



## Influência do laser arseneto de gálio-alumínio em feridas cutâneas de ratos

*Influence of gallium-aluminum arsenide laser in the cutaneous wounds in wistar rats*

Reggiani Vilela Gonçalves<sup>[a]</sup>, Natanael Teixeira Alves de Sousa<sup>[b]</sup>, Pedro Henrique Silva<sup>[c]</sup>,  
Fabiano Sousa Barbosa<sup>[d]</sup>, Clóvis Andrade Neves<sup>[e]</sup>

<sup>[a]</sup> Fisioterapeuta, Mestre em Biologia Celular e Estrutural, professora do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG - Brasil, e-mail: reggysvilela@yahoo.com.br

<sup>[b]</sup> Graduando em Fisioterapia pela Faculdade de Minas (Faminas), Muriaé, MG - Brasil, e-mail: natanasousa@hotmail.com

<sup>[c]</sup> Graduando em Fisioterapia pela Faculdade de Minas (Faminas), Muriaé, MG - Brasil, e-mail: pdroh\_silva@hotmail.com

<sup>[d]</sup> Fisioterapeuta, Mestre em Biologia Celular e Estrutural, professor da Faculdade de Fisioterapia de Minas (Faminas), Muriaé, MG - Brasil, e-mail: fabianost@bol.com.br

<sup>[e]</sup> Médico Veterinário, Doutor, professor adjunto do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG - Brasil, e-mail: caneves@ufv.br

---

### Resumo

**Objetivo:** O presente estudo avaliou o efeito do laser arseneto de gálio-alumínio (GaAsAl) 830nm (30J/cm<sup>2</sup>) e da pomada Dersani<sup>®</sup> no processo cicatricial cutâneo de ratos wistar, em relação à proliferação fibroblástica e revascularização. **Material e métodos:** Foram utilizados 18 ratos wistar adultos jovens, machos, com peso médio de 324 g, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa. Foram feitas cinco feridas de 12 mm no dorso dos animais utilizando bisturi. Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos, cada grupo com seis animais: Grupo 1: Controle - os animais tiveram a ferida tratada com salina, Grupo 2: Feridas tratados com laser GaAsAl (830nm) 30J/cm<sup>2</sup> e Grupo 3: Feridas tratadas com Dersani<sup>®</sup>. As aplicações foram feitas diariamente durante 20 dias de experimento. O material para análise histológica foi corado com hematoxilina-eosina (HE), fotografados e analisados por meio do programa Image Pro-plus<sup>®</sup>, por contagem de pontos sob células de interesse. **Resultados:** Foi observado maior número de fibroblastos nos grupos tratados com o laser GaAsAl e com a pomada Dersani<sup>®</sup>, quando comparados ao controle no quarto dia do experimento. No entanto, no oitavo dia o grupo tratado com laser apresentou um número significativamente menor de fibroblastos, quando comparado ao

controle e ao Dersani<sup>®</sup>. Em relação à revascularização foi observada diferença significativa entre o laser e o Dersani<sup>®</sup> no oitavo dia de experimento, em que o Dersani<sup>®</sup> se mostrou mais efetivo na formação de vasos sanguíneos. **Conclusão:** O grupo tratado com o laser GaAsAl no quarto dia aumentou significativamente a quantidade de fibroblastos quando comparado ao controle.

**Palavras-chave:** Cicatrização. Revascularização. Laser arseneto de gálio-alumínio. Feridas cutâneas.

### Abstract

**Objective:** The present work evaluates the effect of the gallium-aluminum arsenide (GaAsAl) (30J/cm<sup>2</sup>) laser and ointment Dersani<sup>TM</sup>, on the cutaneous cicatricial process the wistar rats, in respect of fibroblast proliferation and revascularization. **Materials and methods:** The study made use of 18 wistar rats, young adults, males, with medium weight of 324 g, from the animal house of Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (Health and Biological Sciences Center) of Universidade Federal de Viçosa, MG, Brazil. Five 12 mm wounds were made in the dorsal region of the rats using scalpel blades. Animals were separated in 3 groups, each one with six animals. Group 1: Control - Animals had the wound treated with saline; Group 2: Wound treated with GaAsAl (30J/cm<sup>2</sup>) laser; and Group 3: wound treated with Dersani<sup>TM</sup>. The applications were made daily during 20 days of experiment. The material for histological analyses was stained with hematoxylin-eosin (HE), photographed and analyzed using the program Image Pro-plus<sup>TM</sup> through enumeration of points under the cells of interest. **Results:** It was observed an increase in the number of fibroblasts in the groups treated with GaAsAl 30J/cm<sup>2</sup> and with Dersani<sup>TM</sup> ointment when compared to controls in the fourth day of experiment. However, in the eighth day the group treated with laser presented a significant reduced number of fibroblasts when compared to control and Dersani<sup>TM</sup> groups. In relation to revascularization, significant differences between laser and Dersani<sup>TM</sup> were observed in the eighth day of the experiment, where to Dersani<sup>TM</sup> showed to be more effective in the formation of blood vessels. **Conclusion:** The group GaAsAl laser on the fourth day, there was a significantly greater quantity of fibroblasts compared to control group.

