

EFEITO ANTI INFLAMATÓRIO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE EM MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO MUSCULAR

PABLLO ROYTTIMANS VIANA FERNANDES, PATRICIA FROES MEYER,
RODRIGO MARCEL VALENTIM DA SILVA, LEANDRO MOURA DE FREITAS,
VICTOR PEDRO.

Autor: Pabllo Royttimans Viana Fernandes

Endereço: Rua Amaro Mesquita Nº: 23, Morro Branco, Natal-RN

Telefone: (84) 9613-1082 / (84) 8808-5087

Título Curto: EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO DO LASER NA LESÃO MUSCULAR /
ANTIINFLAMMATORY EFFECT OF LASER IN MUSCLE INJURY.

Palavras Chave: Lasers, Inflamação, Edema.

Keywords: lasers , inflammation , edema.

RESUMO

OBJETIVO: Investigar o efeito anti inflamatório do laser infravermelho em modelo experimental de lesão muscular.

METODOLOGIA: Para realização dos experimentos foram utilizados 10 ratos da raça Wistar divididos em 2 grupos distintos, o grupo controle (n=5) e o grupo laser (n=5) submetidos a lesão muscular no Gastrocnêmio direito, posteriormente o grupo controle foi tratado com o equipamento desligado e o grupo laser foi tratado com o laser infravermelho com densidade de energia de 4 J/cm², foram realizadas medições imediatamente antes e após a indução da lesão, após a aplicação do laser, 1,2,3,4,5 e 24h após a indução da lesão, em seguida os animais foram eutanasiados e dissecados os Gastrocnêmios direito para análise histológica. Para análise estatística foi utilizado o programa SPSS 19.0 com o teste de Mann-Whitney. Foi adotado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS: Os resultados obtidos na avaliação do edema dos músculos gastrocnêmios demonstraram em alguns momentos diferenças estatísticas significativas entre o grupo controle e o grupo laser, quando analisados histologicamente os músculos do grupo laser e comparados ao grupo controle, também foi observado diferença histológica expressiva.

CONCLUSÃO: a terapia laser de baixa intensidade com o laser infravermelho se mostrou uma alternativa viável para o tratamento de lesões musculares agudas de pequeno e médio porte.

Palavras-chave: lasers, inflamação, edema.

ANTI INFLAMMATORY EFFECT OF LOW-LEVEL LASER IN EXPERIMENTAL MODEL OF MUSCLE INJURY

ABSTRACT

OBJECTIVE: To investigate the anti-inflammatory effect of infrared laser in an experimental model of muscle injury.

METHODOLOGY: For the experiments 10 male Wistar rats were divided into 2 distinct groups, control group (n = 5) and laser group (n = 5) underwent right gastrocnemius muscle injury were used , subsequently the control group was treated with without power and the laser group was treated with the infrared laser with an energy density of 4J/cm², measurements were performed immediately before and after induction of the lesion after laser application, 1,2,3,4,5 and 24 after induction of injury, and then the animals were euthanized and the right gastrocnemius muscles dissected for histological analysis. For statistical analysis SPSS 19.0 program using the Mann - Whitney test was used. Significance level of 5 % was adopted .

RESULTS: The results obtained in the evaluation of edema of the gastrocnemius muscles showed some statistically significant differences in time between the control group and laser group when analyzed histologically muscles and laser group compared to the control group, also significant histological difference was observed.

CONCLUSION: Laser therapy of low-intensity infrared laser proved a viable alternative for the treatment of acute muscle injuries in small and medium.

Keywords: lasers, inflammation, edema.

INTRODUÇÃO

As lesões musculares estão entre os comprometimentos mais comuns nos atendimentos ortopédicos, elas acometem principalmente atletas, porém também pode atingir não praticantes de atividade física¹. Imediatamente após o surgimento de uma lesão, é desencadeado o processo de cicatrização tecidual² que tem sido convenientemente dividido em três fases, elas se sobrepõem de forma contínua e temporal: inflamatória, proliferativa e de remodelagem³. Logo nos primeiros instantes há uma complexa liberação de mediadores químicos que dão início ao processo de reparo tecidual, o qual se inicia pela inflamação, sendo esta a fase de migração de leucócitos e plaquetas⁴.

