

Artigo original

Tratamento comparativo entre laserterapia de baixa potência e cetoprofeno em feridas cutâneas de ratos

Comparative treatment between low-level laser therapy and ketoprofen on skin healing of rats

Fabiana do Socorro da Silva Dias de Andrade, M.Sc.*, Rosana Maria de Oliveira Clark, D.Sc.**, Manoel Luiz Ferreira, D.Sc.**, Fabiana Lessa Silva, D.Sc.**, Amauri Wenceslau, D.Sc.**, Fabianne de Jesus Dias de Sousa, M.Sc.***, Adriana Lanfredi Rangel, D.Sc.****, Odete Duarte de Oliveira Neta, M.Sc.*****

.....
*Professora, União Metropolitana de Educação e Cultura, Itabuna/BA, **Professores Adjuntos, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus/BA, ***Professora, Universidade Federal da Amazônia, Belém/PA, ****Pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz, Salvador/BA, *****Médica veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus/BA

Resumo

Introdução: Os efeitos bioestimulatórios do laser de baixa potência têm sido associados à melhora da dor, inflamação e cicatrização de feridas. *Objetivos:* Avaliar e comparar a cicatrização de feridas tratadas com laser de baixa potência ou anti-inflamatório não esteroide, através de meios macro e microscópicos. *Material e métodos:* Um total de 45 ratos adultos machos foi distribuído em três grupos de 15 animais cada. O grupo laserterapia (GL) foi tratado com laser de AlGaInP (10 mW de potência, 658 nm de comprimento de onda e dose de 4 J/cm²), durante 50s aplicados após 24h do procedimento cirúrgico ao longo de 3, 7 e 14 dias consecutivamente. O grupo anti-inflamatório não esteroide (GAINÉ) foi tratado com injeção subcutânea diária de cetoprofeno (5 mg/kg). O grupo controle (CG) não recebeu nenhum tratamento. *Resultados:* Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa para o tamanho das feridas tratadas com LG ou GAINÉ. Houve redução do tamanho das feridas entre os grupos tratados LG quando comparados com o GC ($p < 0,05$), e a presença de crosta foi observada até o 4º dia apenas no GL. *Conclusão:* Os GL e GAINÉ apresentaram redução do tamanho das feridas entre o 3º e 7º dias de tratamento. O GC não apresentou diferença estatisticamente significativa para o tamanho das feridas em nenhum dos dias de tratamento. O tratamento com laser também não demonstrou superioridade em relação ao uso de cetoprofeno em relação à contagem de colágeno.

Palavras-chave: fisioterapia, cicatrização de feridas, laser.

Abstract

Introduction: It has been speculated that the bio stimulatory effect of low level laser therapy could ameliorate the pain, swelling, and inflammation associated to wound healing. *Aims:* To evaluate and compare the healing of induced surgical wounds treated with low-level laser therapy or non-steroidal anti-inflammatory agent macroscopically and microscopically. *Methods:* A total of 45 adults male Wistar rats were randomly distributed into three groups of 15 animals each. Laser therapy group (LG) was irradiated using AlGaInP laser therapy equipment (10 mW, 658 nm wavelength) at dosage of 4 J/cm², for a 50 s exposure beginning 24 h after the surgical procedure and continuing for 3, 7 or 14 consecutive days. The non-steroidal anti-inflammatory group was treated with subcutaneous ketoprofen daily, at the same intervals. The CG underwent no treatment. *Results:* There was no statistically significant difference in wound size between the treated animals in LG and NSAIG. There was a reduction of the wound size in LG compared with CG ($P < 0.05$) and the presence of crust was present until the 4th day, only in the LG. *Conclusion:* The LG and NSAIG presented size reduction of wounds between 3 and 7th. The CG showed no statistically significant in the size of the wounds in any of the treatment days. Laser treatment did not show superiority over the use of ketoprofen in count collagen.

Key-words: laser therapy, inflammation, wound healing.

Recebido em 5 de abril de 2013; aceito 10 de fevereiro de 2014.

Endereço para correspondência: Fabiana do Socorro da Silva Dias de Andrade, Av. Eduardo Fontes, 81/501, 45600-735 Duque de Caxias RJ, E-mail: fabi4000@gmail.com

Introdução

Theodore Maiman foi o primeiro pesquisador a estudar as aplicações da terapia a laser, em meados de 1960. Em 1983, foi publicada a primeira pesquisa para o tratamento de feridas utilizando o laser de Hélio-Neônio (He-Ne) [1]. O número de evidências sobre as técnicas de irradiação que podem ser administradas em lesões teciduais varia de uma única aplicação a múltiplas aplicações, especialmente durante o período de pós-operatório [2].