**Keywords:** Cicatrization. Revascularization. GaAsAl laser. Cutaneous wounds.

## Introdução

A pele é o maior órgão do corpo humano, está presente em toda superfície externa do corpo e exerce importantes funções (1). A derme é o tecido conjuntivo no qual se apoia a epiderme e que une a pele ao tecido celular subcutâneo (2). Os fibroblastos são as células mais comuns do tecido conjuntivo e secretam a matriz extracelular, que é rica em fibras colágenas, fibras elásticas, reticulares e substância fundamental (1, 3). Quando um tecido é lesado, os fibroblastos próximos proliferam, migram para a ferida e produzem quantidades de matriz rica em colágeno, que ajuda a isolar e reparar o tecido lesado (3).

O processo de cicatrização envolve migração de células inflamatórias, síntese de tecido de granulação, deposição de colágeno de proteoglicanos e a maturação da cicatriz, estando associado à intensa remodelação (1). Considerando-se que o processo de cicatrização é um fenômeno local do qual participam elementos comuns a vários setores do organismo, é fácil imaginar que fatores ambientais e fisiológicos exerçam grande impacto na evolução da cicatrização (4).

Os colágenos são as principais proteínas da matriz extracelular, tendo papel fundamental na arquitetura tecidual, na resistência dos tecidos e em uma ampla variedade de interações célula-célula e célula-matriz (5). A quantidade de colágeno aumenta com o tempo e por volta de duas semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular. O colágeno tipo III vai sendo substituído por colágeno tipo I, que possui fibras mais densas e confere à cicatriz maior resistência. As células fagocitárias diminuem em quantidade e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado (5).

A elaboração subsequente de vasos envolve a produção de veias colaterais por meio de dois mecanismos diferentes: brotamento e divisão celular (6, 7). Os plexos vasculares resultantes são remodelados para diferenciar grandes e pequenos vasos. O endotélio é então preenchido por células acessórias e células musculares lisas. A importância da angiogênese está baseada no fato de que este processo é a chave numa série de eventos fisiológicos precedentes à cura das feridas (7, 8).

Alguns autores estimam que aproximadamente 3% da população brasileira é portadora de algum tipo de lesão na pele. Atualmente, são muito utilizados emplastos e pomadas na tentativa de acelerar este processo (9). A fisioterapia atua na recuperação de tecidos orgânicos lesados, utilizando vários métodos e técnicas que visam, de modo geral, a melhorar o bem-estar físico e psíquico do indivíduo (10). Dentre essas técnicas destaca-se o laser, que tem grande eficácia no processo cicatricial e cujo êxito se deve às respostas que induz nos tecidos, como redução do edema e diminuição do processo inflamatório (10).

Dentre os vários efeitos do laser na célula, destaca-se sua ação sobre a cadeia transportadora de elétrons. Para Passarela (11), os efeitos estimulatórios da laserterapia está sob os fotorreceptores, que são importantes componentes da cascata de eventos que ocorrem na cadeia respiratória das mitocôndrias, estimulando a transferência de elétrons, gerando mais ATP e, assim, influenciando o metabolismo celular. A magnitude do efeito biomodulador depende do estado fisiológico em que as células são encontradas no momento da irradiação, o que explica o motivo pelos quais os efeitos não seguem uma padronização (12, 13). A biomodulação laser pode influenciar as funções celulares, como estimulação ou inibição de atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas (14-16).

O objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos do laser Arseneto de Gálio Alumínio (GaAsAl) e a pomada Dersani<sup>®</sup> no processo cicatricial da pele de ratos wistar, por meio da quantificação de fibroblastos e revascularização.