A fase inflamatória tem duração de 48 a 72 horas e caracteriza-se pelo aparecimento dos sinais clássicos da inflamação como dor, calor, rubor e edema. Os mediadores químicos inicialmente liberados promovem vasodilatação, aumentam a permeabilidade vascular e favorecem a quimiotaxia dos leucócitos⁵.

A resposta inflamatória é, em geral, benéfica ao organismo, resultando na eliminação de microrganismos indesejados por fagocitose ou lise, este processo biológico complexo que envolve componentes vasculares, celulares e uma diversidade de substâncias solúveis tem como função principal combater o estímulo indutor da resposta e iniciar a recuperação tecidual local⁶.

Acredita-se que a indução de uma resposta inflamatória venha a gerar gasto metabólico significativo em animais⁷, assim a dificuldade em modular essa resposta inflamatória pode provocar danos aos mesmos.

O laser terapêutico de Arsenieto de Gálio (As-Ga) na dose de 4 J/cm² influencia diretamente os estágios iniciais da reação inflamatória, minimizando a presença de células inflamatórias, ou seja, o laser atua como modulador da resposta inflamatória local nos estágios iniciais da lesão tissular⁸.

O primeiro feixe de luz *laser* foi criado em 1960 e baseados nesses estudos vários aparelhos surgiram nas ultimas décadas. Evidências dos efeitos bioestimulatórios da laserterapia de baixa intensidade tem sido descritas em décadas anteriores, e a partir disto inúmeros estudos têm sido conduzidos para estabelecer sua eficácia. Para alguns autores, o *laser* tem sido usado para acelerar o reparo de diferentes tecidos, incluindo o tecido muscular⁹.

Segundo Piva *et. al.*¹⁰ a terapia com uso do laser de baixa intensidade inibe a cascata do ácido araquidônico em tecidos lesados, o que leva à diminuição da produção de Prostaglandinas E2. Este fenômeno, posteriormente, altera a produção de bradicinina e de muitos tipos de citocinas inflamatórias. Além disso, o aumento do fluxo sanguíneo local melhora a acidose e, simultaneamente, promove a liberação e remoção de substâncias relacionadas à dor.

Conhecendo a capacidade do *laser* de proporcionar ao organismo uma melhor resposta à inflamação¹¹, com consequente redução de edema, minimização da sintomatologia dolorosa e bioestimulação celular, a terapia *laser* apresenta-se como uma alternativa favorável para processos que exibam reação inflamatória¹². Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito anti inflamatório do laser de baixa intensidade de As-Ga na lesão muscular.

METODOLOGIA

- **Delineamento do estudo, população e amostra**

Esta pesquisa trata-se de um estudo do tipo experimental no qual para realização dos experimentos utilizaram-se 10 ratos adultos, machos, da raça Wistar, com idade média de 11 ± 2 semanas e com peso médio de $164,1g \pm 31,21g$, todos acondicionados no biotério da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), em condições de umidade e temperatura ideais e com ingestão de água e ração *ad libitum* de acordo com o guia de cuidados e uso de animais de laboratório (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, EUA, National Research Council*).

- **Princípios éticos**

Todos os experimentos neste estudo seguiram os princípios éticos de experimentos com animais, elaborado pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), entidade filiada ao International Council of Laboratory Animal Science (ICLAS), e em consonância com as regras do UNI-RN. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UnP) através do protocolo Nº 003/2014.

- **Grupos experimentais**

Os ratos inicialmente foram selecionados aleatoriamente, acondicionados em gaiolas de polipropileno e separados em 2 grupos (com n de 5 cada), o grupo controle que foi feita a intervenção com o equipamento desligado e o grupo tratado com o laser de As-Ga.

- Grupo controle (n=5) os animais foram tratados com o equipamento desligado;
- Grupo As-Ga (n=5) os animais foram tratados com o laser infravermelho (904nm).

- **Protocolo de produção da lesão**

Primeiramente foi realizada a tricotomia da região de indução da lesão que ocorreu através da inoculação de 20 µl de formalina a 5% no ventre do músculo Gastrocnêmio direito dos animais que foram previamente sedados por Cetamina e Xilazina com doses de 0,1 ml por cada 100 g do peso do animal, foi medido 1 cm da interlinha articular posterior do joelho direito dos animais para padronizar o local da lesão.