O efeito anti-inflamatório do laser eleva o metabolismo celular, promovendo aumento na síntese de endorfinas e reduzindo a ação transmissora e moduladora de nociceptivos da enzima cicloxigenase-2 (Cox2), além de atuar como estabilizador da membrana celular [3-5].

A ação do laser inicia-se ainda durante a fase de granulação, no entanto seus efeitos são mais evidentes durante as fases de proliferação e maturação. Neste sentido, sabe-se que a escolha do tipo de técnica, dose, comprimento de onda, modo e tempo de exposição utilizados estão diretamente associados aos resultados encontrados no reparo tecidual [4,6].

Inúmeros trabalhos têm descritos os efeitos da terapia a laser de baixa potência sobre a proliferação vascular, presença de tecido de granulação maduro, redução do processo inflamatório e promoção de analgesia até o 5º dia de aplicação [7,8]. É possível observar também redução do tamanho da área da ferida, tanto em humanos quanto em animais, embora não haja consenso sobre quais variáveis físicas possam ser utilizadas em cada tratamento [9,10].

O cetoprofeno é um analgésico similar ao diclofenaco, e pode ser administrado durante o período pós-operatório, de forma intravenosa ou subcutânea. Trata-se de inibidor não específico de ciclooxigenases (Cox1 e Cox2). A Cox1 é enzima mantenedora da homeostase no corpo, protege a mucosa gastrointestinal e regula a ação renal em relação aos fluidos e balanço eletrolítico. A Cox2, por sua vez, é a responsável pelas condições de dor e inflamação que se seguem neste período agudo de reparação tecidual [11]. Anti-inflamatórios não esteroidais parecem reduzir o tempo da resposta tecidual ao estresse, diminuindo assim a permanência em unidades hospitalares e, conseqüentemente, a mortalidade [12]. Huang *et al.* [13] observaram que o uso de anti-inflamatórios esteroidais ou não esteroidais, em combinação com laser, poderia promover consideráveis efeitos no processo de reparação tecidual.

A proposta desta pesquisa justifica-se em elucidar os potenciais benefícios da terapia com laser de baixa potência sobre feridas induzidas cirurgicamente, quando comparada ao uso de medicação não esteroidal, a fim de que se reduzam os custos com medicação, bem como menor ocorrência dos resultados indesejáveis da cicatrização, tais como edema, crosta e cicatriz.

O objetivo do presente estudo é comparar os efeitos entre a terapia a laser de baixa potência e o uso de cetoprofeno no tratamento de feridas cirúrgicas de ratos.

Material e métodos

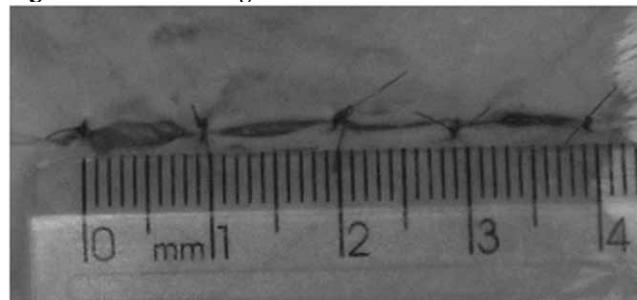
Este estudo foi aprovado pela Universidade Estadual de Santa Cruz, através de Comitê de Ética em Pesquisa Animal, sob o protocolo de número 002/11. Foram utilizados 45 ratos Wistar machos, adultos e saudáveis, os quais foram distribuídos em três grupos, de 15 animais cada: grupo laser (GL), grupo anti-inflamatório não esteroidal (GAINÉ) e grupo controle (GC). Minigrupos contendo 5 animais foram tratados durante 3, 7 e 14 dias consecutivos (Tabela I).

Tabela I - Descrição da metodologia dos tratamentos aplicados.

