

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFEITO DA FOTOTERAPIA COM DIODOS
SUPERLUMINOSOS (890nm) NA REPARAÇÃO
TENDÍNEA: MODELO EXPERIMENTAL EM OVINOS**

LUIZ HENRIQUE LIMA DE MATTOS

BOTUCATU – SP

DEZEMBRO - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFEITO DA FOTOTERAPIA COM DIODOS
SUPERLUMINOSOS (890nm) NA REPARAÇÃO
TENDÍNEA: MODELO EXPERIMENTAL EM OVINOS**

LUIZ HENRIQUE LIMA DE MATTOS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação
obtenção do Título de Mestre
em Medicina Veterinária.

Departamento:

Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Orientadora:

Prof^a. Dr^a Ana Liz Garcia Alves

Co-Orientador:

Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Mattos, Luiz Henrique Lima de.

Efeito da fototerapia com diodos superluminosos (890nm) na reparação tendínea : modelo experimental em ovinos / Luiz Henrique Lima de Mattos. - Botucatu, 2012

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Orientador: Ana Liz Garcia Alves

Coorientador: Roberto Calderon Gonçalves

Capes: 50501070

1. Animais domésticos – Doenças. 2. Ovino – Doenças. 3. Tendões - Inflamação. 4. Diodos. 5. Fisioterapia Veterinária. 6. Fototerapia – Estudos experimentais.

Palavras-chave: Diodos; Fisioterapia; Fototerapia; Laser; Tendinite.

Nome do Autor: Luiz Henrique Lima de Mattos

Título: EFEITO DA FOTOTERAPIA COM DIODOS
SUPERLUMINOSOS (890nm) NA REPARAÇÃO TENDÍNEA: MODELO
EXPERIMENTAL EM OVINOS.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Liz Garcia Alves

Presidente e orientadora

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Profa. Dra. Monica de Oliveira Orsi Gameiro

Membro

Departamento

FMB – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

Membro

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Data da Defesa: 11 de Dezembro de 2012

DEDICATÓRIA

Essa etapa da minha vida é dedicada a algumas pessoas que me inspiram na profissão desde a infância e que hoje estão em algum outro plano sempre iluminando e me protegendo: Vô Nelson, Vó Lice, Vó Rina e em especial a meu avô Cid de Mattos

“Feliz aquele que transfere o que sabe, e aprende o que ensina.”

(Cora Coralina)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre me dar o suporte e força para enfrentar as barreiras e obstáculos necessários para qualquer conquista.

Agradeço a meus pais Luiz Artur de Mattos e Mirian Pereira Lima de Mattos pela força e disposição para me ajudar a conquistar esse sonho de estar na cidade que moro, na instituição que me formo hoje e pelas conquistas da minha vida e pelos esforços que fizeram para que isso acontecesse. Ao meu irmão Luiz Guilherme Lima de Mattos que sempre esteve ao meu lado, pronto para qualquer amparo nas dificuldades.

Agradeço também a compreensão e apoio da minha namorada Elaine Ferreira de Souza, por entender e dividir toda a minha atenção por esse projeto.

Agradeço em especial a Professora e Orientadora Ana Liz Garcia Alves, por acreditar e dar essa oportunidade para meu crescimento científico, pelo apoio nos ensinamentos e também pela confiança desde o início do projeto.

Agradeço imensamente ao Professor Roberto Calderón Gonçalves que me recebeu nessa instituição como um pai sempre me ajudando, me aconselhando e co-orientando na pesquisa e na vida profissional.

Aos professores Marcos Jun Watanabe, Carlos Alberto Hussni e Celso Antonio Rodrigues, Alexandre Secorum Borges e Simone Biagio Chiacchio e Rogério Martins Amorim que sempre estiveram à disposição para dúvidas, ensinamentos, parcerias nos trabalhos e conhecimentos científicos.

Agradeço a meus colegas de pesquisa Armando de Mattos Carvalho, Ana Lúcia Miluzi Yamada, Luis Emiliano Cisneros Alvarez, Luciana Jorge Leal, Vanessa Justiniano Bermejo pela ajuda e parceria nas pesquisas.

Agradecimento aos amigos que fiz e sempre estiveram ao meu lado Dietrich Pizzigati, Giovane Olivo, Diego Delfiol, Mayra Teixeira Alas Martins, Juliana Alonso, Zara Bortolini, Natalie Merlini, Natália Sesoko, Livia Passini, Felipe Carvalho Evangelista, Mirian Rodrigues, Karoline Alves Rodrigues, Peres Ramos Badial, Didier Quevedo Cagnini.

Agradeço ao amigo Danilo Otávio Laurenti Ferreira, pela amizade parceria e pela ajuda na aquisição dos animais para a pesquisa.

Agradeço ao mestrando Carlos Eduardo Fonseca e pela Professora Dra. Renée Laufer Amorim e o profissional José Carlos Pedroso de Lima pela colaboração neste projeto de pesquisa e também ao Professor Dr. José Carlos de Figueiredo Pantoja pelo serviço prestado de análise estatística.

Por fim agradeço a todos os funcionários do Hospital Veterinário que me ajudaram para o manejo dos animais e procedimentos cirúrgicos, Clotilde Gonçalves de Oliveira, José Jairo Zucari, Marcos Antonio Simão da Silva e Cesar Leme da Silva.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Esquema demonstrativo do delineamento experimental.....	27
FIGURA 2: Demonstração do procedimento de tenectomia segmentar para indução da lesão experimental. (A) Incisão da pele e localização do TFDS; (B-C) Exposição e Isolamento do TFDS; (D) Incisão e retirada de tecido tendíneo; (F) Definição da lesão provocada.....	28
FIGURA 3: Foto ilustrativa da lesão cirúrgica realizada para tenectomia segmentar (0,2cm largura x 0,5cm de comprimento, em peça anatômica.....	28
FIGURA 4: Aplicação da fototerapia por diodo superluminoso.....	29
FIGURA 5: Cinesioterapia com caminhadas em piso gramado.....	29
FIGURA 6: Posicionamento do animal para exame ultrassonográfico modo-B e Power-Dopler.....	31
FIGURA 7: Delimitação da lesão induzida em ambos os grupos controle (GC) e tratado (GT).....	33
FIGURA 8: Esquema demonstrativo do crescimento de pelos diferenciados entre os grupos controle (GC) e tratado (GT).....	34
FIGURA 9: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, da formação de edema aferidos pelos exames ultrassonográficos, apresentando diferença estatística ($p=0,04$) entre os grupos, independente do momento.....	35
FIGURA 10: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, da percentagem de área de lesão (área do tendão x área da lesão), aferidos pelos exames ultrassonográficos, não apresentando diferença estatística.....	35
FIGURA 11: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, do escore médio de ecogenicidade, avaliado pelos exames ultrassonográficos, não apresentando diferença estatística significativa ($p=0,021$).....	36

FIGURA 12: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, do escore da avaliação histológica total e da neovascularização, apresentando diferença estatística significativa nos escores de neovascularização entre os grupos.....37

FIGURA 13: Perfil comparativo entre os grupos, para escores médios do número de vasos no exame Power-doppler, nas configurações PRF 1.3 e WF 4, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 14 do GT depois do tratamento.....38

FIGURA 14: Perfil comparativo entre os grupos, para escores médios do número de vasos no exame Power-doppler nas configurações PRF 1.3 e WF 3, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 21 do GT depois do tratamento.....38

FIGURA 15: Perfil comparativo entre os grupos, para escores médios da área de vasos no exame Power-doppler, nas configurações PRF 1.3 e WF 3, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 21 do GT depois do tratamento.....39

FIGURA 16: Perfil comparativo entre grupos tratado e controle, para escores médios da intensidade de fluxo no exame Power-doppler nas configurações PRF 1.3 e WF 3, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 14 do GT depois do tratamento.....39

FIGURA 17: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, para os escores médios de intensidade de fluxo, em todas as configurações do exame Power-doppler, independente do momento.....40

FIGURA 18: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, para escores médios do número de vasos, em todas as configurações do exame Power-doppler, independente do momento.....41

FIGURA 19: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, para escores médios da área de vasos, em todas as configurações do exame Power-doppler, independente do momento.....41

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPC - Monofosfato cíclico de adenosina
AsGa – Arsenieto de Gálio
AsGaAl – Arsênio de Alumínio-Gálio
ATP – Adenosina Trifosfato
CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais
cm - centímetro
Cox – Citocromo C Oxidase
DMEM – Meio Dulbecco Modificado por Eagle (meio de cultura celular)
DORT – Doenças Osteomusculares Relacionadas ao Trabalho
FBS – Soro Fetal Bovino
FDS – Flexor Digital Superficial
FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GC – Grupo Controle
GT – Grupo Tratado
H.E. – Hematoxilina-Eosina
HeNe – Hélio-Neônio
Hz - Hertz
J/cm² – Joules/centímetro quadrado
kHz - KiloHertz
LASER – Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LBI – Laser de Baixa Intensidade
LED – Diodo emissor de luz
LER – Lesão por Esforço Repetitivo
LLLT – Low-level Laser Therapy
MEC – Matriz Extra Celular
mg/kg – miligramas/kilo
mW - miliwatts
mW/cm² – miliwatts/centímetro quadrado
NF-kB – Fator Nuclear – Kappa B
NIR – Infravermelho
nm - Nanômetros
NO – Óxido Nítrico

°C – Graus Celcius

OCT - Optimal Cutting Temperature

PGE-1 – Prostaglandina E-1

PGE-2 – Prostaglandina E-2

PN – Junções Positivo-Negativo

PRF – Frequência de Repetição de Pulso

TFDS – Tendão Flexor Digital Superficial

TGF β -I – Transformador de Fator Beta de Crescimento

TS – Tenectomia Segmentar

UNESP – Universidade Estadual Paulista

VEGF – Fator de crescimento vascular endotelial

WF – Filtro de Parede

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	III
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE ABREVIATURAS	VII
SUMÁRIO	I
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 ESTRUTURA E BIOMECÂNICA DOS TENDÕES	5
2.2 TENDINOPATIAS	7
2.3 PROCESSOS DE REPARAÇÃO TECIDUAL	9
2.3.1. Fase inflamatória	10
2.3.2 Fase Proliferativa	12
2.3.3 Fase de Remodelamento	14
2.4 AVALIAÇÕES DA REPARAÇÃO TENDÍNEA	14
2.4.1 Avaliação Física e Ultrassonográfica	14
2.4.2 Avaliação histopatológica e imunoistoquímica	17
3. FOTOTERAPIA	18
3.1 CLASSIFICAÇÃO DO LASER	19
3.2 MECANISMO DE AÇÃO FOTOBiolÓGICO	20
3.3 FOTOTERAPIA NA REPARAÇÃO TECIDUAL	22
4. OBJETIVOS	26
5. MATERIAIS E MÉTODOS	27
5.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	27
5.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
5.3 PROCEDIMENTOS ANESTÉSICOS E CIRÚRGICOS	28
5.4 TRATAMENTO FISIOTERÁPICO	30
5.5 AVALIAÇÃO FÍSICA	31
5.6 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA	31
5.7 BIÓPSIA TENDÍNEA	32
5.8 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	33
5.9 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA	33
6. RESULTADOS	34
7. DISCUSSÃO	43
8. CONCLUSÕES	48

9. BIBLIOGRAFIA.....	49
10. ANEXOS	63
11. ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO.....	67

MATTOS, L.H.L. Efeito da Fototerapia com Diodos Superluminosos (890nm) na reparação tendínea: modelo experimental em ovinos. Botucatu, 2012, 92p., dissertação de mestrado, UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

RESUMO

Este projeto teve como objetivo avaliar os efeitos da fototerapia na cicatrização do tendão usando diodos superluminosos fixados em 890nm. Foram induzidas lesões cirúrgicas de 0,2cm de largura x 0,5cm de comprimento, realizadas no segundo terço do Tendão Flexor Digital Superficial de 10 ovelhas saudáveis que foram divididos em dois grupos: grupo tratado com diodos superluminosos com o comprimento de onda acima mencionado e grupo controle, tratado com placebo. A Cinesioterapia foi realizada em ambos os grupos. Os exames ultrassonográficos Modo B e Doppler foram realizados durante os primeiros 14 dias após a cirurgia e, em seguida, nos dias 21 e 28, a fim de avaliar o processo de cicatrização do tendão. A biópsia foi realizada no dia 28 para avaliar a neovascularização e o padrão tendão de fibra no exame histopatológico. Ausência de claudicação e uma melhoria significativa ($p < 0,05$) na dor após palpação foram observadas no grupo tratado. Além disso, no modo B foi evidenciada uma redução significativa do edema ($p < 0,05$) nestes animais. Não foi encontrada diferença estatística em relação à evolução da lesão. Houve diferença histológica ($p < 0,05$) para a neovascularização no grupo tratado. Fototerapia com diodos superluminosos de 890nm minimiza os efeitos do processo inflamatório.

Palavras-chave: Fototerapia; tendinite; diodos; fisioterapia; laser.

MATTOS, L.H.L. Effect of Phototherapy with Superluminous diodes (890nm) in tendon repair: an experimental model in sheep. Botucatu, 2012, 92p., Dissertation, UNESP, Veterinary Medicine College.

ABSTRACT

This project aimed to evaluate the effects of phototherapy on tendon healing using superluminous diodes set at 890nm. Surgical lesions were induced by 0.2 cm wide x 0.5 cm long, made in the second third of the superficial digital flexor tendon of 10 healthy sheep were divided into two groups: group treated with superluminous diodes with the wavelength mentioned above and control group treated with placebo. The Kinesiotherapy was performed in both groups. The B mode ultrasound examination and Doppler were performed during the first 14 days after surgery and then on days 21 and 28, to evaluate the healing of the tendon. A biopsy was performed on day 28 to evaluate neovascularization and tendon fiber pattern on histopathological examination. No lameness and a significant improvement ($p < 0.05$) in pain after palpation were observed in the treated group. Furthermore, in the mode B was observed a significant reduction in edema ($p < 0.05$) in these animals. No statistical difference was found in relation to the evolution of the lesion. Significant difference was seen ($p < 0.05$) for neovascularization in the treated group. Phototherapy with 890nm superluminous diodes minimizes the effects of the inflammatory process.

Key words: phototherapy; tendonitis; diodes; physiotherapy; laser.

1. INTRODUÇÃO

As lesões tendíneas constituem uma condição do tendão agredido, onde o processo inflamatório agudo desencadeia o mecanismo de reparação tecidual (CONTRAN et al., 2005). Tendinopatia é o termo genérico utilizado para descrever todas as doenças originadas nos tendões e ao redor deles (KHAN et al., 1999).

Segundo Lemos (2006), é observado um aumento significativo de pacientes humanos que procuram tratamento relatando dor intensa, edema e diminuição na amplitude de movimento, diminuição da força muscular e alterações motoras, entre outros, levando a dificuldade na execução de suas atividades diárias e profissional.

O grau das lesões tendíneas varia do rompimento localizado de fibrilas até a ruptura completa do tendão. A ruptura total ou parcial do tendão está associada com áreas hemorrágicas e inflamação. Assim, a zona de lesão fica edemaciada com exsudato. Quando a inflamação cede, a cicatrização ocorre no local da lesão e a formação de cicatriz pode se estender para os tecidos peritendíneos (WILLIAMS et al., 1984).

O tempo de recuperação dessa enfermidade é bastante longo em função das características do tecido lesado: o tendão é uma estrutura de reparação lenta e padrão vascular pobre. A enfermidade se expressa clinicamente pelos sinais inflamatórios clássicos e alteração da postura de locomoção. Os sinais por si só são elementos suficientes para que o clínico estabeleça seu diagnóstico. Por outro lado, existem exames de apoio que fornecem informações qualitativas e quantitativas mais apuradas. Desses exames, o mais utilizado na Medicina Veterinária, em especial nos equinos, é o exame ultrassonográfico, útil para o acompanhamento das lesões tendíneas na sua recuperação frente ao tratamento estabelecido.

As tendinopatias são comuns na prática esportiva, estimando-se que correspondam de 30% a 50% do total das lesões esportivas (SALATE, 2002). Os atletas possuem maior frequência de rupturas do tendão calcâneo, principalmente entre os futebolistas e em esportes de alto impacto, como a corrida e o salto; isso porque essas atividades ocasionam um grande estresse ao tendão durante a contração muscular excêntrica do tríceps. Entre os

tenistas e as bailarinas esse tipo de lesão é menos frequente (SALOMÃO et al., 1993; REYNOLDES e WORRELL, 1991).

Outra lesão muito frequente na medicina humana é a Lesão por Esforço Repetitivo (LER), doença esta que é relacionada ao trabalho (KUORINKA e FORCIER, 1995), decorrente do excesso de utilização do sistema músculo esquelético e da falta de tempo para recuperação, gerando sintomas concomitantes ou não, de aparecimento insidioso, tais como dor, parestesia, sensação de peso e fadiga (BRASIL, 2006).

Dentre os tratamentos complementares, a fisioterapia assume uma grande importância na modulação da inflamação e na reparação tecidual. Diversas modalidades podem ser empregadas com a finalidade de antecipar a recuperação do tecido. Uma das modalidades de eleição no controle da inflamação e também no estímulo da reparação tecidual é a fototerapia, que através da interação fotobiológica no tecido promove um efeito analgésico e estimula a reparação tendínea.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Estrutura e Biomecânica dos Tendões

O tendão é considerado uma estrutura de continuidade do tecido muscular, constituindo-se de um tecido colágeno suportando as fibras musculares contráteis (GOODSHIP et al., 1994). O Tendão geralmente é cilíndrico alongado formado por tecido conjuntivo denso modelado que ligam os músculos esqueléticos aos ossos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

Os tendões estão constituídos por células conhecidas como tenócitos que são altamente diferenciadas e possuem potencial limitado de replicação. Esse conjunto de células forma uma rede tridimensional de componentes da matriz extracelular formada principalmente por colágeno do tipo I, tipo III e tipo IV, além de proteoglicanos, elastina e fibronectina (VIOLINI et al., 2009).

Esse conjunto de tipos de colágenos forma uma rede de fibras organizadas paralelamente em feixes ao longo das linhas de tensão. Os fibroblastos são organizados longitudinalmente entre os feixes de colágeno, formando os feixes primários (DAHLGREN et al., 2005).

Os feixes primários se agrupam, formando os feixes secundários ou fascículos e este conjunto, se agregam em grandes feixes tendíneos terciários. O endotendão, situado entre os feixes tendíneos, é formado por trabéculas de tecido conjuntivo frouxo e conduz os vasos sanguíneos, linfáticos e os nervos (ENWEMEKA, 1989).

Em sua origem o endotendão é uma extensão do epitendão, camada delicada de tecido conjuntivo frouxo que reveste externamente o tendão. Mais externamente ao epitendão, o tendão possui uma bainha de tecido conjuntivo vascular frouxo, paratendão, ou onde há uma alteração ou atrito aumentado, é revestido por uma bainha tendínea conhecida como mesotendão (McILWRAITH, 1987).

A Matriz Extra Celular (MEC) é formada principalmente por elastina e possui uma importante função de facilitar a elasticidade do tecido (GOODSHIP et al., 1994). A MEC também possui em sua constituição alguns componentes funcionais como: proteoglicanos, controlando a produção de fibrilas de colágeno e homeostase tendínea (BIRCH et al., 1998); colágeno sendo 95%

colágeno tipo I (RILEY, 2005), o restante é formado por colágeno tipo III e também por pequenas porções de outros tipos de colágeno (FRANK, 2004).

Nos humanos, algumas mudanças importantes do tendão são afetadas com o avanço da idade, as quais estão relacionadas com a degeneração colagenosa. A elastina e os proteoglicanos da matriz extracelular diminuem e a quantidade de colágeno aumenta, levando a uma perda da elasticidade, sendo este um fator agravante, e determinante no retardo no processo de reparo tendíneo. Assim, com o avançar da idade acarretará alterações na renovação do colágeno (KANNUS e JÓZSA, 1991).

A nutrição tendínea é realizada de duas formas: difusão e perfusão. São realizadas através das bainhas sinoviais e pelo fluxo sanguíneo oriundo do tecido muscular, epitendão, endotendão e do tecido ósseo. Algumas áreas podem se apresentar avasculares, devido a presença de forças compressivas e de tensão, aumentando conforme a idade (SMITH e WEBBON, 1996).

Em relação à inervação do TFDS, esta ocorre através do nervo ulnar, sendo exclusivamente sensitiva com pouca evidência de algum controle motor sobre a estrutura (GETTY, 1996). Os terminais nervosos podem ser classificados em quatro categorias, de acordo com suas características anatômicas e funcionais: (a) tipo I - corpúsculos de Ruffini; tipo II – corpúsculos de Vater-Pacini; (c) tipo III - órgãos tendinosos de Golgi; e (d) tipo IV - terminais nervosos livres. Os tipos I a III são mecanorreceptores com diferentes patamares de sensibilidade, situados na intimidade e na superfície externa dos tendões, convertendo estímulos de pressão ou tensão em sinais nervosos aferentes. Os terminais nervosos livres transmitem a sensação dolorosa (BJUR et al., 2005).

Em relação à biomecânica dos animais, os tendões possuem várias funções importantes durante a locomoção e também na manutenção do animal em estação. Em especial o TFDS possui a função de absorção do impacto e, durante a movimentação realiza um trabalho passivo na flexão da articulação metacarpofalângica, cárpica e interfalângica proximal (DENOIX, 1994; 1996). GOODSHIP (1993) afirma que os tendões flexores dos cavalos, não só flexionam o dígito durante a locomoção, assim como, flexionam o membro na fase de movimento do passo. Em situações de estresse, por exemplo, eles sustentam a articulação metacarpofalângica quando o animal está parado.

O TFDS dos ovinos possuem algumas particularidades anatômicas: o músculo flexor superficial dos dedos nos ovinos divide-se em duas partes superficial e profunda. Sua origem é no epicôndilo medial do úmero, ao nível do carpo a parte profunda está unida ao tendão do músculo flexor profundo dos dedos, por meio do músculo interflexor proximal. Este músculo possui dois tendões que se posicionam na face palmar do carpo e do metacarpo, sendo que o tendão superficial passa no interior do ligamento anular do carpo, enquanto que o tendão da parte profunda passa pelo canal do carpo, onde está unido ao tendão do músculo flexor profundo dos dedos pelo músculo interflexor distal. No terço distal do metacarpo, os tendões fundem-se num curto tendão comum. Após, este se divide num ramo para cada dedo principal. Ao nível dos sesamóides, cada ramo se une a parte superficial do músculo interósseo III e IV, constituindo um canal fibroso para o tendão do músculo flexor profundo dos dedos. Ao ser tracionado, flexiona as articulações metacarpofalângicas e interfalângicas proximal e auxilia na sustentação do corpo do animal sendo suas ações principais. O suprimento sanguíneo é fornecido pelas artérias ulnar colateral, braquial, interóssea caudal e interóssea cranial. Os nervos ulnar, e mediano são os encarregados do suprimento nervoso do flexor dos dedos (GETTY, 1996).

2.2 Tendinopatias

Segundo Agliettet al., (1993), a tendinopatia é um dos principais problemas relacionados às LER e Distúrbios Osteomusculares Relacionados ao Trabalho (DORT), sendo esta uma lesão consequente à sobrecarga do próprio tendão, levando a micro rupturas em sua estrutura, esgarçamento de suas fibras e degeneração focal. Os numerosos estudos realizados nos últimos cem anos apontam as tendinites como a maior causa de sofrimento dos trabalhadores com atividade manual, bem como de indenizações trabalhistas (OLIVEIRA, 2001; TONIAL, 2004; GADELHA, 2006; LOPES, 2009).

Dentro da medicina esportiva equina, a tendinite (processo inflamatório tendíneo, com ou sem rompimento de fibras) possui uma incidência de 10 a 45% na população dos cavalos atletas (DAHLGREN, 2007). Esta afecção pode comprometer a carreira esportiva do cavalo ou até mesmo afastá-lo das atividades em função do tecido cicatricial formado no local da lesão e este não

possuir as mesmas propriedades biomecânicas do tendão original (PELOSO et al., 1996).

Em condições fisiológicas normais, o tendão é um tecido pobremente vascularizado com uma baixa densidade de células que exibem atividade mitótica reduzida. Essa é a possível explicação para a cicatrização tendínea ser lenta e, na maioria dos casos, resultar em uma matriz extracelular mecanicamente inferior (VIOLINI et al., 2009).

A lesão tendínea, tanto por esforço quanto por trauma direto, leva à hemorragia capilar e à inflamação. Células inflamatórias são atraídas para o local e enzimas hidrolíticas do exsudato inflamatório agravam este quadro (MADISON, 1995). O estresse mecânico é o fator determinante das tendinites, contudo, existem ainda os fatores anatômicos e mecânicos (má conformação) e fisiológicos (dieta desequilibrada e qualidade de treinamento) os quais são relacionados como predisponentes desta enfermidade (GAUGHAN et al, 1995; WILSON e GOODSHIP, 1994).

A aparência histológica descrita por Webbon (1978), observada em tendões normais, demonstrou alterações celulares, porém sem apresentação de sinais clínicos. As microlesões observadas nos tendões dos equinos podem ocorrer devido ao exercício intenso e constante, se tornando mais frequentes com o avanço da idade (SMITH et al., 2002).

