

Artigo original**Avaliação do efeito de dois lasers de baixa potência - AsGa e HeNe - na dermatite tópica induzida por óleo de cróton em orelha de camundongos*****The effect of two low power lasers radiations – GaAs and HeNe – on the topic dermatitis induced by croton oil in mice ear***

Mara Sueli, Fst. M.Sc.*, Flávio Aimbire Soares de Carvalho, B.Sc. M.Sc.*, José Carlos Cogo, B.Sc. PhD**, Wellington Ribeiro, P.Sc. PhD*, Rodrigo Alvaro B. Lopes Martins, B.Sc. PhD*

.....

* *Laboratório de Farmacologia – Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento IP&D – UNIVAP,*

** *Serpentário do Centro de Estudos da Natureza – CEN/IP&D - UNIVAP*

Resumo

A inflamação é uma reação de defesa do organismo responsável pelo início do processo de reparação tecidual. Tem sido demonstrado que diversos fatores estão envolvidos na modulação da resposta inflamatória, tanto na fase aguda, como na fase crônica. Com o objetivo de investigarmos o efeito de dois tipos de radiação laser (HeNe – 632,8 nm, AsGa – 904 nm) no processo inflamatório decorrente de dermatite por agente irritante, foi utilizado o modelo clássico de dermatite tópica induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O laser HeNe reduziu significativamente o edema. Por outro lado, o laser AsGa potencializou a reação inflamatória.

Palavras-chave:

Laser, Hélio - Neônio,
Arsenieto de Gálio,
inflamação.

Artigo recebido em 29 de abril; aprovado em 20 de maio de 2002.

Endereço para correspondência: Rodrigo Alvaro B. Lopes Martins, Universidade do Vale do Paraíba, IPeD, Avenida Shishma Hijomi, 2911 - Urbanova, 12244-000, São José dos Campos - SP.
Tel (12) 3947-1087, Fax (12) 3949-1008, Email: rlopes@univap.br

Key-words: Laser,
Helium Neon, Gallium
Arsenide, inflammation.

Abstract

Inflammation is essentially a protective response that initiates the process of tissue repair. Evidence exists for a number of different factors that play important roles in modulating the inflammatory response at either phase of acute inflammation. In this present work, it was used classical model of topic dermatitis induced by chemical agent (croton oil) in mouse ears and it was investigated the effect of laser therapy HeNe (632,8 nm) and GaAs- (904 nm), on the acute inflammatory process. The HeNe diode laser (632,8 nm) was effective to inhibit the edema, considering that the best energy density was 2,0 J/cm². It can be concluded that the Laser HeNe was effective in reducing the croton-induced mice ear edema, while the Laser GaAs didn't show any anti-inflammatory effect in this model. It was observed an important tendency to worsening the dermatitis state after the laser GaAs application.

.....

Introdução

A pele é um dos maiores órgãos do corpo humano, perfazendo cerca de 16 por cento do peso corporal. Suas funções são diversas, tais como, proteção do organismo contra lesões de dessecação, receptora de estímulos do meio ambiente; excreção de várias substâncias; além de termorregulação e manutenção do equilíbrio hídrico. As funções específicas da pele dependem em grande parte das propriedades da epiderme. Esse epitélio forma um revestimento celular ininterrupto, que recobre toda a superfície externa do corpo, mas que também está especializado em alguns locais para formar os vários anexos da pele: pêlo, unhas e glândulas. Suas células produzem a proteína fibrosa queratina, que é

essencial para a função protetora da pele, e a melanina, pigmento que protege contra a radiação ultravioleta. A epiderme dá origem a dois tipos principais de glândulas, uma das quais produz uma secreção aquosa, o suor, e a outra uma secreção oleosa, o sebo [1,2].

A dermatite de contato é uma reação inflamatória da pele, causada pelo contato com algum fator ambiental. Frequentemente resulta no que é denominado eczema ou dermatite eczematosa. Estes últimos termos se referem a qualquer erupção caracterizada pela exsudação de líquido, vermelhidão, espaçamento e ocasional formação de fissuras e crosta. Sob esta denominação têm sido incluídas numerosas erupções cutâneas, algumas das quais podem ser agora classificadas com bases etiológicas [3].