Grupo	N	Procedimento	Dias
GL a	5	Laser (10 mW, 658 nm, 4 J/cm ²)	03
GL b	5	Laser (10 mW, 658 nm, 4 J/cm ²)	07
GL c	5	Laser (10 mW, 658 nm, 4 J/cm ²)	14
GAINÉ a	5	Cetoprofeno (5mg/kg/d)	03
GAINÉ b	5	Cetoprofeno (5mg/kg/d)	07
GAINÉ c	5	Cetoprofeno (5mg/kg/d)	14
GC a	5	Grupo controle	03
GC b	5	Grupo controle	07
GC c	5	Grupo controle	14

Os animais foram anestesiados com uma combinação de xilazina (10 mg/kg) e ketamina (100 mg/kg) e, logo após, foi realizada a tricotomia e assepsia com polivinilpirolidona-iodada. Uma incisão de 4 cm de comprimento foi feita em região abdominal até o limite do tecido subcutâneo. Ao longo do corte 5 pontos foram suturados com fio Prolene 5.0, distantes entre si 1cm (Figura 1).

Figura 1 - Incisão cirúrgica.



Após 24 h do procedimento cirúrgico, o GL iniciou aplicações diárias com laser de baixa potência do tipo (AlGaInP), conforme os seguintes parâmetros: comprimento de onda (658nm), potência (10 mW), dose (4 J/cm²) e tempo de 50 s entre os pontos presentes na sutura. O grupo GAINÉ recebeu limpeza diária da ferida cirúrgica com solução salina a 0,9% e cetoprofeno na dose de 5mg/kg, em região da fossa ilíaca. Por fim, o GC recebeu apenas limpeza da ferida cirúrgica, diariamente.

Todos os grupos apresentaram medida do tamanho da ferida através de régua transparente e milimetrada no 3º, 7º e 14º dias de pós-operatório (Figura 1). A partir

de então, os animais correspondentes a cada grupo de tratamento foram anestesiados com dose letal de tiopental sódico (120 mg/kg, intraperitonealmente), a fim de que após eutanásia fosse colhido material da ferida para devida análise histológica.

Parte da pele e tecido subcutâneo extraídos da ferida foram fixados em formalina a 10%, durante 24-48 h. Após esse período, as amostras permaneceram embebidas em parafina e obtidos seis cortes semiseriados para análise. Os cortes foram corados com hematoxilina-eosina e picrossírius vermelho, cujas análises deram-se através de microscópio Olympus BX51, adaptado com filtros polarizadores e câmera digital Olympus Q-Color (140 MP). Os parâmetros histológicos considerados foram a presença de linfócitos e macrófagos, processo de reepitelização, neoangiogênese, fibras de colágeno e ocorrência de crosta.

A coleta dos dados foi interpretada por meio de estatística descritiva e inferencial, utilizando-se o programa Bioestat 5.0, domínio público, e o nível de significância foi de $P < 0,05$. Testou-se a normalidade dos dados através do teste de Levene. A comparação intragrupos para testar a diferença entre a redução do tamanho da ferida de acordo com os dias de tratamento estabelecidos foi analisada através do teste Anova (com repetição). A comparação intergrupos, para amostras independentes, por sua vez, foi analisada pelo teste *One way* Anova. A correlação entre a presença de colágeno e redução do tamanho da ferida, conforme os tratamentos adotados, foi analisada através do teste de correlação de *Spearman*.

Resultados

Análise macroscópica da ferida

Sabe-se que secreção hemática em contato com o ar torna-se crosta e, embora tal fato tenha sido observado, o mesmo não esteve acompanhado da presença de edema nos grupos GL e GAINE. O processo descrito interrompeu-se a partir do 4º dia de pós-operatório nos grupos tratados com laser de baixa potência e cetoprofeno.

Tabela III - Elementos histopatológicos encontrados entre os grupos não mostraram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) conforme os dias de tratamento propostos.

Elementos	Grupos/ Tempo de tratamento (Dias)								
	GL			GAINE			GC		
	3	7	14	3	7	14	3	7	14
Macrófagos	3	2	1	3	2	2	3	2	2
Neutrófilos	3	2	1	3	2	1	3	2	2
Tecido de granulação	2	2	2	3	2	2	3	3	2
Epitelização	2	3	4	2	3	3	2	3	3
Neovascularização	0	3	4	0	2	4	0	2	4

ausente; (1) leve; (2) moderada; (3) intensa; (4) muito intensa.

Na análise intragrupos entre os animais tratados com laser e cetoprofeno, observou-se diferença estatisticamente significativa no tamanho da ferida entre o 3º e o 7º dias de tratamento. O GC não apresentou diferença estatisticamente significativa no tamanho da ferida para nenhum dos dias de tratamento.