O exercício de alta intensidade eleva a temperatura no interior do tendão, atingindo cerca de 45°C, sendo assim uma das teorias responsáveis para a formação de micro lesões, porém, pode não resultar necessariamente em morte celular (WILSON e GOODSHIP, 1994). Uma das possibilidades é que a sequência de episódios de hipertermia local levaria ao comprometimento do metabolismo dos tenócitos e/ou causaria danos à MEC, levando a degeneração tendínea (BIRCH et al., 1997).

Os sinais locais da tendinopatia são edema, calor, dor à palpação ou ao estiramento, claudicação ou alteração do passo (CRASS et al, 1992; MORCOS e ASWAD, 1978). O diagnóstico é realizado primeiramente tendo por base o exame físico, o qual inclui história, avaliação da claudicação e palpação do membro afetado.

A centese, o exame ultrassonográfico, a ressonância magnética, a termografia e a cintilografia são exames complementares. O diagnóstico

ultrassonográfico constitui-se num método não invasivo acurado, que permite localizar e caracterizar lesões e monitorar o processo cicatricial (HOGAN e BRAMLAGE, 1995; TAYLOR et al, 1997).

Na Medicina Veterinária, o ultrassom diagnóstico é o método preferencial para o exame dos tecidos moles do membro do equino (ALLEN e STONE, 1990; DENOIX e YOUSFI, 1996). As imagens ultrassonográficas correlacionam-se bem com achados histopatológicos em todos os estágios de lesão e cicatrização do tendão (MADISON, 1995; TAYLOR et al, 1997). O diagnóstico clínico, como elemento isolado, é limitado no que se refere à diferenciação entre lesões tendinosas e peritendinosas (HOGAN e BRAMLAGE, 1995).

2.3 Processos de Reparação Tecidual

Em uma lesão tecidual, seja qual for a sua origem, há a ativação de vários mecanismos, cujo objetivo principal é sempre o reparo adequado das estruturas envolvidas. Todo o complexo das alterações teciduais observadas é denominado inflamação (GUYTON, 2002; JÓZSA e KANNUS, 1997).

O processo de reparo tendíneo segue uma série de eventos: proliferação e migração de vários tipos de células; angiogênese para a formação do tecido de granulação; síntese de colágeno e orientação altamente organizada das células tendíneas e das fibras colágenas como tentativa de restaurar a estrutura e a função do tecido lesado (GUYTON, 2002; CHAN et al., 1997).

O tendão, por ser um tecido com uma vascularização pobre e, conseqüentemente, com baixa nutrição e oxigenação, apresenta uma baixa capacidade de reparação tecidual. No entanto, quando esse tecido lesado um dos possíveis tratamentos é por meios biofísicos apropriados (fototerapia, p.e.), possibilitando uma cicatrização mais adequada (ENWEMEKA e REDDY, 2000; PARIZOTTO, 1998).

O processo de reparação tecidual pode ser, didaticamente, dividido em três diferentes fases, mas que na verdade se sobrepõe: fase inflamatória (1 – 7 dias); fase neoangiogênica e proliferativa (5 – 21 dias) e por fim, a fase de remodelamento (14 – 360 dias) (ENWEMEKA e SPIELHOLZ, 1992; KUSCHNER et al., 1991). No tendão, ocorre uma intensa proliferação de

fibroblastos, síntese de fibrilas de colágeno e alinhamento das fibras no eixo longitudinal nas duas últimas fases. Portanto estas são de fundamental importância para um reparo adequado desta estrutura (ENWEMEKA, 1989).

2.3.1. Fase inflamatória

A fase inflamatória ocorre imediatamente após o trauma, sendo desencadeado por ruptura de vasos sanguíneos no local da lesão, com consequente extravasamento de fluidos teciduais para a área lesada (JÓZSA e KANNUS, 1997; GIGANTE et al., 1996). O estágio inicial inflamatório se caracteriza por vasodilatação dos vasos sanguíneos locais, aumento da permeabilidade dos capilares, migração de inúmeros granulócitos e monócitos para o tecido e edema das células. A infiltração celular ocorre nas primeiras 24 horas e continua por poucos dias (GUYTON, 2002; PEREIRA, 1994; REED E ZARRO, 1990). Vale dizer que dentro das primeiras 24 a 48 horas é que ocorre a chamada “fase inflamatória aguda”, e nela podemos observar, clinicamente, ao redor da região lesada, aumento de temperatura (calor), rubor e edema (GOGIA, 1995; COTRAN et al., 1994).

Após o trauma, as plaquetas se reúnem ao redor do epitélio dos vasos lesados e ao colágeno exposto, estimulando o mecanismo de coagulação através da liberação de fosfolipídios. A hemorragia local é estancada devido à formação de uma estrutura de fibrinas e fibronectinas ligadas transversalmente ao colágeno, funcionando como resistência às forças de tensão, durante a fase inicial de reparo. Esse processo ocorre como um mecanismo para isolar a área lesada dos demais tecidos remanescentes e retardar a disseminação das bactérias ou dos produtos tóxicos (GUYTON, 2002; JÓZSA e KANNUS, 1997).

A vasodilatação inicial determina um excesso de fluxo sanguíneo para o local, aumentando a pressão hidrostática. Desta forma, ocorre um aumento da permeabilidade vascular em resposta à liberação de fatores químicos como a histamina, presente nas plaquetas, mastócitos e leucócitos granulares, e a bradicinina, que em fases mais tardias da inflamação, estimulará a liberação de prostaglandinas. Pode-se dizer que a prostaglandina E-1 (PGE-1) aumentam a permeabilidade vascular, e a prostaglandina E-2 (PGE-2) atraem leucócitos (JÓZSA e KANNUS, 1997; REED e ZARRO, 1990).

Os neutrófilos (leucócitos polimorfonucleares), originados dos capilares ainda escoantes, são as primeiras células a migrarem para o sítio lesado. Estas células iniciam o combate aos contaminantes e fragmentos produzidos pelo ferimento, processo esse que permanece por 24 horas, após a ocorrência do trauma (ENWEMEKA e SPIELHOLZ, 1992).

O processo de fagocitose é potencializado cerca de 1 a 2 dias após a lesão, através da chegada dos monócitos (leucócitos mononucleares). Estes ao penetrarem no sítio de lesão, atraídos por citocinas liberadas pelos neutrófilos, transformam-se em macrófagos teciduais e passam a atuar junto com os primeiros (GUYTON, 2002; GOGIA, 1995; ENWEMEKA, 1989).

Os macrófagos estão presentes na maior parte da fase de reparo, sendo eles os responsáveis pela fagocitose do sangue extravasado, dos produtos da destruição tecidual não solubilizado pelos neutrófilos e dos neutrófilos mortos restantes na área lesada. São eles também que secretam fatores de crescimento e fibronectina determinando, desta forma, a quimiotaxia dos fibroblastos, a migração e fixação dessas células no local da lesão e sua consequente proliferação. Na área lesada também temos a presença de fibroblastos que, ao interagirem com os macrófagos, regulam a fase inflamatória e o processo de remodelamento da matriz extracelular (KAKAR et al., 1998).

Além da ativação do processo inflamatório, a lesão também ativa outro aspecto da fase inflamatória, que é a resposta imune. Esta é formada por linfócito T e B, produtos do tecido linfoide, que vão atuar na destruição de microrganismos e toxinas específicas. Os linfócitos B (produtores de anticorpos) agem através do sistema complemento, neutralizando ou destruindo os antígenos, enquanto os linfócitos T secretam a interleucina-2 que potencializa a ação dos linfócitos B (GUYTON, 2002).

As células da fase inflamatória atuam na remoção de tecido necrótico e microrganismos localizados na área lesada, processo esse que dura cerca de 5 a 7 dias pós-lesão, a partir do qual se inicia a fase proliferativa (JÓZSA & KANNUS, 1997).

2.3.2 Fase Proliferativa

Esta fase é caracterizada pela presença de fibroblastos, miofibroblastos e células endoteliais, atraídas por fatores de crescimento, liberados pelas plaquetas e macrófagos teciduais, os quais também estimulam a proliferação das mesmas (KAKAR et al., 1998 JÓZSA e KANNUS, 1997).

A ativação angiogênica (formação de novos capilares sanguíneos) é de fundamental importância para o processo de reparação tendínea, uma vez que após a lesão, seu suprimento vascular é drasticamente reduzido. A angiogênese ocorre através de ramificações de micro vasos pré-existentes, estimulados por vários fatores, como o fator de crescimento dos fibroblastos, ácido láctico e baixa quantidade de oxigênio (BAXTER, 1994). Trata-se de um processo morfogenético e que caracteriza a reconstituição do suprimento vascular em tecidos adultos no processo de remodelação (ZHANG et al., 2003; BATTEGAY, 1995).

Esta fase é de fundamental importância para a formação do tecido de granulação e para o restabelecimento da integridade vascular da área lesada. Nesta fase também se restaura a oxigenação e a nutrição adequada do novo tecido, melhorando a demanda metabólica local, permitindo a continuação da síntese, divisão, migração e crescimento celular (PETERSEN et al., 1999; AGAIBY et al., 2000).

Um importante mediador da angiogênese é o fator de crescimento básico dos fibroblastos, o qual, além de possuir uma grande função no processo de reparo tendíneo, é capaz de induzir a migração e a proliferação de células endoteliais ao local da lesão (Chang et al., 1998). O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) também apresenta uma considerável importância por estimular a atividade mitogênica local direta nas células endoteliais de artérias, veias e vasos linfáticos. Possui ainda a capacidade de iniciar a produção de outros fatores de crescimento no reparo tendíneo, como o TGF – β , e aumentar a proliferação fibroblástica (ZHANG et al., 2003; BIDDER et al., 2000).

Segundo Chan et al. (1997), a regulação da proliferação dos fibroblastos e a síntese de colágeno, a indução de ativadores plasminogênicos e collagenases no remodelamento do tendão e a facilitação da migração e

proliferação de células endoteliais na angiogênese, são feitas pelos fatores de crescimento fibroblásticos FGF β e FGF2.

Capazes de secretar uma grande variedade de substâncias como colágeno, fibronectina, elastina, ácido hialurônico, glicosaminoglicanas e mucopolissacarídeos, os miofibroblastos possuem características ultra estruturais, funcionais, imunológicas e químicas, apresentando em seu interior uma grande quantidade de micro filamentos de actina e miosina, capazes de se contrair e de se mover, contribuindo, desta forma, para a retração da região cicatricial (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990; PARIZOTTO, 1998).

Os fibroblastos e miofibroblastos compõem juntamente com uma combinação de novos capilares e matriz extracelular formada por fibra de colágeno fina (principalmente colágeno tipo III), ácido hialurônico e moderada quantidade de proteoglicanos, um tecido conjuntivo frouxo, que preenche a área lesada, recebendo o nome de tecido de granulação (JÓZSA e KANNUS, 1997; PEREIRA, 1994).

Por volta do 14º dia ocorre o pico da deposição de colágeno em conjunto com o tecido de granulação onde se observa, além do início da predominância do colágeno tipo I sobre o tipo III, uma redução da síntese de glicosaminoglicanas, especialmente do ácido hialurônico, e a lise de algumas fibras, agregação e aumento de outras, resultando num intenso processo de remodelamento (ENWEMEKA & SPIELHOLZ, 1992).

O tecido de granulação passa a ter uma constituição progressivamente mais densa e menos vascularizada, onde também ocorre um espessamento e aumento de número das fibras de colágeno, e desaparecimento das células fagocitárias (ENWEMEKA, 1989). No entanto, vale dizer que o processo de contração cicatricial continua no intuito de aproximar ainda mais as bordas da área lesada, seguindo uma taxa uniforme de 0,6nm a 0,75nm ao dia, variando de acordo com o estado de nutrição do tecido (GOGIA, 1995).

Após um período de 21 dias de reparo tecidual, tem-se um remodelamento progressivo do colágeno, caracterizado por um aumento das ligações cruzadas intermoleculares, o que torna o tecido mais resistente, organizado e com um maior alinhamento das fibras no eixo longitudinal do tendão, o qual pode ser observado através da microscopia eletrônica

(GIGANTE et al., 1996; ENWEMEKA & SPIELHOLZ, 1992; ENWEMEKA 1989).

2.3.3 Fase de Remodelamento

Nesta fase, que se inicia por volta da 2ª semana de cicatrização e se estende por um período de um ano ou mais, nas rupturas totais (TILMAN e CUMMINGS, 1992) e cerca de 30 semanas em tenotomias parciais (POSTACCHINI e DE MARTINO, 1980). A cicatriz contém fibras colágenas bem organizadas, passando de predominantemente celular para fibroso (3% de componentes celulares e 97% de fibras colágenas) (ENWEMEKA e SPIELHOLZ, 1992). O tecido lesado se apresenta mais resistente em decorrência do remodelamento do colágeno, principalmente do colágeno tipo I, o qual apresenta fibras compactas e espessas por volta do 60o dia, e do aumento das ligações cruzadas entre as moléculas (PEREIRA, 1994).

O processo de reparação tecidual ocorre como uma tentativa do organismo de reconstituir a morfologia dos tecidos destruídos em consequência do processo inflamatório e, objetiva conferir funcionalidade aos mesmos. Em geral, há um equilíbrio entre os processos de degradação e formação de colágeno (PARIZOTTO, 1998). De acordo com JÓZSA e KANNUS (1997), o tecido tendíneo lesado dificilmente conseguirá atingir a morfologia e a função biomecânica de tendões normais. Entretanto, Parizotto (1998) afirma que uma das formas de fornecer maior funcionalidade aos tecidos lesados é a recuperação ou a substituição por células do mesmo tipo que havia antes da lesão.

2.4 Avaliações da Reparação Tendínea

2.4.1 Avaliação Física e Ultrassonográfica

Na medicina Humana a avaliação física inclui o histórico do paciente e inspeção da atrofia muscular, assimetrias, inchaços e eritema. A atrofia muscular está muitas vezes presente em condições crônicas e é um ponto importante para avaliar a duração da tendinopatia. Inchaço, eritema e assimetria são comumente observados ao examinar tendões lesados. Nos testes de amplitude de movimento, muitas vezes o lado sintomático está

limitado. O exame físico também inclui testes que apliquem carga sobre o tendão, de forma a reproduzir a dor (MAIA, 2012).

Na Medicina Veterinária a avaliação física é feita com o animal em estação, onde se inspeciona e palpa-se a estrutura afetada, na busca de sinais de inflamação. O exame também é realizado com o animal em movimento para verificação de claudicação. Entretanto, esses métodos são limitados em definir com precisão a intensidade do comprometimento, bem como a fase de reparação (GENOVESE et al., 1986; REEF, 1998).

Introduzida em 1982, a avaliação ultrassonográfica se tornou um método clínico potencial a ser utilizado na avaliação das alterações morfológicas em estruturas tendíneas e ligamentos. A partir desse evento, o ultrassom diagnóstico passou a ser utilizado, incrementando os métodos diagnósticos de lesões dos tecidos moles (RANTANEN et al., 2003).

Segundo Allen e Stone, 1990, a ultrassonografia diagnóstica é o método de eleição a ser utilizado para tecidos moles, uma vez que possui as vantagens sobre a ressonância magnética por oferecer imagens em *real-time* e por se utilizar de aparelhos portáteis e relativamente baratos.

Devido essas vantagens os exames ultrassonográficos devem ser repetidos sequencialmente monitorando o processo de reparação, a fim de evitar o atraso na cicatrização durante a reabilitação (DYSON, 2004). Essa avaliação permite identificar não só a presença de lesão como também a sua localização e o grau de severidade, através de uma avaliação quantitativa (quanto ao tamanho ocupado pela lesão longitudinalmente e transversalmente) e qualitativa (pelo grau de ecogenicidade e paralelismo) da lesão (GILLIS, 1997).

Dentre as nomenclaturas da avaliação ultrassonográfica, o termo ecogenicidade se refere ao brilho de uma estrutura na imagem ultrassonográfica, resultante da sua consistência morfológica. A estrutura do tendão focando na área lesionada pode ser classificada em: isoecóica, quando a ecogenicidade da estrutura é normal (escore=0), hipoecóica se dividindo em dois níveis variando a intensidade do brilho (escore=1, escore=2) e também em anecóica quando a imagem focal é predominantemente preta (escore=3) (RANTANEN et al., 2003).

Segundo Genovese (2000), a imagem ultrassonográfica nas tendinites varia em função da fase de cicatrização tendínea. A imagem ultrassonográfica, ao corte transversal, pode apresentar:

- fase aguda da lesão (até uma semana) – hipoecóica, hipoecóica e anecóica ou anecóica;
- fase de granulação (1 a 8 semanas) – hipoecóica, hipoecóica e anecóica ou anecóica;
- fase de fibroplasia (6 a 26 semanas) – aumento de ecogenicidade em relação à fase anterior, contudo, mantém-se hipoecóica;
- fase de remodelação (a partir de 26 semanas) – aumento da ecogenicidade com lesão começando a se ligar às bordas do tendão.

Tendo por referência o corte transversal, as lesões são classificadas em graus que variam de I a IV. O grau I é caracterizado por uma lesão de aparência anecóica. O grau II é caracterizado pelo equilíbrio entre os aspectos ecóico e anecóico. O grau III é caracterizado por lesão mais anecóica que ecóica. O grau IV tem lesão de aspecto anecóico. O grau de gravidade da lesão cresce no sentido I-IV (MAIN, 1995).

Na rotina de avaliação tendínea, vem se tornando usual o exame através de ultrassonografia Doppler, método de eleição para avaliação da vascularização de diversos tecidos (ZANETTI et al., 2003). O exame Doppler utiliza uma escala de cores para promover medidas de velocidade de fluxo sanguíneo. O Color Doppler permite detectar a velocidade média e possui um limite máximo de velocidade detectável. Em contrapartida, o exame Power Doppler, não fornece dados sobre direção do fluxo ou velocidade, porém é sensível à presença e volume de fluxo, independentemente da angulação, possibilitando a visualização de pequenos vasos (RISSELADA et al., 2006).

Devido sua sensibilidade na identificação de processos inflamatórios em sua fase inicial, o Doppler vem se tornando uma ferramenta importante no monitoramento das terapias e também na identificação de processos de hiperemia, tornando-se mais acessível recentemente na prática veterinária (BOESEN et al., 2007).

2.4.2 Avaliação histopatológica e imunoistoquímica

Pensando-se em estudos experimentais, o método invasivo de avaliação do processo de reparação tendíneo é realizado por exame histológico e imunoistoquímico, por meio de biópsia ou coleta do tecido tendíneo. O exame histológico é de suma importância na avaliação das fibras colágenas, avaliação da quantidade de células e organização da MEC (ALVES, 1998).

São descritas diversas técnicas de coloração para avaliação das fibras colágenas ao microscópio óptico. Mesmo sendo bem coradas por estes métodos, as fibras colágenas podem ficar mescladas com outras estruturas contendo colágeno, também coradas, como as fibras reticulares e as membranas basais. Para isso, é necessária a análise imunoistoquímica para diferenciar os tipos de colágeno entre si, bem como a relação aos demais componentes (HORTON, 1984; ALVES et al., 2001).

O exame imunoistoquímico realiza a marcação de antígenos específicos, por uma reação antígeno-anticorpo, permitindo a caracterização de expressão de uma determinada substância ou constituinte (CHANG et al., 1997).

3. FOTOTERAPIA

Desde os tempos antigos, várias formas de luz têm sido estudadas e utilizadas para o uso terapêutico (TURNER e HODE, 2002; YOUNG et al., 1989). A evolução da engenharia permitiu o desenvolvimento de protocolos para uma utilização eficaz da luz, no tratamento de distúrbios médicos complexos (LIM et al., 2007).

A Fototerapia, também conhecido como a terapia laser de baixa intensidade (LLLT), laser de bioestimulação, e terapia de laser, pode ser definida como o uso de baixa potência, tipicamente 500mw ou menos, para emissão de laser e diodos superluminosos no tratamento de problemas clínicos, com base em reações atômicas no tecido. A palavra “LASER” é um acrônimo para amplificação de luz por emissão estimulada de radiação e, especificamente, define uma forma de radiação eletromagnética que é visível ou perto do espectro visível (McDONOUGH e BAXTER, 2007).

As bases teóricas deste recurso terapêutico foram expostas pela primeira vez em 1917 por Albert Einstein, que explicava os princípios físicos da emissão estimulada. Em 1958, Towners e AL Schalow demonstraram a possibilidade de construção de um laser. Contudo, em 1960, que Theodore H. Maiman construiu o primeiro transmissor laser de rubi. Em 1961, em Nova York, a primeira cirurgia com laser foi realizada, consistindo na extirpação de um pequeno tumor da retina. Em 1962, o primeiro laser semiconductor foi desenvolvido e em 1965 Sinclair e Knoll adaptou o uso da radiação laser na aplicação terapêutica (VEÇOSO, 1993). Uma vez que a invenção dos diodos se deu na década de 70, o termo LED (Diodo Emissor de Luz) define um diodo com base em junções positivos e negativos (PN), que emite luz quando energizado (AL-WATBAN e ANDRES, 2003).

O processo de emissão de fóton por laser reúne as características de: Monocromaticidade, onde as ondas eletromagnéticas possui o mesmo comprimento de onda emitindo uma cor única; Coerência: os fótons oscilam em fases semelhantes (coerência temporal); colimação: a luz viaja em feixes paralelos seguindo a mesma direção, com pouco ou nenhuma divergência (coerência espacial) e intensidade ou a quantidade de energia produzida em uma área específica. Em um laser pontual, a energia do feixe é sempre

concentrada na mesma área e assim a intensidade não diminuiu com a distância de propagação (VEÇOSO, 1993; LOW e REED, 2001; ENWEMEKA e REDDY, 2000).

O LED é similar ao laser, mas diferencia-se na forma como as ondas são formadas. Embora o diodo de laser seja delimitado por uma cavidade de ressonância que promove a amplificação de fótons e sua emissão, formando um feixe coerente e colimado. O LED não possui esta cavidade óptica, tornando a luz não coerente e também não colimada, mas produz um espectro eletromagnético semelhante ao do laser. Os LEDs não possuem filamento, o que é altamente suscetível à vida-longa, por isso possui uma vida útil de 10.000 horas ou mais. Por outro lado, eles não produzem calor e as taxas de consumo de energia são baixas (AL-WATBAN e ANDRES, 2003; CORAZZA, 2005). Assim, os LEDs superluminosos são considerados “lasers não convencionais” por não produzirem radiação coerente. Tem-se afirmado que a coerência do feixe é rapidamente perdida quando a radiação penetra nos tecidos. Assim, a produção de uma luz coerente, não seria necessária para a utilização na terapêutica (KARU, 1989; VLADIMIROV et al., 2004).

Demonstrando a eficácia da terapia mesmo com diferentes emissores de luz, Agnol et al. (2009) realizaram um estudo muito rico para as pesquisas da fototerapia onde compararam a eficiência do LASER (660nm) coerente e de LEDs (640nm) não coerentes no tratamento de feridas de ratos diabéticos. Seus resultados mostraram que os efeitos das duas técnicas são similares principalmente pela utilização LED, promovendo um melhor estímulo à neovascularização e controle da inflamação. Agnol e colaboradores também citam que muitos trabalhos se preocupam com a coerência das ondas, onde na verdade o que importa é o comprimento de onda para que este estimule os cromóforos específicos e também haja um pico de energia suficiente para promover os efeitos buscados nos receptores alvos.

3.1 Classificação do laser

O Laser pode ser classificado de acordo com a intensidade, potência, tempo de reflexão e tempo de intervalo *on-off*. Assim, o laser é dividido em seis classes (1, 2, 3A, 3B, 4 e 5). Os lasers de Classe 1 possuem a menor intensidade de luz e são utilizados em aparelhos de código de barras, entre

outros. Os lasers utilizados na forma terapêutica estão entre a classe 2 e 3B, e possuem uma potência entre 1-500mW. As classes 4 e 5 incluem os lasers de alta potência (isto é, maior do que 500 mW) e representam risco elevado para os olhos e pele não protegidas (ROBERTSON et al., 2009; LOW e REED, 2001).

O Laser de baixa intensidade (potência inferior ou igual a 500mW) teve seu primeiro uso clínico no final dos anos 60 e início dos anos 70 pelo Dr. Endre Mester e parceiros em Budapeste (BRAVERMAN et al., 1989). Mester estudou a cicatrização de feridas através das avaliações histológicas e imunoistoquímicas e funcionais. Seus resultados demonstraram aumento na neovascularização e síntese de enzimas e colágeno nas áreas irradiadas (BAXTER, 1994; SIMUNOVIC et al., 2000; HAMBLIN e DEMIDOVA, 2006).

3.2 Mecanismo de ação fotobiológico

A Fototerapia é caracterizada pela capacidade de induzir processos fotobiológicos dentro das células por estimulação dos fotorreceptores específicos no âmbito de um espectro de luz específica. No entanto, os mecanismos de ação da fototerapia permanecem obscuros (KITCHEN e PARTRIDGE, 1991).

A interação do laser de baixa intensidade e da terapia por diodo superluminoso em tecidos são os mesmos que os de outras radiações eletromagnéticas equivalentes, incluindo dispersão, reflexão e absorção. As diferenças dependem das características de cada tecido, o ângulo de incidência e comprimento de onda (KITCHEN e PARTRIDGE, 1991; LOW e REED, 2001).

