

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



O USO DO LASER TERAPÊUTICO CLASSE IV NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE DO
COTOVELO EM *Canis Familiaris*

JOÃO TIAGO MALTA FERNANDES

ORIENTADOR(A):
Doutor Luis Miguel Alves Carreira

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



O USO DO LASER TERAPÊUTICO CLASSE IV NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE DO
COTOVELO EM *Canis Familiaris*

JOÃO TIAGO MALTA FERNANDES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI:

PRESIDENTE:

Doutora Maria de São José Sousa Derieux
Centeno

VOGAIS:

Doutor Luís Miguel Alves Carreira
Doutor António Manuel Correia Martinho Lopes

ORIENTADOR(A):

Doutor Luís Miguel Alves Carreira

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: João Tiago Malta Fernandes

Título da Tese ou Dissertação: O uso do LASER terapêutico Classe IV no tratamento da osteoartrite do cotovelo em *Canis Familiaris*

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2022

Designação do curso de Mestrado ou de Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 3 de março de 2022

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: João Tiago Malta Fernandes

Agradecimentos

Ao meu pai, à minha mãe, ao meu irmão, pela educação e desenvolvimento de carácter, por sempre apoiarem as minhas decisões pessoais e profissionais e pelo acompanhamento contínuo em todas as etapas da minha vida.

A mim, por nunca ter desistido, por ter dúvidas acerca do curso, por me questionar, por superar, por aguentar, por ter acreditado em mim, pelo trajeto que fiz e por aquilo que ainda conseguirei atingir no futuro.

À Jéssica, por ter sempre lá estado quando tudo parecia perdido, pelo carinho e ajuda nos momentos difíceis, por ter sido um pilar nas vitórias cruciais do curso, pela constante motivação e clarificação do meu futuro. Provavelmente não teria chegado a este momento sem a sua guia.

A todos os meus familiares, que me proporcionaram uma infância feliz, sempre com um ambiente acolhedor e de grande confraternização, que até aos dias de hoje assim permanece. Levo sempre um pedaço deles para onde quer que eu vá, o que se reflete pela minha maneira de ser e pelo meu convívio com os meus amigos e colegas.

Com o término do curso e da dissertação de mestrado, lembro agora as pessoas que a Faculdade de Medicina Veterinária me apresentou. Ao Francisco e ao Ricardo por estarem sempre presentes, desde o primeiro dia, pela amizade e companheirismo. Ao André, que apesar de me aturar durante o estágio, ainda me chateia com palestras, artigos e fomenta a minha capacidade de conseguir mais. Ao Manuel, à Inês, à Mia, à Anita, por complementarem os meus dias com gargalhadas e convívios que fazem esquecer as preocupações. À Cláudia que além de amiga, muitas vezes me salvou nas épocas fastidiosas de exames. À Rita e Gonçalo por me acolherem no meio universitário e pela minha inclusão natural na família da FMV.

Ao CMVAA por ter sido o fator esclarecedor de muitas questões minhas em relação ao meu futuro na medicina veterinária e pela maneira como me forneceu tudo para que fosse possível a realização desta dissertação.

Ao meu orientador, Professor Luis Miguel Carreira, por todo o conhecimento e ajuda no estágio e dissertação, pela possibilidade de assistir e ajudar diretamente em várias atividades clínicas que me enchem de orgulho; ao Dr. Pedro, pela amizade e ajuda dada seja qual fosse o tema de discussão clínica; ao Dr. Ricardo e à Dr. Margarida por me fazerem sentir em casa na clínica e pela paciência que tiveram comigo, assim como à Enfermeira Rita e a Andreia que de certeza se lembram de situações caricatas das quais eu fui protagonista. Neste centro médico-veterinário, senti-me como parte de algo, o que creio que me faltava para ter a ambição e vontade de prosseguir a profissão de forma mais decisiva e motivada.

Por último, ao Dr. Bryan Stephens por me prestar auxílio no desenvolvimento da tese, disponibilizando ajuda bibliográfica essencial para a explicação de várias temáticas.

O uso do LASER terapêutico Classe IV no tratamento da osteoartrite do cotovelo em *Canis familiaris*

Resumo

A osteoartrite (OA) é uma das principais causas de dor crônica em medicina veterinária. Caracterizada pela degeneração e perda progressiva da cartilagem articular, alterações hipertróficas do tecido ósseo, inflamação e fibrose da membrana sinovial, das estruturas periarticulares e alterações qualitativas e quantitativas no fluido sinovial. A terapia de fotobiomodulação veiculada por LASER Classe IV, surge atualmente com resultados promissores no tratamento da OA. A goniometria, é uma ferramenta importante no estudo da evolução clínica da OA. O presente estudo teve como objetivo avaliar as vantagens do LASER terapêutico Classe IV no tratamento de doentes com OA do cotovelo, e a sua relação com parâmetros: Idade, Género, Raça, Tempo de Claudicação e Membro Afetado. Para tal utilizou-se uma amostra de 30 animais (N=30), diagnosticados com osteoartrite do cotovelo, divididos em 3 grupos: o GC (grupo controlo de indivíduos saudáveis com N=6), o GM (grupo medicamentoso de doentes com OA, N=12) e GL (grupo de LASER de doentes com OA, N=12). Todos os doentes foram sujeitos ao mesmo protocolo medicamentoso, variando apenas no uso de LASER Classe IV no GL realizado ao longo de 21 dias. A goniometria de extensão e de flexão do cotovelo foi avaliada em quatro tempos foram considerados: T0 (início do tratamento), T1 (7 dias após o início), T2 (14 dias após o início) e T3 (21 dias após o início). De acordo com os resultados obtidos, existem diferenças estatisticamente significativas entre GM e GL na goniometria de extensão ($p < 0,001$) de flexão ($p < 0,001$). A análise intra-grupo permitiu verificar que o parâmetro Membro Afetado influencia a goniometria de extensão (GM com $p = 0,04$ e GL com $p = 0,04$) e de flexão apenas em GL ($p < 0,01$). O presente estudo permitiu concluir que o uso do LASER Classe IV é benéfico no tratamento da OA, melhorando muito os valores da goniometria de extensão e de flexão em doentes com OA.

Palavras-Chave: Cão; Osteoartrite; LASER terapêutico Classe IV; Goniometria; Flexão, Extensão

The use of therapeutic Class IV LASER in the treatment of elbow osteoarthritis in *Canis familiaris*

Abstract

Osteoarthritis (OA) is one of the main causes of chronic pain in veterinary medicine. Characterized by progressive degeneration and loss of articular cartilage, hypertrophic changes in bone tissue, inflammation and fibrosis of the synovial membrane, periarticular structures and qualitative and quantitative changes in synovial fluid. The photobiomodulation therapy conveyed by Class IV LASER, currently appears with promising results in the treatment of OA. Goniometry is an important tool in the study of the clinical evolution of OA. This study aimed to evaluate the advantages of therapeutic Class IV LASER in the treatment of patients with OA of the elbow, and its relationship with parameters: Age, Gender, Race, Time of Claudication and Affected Limb. For this purpose, a sample of 30 animals (N=30) was used, diagnosed with OA of the elbow, divided into 3 groups: the CG (control group of healthy individuals, N=6), the GM (medicated group of OA patients, N=12) and the GL (LASER group of OA patients, N=12). All patients were subjected to the same drug protocol, varying only in the use of class IV LASER in the GL performed over 21 days. Elbow extension and flexion goniometry was assessed at four different times: T0 (start of treatment), T1 (7 days after the start), T2 (14 days after the start) and T3 (21 days after the start). According to the results obtained, there are statistically significant differences between GM and GL in the goniometry of extension ($p<0,001$) and flexion ($p<0,001$). The intra-group analysis allowed verifying that the Affected Member parameter influences the extension goniometry (GM with $p=0,04$ and GL with $p=0,04$) and of flexion only in GL ($p<0,01$). The present study allowed for the conclusion that the use of Class IV LASER is beneficial in the treatment of OA, greatly improving the values of extension and flexion goniometry in OA patients.

Keywords: Dog; Osteoarthritis; Class IV therapeutic LASER; Goniometry; Flexion, Extension

Índice

1. Relatório de Estágio.....	1
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1. Osteoartrite	3
2.1.1. Características da Cartilagem Articular.....	3
2.1.2. Processos Patológicos:	4
2.1.2.1. Inflamação na Osteoartrite	4
2.1.2.2. Dor	6
2.1.2.3. Alterações Morfológicas.....	7
2.2. Goniometria e Ângulos Fisiológicos.....	9
2.2.1. Generalidades.....	10
2.2.2. Goniometria do Cotovelo.....	10
2.2.3. Amplitude de Movimento na Osteoartrite	12
2.3. História do Uso da Luz na Medicina	12
2.3.1 Fotobiomodulação	14
2.4. Propriedades da Radiação.....	15
2.4.1. Ação Biológica da Luz	16
2.4.1.1. Bio Alvos da Radiação	16
2.4.1.2. Absorção e seus Efeitos	17
2.4.1.3. Fotobiomodulação.....	17
2.5. O LASER Classe IV.....	19
2.5.1. Componentes do LASER	19
2.5.2. Propriedades do LASER	20
2.5.3. Modos de Emissão.....	20
2.5.4. Classificação	21
2.6. Interação do LASER Classe IV na Articulação	22
2.6.1. Efeito anti-inflamatório	22
2.6.1.1. Mediadores Inflamatórios.....	23
2.6.2. Efeito Analgésico.....	25
2.6.3. Fotobiomodulação na Osteoartrite.....	27
3. Materiais e Métodos.....	29
3.1. Caracterização do Estudo	29
4. Resultados	30
4.1. Estatística Descritiva	30
4.2. Comparação da extensão e flexão entre os dois grupos de estudo (GM e GL).....	33
4.3. Estudo da influência no dia de início da terapêutica (T0) e na evolução do tratamento dos parâmetros: Idade, Género, Raça, Tempo de Claudicação e Membro Afetado, sobre a goniometria da Extensão e Flexão	35

4.3.1. Grupo de Medicação.....	35
4.3.2. Grupo de LASER.....	38
5. Discussão de Resultados	41
6. Conclusão.....	44
7. Referências Bibliográficas	45
8. Anexos	59
Anexo 1 – Imagens da seleção das frequências utilizadas no tratamento com o LASER de Classe IV doctorVet V1.....	59

Lista de Figuras

Figura 1 - Representação ilustrativa das camadas da cartilagem (Adaptado de Fox 2016) ...	7
Figura 2 - Visão artroscópica da sinovite, caracterizada pela infiltração da membrana sinovial com células inflamatórias resultando em vascularização e hiperplasia da mesma (Adaptado de Fox 2016)	8
Figura 3 - Medição do ângulo da extensão através da utilização do goniómetro.....	11
Figura 4 - Medição do ângulo da flexão através da utilização do goniómetro-.....	11
Figura 5 - Estrutura da luz como uma onda eletromagnética (Adaptado de Redondo and Stephens 2019)	15
Figura 6 - A Cadeia Transportadora de Eletrões (Adaptado de Redondo and Stephens 2019)	18
Figura 7 - Componentes de um LASER (Adaptado de Riegel and Godbold 2017)	19
Figura 8 - Mecanismos propostos para o efeito analgésico da PBMT (Adaptado de Redondo and Stephens 2019)	26

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Análise de estatística descritiva dos parâmetros em estudo, considerando o total da amostra e cada grupo em separado (GM e GL)	31
Tabela 2 - Análise de estatística descritiva dos parâmetros da extensão e flexão nos diferentes momentos de medição.....	32
Tabela 3 - Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo no Grupo de Medicação (GM) em T0.....	35
Tabela 4 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de Medicação (GM).....	35
Tabela 5 – Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo no Grupo de Medicação (GM)	36
Tabela 6 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de Medicação (GM)	37
Tabela 7 – Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo no Grupo de LASER (GL)	38
Tabela 8 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de LASER (GL).....	38
Tabela 9 – Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo no Grupo de LASER (GL)	39

Tabela 10 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de LASER (GL)	39
--	----

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição de casos por especialidade médica.....	2
Gráfico 2 – Diagramas de extremos e quartis relativos à medição angular da flexão no grupo de controlo (GC), grupo de LASER (GL) e grupo de medicação (GM), ao registo (T0) (2a) e ao dia 21 de terapêutica (T3) (2b)	32
Gráfico 3 – Diagramas de extremos e quartis relativos à medição angular da flexão no grupo de controlo (GC), grupo de LASER (GL) e grupo de medicação (GM), ao registo (T0) (3a) e ao dia 21 de terapêutica (T3) (3b)	33
Gráfico 4 - Comparação das médias angulares da extensão entre o Grupo de Medicação (GM) e o Grupo de LASER (GL) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)	34
Gráfico 5 – Comparação das médias angulares da flexão entre o Grupo de Medicação (GM) e o Grupo de LASER (GL) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)	34
Gráfico 6 – Comparação das médias angulares da extensão do Grupo Medicação (GM) entre o Membro Direito (Lado D) e o Membro Esquerdo (Lado E) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)	36
Gráfico 7 – Comparação das médias angulares da flexão do Grupo Medicação (GM) entre o Membro Direito (Lado D) e o Membro Esquerdo (Lado E) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)	37
Gráfico 8 – Comparação das médias angulares da extensão do Grupo LASER (GL) entre o Membro Direito (Lado D) e o Membro Esquerdo (Lado E) ao longo do Tempo T0, T7, T14 e T21)	39
Gráfico 9 – Comparação das médias angulares da flexão do Grupo LASER (GL) entre o Membro Direito (Lado D) e o Membro Esquerdo (Lado E) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)	40

Lista de Abreviaturas

° – graus

cm² – centímetros quadrados

AA – ácido araquidónico

ADM – amplitude de movimento

ADN – ácido desoxirribonucleico

AINEs – anti-inflamatórios não esteróides

ANSI – *American National Standards Institute*

ASLMS – *American Society for Laser Medicine and Surgery*

ATP – trifosfato de adenosina
CD – condrodistróficas
CO – monóxido de carbono
Col2 – colagénio tipo II
COX – ciclo-oxigenase
COX-2 – ciclo-oxigenase-2
DC – displasia de cotovelo
DDA – doença degenerativa articular
eNOS – isoformas endoteliais da óxido nítrico sintetase
ERO – espécies reativas de oxigénio
FCP – processo coronoide fragmentado
FDA – *Food and Drug Administration*
GaAIs – gálio-alumínio-arseniato
GaAs – arseniato de gálio
H₂O – molécula de água
HPLT – *high-power laser therapy*
IEC – *International Electrotechnical Institute*
IkBs – proteína inibidora do fator nuclear kappa B
IL-1 – interleucina-1
IL-10 – interleucina-10
IL-1β – interleucina-1 β
IL-4 – interleucina-4
IL-6 – interleucina-6
ILTA – *International Laser Therapy Association*
iNOS – isoforma induzível da óxido nítrico sintetase
iNOS – óxido nítrico-sintase induzida
ISLAM – *International Society for Laser Applications*
J – Joules
LASER – *light amplification by stimulated emission of radiation*
LLLTT – *low-level laser therapy*
LTB₄ – leucotrieno B₄
MASER - *microwave amplification by stimulated emission of radiation*
MeSH – *Medical Subject Headings*
MMP-1 – metaloproteinase de matriz 1
MMP-11 – estromelina
MMP-13 – metaloproteinase de matriz 13
MMP-2 – metaloproteinase de matriz 2

MMP-3 – metaloproteinase de matriz 3
MMP-9 – metaloproteinase de matriz 9
MMPs – metaloproteinases de matriz
mW – miliwatt
N – elemento químico de azoto
NAALT – *North American Association for Photobiomodulation Therapy*
NCD – não condrodistróficas
NF-kB – fator nuclear kappa B
NGF – fator de crescimento nervoso
nm – nanómetro
nNOS – isoformas neuronais da óxido nítrico sintetase
N-O – ligação azoto-oxigénio
NO – óxido nítrico
NOS – óxido nítrico sintetase
NUAP – não união do processo ancóneo
O – elemento químico de oxigénio
O₂ – oxigénio
OA – osteoartrite
OC – onda contínua
OCD – osteocondrite dissecante
O-H – ligações covalentes oxigénio-hidrogénio
O-O – ligação oxigénio-oxigénio
PAF – fator de activação plaquetário
PBMT – terapia de fotobiomodulação
PGE2 – prostaglandina E2
PGI2 – prostaciclina
SIRS – síndrome de resposta inflamatória sistémica
TGF- β – fator de transformação do crescimento beta
TIMPs – metaloproteinases inibidoras de tecidos
TNF- α – fator de necrose tumoral alfa
TXA2 – tromboxano A2
WALT – *World Association for Laser Therapy*

1. Relatório de Estágio

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) foi realizado no Centro de Medicina Veterinária Anjos de Assis (CMVAA), Barreiro, por um período de 6 meses compreendido entre outubro de 2020 e abril de 2021, sob a orientação do Professor Doutor Luis Miguel Carreira, perfazendo um total de 1248 horas.

