

Revisão

Laser de baixa intensidade: princípios e generalidades - Parte 1

Low intensity laser: principles and generalities -Part 1

Maria Cristina Sandoval Ortiz*, Patricia Michelassi Carrinho**, Alexandre A. Stuart Dos Santos***, Raquel Calvo Gonçalves***, Nivaldo Antonio Parizotto****

.....

Mestranda em Fisioterapia Universidade Federal de São Carlos, **Fisioterapeuta - Estagiária Laboratório de Eletrotermofototerapia, Universidade Federal de São Carlos, *Fisioterapeuta UFSCar, ****Professor Doutor Adjunto do Departamento de Fisioterapia da UFSCar e do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia UFSCar*

Resumo

O laser é um dos meios físicos que o fisioterapeuta conta para o tratamento de seus pacientes, mas por ser uma tecnologia relativamente nova, ainda se encontra em fase de determinação de seus reais efeitos, aplicações efetivas e limitações. O objetivo desta revisão é fazer uma compilação e organização dos artigos sobre laser por tópicos, mostrando o estado atual e os resultados das pesquisas desta área, que sirva como um guia para o fisioterapeuta clínico. Foi dividida em duas partes, apresentando na primeira as generalidades do laser e na segunda os trabalhos feitos *in vitro*, em animais e em humanos, em patologias específicas. A primeira parte compreende uma pequena história, as características e parâmetros que identificam o laser, incluindo as controvérsias surgidas em torno deste assunto, os efeitos fisiológicos, assim como as teorias que as suportam, enfatizando em especial a teoria fotoquímica, que acreditamos ter o melhor embasamento científico para explicar a interação do laser com tecidos biológicos.

Palavras-chave:

Laser de baixa intensidade, bioestimulação, teoria fotoquímica, monocromaticidade.

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Nivaldo Antonio Parizotto, Laboratório de Eletrotermofototerapia, Departamento de Fisioterapia - UFSCar, Rodovia Washington Luiz, km 235, CP 676, 13565-905 - São Carlos SP, Tel: (16) 260-8341 ramal 8704, E-mail: parizoto@power.ufscar.br

Key-words:

Low Level Laser
Therapy,
Biostimulation,
Photochemistry
Theory,
Monochromaticity.

Abstract

Laser is one of the tools with which the physical therapist can treat his patients. However, due to it being a relatively new technology, its long-term effects and limitations are still to be determined. The purpose of this review is to compile and organize articles on laser by topics, showing the current state of the field along with results of research done in the area, so as to serve as a guide for the clinical physical therapist. It has been divided in two parts: the first presenting general facts on clinical lasers, the second presenting the work done *in vitro*, on animals and humans with specific pathologies. The section on general facts includes a short history, a listing of characteristics and parameters that define laser, including controversies that have arisen from them. Also to be presented in this section are the physiological effects of laser, along with the supporting theories, putting special emphasis on the photochemical theory, which has the most solid scientific basis for explain the interaction of laser with biological tissue.

.....

Um pouco de história

A palavra Laser é um acrônimo para amplificação da luz por emissão estimulada de radiação, sendo este o princípio em que foi baseada sua criação [1-8].

A luz vermelha foi usada na medicina ainda em tempos antigos, criando a "síndrome da luz vermelha" bem conhecida no último século, sendo também um dos métodos de cura usados por Finsen, o pai da fototerapia contemporânea [9].

O fenômeno físico da emissão estimulada foi postulado por Albert Einstein em 1916. Baseados neste princípio, em 1950, Townes, Gordon e Zeiger constroem o MASER ou amplificador de microondas por emissão estimulada de radiação, criando portanto, a possibilidade de trabalhar na região visível de radiação [1-5].

Em 1958, Townes e Schawlow propõem um modelo para o desenvolvimento de um laser propriamente dito, trabalho este que constituiu o ímpeto para o descobrimento dos diferentes tipos de laser. Simultaneamente, na

antiga União Soviética, os cientistas Basov e Projorov também demonstram esta possibilidade, por cujo trabalho ganharam, em 1964, o Prêmio Nobel [10].

Em 1960, Theodore H. Maiman produz o primeiro laser de material sólido utilizando o rubi. Em meados dos anos setenta, Javan, Bennett e Herriott construíram o laser de Hélio-Neônio, apoiados no descobrimento do laser vermelho visível feito por White e Rigden. Esta é a primeira fonte comercialmente disponível de luz coerente recebendo inicialmente o nome de laser frio ou laser suave [4,6,8,9].

Este fato gerou interesse em um laser na faixa infravermelha, fora do alcance da emissão visível, aparecendo somente no final da década de setenta os primeiros lasers de GaAs e de GaAlAs [1-5,8,11].

O trabalho inicial da terapia laser começou na Europa Oriental, sendo fortemente baseado no trabalho do professor Endre Mester, de Budapeste, chamado o pai da bioestimulação

laser. Desde então o laser chegou a ser uma modalidade de tratamento popular, principalmente na União Soviética e no oriente próximo, onde aconteceu um número grande de aplicações [11,12].

Por tais razões, historicamente a maioria dos trabalhos iniciais com laser de baixa intensidade começou na Europa Oriental e na União Soviética. Portanto, os primeiros relatos entusiastas de que o laser induzia alterações na função de células e tecidos, apareceram em jornais inacessíveis e indecifráveis (diferentes línguas), além disso, quando traduzidos, freqüentemente geravam descrença, porque apresentavam falhas metodológicas, descrições incompletas, cegos limitados e controles não existentes [13].

Posteriormente, em 1988, o tratamento com laser recebeu o nome de terapia laser de baixo nível (LLLT), dado por Oshiro e Calderhead [4,13].

No Ocidente, um dos primeiros trabalhos foi o do Dr. Friedrich Plog, do Canadá, que estudou o uso do laser na acupuntura, em 1973 [4,6].

A partir daí se inicia a aplicação do laser terapêutico em diversas doenças, como também em pesquisas e experimentações, obtendo desta maneira, avanços a respeito dos efeitos fisiológicos, mecanismos de produção e no aperfeiçoamento do aparelho.

Como se faz um laser

A produção do laser resulta de um elétron ou uma molécula, que sofre um salto quântico quando previamente estimulado, passando de um baixo a um alto estado de energia, passando a emitir ondas na mesma freqüência, comprimento de onda e direção, originando o feixe laser que possui mais potência que outras radiações ópticas não modificadas ou estimuladas [6].

O tipo de laser é determinado pelo comprimento de onda usado e, logicamente, pelo meio usado para produzi-lo [6]. Os dois comprimentos de onda utilizados nos lasers terapêuticos estão na faixa do visível e do infravermelho. O laser infravermelho emite comprimentos de onda a partir de 770 nm até 1550 nm. Estão constituídos fundamentalmente pelo cristal de arseneto de gálio (Ga-As), e pelo arseneto de gálio e alumínio (Ga-Al-As)

[1,2,5]. O primeiro emite comprimentos de onda de 904 nm, com uma potência (de pico) entre 10 -15 Watts (W) de saída, é invisível, pulsado e, segundo Tuner e Hode [8], possui uma penetração de 30 a 50 mm. O Ga-Al-As emite comprimentos de onda entre 780 e 870 nm, sendo geralmente usados comprimentos de 820 nm e 830 nm na banda infravermelha, portanto invisível e suas potências de pico variam entre 20 e 100 mW. São contínuos em seu método de operação, mas podem chegar a ser pulsados. Os lasers Ga-Al-As são seguros e têm sido eficientes pelo menos num estudo bem controlado [14].

Em geral os lasers semicondutores tem depósito energético pouco absorvível pelo componente aquoso e hemoglobina [15], e por isso, a profundidade de penetração alcança entre 2 e 3 cm [8]. Uma vantagem da aplicação da radiação infravermelha próxima é sua maior penetração nos tecidos, comparada com a radiação do He-Ne, e sua alta confiabilidade [16].

O laser de Hélio-Neônio emite uma luz visível, vermelha, com um comprimento de onda de 632,8 nm. A descarga excita os átomos de hélio, os quais transferem sua energia aos de neônio e estes emitem então a luz vermelha [1]. Sua potência é limitada, praticamente 30 mW a 50 mW, sendo este último valor raras vezes atingido. A penetração da luz de hélio- neônio no tecido humano é de 0,8 mm sem divergência e até 15 mm com alguma divergência [5,17]. Este tipo de laser é altamente colimado, gerando portanto, um maior risco ocular [4,8].

Em quê o laser difere da luz comum?

As características que identificam e diferenciam a luz laser das outras ondas luminosas são: a monocromaticidade, a colimação, a coerência e a polarização [4,6-8].

A monocromaticidade indica que cada meio que gera laser vai corresponder a um único comprimento de onda. Esta característica é considerada o atributo mais importante da luz laser porque determina quais biomoléculas absorverão a radiação incidente, e portanto, a interação fotobiológica e os efeitos terapêuticos específicos [4,7].

A colimação refere-se ao alto grau de paralelismo do feixe laser, mantendo um pe-

queno tamanho da saída do feixe numa distância relativamente grande. Esta característica é fortemente responsável pelos perigos oculares gerados pelo laser [4].

A coerência é a sincronicidade das ondas de luz que pode ser temporal, quando estas se encontrarem em fase, ou espacial, quando os fótons estão ajustados em planos espaciais paralelos entre si e, portanto, são assim mantidos sobre grandes distâncias [4,7,8].

A polarização acontece quando as ondas de luz estão todas orientadas num só plano, assim, as vibrações em seus campos elétricos acontecem numa só direção [4]. A polarização pode ser linear ou circular [8].

Há dúvidas se todas as características são necessárias para criar uma reação fotobiológica em um organismo ou se a monocromaticidade somente é suficiente para produzir tais reações [17]. Inicialmente os efeitos observados do laser foram atribuídos a alta coerência da radiação por hélio-neônio, embora atualmente não existam bases físicas que expliquem tal conclusão [9].

