

# Efeito da terapia com laser de arsenieto de gálio e alumínio (660Nm) sobre a recuperação do nervo ciático de ratos após lesão por neurotmese seguida de anastomose epineural: análise funcional

Effect of gallium-aluminum-arsenide laser therapy (660Nm) on recovery of the sciatic nerve in rats following neurotmesis lesion and epineural anastomosis: functional analysis

Reis FA<sup>1</sup>, Belchior ACG<sup>1</sup>, Nicolau RA<sup>2</sup>, Fonseca TS<sup>1</sup>, Carvalho PTC<sup>1</sup>

## Resumo

**Contextualização:** As lesões nervosas periféricas podem comprometer atividades diárias de um indivíduo e resultam em perda da sensibilidade e motricidade do território inervado. **Objetivo:** Com o intuito de acelerar os processos regenerativos, objetivou-se analisar a influência da aplicação do laser de arsenieto de gálio e alumínio (AsGaAl, 660Nm) sobre a recuperação funcional do nervo ciático de ratos. **Materiais e métodos:** O nervo ciático de 12 ratos Wistar foi submetido à lesão por neurotmese e anastomose epineural e divididos em dois grupos: controle e laserterapia. Após a lesão, utilizou-se o laser de GaAlAs, 660Nm, 4J/cm<sup>2</sup>, 26,3mW, feixe de 0,63cm<sup>2</sup>, em três pontos equidistantes sobre a lesão, por 20 dias. As impressões das pegadas dos animais foram obtidas antes e após (sete, 14 e 21 dias pós-operatórios) o procedimento cirúrgico e calculou-se o índice funcional do ciático (IFC). **Resultados:** A comparação do IFC não resultou em diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os grupos. **Conclusões:** Conclui-se que os parâmetros e métodos empregados na laserterapia demonstram resultados nulos sobre o IFC no período avaliado.

**Palavras-chave:** regeneração nervosa; terapia a laser de baixa intensidade; nervo ciático.

## Abstract

**Context:** Peripheral nerve injuries result in sensory and motor losses in the innervated area and can hinder individuals' daily activities. **Objective:** The objective was to analyze the influence of applying gallium-aluminum-arsenide (GaAlAs) laser (660Nm) on the functional recovery of the sciatic nerve in rats. **Methods:** The sciatic nerve of 12 Wistar rats was subjected to injury consisting of neurotmesis and epineural anastomosis. The rats were divided into two groups: control and laser therapy. After the injury, a GaAlAs laser was used (660Nm, 4J/cm<sup>2</sup>, 26.3mW and 0.63cm<sup>2</sup> beam) at three equidistant points on the injury, for 20 days. Footprint impressions were obtained from the animals before and seven, 14 and 21 days after the surgical procedure and the sciatic functional index (SFI) was calculated. **Results:** Comparison of the SFI did not show any significant difference ( $p>0.05$ ) between the two groups. **Conclusions:** The parameters and methods used for the laser therapy did not produce any effect on the SFI over the period evaluated.

**Key words:** nerve regeneration; low-level laser therapy; sciatic nerve.

Recebido: 17/07/2007 – Revisado: 12/11/2007 – Aceito: 14/03/2008

<sup>1</sup> Curso de Fisioterapia, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (Uniderp) – Campo Grande (MS), Brasil

<sup>2</sup> Laboratório de Biomodulação Tecidual, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba (Univap) – São José dos Campos (SP), Brasil

Correspondência para: Filipe Abdalla dos Reis, Rua Goiás, 1.709, Vila Célia, CEP 79022-355, Campo Grande (MS), Brasil, e-mail: fi\_abdalla@terra.com.br

## Introdução ::::

Os nervos periféricos são alvos constantes de lesões de origem traumática, como esmagamento e secções totais, resultando em diminuição ou perda da sensibilidade e motricidade no território inervado, cuja severidade dependerá do acometimento de estruturas. O comprometimento das atividades diárias de pacientes com lesão de nervo periférico é fator determinante para estabelecer metas de recuperação precoce do mesmo<sup>1</sup>.

