

INFLUÊNCIA DA IRRADIAÇÃO DO LASER NA REGENERAÇÃO NERVOSA EM DIFERENTES LOCAIS DE TRATAMENTO

INFLUENCE OF LASER RADIATION IN NERVE REGENERATION IN DIFFERENT TREATMENT SITES

FAUSTO FERNANDES DE ALMEIDA SOUSA, RODRIGO ANTÔNIO CARVALHO ANDRAUS, CLÁUDIO HENRIQUE BARBIERI, NILTON MAZZER

RESUMO

Objetivo: Verificar a influência do laser de baixa intensidade de AsGaAl na lesão por esmagamento do nervo peroneiro de ratos através da avaliação funcional da marcha nos diferentes locais de irradiação. **Métodos:** Foram utilizados 53 ratos, divididos em seis grupos: normal, lesado não tratado, lesado e tratado placebo, lesado e tratado na medula, lesado e tratado no nervo, lesado e tratado em ambos (nervo e medula). O esmagamento do nervo peroneiro foi realizado por meio de uma pinça e subsequente tratado com laser por 28 dias consecutivos. Na avaliação funcional foram analisadas as impressões das pegadas, registradas pela câmera de vídeo em uma passarela de acrílico, no pré-operatório e aos 14^º, 21^º e 28^º dias de pós-operatório, e avaliadas na fórmula PFI por meio do *software*. **Resultados:** Na avaliação funcional da marcha foram encontradas diferenças significativas somente no 14^º dia de pós-operatório. **Conclusão:** A irradiação do laser AsGaAl de baixa intensidade foi capaz de acelerar e potencializar o processo de regeneração nervosa periférica de ratos no 14^º dia de pós-operatório, de acordo com a avaliação funcional da marcha, tanto para o grupo tratado na medula quanto para o grupo tratado no nervo.

Descritores: Regeneração nervosa. Síndrome de esmagamento. Terapia a laser.

ABSTRACT

Objective: This study seeks to determine, through functional gait assessment in different irradiation sites, the influence of a low-intensity GaAsAl laser beam on an injury caused by crushing the peroneal nerve in rats. **Methods:** 53 rats were used, which were divided into six groups: normal, injured and untreated, injured and treated using placebo, injured and treated in the bone marrow, injured and treated in the nerve, and injured and treated in both (nerve and bone marrow). The peroneal nerve was crushed using a pair of tweezers, and subsequently treated with laser for 28 consecutive days. The functional gait evaluation analyzed the footprints, which were recorded with a video camera on an acrylic bridge in the preoperative period, and on postoperative days 14, 21 and 28, and assessed using PFI formula software. **Results:** In the functional gait evaluation, significant differences were found only on postoperative day 14. **Conclusion:** Based on the functional gait evaluation, low-intensity GaAsAl irradiation was able to accelerate and reinforce the process of peripheral nerve regeneration in rats on postoperative day 14, both in the bone marrow- and in the nerve-treated groups.

Keywords: Nerve regeneration. Crush syndrome. Laser therapy.

Citação: Sousa FFA, Andraus RAC, Barbieri CH, Mazzer N. Influência da irradiação do laser na regeneração nervosa em diferentes locais de tratamento. *Acta Ortop Bras.* [periódico na Internet]. 2009; 17(6):331-5. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>

Citation: Sousa FFA, Andraus RAC, Barbieri CH, Mazzer N. influence of laser radiation in nerve regeneration in different places of treatment. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2009; 17(6):331-5. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia pelo Programa de Pós-graduação do Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.
Endereço para Correspondência: Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USPCampus Universitário, Ribeirão Preto SP Brasil. CEP 14049-900 E.mail: chbarbie@fmrp.usp.br

Trabalho recebido em 18/06/08 aprovado em 10/12/08

INTRODUÇÃO

Vários autores investigam a influência dos diversos tratamentos terapêuticos, na regeneração do nervo ciático de ratos, como a estimulação elétrica¹, o ultra-som terapêutico² e o laser de baixa intensidade que tem recebido uma maior atenção na última década.³ Os mecanismos do laser de baixa intensidade não são completamente compreendidos, mas alguns estudos têm tentado explicar os efeitos de sua irradiação nos tecidos biológicos,^{4,5} obtendo considerações controversas proporcionadas por diferentes metodologias, como a dosagem, comprimento de onda, corrente contínua ou pulsada,^{4,6} local da irradiação e a duração do tratamento.³

