



Avaliação Funcional da Nocicepção do Joelho de Ratos Tratada com Laser de Baixa Potência e Natação

Functional Assessment of Knee Nociception of Rats Treated with Low-Level Laser Therapy and Swimming

Gladson Ricardo Flor Bertolini
Cecília Matilde Padilha Matos
Elisângela Lourdes Artifon
Deisi Ferrari
Rogério Fonseca Vituri

Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Brasil.

Endereço para correspondência:
Rua Universitária, 2069, Jd. Universitário, 85819-110, Caixa Postal 711, Cascavel, Paraná, Brasil.
gladson_ricardo@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar os efeitos do laser de baixa potência e da natação forçada em modelo de nocicepção articular, de ratos Wistar, avaliando a dor de forma funcional, pelo tempo de elevação da pata (TEP) durante marcha em cilindro metálico. Foram utilizados 32 ratos Wistar, divididos em quatro grupos: GC – animais submetidos à indução de nocicepção no joelho direito e não tratados; GL – nocicepção e tratados com laser de baixa potência 670nm, 8J/cm²; GN – nocicepção e natação por 10 minutos em água a 30-32°C; GNL – nocicepção e tratados com natação e laser. Para realizar a nocicepção foi injetado, no espaço tibiofemoral medial direito, 50µL de formalina 5%. A avaliação funcional da dor foi realizada com o teste de incapacidade funcional, que avalia o tempo de pata no ar (TEP) da marcha durante um minuto sobre um cilindro metálico, as avaliações ocorreram antes da indução da nocicepção (AV1), após 15 (AV2) e 30 minutos (AV3) da mesma, sendo que após a AV2, ocorreram os protocolos de tratamento. Os resultados mostraram que o grupo laser foi o único a apresentar restauração dos valores na AV3, comparando com AV1. GN foi o único a não apresentar redução ao comparar AV3 com AV2. Conclui-se que, pela avaliação funcional, o laser de baixa potência apresentou efeitos analgésicos, enquanto a natação produziu aumento do quadro de dor, o qual foi parcialmente revertido com o uso do laser associado.

Palavras-chave: terapia a laser de baixa intensidade, natação, exercício, medição da dor, modalidades de fisioterapia.

ABSTRACT

This study aimed at evaluating and comparing the effects of low-level laser therapy (LLLT) and a forced swimming training in a joint nociception model on Wistar rats, in order to functionally register pain by observation of paw elevation time (PET) during gait on a metal cylinder. Thirty-two Wistar rats were divided into four groups: CG – non-treated animals submitted to nociception induction on right knee; LG – nociception and treated with 670 nm and 8 J/cm² LLLT; SG – nociception and swimming for 10 minutes in water at 30-32° C; SLG – nociception and treated with swimming and laser. To achieve the nociception, 50 µL of 5% formalin were injected in the medial tibiofemoral space of each animal. Pain was assessed according to a functional incapacity test, which registered paw elevation time (PET) as well as their gait for one minute on a metallic cylinder. The evaluations occurred before nociception induction (EV1), after 15 minutes (EV2) and after 30 minutes (EV3) of it, with treatment protocols being administered after EV2. The analyses showed that LLLT was the only group to present the restoration values in the EV3 when compared to EV1. SG was the only one which did not show any reduction when compared to EV2 and EV3. Hence, it can be inferred that, by functional evaluation, LLLT had some analgesic effects, while the swimming treatment produced pain increase, which was partially reversed by the use of LLLT.

Keywords: low-level laser therapy, swimming, exercise, pain measurement, physical therapy modalities.

INTRODUÇÃO

A dor é caracterizada por experiência sensorial e emocional, de caráter desagradável, associada a uma lesão tecidual, sendo esta um mecanismo de proteção. A percepção da dor e a resposta do organismo aos estímulos dolorosos é denominada de nocicepção⁽¹⁾.

O exercício físico submáximo pode ser utilizado como agente estressor, na forma de natação forçada, e mesmo com temperaturas da água variando desde baixas até a corporal, e em curtas durações,

pode produzir diminuição do estímulo algico⁽²⁻⁴⁾, tal ação analgésica é creditada à liberação de β-endorfina⁽⁵⁾, que é um peptídeo liberado durante eventos dolorosos e estressantes⁽⁶⁾.