A recuperação funcional, após uma lesão nervosa periférica, tem intrigado pesquisadores há muito tempo, com produção de grande quantidade de estudos científicos sobre as mais variadas técnicas de reparação, fenômenos envolvidos na regeneração e métodos de avaliação dos resultados. Embora haja certa recuperação na maioria das lesões nervosas, estas ocorrem lentamente e, muitas vezes, de forma incompleta<sup>2</sup>. Estima-se que a incidência das lesões traumáticas em alguns países seja superior a 500.000 novos casos anualmente<sup>1</sup>, dos quais 2,8% dos pacientes adquirem incapacidades vitalícias em virtude do elevado tempo de regeneração nervosa – em torno de dois meses<sup>3</sup>. Tal fato justifica a continuidade da produção de terapias que permitam subtrair o nível de lesão e incapacidade.

Para avaliação do nível de lesão nervosa, em situações experimentais, a avaliação funcional da marcha demonstra-se um método confiável e reprodutível<sup>4,5</sup>. Em 1982, de Medinaceli, Freed e Wyatt<sup>5</sup> propuseram a utilização de um método de avaliação denominado índice funcional do ciático (IFC), baseado em mensurações das patas traseiras de ratos. Este método foi realizado entre um grupo controle (normal) e grupos experimentais, após secção e esmagamento do nervo ciático. O experimento consistia em obter imagens das pegadas dos animais, quando estes caminhassem numa passarela construída especificamente para esse fim, sendo estas imagens registradas e analisadas.

É prática comum na Fisioterapia a utilização de instrumentos terapêuticos com finalidade regenerativa. Para lesões nervosas periféricas, a estimulação elétrica<sup>6</sup>, o ultra-som<sup>7</sup> e o laser de baixa intensidade (LBI)<sup>8</sup> têm sido utilizados com intuito de acelerar os processos regenerativos, buscando o retorno precoce da funcionalidade do paciente. O LBI começou a ser utilizado no processo de regeneração e recuperação funcional de lesões nervosas periféricas na década dos anos 1970, havendo vários relatos e divergências sobre os resultados obtidos<sup>9</sup>.

Com a análise de trabalhos, verificou-se que o laser de He-Ne, com emissão na região vermelha do espectro eletromagnético, é o comprimento de onda mais estudado em biomodulação da resposta biológica em processo de reparação.

No presente momento, novos comprimentos de onda estão sendo desenvolvidos e pesquisados, como os lasers emitindo radiação nas faixas de 650 a 830nm. Pode-se observar que, em muitos estudos, a descrição de parâmetros de irradiação, como dose, potência média, tempo e modo de aplicação, são expressamente variados, o qual promove a difícil compreensão metodológica para a reprodução dos resultados e dificuldades comparativas entre os estudos.

Considerando a escassa reprodutibilidade de diversos trabalhos citados na literatura, adicionado à insatisfatória exposição metodológica dos dados previamente observados, este estudo objetivou avaliar os efeitos da laserterapia de baixa intensidade sobre o processo de reparação do nervo ciático. A investigação de um modelo experimental ligada à análise da avaliação da recuperação funcional pode fornecer dados relevantes para uma base de aplicabilidade clínica futura no tratamento de lesões nervosas.

## Materiais e métodos ::::

### Animais

Foram utilizados 12 ratos machos adultos (três meses de idade), da linhagem Wistar, com peso corporal variando de 300 a 350g, provenientes do Biotério Central da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal (Uniderp), mantidos em condições controladas de luminosidade e temperatura, seis animais por gaiola, com alimentação padrão e água *ad libitum*.

O rato foi escolhido como animal de experimentação pela facilidade de aquisição, manuseio e também pelo baixo custo operacional. Além destes fatores, a similaridade de distribuição dos troncos nervosos com os humanos e a adequada característica anatômica para procedimentos cirúrgicos facilitou a escolha deste animal<sup>1</sup>.

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Paraíba (Univap), sob o protocolo nº L185/2005/CEP.