A recuperação das lesões nervosas periféricas é estudada principalmente através de parâmetros eletrofisiológicos e histo-morfométricos que embora sejam úteis, não acompanham a recuperação funcional durante o tratamento, sendo esta importante para quantificar, não invasivamente, e reproduzir os métodos para uma avaliação funcional de regeneração nervosa.⁷ Portanto pode ser melhor utilizar a avaliação funcional da marcha à simplesmente as bases eletrofisiológicas e morfométricas para crescimento de axônio e inervação muscular, desde que o interesse principal da pesquisa seja resultados funcionais.⁸ A análise da marcha tem provado ser um seguro método de avaliação funcional, acompanhando da lesão nervosa ao reparo,^{7,9} possuindo uma forte correlação com a avaliação morfológica.^{1,9}

O laser de baixa intensidade é comumente irradiado no local da lesão provocada pelo esmagamento. Rochkind et al.⁴ usou a irradiação do laser na raiz da medula espinhal, no ramo que corresponde ao nervo ciático do rato (L2), e pôde observar aumento no metabolismo dos neurônios e melhora na produção de mielina o que proporciona a aceleração da regeneração do nervo lesado. Anders et al.³ descreveram que a eficácia do efeito da irradiação de laser de baixa intensidade na recuperação nervosa periférica pode ser aumentada se o segmento correspondente da medula espinhal também for irradiado.

Este estudo tem como objetivo verificar a influência do laser de baixa intensidade de AsGaAl (830nm) na lesão por esmagamento do nervo peroneiro (fibular comum) de ratos através da avaliação funcional da marcha nos diferentes locais de irradiação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 53 ratos da linhagem *Wistar*, machos, com aproximadamente três meses de idade e com peso médio de 220 ± 30 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com cinco animais cada, recebendo ração comercial e água à vontade seguindo, assim, a solicitação do Comitê de Ética de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, o qual aprovou este estudo. Os animais foram divididos em seis grupos experimentais, conforme o procedimento realizado:

GRUPO 1: normal, sem lesão e não tratado (n=5);

GRUPO 2: lesado e não tratados (n=10);

GRUPO 3: lesado e tratado placebo (n=8);

GRUPO 4: lesado e tratado na medula espinhal, na região que corresponde à raiz do nervo ciático, por 4 pontos entre as vértebras T12-T13-L1 ao longo dos segmentos da medula espinhal de L3-L6 (n=10);

GRUPO 5: lesado e tratado no membro inferior direito circundante a cicatriz, por 4 pontos (n=10);

GRUPO 6: lesado e tratado em ambos; dividiu-se 2 pontos para cada região, sendo os pontos correspondente a L2 na medula e no membro inferior nas extremidades da cicatriz (n=10).

A irradiação do laser (Figura 1) foi realizada por um equipamento comercial de laser diodo de baixa intensidade Arseneto de Gálio e Alumínio (*AsGaAl*), *Physiolux Dual*, da marca BIOSET, pelo método transcutâneo pontual com contato por 28 dias consecutivos e preparado com as seguintes características: comprimento de onda de 830nm, potência do emissor de 40mW, modo contínuo, dose de 20 J/cm² e área de feixe de 3,464mm².

Cirurgia

Os animais, após a pesagem, foram submetidos a uma anestesia geral, administrada por via intraperitoneal, de Hidrato de Cloral 4% 10ml/kg de peso corporal, e em seguida foram realizados cuidados como a tricotomia e anti-sepsia no local cirúrgico do membro inferior direito para assim abordarmos o nervo peroneiro (fibular comum) e realizarmos a técnica de esmagamento. Os animais foram posicionados em decúbito ventral, com as patas traseiras e dianteiras fixadas em abdução e foi realizada a incisão na região lateral da coxa, do trocanter maior até o côndilo lateral do fêmur. A musculatura foi rompida por divulsão até a visualização do nervo ciático e os seus três ramos: peroneiro (fibular comum), tibial e sural. A compressão do peroneiro teve o comprimento de 5mm, peso de 5Kgf e tempo de esmagamento padronizado em 10 minutos. Após o esmagamento o nervo foi colocado em seu leito, não sendo realizada a sutura dos músculos, somente a sutura da pele com fio de nylon 3-0 e finalizada com os cuidados de higiene e anti-sepsia no local cirúrgico. O esmagamento do nervo peroneiro foi realizado por meio de uma pinça de pressão especialmente confeccionada para este fim. Esta pinça produz uma lesão estática fixa de 5.000g, e foi previamente calibrada na Máquina Universal de Ensaio (marca EMIC®, modelo DL 10000).