As substâncias que causam essa doença podem ser divididas em dois grupos: aquelas que atuam como irritantes primários e aquelas que atuam como verdadeiros sensibilizadores alérgicos. Com o emprego cada vez maior de substâncias químicas em nossa vida cotidiana, tanto no lar quanto no trabalho, a incidência da dermatite de contato aumentou tremendamente, e é provável que assim continuem a ser. A dermatite de contato é uma das causas mais comuns de doenças da pele na indústria. De fato, foi observado que cerca de dois terços dos casos de indenização industrial nos Estados Unidos, são consequência de doenças dermatológicas, e que elas, em sua maioria, constituem dermatites de contato [3,4,5].

Utilizando-se de técnicas farmacológicas, químicas, térmicas e mecânicas, entre outras, uma série de trabalhos vem sendo publicados a respeito da utilização de recursos terapêuticos físicos anti-inflamatórios, como a estimulação elétrica [6], ondas curtas [7], irradiação infravermelha [8], acupuntura e ultra-som terapêutico de baixa e média intensidade [9]. Diversos grupos incluem trabalhos realizados com lasers de baixa potência, como alternativa de tratamento anti-inflamatório e de reparação tecidual [10, 11, 12, 13]. No entanto, existe uma enorme carência de artigos na literatura, a respeito do emprego do laser em patologias tóxicas como a dermatite de contato por substâncias irritantes. Além disso, existe ainda muita controvérsia a respeito de qual o tipo de laser e o comprimento de onda ideal a ser utilizado para cada tipo de patologia. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho é de investigar o efeito da terapia com 02 lasers de baixa intensidade (Hélio-Neônio 632,8 nm e Arsenieto de Gálio, 904 nm), na dermatite de contato induzida por óleo de croton em orelha de camundongo.

Material e Métodos

Foram utilizados camundongos *swiss* machos provenientes do Biotério da UNIVAP, pesando entre 20 e 25 g, com livre acesso a água e ração, e ciclo claro/escuro de 12 horas. Cada grupo experimental foi constituído de 10 animais (n=10).

Protocolos de irradiação

Laser HeNe

Os primeiros grupos foram submetidos a irradiação com laser HeNe (632,8nm) utilizando densidades de energia 1, 2 e 5 J/cm².

Protocolo de irradiação	Valores
Densidade de energia (DE)	1,0; 2,0; 5,0 J/cm ²
Potência (P)	2 mW
Comprimento de onda (l)	632,8 nm
Área de feixe	0,08 cm ²
Distância da pele	Técnica de contato
Tempo indução óleo de cróton	0',30',60'
Tempo de irradiação	1 J/cm ² = 00:40 s; 2 J/cm ² = 01 min 20 s; 5 J/cm ² = 03 min 20 s

Laser AsGa

Neste grupo experimental os animais foram submetidos a irradiação com laser AsGa com densidade de energia de 1, 2, 5 J/cm²

Protocolo de irradiação	Valores
Densidade de energia (DE)	1.0; 2.0; 5.0 j/cm ²
Potência (P)	2mW
Comprimento de onda (l)	904nm
Área de feixe	0,08 cm ²
Distância da pele	Técnica de contato
Tempo indução óleo de cróton	0",30',60'
Tempo de irradiação	1 J/cm ² = 00:20s; 2 J/cm ² = 00:40s; 5 J/ cm ² = 1min 40s

Indução da dermatite pelo óleo cróton

O processo inflamatório foi experimentalmente caracterizado como dermatite induzida, de acordo com a metodologia descrita por Sértie *et al* [14]. Para tanto, 200 mg de óleo cróton foram dissolvidos em 20 ml de acetona, e esta solução aplicada topicamente na orelha de camundongos.

Após duas horas da aplicação tóxica da solução, os camundongos foram sacrificados com uma dose letal de anestésico inalatório (halotano). Posteriormente, foi então retirada uma amostra da orelha direita com "punch" de 8 mm diâmetro e o peso da amostra pesado em balança analítica digital com precisão de 05 casas decimais.

Irradiação com laser HeNe e laser AsGa

Após a indução da dermatite, os animais foram irradiados com laser HeNe e AsGa em diferentes densidades de energia. O objetivo foi avaliar o efeito anti-inflamatório dos lasers HeNe e AsGa sobre o edema de orelha, induzido por óleo de cróton em camundongos.

Protocolo experimental - 01

Laser HeNe (632,8 nm)

- Grupo 1 (grupo controle) - óleo de cróton sem irradiação laser;
- Grupo 2 - óleo de cróton e laser 1 J/cm²;
- Grupo 3 - óleo de cróton e laser 2 J/cm²;
- Grupo 4 - óleo de cróton e laser 5 J/cm².