Figura 1: Indução da lesão por inoculação de formalina.

- **Instrumento e forma de tratamento**

Foi utilizado para tratamento fototerapêutico pós-lesão, o laser de baixa intensidade PHYSIOLUX Dual (Bioset®) com a caneta de comprimento de onda infravermelho de As-Ga (904 nm), onde antes dos experimentos o equipamento foi devidamente calibrado e testado.

O método utilizado foi o de aplicação pontual, em contato direto da caneta sobre a região da lesão em dois pontos específicos na face medial e lateral do músculo gastrocnêmio, em ângulo de 90°, com dose de 4 J/Cm², o aparelho foi aplicado imediatamente após a lesão experimental.

Parâmetros para aplicação (As-Ga):

- Densidade de energia: 4 J/Cm²;
- Comprimento de onda: 904 nm;
- Regime de emissão: contínuo;
- Tipo de aplicação: pontual – um ponto na face medial e outro na face lateral do músculo, totalizando dois pontos em cada pata;
- Ângulo de incidência: 90° com a região tratada.

O laser infravermelho de As-Ga foi selecionado para este estudo em virtude do mesmo possuir um alto comprimento de onda, vista a necessidade do feixe atingir o tecido muscular, uma vez que esta é a propriedade que define a profundidade de penetração do laser no tecido irradiado. A densidade de energia

estabelecida para aplicação foi de 4 J/cm² em cada ponto devido a mesma ser indicada em processos inflamatórios agudos¹³.

- **Análise da extensão do edema**

Foi verificada a extensão do edema utilizando um paquímetro metálico digital (Mitutoyo/Stainless-Hardened®) posicionando-o sempre no terço médio do músculo avaliado onde foi verificado o edema nos períodos:

- M1: Imediatamente antes da indução da lesão;
- M2: Imediatamente após a indução da lesão e antes da aplicação do laser;
- M3: Imediatamente após a aplicação do laser;
- M4: 1h após a indução da lesão;
- M5: 2h após a indução da lesão;
- M6: 3h após a indução da lesão;
- M7: 4h após a indução da lesão;
- M8: 5h após a indução da lesão;
- M9: 24h após a indução da lesão.

Para fins de controle negativo foi medido o músculo Gastrocnêmio contra lateral dos animais.

- **Análise Histopatológica**

Completada a 24^ah após a indução da lesão e feita a última medição da extensão do edema, os animais foram anestesiados e sacrificados, em seguida tiveram seus músculos Gastrocnêmios dissecados e encaminhados para a análise histológica onde o fragmento biológico foi colocado em formol a 10% e encaminhado ao laboratório de Histologia da UFRN, sendo mantido na substância durante 24 horas para a fixação. Após esse procedimento, as peças sofreram desidratação através de três passagens pelo álcool com duração de uma hora cada, sendo em seguida realizada a fase de diafanização através de três passagens pelo Xilol® durante 1 hora cada. Então, foi iniciado o processo de inclusão, através da imersão do tecido biológico na parafina aquecida a 65°C em três passagens de uma hora cada fragmento. Após a parafina endurecer, o fragmento foi levado ao Micrótom e cortado em fitas de três a cinco micras de espessura. As fitas foram colocadas em banho-maria com água a 35°C para que possa fixar na lâmina. Depois de prontas, as lâminas foram colocadas na estufa a 65°C para secagem, seguido do processo de bateria de coloração com Hemotoxilina e Eosina (HE) para realizar análise

através de um estudo histopatológico. Após confecção das lâminas, as mesmas foram examinadas por três patologistas de maneira cega, em microscópio óptico Olympus e Microfotografias sendo realizadas com câmera digital acoplada ao microscópio. Nas análises dos músculos foram evidenciados os eventos do processo inflamatório agudo, tais como, o infiltrado celular inflamatório e o edema seroso e serofibrinolítico. O levantamento dos achados e a correlação entre as variáveis foram apresentados através das figuras histológicas.