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais, conforme o procedimento a ser realizado:

- grupo controle (n=6): animais submetidos à lesão por neurotome do nervo ciático unilateral, com anastomose epineural e não-irradiados;
- grupo laserterapia (n=6): animais submetidos à lesão por neurotome do nervo ciático unilateral, com anastomose epineural e subsequente irradiação com o laser na região lesionada por 20 dias consecutivos.

## Procedimento cirúrgico

Após a pesagem, cada animal recebeu administração de pré-anestésico butorfanol (Turbogesic, 2mg/kg) associado à acepromazina (Acepran, 1mg/kg), ambos em dose única, via intramuscular. Passados 15 minutos, administraram-se zolazepan e tiletamina (Zoletil 50, 40mg/kg).

Uma vez anestesiado, o animal foi posicionado em decúbito ventral, mantendo-se as patas dianteiras e traseiras em abdução. Foi realizada a anti-sepsia com álcool-iodado, tricotomia e incisão sobre a face lateral da coxa direita, desde a altura do trocânter maior até o joelho. O nervo ciático foi abordado e com o auxílio de lupa, de forma padronizada, a cerca de 3mm distal a sua emergência, foi realizada uma lesão nervosa por transecção completa do nervo ciático. Após a lesão, realizou-se anastomose epineural do nervo ciático com três pontos simples de monofilamento nylon (Mononylon 10-0, PolySuture®, Minas Gerais, Brasil). Após a realização da lesão, os tecidos moles foram suturados com pontos simples, utilizando fio de nylon monofilamento (Mononylon 5/0, Ethicon®). Após a cirurgia, cada animal recebeu uma dose única de Fentanil® por via intraperitoneal (0,032mg/kg) para profilaxia de infecções e promoção analgésica, respectivamente. Nos dois dias consecutivos, a cada 12 horas após a lesão, foi mantida a administração do analgésico.

A lesão por transecção completa foi preferida neste estudo a uma lesão por esmagamento, pois esta preserva a estrutura de sustentação do nervo, aumentando o prolongamento axonal, visto que os tubos neurais estão em continuidade, facilitando, assim, a regeneração.

## Laserterapia

Utilizou-se o laser de arsenieto de gálio e alumínio (Ga-AlAs), da marca KLD® (Amparo, São Paulo, Brasil), modelo Endophoton, com comprimento de onda de 660nm, potência de 26,3mW, área do feixe de 0,63cm<sup>2</sup>, contínuo. A forma de aplicação deu-se pelo método transcutâneo pontual e em contato (para reduzir a reflexão), com densidade de energia de 4J/cm<sup>2</sup>, densidade de potência de 0,0413W/cm<sup>2</sup> e tempo de 96,7 segundos. A potência média do equipamento foi aferida previamente ao experimento, com o auxílio do medidor de potência (2-Watt Broadband Power/Energy Meter, Modelo 13 PEM 001/J, Holanda). Foram irradiados três pontos sobre a incisão cirúrgica: um ponto em cada extremidade e outro no ponto centro. A laserterapia foi iniciada no primeiro dia pós-operatório e durante os 20 dias consecutivos. Os animais do grupo controle foram submetidos ao mesmo procedimento, porém com o laser desligado.

## Análise funcional

As impressões das pegadas dos animais foram obtidas antes e após (sete, 14 e 21 dias pós-operatórios) o procedimento cirúrgico, por meio do emprego de tiras de papel milimetrado, acopladas em uma passarela de marcha construída de acordo com proposta de Dijkstra et al.<sup>3</sup>. Após o treino de marcha inicial (cinco minutos), as patas dos animais foram pintadas com tinta nanquim, registrando-se a impressão das pegadas para a análise do IFC.