Para se conseguir a mais elevada taxa de absorção de luz, a fonte tem que estar em contato direto com o tecido, em um ângulo de 90 graus, de modo a minimizar a reflexão e dispersão, tornando o tratamento mais eficaz. Sabe-se que 5-7% da radiação é refletida pela pele, quando o ângulo de incidência é diferente de 90 graus. Em relação ao LED, deve-se haver um contato direto entre pele e diodo a fim de evitar a dispersão, uma vez que o feixe não é coerente (LOW e REED, 2001; GRESTHOUSE et al., 1985; LAAKSO et al., 1993).

A primeira lei da fotobiologia afirma que a luz deve ser absorvida por uma molécula (cromóforos naturais), a fim de produzir uma mudança fotoquímica (MAHMOUD et al., 2008; SMITH, 1991). Nos tecidos, os fótons são absorvidos por bandas de absorção específicas para fotorreceptores primários (SUTHERLAND, 2002). Assim, os cromóforos naturais atuam como fotorreceptores primários responsáveis pela absorção de fótons e também incluem a porção heme da hemoglobina, bilirrubina, citocromo C mitocondrial, melanina, etc. Os receptores secundários são estruturas que absorvem a energia fornecida aos tecidos através de campos electromagnéticos, causando um efeito de ressonância, alterando as taxas específicas de membranas celulares e proteínas (McDONOUGH e BAXTER, 2007; MIKAIL, 2009; ROBERTSON et al., 2009). Assim, os fótons absorvidos são transformados em energia bioquímica (isto é, a reação primária), promovem uma série de efeitos biológicos (reações secundárias), tais como a modulação de funções celulares (McDONOUGH e BAXTER, 2007). Portanto comprimentos de onda específicos irão ter uma profundidade de penetração específica, sendo mais eficientes em causar reações químicas específicas correlacionadas com seus fotoreceptores (HUANG et al., 2009).

O laser de baixa intensidade atua sobre as organelas celulares (MIKAIL, 2009), especialmente na membrana mitocondrial, lisossomo e membrana citoplasmática, causando um aumento de adenosina trifosfato (ATP) e modificando o transporte iônico. Fotorreceptores celulares sensíveis a comprimentos de onda específicos provocam reações químicas após absorção de fótons (HAMBLIN e DEMIDOVA, 2006). Demonstrou-se que os espectros de absorção de citocromo C oxidase (Cox) foram semelhantes aos do espectro de ação para várias respostas biológicas de células experimentais imortais (HeLa) expostas à luz monocromática com comprimento de onda diferente, porém, específico. Assim, propôs-se que o fotorreceptor Cox é primordial para o vermelho ou no infravermelho próximo (NIR), em células de mamíferos (KARU e KOLYAKOV, 2005; AMAT et al., 2006).

O óxido nítrico (NO) inibe a respiração através do deslocamento competitivo de oxigénio a partir de Cox. Pela ação da luz, moléculas de NO são libertadas a partir de seus locais de ligação em Cox permitindo a interação com o oxigénio, de modo a restabelecer a respiração celular ao seu estágio anterior

e aumentar a síntese de ATP (HUANG et al., 2009). O Laser também aumenta a concentração de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) em fibroblastos de hamster, melhora os processos de regeneração (KARU, 1988) e acelera a mitose de fibroblastos (LUBART et al. 1990). Estes resultados indicam que o efeito terapêutico da luz pode ser consequência de pequenas quantidades de oxigénio singlete produzido por porfirinas neutras ou citocromos celulares. O oxigénio singlete é um potente antioxidante que pode estimular a atividade redox na cadeia respiratória, aumentando quimiosmose e assim promover a mitose (LUBART et al., 1990).

Os efeitos da fototerapia podem ser classificados como de curto e longo prazo. Efeitos em curto prazo incluem a produção de beta-endorfinas e de cortisol, ajudando o organismo a superar o estresse associado com a doença em si (LIU et al., 2009). Os efeitos são significativos em 5% a 10% dos casos, durante ou após o tratamento inicial, mas um maior efeito é observado em tratamentos de longo prazo, devido ao efeito cumulativo (VENEZIAN et al., 2010). Nestes casos, observa-se um aumento da produção de ATP que resulta na melhoria do metabolismo celular, estimulação da atividade mitocondrial, melhoria da atividade da neurotransmissão em função do aumento nos níveis de serotonina e acetilcolina, angiogênese, regulação do potencial de membrana e libertação de citocinas (RAYEGANI et al., 2010; VENEZIAN et al., 2010; LIU et al., 2009; DISSEMOND e HAUTARZT, 2010).

Em relação ao seu efeito antiinflamatório, um estudo recente investigou o efeito da LLLT (810nm) sobre as células dendríticas *in vitro* dose a dose 0,3; 3 e 30J/cm² e irradiâncias de 1, 10 e 100mW/cm². Concluiu-se que estas doses em conjunto possuem um efeito antiinflamatório nas células dendríticas ativadas, possivelmente mediada por AMPC e sinalização por redução do factor nuclear kappaB (NF-kB) (CHEN et al., 2011).

3.3 Fototerapia na reparação tecidual

A reparação de tecidos constitui um processo dinâmico que envolve diversas fases, tais como a proliferação, inflamação celular e síntese de substâncias, entre elas, o colágeno, fibras elásticas e reticulares (PUGLIESE, 2003). A aceleração da reparação de tecidos e modulação do processo de cura em diferentes níveis são os objetivos da fototerapia clínica. Por exemplo, a

perna esquerda de um paciente geriátrico apresentando úlceras venosas bilaterais foi tratada com LEDs fixados no comprimento de onda de 628nm, semanalmente, durante 18 semanas. O paciente não tinha história de doença arterial ou diabetes e a perna direita permaneceu não tratada sendo utilizada como um controle. Os resultados apontaram uma melhora de 30% em relação à área total de úlcera da perna tratada, juntamente com a diminuição da percepção da dor. Os autores concluíram que a fototerapia tem potencial no tratamento de úlceras venosas (SIQUEIRA et al. 2009).

Um dos fatores que interferem nos protocolos com laser de baixa intensidade é a dose. Os pesquisadores mostraram que o tratamento com a dose de 830nm e $2\text{J}/\text{cm}^2$ não influenciou significativamente na cura de feridas induzidas em cavalos (PETERSEN et al. 1999). No entanto, doses iguais ou superiores a $45\text{J}/\text{cm}^2$, com 685nm ou 830nm promoveu a cicatrização de feridas em ratos do terceiro para o sétimo dia (MENDES, 2004).

Estudos *in vitro* têm sido amplamente utilizados para verificar os efeitos do laser de baixa intensidade. Utilizando culturas primárias de fibroblastos humanos a partir de gengiva humana, avaliaram-se os efeitos da fototerapia no crescimento celular utilizando uma fluência (energia fornecida por unidade de área) de $2\text{J}/\text{cm}^2$ e diferentes comprimentos de onda (670, 692, 780, e 786nm). Observou-se baixo crescimento de fibroblastos em condições ideais de nutrientes (DMEM + 10%FBS). No entanto, o laser promoveu a proliferação celular significativa sob o stress nutricional (DMEM +FBS a 5%). Além disso, o laser infravermelho (780nm e 786nm) estimulou o crescimento de células maior do que a fototerapia e luz vermelha visível (670nm e 692nm) (ALMEIRDA-LOPES et al., 2001). Outro estudo com o mesmo tipo celular que utilizou diodos de Arsenieto de Alumínio-Gálio (AsGaAl), com comprimento de onda de 890nm, usando fluências diferentes (1,96, 3,92 e $7,84\text{J}/\text{cm}^2$) cada 24 horas, durante três dias, a atividade das células aumentou de todos os grupos tratados, quando comparado com o controle (KREISLER et al., 2002).

Uma meta-análise de 2000-2007 analisou os efeitos da fototerapia na cicatrização de tecidos. Os trabalhos foram escolhidos a partir de todas as fontes disponíveis. O efeito geral médio da fototerapia na cicatrização foi altamente significativo (intervalo de confiança de 96%). Outra meta-análise revelou efeitos positivos da fototerapia em reparação celular em animais

experimentais, e moderado efeito em seres humanos. Concluiu-se que, em animais, a fototerapia é uma ferramenta eficiente para a reparação tecidual nos animais, mas, apesar de eficiente, requer mais pesquisa em seres humanos (FULOP et al., 2009).

Recentemente, os investigadores realizaram estudos procurando acelerar e facilitar a regeneração do tecido, bem como para diminuir a formação de cicatrizes e de contração da ferida, utilizando fototerapia pulsada de baixa intensidade por diodo AsGaAl, com potência de saída de 10Mw, comprimento de onda de 890nm e frequência de 20kHz. A ferida na região glútea foi induzida em 20 coelhos. Seis horas mais tarde, um protocolo foi iniciado com as especificações acima mencionado (5min por dia durante sete dias). Nos grupos controle, as células inflamatórias, sobretudo neutrófilos e, vasos congestionados nos bordos da ferida foram detectados ao fim de três dias. Ao sétimo dia, houve a presença de neutrófilos mortos e hemólise na derme. Por outro lado, o grupo tratado tinha infiltrado inflamatório, principalmente os neutrófilos, proliferação de fibroblastos depois de três dias. Após sete dias, as feridas do grupo tratado foram caracterizadas por tecido conjuntivo denso. Os autores concluíram que este protocolo foi eficiente em feridas abertas, pois acelerou o processo de cicatrização (HUSSEIN et al., 2011).

Em 1998 Reedy utilizou um laser de Hélio-Neon (HeNe), com comprimento de onda 632,5nm e dose diária de 1,0J/cm², durante 14 dias em coelhos tenectomizados. Os animais foram sacrificados no dia 15 para avaliação de tendão. Confirmou-se um aumento de 26% na concentração de colágeno, bem como no colágeno solúvel neutro e do colágeno insolúvel de 32% e 33%, respectivamente, no grupo tratado com laser. Concluiu-se que o laser facilita a cura por processo de modulação da síntese de colágeno (REEDY et al., 1998). Em contraste, a utilização de laser de Arsênio de Gálio (AsGa) na dose de 8J/cm² pareceu ser ineficaz para o tratamento de cavalos com tendinite bilateral induzida por collagenase, após 40 dias de terapia (MACHADO et al., 2000).

Pesquisadores compararam os efeitos do ultrassom terapêutico, laser e estimulação elétrica na cicatrização do tendão de Aquiles após tenectomia experimental e religação por sutura em ratos. Quatro grupos foram utilizados

da seguinte maneira: controle, laser, ultrassom e estímulo elétrico. Neste estudo, a estimulação eléctrica promoveu uma maior síntese de colágeno (ARAÚJO et al., 2007).

Enfrentando polêmica sobre a ação do laser em tendinopatias, uma revisão sistemática com meta-análise em humanos foi realizada para avaliar a eficácia da fototerapia, relevância dos parâmetros de irradiação e de validação das atuais doses recomendadas no tratamento de tendinopatias. Doze dos 25 ensaios clínicos controlados apresentaram efeitos positivos, enquanto os resultados de 13 dos estudos foram inconclusivos ou não mostraram efeito da fototerapia. Dos 12 ensaios positivos foi encontrada uma correlação entre o uso de protocolos adequados e resultados positivos (TUMILTY, 2010).

4. OBJETIVOS

O estudo experimental foi realizado em ovinos submetidos à tenectomia segmentar do Flexor Digital Superficial (FDS), induzido cirurgicamente, com os seguintes objetivos:

- Avaliar a técnica de tenectomia segmentar do FDS, mimetizando uma lesão tendínea por ruptura parcial;
- Avaliar a interação da fototerapia por diodos superluminosos de 890nm de comprimento de onda com o tecido tendíneo;
- Avaliar e qualificar o processo de reparação tendínea durante a fase aguda da lesão, frente ao tratamento fisioterápico.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), no campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (UNESP).

5.1 Animais Experimentais

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (protocolo nº 272/2011-CEUA). Foram utilizados 10 animais da espécie ovina (*Ovis Aries*), submetidos a uma lesão no TFDS do membro torácico direito, realizada através de um procedimento experimental de tenectomia segmentar (TS). Os animais foram divididos em dois grupos, um grupo realizado o procedimento cirúrgico e tratado com o aparelho desligado (tratamento placebo), grupo controle (GC); e um grupo onde foi realizado o mesmo procedimento de tenectomia e após vinte e quatro horas iniciado o tratamento com a fototerapia, grupo tratado (GT).

Os animais experimentais apresentaram idades entre 4 a 6 meses, clinicamente saudáveis, sendo todos do sexo macho e sem raça definida e sem alterações no sistema locomotor. Após a chegada dos animais no Hospital Veterinário da FMVZ, os ovinos foram acondicionados em duas baias de 5m², e foi realizada a pesagem e vermifugação com Ivermectina 0,08%. Todos os animais receberão água *ad libitum* e ração balanceada comercial (2x/dia).

5.2 Delineamento Experimental

Os borregos foram divididos em dois grupos (GC e GT) de cinco animais cada e foram incluídos no seguinte plano de delineamento experimental (Figura 1):

GRUPO C: Todos os animais foram submetidos à TS do flexor digital superficial, membro torácico direito, no terço médio-distal da região metacarpiana, em sua porção superficial. Este grupo foi submetido ao tratamento placebo com aparelho de fototerapia desligado durante 28 dias, sendo introduzido a cinesioterapia após o 14º dia. Os animais foram submetidos à avaliação física diariamente até o final do experimento e ao

acompanhamento ultrassonográfico, nos primeiros quatorze dias e nos dias 21 e 28. Após o 28º dia foi realizado o abate dos animais, sendo coletado o local da lesão no tendão para exame histológico.

GRUPO T: Os animais desse grupo também foram submetidos à TS semelhante e após vinte quatro horas de pós-operatório, iniciou-se o protocolo fisioterápico com o tratamento de fototerapia com duração de 20 minutos, durante os 28 dias de tratamento, sendo também introduzido a cinesioterapia após o 14º dia. Foi realizada avaliação física diariamente do grupo até o final do experimento e o mesmo acompanhamento ultrassonográfico, nos primeiros 14 dias, nos dias 21 e 28. Após o exame e tratamento placebo, foi realizado o abate dos animais, sendo coletado o local da lesão no tendão para exame histológico.

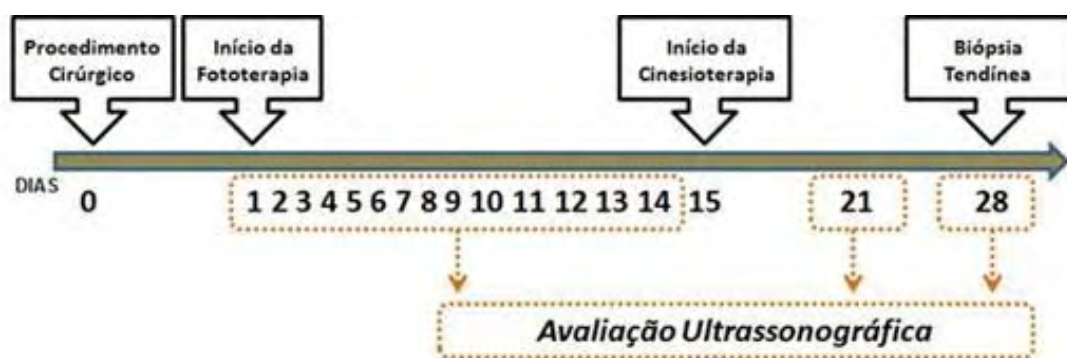


FIGURA 1: Esquema demonstrativo do delineamento experimental.

5.3 Procedimentos Anestésicos e Cirúrgicos

Para realização do procedimento cirúrgico foi estabelecido um protocolo anestésico que consiste em administração de Sulfato de Morfina (10mg/ml) na dose de 0,3mg/kg e também Cloridrato de Xilazina (0,02mg/ml) na dose de 0,1mg/kg e bloqueio anestésico local com Cloridrato de Lidocaína (10mg/ml) utilizando 10ml lateral e distal na origem do TFDS.

O procedimento experimental de Tenectomia segmentar do FSD (Figura 2) foi procedido na face palmar ao membro anterior direito de todos os animais, mediante incisão da pele na altura do 2/3 do osso metacarpiano (região para acesso ao tendão antes de sua divisão). Posteriormente, realizou-

se a exposição e isolamento do tendão. Neste momento, executava-se uma incisão, com retirada de fragmento medindo 0,5cm de comprimento X 0,2cm de largura (Figura 3), ao centro do tendão e sutura da pele.

Os grupos não receberam medicação anti-inflamatória para não haver interação com o tratamento fisioterápico.

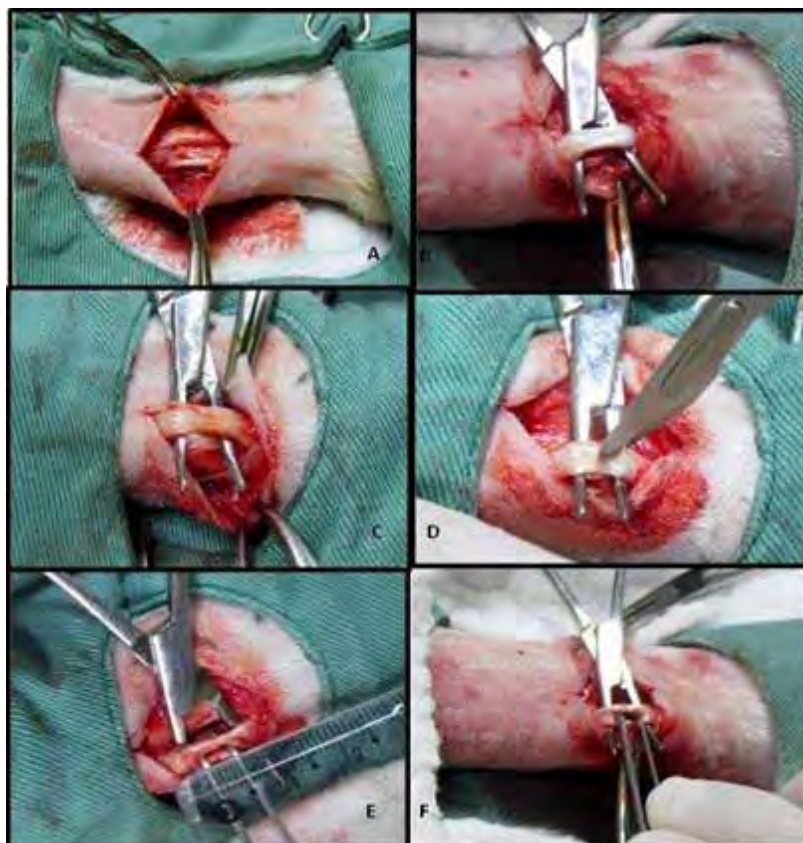


FIGURA 2: Demonstração do procedimento de tenectomia parcial para indução da lesão experimental. (A) Incisão da pele e localização do TFDS; (B-C) Exposição e Isolamento do TFDS; (D) Incisão e retirada de tecido tendíneo; (E) Definição da lesão provocada.



FIGURA 3: Foto ilustrativa da lesão cirúrgica realizada para tenectomia segmentar (0,5cm de comprimento x 0,2cm largura), em peça anatômica.

5.4 Tratamento Fisioterápico

O protocolo fisioterápico foi instituído ao grupo tratado, pela aplicação da fototerapia com aparelho de diodo de AsGaAl, utilizando três placas (lateral, medial e palmar) com 60 diodos cada. Os tratamentos foram realizados a partir de 24 horas após a indução da lesão, seguindo diariamente com duração de 20min cada aplicação (Figura 4). A partir do momento 15, todos os animais de ambos os grupos foram introduzidos no programa de cinesioterapia com caminhadas em piso gramado (Figura 5) durante 5 minutos após o tratamento, diariamente até o momento 28.



FIGURA 4: Aplicação da fototerapia por diodo superluminoso.



FIGURA 5: Cinesioterapia com caminhadas em piso gramado.

5.5 Avaliação Física

A avaliação física foi realizada por dois métodos: palpação do TFDS, com o objetivo de verificar a reação do animal frente à sensibilidade dolorosa na estrutura tendínea, sendo realizado em três zonas (proximal a lesão, local da lesão e distal à lesão); o segundo método de avaliação física foi através do perímetro do membro no local da lesão, verificando a formação de edema e espessamento do membro.

5.6 Avaliação Ultrassonográfica

Foram realizadas tricotomia e limpeza da região com água e detergente, seguidas pela aplicação de gel acústico e avaliação ultrassonográfica em cortes transversais e longitudinais do TFDS. Todos os tendões foram revisados desde a região proximal dos metacarpos até um centímetro distal ao final da lesão cirúrgica para determinação do local da cirurgia e da região de interesse (region of interest - ROI). Tanto para a avaliação no modo-B como para o Power-Doppler (Figura 6), a ROI foi considerada como a região central da fenda cirúrgica, 2 a 3 mm distal ao início desta. Uma vez decidida a ROI foi realizada tricotomia na região dorsal para marcar o sitio de colocação do transdutor e assim evitar erros nas avaliações nos diferentes momentos.

Os exames modo-B foram realizados com o equipamento de ultrassom Esaote modelo MyLab 70 e transdutor linear multifrequência de 6 a 18 MHz, sem anteparo de silicone. Foi aferida a área total do tendão e da lesão, para obter a percentagem relativa da lesão. Também foi quantificado o aumento de volume (edema, inflamação) medida a distancia linear (centímetros) existente entre a face palmar do TFDS e a face dorsal do tecido subcutâneo adjacente à pele. A ecogenicidade do tendão foi avaliada seguindo a classificação de Genovese (1992).

A avaliação ultrassonográfica pelo Power-Doppler foi conduzida utilizando uma modificação do sistema de aferição de sinal doppler, na reparação de fratura de ossos longos utilizado por Risselada et al. (2006) (anexo 1). Deste modo, as mesmas regiões de interesse utilizadas no modo-B foram avaliadas, utilizando as quatro seguintes configurações: frequência de

repetição de pulso (pulse repetition frequency - PRF) de 370Hz e filtro de parede (wall filter - WF) de 3; PRF 370Hz, WF 4; PRF 1.3kHz, WF 3; PRF 1.3kHz, WF 4. Foram observados e aferidos a intensidade do sinal (brilho), área e número dos sinais (somatória da área total vascularizada e número de vasos exclusivamente aqueles dentro da lesão cirúrgica) nos momentos 1, 5, 7, 14, 21, 28, antes e depois dos tratamentos sendo denominados os momentos como 1A, 5A, 7A, 14A, 21A, 28A. Foram utilizados três quadros de cada vídeo e a media obtida utilizando o escore, segundo anexo, foi considerada como o valor para aquele momento.



FIGURA 6: Posicionamento do animal para exame ultrassonográfico modo-B e Power-Dopler.

5.7 Biópsia tendínea

Para esse procedimento, os animais foram encaminhados ao frigorífico e abatidos em linha industrial, sendo retirado o membro em estudo para posterior coleta do tendão e encaminhamento do processamento histológico. Os animais foram todos sacrificados ao 28º dia e o tendão coletado em sua zona de lesão.

5.8 Avaliação Histológica

Os tecidos coletados em biópsia foram conservados em *Optimal Cutting Temperature* (OCT), e em seguida congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80°C. Os fragmentos foram processados, obtidos cortes histológicos de 6µm de espessura, corados pelos métodos de Hematoxilina-Eosina (H.E.) e pelo Tricrômio de Masson. A análise histológica foi realizada por microscopia óptica (10x e 20x), com leitura das lâminas sem prévia identificação dos grupos.

A avaliação foi realizada nos cortes histológicos dos tecidos tendíneos, através de escores, segundo Nixon (2008), onde foram classificados de (1) sendo o grau para tendão normal e (4) nos índices mais severos.

Foram analisados os seguintes critérios: formato das células do tendão, densidade das células do tendão, presença de áreas hemorrágicas, neovascularização (número de vasos), infiltrado de células inflamatórias, linearidade das fibras colágenas, uniformidade das fibras colágenas e espessura do epitendão (anexo 2).

5.9 Avaliação estatística

Modelos de medidas repetidas (PROC MIXED, SAS Institute, 2009) foram usados para comparar: 1) média de edema (cm); 2) percentagem de lesão e 3) perímetro (cm) entre os grupos. Para testar se a diferença entre tratamentos foi dependente do momento analisado, um termo representando a interação entre o tratamento e momento foi incluído em cada modelo. O teste de Wilcoxon (PROC NPAR1WAY, SAS Institute, 2009) foi usado para comparar as medianas do 1) escore histológico total e de neovascularização, e 2) escore de palpação (sensibilidade), entre os grupos estudados, e as médias das configurações da avaliação Power-doppler entre os grupos para cada momento.

6. RESULTADOS

O procedimento cirúrgico, como forma de indução física de lesão tendínea apresentou um resultado significativo em relação ao tamanho da lesão e formato da mesma (Figura 7), havendo apenas um dos animais com ruptura total do tendão devido ao comportamento do animal, animal este que foi descartado do experimento e encaminhado ao abate.