Avaliação funcional da marcha

Para a avaliação funcional foram analisadas as impressões das pegadas, registradas pela câmera de vídeo digital, em uma passarela de acrílico com dimensões: corredor de 43cm de comprimento,



Figura 1 – Esquema dos grupos tratados, demonstrando o local de irradiação do laser AsGaAl.

5,5cm de altura e 8,7cm de largura e uma casinhola de madeira no final do percurso. O registro das pegadas foi feito por meio de câmera digital Sony Handycam – *Digital Video Câmera Recorder*, e as imagens captadas foram analisadas por meio do software AFNP – *Análise Funcional dos Nervos Periféricos* (Figura 2), o qual calculou os parâmetros pré-determinados para a avaliação funcional da marcha.



Figura 2 – Tela de avaliação do programa AFNP (Avaliação Funcional de Nervos Periféricos).

Os animais foram previamente colocados para caminhar na passarela de acrílico até a casinhola de madeira para assim se adaptarem. As impressões das pegadas foram obtidas no pré-operatório, 14^o, 21^o e 28^o dias após a lesão. Nas pegadas foram medidos os parâmetros: E: experimental; N: normal; PL: comprimento da pata; TS: espalhar total dos dedos; IT: espalhar total dos dedos intermediários. Estes mesmos dados foram lançados na fórmula de Bain et al.¹⁰ as quais forneceram o índice funcional do peroneiro (PFI):

$$PFI = 174,9 \times \frac{EPL - NPL}{NPL} + 80,3 \times \frac{ETS - NTS}{NTS} - 13,4$$

Análise estatística

Para atingir os objetivos comparativos utilizou-se o modelo linear de efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos) que é utilizado na análise de dados onde as respostas de um mesmo indivíduo estão agrupadas e a suposição de independência entre as observações num mesmo grupo não é adequada. Para a utilização e adequação deste modelo, é necessário que o resíduo tenha distribuição normal com média zero e variância constante. Quando o pressuposto não foi atendido, utilizou-se uma transformação na variável resposta. O ajuste do modelo foi feito através do procedimento PROC MIXED do software SAS[®] 9.0, considerando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

O estudo foi feito em um total de 200 imagens da pegada em diferentes períodos. Na avaliação funcional da marcha pelo PFI, no 21^o e 28^o dias de pós-operatório não foram observados nenhum valor estatisticamente significativo, quando comparados e intercalados os 6 grupos. Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas somente no 14^o dia de pós-operatório. (Tabela 1)

Tabela 1 – Comparações para a variável PFI fixando o 14^o dia de pós-operatório.

| Tempo | Grupo | Média | Desvio Padrão | Grupo | Média | Desvio Padrão | P-valor |
|---------------------|-------|--------|---------------|-------|--------|---------------|---------|
| | 1 | -7,77 | 9,85 | 2 | -44,29 | 14,80 | <0,01 |
| | 1 | -7,77 | 9,85 | 3 | -44,31 | 15,45 | <0,01 |
| | 1 | -7,77 | 9,85 | 4 | -35,31 | 10,31 | <0,01 |
| | 1 | -7,77 | 9,85 | 5 | -32,77 | 14,96 | <0,01 |
| | 1 | -7,77 | 9,85 | 6 | -37,62 | 12,94 | <0,01 |
| | 2 | -44,29 | 14,80 | 3 | -44,31 | 15,45 | 0,97 |
| | 2 | -44,29 | 14,80 | 4 | -35,31 | 10,31 | 0,04 |
| 14 ^o dia | 2 | -44,29 | 14,80 | 5 | -32,77 | 14,96 | 0,01 |
| | 2 | -44,29 | 14,80 | 6 | -37,62 | 12,94 | 0,14 |
| | 3 | -44,31 | 15,45 | 4 | -35,31 | 10,31 | 0,06 |
| | 3 | -44,31 | 15,45 | 5 | -32,77 | 14,96 | 0,01 |
| | 3 | -44,31 | 15,45 | 6 | -37,62 | 12,94 | 0,15 |
| | 4 | -35,31 | 10,31 | 5 | -32,77 | 14,96 | 0,56 |
| | 4 | -35,31 | 10,31 | 6 | -37,62 | 12,94 | 0,66 |
| | 5 | -32,77 | 14,96 | 6 | -37,62 | 12,94 | 0,31 |