No entanto, existem autores que consideram que a coerência, a monocromaticidade e a polarização são muito importantes nos tecidos vivos como células alvo, pois são justamente estas características as que assegurariam a penetração [11,18].

Tuner e Hode [8] consideram que a coerência é diminuída no caso de reflexão difusa, mas não cai até zero, além do que a luz não coerente é menos eficiente e provavelmente só atua nas estruturas superficiais. Em seu trabalho, Labbe [19] mostrou que as absorvâncias são extremamente baixas, e isto poderia explicar a necessidade para uma luz relativamente coerente, de alta potência, introduzir energia suficiente para obter a conversão de um fóton iniciador em energia bioquímica, gerando compostos como o ATP, de alto teor de energia.

Para a interação radiação - matéria, a alta coerência, ambas espacial e temporal, da luz são necessárias, mas não condição suficiente. Foi demonstrado que os efeitos coerentes da luz aconteciam acima de intensidades como $2 \times 10^{15} \text{ W.m}^{-2}$, mas levando-se em conta que as intensidades de luz laser típicas usadas na prática clínica estão entre $10 - 10^2 \text{ W.m}^{-2}$, a absorção de luz de baixa intensidade por siste-

mas biológicos é de uma natureza não coerente sob condições normais, portanto esta característica é perdida nos primeiros micrômetros da superfície da pele [4,9,20].

Segundo Karu [9], para se conseguir o efeito desejado não importa se a luz é coerente ou não, pois as duas têm demonstrado ser igualmente efetivas.

Por ser uma radiação óptica, o laser faz parte do espectro eletromagnético. A parte do espectro mais comumente usada na prática da laserterapia de baixa intensidade, está entre os comprimentos de onda de 630 nm a 1300 nm. Este por sua vez, inclui a luz visível e parte próxima do espectro infravermelho [6] e é chamada de janela espectral para tecidos biológicos.

Parâmetros de irradiação de um laser

Os parâmetros que descrevem o laser são o tipo e o comprimento de onda, a potência média e a potência pico ou potência radiante, a área irradiada e o tipo (forma) do feixe, o qual pode ser contínuo ou pulsado [6,8]. Outros autores também incluem como parâmetros a densidade de potência ou irradiância e a densidade de energia também chamada de fluência ou exposição radiante [4,7].

Os lasers terapêuticos operam em potência de saída ou potência radiante inferior a 1 W, mas este parâmetro não é considerado tão importante para avaliar o potencial biológico e os efeitos clínicos do laser [4]. Tuner e Hode estão em desacordo sobre tal afirmação, pois consideram que com uma alta potência de saída é possível obter uma alta densidade de potência [8]. Trelles [8] observou que os efeitos do Hélio - Neônio sobre mastócitos foram mais rápidos a 50 mW do que a 4 mW, sendo os dois grupos de células irradiadas com 2,4 J, concluindo que altas densidades de potência com tempos curtos de irradiação poderiam ser mais eficientes na liberação do laser.

Eventualmente um ponto de saturação causado pela absorção de energia pode ser alcançado [17]. Deve ter-se em conta que dois lasers da mesma potência, mas com áreas de feixe diferentes, têm efeitos similares com tempos de aplicações diferentes e mais, a quantidade de energia total não será a mesma [21].

Oshiro observou que potências inferiores

a 60 mW com comprimentos de onda entre 790 e 904 nm diminuem a dor de forma efetiva e a reação microvascular. A 100 mW foram observados efeitos quase termiais como por exemplo exacerbação da dor, espasmo muscular involuntário e síncope nervosa, e por isso ele concluiu que a potência ideal era 60 mW [11]. Apesar disso, não existem dados conclusivos a esse respeito, dando margem a especulações sobre a potência ideal a ser usada.

A densidade de potência ou irradiância e a potência de saída da luz por área de irradiação é dada em $W.cm^{-2}$ [6,23]. Em experimentos com culturas celulares este parâmetro é considerado o mais importante, inclusive mais do que a dose total [20].

A fluência ou densidade de energia ou dose é a energia total transmitida por um feixe laser por unidade de área e é dada em $J.m^{-2}$ (sistema MKS) ou $J.cm^{-2}$ no caso específico da fisioterapia ou das aplicações biomédicas [6,8,23].

A dosimetria ótima para terapia laser é ainda desconhecida sendo portanto, uma questão controversa. A dose de laser depende da distância entre a pele e o aparelho laser, do sistema óptico do aparelho (sistemas de lentes ou espelhos), do tipo de fonte de laser, da divergência do feixe laser, da reflexão, transmissão, dispersão, absorção e da profundidade do tecido tratado entre outros fatores [24]. Também outros parâmetros, tais como, comprimento de onda, duração do tratamento, densidade de energia, número de tratamentos e modo de liberação podem ser críticos [25].

Há autores que consideram que a resposta fisiológica é dose-dependente, algo que tem sido conferido em alguns trabalhos [26,27].

Karu [19,20] concluiu em seus estudos *in vitro*, pela avaliação do crescimento celular, que na maior parte das curvas dose-resposta aparecia geralmente um limiar, um máximo e uma fase de declive, apresentando portanto uma dependência da dose. Embora este formato de resposta não aparecia em todos os casos estudados, já que apresentava uma segunda fase, observada nas culturas, que dependia do tempo de exposição.

Kubasova [28] refere-se à saturação dos efeitos bioestimulativos induzidos pela luz polarizada acontecendo a $4 J.cm^{-2}$, onde as células estão incapacitadas para absorver mais ener-

gia acima deste nível. Também doses superiores a $4 J.cm^{-2}$ têm sido usadas no tratamento de artrite reumatóide com a finalidade de utilizar as capacidades inibitórias do laser para limitar o processo reumatoideo [17].

Danos em ratos albinos irradiados não foram evidentes na retina até que a dose tenha alcançado $2.8 J.ms^{-1}$ e os danos maiores requeriam uma dose maior de $4-6 J/ms^{-1}$ resultando em mudanças, chegando a precatarata e alterações submicroscópicas. Como os autores utilizaram um laser pulsado, preferiram colocar a dose expressa pelo tempo, que aparentemente foi um fator diferencial no trabalho. A dose baixa de laser aumentou a produção de material intercelular através do aumento na síntese de RNA no pigmento do epitélio. A análise quantitativa revelou que o aumento de um marcador no pigmento do epitélio foi mais significativo 4 horas depois da irradiação laser. Um segundo aumento foi evidente 24 horas depois [26].

O efeito da estimulação da divisão de *E. Coli* foi ampliado com o aumento da dose em $540 J.m^{-2}$, embora no intervalo entre 540 e $900 J.m^{-2}$ o crescimento desta bactéria foi praticamente constante (190%) utilizando uma radiação contínua a 1300 nm [16].

O trabalho de Schaffer [29] mostrou resultados sobre os efeitos biomodulativos que acontecem com fluências superiores a $10 J.cm^{-2}$, no entanto as irradiâncias variaram de 10 a $150 mW.cm^{-2}$.

A fagocitose de leucócitos foi consideravelmente aumentada por uma densidade de energia incidente de $0.05 J.cm^{-2}$ e inibida utilizando-se de $2-4 J.cm^{-2}$. Foi provado que pequenas densidades de energia incidente aplicadas em séries a leucócitos nativos, acumulavam-se e atuavam no sentido de inibir a fagocitose, como se houvesse aplicado grandes energias, em conformidade com a Lei de Arnd - Schultz [27].

A atividade da catalase nos leucócitos irradiados com laser foi aumentada a partir da dose de $0,05 J.cm^{-2}$, elevando-se particularmente com $5 J.cm^{-2}$ e a mesma foi diminuída por $50 J.cm^{-2}$ [27].

Em experimentos com monocamadas celulares, as doses ótimas nas regiões vermelha e vermelha distante do espectro, foram encontradas perto de $10^2 J.m^{-2}$. Embora deve ter-se

em conta que nos tecidos reais há muita perda pela reflexão e dispersão, e por isso, Karu sugere doses aproximadamente 400 vezes mais altas [20].

A experiência norte-americana sugere que a dose total numa sessão de tratamento não deva exceder 8 J.cm^{-2} a 9 J.cm^{-2} [22].

A efetividade clínica depende das doses de energia adequadas, aplicadas corretamente e usadas gradual e regularmente. Doses baixas ou ainda sobredosificação podem não produzir efeitos ou ainda gerar prejuízos. Segundo Simunovic, a dose ótima aplicada diretamente na área afetada é mais importante que o comprimento de onda do laser [30,31].

Deve se ter em conta também que os resultados da exposição à terapia laser são cumulativos, como tem sido demonstrado em vários trabalhos [11,32].

Outros autores consideram que o comprimento de onda é o fator determinante nos efeitos fisiológicos.

A máxima estimulação de macrófagos foi obtida com luz não coerente de 660 nm, luz coerente e polarizada de 820 nm e luz não coerente de 870 nm, embora esta última gerando estimulação em menor extensão. Em oposição, a luz não coerente de 880 nm teve um efeito inibitório sobre a proliferação de fibroblastos. Assim, este processo foi dependente do comprimento de onda usado. Os efeitos da luz sobre a proliferação de macrófagos com 660 nm, 820 nm, 870 nm e 880 nm foram apresentados 36 horas depois da irradiação, visto que num tempo inferior não apresentou diferenças, o que permite concluir que a luz induz mudanças na capacidade das células individualmente sintetizar e secretar fatores de crescimento, não sendo dependente das mudanças induzidas pela luz no número de células disponíveis [33].

Segundo Karu [20] os comprimentos de onda ótimos estão próximos a 760 nm e de 810 a 840 nm uma vez que nestas regiões os cromóforos superficiais têm uma absorção débil havendo portanto, máxima penetração da luz na pele.

Os resultados de alguns trabalhos demonstraram que a duração e a frequência do pulso são parâmetros importantes da fonte de radiação [16].