## Materiais e métodos

Foram utilizados 18 ratos wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com peso médio de 324 g, dez semanas de vida, sadios, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa. Esses animais foram mantidos em condições naturais de luz, temperatura e umidade, em gaiolas individuais e diariamente higienizadas. Os animais foram separados aleatoriamente em três grupos, com seis animais cada. O grupo 1 constituiu-se de animais submetidos ao tratamento com o laser GaAsAl, com comprimento de onda de 830 nm, fluência de radiação 30J/cm<sup>2</sup>, utilizando a técnica varredura, durante 20 dias contínuos uma vez ao dia. Os animais do grupo 2 receberam tratamento com a pomada Dersani<sup>®</sup> (ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, lecitina de soja, vitamina A, vitamina E, ácido capróico e óleo de girassol-ácido linoleico) sendo aplicado 0,1 g da pomada uma vez ao dia, durante 20 dias. O grupo 3, controle consistiu de animais cujas feridas não receberam qualquer tipo de tratamento, sendo limpas com solução salina uma vez ao dia, durante 20 dias contínuos.

Os animais foram anestesiados com ketamina e xilazina, foi realizada a tricotomia da região dorso-lateral de cada animal e a área a ser retirada foi previamente marcada com cristal violeta. No primeiro dia do experimento, foram feitas cinco feridas cirúrgicas no dorso de cada animal, com diâmetro de 12 mm cada, utilizando tesoura e bisturi. A distância entre as feridas era de 10 mm. A profundidade da ferida foi controlada pela remoção do tecido epitelial até a exposição da fáscia muscular dorsal. Todo este procedimento foi aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Fisioterapia de Minas Gerais (Faminas). Foram coletados fragmentos a cada quatro dias, de feridas diferentes, para que pudesse ser analisada a evolução do processo cicatricial. Esses fragmentos continham a borda e o centro da ferida. O tempo total do experimento foi de 20 dias contínuos. Os animais do grupo 1 começaram a receber irradiação com o laser até 6 horas após se fazer as lesões, e durante 20 dias ininterruptos repetiu-se o procedimento.

As análises histológicas foram realizadas no laboratório de Biologia Estrutural da Universidade Federal de Viçosa. O material foi fixado em solução de formaldeído a 10%, processado e incluído em parafina. Foram obtidos cortes de 4 µm em micrótomo rotativo (Reichert-Jung Multicut<sup>®</sup>, Germany)

os quais foram corados com hematoxilina e eosina, conforme rotina de laboratório. A visualização das lâminas e a captação das imagens deu-se por meio do Microscópio óptico BX-60 (Olympus®) acoplado a uma câmara fotográfica digital modelo QColor 3 (Olympus®). De cada lâmina foram obtidas, de forma aleatória, 15 imagens com resolução de  $2048 \times 1536$  pixels, com objetivas de 20x. As análises das imagens deram-se a partir da contagem de fibroblastos e de vasos por meio de uma grade com 216 intersecções criadas no aplicativo Image Pro-plus 4.5 (Media Cybernetcs®). Os dados foram submetidos à análise de variância para medidas repetidas (ANOVA), além do teste de Tukey e Dunnett. Para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos utilizou-se o programa estatístico SAEG®, com significância de 95%.

## Resultados

A partir das fotomicrografias de secções histológicas, observou-se que a média do ápice de proliferação de fibroblastos em relação ao tempo foi alcançada, nos animais tratados com a terapia laser, aproximadamente no quinto dia de tratamento. Os animais tratados com Dersani® tiveram o pico de proliferação celular por volta do sexto dia e o grupo controle apresentou maior proliferação dessas células no oitavo dia de experimento (Tabela 1).

**Tabela 1** - Equações de regressão ajustadas de fibroblastos em função dos dias de avaliações para os respectivos grupos e coeficiente de determinação ( $R^2$ )

Grupo	Parâmetro de regressão	Dia (D)	y	$R^2$
Controle	$y = -726.568 + 1296.04\sqrt{D} - 225.087D$	8	1138.5	0.9485
Laser	$y = -2415.62 + 3894.88\sqrt{D} - 1342.89D + 141.274\sqrt{D^2}$	5	1158.5	0.7144
Dersani®	$y = -2737.94 + 4217.21\sqrt{D} - 1344.84D + 128.91\sqrt{D^2}$	6	1417.5	0.9972

A revascularização sanguínea também apresentou um pico primeiramente no grupo tratado com o laser, por volta de 3,5 dias de experimento. O grupo tratado com Dersani® apresentou um pico de vasos por volta do quarto dia de tratamento e o grupo controle apresentou um pico para vasos sanguíneos por volta de 4,5 dias de experimento (Tabela 2).