A analgesia após atividade física tem sido relatada tanto em humanos quanto em animais. A hipótese mais testada é que a ativação do sistema opioide endógeno pode ser responsável pela resposta analgésica. Contudo, principalmente em casos crônicos, é possível que o exercício possa exacerbar uma condição dolorosa já existente^(7,8).

O laser de baixa potência é um recurso bastante utilizado visando o reparo tecidual e redução da dor articular^(9,10). Pesquisas têm mostrado efeitos da terapia na redução dos níveis de TNF- α ⁽¹¹⁾, COX-2⁽¹²⁾, PGE₂⁽¹³⁾, fibrinogênio⁽¹⁴⁾, redução de edema⁽¹⁵⁾, e conteúdo de células inflamatórias⁽¹⁶⁾, desta forma ocorreriam também efeitos analgésicos, pela redução do processo inflamatório. Contudo, controvérsias com relação à ação analgésica em estudos utilizando laser para diminuir o quadro de dor muscular de início tardio⁽¹⁷⁻²⁰⁾, alteração do limiar sensitivo⁽²¹⁻²³⁾, liberação de opioides endógenos^(24,25) e até mesmo variações sobre os efeitos antiinflamatórios e analgésicos, devido ao tempo de aplicação da radiação⁽¹³⁾, ou dose utilizada^(26,27), continuam a existir.

OBJETIVO

Devido às controvérsias citadas e de uma lacuna de estudos comparativos da terapia laser com exercícios para a redução da nocicepção, o objetivo do presente estudo foi avaliar e comparar os efeitos do laser de baixa potência e da natação forçada em modelo de nocicepção articular, de ratos Wistar, avaliando a dor de forma funcional, ou seja, pelo tempo de elevação da pata (TEP) durante marcha em cilindro metálico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra e grupos experimentais

Foram utilizados 32 ratos Wistar, machos, com 10 \pm 2 semanas, mantidos em gaiolas de polipropileno, com livre acesso à água e ração *ad libitum*, com ciclo claro/escuro controlado de 12 horas e temperatura ambiente controlada (24 \pm 1°C). O estudo foi conduzido segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal⁽²⁸⁾, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste).

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos:

- Controle (GC, n = 8) – composto por animais submetidos à indução de nocicepção no joelho direito, e não tratados;
- Laser (GL, n = 8) – composto por animais submetidos à indução de nocicepção no joelho direito e tratados com laser de baixa potência;
- Natação (GN, n = 8) – composto por animais submetidos à nocicepção e realizaram natação como exercício aeróbico;
- Laser + Natação (GLN, n = 8) – composto por animais submetidos à indução de nocicepção e tratados com natação e laser.

Modelo experimental de indução da nocicepção

Os animais foram contidos manualmente, na posição supina e foi rapidamente injetado, no espaço articular tibiofemoral medial do joelho direito, 50 μ L de solução de formalina 5%, visando induzir a nocicepção⁽²⁹⁾.

Avaliação da dor

Para avaliação da dor foi utilizado o teste de incapacidade funcional (*Rat Knee-Joint Incapacitation Test*), descrito originalmente por Tonussi e Ferreira⁽³⁰⁾. Este teste tem como objetivo avaliar a dor durante a marcha do animal, ou seja, de forma funcional. Caracteriza-se, basicamente, por um cilindro metálico em movimento e um programa de computador com conexão a uma bota metálica adaptada à pata do animal. O animal caminha durante um minuto sobre o cilindro e é avaliado o tempo em que o animal mantém sua pata no ar. O animal, sem dor, mantém normalmente durante 10s a pata no ar, sendo que quando substâncias algogênicas são injetadas no joelho, este tempo aumenta. As avaliações ocorreram antes da indução da nocicepção (AV1), após 15 (AV2) e 30 (AV3) minutos da indução.