O feixe pulsado ou contínuo depende da fonte de material e configuração do sistema

de produção de laser. As taxas de repetição dos pulsos variam de 2 Hz a 500 KHz. Apesar da baixa potência média dos lasers, a potência de pico do laser pulsátil pode ser alta, sendo na ordem de W ou superior a mW [6].

A radiação caracterizada com baixa repetição do pulso (26 Hz) e longa duração do pulso (31,1 ms) atuou sobre a divisão da *E. Coli*. No caso de altas taxas de repetição do pulso (5000 Hz) e curta duração do pulso (0.16 ms) a curva dose-dependência teve um limiar, um máximo de estimulação próximo a $1,2 \times 10^5 \text{ J.m}^{-2}$, uma fase de inclinação próxima às doses de $3 \times 10^5 \text{ J.m}^{-2}$, chegando à inibição. Estes resultados indicaram a possibilidade de existir mais de um mecanismo envolvido. No caso de se ter uma potência média, dose constante e a duração e frequência do pulso variáveis, existe um ponto onde os efeitos são similares ao grupo controle e este ponto está próximo dos 1000 Hz. A partir desta frequência e com durações de pulso muito pequenas os efeitos mudam de sinal e passam a ser inibitórios [16]. Portanto, quando se irradiam células com laser pulsátil, existe dependência em relação a várias doses de irradiação, além da taxa de repetição do pulso e da duração do pulso [20].

Foram feitos estudos comparativos entre laser contínuo e pulsado utilizando o mesmo comprimento de onda e dose. Foi encontrado que com o uso do laser contínuo não foi apresentada mudança significativa no modelo usado, no entanto quando utilizou-se o laser pulsado gerou-se efeitos inibitórios que foram dependentes da duração e taxa de repetição do pulso e do intervalo interpulsátil [20].

Sobre a frequência ótima de tratamento não há um consenso, mas Karu [9] e Mester [27] consideram que o tratamento a cada dois dias ou duas vezes por semana se conseguem as respostas mais positivas [27,17]. Trabalhos sugerem que doses de irradiação baixas repetidas com um intervalo semanal induzem melhores efeitos comparados com altas doses de energia aplicadas em curto espaço de tempo [30,31].

Os efeitos da frequência de tratamento são avaliados no trabalho de Kubasova [28] onde a irradiação simples de fibroblastos de embrião humano com laser de hélio - neônio de 1 J.cm^{-2} não afetou as superfícies celulares. A mesma dose repetida 4 vezes com intervalos de 24 ho-

ras causou mudanças funcionais das membranas celulares porém, não micromorfológicas. O fenômeno foi considerado como sendo um resultado direto ou indireto da alteração da membrana celular induzida pelo laser, assim por exemplo os sítios de ligações foram menos acessíveis ou sua afinidade diminuiu. Também foi usada uma dose de 5 J.cm^{-2} , mas as consequências não variaram significativamente, portanto a relação dose-efeito não foi observada. A potência usada sempre foi de 5 mW. Portanto, o efeito da irradiação laser sobre vários sistemas de membrana celular pode ter um importante papel na duração total da resposta celular fisiológica.

Como a luz penetra nos tecidos?

A primeira interação da luz com a pele acontece na superfície do estrato córneo, onde cerca de 5 a 7% de radiação incidente é refletida [35].

A luz, uma vez dirigida ao tecido, pode ser além de refletida, transmitida, dispersada ou absorvida. A reflexão interna múltipla pode acontecer como resultado da não homogeneidade da pele e dos tecidos profundos. A medida que a luz visível é absorvida e dispersada pelos tecidos do corpo, há uma queda no efeito da radiação atenuando a luz a diferentes frequências e em diferentes graus [6,11].

A distribuição gaussiana permite fazer um cálculo da atenuação do laser que tem um caráter exponencial, assim a profundidade na qual a intensidade do feixe é 36% da intensidade original incidente é chamada de profundidade de penetração. Quando esta intensidade de penetração alcança o dobro da distância, determina-se que o feixe está a 13% da intensidade incidente, e ao chegar a triplice distância tem-se 4,5 % da intensidade original [4]. Assim, pode-se fazer um cálculo aproximado em relação aos tecidos corporais irradiados.

Apesar disso, a extensão da ação fotoquímica permite atuar indiretamente, afetando estruturas tão profundas como a 5 cm [17]. Isso devido aos processos químicos que podem ser iniciados nos níveis mais superficiais, ampliando os efeitos aos níveis mais profundos [6].

A penetração da luz laser dentro do tecido é determinada principalmente pelo comprimento de onda e de maneira secundária, pela

potência do aparelho, assim como também pelos fenômenos de dispersão e de absorção [4,8,11,17,22].

Acredita-se que o pico da penetração no tecido acontece no intervalo espectral do infravermelho próximo, entre comprimentos de onda de 600 nm a 1200 nm, devido à fraca absorção pela água. Assim, a absorção tecidual será determinada pelas características de absorção pelas moléculas orgânicas, gerando uma janela ótima de penetração que acontece nos comprimentos de onda entre 820 nm a 840 nm. [4,17,35].

Na região do espectro onde a absorção da luz pelo tecido é baixa (600 – 1200 nm) a dispersão predomina [4]. Assim, se um laser apresenta uma penetração profunda, sua energia é absorvida diferenciadamente pelos tecidos. Se um laser tiver boa absorção nas camadas iniciais ele não penetrará profundamente [17].

Comprimentos de onda curtos dispersam muito mais do que os longos e penetram menos profundamente, alcançando penetração profunda só em tecido mole [17,35,36]. Portanto, comprimentos de onda curtos, no intervalo do visível, podem ser mais apropriados para o tratamento de lesões superficiais e comprimentos de onda longos, no intervalo do infravermelho próximo, podem ser mais úteis para o tratamento de lesões profundas [22].

Goldman *et al.* [32] e Laakso [17] indicam que para fontes laser entre 300 nm a 1000 nm, cerca de 99 % da radiação penetrante na pele será absorvida nos primeiros 3,6 mm de tecido. Laseres da região infravermelha penetram mais de 15 mm no tecido vivo, no entanto, laseres de comprimento de onda ultravioleta penetram minimamente nos tecidos biológicos [6,17,37].

A luz visível é mais absorvida que comprimentos de onda infravermelhos, mas devido à refração, reflexão e posterior dispersão, os diferentes comprimentos de onda tornam-se difíceis de se localizar nas áreas restritas de tecido irradiado [22].

A especificidade do pigmento pode afetar a penetração e a absorção [17]. Assim, as biomoléculas contidas num tecido irradiado com laser diferenciam-se de outras em seu espectro de absorção e, portanto, nos comprimentos de onda que elas podem absorver [4].

Segundo Karu, mais importante que a alta monocromaticidade da luz, é o comprimento da onda que deve estar no espectro de absorção da molécula fotorreceptora, o qual tem mostrado ser uma estreita faixa de radiação [20]. Logo, os pigmentos são altamente específicos, e isto pode ser visto no caso da luz laser visível de comprimento de onda curto, entre 400 nm e 700 nm, que é altamente absorvida pela melanina, hemoglobina e mioglobina [17]. Isto foi comprovado durante a avaliação das doses de energia inicial, uma vez que a potência inicial do feixe laser é parcialmente perdida devido à absorção pela hemoglobina e pela melanina, por exemplo no caso de pele altamente pigmentada [30,31].

São assinaladas como moléculas responsáveis pela absorção da luz os aminoácidos e ácidos nucleicos, assim como os cromóforos. Os aminoácidos têm alta absorção na faixa intermediária do espectro ultravioleta e também nos comprimentos de onda menores do UV, os ácidos nucleicos tem seu espectro de absorção nas mesmas faixas dos aminoácidos, além da região infravermelha, e os cromóforos, tais como a hemoglobina e a melanina absorvem luz na região visível do espectro [4].

O valor da profundidade de penetração óptica do sangue, comparado com outros tecidos, mostra a necessidade de considerar o efeito da sua presença nos tecidos durante os tratamentos na região espectral vermelha e infravermelha próxima [36]. Se para atingir o tecido alvo, há tecidos bem irrigados no caminho óptico do feixe de laser, devemos utilizar doses superiores para compensar este fato.

Outros pesquisadores consideram que os comprimentos de onda infravermelhos têm pouca especificidade pelo pigmento e os primeiros meios absorventes são as proteínas e a água [22].

A penetração e absorção da luz laser podem também ser afetadas pela potência de saída dos aparelhos laser. A penetração da luz laser depende da potência média de saída do laser e não da potência pico. Quanto maior o número de fótons que penetram num tecido de uma só vez, maior o número de fótons que estarão presentes em alguma profundidade. Assim, se a potência do laser é relativamente alta, mais de 15 a 60 mW, então o mesmo número de pa-

cotes de energia pode ser aportado num curto período de tempo [17].

A penetração profunda poderia também estar afetada pelas dimensões do feixe referido como ótimo aos 4 mm quando calculado usando o modelo Monte Carlo [4].

Que efeitos produzem os lasers nos tecidos?

Os quantuns ou fótons interagem com as biomoléculas de uma maneira precisa, dependendo de seu conteúdo de energia. Uma vez absorvida, a energia nas faixas ultravioleta e visível do espectro, pode fazer com que as moléculas específicas alcancem um estado de excitação eletrônica, onde são capazes de sofrer reações químicas como oxidação, redução, isomerização, ruptura de ligações covalentes ou interações com outras moléculas [38].

No aspecto molecular podem acontecer três situações [4,9,39]:

- Excitação das cadeias de elétrons nas mitocôndrias, gerada pelo espectro visível e infravermelho próximo. Isto pode resultar na ruptura de algumas moléculas relativamente grandes ou inclusive mudanças na cadeia de carbonos. Estas mudanças podem ser reversíveis ou irreversíveis dependendo da intensidade da radiação. As moléculas excitadas têm um maior potencial para gerar reações químicas levando a um efeito observável em nível biológico.