**Tabela 2** - Equações de regressão ajustadas de revascularização em função dos dias de avaliações para os respectivos grupos e coeficiente de determinação ( $R^2$ )

Grupo	Parâmetro de regressão	Dia (D)	y	$R^2$
Controle	$y = -366.87 + 695.487\sqrt{D} - 240.878D + 24.5876\sqrt{D^2}$	4.5	259	0.6842
Laser	$y = -779.023 + 1324.01\sqrt{D} - 509.509D + 57.6145\sqrt{D^2}$	3.5	292	0.6239
Dersani®	$y = -874.891 + 1434.09\sqrt{D} - 539.601D + 60.2754\sqrt{D^2}$	4	317	0.9664

Ao se fazer a contagem de fibroblastos comparando os diferentes grupos foi observado que no 1º, 12º, 16º e 20º dias não houve diferença estatística entre os grupos. No entanto no quarto dia os grupos tratados com laser e Dersani® apresentaram uma quantidade significativamente maior no número de fibroblastos, quando comparados ao controle. No oitavo dia do experimento o grupo tratado com laser apresentou uma produção significativamente menor de células, quando comparado ao controle e ao grupo tratado com Dersani® (Tabela 3).

**Tabela 3** - Valores médios do número de fibroblastos para os respectivos grupos e dias

Dia	Controle	Laser	Dersani®
1º	336.67 A	239.83 A	263.17 A
4º	952.5 B	1322.33* A	1346.5* A
8º	1244.83 A	726* B	1364 A
12º	947.67 A	998.83 A	1058 A
16º	853.17 A	796.83 A	893.83 A
20º	599.17 A	715.5 A	746.5 A

Nota: Médias com asterisco (\*) na linha para cada dia diferem do controle ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Médias seguidas de uma mesma letra na linha para cada dia não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na contagem de vasos sanguíneos no 1º, 4º, 12º, 16º e 20º dias não foi observada diferença estatística significativa entre os grupos. Porém, no oitavo dia de tratamento os animais tratados com laser apresentaram os menores valores para vasos sanguíneos, quando comparados ao Dersani®, mas o grupo do laser não se diferenciou estatisticamente do controle (Tabela 4).

**Tabela 4** - Valores médios de revascularização sanguínea para os respectivos grupos e dias

Dia	Controle	Laser	Dersani®
1º	103.5 A	79.17 A	76.33 A
4º	299.5 A	361.33 A	334.67 A
8º	165 AB	74.83 B	198.83 A
12º	188 A	144.17 A	136.33 A
16º	173.33 A	84.83 A	94.83 A
20º	103.5 A	79.83 A	131 A

Nota: Médias com asterisco (\*) na linha para cada dia diferem do controle ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Médias seguida de uma mesma letra na linha para cada dia não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

## Discussão

Cerca de 10% dos pacientes hospitalizados e 20% dos pacientes acamados tratados em casa sofrem algum tipo de ulcerações na pele (17), daí a necessidade de se buscar técnicas e meios que promovam cicatrização rápida e livre de infecções. No presente estudo o grupo tratado com o laser GaAsAl apresentou um pico fibroblástico precocemente, quando comparado aos demais grupos. Este fato é importante porque associada à rápida proliferação fibroblástica está a síntese de matriz, que é responsável pela consistência e resistência da cicatriz. Vários estudos têm mostrado os efeitos da laserterapia de baixa potência na aceleração do processo cicatricial, principalmente por promover a proliferação fibroblástica (18-20).

Em relação à revascularização neste estudo, o laser também apresentou maior quantidade de vasos sanguíneos em menor tempo, em torno dos três dias, quando levados em consideração os outros grupos. Este é um ponto extremamente relevante, já que uma rápida vascularização do tecido melhora a oxigenação deste, acelera a chegada de nutrientes e, assim, acelera a proliferação celular e a síntese de colágeno e outros constituintes da matriz (21, 22). Estes achados condizem com aqueles encontrados por Medrado (23) e Pugliese (24), que demonstraram intensos efeitos do laser sob tecidos biológicos, principalmente no processo cicatricial, acelerando a reparação tecidual por meio da diminuição do edema, melhoria na formação de tecido de granulação e promovendo a revascularização, sendo que estes benefícios são mais acentuados na fase inicial do processo cicatricial.