O estágio permitiu uma aprendizagem teórica e prática consistente e com aplicação dos conteúdos abordados ao longo do curso em áreas como a Medicina Preventiva, Patologia Médica, Imagiologia e Patologia Cirúrgica do Cão, Gato e Exóticos.

Na minha participação em consultas, os principais objetivos foram fomentar o contacto com os clientes, recolher dados e adquirir a capacidade de interpretação de informação pertinente. No caso de Medicina Preventiva, as consultas compreendem o ato de vacinação, identificação eletrónica, desparasitação, preenchimento de certificados oficiais, preenchimento de boletins de sanidade, preenchimento de passaporte internacional e a transmissão de informações indispensáveis ao bem-estar animal e à sua saúde.

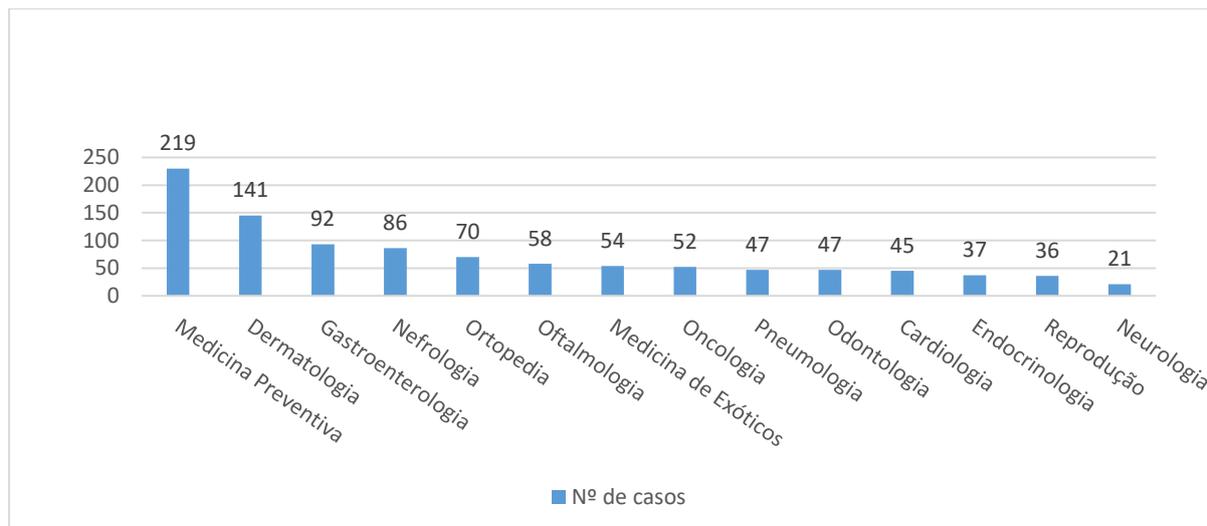
As tarefas realizadas nas consultas de Patologia Médica consistiram em receber os doentes, respetiva pesagem, identificação do estímulo iatrotópico e sinais apresentados, realização de anamnese minuciosa e exame do estado geral. Por vezes, com o clínico responsável, procedia-se à discussão do caso, dos exames complementares de diagnóstico e das terapêuticas instituídas. Esta categoria engloba o acompanhamento de variados casos clínicos primários e de referência, encaixados nas diferentes áreas de atuação como a dermatologia, gastroenterologia, urologia, ortopedia, oftalmologia, oncologia, pneumologia, estomatologia, cardiologia, endocrinologia, reprodução, neurologia, traumatologia, otorrinolaringologia, infecologia, hepatologia e toxicologia clínica.

Particpei na realização de sessões de terapia de LASER terapêutico de Classe IV, electroestimulação por acupuntura e ultrassons terapêutico.

Em situações de emergência, as atividades consistiam na ajuda ao médico veterinário em manobras de reanimação cardiorrespiratória, na colocação do tubo endotraqueal e preparação de medicação.

No internamento houve a possibilidade de realizar as monitorizações dos animais internados com diversos exames físicos e exames dirigidos, cateterização, preparação da medicação e sua administração, instalação e controlo de taxas de fluidoterapia, realização de colheita de amostras biológicas, medição do nível de glicémia, medição de temperatura, higienização dos doentes e das instalações e alimentação dos animais internados.

Gráfico 1 – Distribuição de casos por especialidade médica



Em termos de Imagiologia, foi cimentado o conhecimento e prática do posicionamento dos doentes para a realização de radiografia e a interpretação de imagens, assim como em ecografia trans-abdominal, ecocardiografia e endoscopia. Em procedimentos invasivos tais como citologias ecoguiadas e colheita de urina por cistocentese, prestei auxílio ao clínico responsável. Apesar de não serem efetuadas tomografias computadorizadas, as imagens enviadas para a clínica também foram interpretadas.

A comunicação com os tutores, sendo fulcral tanto para a anamnese como para a transmissão de informação essencial, foram demonstradas por todos os médicos veterinários do estabelecimento, o que foi importantíssimo para o meu crescimento profissional.

Foi-me facultada a responsabilidade de efetuar e interpretar os resultados de procedimentos laboratoriais, sendo estes: hemograma, bioquímicas sanguíneas, serologias infecciosas, urianálises e ionograma. Foram adquiridas capacidades para efetuar os procedimentos relativos à preparação e envio para laboratório externo de amostras biológicas para realização de exames, sendo estes: titulação de anticorpos, doseamentos hormonais e de fármacos (por vezes por suspeita de envenenamento), testes sanguíneos de alérgenos, citologia e histopatologia.

No âmbito da Patologia Cirúrgica, segui vastos casos, não só como ajudante de cirurgião, mas como também anestesista e circulante. Desempenhei várias atividades, desde a sua admissão, à avaliação das análises e da condição geral dos doentes cateterização e administração de fármacos. Ajudei na preparação dos animais para cirurgia, com a realização da indução, intubação endotraqueal, tricotomia e assépsia. Como anestesista, acompanhei o recobro do indivíduo e efetuei a transmissão de informação relativa à cirurgia, anestesia e cuidados pós-cirúrgicos ao cuidador. Cirurgicamente, as especialidades acompanhadas foram: neurologia, gastroenterologia, odontologia, oncologia, otorrinolaringologia, ortopedia e

traumatologia, plástica e reconstrutiva, reprodução, urologia, entre outras. Relacionado a esta temática, efetuei também fisioterapia em animais com défices de mobilidade e com necessidade de recuperação pós-cirúrgica. Adicionando a tudo isto, foi-me dado o privilégio de poder trabalhar com LASER Cirúrgico de Dióxido de Carbono, e de praticar técnicas laparoscópicas com auxílio do simulador *Ethicon LAPAROSCOPIC Trainer - TASKit (Train Anywhere Kit)*.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Osteoartrite

A osteoartrite (OA), conhecida também como doença degenerativa articular (DDA), é a forma mais comum de artrite em cães e gatos (Abercomby et al. 2018) que clinicamente causa dor, rigidez, tumefação e claudicação, resultado da diminuição do amortecimento e alterações no líquido sinovial (Vaughan-Scott and Taylor 1997). Historicamente do tipo 'não inflamatória', a OA é agora descrita como uma condição inflamatória, com a particularidade de não ser classicamente mediada pelo aumento dos glóbulos brancos no líquido sinovial como nos outros tipos de artrite (Yuan et al. 2003). A cartilagem articular é considerada como o tecido chave na OA, sendo que a articulação sinovial é atualmente assumida como um órgão com interações entre os vários tecidos (cartilagem, sinóvia, osso, ligamento, líquido sinovial, gordura) (Abercomby et al. 2018). Cerca de 20% de cães com mais de 1 ano de idade ano sofre de OA e esta percentagem aumenta para 80% se considerarmos os cães com mais de 8 anos (Johnston 1997), se bem que, num estudo mais recente que considera a população canina do Reino Unido, as estimativas têm variado entre 6,6% com base em dados de cuidados primários e 20% com base em dados de referência (Anderson et al. 2018).

2.1.1. Características da Cartilagem Articular

A cartilagem articular é composta principalmente de fluido tecidual, colagénio tipo II (Col2), e proteoglicanos (Xia et al. 2014). A água é o principal componente do tecido, representando 65-80% do peso húmido. Este elevado teor de fluido permite que nutrientes e oxigénio se difundam através da matriz de cartilagem para as suas células. O Col2, e os proteoglicanos representam 15-22 e 4-7 % do peso húmido da cartilagem, respetivamente (Jackson and Gu 2009). O condrócito articular é o único tipo de célula na cartilagem articular responsável por geração e manutenção do ambiente extracelular cartilaginoso (Woods et al. 2007; Goldring and Marcu 2009).

A matriz de colagénio/proteoglicanos consiste numa malha altamente densa de fibrilas de colagénio incluindo o Col2 e colagénio tipo IX, e XI incorporado numa espécie de gel de proteoglicanos (Kannu et al. 2009). Esta arquitetura hidratada da matriz proporciona à

cartilagem articular uma resistência à tração e um nível de resiliência que permite às articulações manter uma função biomecânica adequada (Iozzo 1998).

À medida que a cartilagem articular amadurece, os condrócitos articulares mantêm a estrutura da cartilagem através da síntese de componentes de matriz (Col2 e proteoglicanos), bem como de enzimas degradantes de matriz que asseguram a renovação mínima de células e da matriz. Como resultado, a rede de colagénio torna-se reticulada, adquirindo assim capacidade de absorver e responder a tensão mecânica (Verzijl et al. 2000). Em condições normais, os condrócitos articulares estão presos numa fase pré-hipertrófica de diferenciação, persistindo assim ao longo da vida para manter uma estrutura normal de cartilagem articular (Pacifci et al. 2005).

2.1.2. Processos Patológicos:

Embora haja uma tendência para pensar na osteoartrite como uma doença meramente degenerativa ("*wear and tear*"), existem processos biológicos ativos nos tecidos, que conduzem gradualmente à perda de integridade da cartilagem e a uma progressão para a erosão e ulceração da cartilagem (Abercomby et al. 2018). No início do processo da doença, o potencial de reparação endógena engloba respostas anabolizantes limitadas. Todavia, os mecanismos de degradação são também ativados e a tendência é para o equilíbrio entre a síntese e o catabolismo oscilar gradualmente em direção a este último, resultando em lesões potencialmente irreversíveis (Fox 2016). Os condrócitos articulares, que possuem pouca capacidade regenerativa e têm uma baixa atividade metabólica nas articulações normais, apresentam uma resposta proliferativa transitória e uma síntese matricial aumentada tentando iniciar a reparação causada pelos estímulos patológicos. Esta resposta caracteriza-se pela clonagem de condrócitos que formam grupos e iniciam um processo de diferenciação hipertrófica, incluindo a expressão de marcadores hipertróficos (Xia et al. 2014). Quando existe a rotura de proteoglicanos e da rede de colagénio, a integridade da cartilagem é perturbada (Mort and Billington 2001). Os condrócitos articulares sofrerão então apoptose e a cartilagem articular será eventualmente completamente perdida (Xia et al. 2014). Durante as fases iniciais da OA, a superfície da cartilagem ainda está intacta. As primeiras alterações relacionam-se com a composição molecular e organização da matriz extracelular (Goldring and Goldring 2010), que estimulam ainda mais os condrócitos a produzir mais fatores catabólicos envolvidos na degradação da cartilagem (Xia et al. 2014).

2.1.2.1. Inflamação na Osteoartrite

A componente inflamatória da OA é a mais prevalente nas diferentes fases da doença. O líquido sinovial da maioria dos doentes com OA é caracterizado por um ligeiro aumento do

número de células mononucleares e um aumento dos níveis de imunoglobulinas e do sistema de complemento. A membrana sinovial mostra sinais de inflamação crónica, incluindo hiperplasia do revestimento com infiltração de células inflamatórias (Fox 2016). As citocinas pró-inflamatórias, sintetizadas tanto na cartilagem como na membrana sinovial, potenciam a cascata de substâncias biologicamente ativas que contribuem para a degradação da articulação (Doom et al. 2008).

Os principais intervenientes no desenvolvimento da OA incluem: ciclo-oxigenase-2 (COX-2), prostaglandina E2 (PGE2), Interleucina-1 β (IL-1 β), metaloproteinase de matriz 13 (MMP-13), óxido nítrico-sintase induzida (iNOS), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e fator nuclear kappa B (NF- κ B).

Aigner et al. (2002) e Goldring e Goldring (2004) demonstraram a presença de níveis muito elevados de IL-1 β e de TNF- α presentes no líquido sinovial, membrana sinovial e tecido de cartilagem de doentes com OA. A produção elevada de citocinas, como o TNF- α , estimula a degradação da matriz da cartilagem através da inibição da produção de proteoglicanos e de colagénio tipo II, ao mesmo tempo que aumenta a produção de enzimas de decomposição da matriz, como as metaloproteinases (Mauviel et al. 1991). Estes mediadores inflamatórios, estimulam a secreção de prostaglandinas e aumentam a atividade das proteinases de decomposição de matriz, tais como a colagenase, gelatinase, proteoglicanase, estromelina (MMP-11) (Bunning and Russell 1989), e ativador do plasminogénio (Campbell et al. 1990). O TNF- α (Miwa et al. 2000) e a IL-1 β também induzem a síntese das enzimas COX-2 e de iNOS (Goldring and Berenbaum 1999; Lotz 1999; Notoya et al. 2000), levando ao aumento da síntese de PGE2 e óxido nítrico (NO), respetivamente (Henrotin et al. 1998; Boumediene et al. 1999). A interleucina-1 (IL-1) também estimula os fibroblastos a produzir colagénio dos tipos I e III, o que contribui para o aparecimento da fibrose da cápsula articular em doentes com OA (Kidd et al. 2010).