- Vibrações moleculares, que consistem em estiramento e batimento de ligações que causam deslocamentos dos núcleos atômicos, mas não afetando suas posições de equilíbrio. Estas vibrações são geradas pelo espectro infravermelho.

- A rotação da biomolécula total, ou partes da biomolécula ao redor de um eixo, gerada pelo campo eletromagnético criado pela luz incidente, o que poderia levar a um pequeno aumento da temperatura que ainda não se conhece claramente se acontece em nível celular ou subcelular.

As radiações ópticas são não ionizantes, sua ação pode ser fotoquímica como para as radiações ultravioletas de comprimentos de onda elevados ou termal como para a faixa infravermelha do espectro. A região visível permanece entre estes dois extremos, sendo

considerada uma região de transição caracterizada pelos dois efeitos: termais e fotoquímicos [6].

A terapia laser de baixa energia acontece em intensidades tão baixas, que não se tem certeza se alguns efeitos biológicos que ocorrem são devidos a efeitos diretos da radiação ou como resultado do aquecimento. Basford [13] reportou aumentos de temperatura tão pequenos como 0,1 a 0,5 graus Celsius, Karu [16] usando 3 W.m^{-2} de intensidade encontrou aumento da temperatura média de 10^{-3} graus C. Um aumento na temperatura de 0,4 a 0,6 graus C, na pele irradiada por um diodo laser GaAs de 850 nm e 70 mW, também foi referido por Boussignac *et al.* [16]. No trabalho de Ricevuti confirma-se que os efeitos da irradiação laser são termais e não correlacionados com as modificações da estrutura da glicoproteína de membrana que possui funções receptivas [39].

Em contraposição, outros autores afirmam que os efeitos do LLLT (do inglês, *Low Level Laser Therapy*) são baseados em mecanismos não termais, os quais não geram um aumento significativo da temperatura dos tecidos [4,7,40,41].

Um exemplo disto é o trabalho de Rochkind onde a medida da temperatura indicou uma mudança de não mais que 0,1 grau centígrado, a qual é bem baixa para o mínimo necessário para influenciar a atividade celular [43].

Braverman [43] encontrou que a temperatura subcutânea da pele não mudou significativamente durante ou depois da irradiação com laser no lado que foi exposto durante 50 minutos em coelhos, recebendo doses de $1,65 \text{ J.cm}^{-2}$ de HeNe, ou $8,25 \text{ J.cm}^{-2}$ de infravermelho e combinadas ambas doses e aparelhos. O comprimento de onda e a saída de energia do laser podem ter um efeito significativo sobre a quantidade de radiação laser a ser convertida em vibração termal. Porém, o efeito bioestimulante pode não ser dependente de um efeito termal mensurável mas, possivelmente é uma reação fotoquímica com um componente receptivo em nível celular.

Finalmente, Hall [44] afirma que as saídas de baixa potência dos LLLT não produzem apreciável mudança de temperatura nos tecidos tratados, portanto alguns benefícios de-

vem ser atribuídos a um processo não termal resultante da interação ou absorção nos tecidos específicos. Este efeito fotoquímico é dependente do comprimento de onda e da frequência, que podem causar modulação bioestimulatória.

Concluindo, durante os estados de excitação eletrônica, uma notável fração de energia excitada é convertida em calor, a qual gera aumento local na temperatura dos cromóforos absorventes, o que vem a ser um possível mecanismo da ação do laser. Deve-se levar em conta que o aquecimento local e transitório das moléculas absorventes é muito diferente da média de aquecimento da célula total, o qual não é observado nas doses e intensidades usadas em experimentos com culturas celulares [45]. Portanto, em tecidos, não se consegue detectar mudanças significativas na temperatura local.

O quê é o efeito biomodulatório?

25 anos atrás, vários autores postularam os efeitos bioestimulativos da terapia laser. A biostimulação ou reações laser catalisadas referem-se à aplicação de energia eletromagnética pelo laser de baixo nível aos tecidos do corpo, o qual pode influenciar as funções celulares, tais como, estimulação ou inibição de atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas. Porém, devido a estimulação e a inibição serem possíveis de ocorrerem, o termo biomodulação deveria ser usado tendo em conta os dois efeitos. A magnitude do efeito é referida sendo dependente do comprimento de onda, das doses e da dose-intensidade do laser [24,46].

Segundo Karu [9] existem razões para achar que o fenômeno de biomodulação é de uma natureza fotobiológica, isto porque de acordo com seus estudos, a inibição que acontece é um resultado direto da fotodestruição de um ou mais citocromos da cadeia respiratória. As doses pequenas cumulativas em aplicações repetidas também resultam num efeito inibitório [27]. Em suma, pode-se dizer que a irradiação de baixo nível resulta numa modulação das atividades celulares [29].

O efeito bioestimulante do laser sofreu tentativas de explicação através de várias teorias. A primeira delas foi o princípio de Arndt-

Schultz, o qual propõe que os tecidos reagem à quantidade de energia absorvida por unidade de tempo de tal forma que estímulos fracos excitam a atividade fisiológica, enquanto aqueles muito fortes vão anulá-la [4,5].

Kleinkort e Foley [5] postulam uma segunda teoria para explicar este efeito, dizendo que o laser de baixa potência pode estimular a formação de ATP como depósito de energia. O ATP estimulará a atividade enzimática para obter a restauração dos processos fisiológicos normais em nível celular e do organismo em geral.

É bem conhecido que as células são sensíveis a comprimentos de onda específicos. As células em culturas podem comunicar-se entre si por energia eletromagnética, a qual influencia os processos celulares metabólicos e catabólicos. Foi proposto no caso de uma alteração que o estado de energia da célula seja mudado, alterando conseqüentemente a comunicação celular a qual vai ser influenciada diretamente pela terapia laser [24].

Há também uma hipótese que fala que os componentes celulares podem ser reorientados por polarização linear do laser, e como resultado seu metabolismo chega a ser ativado [40].

Finalmente a teoria fotoquímica é a mais estudada e oferece uma explicação para a sensibilidade das células à luz laser, dizendo que a energia eletromagnética estimula fotoreceptores ou cromóforos os quais só vão responder a uma faixa de luz específica, realizando assim, a conversão de energia fotoquímica. Estes cromóforos são um grupo de moléculas inter-relacionadas que podem ser enzimas, membranas moleculares ou qualquer outra substância extracelular, que estão capacitados para absorver a luz e apresentam algumas etapas comuns na realização de efeitos causados pelas diferentes faixas de luz [20,24].

Também os cromóforos têm sido definidos como componentes dos pigmentos da cadeia respiratória, de diferentes tamanhos e formas, os quais vão atuar ou ressonar com uma estimulação específica ou energia de radiação. Eles podem transferir a estimulação funcionalmente para os diferentes processos e componentes da célula envolvida na cadeia respiratória mitocondrial. Dependendo de seu comprimento de onda, a radiação eletromagnéti-

ca na forma de luz pode estimular macromoléculas, iniciar a conformação de mudanças em proteínas e transferir energia aos elétrons [41].

Baxter considera os cromóforos como estruturas moleculares que absorvem luz no espectro visível e são derivadas das porfirinas, e que no homem os cromóforos seriam a hemoglobina e a melanina [4].

Esta teoria é colocada em dúvida por Young [33] pois não houve significativa absorção por esses cromóforos nos comprimentos de onda usados de 660 e 880 nm .

Estão sendo propostos alguns elementos como fotoreceptores primários. Um deles é a melanina, considerada como o cromóforo mais protetivo para comprimentos de onda superiores a 300 nm, mostrando uma ligeira diminuição da absorção para comprimentos de onda maiores que 1200 nm [38].

Gamaleya [47] postulou que nos níveis subcelulares as unidades estruturais mais sensíveis à irradiação laser devem ser as estruturas membranosas da célula, primariamente o retículo endoplasmático e as membranas, que constituem uma parte considerável do citoplasma e as membranas das organelas, que formam os limites de fase intracelular.

Em outro trabalho, o citocromo a-a₃ ou citocromo-oxidase é considerado como o fotorreceptor primário para o intervalo espectral infravermelho próximo entre os l de 700 e 900 nm. Karu também acredita que este citocromo é o candidato para fotorreceptor primário nas regiões infravermelhas próxima e visível do espectro. Mas esta função não pode ser realizada quando o citocromo encontra-se totalmente oxidado ou totalmente reduzido, mas somente quando ele adquire uma forma intermediária [20,29,45].

Concordando com Labbe [19] que acredita que tanto os citocromos do sistema de fosforilação como os citocromos a-a₃ e o complexo de *Cooper*, ou citocromo-oxidase, que formam um componente funcional do sistema de transporte de elétrons terminais, poderiam constituir uma série de cromóforos que absorvem luz no amplo intervalo espectral onde tem se reportado que a bioestimulação acontece.

Karu [20,45] também refere que as moléculas

las fotorreceptoras primárias poderiam ser ferro de baixa rotação, componentes derivados de porfirinas da cadeia respiratória, tendo uma absorção perto de 950 e 1300 nm ou também algumas outras moléculas que tem absorção nesta região espectral. Demonstra também como as oxidases terminais e as flavoproteínas, como fotossensibilizadores endógenos, absorvem *quanta* de luz na região espectral do violeta ao azul, sendo estes responsáveis pela geração de oxigênio molecular [20,48].

A cadeia respiratória é, portanto, um receptor da luz visível monocromática de baixa intensidade. Isto explica satisfatoriamente a dependência da dose e do comprimento de onda no efeito estimulativo de tal radiação [9].

