenientes da Universidade Federal de Viçosa. Cinco feridas de 12 mm foram feitas na região dorsal do ratos. Os animais foram separados em 5 grupos, com 6 animais cada. Grupo 1: animais tratados com o laser GaAs (4J/cm<sup>2</sup>), grupo 2: laser GaAsAl (30J/cm<sup>2</sup>), grupo 3: laser GaAsAl (60J/cm<sup>2</sup>), grupo 4: foi usada pomada Dersani<sup>®</sup> grupo 5: solução salina (controle). As aplicações foram feitas diariamente durante 20 dias. Foi coletado sangue no primeiro e último dia do experimento e foi armazenado com anticoagulante. A contagem global de leucócitos foi feita utilizando câmera de Neubauer. A contagem diferencial foi feita através de esfregaço após coloração com Giemsa. A contagem global de leucócitos nos diferentes tratamentos não apresentou diferença significativa, exceto nos animais tratados com Dersani<sup>®</sup> em que houve aumento significativo no número de monócitos. Os tratamentos com salina e Laser GaAsAl 30J/cm<sup>2</sup> também apresentaram aumento no número de neutrófilos.

**Palavras-chave:** leucócitos, cicatrização de feridas, laser, pomada cicatrizante.

### Abstract

This study evaluated the effect of the gallium aluminum arsenide laser (GaAsAl), gallium arsenide laser (GaAs) and healing ointment Dersani<sup>®</sup> on blood leukocytes after performing cutaneous incision in Wistar rats. The analyzed parameters were the hematological values of the animals. 30 Wistar rats, young, adults, males, from Federal University of Viçosa, MG were used. Five incisions (12 mm long) were made in the dorsal region of the rats. The animals were divided into five groups, with six animals each. Group 1: animals treated with the GaAs laser (4J/cm<sup>2</sup>); Group 2: GaAsAl laser (30 J/cm<sup>2</sup>); Group 3: GaAsAl laser (60 J/cm<sup>2</sup>); Group 4: the Dersani<sup>®</sup> ointment was used; Group 5: saline solution (control). Therapy was applied daily for a period of 20 days. Blood samplings were carried out on the first and last day of the experiment and stored with anticoagulant. Total leukocytes count was performed using a Neubauer camera. Differential counts of Giemsa-stained smears were made. Total leukocytes count did not show significant difference in any treatment, except in the animals treated with Dersani<sup>®</sup> that a significant increase in monocytes number was found. The treatment with saline and the GaAsAl (30 J/cm<sup>2</sup>) laser showed also an increase in the number of neutrophils.

**Key-words:** leukocytes, wound healing, laser, healing ointment.

Recebido em 30 de março de 2009; aceito em 20 de abril de 2009.

**Endereço de correspondência:** Reggiani Vilela Gonçalves, Avenida PH Rolfs, s/nº, Departamento de Biologia Geral, edifício Shotaro Shymioia, Universidade Federal de Viçosa, 35570-000 Viçosa MG, Tel: (31) 3899-3365, Email: reggysvilela@yahoo.com.br

## Introdução

A pele é o maior órgão do corpo. É constituída por uma porção epitelial e uma conjuntiva chamada derme. Representa uma importante barreira que dificulta a invasão do organismo por patógenos, por isso a manutenção de sua integridade é de fundamental importância [1]. A busca por uma adequada abordagem no tratamento e prevenção de feridas na pele é antiga e apesar de alguns estudos e vários investimentos nesta área, ainda existe um alto índice destas lesões principalmente em indivíduos acamados tratados em casa, ou no ambiente hospitalar e em idosos [2,3].

O fechamento de feridas ocorre através da cicatrização, que se caracteriza por uma série de eventos pelos quais o organismo tende a reparar a área lesada, iniciando com o processo de inflamação e resultando no reparo da área lesada [4]. O processo de cicatrização envolve a migração de células inflamatórias, síntese de tecido de granulação, deposição de colágeno e de proteoglicanas e a maturação da cicatriz, estando associado à intensa remodelação [5].

