

Terapia com *laser* em baixa intensidade na cicatrização de feridas - revisão de literatura

Low-intensity laser therapy on wound healing - review of literature

Carla Andreotti Damante*
Márcia Martins Marques**
Giorgio De Micheli***

Resumo

Os *lasers* em baixa intensidade são utilizados como agentes terapêuticos após o tratamento convencional, mostrando propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e de aceleração da cicatrização de feridas; assim, podem propiciar um pós-operatório mais confortável ao paciente, possibilitando a redução do uso de medicamentos. Apesar de grandes controvérsias na literatura, ora mostrando efeitos positivos desta terapia, ora negativos, os estudos com cultura de células têm se mostrado promissores. Tais pesquisas comprovaram que o *laser* é responsável por aumento da proliferação da atividade celular, aumento da produção de colágeno e da síntese de DNA, modulação da produção dos fatores de crescimento e redução na produção de prostaglandinas. O objetivo desta revisão de literatura é mostrar os contrastes existentes entre trabalhos sobre a terapia com *laser* em baixa intensidade, citando estudos em humanos e em animais e dando ênfase aos estudos com cultura de células. Estes últimos têm mostrado resultados promissores e auxiliam no entendimento dos mecanismos de ação do *laser* nos tecidos e na cicatrização de feridas. Como conclusão, é possível afirmar que, apesar de a literatura ser controversa a respeito do assunto, as pesquisas básicas *in vitro* destacam-se pelos seus resultados promissores. Com base nesses estudos será possível esclarecer os mecanismos de ação do *laser* na cicatrização de feridas e determinar protocolos-padrão de aplicação *in vivo*.

Palavras-chave: *Laser*. Terapia com *laser* em baixa intensidade. Cicatrização de feridas. Fibroblastos.

Introdução

Os *lasers* em baixa intensidade, com comprimentos específicos de onda, têm a capacidade de alterar o comportamento celular na ausência de aquecimento. Os efeitos fotoquímicos e fotofísicos causados pela luz nos tecidos ocorrem com menos de 0,5 °C de aumento de temperatura¹. A potência desses *lasers* varia de 1 mW a 500 mW no modo contínuo, apresentando picos maiores quando pulsados. Seus comprimentos de onda variam do espectro visível da luz ($\lambda = 400$ nm) ao infravermelho ($\lambda = 1,064$ nm)².

Desse modo, os *lasers* em baixa intensidade são utilizados como agentes terapêuticos após o tratamento convencional, mostrando propriedades antiinflamatórias, analgésicas e de aceleração da cicatrização de feridas, o que pode propiciar um pós-operatório mais confortável ao paciente e possibilita a redução do uso de medicamentos. Em periodontia, esses efeitos são desejados, já que muitos dos tratamentos periodontais – apesar de nas últimas décadas terem se tornado mais conservadores – ainda geram grande desconforto ao paciente, como hiperestesia dentinária, dor e tempo de cicatrização prolongado.

Os efeitos do *laser* em baixa intensidade na aceleração da cicatrização de feridas têm sido atribuídos ao estímulo de vários sistemas biológicos, como aumento da proliferação e atividade celular³⁻⁶, aumento da síntese de DNA^{7,8}, modulação da produção dos fatores de crescimento^{9,10} e redução na produção de prostaglandinas¹¹.

No entanto, a literatura a respeito da terapia com *laser* em baixa intensidade (*Low Intensity La-*

* Aluna do curso de doutorado em Periodontia – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

** Professora Associada do Departamento de Dentística – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

*** Professor Associado do Departamento de Periodontia – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

ser Therapy – LILT) na aceleração da cicatrização de feridas é muito controversa. Estudos em animais ora mostram resultados positivos¹², ora não mostram efeito algum^{13,14}. O mesmo acontece nos escassos estudos em humanos, onde a aceleração da cicatrização de feridas mostra-se mais rápida com o uso do *laser*¹²; porém outros relatam que o *laser* não auxiliou esses mecanismos¹⁵⁻¹⁷.