A hemoglobina, presente nas células sanguíneas vermelhas, pode também atuar como um cromóforo, tomando parte na absorção de fotoirradiações de comprimentos de onda entre 600 a 700 nm, porque ela amplifica os efeitos da irradiação laser sobre as culturas de linfócitos. Uma possível justificativa para tal afirmação é que se o metabolismo oxidativo das células é melhorado pela formação de radicais livres, na interação do laser de baixa intensidade de 660 nm com a hemoglobina, que serve como um cromóforo, ativaría o organismo intacto a responder com mecanismos de defesa para eliminar os metabólitos oxidativos danificados. Um componente deste mecanismo antioxidante multinível é a enzima SOD [superóxido-dismutase], a qual elimina os superóxidos em excesso. Isto ficou demonstrado quando foi feita a irradiação do sangue total a 660 nm a uma fluência de $5,0 \text{ J.cm}^{-2}$, aumentando a atividade da SOD na amostra irradiada, indicando que ela tem um papel nos efeitos bioestimulatórios da irradiação laser neste comprimento de onda [49].

Como os efeitos de biomodulação têm um amplo intervalo espectral, assume-se que devem ser diferentes cromóforos os alvos fotorreceptores, e isto poderia depender de cada órgão, ou da concentração e localização dos fotorreceptores, o que, por sua vez, vai diferir entre células normais e patológicas [34].

Uma vez absorvida a luz, acredita-se que os eventos primários fotoquímicos e fotofísicos acontecem na mitocôndria, no caso das células

eucariotas e na membrana citoplasmática na *E. coli*. A partir deste momento, devem diferenciar-se dois tipos de reações. A primeira são as reações induzidas pela luz que envolvem as moléculas fotorreceptoras, e a segunda são as consequentes reações bioquímicas e/ou biofísicas, tais como transdução da fotossinal e amplificação ao núcleo por uma cascata de reações no citoplasma e na membrana celular, as quais acontecem minutos ou horas após a irradiação. No primeiro caso, estes mecanismos não são conhecidos mas se propõem quatro possíveis reações geradas pelos fotorreceptores em resposta à luz: mudanças no estado redox e aceleração na transferência de elétrons; alterações na atividade bioquímica e estrutural pelo aquecimento transitório dos cromóforos; aumento da produção de superóxido e, finalmente, a geração de oxigênio molecular. Também é hipotetizada como reação intermediária entre as duas etapas, a possível existência de uma cadeia de transdução de fótons para uma resposta celular, na qual é feita a absorção da luz pela mitocôndria, podendo gerar os eventos da segunda etapa no núcleo, tais como, mudanças na taxa de síntese de DNA e RNA para aumentar a proliferação celular [9,20,45,50].

Pode-se sugerir que a intensidade de fluxo dos íons através da membrana celular depende da intensidade do sinal recebido do fotorreceptor, o qual por sua vez depende das reações primárias acontecendo nos fotorreceptores durante a irradiação com luz sob diferentes comprimentos de onda. Esta é uma reação em cadeia, que acontece nas diferentes etapas de transporte do fotossinal. A irradiação com luz monocromática visível e infravermelha próxima leva ao melhoramento da adesão celular, a qual depende das condições da irradiação, tais como dose ou comprimento de onda, também como do tempo passado após a irradiação [50].

A fotossensibilidade das células não é um fenômeno do tipo "tudo ou nada", e as células podem responder aos estímulos da luz em vários graus. A magnitude da fotorresposta depende do estado fisiológico prévio à irradiação, o qual é condicionado no caso de cultura celular, por exemplo, pela quantidade de nutrientes disponíveis e a idade da cultura, a baixa concentração de oxigênio e pH, ou seja, há uma

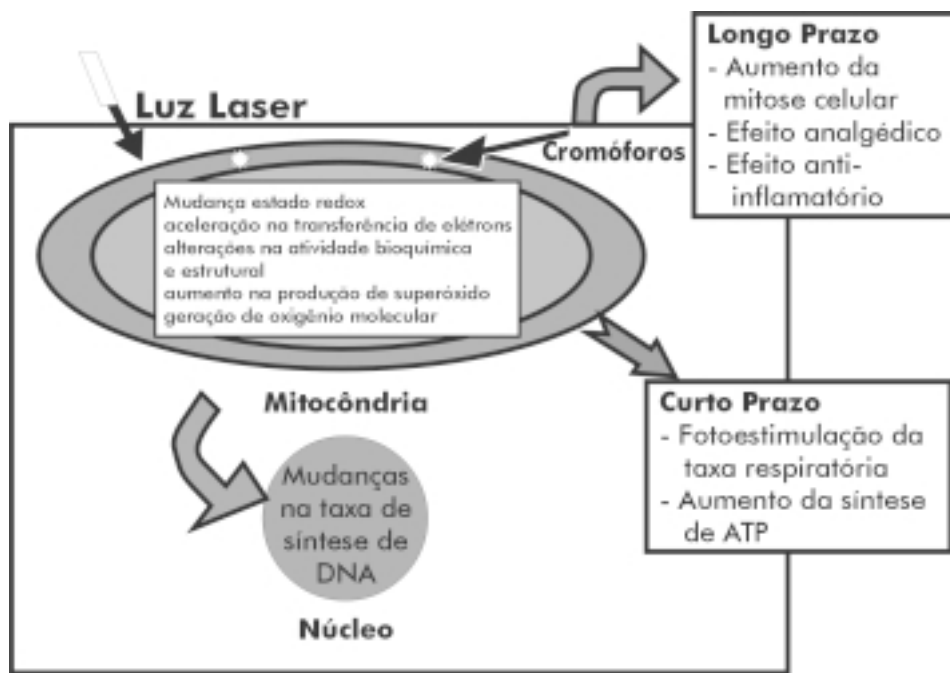


Fig. 1: Esboço esquemático sobre a teoria fotoquímica de ação do laser de baixa intensidade.

forte dependência do efeito da irradiação sobre o estado redox celular no momento da irradiação. Assim, a resposta celular será fraca ou ausente quando o potencial redox é ótimo, e forte quando está alterado [9,20,45]. De tal maneira que esta experiência clínica e experimental mostrou que o laser tem seus maiores efeitos sobre órgãos e tecidos afetados por uma condição deteriorada, tais como quando o paciente sofre algum tipo de desordem funcional ou lesão tecidual [8]. Finalmente uma alteração do estado redox para oxidação está correlacionada com **estimulação**, enquanto a redução relaciona-se com **inibição** [9,20,45].

Tipos de efeitos produzidos pelo laser de baixa intensidade

O laser de baixa intensidade gera efeitos fotoquímicos, fotofísicos e fotobiológicos, afetando não só a área de aplicação como também as regiões circundantes [8].

Os efeitos fotobiológicos podem convencionalmente ser divididos em curto prazo ou direto e longo prazo ou respostas indiretas à radiação [20].

As respostas a curto prazo são aquelas em que o efeito pode ser observado uns poucos segundos ou minutos depois da irradiação. Os efeitos a longo prazo são observados horas ou

ainda dias depois do final da irradiação, e, usualmente envolvem nova biossíntese. Entre as respostas a curto prazo está a fotoestimulação da taxa respiratória e a síntese de ATP [20].

Em um dos experimentos de Karu [9], a irradiação causou uma ativação considerável dos componentes da cadeia respiratória NADH e citocromo C-oxidase. A atividade da superóxido-dismutase citosólica permaneceu praticamente no nível controle e a atividade da fosfatase-ácida diminuiu. Este estudo mostra que a estimulação do crescimento

está acompanhada pelo aumento da atividade respiratória celular.

No transporte de elétrons mitocondriais, vão ser produzidos o radical livre como superóxido O_2^- e H_2O_2 e sua taxa de produção depende primariamente do estado metabólico da mitocôndria. Pela ativação do fluxo de elétrons na cadeia respiratória das células irradiadas com laser, pode-se esperar um aumento na produção de oxigênio. A mitocôndria possui um mecanismo para a reabsorção de oxigênio e este pode ser uma fonte de elétrons para a fosforilização oxidativa de ADP sob condições fisiológicas [45].

Há uma proposta que as mudanças nas propriedades químicas e físicas das membranas mitocondriais externas induzidas pelo laser, resultam em fusão preferencial de membranas mitocondriais que estão localizadas uma ao lado das outras, constituindo assim, uma mitocôndria gigante. A mitocôndria gigante é uma estrutura capaz de proporcionar altos níveis de respiração e energia de reposição, ao passo que numa mitocôndria pequena a transferência de energia acumulada e a diferença nos potenciais eletroquímicos dos prótons são ineficientes. Uma mitocôndria gigante é capaz de transferir energia ao longo das membranas mitocondriais, conectando

regiões remotas a nível externo dos gradientes dos componentes de energia produzida e de energia consumida. Portanto, a formação de mitocôndrias gigantes nos linfócitos pelo laser fornece energia para os processos necessários para as reativações do núcleo [51]. Esta afirmação foi demonstrada pelas análises tridimensionais dos linfócitos humanos irradiados com 632,8 nm que revelaram uma diminuição aproximada de 4 vezes no número total de mitocôndrias e presença de algumas mitocôndrias gigantes uma hora depois da irradiação. A diminuição no número total de mitocôndrias foi acompanhada por aproximadamente 20% de aumento no número de perfis mitocondriais [51].

O aumento do ATP foi encontrado ao fazer irradiação com hélio-neônio, a qual gerou um potencial eletroquímico e causou aumento na síntese de ATP. A irradiação de mitocôndria de fígado isolado *in vitro* por laser hélio - neônio de baixa potência causou aumento no potencial de membrana mitocondrial e gradiente do próton gerando aumento do ATP mitocondrial. Este evento parece estar estritamente correlacionado com a transferência da cadeia de elétrons mitocondriais. Portanto, um potencial extra eletroquímico, gerado através de um mecanismo atualmente desconhecido, é finalizado como síntese de ATP. Além disso, aconteceu uma não inibição da cadeia respiratória mitocondrial pela radiação laser [52].