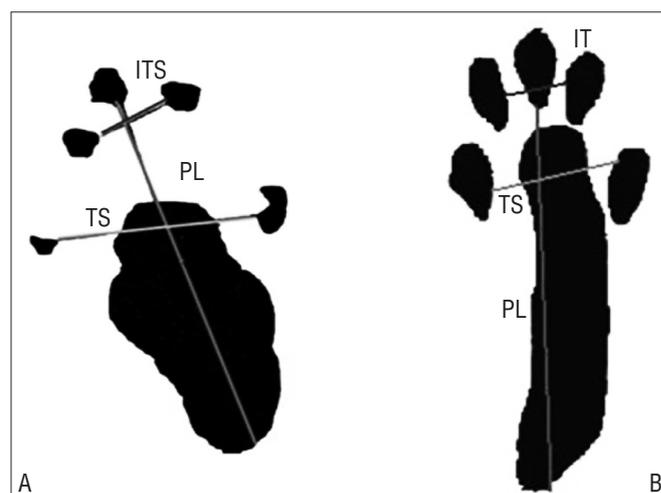
As medidas coletadas eram: espaço entre a segunda e a quarta falange distal (ITS), espaço entre a primeira e a quinta falange distal (TS) e espaço entre a borda proximal do pé e a terceira falange distal (PL). Após obter os valores dessas variáveis, estes eram introduzidos numa equação matemática, em que os resultados representavam o percentual do déficit do lado lesado (E=pata de estudo) comparado ao lado normal (N=pata normal). A função normal, ausência de lesão, é indicada por um índice de 0% enquanto que -100% representa a perda completa da função, lesão total do nervo (Figura 1)<sup>10</sup>.

## Análise dos dados

Os dados do IFC foram submetidos a testes estatísticos por análise comparativa (ANOVA) com pós-teste de Bonferroni entre o grupo controle e grupo laserterapia para sete, 14 e 21 dias pós-operatórios, com nível de significância de 5% (p<0,05).

## Resultados

O IFC no grupo controle foi, em média, de -35,9±48,0 nos valores coletados pré-lesão; -88,8±23,2, no sétimo dia pós-



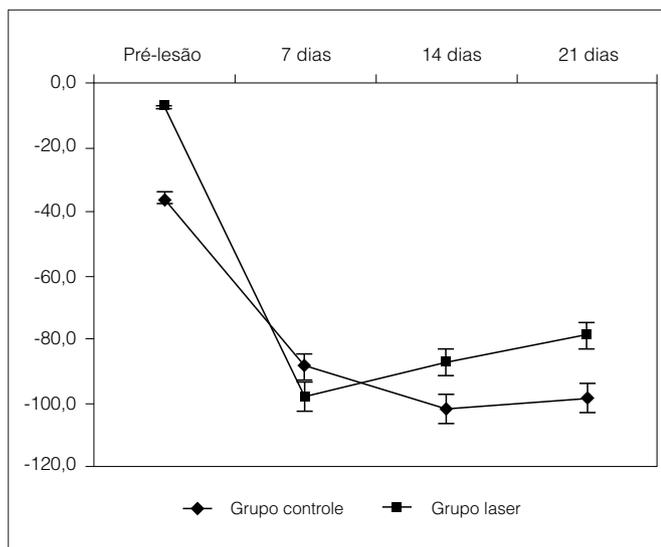
**Figura 1.** Esquema da impressão em papel da pata de um rato normal (A) e com lesão do nervo ciático (B) com as medidas ITS (espaço entre o segundo e quarto dedo), TS (espaço entre o primeiro e quinto dedo) e PL (espaço entre o calcanhar e o terceiro dedo).

operatório;  $-101,9 \pm 25,9$ , no 14° dia; e de  $-98,3 \pm 34,3$ , no 21° dia. No grupo laserterapia, obteve-se o valor médio de  $-7,3 \pm 18,3$  para valores coletados pré-lesão;  $-98,2 \pm 18,7$ , no sétimo dia pós-operatório;  $-87,4 \pm 9,1$ , no 14° dia; e  $-79,0 \pm 11,2$ , no 21° dia.

A análise estatística comparativa (ANOVA) do grupo controle, entre os diferentes dias de coleta do IFC, mostrou que apenas os valores da pré-lesão eram estatisticamente significantes ( $p < 0,001$ ) quando comparados com os demais dias (Tabela 1).