Na análise intergrupos, por sua vez, houve diferença estatisticamente significativa no tamanho da ferida para os grupos tratados com laser quando comparados ao GC ($p < 0,05$). O grupo GAINE não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado aos demais tratamentos (Tabela II).

Tabela II - Média e desvio padrão do tamanho da ferida (em mm) de acordo com os tratamentos propostos.

Tempo de tratamento (dias)	Grupos	Média e Desvio-padrão
3	GL	34,2 ± 1,1
	GAINE	34,2 ± 1,1
	GC	38,2 ± 3,0
7	GL	27,2 ± 2,4**
	GAINE	33,8 ± 6,5
	GC	37,0 ± 4,7
14	GL	28,8 ± 4,1**
	GAINE	35,6 ± 4,3
	GC	41,2 ± 3,9

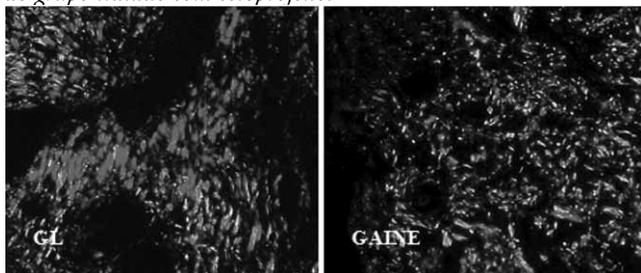
**Houve diferença estatisticamente significativa para redução do tamanho da ferida no grupo GL quando comparado ao GC ($P < 0.05$) nos grupos tratados até o 7º e 14º dias de pós-operatório.

Análise histológica

Observou-se redução do processo inflamatório e ocorrência de reepitelização acompanhada de neoangiogênese, de forma semelhante, em todos os grupos tratados em 7 e 14 dias (Tabela III).

Não houve correlação positiva entre a presença de colágeno e redução do tamanho da ferida entre os grupos GL e GAINE. Entretanto, o colágeno presente nas feridas tratadas com laser mostraram-se mais organizados (Figura 2), fato que contribui para um melhor aspecto da cicatriz cirúrgica entre os animais desse grupo.

Figura 2 - Imagem polarizada dos grupos tratados com laser e anti-inflamatório não esteroide, no 7º dia de tratamento. Fibras de colágeno estão mais organizadas e com baixa formação de fibrose nos animais tratados com laser de baixa potência quanto comparado ao grupo tratado com cetoprofeno.



Discussão

A fim de alcançar os objetivos propostos, acerca de reparação tecidual, produção de colágeno e redução do tamanho da ferida, nosso estudo utilizou o laser de AlGaInP, sob comprimento de onda 658nm, potência de 10 mW e dose (4 J/cm^2). Corroboram conosco os achados de Bjordal *et al.* [14] cujos efeitos anti-inflamatórios e de reparação tecidual foram observados com aplicação de comprimento de onda entre 630-1064 nm, embora melhores resultados estivessem associados aos comprimentos de onda entre 632 e 904 nm.

Na presente pesquisa, os processos de inflamação, reepitelização e neoangiogênese foram similares em todos os grupos de animais, conforme demonstra a Tabela III. Entretanto, no grupo tratado com laser, pôde-se observar maior incidência de reepitelização e neovascularização, especialmente entre o 7º e 14º dias de pós-operatório, quando comparados aos demais tratamentos mantidos por igual período. Beheregaray *et al.* [15], tal como em nosso estudo, utilizaram o laser AlGaInP (comprimento de onda de 660nm e dose de 3 J/cm^2) sobre feridas de ratos e observaram completa cicatrização após 15 dias da injúria tecidual.

Resultados semelhantes também foram relatados por Inoe *et al.* [16], através de comprimento de onda de 632 nm e dose 3 e 6 J/cm^2 sobre feridas cirúrgicas induzidas em ratos. Os autores observaram a ocorrência de completa cicatrização até o 14º dia de tratamento, com presença de tecido de granulação maduro e ausência de exsudato, fato também verificado em nossa pesquisa. Outros estudos, por sua vez, apontaram que melhores efeitos cicatriciais estiveram presentes com utilização de comprimento de onda entre 400-800 nm, e 632.8-780 nm ou em aproximadamente 820nm, desde que duas doses específicas fossem aplicadas: 31 J/cm^2 e 8 J/cm^2 [17,18].