Essas disparidades podem ser resultantes dos diferentes protocolos utilizados pelos autores, por ser sabido que parâmetros de utilização dos *lasers* são definitivos para a determinação de seus efeitos. Assim, muitos autores, após revisarem a literatura sobre o assunto, concluíram que há necessidade de estabelecimento de protocolos-padrão e de mais estudos controlados para que o uso clínico dos *lasers* seja difundido^{18,19}.

Antes de se determinarem protocolos de aplicação, é necessário esclarecer os mecanismos de ação do *laser* nos tecidos. Existem apenas teorias, principalmente sobre seus efeitos na produção de substâncias relacionadas com a aceleração na cicatrização de feridas. Nesse sentido, estudos *in vitro* com cultura de células parecem ser promissores e podem trazer resultados positivos³⁻¹¹.

Existe uma tendência ao aumento de estudos com cultura de células, como pôde ser observado numa revisão sistemática (1990 a 2005) sobre estudos de *laser* em periodontia²⁰. Dentre os artigos levantados, 21% são laboratoriais *in vitro*, apenas 13,6% são estudos em humanos com relevância clínica. Ressalta-se ainda que, dentro dessa contagem, 31,7% dos trabalhos publicados são revisões de literatura.

A presente revisão de literatura procurou abranger o período de 1981 a 2006, com consultas a bases de dados como a PubMed, citando os artigos mais relevantes sobre *laser* em baixa intensidade na cicatrização de feridas de tecidos moles bucais. O objetivo principal é apresentar trabalhos com diversos modelos experimentais, porém dando ênfase aos trabalhos *in vitro*, já que mostram resultados mais promissores e têm sido tema da maioria das publicações mais recentes.

Revisão de literatura

Estudos em humanos e animais

Os estudos realizados em humanos e animais, em sua maioria, mostram resultados duvidosos em relação aos efeitos da LILT na cicatrização de feridas. Muitos deles são mal delineados e pouco controlados, o que torna seus resultados duvidosos.

Em relação às pesquisas com humanos, algumas relataram resultados positivos, como cura de úlceras persistentes¹², redução de dor após extração de terceiros molares²¹, cicatrização de incisões na

mucosa bucal²² e cicatrização após gengivoplastia²³. Outras não verificaram efeito algum na redução da inflamação gengival¹⁷, na aceleração da cicatrização de gengivoplastias^{15,16} e na melhora da dor, edema e trismo após extração de terceiros molares^{24,25}.

Os trabalhos em animais seguem um padrão semelhante. A maioria dos estudos em ratos e camundongos mostra melhores resultados na aceleração da cicatrização de feridas²⁶⁻³¹, ao passo que outros não relatam a observação dos efeitos do *laser* em estudos feitos com cães³², ratos^{14,33} e coelhos¹³.

Estudos com cultura de células

Os estudos com cultura de células têm a vantagem de permitir a avaliação isolada de um componente do tecido ou parte de um processo, evitando variáveis individuais. A extração dos resultados para a clínica deve ser vista com cautela, porém podem ser utilizados como parâmetros ou guias para futuros estudos *in vivo*.

Soudry et al.⁶ (1988) observaram uma aceleração do crescimento de fibroblastos gengivais humanos após estímulo com *laser* de He-Ne (632,8 nm) por vários dias e com dose de 1,2 J/cm². O melhor efeito foi obtido com quatro dias de tratamento. Os mesmos efeitos foram observados por Porreau-Schneider et al.³⁴ (1989), porém estes autores relataram mudanças morfológicas em nível ultraestrutural, como hiperplasia mitocondrial e desenvolvimento de microfilamentos citoplasmáticos, causadas pela ação do *laser*.

Utilizando cultura de fibroblastos humanos, van Breugel e Bär³⁵ (1992) testaram a proliferação celular e a produção de colágeno tipo I, variando a potência e o tempo de exposição durante a aplicação de um *laser* He-Ne (630 nm). Seus resultados mostraram que potências abaixo de 2,91 mW intensificaram a proliferação celular, ao passo que as mais altas não produziram efeito algum, revelando uma produção de colágeno inversamente proporcional à proliferação celular.