Entre os efeitos fisiológicos do LLLT a longo prazo estão o aumento da mitose e divisão celular. A irradiação de fibroblastos humanos com um laser de hélio - neônio aumentou significativamente o número de células em comparação com seus respectivos controles não irradiados. Um possível mecanismo é que a irradiação causa uma recolocação no metabolismo celular com a luz tendo o papel de controlador de disparo. Mudanças no nível de AMPc sugerem que os *quanta* de luz podem atuar como um estímulo proliferativo porque o AMPc está programado para estimular um evento desconhecido ou eventos que levam à síntese de DNA numa ampla variedade de células e possivelmente estes eventos poderiam gerar um aumento da mitose [9].

A irradiação pulsada de 904 nm com uma densidade de potência média de 0,003 W.cm⁻²

teve um efeito proliferativo sobre culturas de fibroblastos, apresentando uma perfeita relação entre o aumento do número de fibroblastos e a atividade de DNA [18].

Um significativo aumento do índice mitótico das células normais foi observado depois da aplicação de 4 J.cm⁻². Contrariamente, numa fluência de 20 J.cm⁻² determinou uma ligeira diminuição do índice mitótico para células normais. Portanto a um baixo nível de irradiação promove um efeito estimulante, enquanto efeito inibitório aparece induzido por um alto nível de irradiação. Schaffer et al. observaram efeitos estimulantes ou inibitórios 6, 18 e 24 horas depois da irradiação. A ausência de influência significativa da irradiância de 10 a 150 mW.cm⁻² sobre as alterações do índice mitótico foram notadas usando irradiação com luz homogênea. Por outro lado, a síntese de DNA não foi dependente da irradiância aplicada 24 horas depois da irradiação, comparada aos controles que não foram irradiados. Isto indica que a irradiação não teve influência sobre a taxa de síntese de DNA [29].

Contrariamente, em outro experimento, a irradiação com laser de baixa intensidade em culturas de fibroblastos estimulou a síntese de DNA e aumentou a proliferação celular utilizando como parâmetros de exposição 0.45 J.cm⁻² e 812 nm sendo estes efeitos dependentes da exposição radiante e do tempo de exposição, ou seja, certos comprimentos de onda podem estimular a proliferação celular, porém quando combinados certos parâmetros de exposição. Em altas fluências de energia e irradiância diminuiu a proliferação de fibroblastos e a produção de colágeno. Estas observações parecem indicar que os efeitos iniciais e a curto prazo da radiação laser de baixa potência não são uma estimulação direta da produção de ATP. Segundo Karu, a síntese de DNA e RNA é aumentada ao máximo nos comprimentos de onda de 400, 630, 680, 760 e 820 nm [53].

No trabalho de Hallman [54] nota-se que a irradiação com laser de baixa energia (0,9 mW) alterou a proliferação de culturas de fibroblastos humanos. A razão mais evidente é que a irradiação laser de baixa energia não teve um efeito significativo sobre a função celular, mas sim, sobre a proliferação. Este efei-

to proliferativo do laser tem aplicação nos processos de cicatrização de tecidos, obtendo assim, bons resultados [5, 55-61].

Outro efeito fisiológico a longo prazo que deve ser levado em consideração é a reversibilidade da hiperpolarização da membrana celular depois da estimulação laser. Esta hiperpolarização poderia depender de um fechamento seletivo dos canais de sódio, relacionados com a ativação da lipoproteína de membrana. O efeito é determinado pelo tempo, intensidade e frequência dos impulsos da irradiação. Isto é conseguido pela inibição do movimento celular pelo laser porque este ataca a área do centrossoma celular que determina modificações da morfologia celular. Depois de alguns minutos de irradiação e no período pós-irradiação, a motilidade celular chega a ser incoordenada e perde a capacidade para ela mesma dirigir-se para o fator quimiotático, o que gera desorganização de microtúbulos. Depois de uns poucos minutos os microtúbulos se organizam, mas os centríolos aparecem danificados. A irregularidade da motilidade está correlacionada ao dano dos centríolos. O sistema de membrana NADPH permanece intacto, o que explica os dados normais de produção e liberação de radicais livres. Em resumo, os efeitos biológicos induzidos pelo laser estão correlacionados a uma ação sobre a polarização da membrana e a um efeito sobre o centrossoma [39].

Também tem sido referido que o laser de baixa intensidade tem um efeito anti-inflamatório e a evidência clínica e de laboratório pode ser compreensivamente revisada em vários estudos, embora não se conheça claramente o mecanismo, além disso os resultados são controversos.

Evidências acumuladas também indicam que a fotoestimulação com laser de baixa intensidade intermedia os processos de inflamação por modular os níveis de várias prostaglandinas [62], embora o estudo de Hall não concorde com este mecanismo [44].

Goats também chegou à conclusão que o laser de baixa potência combinado com fototerapia infravermelha não modifica a performance do sistema imune [63].

A impressão obtida por Mester [27] foi que sob uma condição dada, o feixe laser não esti-

mula diretamente o metabolismo dos linfócitos, pois influencia um ou mais dos fatores que induzem estimulação.

Moskalik [47] determinou a atividade fagocítica e as frações de soro sanguíneo em ratos albinos com melanomas sendo irradiados com laser de Neodímio, encontrando aumento no número de fagócitos e no índice fagocítico 24 horas depois da irradiação.

No trabalho de Honmura [64], num modelo experimental de inflamação provocada, usando laser Ga-Al-As (780 nm) a 10 mW e densidade de potência $31,8 \text{ W.cm}^{-2}$, a irradiação realizada imediatamente antes ou logo após a inflamação não foi diferente do efeito da irradiação laser usada 3 horas depois. Isto indica que a irradiação feita imediatamente antes e depois da lesão foi efetiva em diminuir o volume de exsudato influenciando a permeabilidade vascular. Nos grupos tratados para diminuir o edema não foram observadas mudanças significativas e a irradiação laser foi considerada não efetiva. A efetividade do laser também não melhorou pelo aumento da frequência do tratamento.

Portanto, Honmura [64] considera que o efeito inibitório do laser sobre a inflamação pode envolver os seguintes processos no seu mecanismo inibitório: a) Uma possibilidade é que o laser possa inibir a emergência de fatores quimiotáticos nas primeiras etapas da lesão. b) Outra possibilidade é que laser de baixa potência possa interferir com os efeitos dos mediadores químicos ou superóxidos induzidos pela inflamação. Isto sugere que diferentes mecanismos possam estar envolvidos nos efeitos inibitórios do laser de baixa potência sobre a permeabilidade vascular da água e as proteínas do plasma.

A inflamação crônica está caracterizada por glicólise aeróbica continuada e por uma mudança redox, mensurada como a proporção NAD^+/NADH , para um estado reduzido. O PO_2 do fluido sinovial reumatoide, por exemplo, diminuí até 0 mm Hg. A hipóxia local é considerada uma das primeiras causas de reumatismo. Nestes casos, o feixe laser foi mais efetivo que quando foram tratadas lesões iniciais que não tinham muitas alterações no estado redox [20].

Os referidos dados mostram que a irradiação

laser inibe *in vivo* e *in vitro* a quimiotaxia tendo assim um efeito antiinflamatório global e facilitando o processo de cicatrização. Tais modificações determinam um aumento da fibroplasia, útil no tratamento de úlceras de pele e outras doenças inflamatórias crônicas [39].

Solokova e Boiko [47] usaram He-Ne para irradiar coelhos nos quais a inflamação tinha sido produzida pela injeção subcutânea de turpentina. Os autores observaram piora do processo inflamatório e reatividade imunitária reduzida dos animais irradiados.

Os efeitos antiinflamatórios do laser têm sido avaliados clinicamente em lesões inflamatórias músculo-esqueléticas e na síndrome miofascial, encontrando divergências nos resultados. Alguns trabalhos mostraram alívio da dor de forma duradoura [65-69,38, 30,70,71]. Diferentemente do que ocorre com outros trabalhos que afirmam não encontrar diferenças significativas entre os grupos de tratamento e controle [47,72-78].

Situação semelhante se apresenta na área de reumatologia, onde ultimamente se encontra no auge o tratamento de diferentes enfermidades com o laser, levando recentemente a um aumento no número de estudos nestes pacientes. Os resultados são contraditórios, porque alguns deles concluem que a irradiação é segura mas não efetiva no tratamento destas doenças [25,60], diferente de outros que afirmam bons resultados relacionados diretamente com a etapa da enfermidade e a proporção das lesões [14,80, 81].

Estudos sobre o efeito do laser de baixa intensidade nos processos inflamatórios estão ainda numa etapa inicial, havendo necessidade de mais estudos experimentais e clínicos bem controlados para confirmar se as ações são pró ou antiinflamatórias [64].

Um importante efeito do laser de baixa intensidade é o analgésico. Ele atua sobre diferentes sítios com um número amplo de mecanismos, que do ponto de vista científico não estão claramente definidos. Algumas das explicações dos efeitos mediados pelo LLLT são:

- Aumento dos níveis de β -endorfina no fluido espinal [82,83].
- Aumento da excreção urinária de glicocorticóides que é um inibidor da síntese de β -endorfina.

- Aumento no limiar da dor através de um complexo mecanismo de bloqueio eletrolítico das fibras nervosas. A permeabilidade da membrana das células nervosas para Na e K é diminuída, causando hiperpolarização.

- Aumento dos níveis de serotonina na excreção urinária, um potente inibidor no sistema nervoso central.

- Diminuição da liberação de substâncias algogênicas tais como bradicinina, histamina e acetilcolina.

- Aumento na produção de ATP, o qual pode resultar no relaxamento muscular.

- Aumento da microcirculação local resolvendo a isquemia dos tecidos e facilitando a remoção de substâncias algogênicas da área local.

- Aumento do fluxo linfático, diminuindo o edema [30,31].

Outros autores também têm proposto como possíveis explicações uma interferência na mensagem elétrica da dor [1,2], ou pelo aumento da latência sensorial [84].

Os estudos clínicos utilizados para avaliar os efeitos do laser sobre a dor têm abordado estas possíveis explicações para suportar os resultados favoráveis encontrados [85,66,15,67,83,86,68,70].