O óxido nítrico (NO) é produzido através da ativação do óxido nítrico-sintase induzida (iNOS) (Weinberg et al. 2007). Acredita-se que seja principalmente catabólico na fisiologia das articulações (Fox 2016), visto que medeia a apoptose nos tecidos articulares, bem como a expressão de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-18 e a enzima de conversão IL-1. Além disso, reduz também a síntese do antagonista dos recetores de IL-1 nos condrócitos, um processo possivelmente responsável pelo efeito reforçado da IL-1 β sobre estas células (Boileau et al. 2002; Gyger et al. 2007). O NO inibe ainda a síntese de proteoglicanos e colagénio e regula ascendentemente a síntese de metaloproteinases de matriz (MMPs) que são tipicamente mantidas em controlo através das metaloproteinases inibidoras de tecidos (TIMPs) (Fox 2016). A difusão de NO da camada superficial da cartilagem (zona tangencial) para a sua zona mais profunda (Figura 1) pode também contribuir

para aumentar o nível de síntese de MMP-13 no nível mais profundo da mesma (Pelletier et al. 1996; Zaragoza et al. 2002).

É sabido que as metaloproteinases de matriz são um grupo de endopeptidases ubíquas para quase todos os estados de doença inflamatória. Um equilíbrio homeostático entre MMPs e TIMPs controla a remodelação e síntese dos tecidos (Nagase et al. 2006).

A MMP-13 (colagenase 3) é secretada como uma proteína inativa, que é ativada quando clivada por proteinases extracelulares. Desempenha um papel fundamental na degradação e remodelação das proteínas da matriz extracelular, incluindo a degradação do Col2 (Fox 2016), induzindo lesões irreversíveis na estrutura da matriz cartilaginosa, que reduzem a sua resiliência às forças biomecânicas presentes na OA. A MMP-13 demonstrou um aumento preferencial na zona profunda da cartilagem (zona perpendicular), sendo considerada como um fator catabólico importante nessa zona, bem como nas áreas lesionais de OA (Moldovan et al. 1997; Freemont et al. 1999; Martel-Pelletier et al. 2001).

O fator nuclear kappa B (NF-kB), encontrado em quase todos os tipos de células animais, é um complexo proteico que controla a transcrição do ácido desoxirribonucleico (ADN), responsável pela produção de citocinas. Desempenha um papel fundamental na regulação da resposta imunológica à infecção. A sua regulação incorreta tem sido ligada ao cancro, doenças inflamatórias e autoimunes, choque séptico, infecção viral, e desenvolvimento imunitário impróprio. Devido ao seu papel retentor na inflamação, NF-kB é frequentemente referida como o "interruptor" que liga a via inflamatória. Nas células não estimuladas, os dímeros NF-kB são sequestrados no citoplasma por uma família de inibidores, chamados IκBs. Com a degradação dos IκBs, o complexo NF-kB é então libertado para entrar no núcleo da célula onde pode ativar a expressão de genes específicos, levando à resposta fisiológica, por exemplo, do tipo inflamatória ou imunológica (Fox 2016).

2.1.2.2. Dor

A dor é o resultado de uma complexa rede de sinalização. A cognição da dor, tal como a cognição em geral, requer um mecanismo neurológico sofisticado. A componente fisiológica da dor é denominada de nociceção, que consiste nos processos de transdução, transmissão e modulação dos sinais neurais gerados em resposta a um estímulo nocivo. Quando levada até à conclusão no animal consciente, a nociceção resulta em dor (Fox 2016).

A inflamação nas articulações provoca uma sensibilização periférica, com uma regulação ascendente da sensibilidade do neurónio primário aferente, e também uma sensibilização central, com hiperexcitabilidade dos neurónios nociceptivos no sistema nervoso central (Schaible et al. 2002). A sensibilidade local resultará frequentemente da libertação de mediadores inflamatórios, tais como bradicinina e PGE2 (Fox 2016).

2.1.2.3. Alterações Morfológicas

As fibrilhas de colagénio de orientação tangencial à zona de cartilagem superficial, juntamente com conteúdo relativamente baixo de proteoglicanos, têm a maior capacidade de resistir a alta resistência a tensões de tração, e assim à deformação e distribuindo a carga de cisalhamento de forma mais uniforme sobre a superfície articular (Figura 1). A perda desta camada superficial devido à fibrilhação da cartilagem, altera as propriedades biomecânicas da cartilagem articular, como ocorre nas fases iniciais da OA (Fox 2016). Uma das primeiras alterações de OA, reconhecidas microscopicamente, é a fibrilhação da camada superficial da cartilagem (Greisen et al. 1982), que ocorre como uma rutura das camadas superficiais de cartilagem, seguindo o curso das fibrilhas de colagénio que correm paralelamente à superfície da articulação. Uma vez que a integridade deste a camada exterior da cartilagem é perdida pela progressão da fibrilhação, tensões anormais dão origem a fissuras nas camadas mais profundas. Estas fissuras desenvolvem-se num plano vertical, mais uma vez seguindo a orientação das fibrilhas de colagénio da zona média. Tais fissuras podem estender-se até ao osso subcondral (Fox 2016). Ao mesmo tempo, os condrócitos tornam-se maiores e começam a aglomerar-se. A libertação de fragmentos de cartilagem livres inicia uma sinovite, pois são fagocitados por sinoviócitos do tipo A (Boniface et al. 1988).

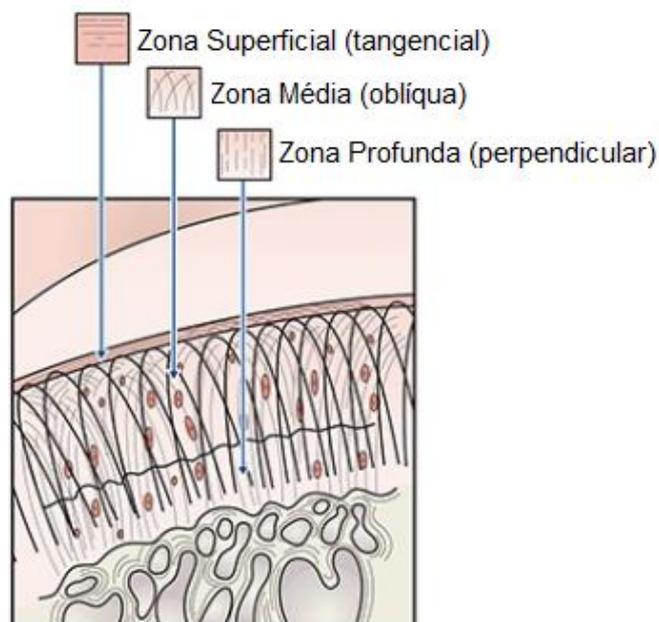


Figura 1 - Representação ilustrativa das camadas da cartilagem (Adaptado de Fox 2016)

Em 1997, Johnston propôs que o condrócito seria a fonte mais ativa de produção de proteases degradativas; contudo, isto é estimulado principalmente por citocinas e leucotrienos produzidos pela membrana sinovial. No entanto, parece que a sinovite (Figura 2), mesmo

contribuindo para o desenvolvimento da dor, inflamação das articulações, e progressão da osteoartrite, por si só é insuficiente como única etiologia da OA, e que o trauma físico também é necessário (Burr and Radin 1990). Uma redução da inflamação articular, retarda a degeneração da cartilagem articular.



Figura 2 - Visão artroscópica da sinovite, caracterizada pela infiltração da membrana sinovial com células inflamatórias resultando em vascularização e hiperplasia da mesma (Adaptado de Fox 2016)

Aparentemente, as alterações na membrana sinovial que incluem o espessamento da camada íntima da membrana sinovial a partir de uma a duas camadas celulares de espessura a três a quatro camadas celulares de espessura, desenvolvimento de vilosidades sinoviais, e aumento da vascularidade e infiltração do estroma subsinovial por linfócitos (Galloway and Lester 1995), precedem as alterações na cartilagem articular (Fox 2016).

Frequentemente, a OA resulta na formação de osteófitos, os quais são um núcleo central de osso que se mistura com o osso subcondral. São cobertos por hialina e fibrocartilagem e formados por um processo semelhante à ossificação condral (McDevitt et al. 1977). O crescimento de condrócitos e osteófitos resulta na elevação e alongamento do perióstio (Fox 2016). Embora possam ocorrer centralmente na articulação, são mais frequentemente encontrados na junção da membrana sinovial, pericôndrio e perióstio (Moskowitz and Goldberg 1987).

A OA pode ser identificada como uma seqüela conseqüente da degeneração da cartilagem, constituindo um gatilho persistente da instabilidade de uma articulação. Modelos de instabilidade articular induzidos cirurgicamente de OA têm sido descritos em várias espécies animais, verificando-se que quando não ocorre estabilização, a progressão da doença é normalmente muito mais rápida, tornando muito menos viável a intervenção terapêutica (Bendele 1987; Bendele and White 1987).

Existe sempre o risco de potencializar ou de degradar a OA quando existe uma intervenção cirúrgica intra-articular, sendo que o modelo canino de degeneração articular relacionada com OA mais frequentemente descrito é o modelo de transecção do ligamento cruzado cranial (Fox 2016). A degeneração articular, como resultado de uma biomecânica agudamente alterada, é perpetuada por respostas inflamatórias secundárias à inflamação

devido à fraca resistência ao cisalhamento mecânico da cartilagem hialina e devido às terminações ligamentares na articulação, desencadeando assim uma resposta inflamatória muito considerável (Pritzker 1994; Smith Jr. et al. 1999; Brandt et al. 2010).

É de supor que em alguns cães, a laxidão articular passiva é transformada em funcional durante o suporte de peso, o que expõe as superfícies cartilagueas da articulação a tensões excessivas (Smith et al. 1993; Smith et al. 2001). Tais tensões causam lesões como microfratura da cartilagem, libertação de mediadores inflamatórios, e, por fim, a alterações associadas à OA (Smith et al. 2001).

Tal como no joelho e na anca, a instabilidade é considerada um fator etiológico primário na displasia de cotovelo (DC) (Samoy et al. 2006). A incongruência do cotovelo é o termo utilizado para descrever o mau alinhamento das superfícies articulares do cotovelo. Duas características ilustrativas da condição são: uma forma anormal da incisura troclear ulnar; e um desfasamento entre o raio e a ulna, causado por um rádio curto ou uma ulna curta. Ambos podem causar um aumento da pressão dentro da articulação, resultando na fragmentação em diferentes locais, clinicamente reconhecida como não união do processo ancóneo (NUAP), processo coronoide fragmentado (FCP), e osteocondrite dissecante (OCD) do côndilo umeral (Samoy et al. 2006; Fox 2016). Coletivamente, estas lesões são referidas como "displasia do cotovelo". Várias técnicas cirúrgicas foram propostas, e estão atualmente em desenvolvimento, para restaurar a congruência articular e melhorar a função (Evans et al. 2008), visto que cerca de 30-40% dos doentes operados à DC ainda apresentam claudicação (Morgan et al. 2000).

2.2. Goniometria e Ângulos Fisiológicos

Avaliar e efetuar um bom acompanhamento das evoluções clínicas é crucial para a melhoria dos resultados, bem como a noção de evolução da resposta a uma determinada terapia (Redondo and Stephens 2019). O movimento articular pode ser diminuído ou aumentado ao ponto de interferir com a utilização dos membros. A perda de movimento articular é mais comum do que o excesso de movimento articular (Marcellin-Little and Levine 2015). É neste aspeto que pode ser fundamental a goniometria da amplitude de movimento (ADM) das articulações. A goniometria mede a mudança na ADM passiva de articulações de membros. É uma forma de objetivar a evolução destes doentes; é não invasiva e está disponível para todos através do uso de um goniómetro simples (Redondo and Stephens 2019). Em medicina veterinária é necessário considerar as diferenças entre espécies e raças. Atualmente foram validados valores de goniometria de raças puras, como o caso de Labrador Retrievers (Jaegger et al. 2002), Dachshunds (Thomovsky et al. 2016), Bulldogs franceses (Formenton et al. 2019), Pastores Alemães (Thomas et al. 2006), por exemplo, e gatos

(Jaeger et al. 2007), complementando com o facto de haver uma comparação de raças condrodistróficas (CD) e não condrodistróficas (NCD) (Reusing et al. 2020). No que concerne a raças indeterminadas, não existe um estudo ainda específico, encontrando apenas algumas amostras na comparação de raças CD e NCD. Não existe assim uma tabela universal de medidas normais de ADM, pois o que é normal para uma raça pode ser instabilidade articular para outra. É por isso crucial que na avaliação dos doentes se façam medições bilaterais, de forma a poder comparar o membro patológico com o contralateral saudável (Redondo and Stephens 2019).

2.2.1. Generalidades

O termo goniometria é derivado de duas palavras gregas: gonia, que significa "ângulo", e metron, que significa "medida". Por conseguinte, goniometria refere-se à medição de ângulos, em particular a medição dos ângulos criados nas articulações pelos ossos do corpo (Norkin and White 2016).

A ADM é o arco de movimento em graus entre o início e o fim de um movimento num determinado plano (Hoover and Ritzline 2011). O arco de movimento pode ocorrer numa única ou a várias articulações. A posição inicial para medir todas as ADM é a posição anatómica ou neutra (Norkin and White 2016). Uma diminuição na ADM pode ser devida a múltiplos fatores, incluindo dor, cápsula articular alterada, fibrose muscular, encurtamento tendinoso, distúrbios neurológicos, pontos de gatilho, e osteófitos (Redondo and Stephens 2019). É possível monitorizar o ângulo que a articulação atinge e o ângulo em que aparece a dor ou o desconforto. Tais ângulos, em função da articulação e da sua fisiologia movimentos, pode referir-se a flexão/extensão, abdução/ adução, ou rotação interna/externa, e compreende tanto a zona neutra como a zona elástica, uma vez que ambas são dentro de limites fisiológicos.

2.2.2. Goniometria do Cotovelo

Na goniometria do cotovelo é necessário considerar marcos ósseos padronizados com os quais se podem alinhar os braços do goniómetro, depois, uma vez os seus braços (fixo e móvel) estão alinhados, sendo posteriormente o fulcro do dispositivo é colocado (Redondo and Stephens 2019). Ao proceder-se à extensão (Figura 3) e flexão (Figura 4) do cotovelo, na única projeção, lateral, o goniómetro é colocado sobre o centro de rotação do cotovelo (Clarke et al. 2020), alinhado com o eixo longitudinal umeral e eixo longitudinal antebraquial.



Figura 3 – Medição do ângulo da extensão através da utilização do goniômetro



Figura 4 – Medição do ângulo da flexão através da utilização do goniômetro

2.2.3. Amplitude de Movimento na Osteoartrite

No que se refere ao cão, pouco se sabe sobre potenciais alterações na ADM articular secundária a doenças ortopédicas ou sobre o impacto destas potenciais alterações na função de membro torácico ou pélvico (Greene et al. 2013; Clarke et al. 2020). A fonte mais comum de perda de movimento articular é a OA, provocando a perda de flexão e a extensão de articulações. Subjetivamente, o movimento que se perde é o movimento que não é utilizado durante a locomoção. Por exemplo, a OA do cotovelo parece causar maior perda de flexão em comparação com a sua extensão, possivelmente porque a extensão do cotovelo é utilizada durante o passeio e trote. A perda de ADM secundária a OA raramente tem consequências clínicas significativas. Esta perda de movimento pode ser causada em parte pelo facto de a OA ser comum (70 a 85%) após a reparação de uma fratura articular nesta espécie. Além disso, a perda de movimento é causada por fibrose periarticular, perda de movimento entre planos de tecido periarticular, e o potencial desenvolvimento de aderências que ligam a região fraturada aos músculos circundantes (Marcellin-Little and Levine 2015).