- **Análise estatística**

Foi realizada uma análise estatística descritiva e inferencial dos dados através do programa SPSS 19.0 (StatisticalPackage for the Social Science - Version 19.0). Para a comparação entre os grupos cujos caso os dados paramétricos aplicou-se o teste Mann-Whitney. Foi adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Diante das análises da lesão no músculo Gastrocnêmio direito dos animais, os resultados obtidos apontam que o laser de baixa intensidade com comprimento de onda de 904 nm na fase inflamatória da lesão muscular apresentou uma regressão edematogênica clínica mais favorável em relação ao grupo controle, o que podemos observar a seguir, na tabela 1, na qual mostra uma análise descritiva de toda extensão do edema com seu desvio padrão e também o resultado estatístico dos grupos experimentados.

Tabela 1: Comparação entre os diferentes momentos após a indução da lesão entre o grupo controle e o grupo laser.

VARIÁVEL	CONTROLE	LASER	P valor
M1	0.0	0.0	1,0
M2	0.34 ± 0.20	0.56 ± 0.19	,088
M3	1.18 ± 0.78	0.24 ± 0.23	,012*
M4	1.60 ± 1.18	2.08 ± 1.03	,295
M5	2.04 ± 1.19	2.64 ± 1.00	,347

M6	2.32 ± 1.16	1.72 ± 1.31	,209
M7	2.90 ± 1.49	1.10 ± 1.07	,094
M8	2.12 ± 1.48	0.58 ± 0.49	,046*
M9	1.16 ± 1.20	0.08 ± 0.17	,007*

*existe diferença estatística significativa com $p < 0,05$.

Foi observado na tabela 1 uma diferença estatística significativa nos momentos M3, M8 e M9 onde podemos constatar que imediatamente após a aplicação do laser, na quinta e na vigésima quarta hora após a indução da lesão, o edema no grupo laser infravermelho apresentou seus valores paquimétricos mais favorável em relação ao grupo controle.

Na figura 2 podemos observar a curva edematogênica durante os períodos analisados.

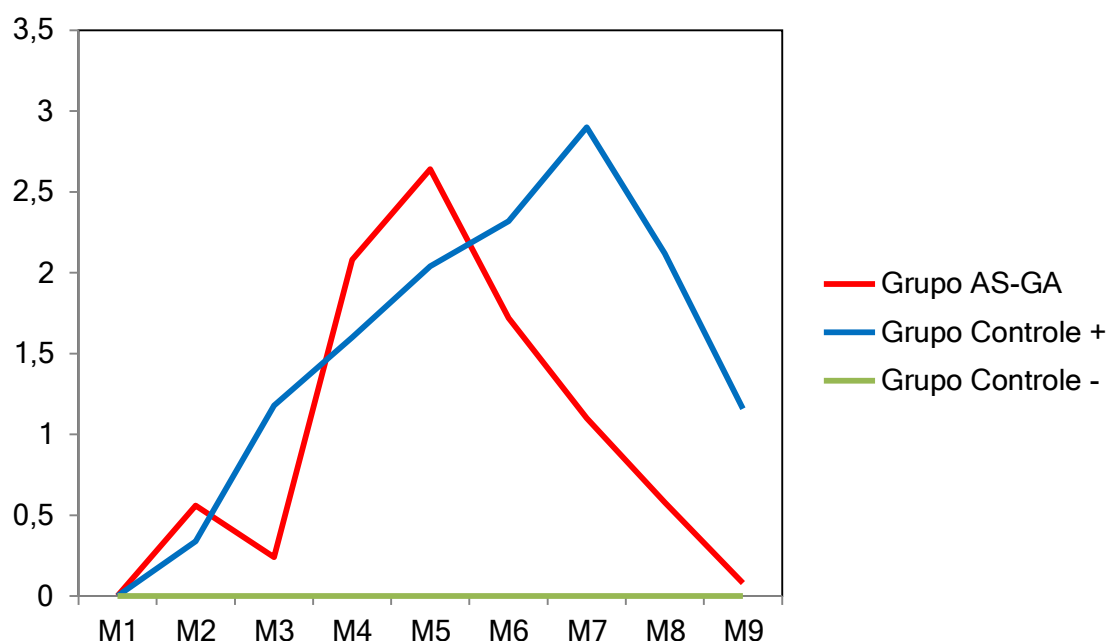


Figura 2: Curva edematogênica.