Protocolo experimental - 02

Laser AsGa (904 nm)

- Grupo 1 (grupo controle) - óleo de cróton sem irradiação laser;
- Grupo 2 - óleo de cróton e laser 1 J/cm²;
- Grupo 3 - óleo de cróton e laser 2 J/cm²;
- Grupo 4 - óleo de cróton e laser 5 J/cm².

Protocolo experimental - 03

Laser HeNe (632,8 nm; 2 J/cm²) em diferentes momentos de irradiação após a indução do edema de orelha;

- Grupo 1 (grupo controle) - óleo de cróton sem irradiação laser;
- Grupo 2 - óleo de cróton e laser 2 J/cm² imediatamente após a indução do edema;
- Grupo 3 - óleo de cróton e laser 2 J/cm² 30 minutos após a indução do edema;
- Grupo 4 - óleo de cróton e laser 2 J/cm² 60 minutos após a indução do edema;
- Grupo 5 - óleo de cróton e laser 2 J/cm² 90 minutos após a indução do edema;
- Grupo 6 - óleo de cróton e laser 2 J/cm² 120 minutos após a indução do edema.

Análise estatística

Os dados das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido de teste de "t" de Student para amostras não pareadas. As análises estatísticas foram

conduzidas utilizando o GraphPad Software V.2.01, Graphpad Instat-tm (1990-1993). Os resultados foram expressos como a média ± E.P.M. Os valores de P < 0,05 foram considerados significativos.

Resultados

Efeito da irradiação com laser He-Ne na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo

O gráfico 01 representa o efeito da irradiação com laser He-Ne na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongos. Como podemos observar, a irradiação com esse tipo de laser na densidade de energia de 1 J/cm² foi capaz de reduzir o edema. Neste grupo experimental a irradiação com laser He-Ne imediatamente (0 minuto), 30 e 60 minutos após a indução do edema, foi significativamente reduzida a 28 ± 1%, 31 ± 2% e 25 ± 1%, respectivamente.

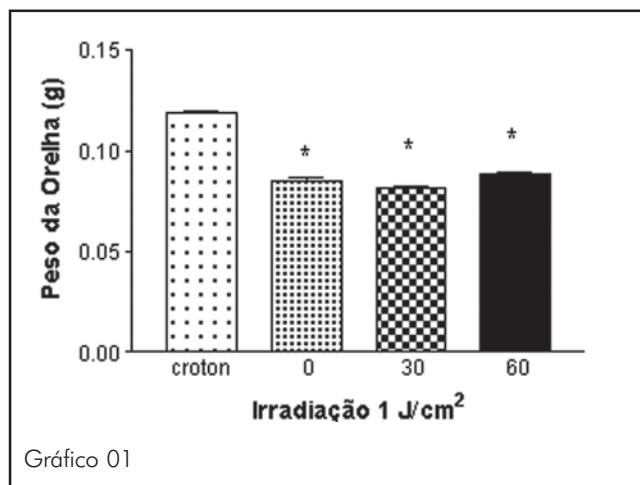


Gráfico 01
Efeito da irradiação com laser He-Ne (1 J/cm²) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 03 momentos diferentes (0, 30 e 60 min) após a indução da dermatite (* = P<0,05; n=10)

No gráfico 02 podemos observar o efeito da irradiação com laser He-Ne com densidade de energia de 2 J/cm². Neste grupo experimental o laser He-Ne reduziu de forma significativa o edema de orelha em camundongos 42 ± 0,5%, 55 ± 0,8% e 52 ± 0,6, nos grupos irradiados imediatamente

(0 minuto) 30 e 60 minutos após a indução do edema, respectivamente.