Loevschall e Arenholt-Bindslev⁷ (1994) realizaram um trabalho *in vitro* com cultura de fibroblastos da mucosa bucal de humanos. O *laser* de GaAlAs (812 nm) foi aplicado uma vez, em doses de 4,5 a 4500 mJ/cm². Não houve mudanças morfológicas nem na viabilidade das células após a irradiação, mas, sim, um aumento significativo da síntese de DNA. O grupo que mostrou melhores resultados foi o que recebeu 0,45 J/cm².

Yu et al.⁹ (1994) avaliaram a capacidade do *laser* vermelho 660 nm de estimular a produção do fator de crescimento de fibroblastos básicos (bFGF) por fibroblastos 3T3. Os resultados mostraram que a concentração de bFGF foi significativamente maior no grupo irradiado com 2,16 J/cm². Em outro trabalho deste grupo¹⁰, os autores concluíram que o *laser* também modula a liberação de fator de crescimento transformador (TGFβ) e fator de crescimento deri-

vado de plaquetas (PDGF) pelos fibroblastos. Assim, sugeriram que a bioestimulação pelo *laser* pode estar associada à regulação das células via produtos autócrinos dos diferentes fatores de crescimento.

A redução da produção de citocinas pró-inflamatórias (PGE2) por fibroblastos gengivais humanos foi avaliada por Sakurai et al.¹¹ (2000). O *laser* GaAlAs (830 nm) foi aplicado em doses de 0,95 a 6,32 J/cm² e inibiu a produção da PGE2 de forma dose dependente, chegando a reduzir cerca de 90% da sua produção. Os autores concluíram que há uma redução da expressão do gene cicloxygenase 2 (COX2), que regula a produção de prostaglandinas.

Almeida-Lopes et al.³ (2001), utilizando cultura primária de fibroblastos gengivais humanos, avaliaram os efeitos da LILT no crescimento celular, mantendo a dose fixa (2 J/cm²) e variando os comprimentos de onda (670, 692, 780, 786 nm). Os autores puderam observar que os *lasers* infravermelhos estimularam o crescimento celular em valores significativamente maiores do que os vermelhos. Outro achado importante foi que as células cultivadas em déficit nutricional (5% SFB) mostraram crescimento maior que os controles na mesma condição, ao passo que as cultivadas em condições ideais (10% SFB) apresentaram crescimento semelhante ao controle quando irradiadas. Foi sugerido também que períodos mais curtos de exposição – conseguidos com aumento da potência – aumentam o crescimento celular.

Kreisler et al.⁴ (2002) investigaram os efeitos do *laser* GaAlAs 890 nm na taxa de proliferação de fibroblastos humanos gengivais em cultura, com diferentes doses de energia. Foram aplicadas doses de 1,96, 3,92 e 7,84 J/cm² a cada 24h, durante dois ou três dias. Em todos os grupos teste houve maior atividade celular em relação aos de controle. Houve pico de atividade após 24h e, depois, um decréscimo até o terceiro dia.

Marques et al.³⁶ (2004) avaliaram a síntese de proteínas e a morfologia ultraestrutural de uma linhagem de fibroblastos gengivais humanos após irradiação com *laser* GaAlAs – 904 nm. A potência utilizada foi 120 mW e a densidade de energia, 3 J/cm², durante 24s. Foram observadas algumas mudanças ultraestruturais importantes nas mitocôndrias e no retículo endoplasmático rugoso, diminuindo a produção de colágeno tipo I e de proteínas por esses fibroblastos.

Com o intuito de definir parâmetros para utilização do *laser*, Moore et al.³⁷ (2005) estudaram os efeitos do comprimento de onda na proliferação de culturas primárias de células endoteliais de ratos e fibroblastos. Observou-se um aumento na proliferação de fibroblastos com todos os comprimentos de onda do espectro vermelho, porém mais evidentes com 665 e 675 nm. As células endoteliais mostraram proliferação em todos os comprimentos de onda estudados, tendo seu pico com 655 nm. O *laser* infravermelho foi inibitório para os fibroblastos e

gerou a menor taxa de proliferação celular para as células endoteliais.