2.3. História do Uso da Luz na Medicina

A helioterapia (o uso medicinal da luz solar natural) tem sido realizada há séculos (Moosa and Esterhuyse 2010), sobre várias formas. Registos médicos indianos de 1500 a.C., indicam a realização de tratamentos combinando a medicina herbácea com luz solar natural para tratar a pele não pigmentada. Do mesmo modo, as culturas Inca (1438 – 1533 d.C.) e Assíria (2 500 a.C. – 612 a.C.) adoravam o sol com a crença de que traria saúde. Literatura budista de 200 d.C. e documentação chinesa do século X registam efeitos terapêuticos semelhantes a partir da luz (Riegel 2017). Médicos e curandeiros na Grécia Antiga, Egipto, e Roma – incluindo famoso historiador grego Heródoto no século VI a.C. – concluíram benefícios de tal terapia (Riegel 2017). No ano de 1903, Niels Ryberg Finsen, médico e cientista considerado como o “fundador” da fototerapia, conduziu um tratamento bem-sucedido de lúpus vulgaris, uma infeção da pele causada por *Mycobacterium tuberculosis*, que lhe valeu o Prémio Nobel de Medicina e Fisiologia (Anders et al. 2015). A utilização de luz ultravioleta para tratar lesões de varíola foi de sua autoria. Pouco tempo depois, em 1916, Albert Einstein postulou a teoria dos LASERs para apoiar a sua Teoria da Relatividade (Hilborn 1982).

No dia 16 de maio de 1960, Theodore Maiman produziu o primeiro ruby LASER no Laboratório de Investigação Aeronáutica Hughes em Malibu, Califórnia, baseando a sua nova criação na explicação de Albert Einstein sobre a emissão estimulada de radiação, juntamente com o trabalho de Townes e Schawlow de 1958 com MASERS ópticos (Itzkan and Drake 1997), sendo MASER um acrónimo de “microwave amplification by stimulated emission of

radiation". Se a frequência pertencer à região ótica, o amplificador é chamado amplificador laser. A palavra LASER é também ela um acrónimo, com a letra l (light) em substituição da letra m (microwave) (Svelto 2010). Vários anos após a invenção do LASER, Dr. Endre Mester - considerado o fundador da terapia de LASER - tornou-se o primeiro a documentar experimentalmente os efeitos curativos do LASER. Dirigiu o primeiro modelo experimental com ratos, documentando a utilização de LASER para aceleração do processo curativo em Medicina Veterinária (Mester et al., 1967). No início da década de 1970, a utilização desta terapia foi documentada não só na Europa Oriental, mas também na China e União Soviética. Na década seguinte, a utilização da terapia conquistou a Europa Ocidental e tornou-se aceite como fisioterapia eficaz (Goodson and Hunt, 1979). Os LASERs utilizados tinham capacidade de apenas 5 a 50 mW de potência e não geraram os resultados clínicos consistentes (Riegel, 2017). Yo Cheng Zhou, um cirurgião oral chinês, foi o primeiro a estimular um ponto de acupuntura com um LASER. Utilizou estimulação LASER em vez de anestésico local padrão durante protocolos de extrações dentárias de rotina. Um feixe de um aparelho LASER de 2,8-6,0 mW foi aplicado durante 5 minutos antes da remoção de um dente (Zhou 1984). A estimulação fotónica foi então aplicada ao LI-4 Hegu. Este ponto de acupuntura foi há muito reconhecido por produzir analgesia sistémica. Desde meados da década de 1970 até ao início da década de 1980, a terapia LASER tornou-se uma modalidade de fisioterapia aceite em toda a Europa Ocidental e em vários países asiáticos (Riegel, 2017).

Em 1962, Robert N. Hall, no Centro de investigação da General Electric (Hall et al. 1962) e Marshall Nathan, no Centro de Investigação IBM T.J. Watson (Nathan et al. 1962) apresentaram o primeiro díodo LASER, utilizando a emissão coerente de luz de um semicondutor díodo, tendo como elemento básico arsenieto de gálio (GaAs).

Enquanto muitos tipos de LASERs terapêuticos estavam em uso em todo o mundo, só em 2002 se obteve a aprovação da *Food and Drug Administration* (FDA) de LASERs Classe IIIb para fins terapêuticos nos EUA. Estes são normalmente referidos como "LASERs frios" ou "*low-level laser therapy*" (LLLTL). O termo "LASERs frios" refere-se à ausência de um efeito de aquecimento sobre culturas de tecidos em experiências iniciais. Estão limitados a 500 mW e são considerados eficazes no tratamento de condições superficiais. A descrição "LLLTL" diferencia os LASERs terapêuticos de baixa potência dos LASERs cirúrgicos ou de corte. Os LASERs de terapia classe IV, cuja potência supera 500 mW, foram aprovados pela FDA em 2006, marcando o nascimento da "*high-power laser therapy*" (HPLTL). As máquinas e os programas desenvolvidos para a sua utilização têm evoluído através dos anos para permitir que a potência de 500 mW-60 W seja precisa e eficaz ao atuar nos tecidos pretendidos (Riegel 2017).

Os marcos históricos, tanto a nível de reuniões informativas e associações são agora descritos. O primeiro *Independent Institutional Review Board for Laser Acupuncture Research*

foi estabelecido em 1993, tendo como base estudos efetuados por Margaret Neaser. Três associações formaram-se ao longo dos anos para encorajar cientistas e profissionais a trocar conhecimentos e informação, melhorando a compreensão dos mecanismos fotobiológicos, proporcionando educação, aplicações clínicas, e novas técnicas clínicas, e estabelecer diretrizes de tratamento e regulamentação (Riegel, 2017). A *American Society for Laser Medicine and Surgery* (ASLMS), formada em 1981, foi a primeira. Em 1994, a *World Association for Laser Therapy* (WALT) foi estabelecida através da combinação da *International Laser Therapy Association* (ILTA) e a *International Society for Laser Applications* (ISLAM). A *North American Association for Laser Therapy* (NAALT) foi criada em 1998, que recentemente (2015) mudou o seu nome para *North American Association for Photobiomodulation Therapy*.

2.3.1 Fotobiomodulação

A história da terapia de LASER e a evolução de dispositivos terapêuticos têm originado vários termos para descrever a tecnologia. Foi necessária uma reunião de consenso de nomenclatura, em que 15 participantes internacionais aderiram numa conferência conjunta da *North American Association for Laser Therapy* (NAALT) e da *World Association for Laser Therapy* (WALT) em setembro de 2014 (Anders et al. 2015). O termo "terapia de fotobiomodulação" (PBMT) foi reconhecido como sendo o mais descritivo de uma ciência que envolve mecanismos complexos - alguns estimulantes e outros inibitórios. Desde essa reunião, a *National Library of Medicine* (Estados Unidos) acrescentou o termo "terapia de fotobiomodulação" na base de dados da *Medical Subject Headings* (MeSH) (MeSH 2021). A comissão sugeriu como definição, "Uma forma de terapia da luz que utiliza formas não ionizantes de fontes de luz, incluindo LASERs, *Light Emitting Diodes* (LEDs) e luz de banda larga, no visível e espectro infravermelho. Este processo resulta em benefícios terapêuticos, incluindo, mas não limitados a alívio da dor ou inflamação, imunomodulação e promoção da cicatrização de feridas e regeneração de tecidos" (Anders et al. 2015, p.183, tradução livre). A terminologia mais antiga continua a ser utilizada, mesmo como o termo "terapia de fotobiomodulação" a tornar-se mais comum em publicações e aplicações práticas (Riegel 2017).

2.4. Propriedades da Radiação

A luz é simplesmente um campo elétrico e magnético oscilante. Chamamos à distância entre quaisquer dois picos desta oscilação, o comprimento de onda da luz. Considerando este conceito, outra forma equivalente de definir a luz é pela frequência, ou seja, pelo número de ciclos de oscilação por unidade de tempo. O espectro próximo de infravermelho é cerca de 700-1100 nm. Este é o retrato clássico e completo da luz no que diz respeito aos tipos de terapia de LASER (TL), ou seja, a luz não ionizante (e em particular, visível e infravermelha) incidente sobre tecido biológico vivo (Redondo and Stephens 2019).

Uma vez que se conheça a propagação da onda velocidade (distância percorrida por unidade de tempo), e de igual modo quantas vezes oscila, será possível determinar a distância entre oscilações, e vice-versa (Figura 5).

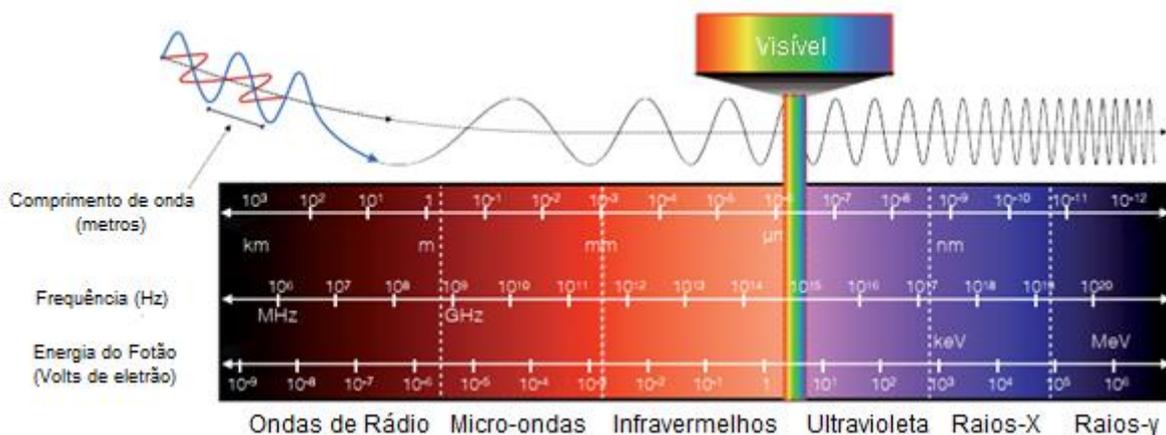


Figura 5 – Estrutura da luz como uma onda eletromagnética (Adaptado de Redondo and Stephens 2019)

A matéria é constituída por átomos, que se agrupam em moléculas, cujo conjunto pode originar os tecidos. Dentro do átomo, os elétrões orbitam um núcleo numa nuvem que tem alguma estrutura para ele, mantendo-se maioritariamente num estado de equilíbrio eletricamente neutro. Isto não significa que não existam partículas carregadas, mas sim que existe tanta matéria carregada positivamente como carregada negativamente. A luz é um campo eletromagnético oscilante, e partículas carregadas neste tipo de campo experimentam uma força. À medida que a luz exerce uma força sobre estes estados de equilíbrio, a matéria cria alguma força de recuo, muito semelhante a uma mola. A força experimentada pela matéria é proporcional à energia do campo (frequência da luz) e à massa e carga das partículas (estrutura atômica/molecular) da matéria. Os tipos de interações que se obtém, são assim simplesmente regulados pela frequência de oscilação da luz e como esta corresponde à frequência de oscilação das ligações das partículas que colidem (Redondo and Stephens 2019). A sua penetração ótima no tecido requer comprimentos de onda que minimizem os

fenômenos de dispersão e reflexão na superfície do tecido, assim como da absorção por cromóforos (grupo de átomos que absorve luz com um comprimento de onda específico) indesejados (Jacques 2013), até porque quando a energia fotônica é absorvida por estes cromóforos acidentais indesejados, não está então disponível para causar uma resposta biológica, bioquímica ou fisiológica (Riegel and Godbold 2017).

2.4.1. Ação Biológica da Luz

2.4.1.1. Bio Alvos da Radiação

A água que constitui cerca de 70-80% do corpo, é um dos principais absorvedores de luz infravermelha no corpo (Redondo and Stephens 2019). Está comprovado que as propriedades óticas (coeficientes de absorção e dispersão) de tecido biológico variam substancialmente com as alterações do teor de água dos tecidos (Kim et al. 2015). O bio alvo número dois de luz no corpo é a melanina. Absorvem melhor em lados opostos do espectro: água nos comprimentos de onda mais longos (> 950 nm) e melanina nos comprimentos de onda mais curtos (< 750 nm). Isto cria um vale no espectro onde o corpo é mais transparente (Redondo and Stephens 2019). A luz nesta região pode fazer passar a pele, caracterizando a chamada "janela terapêutica", caracterizada por se encontrar entre os 790 e 915 nm de comprimentos de onda.

A hemoglobina é composta por um núcleo de ferro e quatro proteínas que "seguram" o oxigênio molecular. Este núcleo de ferro absorve muito bem a luz, principalmente porque o ferro é um elemento muito pesado em comparação com a química orgânica, e por isso atua como um bom agente de contraste, especialmente no infravermelho próximo do seu pico de absorção a 905 nm (Redondo and Stephens 2019). Assim, o LASER é bem absorvido pelas hemoglobinas no interior dos capilares após a transmissão e dispersão do tecido irradiado. Com base na teoria das excitações dos elétrons nas moléculas foto-aceitadoras e nas características da molécula heme-, é possível compreender que após a absorção de um fóton, os elétrons na molécula heme- são excitados, e a distribuição da densidade dos elétrons muda correspondentemente, o que acelera a transferência dos elétrons e afeta a dissociação com a molécula de oxigênio (Xu et al. 2018). A entrega de calor durante um curto período de tempo permite desencadear uma alteração na forma das proteínas do heme-, provocando a libertação das moléculas de oxigênio, desencadeando uma cascata multiplicadora de libertação de oxigênio (Gatsura et al. 2004; Mittermayr et al. 2007; Heu et al. 2013).

Por último, uma enzima chamada Citocromo C oxidase (CCO) localizada na membrana das mitocôndrias no interior das suas células absorve a luz quase infravermelha. Muito semelhante à hemoglobina, esta enzima tem capacidade em absorver a luz devido ao seu núcleo relativamente pesado de cobre (Redondo and Stephens 2019). Dado que a CCO

é uma enzima induzível, um efeito metabólico mais duradouro é alcançado através da concentração de CCO, que por sua vez aumenta a capacidade para o metabolismo celular do oxigênio (Hwang et al. 2016; Wang et al. 2016), porque tal como a hemoglobina, esta enzima "transporta" oxigênio molecular (mas dentro da célula), pois participa na cadeia respiratória (Figura 6) no processo que produz o trifosfato de adenosina (ATP), que o organismo utiliza como fonte importante de energia química (Redondo and Stephens 2019).

2.4.1.2. Absorção e seus Efeitos

Para produzir ação fotobiológica, é necessário ocorrer absorção de fótons de radiação LASER (Hawkins 2005), o que acontece quando a frequência da luz é próxima da frequência natural do tecido com o qual interage. Se um fóton de luz transferir toda a sua energia à matéria incidente, existe absorção, conduzindo à excitação dos elétrons a níveis de energia mais elevados (Smith 2005; Musstaf et al. 2019), não à ionização. Mais de 2/3 das lesões de todo o ADN em mamíferos, resultam da luz que provoca a ionização da água originando o que se chama um radical hidroxil (Redondo and Stephens 2019). As consequências desta reação são observadas em muitas doenças, tais como a aterosclerose, cancro e perturbações neurológicas (Lipinski 2011).