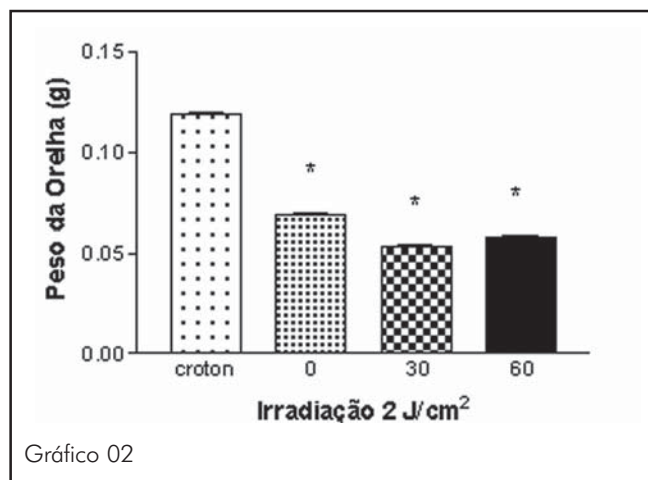


Gráfico 02
Efeito da irradiação com laser He-Ne (2 J/cm²) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 03 momentos diferentes (0, 30 e 60 min) após a indução da dermatite (* = P<0,05; n=10)

O gráfico 03 representa o efeito da irradiação com laser He-Ne com densidade de energia de 5 J/cm². Analisando este gráfico, podemos observar que a irradiação com laser He-Ne foi efetiva em reduzir o edema de orelha imediatamente após a sua indução (0 minuto 16 ± 1%). Nos demais períodos de irradiação, 30 e 60 minutos após a indução do edema, a irradiação com laser He-Ne não foi efetiva na redução do edema, 8 ± 1% e 13 ± 1%, respectivamente.

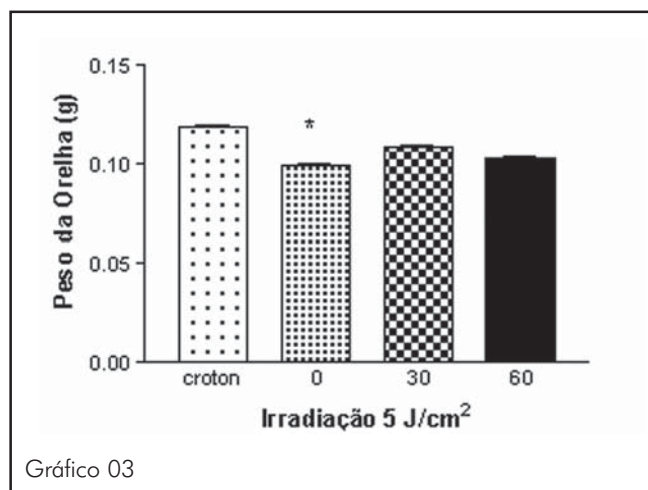


Gráfico 03
Efeito da Irradiação com laser He-Ne (5 J/cm²) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 03 momentos diferentes (0, 30 e 60 min) após a indução da dermatite (* = P<0,05 ; n=10)

Efeito da irradiação com laser As-Ga na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo

O gráfico 04 representa o efeito da irradiação com laser As-Ga sobre o edema de orelha induzido por óleo de cróton em camundongos. Neste grupo experimental podemos observar que a irradiação com laser As-Ga com densidade de energia de 1 Jcm² não foi capaz de reduzir significativamente o edema de orelha nos grupos irradiados imediatamente (0 minuto), 30 e 60 minutos após a indução do edema, respectivamente.

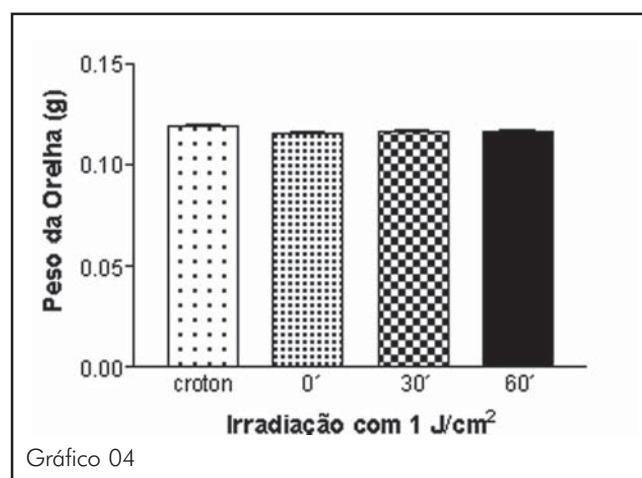


Gráfico 04
Efeito da irradiação com laser As-Ga (1 J/cm²) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 03 momentos diferentes (0, 30 e 60 min) após a indução da dermatite. (* = P<0,05; n=10)