Sabe-se, contudo, que alguns de nossos resultados não puderam ser confirmados pela literatura recente, fato que creditamos tanto à pequena amostra de nossa pesquisa, quanto aos parâmetros utilizados e tempo de observação adotados pelos variados autores, condição que limita uma discussão mais ampliada sobre o tratamento aqui proposto.

O uso de laser de baixa potência parece promover aumento na produção de colágeno e fibroblastos, facilitando e acelerando a formação de tecido de granulação e, conseqüentemente, o reparo tecidual. A dose de 4 J/cm^2 , tal como neste estudo, é recomendada na literatura como capaz de desenvolver analgesia, efeitos anti-inflamatórios e colágeno. Por outro lado, altas doses ($> 10 \text{ J/cm}^2$ ou 16 J/cm^2) estão relacionadas à inibição da síntese de colágeno [17,19].

Em nossa pesquisa não houve diferença estatisticamente significativa entre a presença de colágeno e feridas tratadas com cetoprofeno. Este resultado pode ser atribuído tanto ao acelerado metabolismo dos ratos e às características peculiares de sua pele quanto ao fato de que o cetoprofeno não possui a prerrogativa de fatores de estimulação, produção e organização do colágeno [21,22].

Observou-se ainda que a contagem do colágeno também não apresentou correlação estatisticamente significativa com a adoção do laser de baixa potência. Não obstante, a reparação do dano tecidual, mais rápido e mais organizado, esteve mais exuberante para esta modalidade de tratamento do que nos demais, corroboram conosco os estudos realizados por Junior *et al.* [23].

Por fim, é ampla a literatura descrevendo que a utilização do laser de baixa potência eleva a proliferação de células diretamente envolvidas no processo de resolução da inflamação, tais como linfócitos, eritrócitos, mitocôndrias e células endoteliais de veias e artérias, além de ativarem os canais de cálcio e promover síntese proteica [16-18]. Observa-se ainda incrementos sobre a microcirculação com redução da ocorrência de infiltração e edema, proliferação de fibroblastos e produção de colágeno [1,17,23]. Estes eventos contribuem para a formação da nova matriz celular [23]. Os efeitos da terapia a laser podem ser encontrados tanto em humanos quanto em animais, os quais dependem dos parâmetros envolvidos: comprimento de onda, frequência, dose e tempo [14,15,25-27].

Conclusão

A aplicação de laser AlGaInP contribuiu para a redução do tamanho das feridas induzidas em ratos, cujo efeito esteve associado ao 3º e 7º dias de tratamento para os grupos tratados com laser e cetoprofeno. Embora a contagem de colágeno não tenha apresentado diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos adotados, pode-se afirmar que o colágeno esteve mais organizado entre os animais tratados com laser de baixa potência, fato que preveniu a ocorrência dos efeitos indesejáveis da cicatrização, tais como edema e crosta, de forma mais exuberante que nos demais tratamentos envolvidos no estudo.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer à Universidade Estadual de Santa Cruz e ao Programa de pós-graduação pela oportuni-

dade de construir pesquisa científica de qualidade, bem como registrar nossos melhores desejos à Márcia Sousa, Ivo Arouca e José Carlos Oliveira, por suas enormes contribuições para que este trabalho alcançasse o sucesso.