A energia absorvida do fóton, pode ser transferida para outra molécula, que pode então causar reação química sem alteração da temperatura no tecido circundante (Mochizuki-Oda et al. 2002; Brondon et al. 2005). Porém, na utilização de um LASER de grande potência, os eventos de absorção levam a vibrações reforçadas que geram calor e podem alterar a estrutura das moléculas (Redondo and Stephens 2019). O calor faz com que algo mude de forma. Veja-se o exemplo da molécula de água, onde ocorre a moldagem das ligações covalentes oxigênio-hidrogênio (O-H). Uma vez que a água está na forma líquida, e sendo que todas as moléculas de água numa determinada área estão a vibrar à mesma frequência de luz, estas absorções menores levam a mais e mais ressonâncias que se propagam ao longo do seu volume, traduzindo-se em cascatas de ondas de micro-pressão, as quais conseguem alterar muitas propriedades da água, como a viscosidade, o pH, a translucidez e a permeabilidade (Zheng et al. 2006; Chai et al. 2009; Santana-Blank et al. 2013; Kimura and Pollack 2015).

2.4.1.3. Fotobiomodulação

A fotobiomodulação, ou seja, o aumento da função celular natural através da utilização da luz, é um processo que atua na chamada cadeia de transporte de elétrons (Figura 6), que termina com a produção de ATP, ao nível da membrana da mitocôndria da célula (Ahmad M et al. 2020). Dentro desta cadeia existem vários processos que movem elétrons e bombeiam prótons para cima e para fora das mitocôndrias. A última e mais poderosa destas bombas

acontece dentro do complexo de citocromo oxidase e envolve uma molécula de oxigénio (O_2) (último aceitador de eletrões no sistema de transporte de eletrões) combinada com quatro eletrões e oito protões internos de forma a originar duas moléculas de água (H_2O) e bombear quatro protões para fora (Redondo and Stephens 2019).

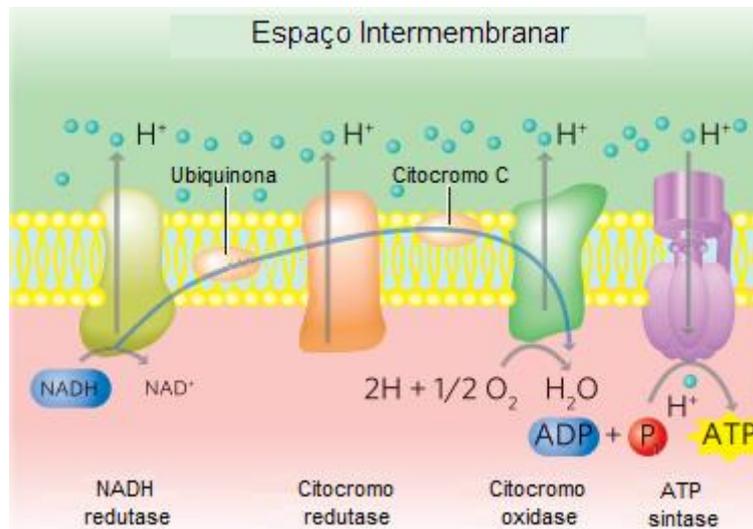


Figura 6 – A Cadeia Transportadora de Eletrões (Adaptado de Redondo and Stephens 2019)

O portador móvel que entrega os eletrões à citocromo oxidase chama-se Citocromo C, o qual ao entregar os seus eletrões, passa a designar-se por Citocromo C oxidase. Contudo, ele apenas fornece 1 eletrão de cada vez, todavia a molécula de oxigénio precisa de 4 para que a citocromo oxidase faça o seu trabalho. Resultado, terá de ser ativada 4 vezes para produzir cada molécula de ATP. Sob o efeito de luz, foi descoberto pela primeira vez por Tiina Karu que a "[irradiação LASER] causa ou uma redução relativa (transitória) de ... citocromo c oxidase, ou a sua (transitória) oxidação relativa, dependendo do estado inicial de redox" (Karu et al. 2008, p.598), o que demonstra a capacidade do LASER acelerar a cedência de eletrões por parte do Citocromo C oxidase. Há muito que se sabe que a excitação eletrónica pela luz estimula os processos redox em corantes orgânicos para intensificar a transferência de eletrões (Karu et al. 2005). Isto significa que se o Citocromo C estiver na posse de um eletrão, é mais suscetível de oxidar, e o inverso é também verdade, que se o Citocromo C não estiver na posse de um eletrão, é mais provável que reduza. E a luz ajuda a ambos, seja qual for a forma que a célula necessite nesse momento para produzir mais ATP (Redondo and Stephens 2019).

O óxido nítrico (NO) desempenha um papel muito importante na sinalização celular, tanto dentro como entre as células (Redondo and Stephens 2019). Uma abundância de NO conduz na maior parte à função celular positiva, existindo, porém, um limite para este efeito. Concentrações muito elevadas de NO conduzem a um stress nitrosativo, mas estudos em

várias linhas celulares diferentes mostram que a terapia de luz aumenta a produção de NO, e dentro de níveis que levam a resultados predominantemente positivos (Zhang et al. 2009). O LASER promove assim a produção de NO, aumentando de alguma forma a conversão de nitrosilas (moléculas que contêm o ião NO+) para NO (Lohr et al. 2009; Zhang et al. 2009). No nível molecular, N-O e O-O parecem muito similares. O N é apenas ligeiramente menor do que o O, e assim as moléculas tendem a se ligar a outras semelhantes. Mas o fato da terapia de luz aumentar a quantidade de NO disponível para a célula, significa que ele está a fazer um melhor uso do O₂, o que é positivo pois significa que o O₂ está a ser utilizado mais eficientemente na produção de ATP. Para além da sua função na sinalização celular, NO serve como um potente vasodilatador quando está disponível fora da célula, o que significa que mais nutrientes e oxigénio podem passar do sangue para as células lesionadas e que assim mais deles necessitem (Redondo and Stephens 2019).

Resumindo, as vantagens celulares da fotobiomodulação, são: o aumento do ciclo redox do citocromo oxidase, maior produção de ATP celular para uso de funções naturais; ajuda da produção de NO dentro da célula, o que facilita a sinalização celular; força as células a usar O₂ de uma forma mais eficiente, para processos celulares que o corpo precisa de O₂ (respiração); e disponibiliza mais NO para sinalização celular.

2.5. O LASER Classe IV

2.5.1. Componentes do LASER

Um LASER tem três componentes principais: uma fonte de energia, um meio amplificador, e uma cavidade ressonante limitada por espelhos (Figura 7; Thinklaser 2012) (2016 May 20; Riegel and Godbold 2017).

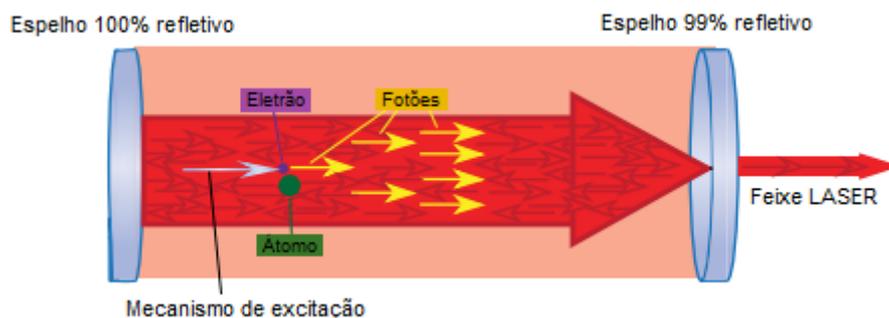


Figura 7 – Componentes de um LASER (Adaptado de Riegel and Godbold 2017)

Os elétrões são excitados pela fonte de energia desde um estado de repouso mais baixo até um nível de energia mais elevado. Os elétrões excitados passam de volta a um estado de energia mais baixo de acordo com uma constante de tempo particular que caracteriza a transição. Quando um elétron passa para um nível de energia mais baixo, um

fotão é emitido (Wieneke and Gerhard 2018), originando uma emissão espontânea (Riegel and Godbold 2017). Os fótons de apenas um comprimento de onda são emitidos aleatoriamente para um meio amplificador, que é muito específico espectralmente (Coldren et al. 2012). Os fótons emitidos estimulam então outros átomos no meio e fazem-nos emitir a sua energia armazenada. Isto produz uma avalanche de fótons, todos originados como energia extraída da transição de átomos de um nível ou estado superior de energia para um estado de energia inferior (Loudon 2001). Um LASER é, portanto, um amplificador ótico que proporciona um ambiente no qual se pode manter um estímulo contínuo de fótons (Desurvire 2011).

2.5.2. Propriedades do LASER

A luz LASER tem 3 propriedades que permitem a sua penetração através dos tecidos até ao nível celular: é monocromática (comprimento de onda monocromático), colimada (não divergente), e coerente (comprimento de onda em fase) (Hewitt 2001). A característica monocromática é lógica, uma vez que os fótons têm origem numa emissão estimulada a partir de um conjunto de níveis de energia atômica. A colimação do feixe resulta dos saltos para trás e para a frente entre as extremidades refletoras e espelhadas da cavidade ressonante do LASER como explicado anteriormente. As vias fotônicas, que sustentam a amplificação, devem passar entre os espelhos muitas vezes e devem ser quase perpendiculares aos espelhos para poderem ser emitidas (Riegel and Godbold 2017), criando um feixe estreito característico. A propriedade coerente é estabelecida por cada fóton que viaja em fase com todos os outros fótons emitidos (Libretexts 2020).

2.5.3. Modos de Emissão

O modo de emissão é o padrão de emissão ao longo do tempo. Os LASERs terapêuticos podem ter 1 dos 2 modos de emissão: onda contínua (OC) ou pulsos (emitindo numa frequência) (Paschotta 2016). Há dois tipos de pulsos: pulsos fechados e superpulsos.

A emissão de onda contínua, compreende uma projeção de energia radiante numa intensidade constante a uma potência específica (Siegman 1986). A frequência de pulso refere-se ao número de pulsos de luz que o LASER emite a cada segundo (Riegel and Godbold 2017). Assim, quando se refere ao número de pulsos que um LASER emite a cada segundo, a unidade de medida é Hz. Se o LASER for ajustado em um modo de pulso fechado, haverá um ciclo em que existe um período de emissão e outro sem esta, que irá resultar numa saída média mais baixa do poder (Riegel and Godbold 2017). Tedford et al. (2015) num estudo de exposição de energia fotónica em tecido cerebral de cadáveres humanos, comprovou que a pulsação não afeta a penetração no tecido, pois não foram observadas

diferenças na penetração entre LASER com pulsos e onda contínua. O modo de emissão superpulso é uma série de pulsos de luz extremamente curtos e intensos seguidos por um intervalo antes do próximo pulso (Riegel and Godbold 2017). A duração de cada emissão de superpulsos é medida em nanossegundos ou picossegundos; portanto, a potência média de uma série de superpulsos é baixa (Berger and Eeg 2006).

Os LASERs terapêuticos muitas vezes utilizam vários modos de emissão simultaneamente em que diferentes comprimentos de onda são definidos, resultando numa mistura de comprimentos de onda e emissões num esforço para alcançar resultados clínicos consistentes (Riegel and Godbold 2017).

2.5.4. Classificação

A base para as quatro principais classificações LASER, ou categorias de perigo, é o potencial que cada um deles tem em causar lesões histológicas aos olhos ou à pele (ANSI 2011). As duas organizações são responsáveis por estabelecer estas classificações: o *American National Standards Institute* (ANSI) e o *International Electrotechnical Institute* (IEC 2014). Os fabricantes de produtos LASER são regulados na *Food and Drug Administration* (FDA) (Riegel and Godbold 2017).

Relativamente à Classe I, não pode emitir níveis de radiação ótica acima dos limites de exposição do olho. Estes podem ser de alta potência se estiverem confinados dentro de um recinto que não permita qualquer exposição ao operador (FDA 2015). Exemplos são os leitores de CD e as impressoras LASER. Os de classificação I M não são capazes de produzir exposição perigosa em condições normais de funcionamento, mas pode ser perigosa se vista com a ajuda de instrumentos óticos de ampliação (FDA 2015). A instrumentação ótica inclui binóculos, telescópios, microscópios e lentes de aumento (mas não óculos de prescrição). Os LASERs de Classe II são limitados a 1 mW OC. Quando a emissão é contínua, a potência média de saída é sempre a definição no equipamento LASER (Riegel and Godbold 2017). Em termos de segurança, a nossa resposta de aversão (<0,25 segundos) protegerá o olho de lesões, até porque a visualização intencional prolongada por períodos mais longos é considerada perigosa. Não há perigo de exposição a esta radiação difusa (FDA 2015). Exemplos são scanners e alguns instrumentos de medição (Riegel and Godbold 2017). Os de classe II M têm os mesmos critérios que de classe 2, mas são perigosos quando o feixe é visto com instrumentos ópticos (FDA 2015).

A Classe III R é caracterizada pelo facto da potência de saída dos LASERs poder ser de até 5 mW. Só constituem um perigo se forem focalizados ou vistos para um período prolongado. Não constituem um risco de incêndio ou de perigo para a pele (FDA 2015). A maioria dos apontadores LASER são de Classe III R. Os de Classe III B podem ter uma potência de até 500 mW e comprimentos de onda na faixa dos 300 nm até ao extremo de

infravermelhos (700-1100 nm) (FDA 2015). LASERs terapêuticos que têm uma potência de saída entre 5 e 500 mW são de classe III B. Existe um risco ótico quando há visualização direta ou refletida do feixe pelo que devem ser usados óculos protetores ao operar estes dispositivos (Riegel and Godbold 2017).

Por último, existem LASERS Classe IV (classe mais elevada e perigosa) que inclui todos os LASER's que excedem o limite de emissão acessível da classe III B, ou seja, uma potência superior a 500 mW. Existe o risco de lesionar a pele ou causar lesões oculares devastadores e permanentes como resultado da visualização direta, difusa ou indireta do feixe (Riegel and Godbold 2017). Estes LASER's podem inflamar materiais combustíveis e, portanto, podem representar um risco de incêndio. Qualquer LASER terapêutico que tenha uma potência de saída média superior a 500 mW está dentro desta classificação (FDA 2015). Óculos de proteção devem ser usados ao operar esses dispositivos. O LASER de terapia de Classe IV mais comum utiliza um díodo semiconductor gálio-alumínio-arsenieto (GaAlAs) para produzir feixes LASER infravermelhos capazes de penetração profunda nos tecidos (Harrington and Vickers 2021).

2.6. Interação do LASER Classe IV na Articulação

Sumariamente, o que se vê na prática é que a terapia de fotobiomodulação faz com que o tecido deixe a fase inflamatória para entrar mais rapidamente na fase de reparação (anabólica), sendo que na base desta propriedade anti-inflamatória está uma melhoria metabólica dos tecidos com maior disponibilidade de oxigênio e de ATP e uma diminuição de mediadores inflamatórios (Redondo and Stephens 2019). O processo de cura envolve o recrutamento de fibroblastos, deposição de matriz extracelular, e angiogénese (Fulop et al. 2009).

2.6.1. Efeito anti-inflamatório

Este poder pode ser tão significativo que em vários estudos experimentais atinge resultados semelhantes aos conhecidos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), tais como indometacina (Honmura et al. 1993), meloxicam (Campana et al. 1999) ou diclofenaco (Albertini et al. 2004). Um certo grau de ativação da cascata inflamatória é necessário para alcançar a cura após o trauma; o problema é que a ativação excessiva ou anormal da cascata, ou o seu prolongamento, pode ter consequências graves para o doente (Redondo and Stephens 2019).