Protocolos de tratamento

Os protocolos de tratamento ocorreram após a avaliação do momento AV2. O grupo Controle não sofreu qualquer intervenção terapêutica. Para GL o tratamento consistiu na utilização do laser (Ibramed[®]) com comprimento de onda de 670nm, potência de 30mW, fluência de 8J/cm², de forma pontual e contínua, sobre a interlinha articular medial do joelho. GN foi submetido a 10 minutos de natação, em reservatório de água de 200 litros, oval, fabricado em plástico, com profundidade de 60cm e a temperatura da água mantida entre 30-32°C. O GLN realizou a terapia com laser precedido pela natação, de forma idêntica ao citado acima.

Análise estatística

Foi verificada a normalidade dos dados, por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, com posterior análise dentro dos grupos pelo teste de ANOVA com medidas repetidas e unidirecional para comparação entre os grupos, com pós teste de Tukey. Em todos os casos o nível de significância aceito foi de 5%.

RESULTADOS

Os resultados demonstraram diferenças significativas entre AV1 ao comparar com o momento AV2 para todos os grupos (p < 0,05). Ao observar a diminuição dos tempos, de AV2 com AV3, observou-se que apenas o grupo Natação não obteve diminuição significativa dos dados. Quando foram comparados os valores de AV1, com os valores de AV3, observou-se que apenas o grupo tratado com laser não produziu diferença significativa, indicando, apenas para este grupo, restauração dos valores (figura 1).

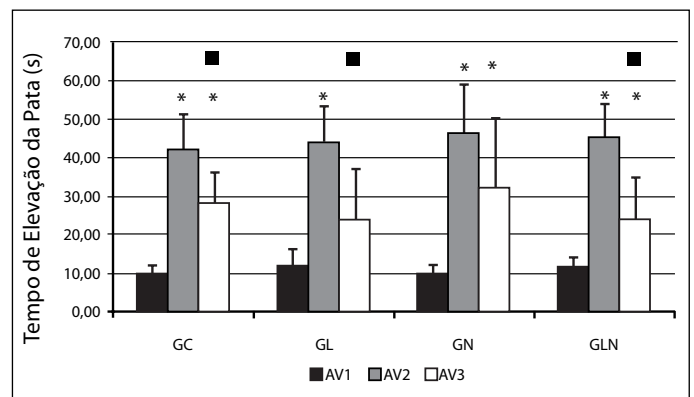


Figura 1. Avaliação do tempo de elevação da pata (TEP) para os grupos: GC (grupo Controle), GL (grupo Laser), GN (grupo Natação) e GLN (grupo Laser + Natação). Nos diferentes momentos AV1 (antes da indução da nocicepção), AV2 (após 15 minutos) e AV3 (após 30 minutos). *Diferença estatisticamente significativa ao comparar com AV1. ■Diferença estatisticamente significativa ao comparar com AV2.

DISCUSSÃO

O modelo experimental de dor, produzido por injeção de formalina, é utilizado tanto em modelos com aplicação subcutânea⁽³¹⁾, como em injeções intra-articulares, como o realizado no presente estudo, visando avaliar a dor e procedimentos para a sua redução⁽²⁹⁾.

A avaliação da dor foi realizada pelo teste de incapacidade funcional, o qual avalia o tempo de elevação da pata do animal, caminhando sobre um cilindro metálico, durante um minuto, sendo que o animal em condições de ausência da dor apresenta TEP em torno de 10s, e animais com dor articular no joelho aumentam este valor, inclusive com a injeção intra-articular de formalina 5%^(29,30). Salienta-se que tal teste, apesar de ser uma tarefa forçada, avalia a dor de forma funcional.

Visto que a nocicepção induzida pela formalina caracteriza-se por duas fases distintas, com um período de quiescência entre elas, por

volta do quinto ao 10º minuto após indução⁽²⁹⁾, optou-se no presente estudo em comparar os valores pré-injeção, com aqueles encontrados 15 e 30 minutos após a indução da dor. Pois, para o grupo em que foram associadas as técnicas, a manipulação dos animais (laser e natação) demorava cerca de 15 minutos. Desta forma, a avaliação após injeção de formalina era relacionada à segunda fase de nocicepção e a avaliação final correspondia ainda a esta fase.

No presente estudo o estresse produzido pela natação não produziu o efeito analgésico desejado, visto que o TEP neste grupo não retornou aos valores iniciais, bem como não houve diferença nos valores observados após 15 e 30 minutos de indução da nocicepção.