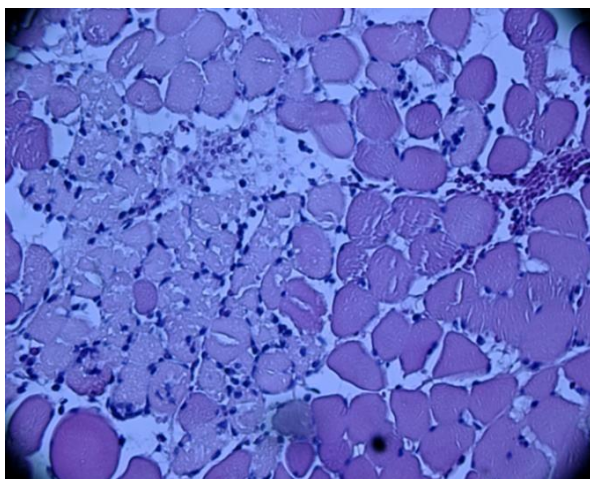
Analisando a tabela 1 e a figura 2, na M3 o laser infravermelho apontou uma diminuição instantânea do edema após sua aplicação, porém logo em seguida na primeira hora após a indução da lesão (M4) o laser mostrou um aumento agudo significativo do edema, que iniciou sua regressão entre a segunda e terceira hora após a aplicação (M5-M6), já o grupo controle que teve seu aumento edematogênico gradual desde a indução da lesão até a quarta hora (M7), iniciou a regressão do edema entre a quarta e quinta hora (M7-M8). Completada a vigésima quarta hora e realizada a ultima medição (M9) constatamos um resultado muito próximo da regressão edematogênica total no grupo tratado com o laser infravermelho não

sendo observado o mesmo no grupo controle que necessitaria de um tempo maior para regressão total do edema.

O grupo controle negativo mantiveram seus valores o que já era esperado uma vez que os músculos não sofreram sequer lesão.

A figura 3 apresenta os resultados da análise histológica referente ao infiltrado celular e o edema.

A.



B.

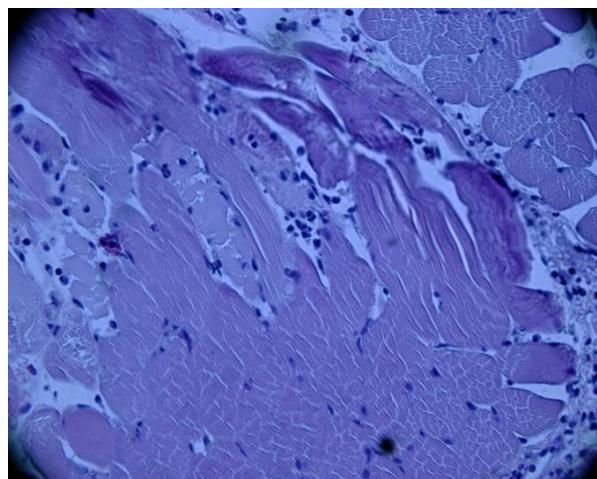


Figura 3: **A:** Lâmina histológica do grupo controle HE com aumento de 40x. **B:** Lâmina histológica do grupo tratado com laser infravermelho HE com aumento de 40x.

Analizando a figura acima podemos destacar um atenuado processo inflamatório por parte do grupo tratado com o laser infravermelho, onde, apesar desta análise se apresentar de forma qualitativa pode-se observar uma maior frequência de infiltrado inflamatório no grupo controle, isto ocorre em virtude da inibição da cascata do ácido araquidônico por parte do laser, ele reduz a liberação de Prostaglandinas E2, TNF- α e Interleucinas (IL-1 β e IL-6)¹⁴.

Outras prováveis alterações histológicas possivelmente não foram evidenciadas em virtude do modelo de lesão adotado nesse estudo, pois o aspecto morfológico se apresenta parcialmente preservado, visto que a substância utilizada para indução da lesão foi um fixador, a mesma ocasionou uma inibição da autólise proteica por partes das enzimas lisossomais, assim, mesmo gerando um processo inflamatório agudo, este teve sua progressão impedida pela coagulação de fatores enzimáticos.