Os neutrófilos são o tipo celular predominante nas primeiras 24-48 h de inflamação aguda, e são substituídos por macrófagos mais tarde. Em casos de osteoartrite, a terapia de

LASER (TL) diminuiu o número de células polimorfonucleares no líquido sinovial e cápsula (dos Santos et al. 2014).

Um estudo em ratos descobriu que o efeito anti-inflamatório da PBMT foi perdido em indivíduos adrenalectomizados (Albertini et al. 2004), no qual compararam doses de 1, 2,5 e 5 J/cm^2 . Mas o mesmo autor, anos depois, descreveu um efeito anti-inflamatório com dose ainda maior, 7,5 J/cm^2 , utilizando o mesmo modelo animal (Albertini et al. 2007).

A energia total do incidente do feixe num determinado ponto por unidade de tempo e é medida em watts (W), com 1 watt = 1 joule (J) por segundo (Redondo and Stephens 2019). Num modelo de rato em que foi induzida artrite, um valor de 4,5 J/cm^2 aplicado com 0,4 W/cm^2 apresentou um forte efeito anti-inflamatório, diminuindo os níveis de células inflamatórias e mediadores, mas 72 J/cm^2 com a mesma densidade de potência não tinha efeito (Hsieh et al. 2014).

Tendo isto em conta, não nos podemos esquecer que um certo grau de inflamação faz parte do processo de cura, mesmo se descrevermos esses efeitos separadamente. O outro grande efeito do PBMT é a analgesia. É claro que a inflamação e a dor também não são independentes; afinal, a dor é um dos sinais clássicos de inflamação (Redondo and Stephens 2019).

2.6.1.1. Mediadores Inflamatórios

A OA desencadeia o aumento dos níveis de marcadores inflamatórios, incluindo prostaglandina E2 (PGE2) e citocinas de pró-inflamatórias, sendo que a elevação dos níveis de citocinas está intimamente associada ao aumento da degenerescência do tecido articular (Tomazoni et al. 2017). Tendo em conta este aumento de mediadores inflamatórios, a fotobiomodulação tem uma influência comprovada em vários grupos de mediadores.

No caso de aminas vasoativas, as mais importantes são a histamina e a serotonina (Redondo and Stephens 2019). Os mastócitos aumentam a sua libertação de histamina quando irradiados com LASER infravermelho *in vitro* (Wu et al. 2010) e *in vivo* (Silveira et al. 2008). Isto não significa necessariamente que o efeito clínico vai ser pró-inflamatório, uma vez que os mastócitos podem influenciar não só os eventos destrutivos da inflamação, mas também analgesia e mecanismos de defesa (Erthal et al. 2016). A serotonina é também um neurotransmissor que também desempenha um papel na modulação da dor e cuja PBMT pode influenciar a sua regulação: aumenta os níveis de serotonina, que por sua vez tem um efeito analgésico (Ceylan et al. 2004; Tomaz de Magalhães et al. 2016).

Também há resultado nas proteínas de fase aguda e proteases plasmáticas, onde está incluída a cascata de coagulação e os sistemas fibrinolíticos, de complemento e cinina. Em estudos experimentais, a PBMT conseguiu diminuir os níveis plasmáticos de fibrinogénio

(Campana et al. 2003). O produto final do sistema da cinina é a bradicinina, que atrai neutrófilos e outras células inflamatórias para o local. Também aumenta o edema e gera dor na área inflamada (Redondo and Stephens 2019).

A fotobiomodulação pode modular recetores de cinina (Bortone et al. 2008) como parte de seu efeito anti-inflamatório. Os mediadores lipídicos são os alvos da maioria dos tratamentos anti-inflamatórios, tanto com esteróides como com AINEs. Este grupo inclui derivados de fator de activação plaquetário (PAF) e ácido araquidónico (AA) ou eicosanóides como o tromboxano A₂ (TXA₂), prostaciclina (PGI₂) e leucotrieno B₄ (LTB₄). AA pode ser metabolizado através da prostaglandina-endoperóxido sintetase, mais comumente conhecida como ciclo-oxigenase (COX), para formar prostanóides (prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos). Foram descritas isoformas COX-1 e COX-2; a COX-1 é constitutiva, mas embora a COX-2 também tenha algumas funções fisiológicas, desempenha um papel central na inflamação e hiperalgesia. Vários estudos relataram uma diminuição da atividade da COX-2 e da produção de prostaglandinas no local da inflamação e no sangue e sistema nervoso central após PBMT (Bjordal et al. 2006; Prianti et al. 2014; Rodrigues et al. 2014). Este é provavelmente um dos principais efeitos anti-inflamatórios que também influencia a analgesia do doente (Redondo and Stephens 2019).

As citocinas são uma enorme família de proteínas de baixo peso molecular que ativam outras células (macrófagos, eosinófilos, células assassinas naturais) e regulam a sobrevivência celular, multiplicação e apoptose, reparação de tecidos e transformação maligna. As citocinas pró-inflamatórias aumentam a permeabilidade vascular, ativam a coagulação e os linfócitos, atraem neutrófilos e estimulam o fígado a libertar proteínas de fase aguda. As principais citocinas pró-inflamatórias são IL-1 e TNF- α , que podem atuar de forma sinérgica (Redondo and Stephens 2019). A IL-6 também aumenta durante a inflamação em proporção ao grau e duração da inflamação e, por conseguinte, atua como um indicador de diagnóstico e prognóstico, mas também está envolvida na ativação de mecanismos anti-inflamatórios. A diminuição da IL-1, TNF, e IL-6 após PBMT foi descrita *in vitro* com diferentes linhas celulares (Sekhejane et al. 2011) e também com modelos experimentais *in vivo* de inflamação aguda de articulações (dos Santos et al. 2014). Quando a cascata inflamatória começa, o corpo também liberta citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-4 e IL-10, que inibem a produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e induzem a apoptose linfocítica e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), que inibe a proliferação de células linfoides, mas promove a multiplicação de fibroblastos, osteoblastos e células musculares lisas (Redondo and Stephens 2019). A luz infravermelha pode também contribuir para esta mudança de inflamação para reparação, aumentando a expressão de citocinas anti-inflamatórias em modelos de tendinite (Xavier et al. 2014) e de artrite (dos Santos et al. 2014).

Muitos dos efeitos anti-inflamatórios da PBMT devem-se à diminuição dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, ao mesmo tempo que promove a expressão das anti-inflamatórias.

Um grupo final heterogéneo inclui outras moléculas, como espécies reativas de oxigénio (ERO), óxido nítrico (NO) e monóxido de carbono (CO). Estas são algumas das moléculas mais intrincadamente reguladas. Por exemplo, um aumento na produção de ERO pode ajudar os neutrófilos a combater melhor os micróbios (na verdade, a explosão respiratória que experimentam é dependente do oxigénio; necessitam cerca de 50 vezes mais oxigénio) e a PBMT aumenta esta resposta (Lavi et al. 2010; Farivar et al. 2014; Burger et al. 2015; Cerdeira et al. 2016). Porém, a quantidade excessiva de produção de ERO é prejudicial para os órgãos, como se descreve no choque séptico e na síndrome de resposta inflamatória sistémica (SIRS). NO é sintetizado por óxido nítrico sintetase (NOS). A NOS pode ser isolada em quase qualquer tecido, mas as isoformas neuronais (nNOS) e endoteliais (eNOS) são expressas constitutivamente, enquanto a isoforma induzível (iNOS) é expressa por células como os leucócitos em resposta a lipopolissacáridos bacterianos ou citoquinas pró-inflamatórias. Há indícios de que a PBMT aumenta valores de NO através de eNOS e que diminui de facto a expressão de iNOS (dos Santos et al. 2014). A grande vantagem que daqui resulta traduz-se num do aumento do fluxo sanguíneo e ainda ter um efeito anti-inflamatório (Redondo and Stephens 2019).

2.6.2. Efeito Analgésico

A origem do estímulo nocivo pode ser somática, visceral ou neuropática (central ou periférica), mas a dor também pode ser referida a locais distantes. A dor aguda surge para minimizar as lesões dos tecidos após uma doença. Tem uma função de alerta e proteção, devendo desaparecer quando a cura for alcançada. Por outro lado, a dor não tem função biológica e obviamente afeta a qualidade de vida do indivíduo.

A PBMT diminui a componente de dor, diminuindo localmente e de forma centralizada os mediadores pró-inflamatórios anteriormente referidos, incluindo IL-1 e TNF, PGE2 (Mizutani et al. 2004; Prianti et al. 2014), COX-2 (Sakurai et al. 2000) e bradicinina (Bjordal et al. 2006), bem como a atividade dos recetores de quinina (Bortone et al. 2008). Induz também alterações na condução e excitabilidade neuronais. Wakabayashi et al. em 1993 sugeriu que a PBMT previne a despolarização de vias aferentes de tipo C (recetores polimodais, fibras não mielinizadas de condução lenta). Pode ainda abrandar a velocidade de condução e inibir os potenciais de ação nocivamente evocados, diminuindo a sua amplitude e aumentando a sua latência durante várias horas (Chow et al. 2011; Yan et al. 2011). Diminui os níveis de substância P (neurotransmissor envolvido na modulação da transmissão do sinal de dor), bem como a sensibilização, hiperalgesia e alodinia (Redondo and Stephens 2019). De igual modo,

a PBMT inibe a excitação de fibras C na via sensorial aferente diminuindo a quantidade de substância P no gânglio da raiz dorsal espinal (Hsieh et al. 2015) e no corno dorsal espinal (Hsieh et al. 2016), diminuindo, assim, a hiperalgesia e alodinia induzidas experimentalmente.

A luz pode funcionar de forma difusa para tipos de dor difusos. Num modelo experimental com ratos, a PBMT elevou o limiar de pressão dos animais tratados, mas não apresentou qualquer efeito nas respostas do limiar térmico dos membros pélvicos (Laakso and Cabot 2005). Por outro lado, a redução da hiperalgesia fria após a PBMT também foi descrita (Hsieh et al. 2016). A PBMT também melhora a funcionalidade nervosa e a recuperação na neuropatia de aprisionamento nervoso (Hsieh et al. 2012).

A PBMT aumenta a produção de beta-endorfina em modelos inflamatórios periféricos e este mecanismo é bloqueado pela naloxona, um antagonista dos opiáceos (Hagiwara et al. 2007; Meireles et al. 2012; Hsieh et al. 2015).

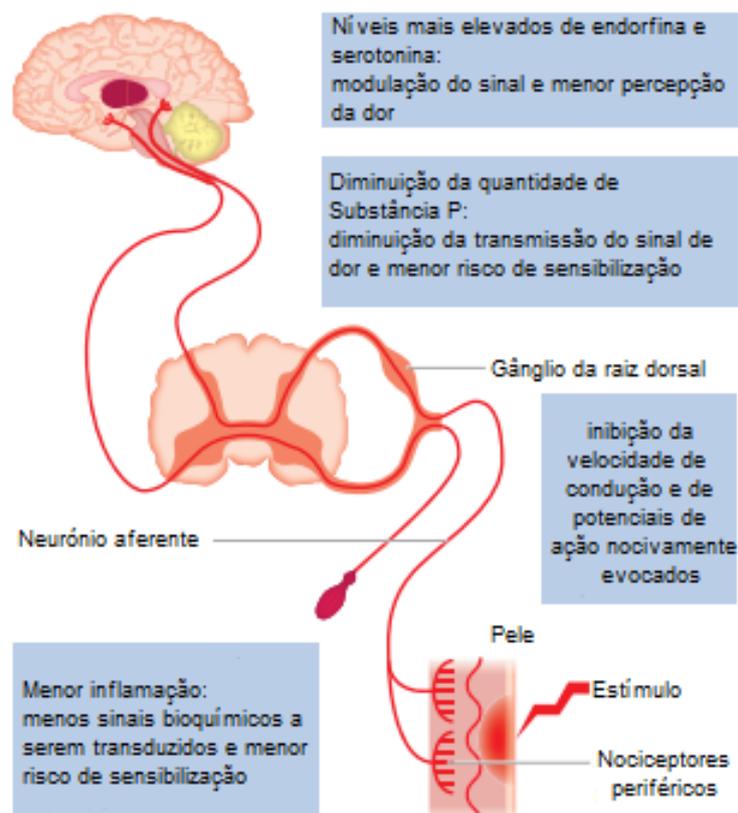


Figura 8 – Mecanismos propostos para o efeito analgésico da PBMT (Adaptado de Redondo and Stephens 2019)

O tratamento deve ser multimodal e a PBMT pode potencialmente ajudar, tanto na gestão da dor aguda como na crónica (Mathews et al. 2015).

Frequentemente, uma componente de dor neuropática está ligada a doentes com dor crónica, o que faz o diagnóstico e o tratamento muito mais desafiante. Um estudo sobre a

osteoartrite canina espontânea demonstrou como a condição foi fortemente associada à hiperalgesia. Os membros afetados, em comparação com os saudáveis que funcionavam como controlos correspondentes, reagiram de forma exagerada a tipos difusos de estímulos sensitivos em locais distantes, mas singularmente relacionados com a articulação artrítica (Knazovicky et al. 2016). Um estudo semelhante descreveu como mecanismos inibitórios (analgésicos) foram diminuídos em pacientes com OA (Hunt et al. 2018).

Um efeito analgésico intenso foi descrito numa revisão de PBMT para perturbações articulares crónicas, incluindo joelho, a articulação temporomandibular ou articulações zigoapofisárias (Bjordal et al. 2003). Num ensaio clínico controlado de doentes com epicondilite, um LASER classe IV (10 W) provou ser um bom analgésico e melhorar a funcionalidade do braço, usando 3000 J/cotovelo (cerca de 6,6 J/cm²) e um total de 10 sessões ao longo de 18 dias (Roberts et al. 2013).

2.6.3. Fotobiomodulação na Osteoartrite

Existem 3 grupos investigados de biomarcadores de fluidos sinoviais caninos: mediadores pró-inflamatórios, enzimas e seus inibidores e produtos de degeneração extracelular de cartilagens. A PBMT pode diminuir a expressão de certos mediadores, tais como IL-1 e TNF. Todas as formas de artrite partilham o facto dos níveis destes mediadores pró-inflamatórios estarem aumentados, o que altera o metabolismo dos condrócitos e de outras células. Entre as enzimas, as mais importantes são as metaloproteinases de matriz (MMPs), que são libertadas por condrócitos, sinoviócitos e células inflamatórias, contribuindo para a degradação das cartilagens (Redondo and Stephens 2019).

Diferentes etiologias de OA podem apresentar perfis diferentes de mediadores. Por exemplo, MMP-1, MMP-2 (Alam et al. 2011) e MMP-9 (Hurlbeck et al. 2014) estão claramente aumentadas em cães com OA (Krupkova et al. 2018), embora alguma atividade de MMP-2 possa ser detetada a níveis mais baixos em articulações saudáveis (Volk et al. 2003).

A inflamação aguda das articulações diminui com a PBMT devido à redução dos mediadores pró-inflamatórios IL-1, COX-2 (Rodrigues et al. 2014), TNF, e IL-6 (Pallotta et al. 2012; Hsieh et al. 2014; Mantineo et al. 2014; Wang et al. 2014). Pode também reduzir o infiltrado inflamatório, como as células polimorfonucleares no líquido sinovial e na cápsula articular (dos Santos et al. 2014). A resolução da inflamação é ainda reforçada com a produção de substâncias como TGF- β (Aliodoust et al. 2014). A PBMT pode ainda diminuir os níveis de MMP por inibir a degradação da cartilagem - especificamente MMP-2 (Cury et al. 2013), MMP-3 (Hsieh et al. 2014), MMP-9 (Alves et al. 2014) e MMP-13 (Bublitz et al. 2014) .