Com o intuito de investigar os efeitos da LILT com um *laser* Er:YAG, Pourzarandian et al.³⁸ (2005) utilizaram uma cultura de fibroblastos gengivais humanos e irradiação pulsada de 30 a 350 mJ/pulso, com taxa de repetição de 30 Hz e 200 µs de duração do pulso. A densidade de energia variou de 1,68 a 5 J/cm², sendo a ponta do aparelho colocada a uma distância de 15 cm da placa de cultura. Após três dias de cultivo, observou-se que o *laser* aumentou significativamente o número de células com irradiações até 3,37 J/cm², sendo esta a dose ótima para a proliferação dos fibroblastos.

Azevedo et al.³⁹ (2006) realizaram um estudo para avaliar o efeito de diferentes densidades de potência (mW/cm²) na biomodulação de fibroblastos gengivais humanos. O *laser* utilizado foi um diodo GaAlAs, com 2 J/cm² de densidade de energia. O grupo de 10 mW apresentou maior crescimento celular durante todo o experimento, levando à conclusão de que quanto menor a densidade de potência, maior o crescimento celular.

Discussão

A discussão sobre estudos de terapia com *laser* em baixa intensidade torna-se complexa, pois é difícil comparar trabalhos tão diferentes entre si quanto à metodologia e aos resultados. A controvérsia inicia-se a partir de sua denominação na literatura, como pode ser observado na estratégia de busca da revisão sistemática de Chow e Barnsley² (2005). Estes autores utilizaram cerca de 19 palavras-chave para conseguir o levantamento detalhado dos artigos disponíveis sobre o assunto². Entre elas, o termo “terapia com *laser* em baixa intensidade (LILT)” é o mais adequado e o que melhor exprime o tipo de tratamento. A denominação “*laser* de baixa potência”, encontrada em muitos artigos, foi excluída pelo fato de ser possível fazer a fotobiomodulação com *lasers* de alta potência no modo desfocado e afastado dos tecidos, conforme mostrado no estudo de Pourzarandian et al.³⁸ (2005).

Outra dificuldade encontrada ao tentar comparar estudos com *laser* em baixa intensidade é a falta de informação sobre todos os parâmetros utilizados. Os autores van Breugel e Bar³⁵ (1992) comentaram ser a causa dos resultados conflitantes desses estudos o grande número de variáveis utilizadas e sua pobre descrição. Após 13 anos, Chow e Barnsley² (2005), numa revisão sistemática a respeito do uso da LILT para tratamento de dores cervicais, relataram a mesma marcante heterogeneidade entre os estudos, principalmente em relação aos parâmetros de utilização do *laser*, dose, técnica de aplicação e frequência de tratamento. Estes autores ainda evidenciaram falhas na informação desses parâmetros nos artigos, o que é fundamental para a análise e

comparação entre os estudos. Segundo eles, os seguintes parâmetros deveriam ser descritos no texto para uma correta análise dos dados:

- parâmetros do *laser*: potência (W ou mW), modo (contínuo ou pulsado), parâmetros do pulso (frequência Hz, duração do pulso nanosegundos), meio ativo do *laser*, comprimento de onda (λ), tipo de ponta, calibração do aparelho de *laser* em momentos apropriados do estudo;
- parâmetros da dose: densidade de energia (J/cm^2), densidade de potência (W/cm^2), área tratada ou área da ponta ativa (cm^2 ou mm^2), tempo de aplicação (s), número de pontos tratados, número de joules por ponto, número total de joules por tratamento;
- técnica de aplicação: modo de aplicação (ponto ou varredura), local de aplicação;
- tipo de tratamento: frequência do tratamento (diária, etc.), número de tratamentos.