No grupo laserterapia, os valores entre pré-lesão comparados com o sétimo, 14° e 21° dias de pós-operatório apresentaram diferenças estatisticamente significante ( $p < 0,001$ ). Porém, não houve diferença entre o sétimo e 14°, 14° e 21° dias de pós-operatório ( $p > 0,05$ ).

Fazendo a comparação entre os dois grupos experimentais (controle *versus* laser), notou-se que não houve diferença significativa nos valores entre os quatro períodos de avaliação ( $p > 0,05$ ), conforme Figura 2.



**Figura 2.** Valores expressos em média e desvio-padrão do IFC dos grupos controle e laserterapia nos quatro dias de avaliação.

**Tabela 1.** Valores individuais do IFC nos grupos experimentais nos quatro períodos de avaliação, com as respectivas médias e desvios-padrão. Notar a análise comparativa dos valores dos IFC entre os diversos grupos, onde:  $^a\chi^b < 0,05$ ;  $^a\chi^c$ ,  $^a\chi^d < 0,01$ ;  $^e\chi^f$ ,  $^e\chi^g$ ,  $^e\chi^h < 0,001$  e demais comparações sem diferença significativa.

Rato	Índice funcional do ciático							
	Controle				Laser			
	Pré-lesão <sup>a</sup>	7 dias <sup>b</sup>	14 dias <sup>c</sup>	21 dias <sup>d</sup>	Pré-lesão <sup>e</sup>	7 dias <sup>f</sup>	14 dias <sup>g</sup>	21 dias <sup>h</sup>
R1	-6,60	-79,72	-93,30	-93,30	-9,53	-125,48	-93,30	-76,73
R2	-18,38	-93,30	-124,53	-62,53	-25,88	-79,59	-75,30	-90,81
R3	-24,91	-128,91	-141,94	-135,81	-1,58	-93,30	-93,30	-83,75
R4	-133,07	-77,90	-84,94	-91,53	23,16	-116,28	-93,30	-60,13
R5	-19,48	-77,90	-73,49	-65,19	-27,18	-93,30	-93,30	-87,91
R6	-12,71	-93,30	-93,02	-143,38	-2,97	-81,17	-75,91	-74,59
Média	-35,9	-88,8	-101,9	-98,6	-7,3	-98,2	-87,4	-79,0
Desvio-padrão	48,0	23,2	25,9	34,3	18,6	18,7	9,1	11,2

## Discussão

Há evidências, em pesquisas clínicas e experimentais<sup>11</sup>, de que um dos efeitos do laser é aumentar a função do nervo, prevenir a formação de feridas<sup>12</sup>, elevar o metabolismo dos neurônios e aumentar a capacidade de produção da mielina. Pelo fato da laserterapia não ser invasiva, a habilidade de irradiar nervos lesionados sem intervenções cirúrgicas é proveitosa.

Endo<sup>13</sup> afirmou que a lesão por neurotome introduz uma série de variáveis de difícil controle e padronização, porém não encontramos muitas dificuldades no presente estudo, visto que a lesão foi padronizada em todos os animais de ambos os grupos experimentais e a técnica microcirúrgica foi realizada por um profissional com experiência e treinamento especializado. Outro fato importante na escolha deste tipo de lesão é pela escassez de trabalhos que utilizam o laser na lesão por transecção.

Uma diversidade de modalidades cirúrgicas tem sido utilizada no reparo dos nervos periféricos, incluindo o reparo epineural, perineural, enxertos autógenos, enxertos de veias e entubulação, com ou sem fatores neurotróficos associados<sup>14</sup>. Adotou-se a técnica de anastomose epineural simples, pela facilidade de execução e por ter demonstrado alta resistência biomecânica à tração, conforme Temple et al.<sup>15</sup>.