Algumas células como fibroblastos e células do sistema imune participam ativamente do processo cicatricial, pois secretam moléculas de sinalização como citocinas, linfocinas e fatores de crescimento. Os neutrófilos são células de curta geração, abundantes no sangue, mas normalmente em pequena quantidade nos tecidos normais. Eles são rapidamente recrutados para a região da infecção tanto por macrófagos ativados quanto por moléculas liberadas pelo próprio patógeno [6]. Os monócitos correspondem a cerca de 1-6% das células brancas do sangue, circulam pela corrente sanguínea por cerca de três dias, e depois se distribuem pelos tecidos passando a se chamar macrófagos, células com alta capacidade de fagocitose. Os linfócitos são células esféricas que ao contrário dos outros leucócitos recirculam continuamente do sangue para o tecido e podem retornar ao sangue [7,8].

Considerando que a identificação de técnicas apropriadas que promovam o processo cicatricial representam benefícios importantes no cuidado com os pacientes e diminuição imediata de custos, torna-se de fundamental importância estabelecer mecanismos que possam promover uma cicatrização mais rápida, segura e livre de infecções. Entre os recursos utilizados para auxiliar neste processo estão os ácidos graxos essenciais como os derivados do ácido linoléico, é nesse grupo que se encontra a pomada Dersani® [9]. O laser também vem sendo utilizado com o objetivo de promover redução no tempo de cicatrização e recuperação de lesões, melhorando a qualidade de vida dos pacientes e diminuindo os custos imediatos.

Vários são os mecanismos pelos quais o laser pode atuar na promoção da cicatrização tecidual e no controle de infecções. Segundo IHSAN [10], o laser de baixa potência aumenta a oxigenação tecidual, promovendo a expansão da microcirculação. O laser GaAIs, quando aplicado na microcirculação

mesentérica de ratos vivos, promove dilatação das arteríolas irradiadas, seguida de aumento no fluxo sanguíneo arteriolar facilitando assim a chegada de células de defesa importantes neste processo.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do laser GaAs (4 J/cm<sup>2</sup>), do laser GaAsAl (30 J/cm<sup>2</sup>) (60 J/cm<sup>2</sup>) com comprimento de onda de 830 nm sobre leucócitos sanguíneos após a realização de feridas cutâneas no dorso de ratos Wistar.

## Material e métodos

Foram utilizados 30 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), dez semanas de idade, machos, com peso médio de 324 g, sadios, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram mantidos durante o experimento em condições naturais de luz, umidade e temperatura, em gaiolas individuais, diariamente higienizadas, foram alimentados uma vez por dia com ração e água fornecida à vontade. O experimento foi conduzido de acordo com as normas do comitê de ética levando em consideração os devidos cuidados com os animais (nº protocolo 005/2008).

Os animais foram anestesiados com ketamina e xilazina via intraperitoneal (0,6 ml), em seguida a região dorso-lateral foi depilada e no primeiro dia do experimento foram feitas 5 feridas de 12 mm de diâmetro cada, nesta região. As feridas foram realizadas utilizando bisturi e tesoura e os animais foram separados aleatoriamente em 5 grupos de seis animais. Os animais tiveram as feridas limpas com salina, uma vez ao dia, pela manhã antes de receberem os diferentes tratamentos. No grupo 1 os animais foram submetidos a radiação do laser GaAs, comprimento de onda 904 nm, densidade de energia 4J/cm<sup>2</sup>. O grupo 2 recebeu tratamento com o laser GaAsAl, com comprimento de onda de 830 nm, densidade de energia 30 J/cm<sup>2</sup>. No grupo 3 os animais foram tratados com o laser GaAsAl, densidade de energia 60 J/cm<sup>2</sup>. Foi utilizada a técnica de varredura e o tempo de aplicação da radiação foi ajustado automaticamente de acordo com a dose utilizada. Os aparelhos de laser utilizados nesta pesquisa eram da marca KLD – Biosistema® laser devices. Os animais do grupo 4 receberam tratamento com a pomada Dersani® (ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, lecitina de soja, vitamina A, vitamina E, ácido capróico e óleo de girassol - ácido linoléico), sendo aplicados 0,1g da pomada uma vez ao dia. O grupo 5, representou o controle, consistiu de animais que tiveram as feridas apenas limpas com salina uma vez ao dia.