DISCUSSÃO

Estudos sugerem que a terapia com uso do laser de baixa intensidade é benéfica para processos inflamatórios agudos, mas a base molecular deste efeito não permanece clara, porém, pesquisas apontam que o uso do laser causa uma redução na expressão gênica da COX-2 e das Prostaglandinas E2. Tais achados indicam que a laserterapia se mostra um recurso importante na modulação de mediadores inflamatórios¹⁵.

Analizando a curva edematogênica na figura 2 que mostra a curva do edema nas medições adotadas na pesquisa, observa-se que a terapia laser de baixa intensidade neste comprimento de onda apresenta potenciais anti edematogênicos, onde Bertolini *et. al.*¹⁶ em seu estudo, afirma que a radiação laser modula vários processos biológicos, dentre eles: aumento da respiração mitocondrial, ativação do ciclo celular, síntese de ATP, neovascularização, aumento do aporte sanguíneo e consequente ampliação de fatores anti inflamatórios locais o que favorece a retirada de catabólitos e resulta na diminuição do edema.

Comparando a M2 com a M3 em ambos os grupos observa-se um potencial anti edematogênico imediato do laser As-Ga, que para esta modalidade observou-se uma redução instantânea do edema o que corrobora Albertini *et al.*¹⁷ que estudaram o laser AsAlGa com comprimento de onda de 650nm, comparando as doses de 1J/cm², 2,5J/cm² e 5J/cm², em modelo inflamatório de edema em patas de ratos e constataram que o efeito anti edematogênico se inicia após a primeira aplicação do laser de baixa intensidade onde a densidade de energia que obteve maior eficácia foi de 1J/cm² e de 2,5J/cm², reduzindo o edema em 27% e 45,47%, respectivamente.

Quando comparado a M3 com a M4 dos grupos estudados verificamos um aumento mais agudo do edema no grupo do laser As-Ga o que justifica Maegawa *et al.*¹⁸ em sua pesquisa, ela mostra que o laser de baixa potência produz vasodilatação arteriolar e aumento do fluxo sanguíneo, e, sendo assim, apesar da diminuição na produção de Prostaglandinas do tipo E₂, a combinação da vasodilatação induzida pela lesão com a vasodilatação induzida pelo laser de baixa potência podem ter culminado para maior formação do exsudato neste instante da primeira hora de reação após a aplicação do laser.

Observando a redução do edema o grupo laser iniciou sua regressão entre a segunda e terceira hora após a indução da lesão enquanto que no grupo controle a diminuição edematogênica só deu início entre a quarta e a quinta hora pós-lesão,

isto se dá devido a propriedade do laser em atuar no controle de mediadores inflamatórios, reduzindo a liberação de TNF- α , COX-2 e prostaglandina E2, além de agir na redução do edema inflamatório por provável ação na liberação de hormônios adrenais^{19, 20}.

CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que em modelo experimental de lesão muscular induzida por formalina é possível observar o efeito antiinflamatório do laser infravermelho utilizando a dose de 4 J/cm², ele age na redução do edema no músculo Gastrocnêmio. Reforçando os estudos encontrados na literatura que evidenciam propriedades terapêuticas associadas ao uso deste recurso na fase inflamatória do processo de reparo tecidual, provendo dessa forma uma alternativa viável para o tratamento de lesões musculares agudas de pequeno e médio porte.