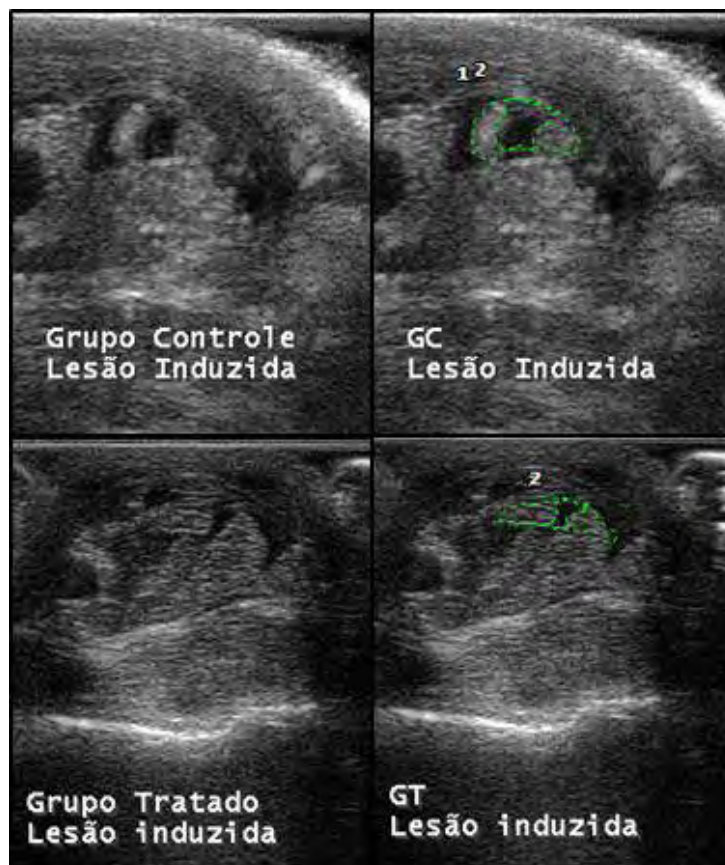


FIGURA 7: Delimitação da lesão induzida em ambos os grupos controle (GC) e tratado (GT).

Após avaliação física realizada diariamente até o 28º dia de pós-operatório observou-se que todos os animais de ambos os grupos, não apresentaram sinais de claudicação evidente nem de alteração das funções vitais normais. Não foi observada deiscência da sutura ou outra manifestação indicativa de reações locais como secreções patológicas. Uma das observações adicionais foi que alguns dos animais do GT, após 13 dias de tratamento, apresentaram discreta relação de crescimento acelerado de pelos

ao redor da ferida em relação aos animais do GC (Figura 8), indicando uma possível estimulação através da fototerapia no crescimento de pelos.

A abordagem primária da fisioterapia, na questão de lesão tendínea seria o controle da dor. Pelo exame de palpação do tendão, os animais do GC apresentaram em média maior sensibilidade ($0,94 \pm 0,84$), em relação aos animais do GT ($0,68 \pm 0,90$). Nosso estudo demonstrou que a utilização da fototerapia por AsGaAl, com comprimento de onda 890nm, foi eficaz no controle da dor pela palpação do TFDS, sendo que o grupo tratado apresentou uma diferença estatística significativa ($p=0,004$) em relação ao grupo controle.

O perímetro médio da região apresentou-se maior no grupo controle em todos os momentos, porém não houve diferença estatística entre os grupos ($p=0,42$).



FIGURA 8: Esquema demonstrativo do crescimento de pelos diferenciados entre os grupos controle (GC) e tratado (GT).

O edema local, avaliado pelos exames ultrassonográficos, foi aferido medindo a distância entre o TFDS e a derme nas imagens longitudinais dos exames. O grupo controle apresentou, em média ($0,35 \pm 0,12$), maior formação

de edema durante o período avaliado, em relação ao grupo tratado ($0,26 \pm 0,10$) (Figura 9). Houve diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,04$), que não foi dependente do momento analisado ($p=0,56$ para o termo de interação momento x tratamento).

A evolução da lesão foi aferida em porcentagem, correlacionando a área do tendão com a área da lesão pelos exames ultrassonográficos. Com isso, o grupo controle e grupo tratado apresentaram evolução semelhante (Figura 9), não havendo diferença estatística significativa ($p=0,79$) e que não houve interação com o momento avaliado ($p=0,86$).

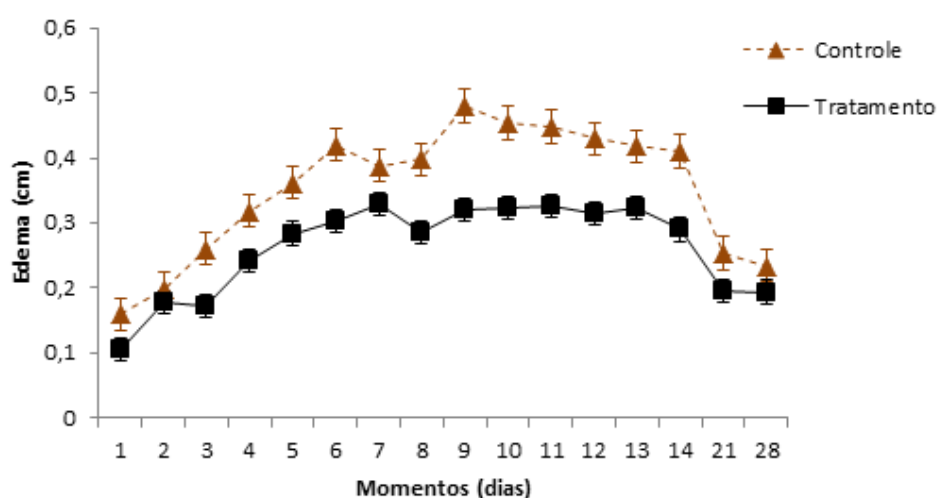


FIGURA 9: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, da formação de edema aferidos pelos exames ultrassonográficos, apresentando diferença estatística ($p=0,04$) entre os grupos, independente do momento.

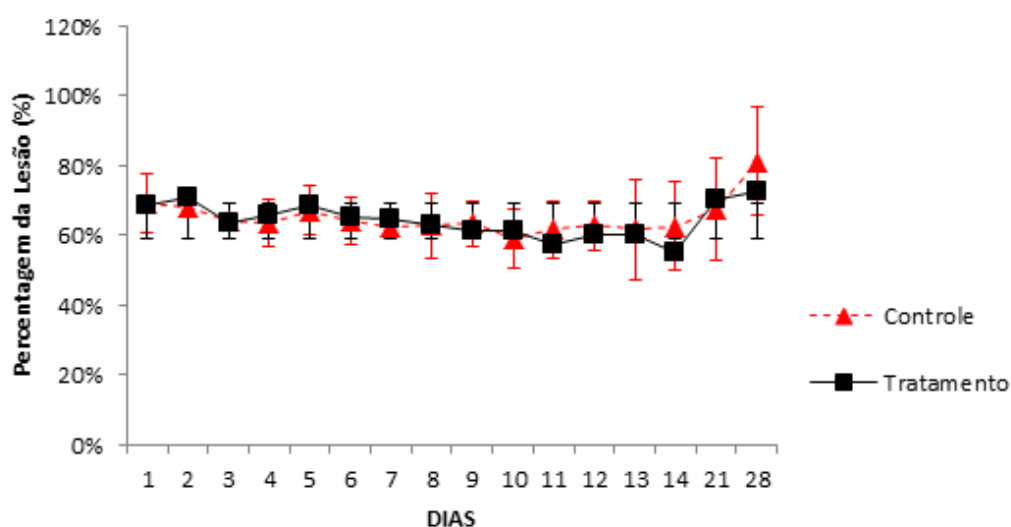


FIGURA 10: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, da porcentagem de área de lesão (área do tendão x área da lesão), aferidos pelos exames ultrassonográficos, não apresentando diferença estatística.

Os resultados da avaliação ultrassonográfica da evolução da lesão, a 28 dias da indução da lesão, demonstraram uma imagem hipoeecóica na maioria dos animais, possibilitando sua delimitação e mensuração.

Ao avaliar a média dos escores de ecogenicidade segundo Genovese (1992) da lesão nos dois grupos em seus diferentes momentos (Figura 11), observou-se que no local da lesão a ecogenicidade apresentou uma diferença a partir do momento 3 e um pico de diferença entre os grupos no momento 14. Porém não houve diferença estatística ($p=0,21$) entre os grupos e também não houve diferença significativa na interação momento x grupos. Ao final da pesquisa houve uma inversão do grau da lesão, sendo um escore menor no grupo controle. O período estipulado para pesquisa não foi suficiente para total cicatrização tendínea, não atingindo um padrão ecóico normal tanto no grupo tratado quanto no grupo controle.

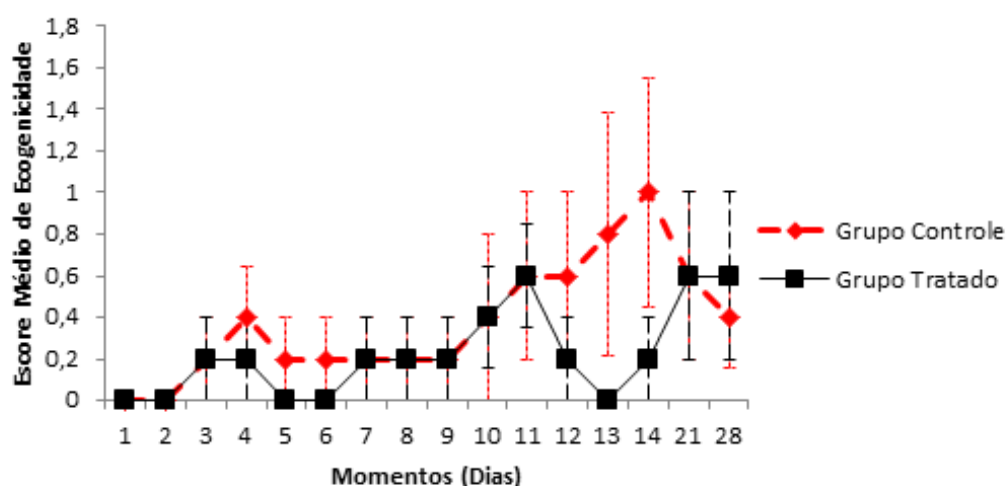


FIGURA 11: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, do escore médio de ecogenicidade, avaliado pelos exames ultrassonográficos, não apresentando diferença estatística significativa ($p=0,021$).

Os cortes histológicos foram avaliados por escore segundo Nixon (2008), onde foram dados escores 0-4 (anexo 2) para os seguintes pontos: linearidade dos tenócitos, densidade celular, áreas de hemorragia, neovascularização (número de vasos), infiltrados de células inflamatórias, linearidade das fibras colágenas, uniformidades das fibras colágenas e espessura do epitendão. Ao final da classificação dos critérios, foi realizada a somatória dos escores de todos os quesitos e utilizado esta para o escore

histológico total, indicando o tendão com maior escore, o de menor qualidade de reparação.

Como escore total da avaliação, os grupos apresentaram diferença sendo o grupo controle com maior pontuação (mediana=21), e pior índice de reparação tecidual e o grupo tratado (mediana=17) sendo um tendão, no geral, com melhor reparação tecidual. Porém apesar da diferença dos escores não houve diferença estatística significativa em relação aos escores totais ($p=0,20$).

Essa mesma avaliação apresentou um ponto a ser destacado, presença de neovascularização. Apesar da diferença nos escores totais entre os dois grupos não terem sido significativa estatisticamente, observou-se uma diferença entre o grupo tratado, sendo mais vascularizado em relação ao grupo controle pela mediana dos seus escores (Figura 12), havendo uma diferença estatística significativa ($p=0,02$).

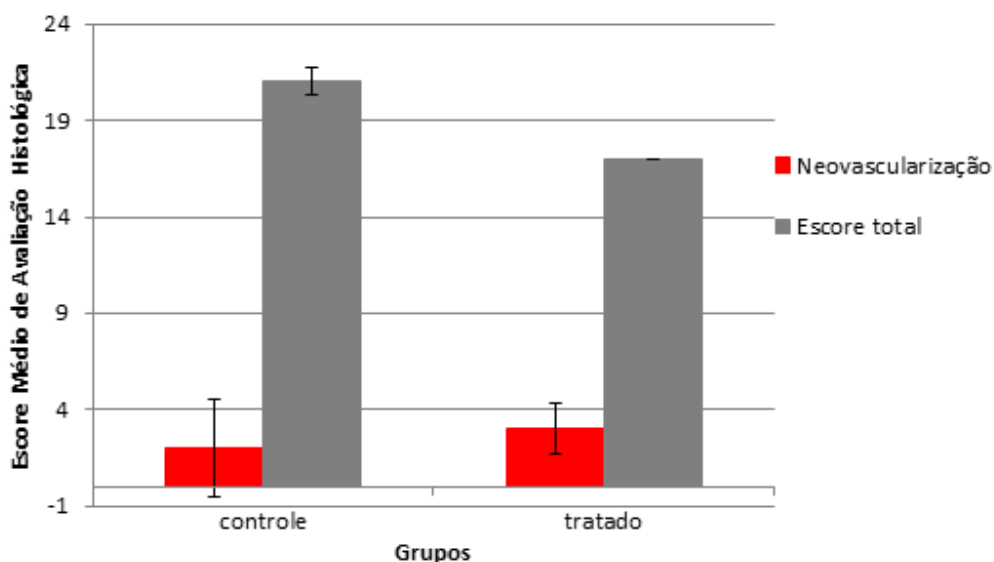


FIGURA 12: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, do escore da avaliação histológica total e da neovascularização, apresentando diferença estatística significativa nos escores de neovascularização entre os grupos.

A vascularização foi avaliada pelo número de vasos presente no foco da lesão durante o exame ultrassonográfico Power-doppler. Os animais do grupo tratado apresentaram diferença estatística significativa nos momentos 14A com PRF 1.3 WF 4 ($p=0,01$) (figura 13) e 21A com PRF 1.3 WF 3 ($p=0,02$) (figura 14). Em relação à área de vasos foi maior no grupo tratado no momento 21A, havendo diferença estatística ($p=0,02$) nas imagens avaliadas pelo PRF

1.3 WF 3 (figura 15). À análise da intensidade de sinal, houve diferença entre os grupos sendo maior no grupo tratado no momento 21A com diferença estatística ($p=0,02$) analisado pelo PRF 1.3 WF 3 (figura 16).

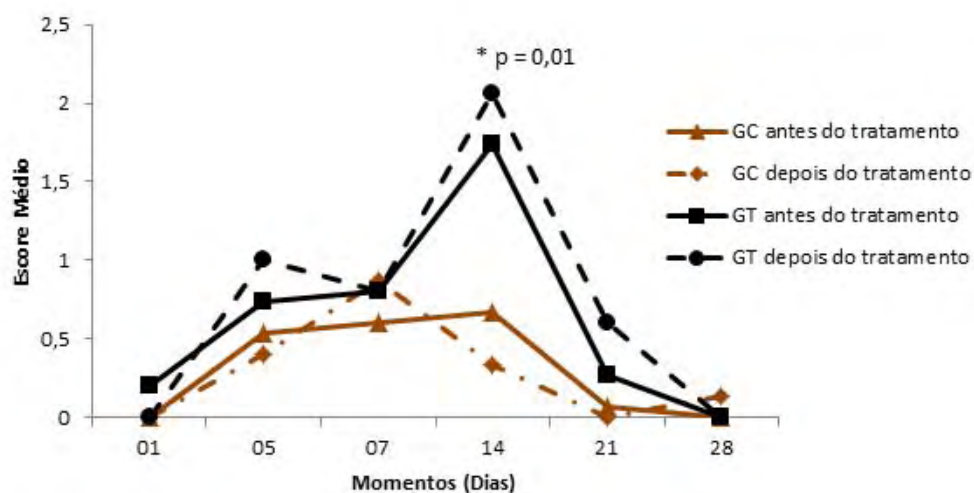


FIGURA 13: Perfil comparativo entre os grupos, para escores médios do número de vasos no exame Power-doppler, nas configurações PRF 1.3 e WF 4, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 14 do GT depois do tratamento.

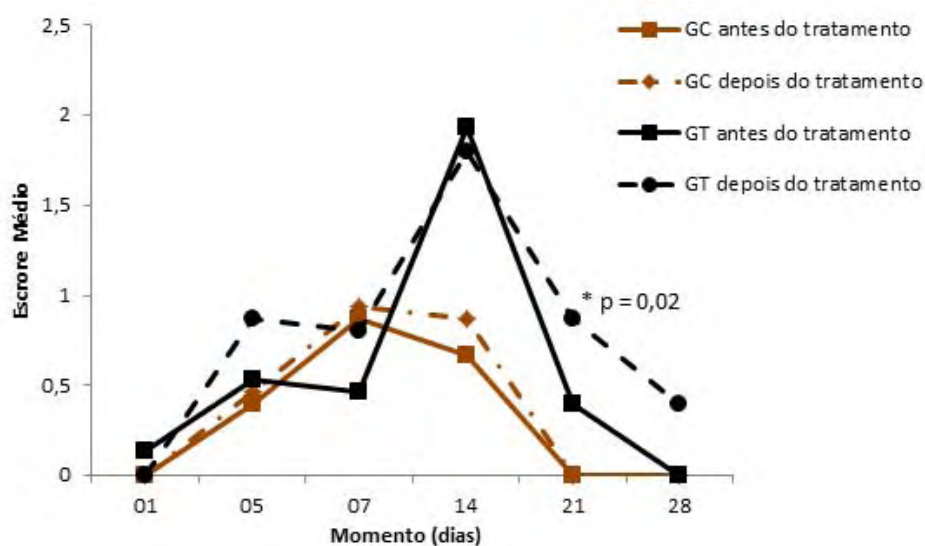


FIGURA 14: Perfil comparativo entre os grupos, para escores médios do número de vasos no exame Power-doppler nas configurações PRF 1.3 e WF 3, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 21 do GT depois do tratamento.

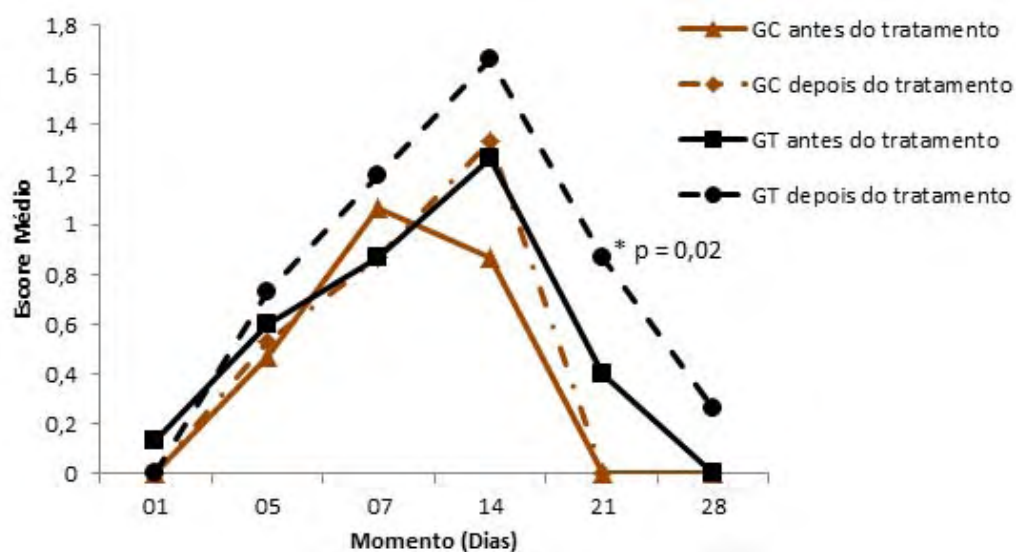


FIGURA 15: Perfil comparativo entre os grupos, para escores médios da área de vasos no exame Power-doppler, nas configurações PRF 1.3 e WF 3, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 21 do GT depois do tratamento.

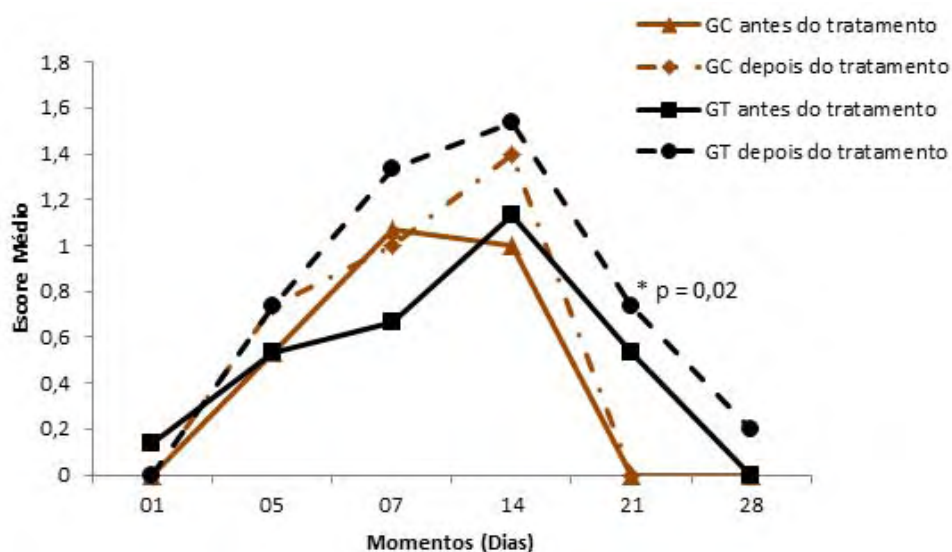


FIGURA 16: Perfil comparativo entre grupos tratado e controle, para escores médios da intensidade de fluxo no exame Power-doppler nas configurações PRF 1.3 e WF 3, antes e depois do tratamento placebo e fototerapia. *diferença estatística no momento 14 do GT depois do tratamento.

Quando comparado os dois grupos independente do momento, observou-se que o grupo tratado apresentou maiores médias em relação ao grupo controle. Na avaliação de intensidade de fluxo (Figura 17), houve uma tendência estatística nos exames com configuração de PRF 1.3. WF 4 ($p=0,08$), PRF 370 WF 3 ($p=0,09$) e PRF 370 WF 4 ($p=0,051$). Para a análise do tamanho dos vasos (Figura 18), observou-se uma tendência estatística nos vídeos PRF 1.3. WF 4 ($p=0,08$), PRF 370 WF 4 ($p=0,052$) e PRF 1.3. WF 3 ($p=0,06$).

Em relação à contagem do número de vasos, observou-se que o grupo tratado apresentou médias maiores que o grupo controle (Figura 19), havendo uma diferença estatística significativa nos vídeos PRF 1.3 WF 4 ($p=0,02$), PRF 1.3 WF 3 ($p=0,02$), PRF 370 WF 3 ($p=0,02$) e PRF 370 WF 4 ($p=0,01$).

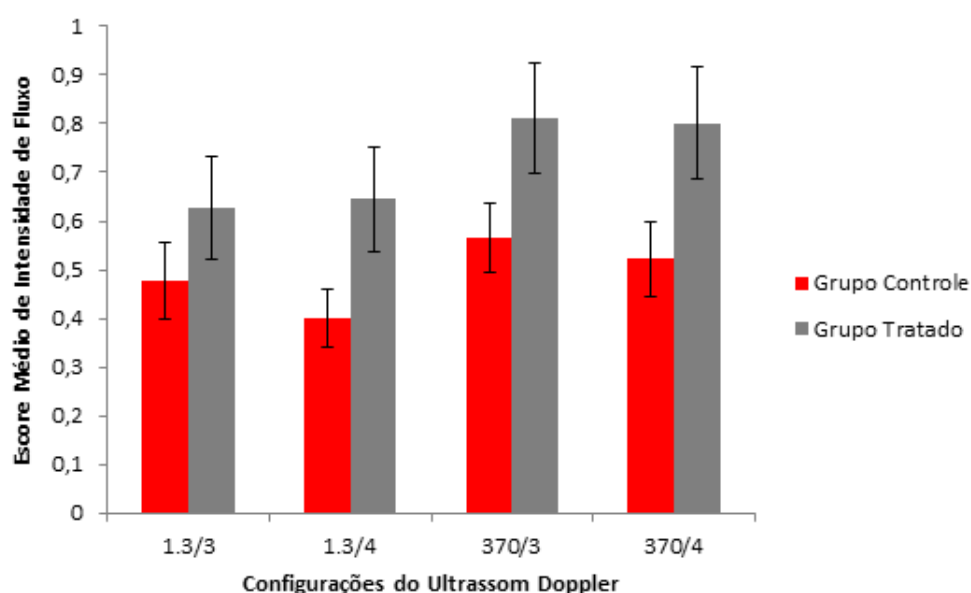


FIGURA 17: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, para os escores médios de intensidade de fluxo, em todas as configurações do exame Power-doppler, independente do momento.