Em geral, os estudos utilizam fluências entre 1 e 10 J/cm^2 e os tratamentos são administrados diariamente, a cada dois dias ou três a quatro vezes por semana¹⁸. Essas estratégias de tratamento parecem ter permanecido a partir do empirismo dos primeiros estudos e, provavelmente em razão das limitações da prática clínica, como a necessidade de tratar grande número de pacientes com, na maioria das vezes, apenas um aparelho de *laser*. E ainda, os efeitos fotobiomodulatórios são diferentes nas diversas linhagens celulares e espécies, o que pode explicar os resultados conflitantes da literatura.

Na busca de uniformizar parâmetros e mostrar efeitos positivos do *laser*, Lowe et al.⁴⁰ (1998) sugeriram que mais estudos histológicos deveriam ser realizados, pelos quais a histologia de rotina determinasse tipos celulares, proliferação celular e vascular, produção de colágeno e resposta inflamatória. Isso mostra que as pesquisas com *laser* têm seguido a ordem inversa pela qual um estudo científico deve ser conduzido. As pesquisas mais antigas eram realizadas em humanos e tratavam de pequenos grupos doentes ou sadios. Estas investigações são classificadas como pesquisa clínica de fase I e II. Como os resultados em humanos foram inconclusivos, houve uma tendência a regredir aos estudos pré-clínicos com animais e, mais recentemente ainda, às pesquisas pré-clínicas com cultura de células.

Seguindo essa tendência inversa, os estudos de Damante et al.^{15,16} (2004) mostraram que a clínica e a histomorfometria não foram capazes de detectar efeitos da LILT na cicatrização de gengivoplastias em humanos, se realmente existirem. O controle da proliferação e secreção, no caso do organismo como um todo, é um processo muito mais dinâmico se comparado a uma cultura de células, porque no organismo há uma hierarquia de estruturas.

Já os estudos *in vitro* têm mostrado efeitos positivos do *laser* nos diversos mecanismos envolvidos na cicatrização de feridas. Porém, esses resultados

devem ser vistos com cautela. Muitas vezes, nos diversos estudos com culturas de células, os passos para o subcultivo, tais como tripsinização, troca do meio, troca dos componentes do soro e variações de temperatura, também podem influenciar na sensibilidade celular à irradiação em baixa intensidade⁴¹. Por outro lado, a utilização de cultura primária justifica-se pelo fato de que alguns aspectos de função especializada são fortemente expressos nesse tipo de cultura, particularmente quando ela se torna confluente. Nesse estágio, a aparência morfológica está mais próxima do tecido original; a cultura adquire uma estabilidade e é tipificada por células resistentes e de rápida proliferação⁴². A grande vantagem dos estudos com cultura de células é poder estudar isoladamente os tipos celulares envolvidos na cicatrização de feridas, observando como se comportam dentro de um mecanismo mais complexo, como ocorre no organismo.

Considerações finais

Diante do exposto na presente revisão, a terapia com *laser* em baixa intensidade pode ter papel relevante na cicatrização de feridas. Apesar de a literatura ser controversa a respeito do assunto, e muitas vezes não demonstrar efeitos positivos do *laser*, as pesquisas básicas *in vitro* destacam-se pelos seus resultados promissores. É com base nesses estudos que será possível esclarecer os mecanismos de ação do *laser* na cicatrização de feridas e determinar protocolos-padrão de aplicação *in vivo*.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fapesp pelo auxílio à pesquisa nº 05/55431-0, a qual financiou a tese de doutorado que deu origem a esta revisão de literatura.

Abstract

Low-intensity lasers are used as therapeutic tools after conventional treatment, to achieve anti-inflammatory and analgesic effects and acceleration of wound healing. This therapy gives a more comfortable post-surgical period with the possibility of reducing medicine use. Besides the controversial results in literature, sometimes with positive, sometimes with negative results, the cell culture research has been showing promising findings. They showed that laser is responsible for enhancement of proliferation and cellular activity, increase in collagen production, DNA synthesis and growth factor production and reduction of prostaglandins. This literature review aims at showing the existing controversies between studies on low-intensity laser therapy (LILT) for acceleration of wound healing, citing human and animal papers and giving emphasis on cell culture research. The last one has been showing promising results and helps to understand the mechanisms of action

of lasers. In conclusion, it is possible to assert that, although literature is controversial about this subject, the basic research *in vitro* has promising results. With these studies, it will be possible to clarify the mechanisms of action of laser on wound healing and to establish application protocols in humans.