Foi coletado sangue no primeiro dia do experimento, neste mesmo dia foram feitas as feridas e no último dia foi coletado sangue novamente. Em ambos o sangue foi obtido através de um corte no plexo venoso da cauda. O material foi armazenado com o anticoagulante, (ácido etilenodiamino tetra-acético, EDTA). Logo após a coleta do sangue, foi feito

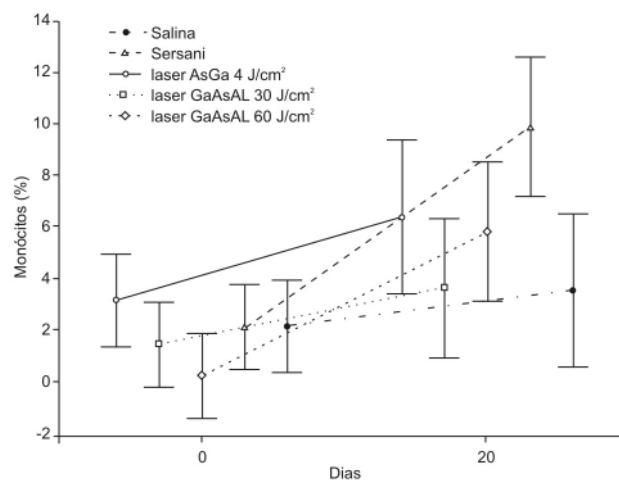
hematócrito utilizando centrífuga capilar da marca Sigma. A contagem global de leucócitos foi feita utilizando câmara de Neubauer. Para a contagem diferencial foi feito esfregaço e a coloração usada foi o Giemsa. O material contendo sangue colhido no dia 0 e 20 foi levado ao microscópio Olympus CX 40®, para que pudesse ser feito a contagem dos diferentes tipos celulares.

## Resultados

Os valores para a contagem global e diferencial de leucócitos, nos dias 0 e 20, estão dispostos na Tabela I, assim como os valores em separado de cada constituinte na contagem diferencial. Verifica-se que os tratamentos com salina, Dersani® e diferentes intensidades de laser não influenciaram o número global de leucócitos, indicando que não houve diferença estatística significativa ( $p = 0,840$ ).

Na contagem diferencial de leucócitos, observou-se diferença estatística significativa para monócitos ( $p = 0,019$ ) em relação aos diferentes tratamentos e o tempo, sendo que os animais submetidos ao tratamento com Dersani® se diferenciaram dos animais que foram submetidos aos outros tratamentos, pois a pomada promoveu o aumento do número de monócitos desses animais (Figura 1).

**Figura 1** - Resultados da análise dos valores médios da contagem de monócitos dos animais em função do tempo e dos tratamentos com salina, Dersani® e diferentes tipos e intensidades de laser.



A análise da contagem diferencial de linfócitos mostrou que não houve influência dos tratamentos com salina, Dersani® e diferentes tipos e intensidades de laser na quantidade dessas células, apresentando o linfócito ( $p = 0,266$ ).

A contagem de neutrófilos apresentou relação significativa ( $p = 0,022$ ) entre os diferentes tratamentos durante o tempo do experimento. Os animais do grupo controle e tratados com o laser GaAsAl 30 J/cm² apresentaram aumento no número de neutrófilos, sendo este aumento mais pronunciado nos

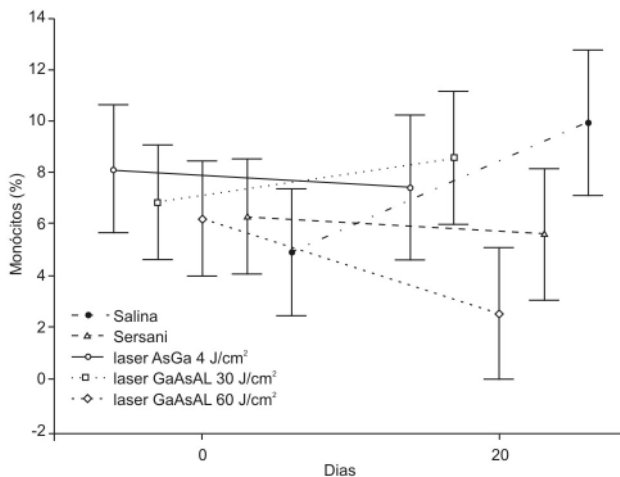
**Tabela I** - Valores médios e desvio padrão (DP) das variáveis sanguíneas dos animais, em função do tratamento, no início (dia 0) e final (dia 20).