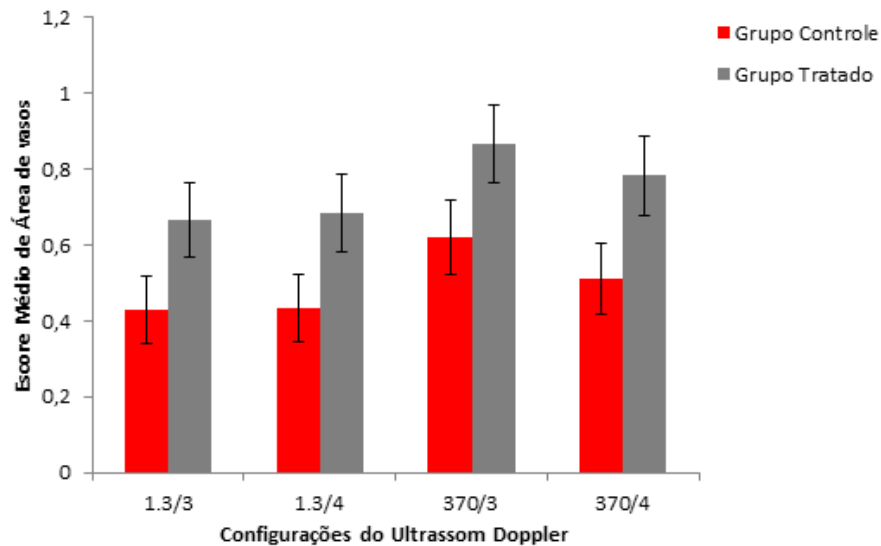


FIGURA 18: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, para escores médios do número de vasos, em todas as configurações do exame Power-doppler, independente do momento.

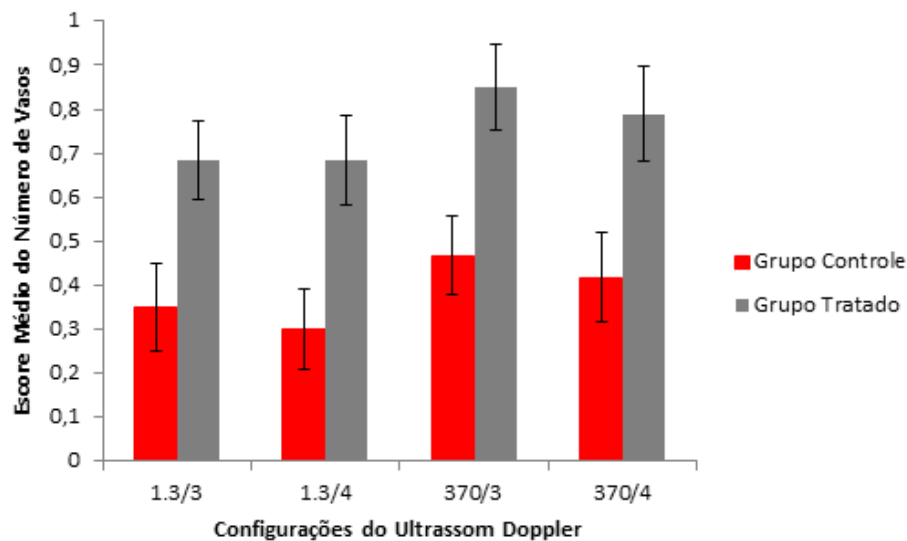


FIGURA 19: Perfil comparativo entre os grupos tratado e controle, para escores médios da área de vasos, em todas as configurações do exame Power-doppler, independente do momento.

7. DISCUSSÃO

Os tendões, entre outras funções, são estruturas que apresentam uma real importância por permitirem que a força gerada nos músculos seja transmitida ao sistema esquelético. Desta maneira tem-se a execução dos movimentos, tanto voluntários quanto involuntários, de uma forma harmônica e eficaz (STASHAK, 2002). Lesões nessas estruturas são consideradas de difícil reparo devido a pobre vascularização e pouca celularidade presente nessa região. Métodos que aceleram e determinam uma neovascularização eficaz e uma boa deposição e alinhamento de fibras de colágeno na área lesada é de grande importância por permitirem um retorno à harmonia e eficácia dos movimentos em um período de tempo mais curto que o habitual (SMITH e WEBBON, 1996).

Os resultados obtidos nos exames ultrassonográficos, 24 horas após o procedimento cirúrgico, demonstraram uma boa formação da lesão com bordas bem delimitadas, padronizadas para todos os animais, nos fornecendo um bom material para estudo comparativo da reparação tendínea. Entretanto há de se tomar alguns cuidados em relação ao manejo do animal após a realização da lesão cirúrgica, pois ocorreu complicações devido ao comportamento de um dos animais ruptura total do TFDS, sendo este excluído da pesquisa.

Em relação ao processo de indução da lesão tendínea para estudos de sua reparação, principalmente no TFDS, trabalhos vêm buscando a melhor forma para indução e análise. Uma forma de indução da lesão tendínea é através da aplicação intratendínea de collagenase, com diferentes doses, descritas na literatura, por exemplo, 0,5ml e concentração 2,5mg/ml (WILLIAMS, 1994; ALVES 1998) e também com dose de 1,0ml com concentração de 2,5mg/ml (YAMADA et al., 2008), apresentando bons resultados na questão de formação da lesão, formação de edema e sensibilidade à palpação dos animais, efeitos esses similares ao processo inflamatório comum a uma lesão natural nessa estrutura. Porém este modelo experimental permite que a collagenase continue agindo sobre o tecido por um longo período dificultando o controle da lesão.

Em relação ao controle da dor e sensibilidade, questão primária da fisioterapia, nosso estudo revelou que o tratamento com diodos superluminosos

com 890nm foi eficaz observando uma média de sensibilidade menor no grupo tratado já nas primeiras sessões de terapia.

Alguns autores corroboram com o nosso estudo, demonstrando também esta diminuição da dor sem, no entanto obterem melhora funcional significativa em casos de artrite reumatoide (BROSSEAU et al., 2000), redução da dor em síndrome de epicondilite (VASSELJEN et al., 2000) e dores miofasciais (VASSELJEN et al., 1992). Em contra partida, diversas pesquisas ainda buscam o conhecimento da ação da fototerapia no controle da dor, onde estudos para dor lombar crônica (KLIEN e EEK, 1990), fascite plantar (BASFORD et al., 1992) e tendinites (VECCHIO et al., 1993), não apresentaram superioridade significativa entre os grupos.

Outro efeito terapêutico da fototerapia é o efeito antiedematoso, através do estímulo à microcirculação e auxiliando no reparo tecidual em diversas enfermidades. Sendo assim há atualmente diversas discussões sobre a necessidade de um comprimento de onda específico, a dosagem, o tipo de laser, além de outros fatores, principalmente a coerência dos feixes emitidos para se atingir um resultado efetivo (KITCHEN et al., 1991).

Em nosso estudo pode-se observar resultados semelhantes aos encontrados em diversas pesquisas. Após aplicação diária de laser de AsGaAl, utilizando um comprimento de onda alto e diodos com feixes não-coerentes, de 890nm, frequência de 292Hz, emissão de 9mw/cm² e duração da aplicação de 20 minutos se observou que a formação de edema foi menor no grupo tratado já apresentando diferença estatística nas primeiras 72 horas após a indução da lesão cirúrgica.

Albertini et al. (2004) verificaram que o LLLT vermelho com um comprimento de onda de 650nm, reduziu da mesma forma que a dose de 1mg/kg de Diclofenaco Sódico, que é um anti-inflamatório não esteroideal (AINES). Em conjunto com este resultado, Ferreira (2005) e colaboradores, demonstraram que após a utilização de laser HeNe de 632,8nm apresentou um efeito positivo na redução de edema induzido em membro de ratos.

Confirmando estes resultados é demonstrado na literatura que a LBP atua na diminuição do edema inflamatório, pois tal recurso terapêutico atua na microcirculação permitindo melhores condições de drenagem do edema (TRELLES e MAYAYO, 1997; SCHINDL, et al., 1997). Genovese (2000) refere

que a LBP tem uma ação indireta sobre o esfíncter pré-capilar, por meio de mediadores químicos, paralisando-o em abertura constante o que estimula a microcirculação, levando por consequência a drenagem do edema da região.

Seguindo a lista dos efeitos terapêuticos apresentado pela fototerapia, o estímulo a neovascularização é um ponto importante nessa terapia, por ser responsável pelo controle da inflamação, nutrição e auxílio no reparo tecidual. Seguindo este raciocínio, neste estudo observou-se que o diodo com comprimento de onda de 890nm não-coerente de AsGaAl, foi efetivo no estímulo da neovascularização acelerando a reparação tendínea em relação ao grupo controle, permanecendo o estímulo até os momentos 14 e 21.

Esses resultados mostram que a fototerapia é uma modalidade importante no processo de angiogênese e assim, como Xavier et al. (2010) mostraram que a fototerapia é efetiva no controle do processo inflamatório, entretanto, atua nos momentos iniciais sendo necessária a realização de um protocolo específico para cada tratamento e a utilização de diferentes comprimentos de onda e irradiações para estímulos em diversos cromóforos específicos.

Outros estudos também corroboram com a fundamentação da fototerapia, como o de Salate et al. (2005) que utilizou diferentes irradiações de LBI avaliando a angiogênese após ruptura parcial do Tendão de Aquiles de ratos. Utilizando 96 animais, divididos em grupos avaliaram-se em momentos diferentes 3, 5 e 7 dias pós-lesão e os animais foram divididos em subgrupos onde um grupo recebeu irradiação de laser 660nm com saída de 10mW, outro grupo com 40mW, um grupo placebo e outro sem tratamento. Foram injetados nos vasos, tintura da Índia e avaliados com microscopia de vídeo. Os animais irradiados com 40mW apresentaram neovascularização antecipada com maior número de microvasos após três e sete aplicações.

Com os resultados deste estudo observou-se que utilizando uma fototerapia por LED de AsGaAl, com comprimento de onda de 890nm, três placas de 60 diodos cada e emissão de energia de 9mw/cm², por 20 minutos em sessões diárias a cada 24 horas, obtivemos resultados sem diferença estatística na questão de evolução da ecogenicidade, ou seja, preenchimento da área de lesão. As imagens ultrassonográficas apresentaram diferenças entre os animais de ambos os grupos, porém não apresentando diferença

estatística significativa entre os grupos. Isso nos mostra que a fototerapia não estimulou de forma significativa o preenchimento tendíneo após 30 dias do procedimento cirúrgico, não sendo possível ser confirmada a qualidade da reparação através do ultrassom diagnóstico.

Este resultado se compara com a pesquisa realizada por Machado e colaboradores (2000), onde foi utilizada a avaliação ultrassonográfica para avaliação da reparação tendínea em equinos frente ao tratamento com laser AsGa. Nesta pesquisa não se obteve diferença na reparação tendínea, ao fim de 40 dias de experimento, entre os grupos controle (sem tratamento) e o grupo irradiado com laser.

A fototerapia possui dentre seus efeitos biológicos a função de estimular a produção de colágeno através da regulação de genes e enzimas. Outra teoria sobre o mecanismo de ação da fototerapia sugere que são as mitocôndrias as fotorreceptoras, locais as responsáveis pela absorção dos fótons emitidos pelo laser ou diodo, iniciando a ativação da cadeia de transporte de elétrons, produzindo um acúmulo de ATP e ativando a síntese do ácido nucleico (REDDY et al., 1998). Com a utilização do laser de GaAs e de HeNe foi demonstrado o aumento na síntese do colágeno *in vitro* usando fibroblastos de pele humana, e este efeito acelerou o gene de expressão do pró-colágeno, o que elevou os níveis de tipo I e tipo III (SAPERIA et al., 1986).

Alguns autores apresentaram resultados considerando a fototerapia como tratamento eficiente para cicatrização tendínea frente ao tratamento com laser como no estudo de Mikail (2008), utilizando uma dose alta de 20J/cm², durante 20 minutos e um protocolo de 10 sessões utilizando a técnica de contato direto, promoveu um preenchimento da lesão após 30 dias, semelhante ao nosso estudo onde houve preenchimento da lesão dos animais tratados em 28 dias.

Seguindo essa linha, Casalechi et al. (2009) apresentaram resultados interessantes frente ao tratamento de LED nas lesões cirúrgica em tendão de Aquiles em ratos, onde a média obtida na análise de remodelação tecidual no grupo tratado por LED no 7º dia foi igual ao grupo controle analisado no 14º dia e os tecidos analisados do grupo tratado no 14º dia foi semelhante ao grupo controle avaliado no 21º dia e demonstrando a otimização da cicatrização

tendínea, o grupo tratado avaliado no 21º dia alcançou remodelação máxima pré-estabelecida, sendo uma qualidade mais elevada que o grupo controle.

Diversos outros estudos mostraram resultados adversos frente à resposta ultrassonográfica de ecogenicidade, porém, utilizando-se de doses mais baixas. RUPP (1990) testou a eficácia da fototerapia por laser Arsenieto de Gálio utilizando uma dosimetria de $1,5\text{J}/\text{cm}^2$ durante 10, 20 e 50 dias após realização de procedimento, não observando em análises histológicas e ultrassonográficas diferenças entre os grupos. Kaneps et al. (1984) apresentaram resultados semelhantes a este autor, onde foi utilizado uma dose de 57nJ por 5 sessões com duração de 15 minutos, em intervalos de 24 horas.

8. CONCLUSÕES

Conclui-se que a fototerapia é uma modalidade fisioterápica efetiva para ser utilizado em inflamações agudas e/ou subagudas, controlando a formação de edema e a dor.

A utilização de diodos superluminosos, não-coerentes, de AsGaAl com comprimento de onda de 890nm foi efetivo no estímulo da circulação e no processo de angiogênese.

É necessário cada vez mais estudos, com protocolos definidos para a Medicina Veterinária com detalhamento de doses, irradiações corretas e tipos de laser utilizados, fisiologia da espécie tratada e também a utilização de diferentes comprimentos de onda para real estímulo em fotorreceptores específicos.

9. BIBLIOGRAFIA

AGAIBY, A.D. et al; Laser modulation of angiogenic factor production by T- lymphocytes. *Laser in Surgery and Medicine*, v.26, n.4, p.357–363, 2000.

AGLIETTI, P.; BUZZI, R.; INSALL, J.N. Chapter 61: Disorders of patellofemoral joint. In: INSALL, J.N. *Surgery of the Knee*, New York, Churchill Livingstone, 1993. p.241-385

AGNOL, M.A.D.; NICOLAU, R.A.; LIMA, C.J.; MUNIN, E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci*. v.24, p. 909–916, 2009.

AGNOL, M.A.D.; NICOLAU, R.A.; LIMA, C.J.; MUNIN, E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci*. v.24, p.909–916, 2009.

ALBERTINI, R.; VILLAVERDE, A.B.; AIMBIRE, F.; SALGADO, M.A.C.; BJORDAL, C.D.; ALVES, L.P; MUNIN, E.; COSTA, M.S. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v.89, p. 50–55, 2007.

ALLEN, A.K.; STONE, L.R. Equine diagnostic ultrasonography: equipment selection and use. *Comp. Contin. Educ. (equine)*, v.12, n.9, p.1307-11, 1990.

ALVBERTINI, R.; AIMBIRE, F.S.; CORREA, F.S.; RIBEIRO, W.; COGO, J.C.; ANTUNES, E.; TEIXEIRA, S.A.; NUCCI, G.; NETO, C.H.C.F.; ZÂNGARO, R.A.; LOPES-MARTINS, R.A. Effects of different protocol doses of low power gallium- aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw oedema. *J Photochem Photobiol: Biology*. v.74, p. 101- 107, 2004.

ALVES, A.L.G. et. al. Influência do fumarato de beta-aminopropionitrila associado ao exercício na cicatrização tendínea eqüina–avaliação clínica e ultra-sonográfica. *Revista de Educação Continuada do CRMV-SP*, São Paulo, v. 4, n.1, p.19-27, 2001.

ALVES, A.L.G. Influência da beta-aminopropionitrila associada à atividade física na reparação de equinos após agressão pela collagenase. Análise ultrassonográfica e morfológica. 1998. 92p Tese (Doutorado) –

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

AL-WATBAN, F.A.H.; ANDRES, B.L. Polychromatic LED therapy in burn healing of non-diabetic and diabetic rats. *J Clin Laser Med Surg.* v.21(5), p.249-258, 2003.

AMAT, A.; RIGAU, J.; WAYNANT, R.W.; LLEV, I.K.; ANDERS, J.J. The electric field induced by light can explain cellular responses to electromagnetic energy: a hypothesis of mechanism. *J Photochem Photobiol B.* v.82(2), p.152-60, 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16300958>

ARAÚJO, R.C.; FRANCIULLI, P.M.; ASSIS, R.O.; SOUZA, R.R.; MOCHIZUKI, L. Effects of laser, ultrasound and electrical stimulation on the repair of achilles tendon injuries in rats: a comparative study. *Braz. J. Morphol. Sci.* v.24(3), p.187-191, 2007.

BAXTER, G.D. *Therapeutic lasers: theory and practice*. New York: Churchill Livingstone; 1994.

BIDDER, M.; TOWLER, D.A.; GELBERMAN, R.H.; BOYER, M.I. Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor at the repair site of healing canine flexor tendon. *J. Orthop. Res.* v.18, p.247–252, 2000.

BIRCH, H.L.; BAILEY, A.J.; GOODSHIP, A.E. Macroscopic degeneration of equine superficial digital flexor tendon is accompanied by a change in extracellular matrix composition. *Equine Vet J.*, v.30, n.6, p. 534-539, 1998.

BIRCH, H.L.; WILSON, A.M.; GOODSHIP, A.E. The effect of exercise-induced localized hyperthermia on tendon cell survival. *J. Exp. Biol.*, v.200, n.1, p.1703-1708, 1997.

BJUR, D.; ALFREDSON, H.; FORSGREN, S. The innervation pattern of the human Achilles tendon: studies of the normal and tendinosis tendon with markers for general and sensory innervation. *Cell and Tissue Research*, v. 320, p. 201-206, 2005

BLIDDAL, H.; TORP-PEDERSEN, S. Colour Doppler ultrasonography and sclerosing therapy in diagnosis and treatment of tendinopathy in horses-a research model for human medicine. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.*, v.15, p. 935-939, 2007.

BOESEN, M.H.; NANNI, S.; LANGBERG, H.; BOESEN, M.; FALK-RONNE, J.; BLIDDAL, H.; TORP-PEDERSEN, S. Colour Doppler ultrasonography and sclerosing therapy in diagnosis, and treatment of tendinopathy in horses-a research model for human medicine. **Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.**, v.15, p.935-939, 2007.

BROSSEAU, L.; WEILCH, V.; WELLS, G.; DE BIE, R.; GAM, A.; HARMAN, K.; MORIN, M.; SHEA, B.; TUGWELL, P. Low level laser therapy (classes I, II and III) for the treatment of osteoarthritis. *The Cochrane Library*, v.2 Oxford: Update Software. 2000.

BROSSEAU, L.; WELCH, G.; TUGWELL, P.; DE BIE, R.; GAM, A.; HARMAN, K.; SHEA, B.; MORIN, M. Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *J. Rheumatol.* v.27, p.1961–1969, 2000.

CASALECHI, H.L.; NICOLAU, R.A.; CASALECHI, V.L.; SILVEIRA-JÚNIOR, L.; PAULA, A.M.B.; PACHECO, M.T.T. The effects of low level light emitting diode on the repair process of Achilles tendon therapy in rats. *Lasers Med Sci.* v.24, p.659– 665, 2009.

CHAN, B.P.; CHAN, K.M.; MAFFULLI, N.; WEBB, S.; LEE, K.K.H. Effect of basic fibroblast growth factor. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, n.342, p.239–247, 1997.

CHANG, J.; MOST, D.; THUNDER, R.; ALTO, P.; MEHRARA, B.; LONGAKER, M.T.; LINEAWEAVER, W.C. Molecular studies in flexor tendon wound healing: The pole of basic fibroblasts growth factor gene expression. *The Journal of Hand Surgery*, v.23A, n.6, p.1052–1058, 1998.

CHEN, A.C-H; HUANG, Y-Y; SHARMA, S.K.; HAMBLIN, M.R. Effects of 810-nm laser on murine bone-marrow-derived dendritic cells. *Photomed Laser Surg*, v.29(6), p.383-389, 2011.

CONTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. *Fundamentos de Robbins: Patologia Estrutural e Funcional*. 7.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2005.

CORAZZA, A.V. Fotobiomodulação comparativa entre o Laser e LED de baixa intensidade na angiogênese de feridas cutâneas de ratos [Tese]. São Carlos, Brasil: universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de São Carlos; 2005.

CRASS, J.R.; GENOVESE, R.L.; RENDER, J.A.; BELLON, E.M. Magnetic resonance, ultrasound and histopathologic correlation of acute and healing equine tendon injuries. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v.33, p. 206-216, 1992.

DAHLGREN, L.A.; MOHAMMED, H.O.; NIXON, A.J. Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. *J of Orthop Res*, v.23, n.1, p. 84-92, 2005.

DENOIX, J.M. Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes). *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v.10, n.2, p. 273-322, 1994.

DENOIX, J.M. Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes). In: DUBAI INTERNATIONAL EQUINE SYMPOSIUM, 1996, Dubai. *Proceedings...* [Dubai]: Mathews R. Rantanen Design, 1996. p. 23-53.

DENOIX, J.M.; PAILLOUX, J.P. *Physical therapy and massage for the horse*. Britain: Manson, 1996.

Dissemond, J. Physical treatment modalities for chronic leg ulcers. *Hautarzt*, v.61(5), p.387-396, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20376423>

DYSON, S. Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000). *Equine Veterinary Journal*, v.36, n.5, p.415-419, 2004.

ENWEMEKA, C.S. The effects of therapeutic ultrasound on tendon healing. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, v.68(6), p. 283-287, 1989.

Enwemeka, C.S.; Reddy, G.K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective. *Laser Therapy*, v.12, p.19-22, 2000.

ENWEMEKA, C.S.; SPIELHOLZ, N.I. Modulation of tendon growth and regeneration by electrical fields and currents. In: CURRIER, D.P.; NELSON, R.M. *Dynamics of human biologic tissue*. Philadelphia: F.A. Davis Company, 1992, p. 231-254.

FERREIRA, D.M.; ZANGARO, R.A.; VILLAVERDE, A.B.; CURY, Y.; Frigo, G. Piccolo, I. Longo, D.G. Barbosa, Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm)

low-level laser therapy on acute inflammatory pain, *Photomed. Laser Surg.* 23 (2) (2005) 177–181.

FERREIRA, D.M.; ZANGARO, R.A.; VILLAVERDE, A.B.; CURY, Y.; FRIGO, L.; PICCOLO, G.; LONGO, I.; BARBOSA, D.G. Analgesic effect of He–Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. *Photomed. Laser Surg.* v.23(2), p.177-181, 2005.

FRANK, C.B. Ligament structure, physiology and function. *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.* v.4, n.2, p. 199-201, 2004.

FULOP, A.M.; DHIMMER, S.; DELUCA, J.R.; JOHANSON, D.D.; LENZ, R.V.; PATEL, K.B.; DOURIS, P.C.; ENWEMEKA, C.S. A meta-analysis of the efficacy of phototherapy in tissue repair. *Photomed Laser Surg.* v.27(5), p.695-702, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19698019>

FUNG, D.T.; NG, G.Y.; LEUNG, M.C.; TAY, D.K. Effects of a therapeutic laser on the ultrastructural morphology of repairing medial collateral ligament in a rat model. *Lasers Surg Med.* v.32(4), p.286-293, 2003.

GADELHA, A.P.G. Impacto Previdenciário e Ocupacional da Incapacidade para o Trabalho por Doenças Osteomusculares Em Sete Ramos De Atividade, Brasil, em 2002. 2006. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, Brasília. 2006.

GAUGHAN, E.M.; GIFT, L.J.; DE BOWES, B.R.; ROUSH, J. The Influence of sequential intratendinous sodium hyaluronate on tendon healing in horses. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, v. 8, p. 40-45, 1995.

GELBERMAN, R.H.; VANDEBERG, J.S.; MANSKE, P.R.; AKESON, W.H. The early stages of flexor tendon healing: a morphologic study of the first fourteen days. *The Journal of Hand Surgery*, v.10A, n.6, p.776–784, 1985.

GENOVESE, R.L.; RANTANEN N.W.; HAUSER M.L. Diagnoses ultrasonography of equine limbs. *Veterinary Clinics of North America*, v.2, p.145-226, 1986.

GENOVESE, W.J.; *Revisão laser*. São Paulo: Pancast, 2000.

GETTY, R. *Sisson/Grossman – Anatomia dos animais domésticos*. 5ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, v.1, p. 1134, 1996.

GIGANTE, A.; SPECCHIA, N.; RAPALI, S.; VENTURA, A.; DE PALMA, L. Fibrillogenesis in tendon healing: on experimental study. *J. Biol. Res.* v.7, n.8, p.203–210, 1996.

GILLIS, C.L. Rehabilitation of tendon and ligament injuries. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF THE EQUINE PRACTITIONERS, 43. 1997, Phoenix, Arizona, Proceedings... 1997, p. 306-309.

GOGIA, P.P. Physiology of wound healing. In: *Clinical Wound Management*. 1ed. United States of America: Slack Incorporated, p.1–12, 1995.

GOODSHIP, A.E. The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse. *Equine Veterinary Education*, v.5, n.1, p. 23-29, 1993.

GOODSHIP, A.E.; BIRCH, H.L.; WILSON, A.M. The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, v.10, p.323-349, 1994.