O efeito de um feixe laser não está limitado só ao lugar de difusão óptica. Por meio dos mediadores metabólicos, o efeito pode chegar a áreas mais distantes do corpo gerando efeitos a nível sistêmico, mas poucos estudos os tem controlado. Uma possível explicação para este efeito é o fato do tecido submetido ao laser produzir substâncias que após a irradiação vão circular nos vasos sanguíneos e no sistema linfático [8,11].

De acordo com Braverman, os fatores teciduais liberados na circulação podem ter um efeito sobre o lado oposto não irradiado de uma ferida, o que pode explicar o porquê de alguns estudos terem falhado mostrando efeitos não significantes comparativamente com o lado submetido a laser no lado oposto de um mesmo animal [43].

Em vários estudos, o laser tem sido avaliado considerando seus efeitos sobre a atividade da doença como foi medido por vários índices laboratoriais. Palmgren [44] mostrou que a velocidade de hemossedimentação (VHS)

caiu significativamente no grupo tratado com laser depois de 12 tratamentos, mas não foram notadas mudanças na hemoglobina.

Um estudo das mudanças dinâmicas nas frações do soro de proteínas de pacientes com inflamação uterina durante a terapia laser, mostrou uma restauração gradual do espectro protéico normal sangüíneo, correspondendo ao desaparecimento das manifestações clínicas da doença [47].

A determinação das frações de proteína no soro no 14º dia após a irradiação com laser de Neodímio em ratos albinos com melanomas, mostrou mudanças nas porcentagens relativas das frações: uma significativa diminuição das albuminas e um aumento nas a e g globulinas [47].

Análises de amostras de sangue mostraram que indicadores de patologia sistêmica, tais como número de plaquetas, VHS e proteína C reativa, diminuíram ligeiramente no curso do experimento no grupo de tratamento ativo. Os níveis de hemoglobina permaneceram sem mudança durante o presente estudo. A dose utilizada foi de 8,1 J.cm² por 240 s, 5 KHz e 80% de ciclo de trabalho (*duty cycle*) [63].

Parâmetros imunológicos alterados em pacientes tratados com laser que apresentam artrites reumatóide têm sido referidos tais como diminuição do nível de IgG por Yakovenko *et al.* (citado por Cieslar), diminuição do nível de complexo imune e diminuição do fator reumatóide [86].

O laser de baixa potência contínuo de Hélio - Neônio gerou efeitos sistêmicos pronunciados sobre a pele e nos tecidos subjacentes, assim como sobre os nervos periféricos severamente lesados e as regiões correspondentes na medula espinal. O principal resultado foi o melhoramento e aceleração da recuperação morfológica e funcional dos tecidos severamente lesados. Os efeitos persistiram durante bastante tempo depois que a irradiação laser terminou [87].

Há também estudos que não obtiveram efeitos sistêmicos, como no trabalho de Amano [88]. Também não foram encontradas mudanças nos testes laboratoriais, tais como, taxa de sedimentação, hemoglobina, contagem de leucócitos e plaquetas por Bliddal [80].

Oddinets [47] tratou 30 pacientes com poliartrite reumática, mas no decorrer de seu tratamento não foram encontradas mudanças significativas na morfologia sangüínea ou nas frações protéicas do soro.

Em pacientes com AR, avaliadas a hemoglobina, a taxa de sedimentação eritrocítica, a contagem diferencial de células brancas e a proteína C reativa, não houve mudanças significativas [14]. Não foram encontradas diferenças significativas no fator reumatóide, anticorpos antinucleares, precipitados de polietileno glicol ou as taxas de sedimentação de Westergren [32].

Análise conclusiva

O laser de baixa intensidade é um recurso terapêutico relativamente novo, mas se encontra num processo de avaliação de seus reais efeitos, que em situações *in vitro* está bem demonstrada sua efetividade, mas em experimentação animal e clínica ainda dependem de um número maior de estudos, para confirmar mecanismos de ação e determinar os parâmetros ideais de aplicação. Além disso, se faz necessário uma melhor definição das enfermidades realmente suscetíveis de tratamento eficaz pelo laser.

Apesar de haver vários resultados negativos em trabalhos realizados, há disparidades importantes detectadas por Tuner e Hode [8] que indicam que os parâmetros utilizados não atingiram valores limiares de estimulação, e seus autores acabaram tirando conclusões precipitadas, dificultando inclusive o uso destas referências como embasamento para trabalhos posteriores.

Esta revisão é a parte inicial de um trabalho, que daremos continuidade no próximo número, onde serão discutidos os mecanismos de atuação do laser de baixa intensidade nos diferentes tecidos corporais.

Referências

- 1- Herch J, Teresi D. El rayo láser. Barcelona: Salvat Editores S.A; 1987.
- 2- Colls J. La terapia láser, hoy. Barcelona: Edición Centro de Documentación Láser; 1985.
- 3- Martinez M, Vega P, Portero S. Manual de Medicina Física. Harcourt Brace. Barcelona 1998;20:254-275.
- 4- Baxter GD. Therapeutic Laser. USA: Ed. Churchill Livingstone; 1997.1-19
- 5- Kloth L. Wound Healing: alternatives in management. USA: Churchill Livingstone; 1997.347-364.
- 6- Kitchen SS, Partridge CJ. A review of Low level laser therapy. Part I: Background, physiological effects and hazards. *Physiotherapy* 1991;77:161-163.
- 7- Kitchen SS, Bazin S. Eletroterapia de Clayton. São Paulo: Ed. Manole Ltda; 1996.191-210.
- 8- Tuner J, Hode L. Low level laser therapy. Clinical practice and scientific background. Sweden: Prima Books; 1999.
- 9- Karu T. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. *IEEE Journal of Quantum electronics*.QE-23. 1987;10:1703-1717.
- 10- Rigau J, Trelles MA, Berns MW. Effects of the 633 nm. Laser on the behavior and morphology of primary fibroblast culture. Effects of low - power light on biological systems. *SPIE*. 1995;2630:38-42.
- 11- Oshiro T. Low reactive-level laser therapy practical application. Chichester: Ed. Jhon Wiley & Sons; 1991.3-10.
- 12- Baxter G.D, Bell AJ, Allen JM, Ravey J. Low Level laser therapy. Current clinical practice in Northern Ireland. *Physiotherapy* 1991;77:171-178.
- 13- Basford J. Low-energy Laser Therapy. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1989;9:1-5.
- 14- Heussler JK, Hinchey G, Margiotta E, Quinn R, Butler P, Martin J, Sturges AD. A double blind randomised trial of low power laser treatment in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1993;52:703-706.
- 15- Turczynski B, Cieslar G, Sieron A. Changes of rheologic properties of blood in experimental animals irradiated with low energy laser. *Laser technology IV: Applications in medicine* 1993;2203:165-167.
- 16- Karu T, Tiphlova O, Samokhina M, Diamantopoulos C. Effects of near-infrared laser and superluminous diode irradiation on escherichia coli division rate. *IEEE Journal of Quantum Electronics* 1990;26:2162-2165.
- 17- Laakso L, Richardson C, Cramond T. Factors affecting low level laser therapy. *Australian Physiotherapy* 1993;39:95-99.
- 18- Van Der Vem Ph, Leys A, Verbuyst C, Van Den Branden E, Kerckhofs E, Lievens P. The influence of IR- laser on the proliferation of fibroblasts: an in -vitro study. *Proceedings 2nd Congress World Association for Laser Therapy*. Kansas-USA. 1998. 12.
- 19- Labbe R, Skogerboe KJ, Davis HA, Rettmer R. Laser photobioactivation mechanisms: in vitro studies using ascorbic acid uptake and hydroxyproline formation as biochemical markers of irradiation response. *Lasers in Surgery and Medicine* 1990;10: 201-207.
- 20- Karu T. The Science of Low-Power Laser Therapy. Australia: Gordon and Breach Science Publishers; 1998.
- 21- Longo GJ. Está correta a dosimetria laser em J/cm²? *Fisioterapia em Movimento* 1993;1:33-38.
- 22- Laakso L, Richardson C, Cramond T. Quality of light - is laser necessary for effective photobiostimulation? *Australian Physiotherapy* 1993;39:87-92.
- 23- Fischer J.C. A short glossary of laser terminology for physicians and surgeons. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*. 1991;345-348.
- 24- 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 meta-analysis of randomized clinical trials. *Physical Therapy* 1992;72:483-491.
- 25- Basford JR, Sheffield CG, Mair S., Ilstrup DM. Low energy helium neon laser treatment of thumb osteoarthritis. *Arch Phys Med* 1987;68:794-797.
- 26- Yew D, Ling Wong S.L, Chan Y. Stimulating