Isto é contrário ao citado por Mogil *et al.*⁽⁴⁾, que relatam que o exercício físico é capaz de atuar sobre a liberação de opioides endógenos quando o agente estressor é de baixa intensidade e de forma não opioide quando o agente estressor é de alta intensidade. Como no presente estudo optou-se por utilizar 30-32º C de temperatura e por um curto período de tempo (10 minutos), acreditava-se que ocorreria a liberação de β -endorfina, o que produziria efeitos analgésicos, fato que provavelmente não ocorreu, pois não se comprovou efeitos analgésicos da natação.

Segundo Lana *et al.*⁽¹⁾, os exercícios físicos de alta intensidade poderiam, diferentemente dos de baixa intensidade, ser um estímulo estressor mais intenso e, deste modo, seriam capazes de desencadear respostas neuroendócrinas mais evidentes no organismo, com aumento nos níveis séricos de hormônio liberador de corticotrofina (CRH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e de hormônios glicocorticoides, e com o aumento de CRH, poderia haver a liberação de β -endorfina.

Para o grupo de natação, ao comparar AV2 com AV3, não houve redução significativa, observada para os outros grupos, indicando manutenção do quadro algico. O que pode ser explicado por Quintero *et al.*⁽³²⁾, que observaram, pelo teste de formalina, hiperalgesia em ratos treinados com natação por três dias. Especulam que a natação subcrônica produz diminuição na liberação de serotonina. Tal fato pode ter ocorrido no presente estudo, visto que a atividade física foi treinada durante três dias prévios ao experimento.

A natação acabou produzindo maus efeitos também para o grupo em que foi associada ao laser, pois os resultados observados para a terapia laser, não foram vistos na associação de técnicas. Apenas foi observada diminuição significativa do TEP da AV3 comparada com a AV2, fato observado para a terapia laser e também no grupo Controle, demonstrando redução dos níveis de dor para os três grupos, mas não para o grupo Natação.

A literatura aponta resultados contraditórios para o uso do laser de baixa potência sobre a dor^(17-25,33,34). Sendo que para Bjordal *et al.*⁽²⁶⁾, em casos de dor aguda, muitos dos resultados adversos relatados advêm por causa de doses baixas. A dose utilizada neste estudo foi de 8J/cm², semelhante à utilizada por Campana *et al.*⁽¹⁴⁾, que realizaram tratamento em ratos com osteoartrite, induzida por cristais de urato, e observaram efeito anti-inflamatório da radiação. Lopes-Martins *et al.*⁽¹⁶⁾ também avaliando o processo inflamatório, observaram maior redução de células

inflamatórias, após indução de pleurisia por injeção de carragenina, com 7,5J/cm² do que 3 e 15J/cm².

O comprimento de onda utilizado foi o de 670nm, próximo aos comprimentos usados por Albertini *et al.*⁽¹²⁾ e Bortone *et al.*⁽¹⁵⁾, que utilizaram 660 e 684nm em animais sujeitos à inflamação por carragenina e observaram diminuição do edema e RNAm de COX-2 e de quinina B1 e B2.

Os resultados apontaram que o laser de baixa potência foi eficaz na diminuição da nocicepção durante a deambulação dos animais, visto que foi o único grupo que não apresentou diferença significativa ao comparar AV1 com AV3. Além disso, o grupo em que foi associado laser à natação, teve comportamento semelhante ao grupo Controle, ou seja, apresentou diminuição significativa entre AV3 ao comparar com AV2, diferente do apresentado pelo grupo Natação. Assim, infere-se que apesar de não ter produzido efeitos de restauração de valores, como no GL, houve efeito positivo do laser, pois não ocorreu o alto nível de nocicepção encontrado em GN. Tal afirmação encontra respaldo em outros estudos, como o de Laakso e Cabot⁽³⁵⁾, que observaram redução da dor, por pressão, em pata de ratos submetidos à modelo experimental de dor por injeção de Adjuvante Completo de Freund e tratados com laser de 780nm e dose de 2,5J/cm², mas sem efeitos com 1J/cm².