Os resultados da terapia laser no tecido cicatricial dependem dos parâmetros utilizados, como densidade de energia, comprimento de onda, entre outros (25). De acordo com Cruânes (26) e Anneroth et al. (27), a dose recomendada para promover aumento no número de fibroblastos e na quantidade de fibras colágenas deve situar-se entre 1 e 32 J/cm<sup>2</sup>. No presente estudo o grupo tratado com laser GaAsAl e Dersani<sup>®</sup> apresentaram valores maiores de fibroblastos quando comparados ao controle no quarto dia de experimento; no entanto, o mesmo não foi observado nos demais dias, o que demonstra que além da densidade de energia e comprimento de onda, o fator tempo também é importante na promoção da proliferação celular, sendo a ação do laser mais eficaz no início do processo de formação do tecido de granulação. Segundo Rochkind e Quaknine (28), após a análise de diferentes comprimentos de onda e densidades de energia verificou-se que o melhor comprimento de onda para promover a proliferação celular é o de 630 nm e que a melhor dose é a de 15 J/cm<sup>2</sup>, um fator que pode justificar os achados quanto à proliferação celular quando utilizado laser no oitavo dia de experimento. Para Pogrel et al. (29), analisando o efeito do laser na proliferação celular e migração em culturas de fibroblastos, o laser não promoveu nenhum efeito nas culturas de fibroblastos ou queratinócitos.

Quando levada em consideração a vascularização sanguínea, o grupo tratado com laser apresentou menor vascularização, quando comparado ao Dersani<sup>®</sup> no oitavo dia de experimento, sendo que em todos os outros dias não houve diferença estatística significativa entre os grupos. Para Carvalho et al. (30), a dose recomendada de radiação laser para promover a formação de novos vasos seria de 4 J/cm<sup>2</sup>, comparando feridas de animais diabéticos e não diabéticos. Alguns dados mostram que, para que haja formação de novos vasos, é necessária a utilização de fluências de radiação mais baixas. Segundo Tatarunas et al. (31), a dose mais utilizada na laserterapia para promover aumento vascular, entre outros fatores, deve se situar entre 1 e 5 J/cm<sup>2</sup>. Isso pode justificar a falta de diferença estatística significativa que foi encontrada neste trabalho quando se comparam as feridas que receberam irradiação do laser e as que foram apenas limpas com salina.

## Conclusão

O presente estudo analisou os efeitos do laser GaAsAl na cicatrização de feridas com base nos parâmetros de proliferação fibroblástica e revascularização. Os resultados mostraram que o fator tempo foi determinante na quantificação da proliferação celular, já que os melhores resultados para proliferação fibroblástica no grupo tratado com laser foram encontrados no início do tratamento. Quanto à vascularização,



fica claro que provavelmente existem comprimentos de onda e densidades de energia mais adequados para promover a revascularização, já que a densidade utilizada neste trabalho não apresentou diferenças do grupo controle. Desta forma, são necessários estudos adicionais em relação à terapia laser, para investigar quais os melhores aparelhos e as dosagens mais indicadas para atuar em todas as fases do processo cicatricial e, desta forma, tornar o tratamento de feridas cutâneas um processo mais rápido e eficaz, melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