Recentemente, o papel do fator de crescimento nervoso (NGF) na inflamação das articulações e degradação das cartilagens e a sua utilização como alvo terapêutico tem sido descrito com resultados muito promissores (Lascelles et al. 2015; Gruen et al. 2016). O efeito

neste mecanismo particular deve ser investigado, uma vez que alguns estudos sugerem que a PBMT poderia promover a libertação de NGF (Hsieh et al. 2012), o que teoricamente reforçaria a inflamação.

Noutros ensaios clínicos, a PBMT foi capaz de diminuir a espessura do fluido sinovial do joelho (medida por ultrassons) em doentes do sexo masculino com OA (Alayat et al. 2017), bem como a dor e os níveis de MMPs (Gopal Nambi et al. 2017), tendo sido proposto que a PBMT deveria ser incluída nos cuidados conservadores padrão, uma vez que a melhoria clínica pode atrasar a necessidade de intervenção cirúrgica (Ip 2015).

3. Materiais e Métodos

3.1. Caracterização do Estudo

O presente estudo teve como objetivo avaliar as vantagens do LASER terapêutico classe IV no tratamento de com OA do cotovelo. Para tal utilizou-se uma amostra de 30 animais da espécie *Canis Familiaris* (N = 30), de ambos os géneros, com o diagnóstico de osteoartrite do cotovelo e todos doentes internos do Centro de Medicina Veterinária Anjos de Assis. A sua participação no estudo apenas foi incluída após a assinatura do termo de consentimento informado por parte dos cuidadores. A amostra foi dividida em 3 grupos: o GC (Grupo de controlo formado por indivíduos saudáveis com N=6), o GM (Grupo Medicamentoso, formado por doentes com OA e sujeitos apenas a terapêutica médica com N=12) e o GL (grupo LASER, formado por doentes com OA e sujeitos a terapêutica médica e a protocolo de LASER terapêutico Classe IV com N=12). Para todos os indivíduos da amostra foram registados os seguintes dados: idade, género, peso, raça, tempo de início da claudicação, membro com claudicação e os valores da goniometria de extensão e de flexão. A inclusão dos doentes no GL, dependeu apenas da opção dos cuidadores em permitirem o acesso do seu animal ao LASER terapêutico Classe IV.

O diagnóstico de osteoartrite do cotovelo dos doentes, foi estabelecido com o exame físico médico objetivo e com o recurso a radiografias da região em dois planos: crânio-caudal e médio-lateral do cotovelo. Através do uso da goniometria, foi possível avaliar o nível de função / disfunção da articulação do cotovelo. A medição dos ângulos funcionais do cotovelo - extensão e flexão, foi realizada com o doente colocado em decúbito lateral esquerdo ou direito, dependendo do cotovelo a avaliar, após a sessão de LASER. Foram realizadas três medições para cada ângulo, e a sua média foi contabilizada como sendo o ângulo medido. De modo a comparar o tipo de disfunção associado à OA existente, foram também registados os valores de flexão e extensão no cotovelo contra-lateral saudável. Nos doentes que apresentavam OA em ambos os cotovelos foram utilizados os valores padronizados como sendo fisiológicos para a espécie. Foram considerados no estudo, quatro tempos para avaliação da goniometria de flexão e extensão dos indivíduos, nomeadamente: T0 (dia de início da terapêutica com LASER), T1 (dia 7 após o início do tratamento), T2 (dia 14 após o início do tratamento) e T3 (dia 21 após o início do tratamento).

Todos os indivíduos GM e GL foram sujeitos ao mesmo protocolo médico, com o uso de Carprofeno 4mg/Kg, Sulfato de Condrotina, Ácido hialurónico, Ácidos gordos essenciais e ainda a aplicação de frio na articulação. Os doentes de GL receberam ainda um protocolo de LASER terapêutico classe IV. O protocolo de LASER foi igual para todos, variando apenas na seleção do aparelho a dimensão da área a tratar de modo a ser adaptada ao peso de cada doente. O uso de LASER foi realizado dia sim dia não na articulação afetada na primeira

semana, duas vezes na segunda semana e apenas uma vez na terceira semana. A técnica foi realizada sempre pelo mesmo médico veterinário de modo a diminuir o BIAS.

O aparelho de LASER de Classe IV utilizado foi o modelo DoctorVet V1 Lambda®, que permite selecionar automaticamente as frequências a utilizar. O protocolo está dividido em 5 fases diferentes (anexo 1), podendo assim o efeito ser maximizado em toda a área anatômica do cotovelo. A fase II (de frequência baixa), é a que interage com maior incidência no tecido articular e ósseo (<100 Hz) (Huang et al. 2018).

Os dados obtidos foram organizados numa base de dados através do programa Excel do Microsoft Office 365®, e o seu tratamento estatístico foi realizado com recurso ao programa estatístico R® e Rcomander®. Quando apropriado, as variáveis contínuas foram convertidas em variáveis categóricas, como no caso do Tempo. As associações estatísticas compreenderam o teste Shaphiro-Wilk que permitiu avaliar se as variáveis estudadas apresentavam o pressuposto de normalidade; a análise de modelos lineares mistos e a análise de variância (ANOVA) aplicada para confirmar o significado da diferença causada pela fotobiomodulação sobre o grupo de medicação (GM) e o grupo de LASER (GL) ao longo dos diferentes pontos temporais considerados (T0, T1, T2, T3). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos para valores de $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1. Estatística Descritiva

A caracterização da amostra utilizada no estudo está resumida na Tabela 1, apresentando os valores de media, desvio padrão e distribuição da normalidade para os diferentes parâmetros considerados no estudo. O uso do teste Shapiro-Wilk permitiu verificar que à exceção do parâmetro - Tempo de Claudicação, todos os restantes parâmetros avaliados - Idade, Peso e Membro Afetado, apresentaram normalidade (Tabela 1). Para tratamento estatístico, optou-se por dividir o parâmetro raça em dois grupos: Raça Pura (N=12) e Raça Indeterminada (N=12). A representatividade das raças pode ser resumida por: Indeterminada (N=14; 58,3%); Labrador (N=3; 12,5%); Golden Retriever (N=2; 8,3%); Bulldog Francês, Pit Bull, Dálmata, Pastor Alemão e Yorkshire Terrier todos com uma representatividade de 1,4%.

Tabela 1 – Análise de estatística descritiva dos parâmetros em estudo, considerando o total da amostra e cada grupo em separado (GM e GL)

Parâmetro	Grupo	N	$\bar{X} \pm SD$	Valor de p (Shapiro-Wilk) *
Raça	GM	5	Pura	-
		7	Indeterminada	-
	GL	5	Pura	-
		7	Indeterminada	-
Idade (Anos)	TA	24	8,96 ± 2,85	0,12
	GM	12	9 ± 2,34	0,31
	GL	12	8,92 ± 3,40	0,27
Peso (Kg)	TA	24	21,60 ± 9,60	0,11
	GM	12	20,03 ± 9,17	0,11
	GL	12	23,18 ± 10,15	0,87
Membro Afetado	TA	10	Direito	-
		14	Esquerdo	-
	GM	6	Direito	-
		6	Esquerdo	-
	GL	4	Direito	-
		8	Esquerdo	-
Tempo de Claudicação (dias)	TA	24	65,83 ± 61,64	< 0,01
	GM	12	57,83 ± 49,27	0,06
	GL	12	73,83 ± 73,33	0,01

Amostra (N); Média (\bar{X}); Desvio Padrão (SD); Total da Amostra (TA); Grupo Medicação (GM); Grupo LASER (GL).

* Valor de $p > 0,05$ para normalidade da amostra.

No que respeita aos valores obtidos para a goniometria dos movimentos de flexão e extensão, ao longo dos 4 tempos considerados no estudo – T0, T1, T2 e T3, a Tabela 2 faz o resumo dos valores da média, desvio padrão e da distribuição da normalidade apresentada em cada um deles para o GC, o TA, o GM e o GL. Os gráficos 1 e 2, são ilustrativos das diferenças entre os grupos para os tempos T0 e T3, verificando-se que o GL apresenta maior evolução ao longo do tratamento do que o GM.

Tabela 2 – Análise de estatística descritiva dos parâmetros da extensão e flexão nos diferentes momentos de medição

Movimento	Grupo	N	Tempo de Estudo			
			T0	T1	T2	T3
			$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Flexão	GC	6	35,2 ± 6,2	-	-	-
	TA	24	43,2 ± 4	41,9 ± 3,9	41,5 ± 4	40,9 ± 3,9
	GM	12	42,3 ± 4,5	41,7 ± 4,5	41,6 ± 4,6	41,2 ± 4,5
	GL	12	44,1 ± 3,4	42,1 ± 3,4	41,3 ± 3,4	40,7 ± 3,3
Extensão	GC	6	164,3 ± 9	-	-	-
	TA	24	134,8 ± 8,9	136,5 ± 8,7	137,5 ± 9	138,6 ± 8,9
	GM	12	135,3 ± 7,1	135,9 ± 7,1	136,3 ± 7,3	136,9 ± 7,4
	GL	12	134,3 ± 10,7	137 ± 10,3	138,7 ± 10,6	140,3 ± 10,3

Amostra (N); Média (\bar{X}); Desvio Padrão (SD); Goniometria de extensão e flexão ao dia 0 (T0); Goniometria de extensão e flexão ao dia 7 (T1); Goniometria de extensão e flexão ao dia 14 (T2); Goniometria de extensão e flexão ao dia 21 (T3); Total da Amostra (TA); Grupo Medicação (GM); Grupo LASER (GL).

Gráfico 2 – Diagramas de extremos e quartis relativos à medição angular da extensão no Grupo de Controlo (GC), Grupo de LASER (GL) e Grupo de Medicação (GM), ao registo (T0) (2a) e ao dia 21 de terapêutica (T3) (2b)

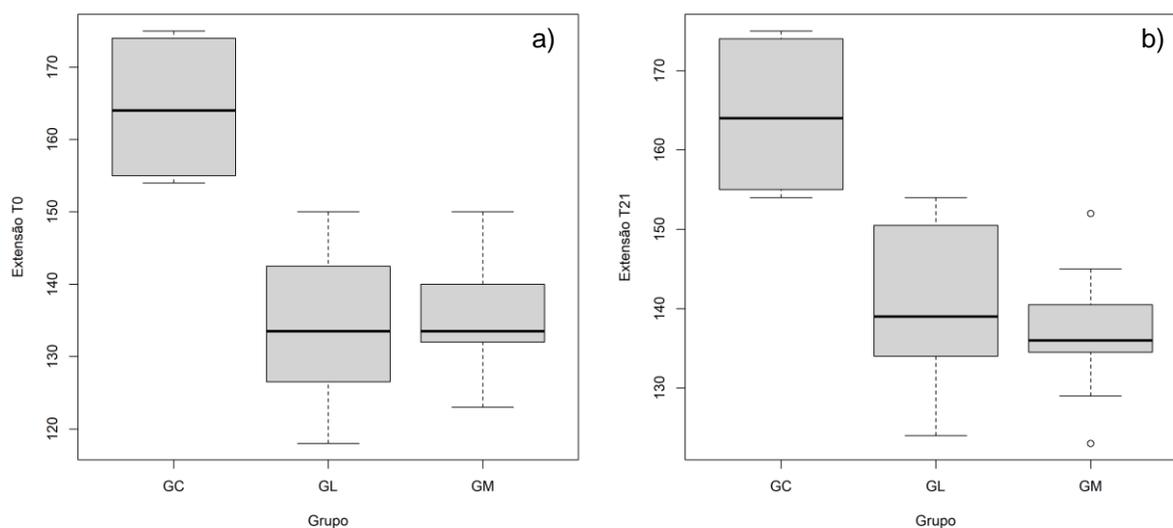
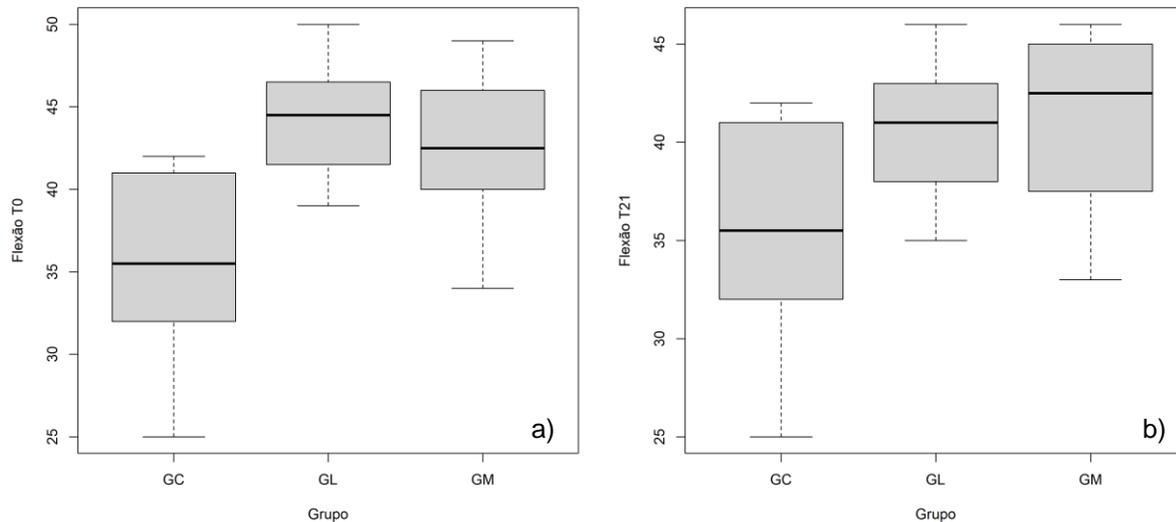


Gráfico 3 – Diagramas de extremos e quartis relativos à medição angular da flexão no Grupo de Controlo (GC), Grupo de LASER (GL) e Grupo de Medicação (GM), ao registo (T0) (3a) e ao dia 21 de terapêutica (T3) (3b)



4.2. Comparação da extensão e flexão entre os dois grupos de estudo (GM e GL)

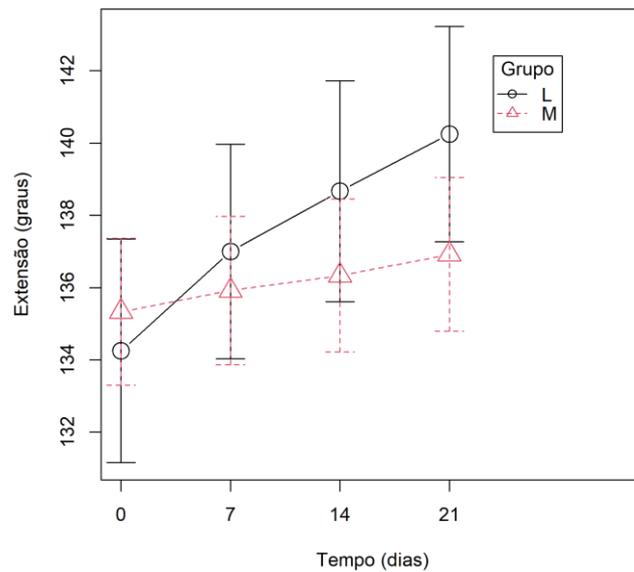
Quanto à estatística inferencial, procurou-se determinar se existiram diferenças estatisticamente significativas na goniometria de extensão e flexão após o tratamento realizado nos indivíduos de GM e GL.