	Laser AsGa 4 J/cm <sup>2</sup>		Laser GaAsAL 30 J/cm <sup>2</sup>		Laser GaAsAL 60 J/cm <sup>2</sup>		Dersani®		Salina	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
GLI	14920,0	3374,5	18366,7	3573,0	16600,0	3365,1	17783,3	2545,1	18140,0	2657,6
GLF	26840,0	7543,7	27766,7	8200,7	28400,0	9082,5	29733,3	7365,0	26400,0	3192,2
Mono I	3,2	3,3	1,5	1,5	0,3	0,5	2,2	1,7	2,2	1,9
Linfo I	70,6	8,2	75,2	7,7	74,5	5,9	75,3	8,0	79,6	3,8
Eosino I	0,8	0,8	1,2	0,8	2,7	0,5	1,7	1,4	0,8	0,8
Neutro I	25,4	6,8	22,2	7,3	20,7	6,6	20,8	7,1	17,4	4,2
Baso I	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mono F	6,4	2,5	3,7	1,0	5,8	3,4	9,8	5,0	3,6	1,9
Linfo F	69,2	5,3	68,0	8,8	80,3	7,0	70,0	11,1	65,0	9,5
Eosino F	0,8	0,4	1,7	1,0	2,3	3,8	1,0	1,1	1,6	1,3
Neutro F	23,6	4,0	26,5	10,0	11,5	3,7	19,2	8,8	29,8	8,5
Baso F	0,2	0,4	0,2	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

GLI = Global Inicial de Leucócitos (mm<sup>3</sup>), GLF = Global Final de Leucócitos (mm<sup>3</sup>), MonoI = Monócitos Inicial (%), LinfoI = Linfócitos Inicial (%), EosinoI = Eosinófilos Inicial (%), NeutroI = Neutrófilos Inicial (%), BasoI = Basófilos Inicial (%), MonoF = Monócitos Final (%), LinfoF = Linfócitos Final (%), EosinoF = Eosinófilos Final (%), NeutroF = Neutrófilos Final (%), BasoF = Basófilos Final (%).

animais do grupo controle, esses dois grupos não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si. Por outro lado, os animais tratados com o laser GaAsAl 60 J/cm<sup>2</sup>, laser GaAs 4 J/cm<sup>2</sup> e Dersani<sup>®</sup> apresentaram diminuição na quantidade de neutrófilos sendo que a maior redução, quando comparados o início e o final do tratamento, foi apresentada pelos animais dos grupos tratados com laser GaAsAl 60 J/cm<sup>2</sup>. Verifica-se também que não houve diferença na quantidade dessas células entre os animais do grupo controle e tratados com o laser GaAs 4 J/cm<sup>2</sup> e do laser GaAsAl 30 J/cm<sup>2</sup>. Diferenças significativas foram observadas apenas entre o grupo controle, e aqueles tratados com Dersani<sup>®</sup> e laser GaAsAl 60 J/cm<sup>2</sup> (Figura 2).

**Figura 2** - Valores médios da contagem de neutrófilos dos animais em função do tempo e dos tratamentos com salina, Dersani<sup>®</sup> e diferentes tipos e intensidades de laser.



## Discussão

A fisioterapia atua como tratamento na recuperação de tecidos orgânicos lesados, utilizando vários métodos e técnicas que visam de modo geral melhorar o bem-estar físico do indivíduo [11]. Dentro dessas técnicas destaca-se o laser, a laserterapia tem tido uma ampliação na sua utilização nas últimas três décadas, na Europa Ocidental e Rússia e nos últimos dez anos nos Estados Unidos e Canadá. Seu êxito se deve às respostas que induz nos tecidos, como redução do edema e diminuição do processo inflamatório, atuando sobre vários tipos celulares [12].