REFERÊNCIAS

1. Barroso GC, Thiele ES. Lesão muscular nos atletas. Revista Brasileira de Ortopedia, vol.46 no.4 São Paulo, 2011.
2. Fábio B, Muniz MMA, Abreu SM, Percy N, Borba NE. Can thermography aid in the diagnosis of muscle injuries in soccer athletes?. Rev. bras. med. esporte;18(4):246-251, jul.-ago. 2012.
3. Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. Anais Brasileiro de Dermatologia. 84(3):257-62, 2009.
4. Leal CT, Bezerra AL, Lemos A. Effectiveness of HeNe 632.8 nm laser on skin tissue integrity repair in experimental animals: a systematic review. Fisioter. Pesqui. vol.19 no.3 São Paulo July/Sept. 2012.
5. Hatanaka E, Curi R. Fatty acids and wound healing: a review. Rev. Bras. Farm., 88(2): 53-58, 2007.
6. Cruvinel WM, Júnior DM, Araujo JAP, Catelan TTT, Souza AWS, Silva NP, *et. al*. Sistema imunitário - Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. Revista Brasileira de Reumatologia. vol.50 no.4 São Paulo July/Aug. 2010.
7. Barcellos DESN, Marques BMFPP, Mores TJ, Coelho CF, Borowski SM. Practical aspects on the use of antimicrobials in pig production. Acta Scientiae Veterinariae. 37(Supl 1): s151-s155, 2009.

8. Gonçalves RB, Marques JC, Monte-Raso VV, Zamarioli A, Carvalho LC, Fazan VPS, *et. al.* Effects of low-power laser on injured rat sciatic nerve regeneration. *Fisioterapia e Pesquisa*. São Paulo, v.17, n.1, p.34-9, jan/mar. 2010.
9. Moreira FF, Oliveira ELP, Barbosa FS, Silva JG. Low-level laser therapy in the expression of collagen after muscular surgical injury. *Fisioter. Pesqui.* vol.18 no.1 São Paulo Jan./Mar. 2011.
10. Piva JAAC, Silva VS, Abreu EMC, Nicolau RA. Effect of low-level laser therapy on the initial stages of tissue repair: basic principles. *An. Bras. Dermatol.* 2011, vol.86, n.5, pp. 947-954. ISSN 0365-0596.
11. Busnardo VL, Biondo-Slimões MLP. Effects of low-level helium-neon laser on induced wound healing in rats. *Rev. Bras. Fisioter.* São Carlos, v. 14, n. 1, p. 45-51, jan./fev. 2010.
12. Lins RDAU, Dantas EM, Lucena KCR, Catão MHCV, Granville-Garcia AF, Neto LGC. Biostimulation effects of low-power laser in the repair process. *An. Bras. Dermatol.* 2010, vol.85, n.6, pp. 849-855. ISSN 0365-0596.
13. Pertille A, Macedo AB, Oliveira CPV. Evaluation of muscle regeneration in aged animals after treatment with low-level laser therapy. *Rev. bras. fisioter.* vol.16 no.6 São Carlos Nov./Dec. 2012 Epub Oct 09, 2012.
14. Silva MP, Bortone F, Silva MP, Araújo TR, Costa MS, Júnior JAS. Inhibition of carrageenan-induced expression of tissue and plasma prekallikrein mRNA by low level laser therapy in a rat paw edema model. *Rev Bras Fisioter*, São Carlos, v. 15, n. 1, p. 1-7, Jan./Feb. 2011
15. Laraia EMS, Silva IS, Pereira DM, Reis FA, Albertin R, Almeida P, *et. al.* Effect of Low-Level Laser Therapy (660 nm) on Acute Inflammation Induced by Tenotomy of Achilles Tendon in Rats. *Photochemistry and Photobiology*, 2012, 88: 1546-1550.
16. Bertolini GRF, Silva TS, Ciena AP, Trindade DL. Effects of the low level laser over pain and edema in tendon trauma of rats. *Rev Bras Med Esporte* vol.14 no.4 Niterói July/Aug. 2008.
17. Albertini R, Aimbire FS, Correa FI, Ribeiro W, Cogo JC, Antunes E, *et al.* 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 B.* 2004;74:101-7.
18. Maegawa Y, Itoh T, Hosokawa T, Yaegashi K, Nishi M. Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. *Lasers Surg Med* 2000;27:427-37.
19. Bertolini FRG, Ciena AP, Silva TS, Junqueira JJO, Cunha NB. Application of 808nm laser in chronic joint pain in Wistar rats, *Rev Bras Med Esporte* vol.15 no.4 Niterói July/Aug. 2009.

20. Borato E, Oliveira JJJ, Ciena AP, Bertolini GRF. Immediate pain and edema assessment in muscular injury induced by formalin and treated with low-level laser (808nm). Rev Bras Med Esporte vol.14 no.5 Niterói Sept./Oct. 2008