O laser de He-Ne (632,8Nm) na região de emissão vermelha do espectro eletromagnético era o comprimento de onda mais estudado em biomodulação da resposta biológica em processo de reparação<sup>16,17</sup>. Atualmente, outros comprimentos de onda estão sendo desenvolvidos e pesquisados, como os lasers emitindo em 650-830Nm (GaAlAs)<sup>18,19</sup> e o de 904Nm (GaAs)<sup>20,21</sup>. Adotou-se o laser de GaAlAs com 660Nm por ser de baixa intensidade e com comprimento de onda muito utilizado na prática clínica; além disso, este comprimento de onda não possui números expressivos de estudos prévios sobre seus efeitos na regeneração nervosa periférica<sup>22</sup>.

Na clínica, a terapia com LBI emprega doses de 1 a 4J/cm<sup>2</sup>, associadas com potência de saída entre 10 a 90mW, sendo amplamente utilizada em diversas lesões musculoesqueléticas, assim como em processos álgicos e inflamatórios<sup>12</sup>. Baseado neste fato, justificou-se a densidade de 4J/cm<sup>2</sup> nesta pesquisa. É importante salientar que este parâmetro é extremamente variável nas pesquisas de laserterapia em regeneração nervosa.

A utilização do LBI como método terapêutico ainda possui contradições e seu efeito biomodulador sobre os nervos periféricos ainda está obscuro, pois alguns estudos apresentam resultados positivos<sup>18,21,22</sup> enquanto outros indicam que o laser não exerce qualquer influência sobre os nervos periféricos<sup>19</sup>.

A utilização da passarela de marcha é um método de avaliação muito comum<sup>23</sup>, possuindo grande aplicabilidade nas pesquisas experimentais pela fácil execução e baixo custo do método. Alguns estudos estão buscando a modernização desta coleta com a utilização de câmeras digitais, tornando possível a avaliação dinâmica<sup>3</sup>. Porém, o propósito desta pesquisa encaixava-se na utilização do método convencional com a passarela de madeira e utilização de tinta nanquim.

Os valores obtidos neste trabalho, quanto ao IFC, demonstram que, após a lesão nervosa por transecção completa, ocorreu perda funcional severa nos dois grupos experimentais no sétimo dia pós-operatório. No entanto, no grupo controle, o índice de função reduziu ainda mais no 14° e 21° dia, enquanto que, neste período, o grupo laser apresentava melhora funcional comparado ao sétimo dia – apesar da análise estatística não demonstrar resultados significativos entre os grupos.

Uma provável explicação para os baixos IFC do grupo irradiado no sétimo dia pós-operatório pode ser dada pelo fato de, nas primeiras horas após a ruptura do axônio, o corpo celular passa a apresentar alterações denominadas de cromatólise, caracterizada histologicamente por ingurgitamento da célula, degeneração da substância de Nissl (retículo endoplasmático rugoso do neurônio) e migração do núcleo do centro para a periferia. Estas alterações visam à síntese de proteínas (actina e tubulina) relacionadas à regeneração do citoesqueleto do axônio, em detrimento da produção de neurotransmissores, estando relacionadas ao transporte intracelular e à movimentação do cone de crescimento<sup>24</sup>.

Provavelmente, o período de sete dias após a lesão está marcado por estes eventos, mas a utilização da laserterapia dentro das 24 horas após a lesão poderia reduzir a perda funcional imediata, corroborando com a afirmação de Dahlin<sup>25</sup>. Após o sétimo dia pós-operatório, o grupo 2 (laser) apresentou uma linha de tendência ascendente quanto à

melhora da função, linha que só foi estabilizada e ascendente no grupo 1 (controle) após o 14° dia. No 21° dia de pós-operatório, observou-se que houve diferenças entre os IFC dos grupos laser e controle, mas sem diferença estatística. Entretanto, quando se analisa a evolução das curvas na Figura 1, observa-se que os valores médios foram diferentes, demonstrando a provável continuidade da ação do laser sobre o nervo ciático.