Existem múltiplas aplicações do laser em medicina e um dos pontos que justificam sua alta utilização e eficácia são as modificações promovidas a nível celular. Para Passarela [13], após a aplicação do laser as células aumentam o metabolismo, porque a radiação atua diretamente na cadeia transportadora de elétrons aumentando o potencial elétrico através da membrana mitocondrial, promovendo a produção de ATP e ativação da síntese de ácidos nucleicos, aumentando o metabolismo. No caso dos leucócitos este aumento no metabolismo estaria relacionado à diferenciação celular, produção

de citocinas e fatores de crescimento. Neste trabalho o laser não foi aplicado diretamente sobre os leucócitos, e sim em feridas cutâneas realizadas no dorso dos animais, no entanto, durante a cicatrização de feridas, algumas células sanguíneas estão na área da lesão exercendo importante papel de defesa, daí a necessidade de entender a ação de diferentes tratamentos sobre essas células após a realização de feridas. Quando levada em consideração a quantidade de neutrófilos, os animais do grupo controle apresentaram aumento significativo, o que não foi observado nos outros grupos, principalmente nos grupos tratados com Laser 60 J/cm<sup>2</sup> e Dersani<sup>®</sup> (Figura 2). Isso pode sugerir a presença de infecção nos animais do grupo controle, já que os neutrófilos constituem importante defesa celular contra a invasão de microorganismos e o aumento na produção destas células pela medula óssea vermelha, geralmente está associado a infecções [8,14]. Segundo Enwemeka [15], as três fases do reparo tecidual são positivamente afetadas pelo tratamento com o laser, o efeito positivo está em aspectos conhecidos da inflamação tais como proliferação celular e promoção de atividades de citocinas. Levando em consideração que uma das fases mais importantes do processo cicatricial é a inflamação, é necessário que esta ocorra de forma rápida e livre de infecções, pois só assim o processo cicatricial não será comprometido.

Segundo Parreau-Scheide [16] e Roig [17], a irradiação com o laser HeNe estimula as culturas de linfócitos, aumentando sua capacidade de fagocitose e a eficiência das células apresentadoras de antígeno, e assim promovendo um aumento na afinidade dos linfócitos para detectar o patógeno invasor. O laser promove uma melhor oxigenação e vascularização do tecido, porque atua no esfíncter pré-capilar, gerando a abertura constante e aumentando a capacidade de cicatrização do tecido [18]. Neste estudo o Laser GaAsAl não apresentou qualquer tipo de influência na quantidade destas células sanguíneas quando comparado ao controle, no entanto deve-se levar em consideração a diferença na fonte utilizada. Ainda não é bem entendida qual a modalidade de laser que poderia obter os melhores resultados celulares, mas sabe-se que o controle da fonte, dosagem e a duração da irradiação são essenciais para um bom resultado [19].

Em relação ao número de monócitos no início e no final dos tratamentos entende-se que a quantidade dessas células não foi influenciada pelas irradiações com diferentes intensidades e tipos de lasers. Alguns autores como Hemvani [20], afirmam que a exposição de monócitos ao laser de baixa potência aumenta capacidade de multiplicação dessas células, aumentando também o conteúdo celular, alterando a quantidade de algumas organelas. Neste trabalho o aumento significativo só foi observado no sangue dos animais que receberam tratamento na ferida com a pomada Dersani<sup>®</sup> (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Maldebaum [9] que afirmou em seus estudos que essa pomada pode ser usada em todos os tipos de lesão, nos diversos estágios do processo cicatricial e como preventivo de lesões,

atuando de forma bactericida em diversas fases do processo cicatricial. Além de ter ação também sobre a membrana celular, aumentando sua permeabilidade, facilitando a entrada de fatores de crescimento, promovendo mitose e proliferação celular, estimulando neoangiogênese e promovendo quimiotaxia para leucócitos.