O Grupo 2, lesado não tratado (-44,29±14,8), quando comparado com o Grupo 4, tratado na medula (-35,31±10,31), e com o Grupo 5, tratado no nervo (-32,77±14,96), apresentou diferenças estatisticamente significantes com p=0,04 e p=0,01, respectivamente; o Grupo 3, placebo (-44,31±15,45), quando comparado com o Grupo 5, tratado no nervo (-32,77±14,96), apresentou diferença estatisticamente significativa com p=0,01. (Figura 3)

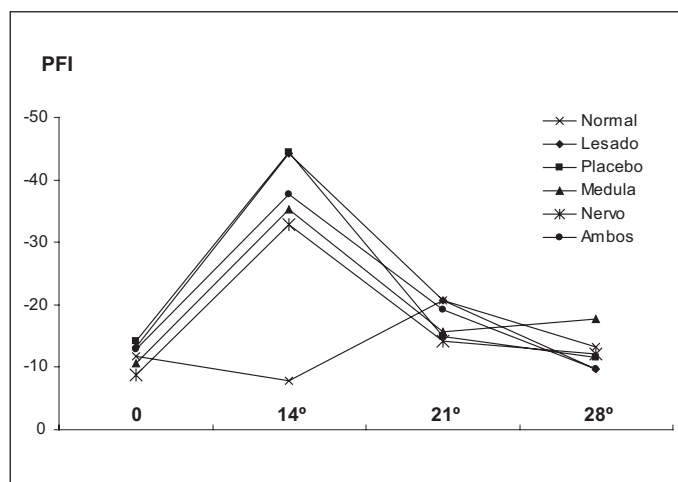


Figura 3 – Índice funcional do peroneiro (PFI) de acordo com o comportamento dos grupos em relação ao tempo.

O Grupo 2, lesado não tratado, e o Grupo 3, placebo, apresentaram médias semelhantes -44,29±14,8 e -44,31±15,45, respectivamente. Porém quando comparados com o Grupo 4, tratado na medula (-35,31±10,31), o primeiro apresentou diferença estatisticamente significativa (p=0,04) enquanto o segundo não (p=0,06), na avaliação funcional do 14^o dia de pós-operatório.

O PFI no pré-operatório em todos os grupos, variou entre as médias; mínima de $-8,68 \pm 7,43$ e máxima de $-14,24 \pm 6,32$.

Na fórmula do PFI a média na avaliação funcional da marcha do 14º dia de pós-operatório, demonstrou uma melhor recuperação do grupo tratado no nervo ($-32,77 \pm 14,96$) quando comparado aos demais grupos tratados, sendo ainda a recuperação do grupo tratado na medula ($-35,31 \pm 10,31$) melhor que a do grupo tratado em ambos ($-37,62 \pm 12,94$). No 21º dia de pós-operatório manteve-se o mesmo padrão de diferença entre as médias na avaliação funcional da marcha.

DISCUSSÃO

O rato foi o animal escolhido para a realização dos experimentos devido ao fato de ser de baixo custo e de fácil manuseio, possuindo os nervos periféricos semelhantes aos dos humanos, bem como a fisiologia e os processos biológicos envolvidos na regeneração. Por estes motivos o rato, é o animal mais usado nos estudos de regeneração nervosa periférica.^{8,11}

O procedimento cirúrgico, para a lesão do nervo peroneiro utilizando a pinça, é de fácil aprendizado sem necessidade de equipamentos microcirúrgicos, e teve em média 20 minutos de duração para cada animal. A lesão por esmagamento foi produzida em todos os animais por uma pinça esmagadora de carga fixa (5kgf), a mesma utilizada por Monte-Raso et al.¹² proporcionando a homogeneidade das lesões. Esse método não provoca o estiramento do nervo, pois o mesmo não precisa ser exposto, sendo esmagado no seu próprio leito, diminuindo assim mais uma variável, que é o estiramento nervoso.