Soriano *et al.*⁽³⁶⁾ observaram efeitos positivos da terapia laser em ratos submetidos à artrite por cristais e tratados com o laser de baixa potência e também em humanos com artrite por gota reumática. Para os animais, havia redução nos níveis de fibrinogênio PGE₂ e TNF- α , o que pode ter levado à redução da dor nos animais, sendo comprovado para os humanos, nos quais observaram redução na dor.

Também em humanos, Mizutani *et al.*⁽³⁷⁾ utilizaram o laser de 830nm, para tratar casos diversos (capsulite adesiva de ombro, espondilose cervical, osteoartrite em joelho, doença de De Quervain, neuroma de Morton, síndrome do piriforme, e outros) em 83 pacientes, e observaram, em 80,7% dos casos, redução significativa da dor, a qual foi relacionada com a diminuição dos níveis de PGE₂ no soro.

No presente estudo, não foram correlacionadas características do processo inflamatório ou nível de endorfinas, com os dados do TEP, sendo tais limitações sugestões para futuros estudos.

CONCLUSÃO

Conclui-se no presente estudo que, pela avaliação funcional do TEP, o laser de baixa potência apresentou efeitos analgésicos, enquanto a natação produziu aumento do quadro de dor, o qual foi parcialmente revertido com o uso do laser associado.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) e Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), pelo financiamento parcial do estudo.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Lana AC, Paulino CA, Gonçalves ID. Influência dos exercícios físicos de baixa e alta intensidade sobre o limiar de hipernocicepção e outros parâmetros em ratos. *Rev Bras Med Esporte* 2006;12:248-54.
2. Hopkins E, Spinella M, Pavlovic ZW, Bodnar RJ. Alterations in swim stress-induced analgesia and hypothermia following serotonergic or NMDA antagonists in the rostral ventromedial medulla of rats. *Physiol Behav* 1998;64:219-25.
3. Blustein JE, McLaughlin M, Hoffman JR. Exercise effects stress-induced analgesia and spatial learning in rats. *Physiology & Behavior* 2006;89:582-6.
4. Mogil JS, Sternberg WF, Balian H, Liebeskind JC, Sadowski B. Opioid and nonopioid swim stress-induced analgesia: A parametric analysis in mice. *Physiol Behav* 1996;59:123-32.
5. Bender T, Nagy G, Barna I, Tefner I, Kádas É, Géher P. The effect of physical therapy on beta-endorphin levels. *Eur J Appl Physiol* 2007;100:371-82.
6. Hartwig AC. Peripheral beta-endorphin and pain modulation. *Anesth Prog* 1991;38:75-8.
7. Koltyn KF. Analgesia following exercise. *Sports Med* 2000;29:85-98.
8. Koltyn KF, Umeda M. Exercise, hypoalgesia and blood pressure. *Sports Med* 2006;36:207-14.
9. Enwemeka CS, Parker JC, Dowdy DS, Harkness EE, Sanford LE, Woodruff LD. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. *Photomed Laser Surg* 2004;22:323-9.
10. Gur A, Cosut A, Sarac AJ, Cevik R, Nas K, Uyar A. Efficacy of different therapy regimes of low-power laser in painful osteoarthritis of the knee: a double-blind and randomized-controlled trial. *Lasers Surg Med* 2003;33:330-8.
11. Aimbire F, Albertini R, Pacheco MTT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PSLM, Iversen VV, et al. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF- α levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg* 2006;24:33-7.