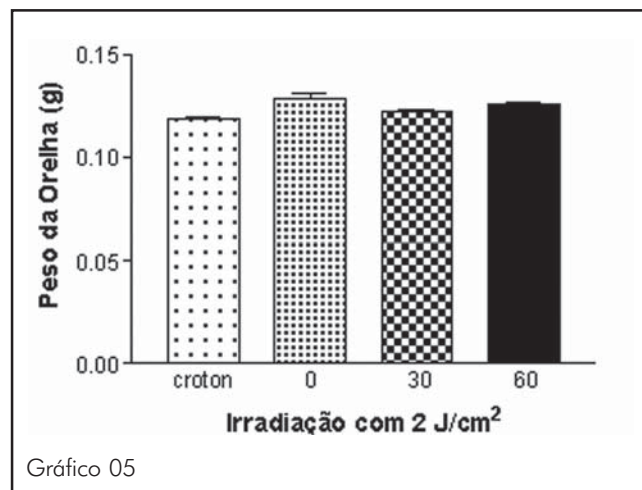
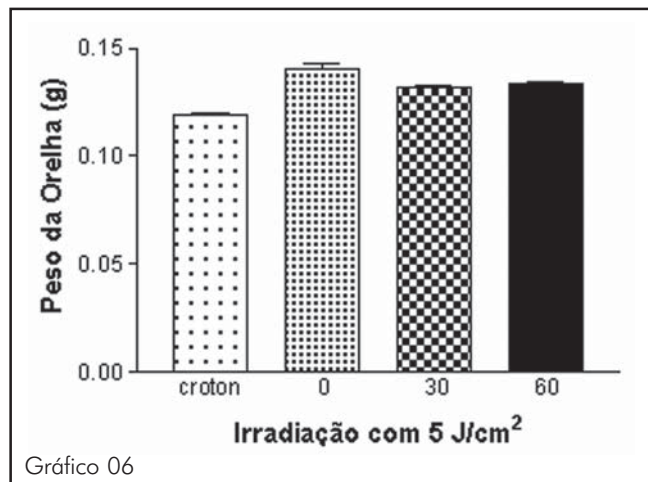


Gráfico 05
Efeito da irradiação com laser As-Ga (2 J/cm²) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 03 momentos diferentes (0, 30 e 60 min) após a indução da dermatite (* = P<0,05; n=10)

O gráfico 05 representa o efeito da irradiação com laser As-Ga sobre o edema de orelha induzido por óleo de cróton em camundongos. Neste grupo experimental podemos observar que a irradiação com laser As-Ga com densidade de energia de 2 J/cm^2 não foi capaz de reduzir significativamente o edema de orelha nos grupos irradiados imediatamente (0 minuto), 30 e 60 minutos após a indução do edema, respectivamente.

O gráfico 06 representa o efeito da irradiação com laser As-Ga sobre o edema de orelha induzido por óleo de cróton em camundongos. Neste grupo experimental podemos observar que a irradiação com laser As-Ga com densidade de energia de 5 J/cm^2 não foi capaz de reduzir significativamente o edema de orelha nos grupos irradiados imediatamente (0 minuto), 30 e 60 minutos após a indução do edema, respectivamente.

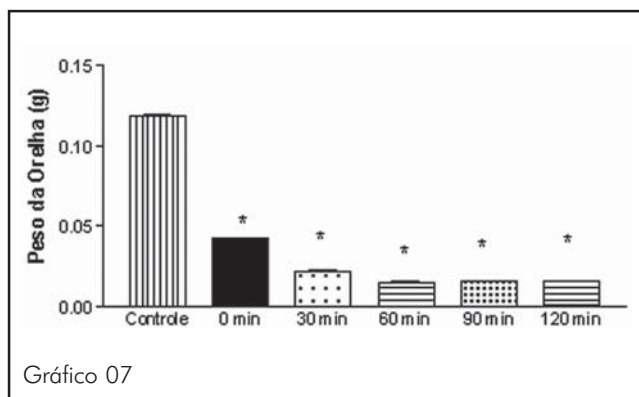


Efeito da irradiação com laser As-Ga (5 J/cm^2) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 03 momentos diferentes (0, 30 e 60 min) após a indução da dermatite (* = $P < 0,05$; $n = 10$)

Efeito da irradiação com laser He-Ne na Densidade de energia de 2 J/cm^2 irradiados 05 momentos diferentes (0, 30, 60, 90 e 120 min) após a indução da dermatite por óleo de cróton em orelha de camundongo

O gráfico 07 representa o perfil temporal de efeito do laser He-Ne com densidade de energia de 2 J/cm^2 sobre o edema de orelha

induzido por óleo de cróton em camundongos. Neste grupo experimental podemos observar que a irradiação com laser He-Ne foi efetiva em reduzir o edema em todos os diferentes intervalos de tempo, mesmo quando irradiado imediatamente após a indução da dermatite (0 minuto), porém seu efeito anti-inflamatório mais pronunciado é observado 60 minutos após a indução da dermatite.