Key words: Laser. Low-intensity laser therapy. Wound healing. Fibroblasts.

Referências

1. Tunér J, Hode L. Laser therapy in dentistry and medicine. Edsbruk: Prima Books; 1996.
2. Chow RT, Barnsley L. Systematic review of the literature of low-level laser therapy (LLLT) in the management of neck pain. *Lasers Surg Med* 2005; 37:46-52.
3. Almeida-Lopes L, Rigau J, Zângaro RA, Guidugli-Neto J, Jaeger MMM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med* 2001; 29:179-84.
4. 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* 2002; 30:365-9.
5. Pereira AN, Eduardo CP, Matson E, Marques MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg Med* 2002; 31:263-7.
6. Soudry M, Franquin JC, Porreau-Schneider N, Martin PM. Effect of a helium-neon laser on cellular growth: an *in vitro* study of human gingival fibroblasts. *J Biol Buccale* 1988; 16(3):129-35.
7. Loevschall H, Arenholt-Bindslev D. Effect of low-level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts *in vitro*. *Lasers Surg Med* 1994; 14:347-54.
8. Skinner SM, Gage JP, Wilce PA, Shaw RM. A preliminary study of the effects of laser radiation on collagen metabolism in cell culture. *Aust Dent J* 1996; 41(3):188-92.
9. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. *Photochem Photobiol* 1994; 59(2):167-70.
10. Yu W, Naim JO, Lanzafame R. The effects of photo-irradiation on the secretion of TGF- β & PDGF from fibroblasts *in vitro*. *Lasers Surg Med* 1994; (Suppl 6):8.
11. Sakurai Y, Yamaguchi M, Abiko Y. Inhibitory effect of low level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Europ J Oral Sci* 2000; 108(1):29-34.
12. Mester E, Mester A, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med* 1985; 5(1):31-9.
13. Braverman B, McCarthy RJ, Ivankovich AD, Forde DE, Overfield M, Bapna MS. Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. *Lasers Surg Med* 1989; 9:50-8.
14. Walker MD, Rumpf S, Baxter GD, Hirst DG, Lowe AS. Effect of low intensity laser irradiation (660 nm) on a radiation-impaired wound-healing model in murine skin. *Lasers Surg Med* 2000; 26(1):41-7.
15. Damante CA, Greghi SLA, Sant'Ana ACP, Passanezi E, Taga R. Histomorphometric study of the healing of human oral mucosa after gingivoplasty and low-level laser therapy. *Lasers Surg Med* 2004; 35:377-84.
16. Damante CA, Greghi SLA, Sant'Ana ACP, Passanezi E. Clinical evaluation of the effects of low-intensity laser (GaAlAs) on wound healing after gingivoplasty in humans. *J Appl Oral Sci* 2004; 12(2):133-6.
17. Rydén H, Persson L, Preber H, Bergström J. Effect of low power level energy laser irradiation on gingival inflammation. *Swed Dent J* 1994; 18:35-41.
18. Brondon P, Stadler I, Lanzafame RJ. A study of the effects of phototherapy dose interval on photobiomodulation of cell cultures. *Lasers Surg Med* 2005; 36:409-13.
19. Walsh LJ. The current status of low-level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J* 1997; 42(4):247-54.
20. Cobb CM. Lasers in periodontics: A review of the literature. *J periodontol* 2006; 77:545-64.
21. Clokie C, Bentley KC, Head TW. The effects of the helium-neon laser on postsurgical discomfort: A pilot study. *J Can Dent Ass* 1991; 57(7):584-6.
22. Neiburger EJ. Rapid healing of gingival incisions by the Helium-Neon diode laser. *J Mass Dent Soc* 1999; 48(1):8-13.
23. Amorim JCF, de Souza GR, Silveira L de B, Prates RA, Pinnotti M, Ribeiro MS. Clinical study of the gingiva healing after gingivectomy and low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg* 2006; 4(5):588-94.
24. Fernando S, Hill CM, Walker R. A randomized double blind comparative study of low level laser therapy following surgical extraction of lower third molar teeth. *Brit J Oral Maxillofac Surg* 1993; 31:170-2.
25. Carrillo JS, Calatayud J, Manso FJ, Barberia E, Martinez JM, Donado M. A randomized double blind clinical trial on the effectiveness of helium-neon laser in the prevention of pain, swelling and trismus after removal of impacted third molars. *Int Dent J* 1990; 40:31-6.
26. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. *Amer J Surg* 1971; 122(4):532-5.
27. Kana JS, Hutschenreiter G, Haina D, Waidelich W. Effect of low power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg* 1981; 116:293-6.
28. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg Med* 1997; 20(1):56-63.
29. Garcia VG, Okamoto T, Kina JR. Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com raio *laser*. Estudo histológico em ratos. *Rev Odontol UNESP* 1996; 25(1):37-48.
30. Anders JJ, Byrnes KR, Barna L, Chenault VM, Longo L, Miracco C. FGF expression increases with low power laser irradiation during healing of cutaneous wounds in normal and diabetic *psammomys obesus*. *Lasers Surg Med* 2002; (suppl 14):12.
31. Pinfield CE, Liebano RE, Hochman BS, Ferreira LM. Helium-Neon laser in viability of random skin flaps in rats. *Lasers Surg Med* 2005; 37:74-7.
32. In de Braekt MMH, van Alphen FAM, Kuijpers-Jagtman AM, Maltha JC. Effect of low level laser therapy on wound healing after palatal surgery in Beagle dogs. *Lasers Surg Med* 1991; 11:462-70.
33. Hall G, Anneroth G, Schennings T, Zetterqvist L, Rydén H. Effect of low-level energy laser irradiation on wound healing. An experimental study in rats. *Swed Dent J* 1994; 18:29-34.
34. Porreau-Schneider N, Soudry M, Remusat M, Franquin JC, Martin PM. Modifications of growth dynamics and ultrastructure after helium-neon laser treatment of human gingival fibroblasts. *Quintessence Int* 1989; 20:887-93.
35. van Breugel HHFI, Bär D. Power density and exposure time of He-Ne laser irradiation are more important than total energy dose in photobiomodulation of human fibroblasts *in vitro*. *Lasers Surg Med* 1992; 12:528-37.
36. Marques MM, Pereira NA, Fujihara NA, Nogueira FN, Eduardo CP. Effect of low-power laser irradiation on protein synthesis and ultrastructure of human gingival fibroblasts. *Lasers Surg Med* 2004; 34(3):260-5.