12. Albertini R, Aimbire F, Villaverde AB, Silva Jr JA, Costa MS. COX-2 mRNA expression decreases in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation after low level laser therapy. *Inflamm Res* 2007;56:228-9.
13. Castano AP, Dai T, Yaroslavsky I, Cohen R, Apruzzese WA, Smotrich MH, et al. Low-level laser therapy for zymosan-induced arthritis in rats: importance of illumination time. *Lasers Surg Med* 2007;39:543-50.
14. Campana VR, Moya M, Gavotto A, Spitale L, Soriano F, Palma JA. Laser therapy on arthritis induced by urate crystals. *Photomed Laser Surg* 2004;22:499-503.
15. Bortone F, Santos HA, Albertini R, Pesquero JB, Costa MS, Silva Jr JA. Low level laser therapy modulates kinin receptors mRNA expression in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation. *Int Immunopharmacol* 2008;8:206-10.
16. Lopes-Martins RAB, Albertini R, Martins PSL, Bjordal JM, Faria Neto HCC. Spontaneous effects of low-level laser therapy (650 nm) in acute inflammatory mouse pleurisy induced by carrageenan. *Photomed Laser Surg* 2005;23:377-81.
17. Craig JA, Barron J, Walsh DM, Baxter GD. Lack of effect of combined low intensity laser therapy/phototherapy (CLILT) on delayed onset muscle soreness in humans. *Lasers Surg Med* 1999;24:223-30.
18. Glasgow PD, Hill ID, McKevitt AM, Lowe AS, Baxter D. Low intensity monochromatic infrared therapy: a preliminary study of the effects of a novel treatment unit upon experimental muscle soreness. *Lasers Surg Med* 2001;28:33-9.
19. Douris P, Southard V, Ferrigi R, Grauer J, Katz D, Nascimento C, et al. Effect of phototherapy on delayed onset muscle soreness. *Photomed Laser Surg* 2006;24:377-82.
20. Vinck E, Cagnie B, Coorevits P, Vanderstraeten G, Cambier D. Pain reduction by infrared light-emitting diode irradiation: a pilot study on experimentally induced delayed-onset muscle soreness in humans. *Lasers Med Sci* 2006;21:11-8.
21. 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;30:376-80.
22. Baxter GD, Walsh DM, Allen JM, Lowe AS, Bell AJ. Effects of low intensity infrared laser irradiation upon conduction in the human median nerve in vivo. *Exp Physiol* 1994;79:227-34.
23. Cambier D, Blom K, Witvrouw E, Ollevier G, De Muyck M, Vanderstraeten G. The Influence of Low Intensity Infrared Laser Irradiation on Conduction Characteristics of Peripheral Nerve: A Randomised, Controlled, Double Blind Study on the Sural Nerve. *Lasers Med Sci* 2000;15:195-200.
24. Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, Noguchi T. Pre-irradiation of blood by gallium aluminum arsenide (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Anesth Analg* 2008;107:1058-63.
25. Ferreira DM, Zângaro RA, Villaverde AB, Cury Y, Frigo L, Piccolo G, et al. Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. *Photomed Laser Surg* 2005;23:177-81.
26. Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RAB. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser Surg* 2006;24:158-68.
27. Bjordal JM, Couppé C, Chow RT, Tunér J, Ljunggren AE. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from joint disorders. *Aust J Physiother* 2003;49:107-16.
28. Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães LE, et al. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo; 2004.
29. Martins MA, de Castro Bastos C, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. *J Pain* 2006;7:100-7.
30. Tonussi CR, Ferreira SH. Rat knee-joint carrageen in incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. *Pain* 1992;48:421-7.
31. Aloisi AM, Albonetti ME, Carli G. Behavioural effects of different intensities of formalin pain in rats. *Physiol Behav* 1995;58:603-10.
32. Quintero L, Moreno M, Avila C, Arcaya J, Maixner W, Suarez-Roca H. Long-lasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. *Pharmacol Biochem Behav* 2000;67:449-58.
33. Bartlett WP, Quillen WS, Greer RG. Effect of gallium-aluminum-arsenide triple-diode laser irradiation on evoked motor and sensory action potentials of the median nerve. *J Sport Rehabil* 2002;11:12-20.
34. Zinman LH, Ngo M, Ng ET, Nwe KT, Gogov S, Bril V. Low-intensity laser therapy for painful symptoms of diabetic sensorimotor polyneuropathy. A controlled Trial. *Diabetes Care* 2004;27:921-4.
35. Laakso E-L, Cabot PJ. Nociceptive scores and endorphin-containing cells reduced by low-level laser therapy (LLL) in inflamed paws of wistar rat. *Photomed Laser Surg* 2005;23:32-5.
36. Soriano F, Campana V, Moya M, Gavotto A, Simes J, Soriano M, et al. Photobiomodulation of pain and inflammation in microcrystalline arthropathies: experimental and clinical results. *Photomed Laser Surg* 2006;24:140-50.
37. Mizutani K, Musya Y, Wakae K, Kobayashi T, Tobe M, Taira K, et al. A clinical study on serum prostaglandin E2 with low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg* 2004;22:537-9.