GREATHOUSE, D.G.; CURRIER, D.P.; GILMORE, R.L. Effects of clinical infrared laser on superficial radial nerve conduction. *Phys Ther.* v.65(8), p.1184-1187, 1985. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4023064>

GUYTON, A.C. *Tratado de fisiologia médica*. 10 ed. Rio Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

GYF, N.G.; FUNG, D.T.C. The combined treatment effects of therapeutic laser and exercise on tendon repair. *Photomed Laser Surg* . v.26(2), p.137–141, 2008.

HAMBLIN, M.R.; DEMIDOVA, T.N. Mechanisms of low level light therapy. *Proceedings of SPIE*... v.6140, p.614001-614012, 2006. Disponível em: <http://link.aip.org/link/PSISDG/v6140/i1/p614001/s1&Agg=doi>

HOGAN, P.M.; BRAMLAGE, L.R. Transection of the accessory ligament of the superficial digital flexor tendon for treatment of tendinitis: long term results in 61 standardbred racehorses (1985-1992). *Equine Vet. J.*, v. 27, n. 3, p. 221-226, 1995.

HUANG, Y-Y.; CHEN, A.C-H.; CARROL, J.D.; HAMBLIN, M.R.. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose-response*. v.7(4), p.358-383, 2009. Disponível em:

www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2790317&tool=pmcentrez&rendertype=abstract

HUSSEIN, A.; ALFARS, A.; FALIH, M.; HASSAN, A-N. Effects of a low level laser on the acceleration of wound healing in rabbits. *North American Journal of Medical Sciences* v.3(4), p.193-7, 2011. Disponível em: <http://www.scopemed.org/?mno=6708>

JÓZSA, L.; KANNUS, P. Human tendons. *Human Kinetica*. United States of America, 1997.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 9. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. 427 p.

KAKAR, S.; KHAN, U.; MCGROUTHER, D.A. Differential cellular response within the rabbit tendon unit following tendon injury. *The Journal of Surgery*, v.23B, n.5, p.627–632, 1998.

KANEPS, A.J.; HULTGREN, B.D.; RIEBOLD, T.W.; SHIRES, G.M.H. Laser therapy in the horse: Histopathological response. *American Journal of Veterinary Research*. v.45(3), p.581-582, 1984.

KARU, T. Molecular mechanism of therapeutic effect of low intensity laser irradiation. *Lasers L Sci*. v.2(1), p.53-74, 1988.

KARU, T. Photobiology of low-power laser effect. *Health Phys*. v.56, p.691-704.

KARU, T.; KOLYAKOV, S.F. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. *Photomed Lasers Surg*. v.23(4), p.355-361, 2005.

KHAN, K.M.; COOK, J.L.; HARCOURT, P.; ASTROM, M. Histopathology of Common Tendinopathies: Update and implications for clinical management. *Sports Medicine*, v. 27, n. 6, p.393-408, 1999

KITCHEN, S.S.; PARTRIDGE, C.J. A review of low level laser therapy. Part I: background, physiological effects and hazards. *Physiotherapy*. v.7(3), p.161-170, 1991.

KREISLER, M.; CHRISTOFFERS, A.B.; AL-HAJ, H.; WILLERSHAUSEN, B. HOEDT, B. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. *Lasers Surg Med*. v.30(5), p.365-369, 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12116329>

LAAKSO, L.; RICHARDSON, C.; CRAMOND, T. Factors affecting low level laser therapy. *Aust J Phys*. 1993; 39(2): 95 – 99.

LEMOS, M.M. Estudo Experimental sobre o Efeito da Tendinite Induzida no Músculo Gastrocnêmio: Histologia e Espectroscopia Raman. 2006. 76f. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) – Universidade de Franca. Franca. 2006.

LIM, W.; LEE, S.; KIM, I.; CHUNG, M.; KIM, M.; LIM, H.; PARK, J.; KIM, O.; CHOI, H. The anti-inflammatory mechanism of 635 nm light-emitting-diode irradiation compared with existing COX inhibitors. *Lasers Surg Med.*, v.39(7), p.612-621, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17868110>

LIU, X.G.; ZHOU, Y.; LIU, T.C.; YUAN, J.Q. Effects of Low-Level Laser Irradiation on Rat Skeletal. *Photomed Laser Surg*, v.27(6), p.863-869, 2009. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19697999

LOPES, M.F.O. *Cirurgião dentista e o DORT Conhecer para Prevenir*. Disponível em: <<http://www.odontologia.com.br/artigos>>. Acesso: 15 dez. 2009

LOW, L.; REED, A. *Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática*. 3ed. Barueri: Manole; 2001.

LUBART, R.; MALIK, Z.; ROCHKIND, S.; FISHER, T. A Possible Mechanism of Low Level. Laser-Living Cell Interaction. *Laser Therapy*, 1990; 2:65-68.

LUNDBORG, G.; RANK, F.; HEINAU, B. Intrinsic tendon healing: a new experimental model. *Scand J Plast Reconst Surg*, v.19, p.113–117, 1985.

MACHADO, M.V.M.; VULCANO, L.C.; HUSSNI, C.A.; ALVES, A.L.G. Efeito da laserterapia em tendinite experimental no tendão flexor digital superficial em equinos: estudo histológico e ultrassonográfico. *A. Vet. Sci.* p.111-115, 2000.

MADISON, J.B. Acute and chronic tendinitis in horses. *The compend contin Educ*, p.853-56, 1995.

MAHMOUD, B.H.; HEXSEL, C.L.; HAMZAVI, I.H.; LIM, H.W. Review Effects of Visible Light on the Skin. *Photochem Photobiol.* p.450-462, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18248499>

MAIN, J.P.M. Scanning the Equine Limb. In: GODDARD, P.J. *Veterinary Ultrasonography*. Wallingford: Cab International, 1995.

MANSKE, P.R.; LESKER, B.S. Histologic evidence of intrinsic flexor tendon repair in various experimental animals: an in vitro study. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, n.182, p.297–304, 1984.

McDONOUGH, M.S.; BAXTER, D.G. Chapter 10: Principles of electrotherapy in veterinary physiotherapy. In: *Animal Physiotherapy*. Stubbs N, Goff L, McGowan M. C. 2007. Ed. Blackwell. P. 182-186

McILWRAITH, C.W. Disease of joints, tendons, ligaments and related structures. In: STASHAK, T.S. *Adam's Lameness in Horses*. 4.ed. Pennsylvanis: Lea & Febiger, p. 449, 1987.

MENDES, T.; PINHEIRO, A.; PACHECO, M.; NASCIMENTO, P.M.; RAMALHO, L.M. Dose and wavelength of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. *J Clin Lasers Med Surg*. v.22, p.19-25, 2004.

MIKAIL, S. Laser Terapêutico. In: MIKAIL, S.; PEDRO, C.R. *Fisioterapia veterinária*. 2ed. São Paulo: Manole; 2009. p. 81-90.

MORCOS, M.B.; ASWAD, A. Histological studies of the effects of ultrasonic therapy on surgically Split flexor tendons. *Equine Veterinary Journal*, v.10, n.4, p. 267-269, 1978.

NIXON, A.J.; DAHLGREN, L.A.; HAUPT, J.L.; YEAGER, A.E.; WARD, D.L. Effect of adipose-derived nucleated cell fractions on tendon repair in horses with collagenase-induced tendinitis. *A J Vet Res*, v.69, n.7, p.928-937, 2008.

OLIVEIRA FILHO, J. *Automatização do Processo de Análise e Classificação de Espectros Raman para o Diagnóstico de Lesões Dentárias*. 2003. 204f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. Universidade do Vale do Paraíba São José dos Campos. SP. 2003.

PARIZOTTO, N.A. Ação do laser de Hélio-Neônio sobre o processo de reparo tecidual: um estudo do colágeno por microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica e espectroscopia por infravermelho. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Elétrica e Computação da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

PELOSO, J.G.; MUNDY, G.D.; HONNAS, C.M.; MOYER, W. Epidemiologic study of musculoskeletal injuries in Racing thoroughbred horses

in Kentucky. In: ANNUAL CONVENTION OF AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 42. 1996. Denver – Colorado, p. 284-285.

PEREIRA, A.N.; EDUARDO, C.P.; MATSON, E.; MARQUES, M.M. Effect of low- power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers in Surgery and Medicine*, v.31, p.263-267, 2002.

PETERSEN, S.; BOTES, C.; OLIVIER, A.; GUTHIER, A. The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses. *Equine Vet J*, v.21, p. 228-231, 1999.

PETERSEN, S.L.; BOTES, C.; OLIVIER, A.; GUTHRIE, A.J. The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses. *Equine Veterinary Journal*. v.1(3), p.228-231, 1999.

PINFILDI, C.E.; LIEBANO, R.E.; HOCHMAN, B.S.; FERREIRA, L.M. Helium-Neon laser in viability of random skin flaps in rats. *Lasers Surg Med*, v.37, p.74-7, 2005.

PINFINDI, C.E.; LIEBANO, R.E.; HOHMAN, B.S.; FERREIRA, L.M. Helium- neon laser in viability of random skin flap in rats. *Lasers Surg Med*. v.37, p. 89–91, 2005

POSTACCHINI, F.; DE MARTINO, C. Regeneration of rabbit calcaneal tendon maturation of collagen and elastic fibers following partial tenotomy. *Connective Tissue Research*, v.8, p.41–47, 1980.

POTENZA, A.D. Tendon healing within the flexor digital sheath in the dog. *Journal Bone Joint Surgery*, v.44-A, n.1, p.49-64, 1962.

PUGLIESE, L.S. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesq Odont Bras*, v.17(4), p.307-13, 2003.

RANTANEN, N.W.; JORGENSEN, J.S.; GENOVESE, R.L. Ultrasonographic evaluation of the equine limb. In: Ross, M. W.; Dyson, S. J. *Diagnosis and management of lameness in the Horse*. USA: Saunders, p.166-188, 2003.

RAYEGANI, M.S.; BAYAAT, M.; SEDIGHIPOUR, L.; SAMADI, B. Low Intensity Laser Therapy. *Lasers Med Sci*, v.1(1), p.31-34, 2010.

REDDY, G.K.; STEHNO-BITTEL, L.; ENWEMEKA, C.S. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons.

Lasers Surg Med. v.22(5), p.281-7, 1998. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9671994>

REED, B.; ZARRO, V. Inflammation and repair on the use of thermal agents. In: Michlovitz, S. L. *Thermal Agents in Rehabilitation*. 2ed. Philadelphia: F. A. Davis Company, p.3–17, 1990.

REEF, V. *Equine Ultrasound*. Pennsylvania: W. B. Saunders Company, p.54-72, 1998.

RILEY, G.P. Gene expression and matrix turnover in overused and damaged tendons. *Scand. J. Med. Sci. Sports*, v.15, n.4, p. 241-251, 2005.

RISSELADA, M.; KRAMER, M.; SAUNDERS, J.M.; VERLEYEN, P.; BREE, H.V. Power Doppler assessment of the neovascularization during uncomplicated fracture healing of long bones in dogs and cats. *Vet. Radiol. Ultrasound*, v.47, n.3, p. 301-306, 2006.

ROBERTSON, V.; WARD, A.; LOW, J.; REED, A. *Eletroterapia explicada: princípios e prática*. 4ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.

RUPP, S. *Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung der GaAs laser-Strahlung (904nm) auf Sehnenverletzungen beim Pferd*. Bern, 1990. 121p. Dissertation (Dokortiels der Veterinärmedizinischen) – Fakultät der Universität Bern. Veterinärmedizinischen

SALATE, A.C.B. Síndromes por Overdose em Tendão de Calcâneo. *Fisioterapia Brasil*, São Paulo, v.3, n.6, p. 351-355, 2002.

SAS Institute. 2009. SAS/STAT User's Guide. Version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC.

SCHINDL, A.; SCHINDL, M.; SCHINDL, L. Phototherapy with low intensity laser irradiation for a chronic radiation ulcer in a patient with lupus erythematosus and diabetes mellitus. *Br J Dermatol.* v.137, p.840–84, 1997.

SIMUNOVIC, Z.; IVANKOVICH, A.D.; DEPOLO, A. Wound healing of animal and human body sport and traffic accident injuries using low-level laser therapy treatment: a randomized clinical study of seventy-four patients with control group. *J Clin Laser Med Surg.* v.18(2), p. 67-73, 2000.

SIQUEIRA, C.P.C.M.; FILHO, D.O.T.; LIMA, F.M.; SILVA, F.P.; DUARTE, H.; DIAS, I.F.L.; DUARTE, J.L.; KASHIMOTO, R.K.; CASTRO, V.A.B. Biological effects of light: application of low power therapy using LEDs (Light

Emitting Diode) on the healing of venous ulcers: a case report. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. v.30(1), p.37-46, 2009.

SMITH, K.S. The photobiological basis of low-level laser radiation therapy. *Laser Therapy*. v.3(1), p.19-25, 1991.

SMITH, R.K.; BIRCH, H.L.; GOODMAN, S.; HEINEGARD, D.; GOODSHIP, A.E. The influence of ageing and exercise on tendon growth and degeneration-hypotheses for the initiation and prevention of strain-induced tendinopathies. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.*, v.133, n.4, p. 1039-1050, 2002.

SMITH, R.K.W.; WEBBON, P.M. The physiology of normal tendon and ligament. In: DUBAI INTERNATIONAL EQUINE SYMPOSIUM, 1996, Dubai. *Proceedings...* Dubai, 1996. P. 55-81

STASHAK, T.S. Disease and problems of tendons, ligaments and tendon sheaths. In: STASHAK, T.S. *Adam's Lameness in Horse*. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. P. 594-640.

SUTHERLAND, J.C. Biological effects of polychromatic light. *Photochem Photobiol.* v.76(2), p.164–170, 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12194212>

TAM, G. Low power laser therapy and analgesic action. *J Clin Laser Med Surg* v.17(1), p.29–33, 1999.

TAYLOR, D.S.; HONNAS, C.M.; HOFFMAN, G.A.; PASCOE, R.J. Management of the flexor tendon lacerations in horses. *The compend contin Educ*, v. 19, n. 2, p. 238-43, 1997.

TILMAN, L.J.; CUMMINGS, G.S. Biologic mechanisms of connective tissue mutability. *Dynamics of human biologic tissues*. Philadelphia: FA Company, v.40, p.1331-36, 1992.

TONIAL, A. Avaliação Da Prevalência, Perfil Sintomatologia dos Distúrbios Osteomusculares Relacionados ao Trabalho em Membros Superiores nos Ordenhadores da Grande Florianópolis. 2004. 132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia e Produção e Sistemas. Florianópolis., SC. 2004.

TRELLES, M.; MAYAYO, E.; Bone fracture consolidates faster with low power laser. *Lasers Surg Med*, v.7, p. 36-45, 1997.

TUMILTY, S.; MUNN, J.; McDONOUGH, S.; HURLEY, D.A.; BASFORD, J.R.; BAXTER, J.R.; BAXTER, G.D. Low Level Laser Treatment of Tendinopathy. *Photomed Laser Surg.* v.28(1), p.3-16, 2010.

TURNER, J.; HODE, L. *Laser therapy clinical background and scientific practice*. Prima Books AB. Grängesberg, 2002.

VEÇOSO, C.M. *Laser em Fisioterapia*. São Paulo: Ed. Lovise; 1993.

VENEZIAN, G.C.; SILVA, M.A.; MAZZETTO, M.O. Low level laser effects on pain to palpation and electromyographic activity in TMD patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Cranio*, v.28(2), p.84-91, 2010.

VIOLINI, S.; RAMELLI, P.; PISANI, L.F.; GORNI, C.; MARIANI, P. Horse bone marrow mesenchymal stem cells express embryo stem cell markers and show the ability for tenogenic differentiation by in vitro exposure to BMP-12. *BMC Cell Biology*, v.10, n.29, 2009.

VLADIMIROV, Y.A.; OSIPOV, A.N.; KLEBANOV, G.I. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry*. v.69(1), p.81-90, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14972023>

WEBBON, P.M. A histological study of macroscopically normal equine digital flexor tendons. *Equine Vet. J.*, v.10, p. 253-259, 1978.

WILLIAMS, I.F. Studies on the pathogenesis of equine tendonitis following collagenase injuri. *Res. Vet. Sci.*, v.36, p.326-338, 1984

WILLIAMS, I.F.; McCULLAGH, K.G.; GOODSHIP, A.E.; SILVER, I.A. Studies on the pathogenesis of equine tendonitis following collagenase injuri. *Res. Vet. Sci.*, v.36, p. 326-338, 1984.

WILSON, A.M.; GOODSHIP, A.E. Exercise-induced hyperthermia as a possible mechanism for tendon degeneration. *J. Biomech.*, v.27, p. 899-905, 1994.

XAVIER, M.; DAVID, D.R.; SOUZA, R.A.; ARRIEIRO, A.N.; MIRANDA, A.N.; MIRANDA, H.; SANTAMA, E.T.; SILVA, J.A.; SALGADO, M.A.; AIMBIRE, F.; ALBERTINI, R. Anti-inflammatory effects of low-level light emitting diode therapy on Achilles tendinitis in rats. *Lasers Surg Med.* v.42(6), p.553– 558, 2010.

YAMADA, A.L.M.; ALVES, A.L.G.; HUSSNI, C.A.; NICOLETTI, J.L.M.; THOMASSIAN, A.; WATANABE, M.J.; CARNEIRO, R. Avaliação

ultrassonográfica de tendinite do flexor digital superficial, induzida experimentalmente em equinos. *Ciência Rural*, 2008.

YOUNG, S.; BOLTON, P.; DYSON, M.; HARVEY, W.; DIAMANTOPOULOS, C. Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers Surg Med*, 1989; 9(5): 497-505.

ZANETTI, M.; METZDORF, A.; KUNDERT, H.P.; ZOLLINGER, H.; VIENNE, P.; SEIFERT, B.; HODLER, J. Achilles Tendons: Clinical Relevance of Neovascularization Diagnosed with Power Doppler US. *Radiology*, v.227, n.2, p.556-560, 2003.

ZHANG, Y.; SONG, S.; FONG, C.C.; TSANG, C.H.; YANG, Z. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. *J Invest Dermatol*. v.120, p.849–857, 2003.

10. ANEXOS

ANEXO 1: As três categorias com seus escores para evolução dos sinais de Power-doppler, adaptado de RISSELADA et al. (2006).

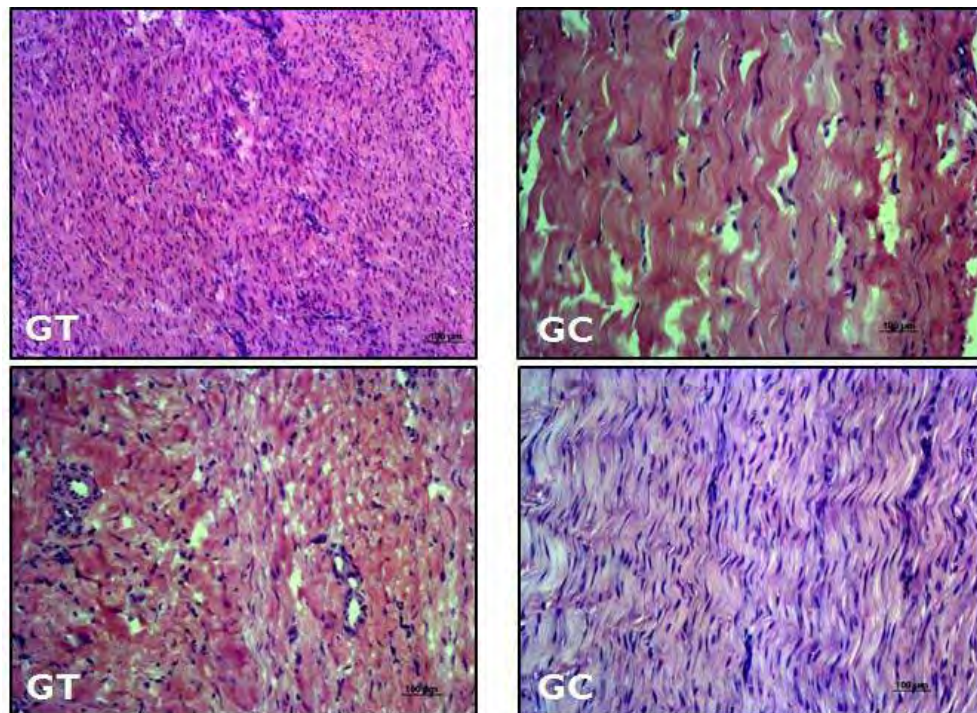
Categoria / Escore	0	1	2	3
Intensidade de sinal	Sem sinal	Azul escuro / Vermelho escuro	Laranja / Azul claro	Amarelo / Branco
Area de vasos (mm²)	Sem sinal	< 1 (quando houver sinal, porém não aferido pelo aparelho)	1-2	> 2
Número de Vasos	Sem sinal	1	2	> 2

ANEXO 2: Sistema de pontuação histológica usada para reparação tendínea, adaptado de Nixon et al. (2008).

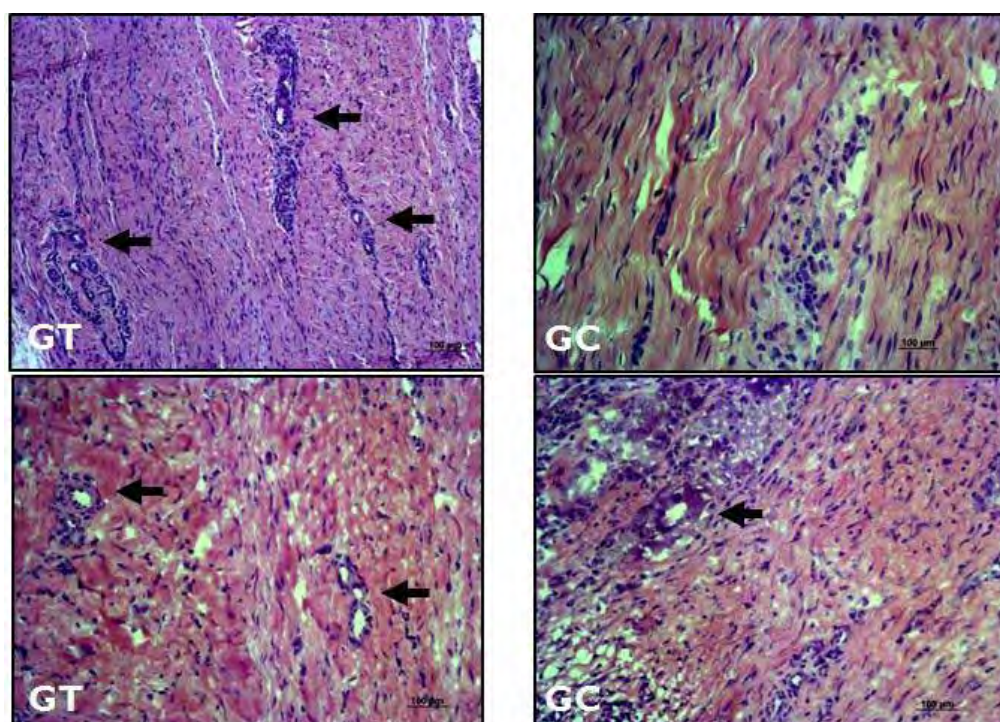
Variável	Escore e critério
Formato dos tenócitos	1 = Linear (normal)
	2 = Ligeiramente oval
	3 = Moderadamente arredondado
	4 = Predominantemente arredondado
Densidade das células tendíneas	1 = Esparsas (normal)
	2 = Aumento leve
	3 = Aumento moderado
	4 = Acúmulos de células
Hemorragias	1 = Nenhum (normal)
	2 = Escassa ou irregular
	3 = Múltiplas áreas com baixa intensidade
	4 = Hemorragia predominante
Neovascularização	1 = Normal
	2 = Ligeiro aumento

	3 = Aumento moderado
	4 = Aumento intenso
Infiltrado de células inflamatórias (deposição de leucócitos no endotendão ou peritendão)	1 = Nenhum
	2 = Ligeiro aumento
	3 = Aumento moderado
	4 = Aumento intenso
Linearidade das fibras colágenas	1 = Linear
	2 = > de 50% linear
	3 = 20% a 50% linear
	4 = Sem áreas lineares
Uniformidade das fibras colágenas	1 = Diâmetro uniforme
	2 = > de 50% de fibras uniformes
	3 = 20 a 50% de fibras uniformes
	4 = Desorganização completa
Espessura do epitendão	1 = 1 a 2 células (normal)
	2 = 3 a 6 células
	3 = 7 a 15 células
	4 = Fibrose massiva

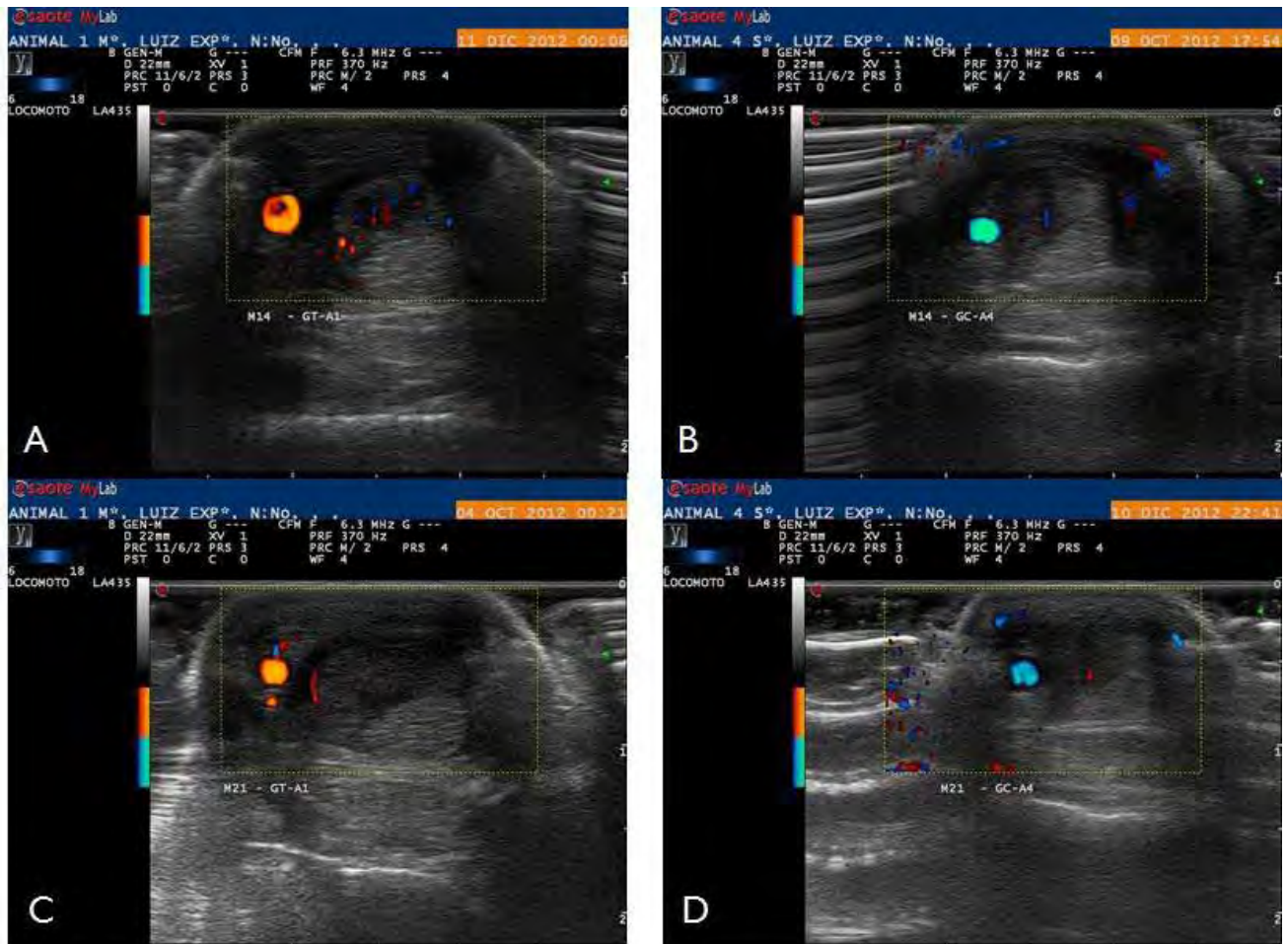
ANEXO 3: Corte histológico aos 28 dias demonstrando alinhamento de fibras entre ambos os grupos (HE, objetiva 10x). O grupo tratado (GT) apresenta maior preenchimento de fibras porém, sem alinhamento, em relação ao grupo controle (GC) onde possuem um preenchimento falho com maior alinhamento.