37. Moore P, Ridgway TD, Higbee RG, Howard EW, Lucroy MD. Effect of wavelength on low-intensity laser irradiation-stimulated cell proliferation *in vitro*. Lasers Surg Med 2005; 36:8-12.
38. Pourzarandian A, Watanabe H, Ruwanpura SMPM, Aoki A, Ishikawa I. Effect of low-level Er:YAG laser irradiation on cultured human gingival fibroblasts. J Periodontol 2005; 76(2):187-93.
39. Azevedo LH, Eduardo F de P, Moreira MS, Eduardo CP, Marques MM. Influence of different power densities of LILT on cultured human fibroblast growth: a pilot study. Lasers Med Sci 2006; 21(2):86-9.
40. Lowe AS, Walker MD, O'Byrne M, Baxter GD, Hirst DG. Effect of low intensity monochromatic light therapy (890 nm) on a radiation impaired, wound healing model in murine skin. Lasers Surg Med 1998; 23:291-8.
41. Karu TI. Photobiology of low-power laser effects. Health Phys 1989; 56(5):691-704.
42. Freshney IR. Culture of animal cells: a manual of basic technique. 4. ed. New York: Wiley; 2000.

Endereço para correspondência

Carla Andreotti Damante
Rua Antonio Xavier de Mendonça, 7-25
17012-091 - Bauru - SP
Fone: (14) 32232640 / (14) 81171213
E-mail: cdamante@rocketmail.com