Perfil temporal de efeito da irradiação com laser He-Ne (2 J/cm^2) na dermatite induzida por óleo de cróton em orelha de camundongo. O gráfico mostra o efeito da irradiação em 05 momentos diferentes (0, 30, 60, 90 e 120 min) após a indução da dermatite (* = $P < 0,05$; $n = 10$)

Discussão

A aplicação da laserterapia como tecnologia terapêutica na área de fisioterapia tem apresentado um crescimento significativo. As propriedades curativas da radiação laser, aliadas à segurança do tratamento parecem ser os principais responsáveis por este crescimento, justificando também o aumento do interesse dos pesquisadores da área biomédica, na investigação dos mecanismos de ação dos efeitos terapêuticos dos lasers de baixa potência.

Os efeitos do laser de baixa potência (LBP) são baseados nos mecanismos não térmicos [12, 13], ou seja, a partir da interação da luz com o tecido, influenciando funções celulares, tais como, estimulação ou inibição de atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas, e promovendo efeitos de biomodulação [13]. A magnitude do efeito é referida como sendo dependente do comprimento de onda da radiação, da energia

total oferecida ao tecido e da densidade de energia aplicada [15,16].

O tecido biológico é pouco homogêneo do ponto de vista óptico. Dessa forma, toda a radiação eletromagnética ao incidir sobre o tecido, interage por meio de reflexão, espalhamento, absorção e transmissão. A reflexão varia com o ângulo de incidência da luz e as propriedades ópticas da superfície do tecido. Karu [17] relatou em seus estudos, que a reflexão da pele, quando se tem o feixe laser incidindo perpendicularmente, é de 4-7%, variando com a aplicação de pomadas, líquidos e secreção sebácea. Então, de 93 a 97% da irradiação incidente na superfície penetra nos substratos subseqüentes, na pele e na derme, encontrando substâncias com índice de refrações diferentes. Dessa forma, os fótons vão se distribuir de acordo com a absorção de cada estrutura, pois a função fotoreguladora determina qual comprimento de onda que cada estrutura é capaz de absorver e, com isso, promover transformações na atividade funcional e metabólica da célula.

O presente trabalho mostra que a irradiação com o LBP He-Ne (632 nm) foi capaz de reduzir significativamente o edema de orelha em camundongos decorrente da dermatite tópica induzida por óleo de cróton (gráficos 1 e 3). O edema induzido por óleo de cróton é um modelo experimental clássico utilizado para estudos de inflamação tópica. Em contrapartida, observamos que o Laser de Arsenieto de Gálio (904 nm) não apresentou efeito terapêutico no edema de orelha em camundongos decorrente da dermatite tópica, sendo observado uma tendência importante de potencialização do efeito edematogênico (gráficos 4 e 6).

A respeito do mecanismo de ação do LBP na redução do edema, alguns autores sugerem que os componentes celulares (fotorreceptores), podem absorver fótons fornecidos através da energia do LBP e acelerar a produção de ATP, fornecendo energia para célula, que por sua vez pode modular a resposta inflamatória [18,19,20]. Neste sentido, podemos inferir que o comprimento de onda da radiação é um fator primordial para o efeito biológico observado. Apesar de alguns tipos de laser serem classificados como de baixa

potência, se faz necessário o estudo das características particulares de cada laser em função de seu comprimento de onda.

É descrito na literatura, que na fase inicial do processo inflamatório, principalmente quando induzido por substâncias irritantes, ocorre a degranulação mastocitária (liberação do conteúdo dos grânulos dos mastócitos), que no caso de roedores contém predominantemente serotonina. Nossos resultados mostram que a irradiação com laser He-Ne com densidade de energia de 2 J/cm² foi eficaz na redução do edema 30 minutos (fase aguda inicial) após a indução da dermatite, atingindo seu melhor efeito anti-inflamatório 60 minutos após a indução da dermatite.

Embora o presente trabalho não aborde um estudo sobre as células inflamatórias presentes no exsudato da orelha de camundongos, é provável que a irradiação com laser He-Ne possa interferir com a degranulação de mastócitos, no sentido de reduzir o edema.