## Referências

1. Mandelbaum SH, Di-Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrization: current concepts and auxiliary resources - Part II. *An Bras Dermatol*. 2003;78(5):525-42.
2. Purslow PP. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2002;133(4):947-66.
3. Hinz B, Gabbiani G. Cell-matrix and cell-cell contacts of myofibroblasts: role in connective tissue remodeling. *Thromb Haemost*. 2003;90(6):993-1002.
4. Santos VLCCG. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico. São Paulo: Atheneu; 2000.
5. Biondo-simoes MLP, Alcantra EM, Dallagnol JC. Cicatrização de feridas: estudo comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora da angiotensina. *Rev Col Bras Cir*. 2006;33(2):74-8.
6. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997;386:671-4.
7. Patan S, Haenni B, Burri PH. Implementation of intussusceptive microvascular growth in the chicken chorioallantoic membrane (CAM). Pillar formation by capillary fusion. *Microvasc Res*. 1996;51(1):80-98.
8. Neemn M, Abramovick R, Schiffenbauer YS, Tempel C. Regulation of angiogenesis by hipoxic stress: from solid tumors to the ovarian follicle. *Int J Exp Pathol*. 1997;78(2):57-70.
9. Hatanaka E, Curi R. Fatty acids and wound healing: a review. *Rev Bras Farm*. 2007;88(2):53-58.
10. Baxter GD. Thetapeute lasers: theory and practice. New York: Churchill Livingstone; 1997.
11. Passarela S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D, Quagliariello E, Catalano IM, et al. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS Lett*. 1984;175(1):95-9.
12. Karu T. Low power laser therapy. *Biomedical Photonics Handbook*. 2003;3:1-25.
13. Chukuka ES, Kesava RG, Stehno-Bittel L. Laser photostimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen*. 2001;9(3):248-55.
14. De Bie RA, De Vet H, Lenessen TF, Wildenberg F, Kootstra G. Low level laser therapy in ankle sprains: a randomized clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil*. 1998;79(11):1415-20.
15. Schaffer M, Sroka R, Schrader-Reixhardt U, Schaffer PM. Biomodulative effects induced by 805 nm laser light irradiation of normal and tumor cells. *J Photochem Photobiol B*. 1997;40(3):253-7.
16. Beckerman H, De Bie R, Bouter L, De Cuyper H, Oostendorp R. The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: a criteria-based meta-analysis of randomized clinical trials. *Phys Ther*. 1992;72(7):483-91.
17. Normam RA, Bock M. Wound care in geriatrics. *Dermatol Ther*. 2003;16(3):224-30.

18. Kitchen SS, Partridge CJ. A review of level laser therapy. Part I: background, physiological effects and hazards. *Physiother.* 1991;77(3):161-70.
19. Van Der Vem PH, Leys A, Verbuyst C, Van Der Braden E, Kerckhofs E, Lievens P. The influence of IR-laser on the proliferation of fibroblasts: an in vitro study. *Proceedings of II Congress World Association for laser Therapy, Kansas; 1998.*
20. Anneroth G, Hall G, Ryden H, Zetterquist L. The effect of low energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *Br J Oral Maxillofacial Surg.* 1988;26:12-7.
21. Zhang F, Lei MP, Oswald TM, Pang Y, Blain B, Cai ZW, et al. The effect of vascular endothelial growth factor on the healing of ischemic skin wounds. *Br J Plast Surg.* 2003;56(4):334-41.
22. Glassberg E, Lask GP, Vitto J. Biological of low energy laser irradiation. *Laser Surg Med.* 1988;8:186
23. Medrado AP, Pugliese LS, Reis SRA, Andrade ZA. Influence of low level laser therapy on wound healing and its biological action upon myofibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2003;32(3):239-44.
24. Pugliese LS, Medrado AP, Reis SRA, Andrade ZA. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(4):307-13.
25. Nascimento PM, Pinheiro ALB, Salgado MAC, Ramalho LMP. A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wound as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. *Photomed Laser Surg.* 2004;22:513-18.
26. Cruaños JC. *La terapia laser, Hoy.* Barcelona: Centro de Documentación Laser de Meditec S.A.; 1984.
27. Anneroth G, Hall G, Ryden H, Zetterquist L. The effect of low energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1988;26(1):12-7.
28. Rochkind S, Quaknine GE. New trend in neuroscience: low power laser effect on peripheral and central nervous system (basic science, pre-clinical and clinical studies). *Neurol Res.* 1992;14(1):2-11.
29. Pogrel MA, Chein JW, Zhang K. Effects of low-energy gallium-aluminium arsenide. *Lasers Surg Med.* 1997;20(4):426-32.
30. Carvalho P, Mazzer N, Radaum RN, Corazza AV. Efeitos do laser de baixa intensidade em feridas cutâneas em ratos com diabetes mellitus experimental. *Fisioterapia Brasil.* 2001;2(4)0:241-6.
31. Tatarunas AC, Matera JM, Dagi MLZ. Estudo clínico e anatomo-patológico da cicatrização cutânea no gato doméstico. Utilização do laser de baixa potência GAAS (904nm). *Acta Cirurg Bra.* [online] 1998 [acesso em 20 dez 2009];13(2). Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-86501998000200004&Ing=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86501998000200004&Ing=en&nrm=iso)

Recebido: 26/01/2009

*Received:* 01/26/2009

Aprovado: 28/03/2010

*Approved:* 03/28/2010

Revisado: 23/06/2010

*Reviewed:* 06/23/2010