ANEXO 4: Corte histológico aos 28 dias demonstrando neovascularização entre ambos os grupos (HE, objetiva 20x). O grupo tratado (GT) apresenta maior número de vasos em relação ao grupo controle (GC), demonstrando uma melhor neovascularização.



ANEXO 5: Avaliação por ultrassonografia Power-Doppler. A) avaliação do TFDS do grupo tratado no momento 14; B) avaliação do TFDS do grupo controle no momento 14; C) avaliação do TFDS do grupo tratado no momento 21; D) avaliação do TFDS do grupo controle no momento 21.



11. ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO

Artigo submetido a revista “Brazilian Archives of Biology and Technology”

Status verificado em 25/10/2012:

29/08/2012 – Manuscript sent to BABT Editorial Office

30/08/2012 – Manuscript in preselection fase

06/11/2012 - Manuscript in preselection fase

06/11/2012 - Manuscript sent to evaluation by Reviewers

29/11/2012 - Manuscript sent to evaluation by Reviewers

29/11/2012 - Manuscript sent to evaluation by Reviewers

29/11/2012 - Manuscript with reviewer

29/11/2012 - Manuscript with reviewer

GENERAL INFORMATION

The journal Brazilian Archives of Biology and Technology – BABT publishes original articles of research, short notes and review articles in the following areas: Agriculture, Agribusiness and Biotechnology; Human and Animal Health; Biological and Applied Sciences; Food/Feed Science and Technology; Environmental Sciences; Engineering, Technology and Techniques.

The submission of a manuscript to the Brazilian Archives of Biology and Technology implies that:

- the manuscript is presented in English;

We suggest the manuscript to be reviewed by someone whose first language is English and that, preferably, be a scientist in the area;

- the manuscript hasn't been partial or entirely published; not to be in selection process for publishing in another journal and/or another language;

- the submission must have been approved for all the co-authors and whenever necessary, by the authorities of the institution where the work was developed;

- the veracity of the information and of the bibliographic citations is of exclusive responsibility of the authors;

- the journal does not take responsibility and/or takes part in eventual lawsuits related to the published articles.

The submitted manuscripts are pre-evaluated in its content referring to scientific relevance and/or technological and originality. Also referring to its form, observing the conformity to the norms, grammatical quality and English language. Manuscripts accepted in this stage will be forwarded for review with specialists, and sent for judgment for at least two referees.

When submitting a manuscript, watch:

- the names of the authors must appear only in the register;
- indicate three specialists of the same area of the manuscript that may eventually contribute to the selection process.

Author for correspondence

Shall be considered author for correspondence the user who effectuate the registering and dispatch of the manuscript in the system. This will be the contact in all the stages of publication process, also pos-publication. Ensure that the phone number and fax (with the country and area code) are provided, as well as email address and full local address. Contact details must be kept updated by the corresponding author.

Authorship

Any changes regarding to inclusion, exclusion or reorganization of names of authors in the manuscript must be formally request during the process of evaluation. The document might be forwarded by mail or e-mail, dated and signed by all the authors, still including the confirmation of inclusion or exclusion, containing:

- Article title;
- Reason for change;
- Names of the authors organized.

ORGANIZATION OF THE MANUSCRIPT

The manuscript must be organized according to the following categories: Title, Abstract, Key words, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Acknowledgments, References.

Title

Must be precise, clearly reflecting the content of the manuscript.

Abstract

Must be prepared as concise as possible, describing the goal and the results of the study.

Key-words

Must be presented terms or subjects which represent the content of the manuscript which will be used in the index of the article.

Introduction

Must present the purpose of the study, clearly presenting the explanations and objectives of the article, offering information which allows the reader to properly evaluate the presented results, specifying what new progress was obtained from research. The introduction must not contain data or conclusions from the referred manuscript.

Materials and Methods

Must offer, in a clear and concise way, enough information that allow other researches to copy the study. Standardized techniques don't need to be described in details.

Results and Discussion

Can be presented separately or in a combined way.

Results

Must offer a concise description of the results obtained in the necessary experiments to sustain the conclusions of the research. The section can be divided in sub-sections, each of them with a subtitle. Don't repeat in the text all the data obtained in tables and illustrations, using them only when it's necessary.

Discussion

Should be limited to the content of the new information, relating them to the pre-existing knowledge. Only the indispensable citations must be included.

Conclusions

The main conclusions must be presented concise and clearly.

Acknowledgments

Must be brief, used to thank/quote people, scholarships, projects and support received from organisms of promotion. The names of the financing organizations must be fully written. This section is optional.

References

Only the citations included in the text must be presented, being referenced and organized in alphabetic order, considering the last name of the first author. Non-published results must not be included in the references list.

PREPARATION OF THE MANUSCRIPT

The manuscript must be prepared in one column with 12 pages in most for original and review manuscripts; 2 to 4 pages for short notes (including tables, graphics, figures, images and references), in MS-Word (.doc) format, simple line spacing, paper size A-4 (210x297cm), with margins (2,5cm left, right 2,0cm, top and bottom 3,0cm).

The entire article must be written in Times New Roman font.

*Save the file in doc. Format. Do not send docx files.

**The journal is only published in gray scale.

Title (Font 18 and Bold)

With initials capitalized up to 250 characters.

Running title: with up to 40 characters (letters and spaces).

Authors and institutional affiliation

There must not be information which identify authorship, institutional address or e-mail, because these information are registered at the moment of the submission of the manuscript.

Abstract (Font 12 and bold)

Text – Font 10, italicized with up to 200 words (100 words for short notes). The Font style must be normal for scientific names, being highlighted in the text.

Key-words (Font 10 and bold)

Font 10, separated by a comma.

There must be at least 3(three) and up to 6(six) terms.

INTRODUCTION (Font 12, bold, and caps lock)

Text – Font 11, 1 column, simple space and no retreat in the paragraphs.

MATERIAL AND METHODS (Font 12, bold and caps lock)

Text – Font 11, one column, simple space and no retreat in the paragraphs.

For Titles and Subtitles, use the following levels:

- First level – Other sections can be created: uppercase, font 12, bold.
- Second level: only the first letter of each word is uppercase, font 11, bold
- Third level: only the first letter of each word is uppercase, font 11, italicized.

RESULTS AND DISCUSSION (Font 11, bold, and caps lock)

Text – Font 11, 1 column, simple space and no retreat in the paragraphs.

CONCLUSIONS (Font 12, bold and caps lock)

Text – Font 11.

ACKNOWLEDGMENTS (Font 12, bold and caps lock)

Text – Font 11, simple space and no retreat in the paragraphs.

REFERENCES (Font 12, bold and caps lock)

Text – Font 10, with special retreat of 0,3cm.

The titles of the journals must be abbreviated. There is a list of abbreviations to be consulted:

- Biological Journals and Abbreviations
- Index Medicus - abbreviations of journal titles
- For abbreviations of titles of national and Latin-American journals:

“Biblioteca Virtual em Saúde”.

- For citation, use the author's last name and the date:

An author:

Bacila (1946) or (Bacila 1946).

Two authors:

(Maack and Bodziak 1946) or Maack and Bodziak (1946).

Three or more authors:

Last name of the first author followed by et al.

Bacila et al. (1946) or (Bacila et al. 1946).

- List of references:

The full list of references, at the end of the article, must follow the Vancouver style (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

Examples of references:

Journal Article

Author(s) of the article. Title of the article. Title of the journal, abbreviated italicized. Date of publication; volume (number/supplement): initial-final page of the article.

Examples:

- One author up to six authors:

Pandey A. Recent developments in solid state fermentation. *Process Biochem.* 1992; 27: 109-117.

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002; 347(4): 284-7.

- More than six authors: (list the first six authors followed by “et al.”)

Arakaki AH, Vandenberghe LPS, Soccol VT, Masaki R, Rosa Filho EFda, Gregório A, et al. Optimization of Biomass Production with Copper Bioaccumulation by Yeasts in Submerged Fermentation. *Braz Arch Biol Technol.* 2011; 54(5): 1027-1032.

Web article

Author(s) of the article. Title of the article. Title of the journal abbreviated italicized [journal in the internet]. Date of publication [date of

access]; volume(number): number of pages. Available from: address of the website.

Example:

Nandan A, Gaurav A, Pandey A, Nampoothiri KM. Arginine specific aminopeptidase from *Lactobacillus brevis*. Braz Arch Biol Technol [Internet]. 2010 [cited 2011 Oct. 19]; 53 (6): 1443-1450. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S151689132010000600021&lng=pt&nrm=iso&tlng=en

Thesis

Author. Title of the work [type of document]. City of publication: Publisher; year of thesis defense.

Example:

Chang CW. Effect of fluoride pollution on plants and cattle [PhD Thesis]. Varanasi, India: Banaras Hindu University; 1975.

In books

Authors. Book title. Edition. City: Publisher; Year.

Example:

Bacila M. Bioquímica Veterinária. 2nd ed. São Paulo: Robe; 2003.

Chapter in book

Authors. Chapter Title. In: Editors. Book title. Edition. City: Publisher; Year. Pages of citation.

Example:

Tengerdy RP. Solid substrate fermentation for enzyme production. In: Pandey A, editor. Advances in Biotechnology. New Delhi: Educational Publishers & Distributors; 1998. p. 13-16.

In conferences

Author(s) of the work. Title of the presented work. In: responsible editor(s) for the event (if any). Title of the event: Proceedings or ... title of the event; date of the event; place of the event. City of publication: Publisher; Year of publication. Initial-final page of the work.

Example:

Gazda TL, Dittrich JR, Oikawa M G, Thomaz-Soccol V. Helminthes sheep distribution in the pasture:effect of the species and height of the plants. In: IX World Conference on Animal Production: Proceedings: Contributed papers-abstracts; 2003 Oct; Porto Alegre, Brazil. Porto Alegre: World Association of Animal Production: ALPA: SBZ: UFRGS; 2003. v. 2. p. 102-104.

Part of Website/ homepage

Author(s) of the homepage (if any). Title [homepage on the internet]. City: institution; date(s) of register [date of the last update with the expression "updated in"; date of access with the expression "accessed in"]. Title of the part of the homepage. Available from: website address.

Example:

The family impact of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) [Internet]. 2009 Nov 1 [updated 2010 Jan 1; cited 2010 Apr 8]. Available from: <http://www.virtualmedicalcentre.com.au/healthandlifestyle.asp?sid=192&title=The-Family-Impact-of-Attention-Deficit-Hyperactivity-Disorder-%28ADHD%29&page=2>.

List of the new approved ingredients [Internet]. 2009 May [updated 2009 Mayo; cited 2011 Oct.20]. Available from:

http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm.

Homepage/Web site

Author(s) of the homepage (if any). Title of the homepage [homepage on the internet]. City: institution; date(s) of register [date of the last update with the expression "updated in"; date of access with the expression "accessed in"].

Title of the part of the homepage. Available from: Web site address with the expression.

Example:

Ciiagro Online [homepage on the internet]. São Paulo: Agronomic Institution; c1988- 2003 [cited 2007 Apr. 10]. Available from: <http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>.

UNITS AND ABBREVIATIONS

The “SI” system must be used. In the case of other units, these must be added in parentheses. Only the standard abbreviations for the units must be used. Dots must not be included in the abbreviations, also must be used % and / instead of “per cent” and “per”.

TABLES

Must be numbered consecutively in Arabic digits and inserted in proper place in the text. A brief and descriptive title must be included above each table and the explanations put below as a subtitle.

Formatting of Tables:

- Font Times New Roman 10, title and content.
- Font Times New Roman 9, footnotes.
- Width 16,5 cm.
- Vertical and Diagonal lines must not be used in tables.
- The tables must be elaborated and edited in cells, using the resources of the text editor.

Obs: Tables in figure format (jpg, tif or png) are not accepted. or that contain lines drawn

FIGURES

Must be numbered consecutively in Arabic digits and cited in the text in numerical order.

- Parts of figures must be indicated by uppercase (A,B,C, etc).
- The figures must be presented in gray scale, clear and with high contrast.
- Letters and numbers must have readable size after reduction or print, use the following fonts: Arial or Times New Roman.

- the image must be adjusted to the width (16,5 cm) of the page, and must be smaller than the page to allow the inclusion of the subtitle.

The illustrations must be cited in the text with the word “Figure”, without being abbreviated when it is part of a sentence. When it appears in parentheses, it must be abbreviated “(Fig.)”.

- Page charges: There will be no page charges.

- Proofs: After the layout, the manuscript is converted to pdf (proof sheet) and forwarded to the authors for approval. The Proofs must return to the Editorial Production in the stipulated date. Other changes in the original manuscript won't be accepted in this stage.

Brazilian Archives of Biology and Technology

Rua Prof. Algacyr Munhoz Mader 3775-CIC 81350-010

Curitiba-PR, Brazil

Tel.: +55-41-3316-3012/3316-3052

Fax +55-41-3346-2872

Email: babt@tecpar.br

ARTIGO

Phototherapy: Physical Basis and Clinical Uses

Highlights on Phototherapy

Luiz Henrique Lima de Mattos, Luis Emiliano Cisneros Álvarez , Roberto Calderon Golçalves, Ana Liz Garcia Alves

Abstract

This review aims to introduce the basic mechanisms and clinical applications of laser phototherapy. At present, laser is extensively used in human and veterinary medicine. This therapeutic modality includes the use of formal laser, diodes (LED), and superluminous diodes belonging to classes 2, 3A and 3B. Although there is a variety of indications for laser therapy including tissue healing, treatment of musculoskeletal disorders, tendon repair, and nerve regeneration, determination of accurate doses and protocols for treatment is still required in veterinary medicine.

Key-words

Phototherapy, led, diode, laser, physiotherapy

INTRODUCTION

Since ancient times, several forms of light have been studied and used for therapeutics (Turner and Hode 2002; Young et al. 1989). Improvement in engineering allowed the development of protocols for an effective use of light for the treatment of complex medical disorders (Lim et al. 2007).

Phototherapy, also known as low level laser therapy (LLLT), biostimulation laser and laser therapy, can be defined as the use of low potency laser emission (500 mW or less) and superluminous diodes for the treatment of clinical problems, based on athermal reactions in the tissue. The word "LASER" is an acronym for Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, and specifically defines a form of electromagnetic radiation which is visible or close to the visible spectrum (McDonough and Baxter 2007).

The theoretical bases of this therapeutic resource were first exposed in 1917 by Albert Einstein, which explained the physical principles of stimulated emission. In 1958, Towners and A. L. Schalow demonstrated the possibility of constructing a "laser", but it was until 1960 when Theodore H. Maiman constructed the first ruby laser transmitter. In 1961 in New York the extirpation of a small retinal tumor was the first surgery performed using laser. In 1962, the first semiconductor laser was developed, and in 1965, Sinclair and Knoll adapted laser radiation for its use in therapeutics (Veçoso 1993). Since the invention of the diodes in the 70's, light emission has been used in several areas. The term LED (Light Emitter Diode) defines a diode based in positive and negative junctions (p-n), which emits light when charged (Al-Watban and Andres 2003).

Photon emission by laser devices are characterized by: *monochromaticity*, where the electromagnetic waves have all the same wavelength and color, *coherence*: the photons oscillate into similar phases (temporal coherence), *collimation*: the light travels in parallel beams following the same direction with slightly or no divergence (spatial coherence) and *intensity* or the quantity of energy produced into a specific area. In a pencil-like beam, the energy of the beam is always concentrated on the same area and so the intensity does not decrease with the propagation distance (Veçoso 1993; Low and Reed 2001; Enwemeka and Reddy 2000).

LED is similar to laser but it differs in the way its light is formed. The diode of a laser is enclosed by a resonance cavity which promotes photon amplification and emission forming a

coherent and collimated beam. However, the LED does not have this optical cavity, and the light is neither coherent nor collimated, but produces an electromagnetic spectrum close to the laser. LEDs do not have a filament, which is highly susceptible to burnout, and so they have a lifetime of 10,000 hours or more. On the other hand, they do not produce heat, and consume low energy rates (Al-Watban and Andres 2003; Corazza 2005). Thus, the superluminous LEDs are considered as "non-conventional lasers" because they produce no coherent radiation. It has been stated that beam coherence is rapidly lost as radiation penetrates the tissues, and so, the production of a coherent light would not be necessary for therapeutics (Karu 1989; Vladimirov et al. 2004).

CLASIFICATION OF LASER

Laser may be classified according to intensity, potency, reflex time, and on-off interval. Thus, laser is divided into five classes (i.e., 1, 2, 3A, 3B, 4 and 5). Class 1 lasers possess the lowest light intensity, and are used for instance in bar code scans. Those lasers used for therapy are between 2 and 3B, and have potency around 1-500 mW. Classes 4 and 5 include high potency lasers (i.e., higher than 500 mw) and pose as high hazard risk for unprotected eyes and skin, e.g., CO₂ and Nd:YAG lasers (Robertson et al. 2009; Low and Reed 2001).

Low intensity laser (with a maximum potency of 500mW) was first clinically used in the late 60's and early 70's by Dr Endre Mester and partners in Budapest (Braverman et al. 1989). Mestner studied wound healing using histological, immunological, and functional tests. His results demonstrated enhancement in neovascularization and synthesis of enzymes and collagen at the irradiated areas (Baxter 1994; Simunovic et al. 2000; Hamblin and Demidova 2006).

PHOTOBIOLOGICAL MECHANISM OF ACTION AND BIOLOGICAL EFFECTS

Phototherapy is characterized by its capacity to induce photobiological processes into the cells by stimulation of specific photoreceptors under a specific light spectrum. However, the mechanisms of action of phototherapy remain unclear (Kitchen and Partridge 1991).

The interactions of LLLT and LEDT (light emitting diode therapy) on tissues are the same as those of other equivalent electromagnetic radiations including reflection, scattering and absorption. The differences depend on the characteristics of each tissue, angle of incidence, and wavelength (Kitchen and Partridge 1991; Low and Reed 2001).

To obtain the highest rate of light absorption, the source has to be in direct contact with tissue and on a 90 degree incidence angle so as to minimize reflection and scattering, making the

treatment more efficient. It is known that 5-7% of radiation is reflected by the skin when the angle of incidence is different from 90°. Regarding LED, the diode-skin contact is critical in order to avoid scattering, since the beam is not coherent (Low and Reed 2001; Greathouse et al. 1985; Laakso et al. 1993).

The first law of the photobiology (see also first law of the photochemistry, Grotthus-Draper law) states that light must be absorbed by a molecule in order to produce a photochemical change (Mahmoud et al. 2008; Smith 1991). Photons are absorbed into tissues by specific absorption bands onto photoreceptors (Sutherland 2002). Natural chromophores act as primary photoreceptors and are responsible for the absorption of photons. These include the hemoglobin heme, myoglobin heme, bilirubin, mitochondrial cytochrome C, melanin, etc. Secondary receptors are structures that absorb the energy given to the tissues through electromagnetic fields, causing a resonance-like reaction between these fields and the biomolecules and changing the specific charges of cell membranes and proteins (McDonough and Baxter 2007; Mikail 2009; Robertson et al. 2009). So, the absorbed photons transformed into biochemical energy (i.e., primary reaction), promote a series of biological effects (secondary reactions) such as modulation of cellular functions (McDonough and Baxter 2007).

Specific wavelengths are more efficient in causing specific chemical reactions (Huang et al. 2009). The low intensity laser acts on the cell organelles (Mikail 2009), especially on the mitochondria, lysosome, and cytoplasmic membrane, causing an increase in adenosine triphosphate (ATP) and modifying the ionic transport. Cell photoreceptors sensible to specific wavelengths provoke chemical reactions after absorbing photons (Hamblin and Demidova 2006). It was demonstrated that the absorption spectra of cytochrome C oxidase (Cox) were similar to the action spectra for several biological responses of HeLa cells exposed to monochromatic light with different, but specific, wavelength. Thus, it was proposed that Cox is the primary photoreceptor for red or near-infrared (NIR) in mammalian cells (Karu and Kolyakov 2005; Amat et al. 2006). Nitric oxide (NO) inhibits respiration by competitive displacement of oxygen from Cox. Through light action, NO molecules are released from their binding sites in Cox allowing its interaction with oxygen, therefore re-establishing the cellular respiration to its previous stage eventually increasing ATP synthesis (Huang et al. 2009). Laser also increases the concentration of cyclic adenosine monophosphate (AMPC) in hamster's fibroblasts, improving the regenerative processes (Karu 1988) and accelerating mitosis of fibroblasts (Lubart et al. 1990). These results indicate that the therapeutic effect of light may be a consequence of small quantities of singlet oxygen produced by neutral porphyrins or cellular cytochromes. The singlet oxygen is a potent antioxidant that can stimulate the redox activity in the respiratory chain, increasing chemiosmosis and so promoting mitosis (Lubart et al. 1990).

The effects of the phototherapy can be classified as of short and long term. Short term effects include production of beta endorphins and cortisol, helping the organism to overcome the stress associated with illness *per se* (Liu et al. 2009). The effects are significant in a range between 5 and 10% of the cases during or after the initial treatment, but greater in long term treatments, due to the cumulative effect (Venezian et al. 2010). In these cases an increase in ATP production is noticed, resulting in improved cellular metabolism, stimulation of mitochondrial activity, regulation of the membrane potential and release of cytokines. This phenomenon also improves neurotransmission activity due to the elevation of serotonin and acetylcholine as well as angiogenesis (Rayegani et al. 2010; Venezian et al. 2010; Liu et al. 2009; Dissemond and Hautarzt 2010).

Regarding its anti-inflammatory properties, a recent study investigated the effect of LLLT (810nm) on dendritic cells *in vitro* dosed at 0.3, 3 and 30 J/cm² and irradiances of 1, 10 and 100mW/cm². It was concluded that these doses together possess an anti-inflammatory effect on activated dendritic cells, possibly mediated by AMPc and by signaling reduction of the nuclear factor kappa B (NF-kB) (Chen et al. 2011).