Nossa hipótese diverge dos estudos de Albertini et al [21,22], que mostraram em modelo de edema de pata em ratos induzido pelo composto 48/80, que a irradiação com laser de Baixa Potência (As-Ga) não reduz a degranulação dos mastócitos. Vale ressaltar que o composto 48/80 tem a ação de degranular mastócitos.

Ainda neste contexto, Silveira & Lopes [23] avaliaram o comportamento de mastócitos em duas áreas, sendo uma tratada com LBP e a outra não tratada. Os resultados demonstraram que o número de mastócitos degranulados aumentou de maneira significativa na área tratada com LBP, o que evidencia o fenômeno de degranulação total e completa dos grânulos liberados. Além disso, Maillet *et al.* [24] relatam que a ação dos fótons emitidos pela radiação do LBP, atua na membrana celular de mastócitos, provocando a sua ruptura, já que são células especialmente vulneráveis a qualquer tipo de estímulo [25]. Da mesma forma, Tuner & Hode [26] observaram que os efeitos da irradiação com He-Ne na potência de 4mW, e com densidade de energia de 2,4 J/cm² sobre mastócitos, aumentou a degranulação desse tipo de célula.

Tomados em conjunto, os resultados acima

descritos mostram divergências no que diz respeito ao tipo de LBP, e a densidade de energia utilizada para obtenção do melhor efeito biológico.

Uma outra hipótese que podemos sugerir é o efeito da irradiação com LBP sobre o fluxo linfático. O sistema de vasos linfáticos e linfonodos filtra e regula os líquidos extravasculares, e em conjunto com o sistema de fagócitos mononucleares, representa uma segunda linha de defesa, que é acionada, sempre que uma reação inflamatória local não consegue conter e neutralizar a lesão.

Os vasos linfáticos são canais extremamente delicados, revestidos por endotélio delgado e contínuo com junções celulares frouxas e superpostas; possuem membrana basal escassa e ausência de sustentação muscular, exceto nos ductos maiores. O fluxo linfático na inflamação é aumentado, e parece ser o grande responsável pela drenagem de líquido, leucócitos e restos celulares de edema que chegam a linfa. Válvulas estão presentes nos vasos linfáticos, permitindo que o conteúdo linfático flua apenas no sentido proximal [1].

Segundo Lievens [27, 28], a irradiação com LBP He-Ne é capaz de aumentar significativamente o fluxo linfático no sítio inflamatório, e ainda, que a restauração de vasos linfáticos foi extremamente mais rápida em animais irradiados (9 dias), do que em animais não irradiados (55 dias). Estes dados sugerem que a redução do edema inflamatório em animais submetidos à terapia com laser de baixa potência pode apresentar um componente linfático, através do aumento da drenagem do exsudato inflamatório.

Dessa forma, é razoável admitir que o LBP (He-Ne) pode interferir com o fluxo linfático no sítio inflamatório, no sentido de aumentar a drenagem do exsudato, permitindo a redução do edema

É importante salientar que este trabalho evidencia a importância do conhecimento do comprimento de onda da radiação laser adequado a ser utilizado em cada patologia específica, e que o uso inadequado desta tecnologia pode não causar o efeito esperado, como até mesmo induzir uma piora do quadro inflamatório.