Referências

1. Lin F, Josephs SF, Alexandrescu DT, Ramos F, Bogin V, Gammill V et al. Lasers, stem cells, and COPD. *J Trans Med* 2010;8:16.
2. Bourguignon-Filho AM, Feitosa ACF, Beltrão GC, Pagnoncelli GC. Utilização do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização tecidual. Revisão de literatura. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac* 2005;46(1):37-43.
3. Yu HG, Liu X, Connolly E, Gragoudas ES, Michaud NA, Bulgakov OV et al. Increased choroidal neovascularization following laser induction in mice lacking lysyl oxidase-like. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(6):2599-605.
4. Giuliani A, Lorenzini L, Gallamini M, Massella A, Giardino L, Calzà L. Low infrared laser light irradiation on cultured neural cells: effects on mitochondria and cell viability after oxidative stress. *BMC Complement Altern Med* 2009;9(8):1-10.
5. Silva TD, Ferrari RAM, Souza NHC, Silva CAA, Martins MD, Bussadori SK et al. Efeito da laserterapia de baixa potência sobre a proliferação de mioblastos C2C12. *Fisioter Bras* 2010;11(3):216-20.
6. Busnardo VL, Simões MLPB. Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. *Rev Bras Fisioter* 2010;14(1):45-51.
7. Pinto NC, Pereira MHC, Stolf NAG, Chavantes MC. Laser de baixa intensidade em deiscência aguda de safenectomia: proposta terapêutica. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2009;24(1):88-91.
8. Channal J, Choi B, Osann K, Pattanachinda D, Lotfi J, Kelly KM. Vascular effects of photodynamic and pulsed dye laser therapy protocols. *Lasers Surg Med* 2008;40(9):644-50.
9. Al-Watban FAH, Andres BL. Laser photons and pharmacological treatments in wound healing. *Laser Therapy* 2001;12:1-9.
10. Felice TD, Menchik EDS, Silva ACD, Souza LS, Caires CSA, Abel A et al. Utilização do laser de baixa potência na cicatrização de feridas. *Interbio* 2009;3(2):42-52.
11. Hirahara JT, Bliancheriene S, Yamagushi ET, Rosa MCR, Cardoso MMSC. Analgesia pós-operatória em cesarianas com a associação de morfina por via subaracnóidea e anti-inflamatório não esteroide: diclofenaco versus cetoprofeno. *Rev Bras de Anestesiologia* 2003;53(6):737-42.
12. Lacerda MS, Nunes TC. Efeitos do cetoprofeno e flunixin meglumine na modulação neuroendócrina à dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariário-histerectomia. *Biosci J* 2008;24(4):131-37.
13. Huang YY, Chen ACH, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. Dose-Response 2009;7:358-83.
14. Bjordal JM, Lopes-Martins RAB, Joensen J, Couppe C, Ljugren AE, Stergioulas A, et al. A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of Low Level Laser Therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). *BMC Musculoskel Disord* 2008;9(75):1-15.
15. Beheregaray WK, Gianotti GC, Leal JS, Monteiro FM, Simas SM, Elizeire M et al. Uso do laser ALGaInP na cicatrização de lesões cutâneas experimentais em coelhos. *Acta Scientiae Veterinariae* 2010;38(3):237-43.
16. Inoe AP, Zafanelli CCG, Rossato RM, Leme MC, Sanches AWD, Araújo CV, et al. Avaliação morfológica do efeito do laser de baixa potência He-Ne em feridas cutâneas de coelhos. *Arq Ciênc Vet Zool Unipar* 2008;11(1):27-30.
17. Asagai Y, Imakiire A, Ohshiro T. Thermographic study of low level laser therapy for acute-phase injury. *Laser Therapy (WALT)* 2000-2001;12:31-3.
18. Dawood MS, Salman SD. Low-level diode laser accelerates wound healing. *Lasers Med Sci* 2012; 9:75.
19. Maiya AG, Kumar P, Nayak S. Photo-stimulatory effect of low energy helium-neon laser irradiation on excisional diabetic wound healing dynamics in Wistar rats. *Indian J Dermatol* 2009;54(4):323-9.
20. Noronha L, Chin EWK, Kimura LY, Graf R. Estudo morfométrico e morfológico da cicatrização após uso de laser erbium: YAG em tecidos cutâneos de ratos. *J Bras Patol Med* 2004;40(1):1-9.
21. Envemeka CS. Attenuation and penetration of visible 632,8 nm and invisible infrared 904 nm light in soft tissues. *Laser Therapy* 2001;13:95-101.
22. Júnior AMR, Oliveira RG, Farias RE, Andrade LCFA, Aarestrup FM. Modulation of fibroblast proliferation and inflammatory response by low-intensity laser therapy in tissue repair process. *An Bras Dermatol* 2006;81(2):150-6.
23. Meyer PF, Araújo HG, Carvalho MGF, Tatum BIS, Fernandes ICAG, Ronzio AO et al. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. *Fisioter Bras* 2011;11(6):428-32.
24. Moshkovska T, Mayberry J. It is time to test low-level laser therapy in Great Britain. *Postgrad Med J* 2005;81:436-41.
25. Cole PD, Sonabend ML, Levy ML. Laser treatment of pediatric vascular lesions. *Seminars in Plastic Surgery* 2007;21(3):159-66.
26. Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *Journal Biomed* 2009;16(1):4.
27. Demidova-Rice TN, Salomatina EV, Yaroslavsky AN, Herman IM, Hamblin MR. Low-level light stimulates excisional wound healing in mice. *Lasers Surg Med* 2007;39(9):706-15.