## Conclusão

Baseado nos resultados encontrados, pode-se concluir que densidades de energia mais elevadas como do laser 60J/cm<sup>2</sup> promovem uma menor concentração de neutrófilos no sangue dos animais. No entanto essa influência seria limitada para alguns tipos celulares, já que quando analisada a quantidade de linfócitos não houve diferença estatística significativa entre os grupos. Em relação aos monócitos, o aumento na quantidade dessas células foi promovido pelo grupo tratado com a pomada Dersani<sup>®</sup>, a pomada também se destacou em relação aos neutrófilos devido à pequena quantidade dessas células ao final do experimento. Estes dados deixam claro que neste trabalho utilizando esta fonte e densidade de energia, o laser 60 J/cm<sup>2</sup> foi mais eficiente no controle da proliferação de neutrófilos o que pode indicar também controle de infecções assim como o Dersani<sup>®</sup>. No entanto torna-se evidente a importância de buscar novos protocolos de fontes e densidades de energia que apresentem maior eficiência no controle de infecções durante a cicatrização de feridas.

## Referências

1. Guirro RRJ, Guirro EC. Fisioterapia Dermato-funcional: Fundamentos, recursos e patologias. São Paulo: Manole; 2004.
2. Normam RA, Bock M. Wound care in geriatrics. *Dermatol Ther* 2003;16:224-30.
3. Blanes L, Duarte I, Silva da I, Calil JÁ, Ferreira LM. Avaliação clínica e epidemiológica das úlceras por pressão em pacientes internados no Hospital São Paulo. *Rev Assoc Med Bras* 2004;50(2):182-7.
4. Carvalho PTC. Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria: Estudo experimentação em ratos diabéticos [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP; 2002.
5. Santos VLCCG. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu; 2000.
6. Dantas CJS, Siqueira Júnior JF. Mecanismos celulares e moleculares da inflamação. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.
7. Carvalho HF, Collares-Buzzato CB. Linfócitos. In: Hernandez F. Carvalho, Carla Beatriz Collares-Buzato, eds. *Células. Uma abordagem multidisciplinar*. São Paulo: Manole; 2005. p 392-411.
8. Johnson A, Raff L, Walter R. Histologia: Vida e morte das células. In: Alberts B, Johnson A et al., eds. *Biologia Molecular da Célula*. Porto Alegre: Artmed; 2002. p 1284-91.
9. Maldebaum SH, Santis EP, Maldebaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares-Parte II. *An Bras Dermatol* 2003;78(4):393-410.
10. Ihsan MFR. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. *Photomed Laser Surg* 2005;23:289-94.
11. Stader J. The effects of low-level laser irradiation on lymphocytes from peripheral blood. In: *Annual meeting of Lasers in Surgery and Medicine 1999*. p.16-18.
12. Towbridge HO, Emling RC. Inflamação uma revisão do processo. 4<sup>a</sup> ed. São Paulo: Limitada; 1993. p. 137-48.
13. Passarella S, Casamassima S, Molinari D, Pastore E, Quagliarello IM, Catalano A, et al. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *Photomed Laser Surg* 1984;175:95-99.
14. Junqueira LC, Carneiro J. Células do sangue. In: Junqueira LCU, Junqueira LMMS, Eds. *Histologia básica*. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007. p.224-37.
15. Enweka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: A meta-analysis study. *Photomed Laser Surg* 2004;22:323-9.
16. Poureau-Schneider N, Ahmed A, Soudry M, Jacquemier J, Koop F, Franquin J, et al. Helium-neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblasts. *Am J Pathol* 1990;137:171-8.
17. Roig JLG, Trasobares EML, Sanches HM, Alvarez AVJ. Tratamiento de las úlceras por presión en el lesionado medular com laser de baja potencia y cirugía. Presentación de un caso. *Revista Cuba Ortop Traumat* 1990;4:41-5.
18. Serafim F, Teodorosk RCC. Laser arseneto de gálio (Ga-As) no tratamento das algias provocadas pela disfunção temporomandibular: estudo piloto. *Fisioter Bras* 2003;4(1):32-8.
19. Say KG, Renno AC, Gonçalves RC, Parizotto NA. O tratamento fisioterapêutico de úlceras cutâneas venosas crônicas através da laserterapia com dois comprimentos de onda. *Fisioter Bras* 2003;4(1):39-48.
20. Hemvani N, Chitnis DS, Bhaagwanani NS. Effect of helium-neon laser on cultured human macrophages. *Laser Ther* 1998;10:150-64.