Referências

1. Contran RS, Kumar V, Collins T. Robbins patologia estrutural e funcional ed. Guanabara, Koogan p.1051, 2000, Bloom e Fawcett, 1977.
2. Wolf, R., Wolf, D. Contact Dermatitis. Clinics in Dermatology 2000;18:661-666.
3. Forstrom L. Contact urticaria from latex surgical gloves. Contact Dermatitis 1980; 6:33-34.
4. Akcakaya N, Kulak K, Hassanzadeh A, Latex allergy: The incidence among Turkish Children with atopic disease and with neural tube defects. Allergol. Immunopathol 1999. 27:141-144.
5. Gersh MR. Transcutaneous electrical nerve stimulation for management of pain. In: Gersh MR. (ed.). Electrotherapy in Rehabilitation. Philadelphia: FA. Davis Co, p. 149-196, 1990.
6. Bouwhuijsen, F. Terapia de onda corta pulsátil y continua. Al Delft: B. V. enraf-Nonius, 1986
7. Michlovitz, S.I. Biophysical principles of heating and superficial heat agents. In: Michlovitz, S.I. (ed.), Thermal Agents in Rehabilitation. 2 ed. Philadelphia: F.A. Davis Co., 1990, p. 88-107.
8. Zislin, M.C.; Mmdiamid, T. & Michlovitz, S.I. Therapeutic ultrasound. In: Michlovitz, S.I. (ed.), Thermal Agents in Rehabilitation. 2 ed. Philadelphia: F.A. Davis Co., 1990, p. 134-169.
9. Young S, Bolton P, Dyson M, Harvey w, Diamantopoulos C. Macrophage Responsiveness to Light Therapy. Lasers in Surgery and Medicine, 1989. 9:497-505.
10. Sattayut S, Hughes F, Bradley P. 820 nm Gallium Arsenide Laser Modulation of Prostaglandin E2 Production in Interleukin 1 Stimulated Myoblasts. Laser Therapy, 1999. 11(2): 88-95.
11. Naveh N, Peer J, Bartov E, Weissman C. Argon Laser irradiation of rabbits eyes-changes in prostaglandin E2 levels. Prostaglandins 41:143-155.
12. Kitchen SS, Bazin S. Eletroterapia de Clayton. São Paulo Ed. Manole Ltda, 1996.
13. Basford JR. Low intensity laser therapy – still not na established clinical tool. Lasers

- in Surgery and Medicine 1995;16(4):331-42.
14. Sertie JA, Basile AC, Panizza S, Oshiro TT, Azzolini CP, Penna SC. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea*. III: Oral and topical antiinflammatory activity and gastrotoxicity of a crude leaf extract. *J Ethnopharmacol* 1991;31(2):239-47.
 15. Beckerman H, De Bie R, Bouter L, De Cuyper H, Oostendorp R. The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: A criteria-based met-analysis of randomized clinical trials. *Physical Therapy*, 1992; 72 :483-491.
 16. De Bie RA, De Ve H, Lenssen TF, Wildenberg F, Kootstra G. Low level laser therapy in ankle sprains: a randomized clinical trial. *Arch Phys med Rehabil* 1998; 79:1415-1420.
 17. Karu T. A suitable model for wound healing: how many times are we to stumble over the same block? : *Lasers Surg Med*, 1999;25(4):283-4.
 18. Manteifel V, Bakeeva L, Karu T. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with he-ne laser: appearance of giant mitochondria *Journal of Photochem and Photobiol* 1997;38:25-30.
 19. Breitbart H, Levinshal T, Cohen N, Friedmann H, Lubart R. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633nm (HeNe laser) *Journal of Photochem Photobiol B* 1996;34:117-121.
 20. Wilden L, Karthein R. Import of phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. *Journal of Clin laser Med & Surgery* 1998;16(3):159-165.
 21. Albertini R. Análise do Efeito do Laser de Baixa Potência (As-Ga-Al) em Inflamação Aguda. Tese de Mestrado Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica – IP&D/UNIVAP. 2001
 22. Albertini R, Correa FI, Ribeiro W, Cogo JC, Antunes E, Teixeira S, De Nucci G, Faria-Neto HCC, Aimbire FSC, Zângaro RA, Lopes-Martins RAB. Análise do efeito do laser de baixa potência (As-Ga-Al) no modelo de inflamação de edema de pata em ratos. *Fisioterapia Brasil* 2002;3(1):5-15.
 23. Silveira JC, Lopes EE. Alguns aspectos do comportamento do mastócito sob a ação do raio laser de As-Ga 904nm (estudo experimental em cobaias- *cavia porcelos*) In: Donato AC: Boraks, S. *Laser Clínico aplicações em práticas em odonto estomatologia*. Robe p.27-58,1993.
 24. Maillet H. O laser: princípio e técnicas de aplicação. São Paulo: Manole, 1987. 538p.
 25. Uvnás B. Release processes in mast cells and their activation by injury *Ann NY Acad Sci* 1964;116:880-890.
 26. Túner J, Hode L. It's all in the parameters: A Critical analysis of some well-known negative studies on low power laser therapy *Journal of Clin. Laser med. & Surgery* 1998;16(5):245-248.
 27. Lievens P. Effect of a combined HeNe and I.R. laser treatment on the regeneration of the lymphatic system during the process of wound healing. *Laser News* 1990:3-9.
 28. Lievens P. The effect of I.R. laser irradiation on the vasomotricity of the lymphatic system. *Láser med science* 1991:189-191.
-