Segundo de Medinaceli<sup>26</sup>, por meio da lesão por esmagamento, verificou-se que, após um mês e meio a dois meses de lesão, a recuperação funcional nervosa alcança o seu platô, apesar de não ocorrer nenhuma mudança morfometricamente significativa. Um fato importante a ser mencionado trata-se do nível funcional pré-lesão, notando-se que ambos os grupos, neste período de avaliação, não apresentaram diferença estatisticamente significativa, demonstrando homogeneidade da amostra da pesquisa.

Apesar de não haver significância estatística entre os grupos experimentais quando se avalia o IFC, pode-se observar que, no grupo 2 (laser), não houve indícios de infecções e deiscências de pontos de sutura, o que pôde ser observado em alguns animais do grupo controle (deiscências). Outro fato observado é que os animais deste grupo utilizavam constantemente o membro lesionado para apoio durante a alimentação, ficando em apoio bipodal, e até mesmo para se coçar, enquanto que, no grupo controle, houve formação de deiscências, tornando-se clara a dificuldade de cicatrização da lesão dos tecidos adjacentes.

A base molecular que justificaria a efetividade da laserterapia sobre a regeneração nervosa ainda não está clara. Karu<sup>27</sup> verificou que a irradiação de mitocôndrias isoladas induzia alterações positivas sobre a homeostasia celular. Sugeriu que alguns componentes da cadeia respiratória (citocromos, flavinas e desidrogenase) são capazes de absorver luz de determinado comprimento de onda. Assim, esta absorção resulta em aumento da síntese de ATP (adenosina trifosfato), afetando os níveis de hidrogênio celular e ativando gradiente iônico (sódio, potássio, cálcio).

Apesar da melhora funcional estar associada com o aumento da área de bainha de mielina, outros eventos podem justificar esta melhora, tais como: melhora do transporte de energia e propagação de cálcio no citoplasma, o que geraria um incremento no potencial funcional celular<sup>27</sup>, aceleração do reparo de ferimentos e ao aumento de resistência do tecido cicatricial<sup>28</sup>, ação pró-inflamatória, assim como a aceleração da regeneração tecidual e a melhora da circulação sanguínea devem-se aos seguintes efeitos: 1) aumento da atividade dos leucócitos e fagócitos, e aumento de cálcio no citoplasma celular; 2) aceleração da divisão celular e crescimento; 3) ativação da síntese de proteínas e citocinas; e 4) relaxamento

das paredes dos vasos (vasodilatação) por fotólise de complexos como o NO e, conseqüentemente, postulou-se que estas reações levavam os efeitos indiretos como: bactericida, regenerativo e vasodilatador. Karu, Pyatibrat e Afanasyeva<sup>29</sup> afirmam que o óxido nítrico também está associado à produção de energia, estimulação da biogênese de mitocôndrias e apoptose, envolvido com efeitos analgésicos e aumento da microcirculação.

Novos estudos devem ser implementados, buscando variados comprimentos de onda ou até mesmo novas técnicas de

reparo, com a finalidade de esclarecer os efeitos da laserterapia neste tipo de lesão.

## Conclusão

A utilização do LBI arsenieto de gálio e alumínio (660nm) não culminou resultados positivos sobre a recuperação funcional em nervo ciático de ratos após lesão por neurotmesa seguida de anastomose epineural.