Após a lesão nervosa periférica, vários autores relataram algumas complicações como contraturas articulares em flexão da pata,⁸ morte por acidentes anestésicos, necrose dos dedos da pata, morte sem causa determinada durante o tratamento,⁹ auto-mutilações das patas operadas,⁷ infecções e deiscência da sutura durante o tratamento. Essas tais complicações, levam a exclusão do animal. Neste estudo, cinco animais morreram no pós-operatório, provavelmente por dose excessiva de anestésico, não havendo mais casos de exclusão de animais por nenhuma outra complicação.

Não encontramos problemas na aplicação do laser já que os animais se comportaram bem durante o tratamento que durou 40 segundos para cada ponto, em um total de 4 pontos por animal.

O tratamento com o laser de baixa intensidade vem sendo investigado por vários autores que relatam seus benefícios na regeneração do tecido nervoso. A irradiação do laser promove uma recuperação funcional significativa,¹³⁻¹⁵ aumenta a quantidade de tecido conectivo (colágeno), aumenta o número de fibroblasto no local da lesão e o de axônios mielinizados acelerando a condução nervosa,¹⁵ acelera a cura,^{13,16} induz uma recuperação mais rápida do trofismo muscular¹³ e atua tanto na regeneração quanto na prevenção da degeneração das fibras nervosas.¹⁷

Khullar et al.⁶, Gigo-Benato et al.¹³ e Rochkind et al.¹⁷ estudaram a influência do laser de baixa intensidade, irradiado no trajeto do nervo, sobre a lesão nervosa periférica e encontraram efeitos positivos para a regeneração nervosa. Rochkind et al.⁴ ao estudar a irradiação do laser de baixa intensidade na medula espinhal, na região correspondente ao nervo lesado, afirmou ter encontrado uma melhora na recuperação do nervo periférico lesado correspondente, já Bagis et al.⁵ ao realizar um estudo com esmagamento do nervo ciático de ratos utilizou o mesmo local de irradiação com o laser AsGa e afirmou que o mesmo é ineficiente no reparo da lesão nervosa.

No estudo de Bagis et al.⁵ dois fatores podem ter influenciado o fato de não ter sido encontrada nenhuma melhora na regeneração

nervosa, o provável pouco tempo de aplicação do laser, que foi de sete dias consecutivos e a emissão pulsada do laser de baixa intensidade escolhida para o estudo.

Anders et al.³ propuseram que o efeito da irradiação do laser de baixa intensidade na recuperação nervosa periférica pode ser aumentado se além do trajeto do nervo, o segmento correspondente da medula espinhal também for irradiado. Futuros trabalhos investigaram a influência do laser na regeneração nervosa quando irradiado em ambos os locais, na medula e no nervo, assim como os estudos de Rochkind et al.¹⁸ em ratos e Rochkind et al.¹⁵ em humanos, os quais mostraram uma melhora na regeneração nervosa, quando comparados com seus respectivos placebos.

Já em nosso estudo não foi encontrada nenhuma melhora na regeneração nervosa periférica através da avaliação funcional da marcha no grupo tratado com laser de AsGaI (830nm) em ambos os locais, no seguimento da medula espinhal e no trajeto do nervo. Não obtendo, este grupo, diferença estatisticamente significativa quando comparado aos demais grupos.

A avaliação funcional da marcha é o método mais utilizado em nosso laboratório, em investigações do nervo ciático de ratos, mostrando uma clara correlação entre este e a avaliação por morfometria do nervo.^{1,2,9}

Os padrões da marcha desenvolvido na lesão de cada nervo são previstos pelos fundamentos básicos dos princípios anatômicos. Com a lesão do nervo peroneio, os extensores dos dedos, os dorsoflexores e os eversores da pata são desenergados, causando a não oposição dos dedos e flexão da pata que culmina em um encurtamento do comprimento da pegada. A distância entre os dedos intermediários é relativamente inalterada devido à função normal dos intrínsecos da pata. Somente uma ligeira diminuição do espalhar dos dedos é notada.¹⁰

A avaliação funcional da marcha no pré-operatório não atingiu o valor zero, como se era esperado, e sim uma oscilação em torno de -10. Medonça et al.¹ também encontraram essa mesma oscilação.