- effect of the low dose laser; a new hypothesis. *Acta Anatómica* 1982;112:131-136.
- 27- Mester E, Mester A, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers in Surgery and Medicine* 1985;5:31-39.
- 28- Kubasova T, Kovacs L, Somosy Z, Unk P, Kokai A Biological effect of He-Ne laser: investigations on functional and micromorphological alterations of cell membranes, in vitro. *Lasers in Surgery and Medicine* 1984;4:381-388.
- 29- Schaffer M, Sroka R, Schrader-Reichardt U, Schaffer PM. Biomodulative effects induced by 805 nm laser light irradiation of normal and tumor cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 1997;40:253-357.
- 30- Simunovic Z. Low level laser therapy with trigger points technique: a clinical study on 243 patients. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 1996;14:163-167.
- 31- Simunovic Z, Trobonjaca T, Trobonjaca Z. Treatment of medial and lateral epicondylitis - tennis and golfer's elbow with low level laser therapy: a multicenter double blind, placebo - controlled clinical study on 324 patients. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 1998;16:145-151.
- 32- Goldman JA, Chiapella J, Casey H, Bass N. Laser therapy of rheumatoid arthritis. *Lasers in surgery and medicine*. 1980;1:93-101.
- 33- Young S, Bolton P, Dyson M, Harvey W. Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1989;9:497-505.
- 34- Sroka R, Schaffer M, Fuchs C, Pongratz T. Effects on the mitosis of normal and tumor cells induced by light treatment of different wavelengths. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1999;25:263-271.
- 35- Parrish J, Deutsch T. Laser photomedicine. *IEEE Journal of Quantum electronics*. QE-20. 1984;12:1386-1396.
- 36- Stolik S, Delgado J.A, Perez A, Anasagasti L. Measurement of the penetration depths of red and near infrared light in human "ex vivo" tissues. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2000;57:90-93..
- 37- Snyder-Mackler L, Barry AJ, Perkins AI, Soucek MD. Effects of He-Ne laser irradiation on skin resistance and pain in patients with trigger points in the neck or back. *Physical Therapy* 1989;69:336-341.
- 38- Parrish JA, Rosen CF, Gange W. Therapeutic uses of light. *Annals New York Academy of Sciences* 1985;354- 364.
- 39- Ricevuti G, Mazzone A, Monaia C, Fratino P. In vivo and in vitro HeNe laser effects on phagocyte functions. *Inflammation* 1989;13:507-527.
- 40- Honmura A, Ishii A, Yanese M, Obata J, Haruki E. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin-induced inflammation. *Lasers in Surgery and Medicine* 1993;13:463-469.
- 41- Wilden L, Karthein R. Import of radiation phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 1998;16:159-165.
- 42- Rockind S, Nissan M, Lubart R, Avram J, Bartal A The in vivo nerve response to direct low-energy laser irradiation. *Acta Neurochir* 1988;94:74-77.
- 43- Braverman B, McCarthy RJ, Ivankovich AD, Forde D. Effect of Helium - Neon and Infrared Laser Irradiation on Wound Healing in Rabbits. *Lasers in Surgery and Medicine* 1989;9:50-58.
- 44- Hall J, Clarke AK, Elvins DM, Ring FJ. Low level laser therapy is ineffective in the management of rheumatoid arthritic finger joints. *British Journal of Rheumatology*. 1994;33:142-147.
- 45- Karu T. Mechanisms of interaction of monochromatic visible light with cells. *Proceedings of Effects of Low Power Light on Biological Systems*. 1995;2630:2-9.
- 46- De Bie RA, De Vet 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.
- 47- Gamaleya NF. Laser biomedical research in the URSS. In *Laser Applications in medicine and biology*. WOLBARSHT M.L

- New York and London: Plenum Press; 1977;3:115-149.
- 48- Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1995;27:219-223.
- 49- Stadler I, Evans R, Kolb B, Naim J, Narayan V, Buehner N, Lanzafame R.J. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm. on peripheral blood lymphocytes. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2000;27:255-261.
- 50- Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G, Esenaliev R. Effects of monochromatic low-intensity light and laser irradiation on adhesion of HeLa cells in vitro. *Lasers in surgery and Medicine*. 1996;18:171 -177.
- 51- 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 Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1997;38:25-30.
- 52- Passarella S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS* 1764. 1984;175:95-99.
- 53- Loevschall H, Arenholt-Bindslev A Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts in vitro. *Lasers in Surgery and Medicine* 1994;14:347- 354.
- 54- Hallman HO, Basford JR, O'Brien JF, Cummins LA. Does low energy Helium - Neon laser irradiation alter in vitro replication of human fibroblasts? *Lasers in Surgery and Medicine* 1988;8:125-129.
- 55- Usuba M, Akai M, Shirasaki Y. Effect of low level laser therapy on viscoelasticity of the contracted knee joint: comparison with whirlpool treatment in rats. *Lasers in Surgery and Medicine* 1998;22:81-85.
- 56- Webb C, Dyson M, Lewis WHP. Stimulatory effect of 660 nm. low level laser energy on hypertrophic scar - derived fibroblasts: possible mechanisms for increase in cell counts. *Lasers in Surgery and Medicine* 1998;22: 294-301.
- 57- Haedersdal M. Laser induced wounds and scarring modified by anti-inflammatory drugs. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1993;13: 55-61.
- 58- Weiss N, Oron U. Enhancement of muscle regeneration in the rat gastrocnemius muscle by low energy laser irradiation. *Anatomy and Embriology*. 1992;186:497-503.
- 59- Tatarunas A, Matera J, Zaidan ML. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico, utilização do laser de baixa potência GAAS (904 nm.]. *Acta Cirurgica Brasileira* 1998;13: 86 -93.
- 60- Gogia P, Hurt B, Zirn T. Wound Management with whirlpool and Infrared Cold laser treatment. A clinical report. *Physical Therapy*. 1988;68:1239-1242.
- 61- Kesava R, Gum S, Stehno-Bittel L, Enwemeka CH. Biochemistry and biomechanics of healing tendon: part II. Effects of combined laser therapy and electrical stimulation. *Medicine & Science in sports & exercise* 1998;794-800.
- 62- Enwemeka C, Rodriguez O, Gall N, Walsh N. Morphometrics of collagen fibril populations in He:Ne laser photostimulated tendons. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 1990;47-52.
- 63- Goats GC, Flett E, Hunter JA, Stirling A. Low intensity laser and phototherapy for rheumatoid arthritis. *Physiotherapy* 1996;82:311-320.
- 64- Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. *Lasers in Surgery and Medicine* 1992;12:441-449.
- 65- Klein G, Bjorn E. Low energy laser treatment and exercise for chronic back pain: double - blind controlled trial. *Arch. Phys. Med. Rehabil*. 1990;71:34-37.
- 66- Ceccherelli F, Altafini G, Avila A. Diode laser in cervical myofascial pain: a double-blind study versus placebo. *The Clinical Journal of Pain*. 1989;5:301-304.
- 67- Jagielski J. Experimental use of laser as one of the methods of physiotherapeutical treatment in lumbosacral rachialgia. *Láser technology IV: Applications in medicine*. 1993;2203:124-127.

- 68- Borges DS, Moretti JA, Parizotto NA, Chagas EF. Influencia do laser de arseneto de gálio (AsGa) sobre a dor no modelo experimental de contorção abdominal em camundongos. *Revista Brasileira de Fisioterapia* 1996;1:1-7.
- 69- Snyder-Mackler L, Bork CE, Borubon B, Trumbore D. Effect of helium-neon laser on musculoskeletal trigger points. *Physical Therapy*. 1986;66:1087-1090.
- 70- England S, Farrell AJ, Coppock JS, Bacon PA. Low power laser therapy of shoulder tendonitis. *Scand Journal Rheumatology*. 1989;18:427 - 431.
- 71- Van Der Heijden GJMG, Van Der Windt D. Awm. De Winter AF. Physiotherapy for patients with soft tissue shoulder disorders: a systematic review of randomised clinical trials. *British Medical Journal*. 1997;315:25-30.
- 72- Gam AN, Thorsen H, Lonnberg F. The effect of low level laser therapy on musculoskeletal pain: a meta-analysis. *Pain*. 1993;52:63-66.
- 73- Devor M. Guest editorial: What's in a laser beam for pain theory?. *Pain*. 1990;43:139.
- 74- Haker E, Lundeberg T. Laser treatment applied to acupuncture points in lateral humeral epicondylalgia. A double-blind study. *Pain* 1990;43:243-247.
- 75- Waylonis G, Wilke S, O'toole D, Waylonis D. Chronic myofascial pain: management by low output He-Ne laser therapy. *Arch. Phys. Med. Rehabilitation*. 1988;69:1017-1020.
- 76- Thorsen H, Gam AN, Svensson BH. Low level laser therapy for myofascial pain in the neck and shoulder girdle. A double-blind, cross-over study. *Scandinavian Journal of rheumatology* 1992;21:139-142.
- 77- Vasseljen O, Hoeg N, Kjeldstad B, Johnsson A, Larser S. Low level laser versus placebo in the treatment of tennis elbow. *Scandinavian Journal Rehabilitation Medicine* 1992;24: 37 - 42.
- 78- Brox JI, Staff PH, Ljunggren AE. Arthroscopic surgery compared with supervised exercises in patients with rotator cuff disease (stage II impingement syndrome). *British Medical Journal* 1993;307:899-902.
- 79- Pascu ML, Suteanu I. Semiconductor laser application in rheumatology. Effects of low-power light on biological systems. *SPIE*. 2630: 73 - 82 (5):1995.
- 80- Bliddal H, Hellesen C, Ditlevsen J, Asselberghs J, Lyager L. Soft-laser therapy of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatology* 1987;16:225-228.
- 81- Walker JB, Akhanjee LK, Cooney MM. Laser therapy for pain of rheumatoid arthritis. *The clinical journal of pain* 1987;3:54-59.
- 82- Pokora LJ. Semiconductor lasers in selected medical applications. *Láser technology IV: Applications in medicine* 1993;2203:31-33.
- 83- Navratil L, Dylevsky I. Mechanisms of the analgesic effect of therapeutic lasers in vivo. *Láser Therapy* 1997;9:33-40.
- 84- Snyder-Mackler L, Bork CE. Effect of helium-neon laser irradiation on peripheral sensory nerve latency. *Physical Therapy* 1988;68:223-225.
- 85- King CE, Clelland JA. Effect of helium-neon laser auriculotherapy on experimental pain threshold. *Physical Therapy* 1990;70:24-30.
- 86- Cieslar G, Sieron A, Jaskolski F, Turczynski B, Adamek M. Changes of electrical conductivity and relative permittivity of blood in guinea pigs irradiated with low-energy lasers. *Láser technology IV: Applications in Medicine* 1993;2203:162-164.
- 87- Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. *Lasers in Surgery and Medicine* 1989;9:174-182.
- 88- Amano A, Miyagi K, Azuma T, Ishihara Y, Katsube S, Aoyama I. Histological Studies on the rheumatoid synovial membrane irradiated with a low energy laser. *Lasers in Surgery and Medicine* 1994;15:290-294.
-