## Referências bibliográficas

- Rodríguez FJ, Valero-Cabré A, Navarro X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2004;1(2):177-85.
- Noble J, Munro CA, Prasad VS, Midha R. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1998;45(1):116-22.
- Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J Neurosci Methods*. 2000;96(2):89-96.
- Varejão AS, Meek MF, Ferreira AJA, Patrício JAB, Cabrita AMS. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods*. 2001;108(1):1-9.
- de Medinaceli L, Freed WJ, Waytt RJ. An index of the functional conduction of the rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Experimental Neurol*. 1982;77(3):634-43.
- Mendonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric current enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*. 2003;129(2):183-90.
- Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of the peripheral nerves? *J Neurosci Methods*. 2005;142(2):185-92.
- Gigo-Benato D, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of the literature. *Muscle Nerve*. 2005;31(6):694-701.
- Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med*. 1995;16(4):331-42.
- Lago Junior O, Bortolotto CV, Araújo AM, Donoso CPM, Kume PK, Repka JCD. Avaliação funcional e histológica do reparo de nervo ciático utilizando cola de fibrina e sutura em ratos Wistar. *Rev Bras Ortop*. 2005;40(1/2):69-78.
- Bagis S, Comelekoglu U, Sahin G, Buyukakilli B, Erdogan C, Kanik A. Acute electrophysiologic effect of pulsed gallium-arsenide low energy laser irradiation on configuration of compound nerve action potential and nerve excitability. *Lasers Surg Med*. 2002;30(5):376-80.
- Carvalho PTC, Mazzer N, dos Reis FA, Belchior ACG, Silva IS. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Cir Bras*. 2006;21(3):177-83.
- Endo C. Estudo dos efeitos do tratamento com laser num modelo experimental de lesão nervosa por esmagamento do nervo ciático em ratos [dissertação de Mestrado]. São Paulo (SP): USP; 2002.
- De Sá JM, Mazzer N, Barbieri CH, Barreira AA. The end-to-side peripheral nerve repair. Functional and morphometric study using the peroneal nerve of rats. *J Neurosci Methods*. 2004;136(1):45-53.
- Temple CLF, Ross DC, Dunning CE, Johnson JA. Resistance to disruption and gapping of peripheral nerve repairs: an in vitro biomechanical assessment of techniques. *J Reconstr Microsurg*. 2004;20(8):645-50.
- Schwartz F, Brodie C, Appel E, Kazimirsky G, Shainberg A. Effect of helium/neon laser irradiation on nerve growth factor synthesis and secretion in skeletal muscle cultures. *J Photochem Photobiol B*. 2002;66(3):195-200.
- Rochkind S, Nissan M, Alon M, Shamir M, Salame K. Effects of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. *Lasers Surg Med*. 2001;28(3):216-9.
- Snyder SK, Byrnes KR, Borke RC, Sanches A, Anders JJ. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and Neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser. *Lasers Surg Med*. 2002;31(3):216-22.
- Walsh DM, Baxter GD, Allen JM. Lack of the effect pulsed low-intensity infrared (820 nm) laser irradiation on nerve conduction in the human superficial radial nerve. *Lasers Surg Med*. 2000;26(5):485-90.
- Shin DH, Lee E, Hyun J, Lee SJ, Chang YP, Kim J, et al. Growth-associated protein-43 is elevated in the injured rat sciatic nerve after low power irradiation. *Neurosci Lett*. 2003;344(2):71-4.
- Byrnes KR, Waynant RW, Ilev IK, Wu X, Barna L, Smith K, et al. Light promotes regeneration and functional recovery and alters the immune response after spinal cord injury. *Lasers Surg Med*. 2005;36(3):171-85.

22. Nicolau RA, Martinez MS, Rigau J, Tomàs J. Effect of power 655 nm diode laser irradiation on the neuromuscular junctions of the mouse diaphragm. *Lasers Surg Med.* 2004;34(3):277-84.
23. Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transaction. *Exp Neurol.* 2001;168(1):192-5.
24. Johnson EO, Zoubos AB, Soucacos PN. Regeneration and repair of peripheral nerves. *Injury.* 2005;36 Suppl 4:S24-9.
25. Dahlin LB. The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Surg Hand.* 2004;4(3):143-55.
26. de Medinaceli L. Interpreting nerve morphometry data after experimental traumatic lesions. *J Neurosci Methods.* 1995;58(1-2):29-37.
27. Karu TI. Molecular mechanisms of the therapeutic effect of low-intensity laser irradiation. *Lasers Life Sci.* 1988;2:53-74.
28. Woodruff LD, Bounkeo JM, Brannon WM, Dawes KS, Barham CD, Waddell DL, et al. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg.* 2004;22(3):241-7.
29. Karu TI, Pyatibrat LV, Afanasyeva NI. A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. *Photochem Photobiol.* 2004;80(2):366-72.