CLINICAL USES OF PHOTOTHERAPY

TISSUE REPAIR

Tissue repair constitutes of a dynamic process involving different stages such as inflammation, cellular proliferation and synthesis of extracellular matrix products, i.e., collagen, elastic and reticular fibers (Pugliese 2003). Acceleration of tissue repair and modulation of the healing process at different levels are in the goal of clinical phototherapy. For instance, the left leg of a geriatric patient presenting bilateral venous ulcers was treated with LEDs set at wavelength of 628nm, weekly, for 18 weeks. The patient had no history of diabetes or arterial disease and the right leg remained untreated as a control. The results pointed out an improvement of 30% regarding the total ulcer area of the treated leg, along with decrease in pain perception. The authors concluded that phototherapy has potential in treating venous ulcers (Siqueira et al. 2009).

One of the factors interfering in protocols using low intensity laser is the dose. Researchers proved that treatment with 830nm and dose of 2 J/cm² did not significantly influence the healing of experimentally induced wounds in horses (Petersen et al. 1999). However, doses equal or higher than 45 J/cm², with 685nm or 830nm promoted wound healing in rats ranging from the period of three to seven days (Mendes 2004).

Studies *in vitro* have been widely used to verify the effects of low intensity laser. Using primary cultures of human fibroblast from human gingiva, the action of phototherapy on cell growth was evaluated using a fluence (energy delivered per unit area) of 2 J/cm², and different wavelengths, i.e., 670, 692, 780, and 786 nm. Under ideal nutritional conditions, low fibroblasts growth was observed (DMEM + 10% FBS). However, under nutritional stress, laser promoted significant cell proliferation (DMEM + 5% FBS). Furthermore, infrared laser (780nm and 786 nm) stimulated greater cell growth than red and visible light phototherapy (670nm and 692nm) (34). Another study with the same cellular type as mentioned above using diode Gallium-Aluminum-Arsenide (GaAlAs), with wavelength of 890nm, used different fluences (1.96, 3.92 and 7.84 J/cm²) every 24 hours, for three days, obtaining increased cell activity in all of the three treated groups when compared with the control (Almeida-Lopes et al. 2001; Kreisler et al. 2002).

A meta-analysis from 2000 to 2007 reviewed the effects of phototherapy in tissue healing. Researches were chosen from every available source. The general mean effect of phototherapy on healing was highly significant (confidence interval 96%). Other meta-analysis revealed positive effects of phototherapy on cell repair in experimental animals, and moderated effect on humans. It was concluded that in animals, phototherapy is an efficient tool for tissue repair, but more research in humans is required (Fulop et al. 2009).

Recently, researchers conducted studies using low intensity pulsed GaAlAs diode, with power output of 10 mW, wavelength of 890nm and frequency of 20 kHz, with the aim to accelerate and facilitate tissue regeneration as well as to decrease scar formation and wound contraction. A wound at the gluteus region was induced in 20 rabbits. Six hours later, a protocol was started using the aforementioned specifications for 5 min daily during seven days. In the control groups, inflammatory cells (mainly neutrophils) and congested vessels at the edges of the wound were detected after three days. On the seventh day, dead neutrophils, hemolysis and granulation tissue were observed on the dermis. On the other hand, the treated group had inflammatory infiltrate, mainly neutrophils, and fibroblast proliferation after three days. After seven days, wounds of the treated group were characterized by dense connective tissue. The authors concluded that this protocol was efficient in open wounds because it accelerated the healing process (Hussein et al. 2011).

MUSCULOSKELETAL PAIN

A randomized study with 80 patients evaluated the effects of phototherapy and exercise *versus* exercise alone for the treatment of subacromial syndrome (chronic inflammation of the rotator cuff and biceps tendonitis or "shoulder pain"). One of the groups was treated during ten sessions with infrared pulsed laser and exercises, while the other was treated only with exercises and

placebo. All of the parameters in group one (i.e., laser/exercise) improved significantly when compared with the placebo group (Abrisham et al. 2011).

After a systematic review, authors concluded that the treatment with low intensity laser had benefits in acute and chronic pain when compared with placebo and pointed out a possible influence of laser in neurotransmitters' releasing (Chow et al. 2007). Other studies described a number of advantages of the laser therapy including: anti-inflammatory effects of red and infrared radiations (Bjordal et al. 2006), possible decrease of the oxidative stress of the muscular tissue and less fatigue of the skeletal muscle (Junior et al. 2007), and inhibition of the electrical transmission at the neuromuscular junction in miofascial pain and trigger points (Nicolau et al. 2004).

The effects of phototherapy on tissue after experimental exposition to snake venom were assessed. One work evaluated the capacity of laser to reduce local muscle necrosis in mice after inoculation of the toxin produced by *Bothrops jararacussu* snake. Treatment with laser alone significantly reduced muscle necrosis (Barbosa et al. 2009).

NERVE REGENERATION

Regarding nerve regeneration and functional repairing of lesions in peripheral nerves, laser began to be used in the 80's (Basford et al. 1998). In 1985, the effects of infrared GaAl diode laser (904nm) on nerve conduction as well as the changes in temperature of the tissues surrounding the treated nerve were demonstrated. However, technical specifications were not fully described. Authors concluded that this kind of phototherapy neither modifies the conduction of sensorial nerves, nor increases the subcutaneous temperature when used under correct clinical criteria (intensity) (Greathouse et al. 1985).

In 2002, using tubulization (polytetrafluorethylene tubes) of the inferior alveolar nerve associated with GaAlAs laser (70mw) in rabbits, an increase in number of myelinated axons was observed in irradiated individuals. It was also noticed a higher quantity of perineural intrafascicular tissue in untreated animals (Milorio et al. 2002).

Leonard et al. (2004) performed a double-blinded randomized trial using superluminous diodes (AnodyneTherapy System). This study demonstrated that treatment with monochromatic infrared phototherapy decreases feet sensitivity and pain, and improves balance in diabetic patients. Another study used the same device aiming to diminish the adverse effects of drugs in the control of diabetic peripheral neuropathy. The author suggested monochromatic phototherapy using LEDs as an alternative tool for pain relief of both, patients with

unsatisfactory responses to oral medication and patients who have not begun drug therapy yet (Burke 2007).

Recently, authors evaluated the effect of LED at 940nm of wavelength and fluence of 4J/cm² for nervous regeneration. Forty animals were divided into four groups (control, control and LED, sciatic nerve injury, and sciatic nerve injury treated with LED). They described a decreased edema in the injured areas and a presence of mononuclear cells in the inflammatory infiltrate, so indicating that phototherapy facilitated the morphofunctional recovery and nerve regeneration (Serafim 2011).

TENDINOUS REPAIR

In 1998 REEDY used a He:Ne laser with 632.5nm wavelength and daily dose of 1.0 J/cm² for 14 days in tenectomized rabbits. The animals were euthanized at day 15 for tendon assessment. It was confirmed an increase of 26% in collagen concentration as well as in neutral salt soluble collagen and insoluble collagen of 32% and 33%, respectively, within the group treated with laser. It was concluded that laser facilitates healing process by modulation of collagen synthesis (Reddy et al. 1998). In contrast, the use of AsGa laser at dose of 8 J/cm² seemed to be ineffective for the treatment of horses with bilateral collagenase-induced forelimb tendonitis after 40 days of therapy (Machado et al. 2000).

Araújo and partners compared the effects of therapeutic ultrasound, laser and electric stimulation on healing of Achilles tendon after experimental tenectomy and suture reattachment in rats. Four groups were used as follows: control, laser, ultrasound, and electric stimulus. In this study, electric stimulation promoted greater collagen synthesis (Araújo et al. 2007).

Facing controversy on the action of laser into tendinopathies, a systematic review with metanalysis in humans was performed to evaluate efficacy of the phototherapy, relevance of the irradiation parameters and validation of current recommended doses in the treatment of tendinopathies. Twelve of the 25 controlled clinical trials had positive effects while results from 13 of the studies were inconclusive or showed no phototherapy effect. From the 12 positive essays it was found a correlation between the use of adequate protocols and positive outcomes (Tumilty 2010).

OSTEOCARTILAGINOUS REPAIR

Although several studies had demonstrated positive results of the use of phototherapy for bone consolidation, there is a need for much research for determining irradiation potency and dosage.

An experimental study was performed in order to assess the histological characteristics of experimentally-induced lesions in cartilage and adjacent subchondral bone in the medial femoral condyle in rabbits after irradiation with He-Ne laser (920nm, 4J/cm²). Cartilage regeneration was absent, and only dense fibrous tissue was present. At the lesion site, no significant difference between irradiated and non-irradiated groups regarding the appearance of bone callus were found, but there was a higher formation of bone tissue in irradiated than in non-irradiated animals. Thus, it was concluded that velocity and intensity of bone callus formation was higher in irradiated animals when compared with controls (Cafalli et al. 1993).

To evaluate the effects of physiotherapy on osteoarthritis, a double-blinded randomized trial compared the effects of laser and exercise. The individuals treated with laser and exercise improved significantly more than those with placebo (Gur et al. 2003).

Pinheiro et al. (2003) histologically evaluated the effect of phototherapy on experimentally induced 3 mm² defects in the femur of rats filled with bovine bone grafts. Protocol consisted of 830nm wavelength and doses of 4 J/cm² per point in four points around the defects. Laser irradiation was performed every-other-day for 15 days, beginning immediately after the surgery. It was observed that laser stimulates bone formation and increases the number of collagen fibers surrounding the graft in the irradiated group.

Recently, a metanalysis including work with animals from 1996 to 2008 evaluated the effect of phototherapy on biomechanical indicators as well as the impact of dosing on bone. This study showed that low intensity laser irradiation can ameliorate the mechanical properties of the bone along the healing process in experimental animal models (Tajali et al. 2010).

MISCELLANEOUS USES FOR PHOTOTHERAPY

In animal reproduction, researchers have assessed the effects of phototherapy on spermatozoids, aiming at improving both viability and motility. A study performed in 2009 used dose of 5 J/cm² with variations in potency and irradiation output. The study concluded that potency of 49,7mW significantly increases the mean spermatozoid number and motility, while decreases the mean amplitude of lateral head displacement, after 45 minutes of exposure (Corral-Baqués et al. 2009). Laffaldano and partners used He:Ne laser at different doses (i.e., 3, 6 and 9 J/cm²) during pre-chilling, aiming at evaluating spermatozoid viability after chilled storage. Treated spermatozoids enhanced its viability after storage at 15°C, particularly in the dose of 6 J/cm². The authors also showed that this effect is caused by stimulation of the spermatozoid mitochondrial respiratory chain (Laffaldano et al. 2010).

Another study compared the efficacy of laser (LLLT), infrared, and red LEDT along with *Bothrops moojeni* snake antivenom to prevent swelling and hemorrhage at a specific inoculation site in mice. Treatment was performed 30 minutes after intraplantar injection of the venom on one of the limbs, using a 685nm laser in doses of 2.2 J/cm². The treatment with LED was performed using red and infrared spectra, with 635nm and 945nm, respectively and dose of 4 J/cm². Swelling decrease was observed after treatment with laser, red and infrared LED (p<0.05). Combination of antivenom with laser or red/infrared LED did not show difference regarding swelling reduction when compared with the irradiation alone. These results pointed out the clinical relevance of phototherapy (Nadur-Andrade et al. 2011).

CONCLUSION

In order to use phototherapy, the practitioner has to be aware of the wavelength and potency of each device. Based on these parameters and the clinical picture to be treated, a right dose should be calculated. Unfortunately, proper wavelength, intensity and doses were not already established for their use in animals. Although methodologically rich, information from studies in humans regarding dose and time of exposure is of poor value due to inter-species differences, regimen of treatment, as well as specific characteristics of some regions to be treated. Nevertheless, low intensity lasers may be a very valuable tool on veterinary rehabilitation. Although still controversial, several studies demonstrated the beneficial effects of phototherapy. Results pointing out the potential of phototherapy in veterinary medicine include: maintenance of cartilage physical properties, recovering of peripheral nerves after injury and efficacy in controlling pain in patients with osteoarthritis. It also seems to contribute for early wound/injury healing. Phototherapy is a non-invasive, good cost-benefit therapeutic resource, with no report of adverse effects when correctly used.

REFERENCES

- Abrisham SMJ, Kermani-Alghoraishi M, Ghahramani R, Jabbari L, Jomeh H, Zare M. Additive effects of low-level laser therapy with exercise on subacromial syndrome: a randomised, double-blind, controlled trial. *Clin Rheumatol* [Internet]. 2011 Oct [cited 2012 Mar 17]; 30(10):1341–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21538218>
- Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro R a, Guidugli-Neto J, Jaeger MM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med* [Internet]. 2001 Jan [cited 2012 Mar 14]; 29(2): 179–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11553908>

- Al-Watban FAH, Andres BL. Polychromatic LED therapy in burn healing of non-diabetic and diabetic rats. *J Clin Laser Med Surg*. 2003 Oct;21(5):249–58.
- Amat A, Rigau J, Waynant RW, Ilev IK, Anders JJ. The electric field induced by light can explain cellular responses to electromagnetic energy: a hypothesis of mechanism. *J Photochem Photobiol B* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2012 Aug 2]; 82(2):152–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16300958>
- Araújo RC, Franciulli PM, Assis RO, Souza RR, Mochizuki L. Effects of laser, ultrasound and electrical stimulation on the repair of achilles tendon injuries in rats: a comparative study. *Braz. J. Morphol. Sci*. 2007; 24(3):187-191.
- Barbosa AM, Villaverde AB, Sousa LG, Munin E, Fernandez CM, Cogo JC, et al. Effect of low-level laser therapy in the myonecrosis induced by *Bothrops jararacussu* snake venom. *Photomed Laser Surg* [Internet]. 2009 Aug [cited 2012 Feb 25]; 27(4):591–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19530909>
- Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med* . 1995; 16(4):331-342.
- Baxter, GD. Therapeutic lasers: theory and practice. New York: Churchill Livingstone; 1994.
- Bjordal JM, Lopes-Martins RAB, Iversen VV. A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated Achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E2 concentrations. *Brit J S Med*. 2006; 40(1):76–80.
- Braverman B, McCarthy RJ, Ivankovich AD, Forde DE, Overfield M, Bapna MS, et al. Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. *Lasers Surg Med*. 1989; 9: 50-58.
- Cafalli SAF, Borelli V, Holzchuh PM, Farias EC, Cipola WWV, Neto ACC, et al. Estudo experimental dos efeitos da radiação laser de baixa energia na regeneração osteocartilagínea em joelhos de coelhos. *Rev Bras Ortop*. 1993; 28(9): 673-678.
- Chen AC-H, Huang Y-Y, Sharma SK, Hamblin MR. Effects of 810-nm laser on murine bone-marrow-derived dendritic cells. *Photomed Laser Surg* [Internet]. 2011 Jun [cited 2012 Mar 17]; 29(6):383–9.

- Chow RT, David MA, Armati PJ. 830 Nm Laser Irradiation Induces Varicosity Formation, Reduces Mitochondrial Membrane Potential and Blocks Fast Axonal Flow in Small and Medium Diameter Rat Dorsal Root Ganglion Neurons: Implications for the Analgesic Effects of 830 Nm Laser. *J Peripher Nerv Syst* . 2007 Mar;12(1):28–39.
- Corazza AV. Fotobiomodulação comparativa entre o Laser e LED de baixa intensidade na angiogênese de feridas cutâneas de ratos [PhD Thesis]. São Carlos, Brasil: University of São Paulo - School of Engineering of Sao Carlos; 2005.
- Corral-Baqués MI, Rivera MM, Rigau T, Rodríguez-Gil JE, Rigau J. The effect of low-level laser irradiation on dog spermatozoa motility is dependent on laser output power. *Lasers Med Sci* [Internet]. 2009 Sep [cited 2012 Mar 17]; 24(5):703–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18787758>
- Dissemond J. [Physical treatment modalities for chronic leg ulcers]. *Hautarzt* [Internet]. 2010 May [cited 2012 Aug 2]; 61(5):387–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20376423>
- Enwemeka CS and Reddy GK. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective. *Laser Therapy*, 2000; 12:19–22.
- Fulop AM, Dhimmer S, Deluca JR, Johanson DD, Lenz RV, Patel KB, et al. A meta-analysis of the efficacy of phototherapy in tissue repair. *Photomed Laser Surg*[Internet]. 2009 Oct [cited 2012 Mar 17]; 27(5):695–702. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19698019>
- Greathouse DG, Currier DP, Gilmore RL. Effects of clinical infrared laser on superficial radial nerve conduction. *Phys Ther* [Internet]. 1985 Aug [cited 2012 Mar 17]; 65(8):1184–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4023064>
- Gur A, Cosut A, Sarac AJ, Cevik R, Nas K, Uyar A. Efficacy of different therapy regimes of low-power laser in painful osteoarthritis of the knee: a double-blind and randomized-controlled trial. *Lasers Surg Med* [Internet]. 2003 Jan [cited 2012 Mar 6]; 33(5):330–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14677160>
- Hamblin MR and Demidova TN. Mechanisms of low level light therapy. *Proceedings of SPIE* [Internet]. Spie; 2006; 6140:614001–614012. Available from: <http://link.aip.org/link/PSISDG/v6140/i1/p614001/s1&Agg=doi>

- Huang Y-Y, Chen AC-H, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. Dose-response [Internet]. 2009 [cited 2012 Mar 6]; 7(4):358–83. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2790317&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hussein A, Alfars A, Falih M, Hassan A-N. Effects of a low level laser on the acceleration of wound healing in rabbits. North American Journal of Medical Sciences [Internet]. 2011 [cited 2012 Mar 17]; 3(4):193–7. Available from: <http://www.scopemed.org/?mno=6708>
- Laffaldano N, Rosato MP, Paventi G, Pizzuto R, Gambacorta M, Manchisi A. The irradiation of rabbit sperm cells with He-Ne laser prevents their in vitro liquid storage dependent damage. Anim Reprod Sci [Internet]. 2010 May [cited 2012 Mar 10]; 119(1-2):123–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19932573>
- Karu TI, Kolyakov SF. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. Photomed Lasers Surg. 2005 Aug;23(4):355–61.
- Karu T. Molecular mechanism of therapeutic effect of low intensity laser irradiation. Lasers L Sci. 1988; 2(1): 53-74.
- Karu T. Photobiology of low-power laser effect. Health Phys. 1989; 56: 691-704.
- Kitchen SS, Partridge CJ. A review of low level laser therapy. Part I: background, physiological effects and hazards. Physiotherapy; 77(3); 1991. 161-170.
- Kreisler M, Christoffers AB, Al-Haj H, Willershausen B, d' Hoedt B. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. Lasers Surg Med [Internet]. 2002 Jan [cited 2012 Mar 2]; 30(5):365–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12116329>
- Laakso L, Richardson C, Cramond T. Factors affecting low level laser therapy. Aust J Phys. 1993; 39(2): 95 – 99.
- Junior ECPL, Lopes-Martins RAB, Dalan F, Ferrari M, Sbabo FM, Generosi RA, et al. Effect of 655-nm low-level laser therapy on exercise-induced skeletal muscle fatigue in humans. Photomed Laser Surg [Internet]. 2008 Oct [cited 2012 Mar 2]; 26(5):419–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18817474>

- Leonard DR, Farooqi MH, Myers S. Restoration of Sensation, Reduced Pain, and Improved Balance in Subjects With Diabetic Peripheral Neuropathy: A double-blind, randomized, placebo-controlled study with monochromatic near-infrared treatment. *Diabetes Care*, 2004 [cited 2012 Mar 5]; 27(1):168-172. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14693984>
- Lim W, Lee S, Kim I, Chung M, Kim M, Lim H, et al. The anti-inflammatory mechanism of 635 nm light-emitting-diode irradiation compared with existing COX inhibitors. *Lasers Surg Med* [Internet]. 2007 Aug [cited 2012 Mar 2]; 39(7):614–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17868110>
- Liu XG, Zhou Y, Liu TC, Yuan JQ. Effects of Low-Level Laser Irradiation on Rat Skeletal. *Photomed Laser Surg*, 2009 [cited 2012 Mar 18]; 27(6): 863–9. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19697999
- Low L, Reed A. *Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática*. 3rd ed. Barueri: Manole; 2001.
- Lubart R, Malik Z, Rochkind S, Fisher T. A Possible Mechanism of Low Level. Laser - Living Cell Interaction. *Laser Therapy*, 1990; 2:65-68.
- Machado MVM, Vulcano LC, Hussni CA, Alves ALG. Efeito da laserterapia em tendinite experimental no tendão flexor digital superficial em eqüinos: estudo histológico e ultrassonográfico. *A Vet Sci*. 2000;111–5.
- Mahmoud BH, Hexsel CL, Hamzavi IH, Lim HW. Review Effects of Visible Light on the Skin. *Photochem Photobiol*. 2008 [cited 2012 Mar 17]; 450–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18248499>
- McDonough MS, Baxter DG. Chapter 10: Principles os electrotherapy in veterinary physiotherapy. In: *Animal Physiotherapy*. Stubbs N, Goff L, McGowan M. C. 2007. Ed. Blackwell. P. 182-186
- Mendes T, Pinheiro A, Pacheco M, Nascimento PM, Ramalho LM. Dose and wavelength of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. *J Clin Lasers Med Surg*. 2004; 22:19-25.
- Mikail, S. Laser Terapêutico. In: Mikail S, PEDRO CR. *Fisioterapia veterinária*. 2nd ed. São Paulo: Manole; 2009. p. 81-90.

- Miloro M, Halkias LE, Mallery S, Travers S, Rashid RG. Low-level laser effect on neural regeneration in Gore-Tex tubes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. [Internet]. 2002 Jan [cited 2012 Mar 17]; 93(1):27–34. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107921040244749X>
- Nadur-Andrade N, Barbosa AM, Carlos FP, Lima CJ, Cogo JC, Zamuner SR. Effects of photobiostimulation on edema and hemorrhage induced by *Bothrops moojeni* venom. *Lasers Med Sci*. 2012 Jan [cited 2012 Mar 17]; 27(1):65–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21484453>
- Nicolau RA, Martinez MS, Rigau J, Tomàs J. Neurotransmitter release changes induced by low power 830 nm diode laser irradiation on the neuromuscular junctions of the mouse. *Lasers Surg Med* [Internet]. 2004 Jan [cited 2012 Mar 17]; 35(3):236–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15389739>
- Petersen S, Botes C, Olivier A, Guthier A. The effect of low level laser therapy (LLLT) on wound healing in horses. *Equine vet J*, 1999; 31: 228-231.
- Pinheiro ALB, Júnior FL, Gerbi MEM, Ramalho LMP, Marzola C, Ponzi EAC. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J* [Internet]. 2003 Jan;14(3):177–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15057393>
- Pugliese LS. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesq Odont Bras*, 2003; 17(4): 307–13.
- Rayegani MS, Bayaat M, Sedighipour L, Samadi B. Low Intensity Laser Therapy. *Lasers Med Sci*, 2010; 1(1): 31–4.
- Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit Achilles tendons. *Lasers Surg Med* [Internet]. 1998 Jan;22(5):281–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9671994>
- Robertson V, Ward A, Low J, Reed A. *Eletroterapia explicada: princípios e prática*. 4th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.
- Serafim KGG, Ramos SDP, Lima FM, Carandina M, Ferrari O, Dias IFL, et al. Effects of 940 nm light-emitting diode (led) on sciatic nerve regeneration in rats. *Lasers Med Sci* [Internet].

- 2012 Jan [cited 2012 Mar 15]; 27(1):113–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21547474>
- Simunovic Z, Ivankovich AD, Depolo A. Wound healing of animal and human body sport and traffic accident injuries using low-level laser therapy treatment: a randomized clinical study of seventy-four patients with control group. *J Clin Laser Med Surg*. 2000 Apr;18(2):67–73.
- Siqueira CPCM, et al. Biological effects of light: application of low power therapy using LEDs (Light Emitting Diode) on the healing of venous ulcers: a case report. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. 2009; 30(1): 37-46.
- Smith KS. The photobiological basis of low-level laser radiation therapy. *Laser Therapy*. 1991;3(1):19-25.
- Sutherland JC. Biological effects of polychromatic light. *Photochem Photobiol*. [Internet]. 2002 Aug [cited 2012 Mar 16]; 76(2):164–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12194212>
- Tajali SB, Macdermid JC, Houghton P, Grewal R. Effects of low power laser irradiation on bone healing in animals: a meta-analysis. *J Orthop Surg Res* [Internet]. 2010 Jan [cited 2012 Mar 24]; 5:1. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2829511&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Tumilty S, Munn J, McDonough S, Hurley DA, Basford JR, Baxter GD. Low Level Laser Treatment of Tendinopathy : Photomed Laser Surg. 2010;28(1):3–16.
- Turner J. and Hode L. Laser therapy clinical background and scientific practice. 13.3. Prima Books AB. Grängesberg, 2002. Proc.
- Veçoso, CM. Laser em Fisioterapia. São Paulo: Ed. Lovise; 1993.
- Venezian GC, Silva MA, Mazzetto RG, Mazzetto MO. Low level laser effects on pain to palpation and electromyographic activity in TMD patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Cranio*, 2010; 28(2):84-91
- Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry*. [Internet]. 2004 Jan [cited 2012 Mar 28]; 69(1):81–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14972023>

Young S, Bolton P, Dyson M, Harvey W, Diamantopoulos C. Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers Surg Med*, 1989; 9(5): 497-505.