No 14º dia de pós-operatório os grupos, tratado na medula e tratado no nervo, apresentaram melhora na avaliação funcional da marcha quando comparados ao grupo lesado não tratado. E o grupo tratado no nervo apresentou melhora em relação ao grupo placebo, o que não ocorreu com o grupo tratado na medula.

Quando comparados, o grupo tratado no nervo apresentou melhor média que o grupo tratado na medula, o que explica o fato do grupo tratado no nervo ter apresentado diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo placebo e ao grupo lesado não tratado, enquanto o grupo tratado na medula apresentou diferença estatisticamente significativa somente quando comparado ao grupo lesado não tratado, embora os grupos, placebo e lesado não tratado apresentarem médias semelhantes.

As médias da avaliação funcional da marcha mostram ainda, o melhor resultado obtido com o tratamento do laser de baixa intensidade no trajeto do nervo quando comparado aos resultados dos demais tratamentos, sendo ainda o resultado do tratamento no segmento da medula correspondente ao nervo melhor que o resultado do tratamento em ambos os locais.

CONCLUSÃO

Concluimos que a irradiação do laser AsGaI (830nm) de baixa intensidade foi capaz de acelerar e potencializar o processo de regeneração nervosa periférica de ratos no 14º dia de pós-operatório, de acordo com a avaliação funcional da marcha, tanto para o grupo tratado na medula quanto para o grupo tratado no nervo.

REFERÊNCIAS

1. Medonça AC, Barbieri CH, Mazzer N. Directly applied low intensity direct electric currents enhances peripheral nerve regeneration in rats. *J Neurosci Methods*. 2003;129:183-90.
2. Raso MVV, Barbieri CH, Mazzer N, Fazan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? *J Neurosci Methods*. 2005;142:185-92.
3. Anders JJ, Geuma S, Rochkind S. Phototherapy promotes regeneration and functional recovery of injured peripheral nerve. *Neurol Res*. 2004;26:233-9.
4. Rochkind S, Nissan M, Alon M, Shamir M, Salame K. Effect of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. *Lasers Surg Med*. 2001;28:216-9.
5. Bagis S, Comelekoglu U, Coskun B, Milcan A, Buyukakilli B, Sahim G et al. No effect of GA-AS (904 nm) laser irradiation on the intact skin of the injured rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med*. 2003;18:83-8.
6. Khullar SM, Brodin P, Messelt EB, Haanaes HR. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. *Eur J Oral Sci*. 1995;103:299-305.
7. 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;96:89-96.
8. Varejão ASP, Meek MF, Ferreira AJA, Patrício JAB, Cabrita AMS. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods*. 2001;108:1-9.
9. Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg*. 2001;17:69-75.
10. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *J Reconstr Microsurg*. 1989;83:129-38.
11. Rodríguez FJ, Valero-Cabré A, Navarro X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2004;1:177-85.
12. Monte-Raso VV, Barbieri CH, Mazzer N, Yamasita AC, Barbieri G. In the sciatic functional index always reliable and producible? *J Neurosci Methods*. 2008;170:255-61.
13. Gigo-Benato D, Geuma S, Rodrigues AC, Tos P, Fornaro M, Boux E et al. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurotomy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. *Lasers Med Sci*. 2004;19:57-65.
14. Rochkind S. Photoengineering of neural tissue repair processes in peripheral nerves and the spinal cord: research development with clinical applications. *Photomed Laser Surg*. 2006;24:151-7.
15. Rochkind S, Drory V, Alon M, Nissan M, Ouaknine GE. Laser phototherapy (780 nm), a new modality in treatment of long-term incomplete peripheral nerve injury: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Photomed Laser Surg*. 2007;25:436-42.
16. Khullar SM, Brodin P, Messelt EB, Haanaes HR. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. *Eur J Oral Sci*. 1995;103:299-305.
17. Rochkind S, Barnea L, Razon N, Bartal A, Schwartz M. Stimulatory effect of He-Ne low dose laser on injured sciatic nerves of rats. *Neurosurgery*. 1987;20:843-7.
18. Rochkind S, Leider-Trejo L, Nissan M, Shamir MH, Kharenko O, Alon M. Efficacy of 780-nm laser phototherapy on peripheral nerve regeneration after neurotube reconstruction procedure (double-blind randomized study). *Photomed Laser Surg*. 2007;25:137-43.