No que respeita à goniometria de extensão, os resultados obtidos foram significativamente diferentes entre os grupos de estudo GM e GL, com os doentes de GL a exibirem a recuperação de uma maior extensão do cotovelo ao 7º dia (T1). Passando de 134,3º em T0 para 137º em T1 (recuperação de 2,8º). Os valores afastaram-se em muito dos resultados obtidos de GM, cuja goniometria passou de 135,3º em T0 para 135,9º em T1 (recuperação de 0,6º).

A diferença entre grupos foi mantida ao longo do protocolo, verificando-se que a extensão dos doentes em T3 (21 após o início do tratamento) foi para os doentes de GL de 140,3º em média e de 136,9º para os doentes de GM.

O teste ANOVA, permitiu avaliar para a presença de diferenças significativas entre os grupos de estudo para a goniometria da extensão ($p < 0,001$) (gráfico 4).

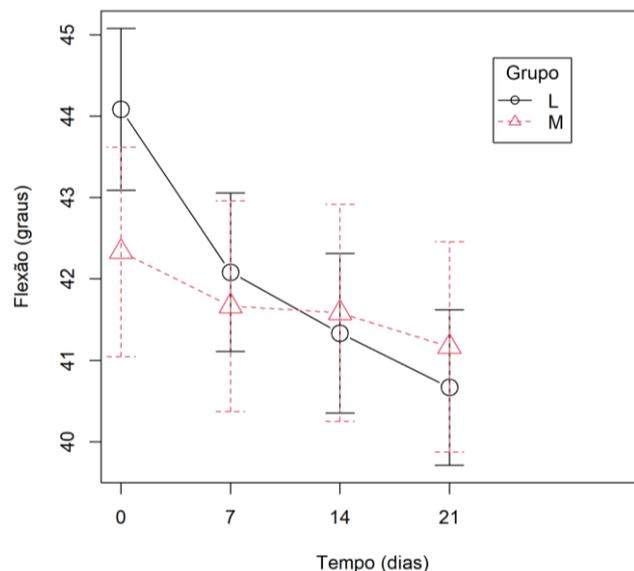
Gráfico 4 – Comparação das médias angulares da extensão entre o Grupo de Medicação (GM) e o Grupo de LASER (GL) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)



No que respeita à goniometria de flexão, os resultados obtidos foram similares aos de extensão, apresentando diferenças significativas entre os grupos de GM e GL, com os doentes de GL a exibirem a recuperação de uma maior flexão do cotovelo ao 7º dia (T1). Passando de 44,0º em T0 para 42,1º em T1 (recuperação de 2º). Os valores afastaram-se em muito dos resultados obtidos pelos doentes de GM, cuja goniometria passou de 41,7º em T0 para 41,6º em T1 (recuperação de 0,1º).

O teste ANOVA, permitiu avaliar para a presença de diferenças significativas entre os grupos de estudo para a goniometria da flexão ($p < 0,001$) (gráfico 5).

Gráfico 5 – Comparação das médias angulares da flexão entre o Grupo de Medicação (GM) e o Grupo de LASER (GL) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)



4.3. Estudo da influência no dia de início da terapêutica (T0) e na evolução do tratamento dos parâmetros: Idade, Género, Raça, Tempo de Claudicação e Membro Afetado, sobre a goniometria da Extensão e Flexão

Para se concretizar esta análise estatística referente à goniometria de extensão e de flexão, recorreu-se ao modelo linear generalizado misto em que se estudou a influência dos parâmetros considerados no dia de início da terapêutica. Os modelos lineares mistos e a análise de variância (ANOVA) foram aplicados ao estudo da influência de todos os parâmetros considerados, mas numa linha temporal, ou seja, ao longo do tempo de tratamento (T0, T1, T2, T3).

4.3.1. Grupo de Medicação

Tabela 3 –Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de Extensão e os parâmetros de estudo no Grupo de Medicação (GM) em T0

	Parâmetro	Desvio Padrão Estimado	Erro	Valor de p *
Extensão	Idade	-1,70 ^o	0,91	0,11
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	0,47 ^o	0,10	0,92
	Raça (Pura vs Indeterminada)	5,44 ^o	4,25	0,25
	Género (Masculino vs Feminino)	-5,38 ^o	4,40	0,27
	Tempo de Claudicação	0,03 ^o	0,04	0,49

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

Tabela 4 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de Medicação (GM)

	Parâmetro	Valor de p *
Extensão	Idade	0,26
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	0,04
	Raça (Pura vs Indeterminada)	0,82
	Género (Masculino vs Feminino)	0,20
	Tempo de Claudicação	0,20

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

Não existem resultados estatisticamente significativos entre a extensão em GM e os parâmetros estudados em T0.

No resultado final da extensão no GM, há uma diferença estatisticamente significativa na tabela 4 relativamente ao Membro Afetado, sendo $p = 0,04$, o que pode ser explicado devido ao aumento da amplitude da extensão no caso do Membro Esquerdo, como demonstra o gráfico 6 em que passa de $136,5^\circ$ para $138,8^\circ$ de média. A extensão do Membro Direito pouco evolui, remetendo-se de $134,2^\circ$ para 135° de média.

Gráfico 6 – Comparação das médias angulares da extensão do Grupo Medicação (GM) entre o Membro Afetado (Lado) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)

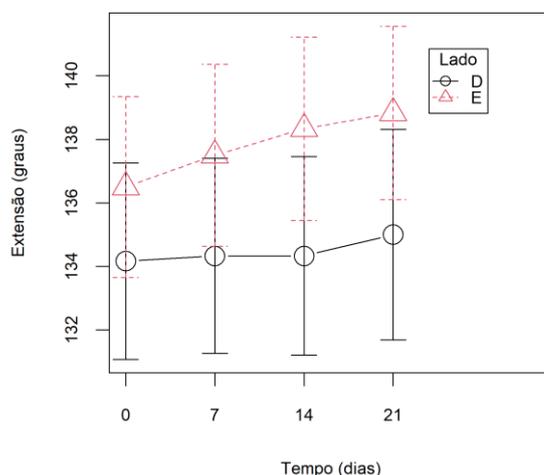


Tabela 5 – Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo no Grupo de Medicação (GM) em T0

Parâmetro		Desvio Padrão Estimado	Erro	Valor de p *
Flexão	Idade	-0,47 ^o	0,45	0,34
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	3,80 ^o	2,27	0,14
	Raça (Pura vs Indeterminada)	-4,15 ^o	2,18	0,09
	Género (Masculino vs Feminino)	-0,05 ^o	2,18	0,98
	Tempo de Claudicação	0,030 ^o	0,02	0,19

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

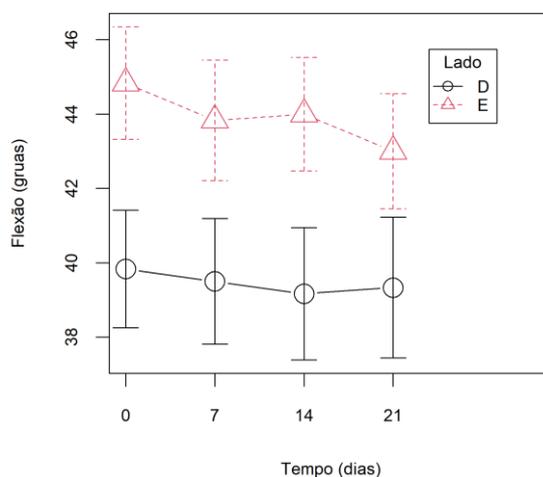
Tabela 6 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de Medicação (GM)

Parâmetro		Valor de p *
Flexão	Idade	0,37
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	0,04
	Raça (Pura vs Indeterminada)	0,19
	Gênero (Masculino vs Feminino)	0,19
	Tempo de Claudicação	0,98

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

Na análise da influência dos parâmetros estudados em T0 com a flexão em GM, não se observaram resultados estatisticamente significativos, conforme os valores de p apresentados na tabela 5. Registaram-se diferenças estatisticamente significativas entre o Membro Afetado Direito e Esquerdo ($p = 0,04$) em relação à evolução da goniometria de flexão ao longo do tempo de tratamento (tabela 6). O gráfico 7 representa a comparação da evolução goniométrica entre o Membro Direito e o Esquerdo, com o Esquerdo apresentando maior evolução clínica.

Gráfico 7 – Comparação das médias angulares da flexão do Grupo Medicação (GM) entre o Membro Afetado ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)



4.3.2. Grupo de LASER

Tabela 7 – Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo no Grupo de LASER (GL) em T0

	Parâmetro	Desvio Padrão Estimado	Erro	Valor de p *
Extensão	Idade	1,50°	1,15	0,24
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	-19,28°	5,78	0,04
	Raça (Pura vs Indeterminada)	-0,40°	5,78	0,94
	Género (Masculino vs Feminino)	7,78°	5,72	0,22
	Tempo de Claudicação	-0,07°	0,05	0,25

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

Tabela 8 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de extensão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de LASER (GL)

	Parâmetro	Valor de p*
Extensão	Idade	0,90
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	0,68
	Raça (Pura vs Indeterminada)	0,70
	Género (Masculino vs Feminino)	0,06
	Tempo de Claudicação	0,85

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

De acordo com os resultados obtidos em T0, o GL o Membro Esquerdo apresentou menor amplitude articular ao nível do movimento da extensão (média = 129,9°) comparativamente ao Membro Direito (média = 143°), traduzindo assim uma diferença estatisticamente significativa entre os membros ($p=0,4$). Apesar do ponto de partida ser muito distinto entre membros, verificou-se que a evolução da goniometria de extensão ao longo do tratamento foi semelhante em ambos os membros (gráfico 8).

Gráfico 8 – Comparação das médias angulares da extensão do Grupo LASER (GL) entre o Membro Direito (Lado D) e o Membro Esquerdo (Lado E) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)

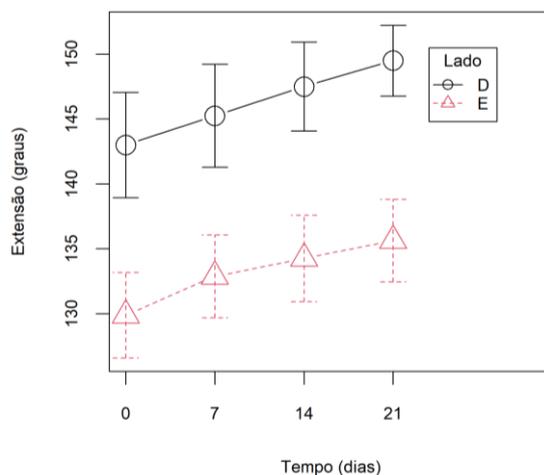


Tabela 9 – Análise estatística inferencial da relação entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo no Grupo de LASER (GL) em T0

	Parâmetro	Desvio Padrão		Valor de p^*
		Estimado	Erro	
Flexão	Idade	-0,31°	0,47	0,54
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	2,61°	3,01	0,42
	Raça (Pura vs Indeterminada)	0,25°	2,39	0,92
	Gênero (Masculino vs Feminino)	-0,57°	2,37	0,81
	Tempo de Claudicação	-0,01°	0,02	0,65

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

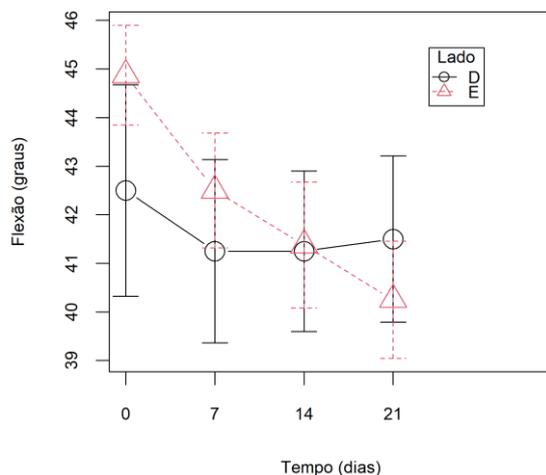
Tabela 10 - Análise estatística inferencial entre a goniometria de flexão e os parâmetros de estudo numa linha temporal e avaliando o resultado final do tratamento no Grupo de LASER (GL)

	Parâmetro	Valor de p^*
Flexão	Idade	0,68
	Membro Afetado (Esquerdo vs Direito)	<0,01
	Raça (Pura vs Indeterminada)	0,86
	Gênero (Masculino vs Feminino)	0,12
	Tempo de Claudicação	0,08

* Valor de $p < 0,05$ é estatisticamente significativo

O gráfico 9, permite verificar uma franca evolução no GL. É possível verificar a presença de uma diferença significativa ($p < 0,01$) no movimento de flexão do Membro Esquerdo, ao contrário do movimento Direito. É também possível verificar que a partir de T1 (7º dia após tratamento) houve uma estabilização da amplitude articular do cotovelo, com um ligeiro aumento de apenas $0,25^\circ$ quando se avalia a passagem do momento T2 para T3. A obtenção do resultado de $p = 0,08$, parece apontar para uma tendência estatisticamente significativa na relação da goniometria de flexão e o Tempo de Claudicação ao longo do tratamento.

Gráfico 9 – Comparação das médias angulares da flexão do Grupo LASER (GL) entre o Membro Direito (Lado D) e o Membro Esquerdo (Lado E) ao longo do Tempo (T0, T7, T14 e T21)



5. Discussão de Resultados

Os pacientes com OA caracterizam-se por apresentarem uma qualidade de vida diminuída, uma atividade limitada, um desempenho reduzido, uma atrofia muscular, dor e desconforto e uma marcada rigidez articular com diminuição da ADM (Marcellin-Little et al. 2014).

Em medicina veterinária, a goniometria é utilizada para avaliar objetivamente os resultados em doentes caninos e felinos submetidos a fisioterapia enquanto recuperam de doenças ortopédicas e neurológicas (Thomovsky et al. 2016). Trata-se de uma ferramenta clínica valiosa, que 1) permite uma boa fiabilidade de reprodução de resultados e 2) estabelece uma correlação entre a clínica do doente e a imagem radiológica do mesmo (Jaegger et al. 2002; Hesbach 2007). A presença de uma ADM restrita nos casos clínicos poderá associar-se à presença de alterações anatómicas que se desenvolvem na articulação afetada, como por exemplo, o alto nível de fibrose da cápsula articular, o aumento da pressão intra-articular durante o movimento articular que se traduz no aparecimento de dor, o colapso dos tecidos moles regionais, ou mesmo a presença de osteófitos como o resultado do impacto das forças nas superfícies ósseas (Marcellin-Little et al. 2014).

A utilização da goniometria possibilita a monitorização da progressão e da eficácia da intervenção da terapêutica de reabilitação (Hesbach 2007). O restabelecimento da amplitude articular permitirá a recuperação de uma ótima função do membro, podendo assim evitar o desenvolvimento de mecanismos de compensação em outras articulações. A amplitude do movimento pode funcionar como um indicador de melhoria da função articular, influenciando o regresso à função normal de um modo mais rápido, como já está descrito no homem no caso da reparação do ligamento cruzado anterior (Shaw et al. 2020).

Jaegger et al. (2002), concluíram num estudo realizado com Labradores Retriever, a variabilidade média das medições goniométricas de várias articulações proximais foi sempre maior do que a variabilidade média das medições goniométricas de várias articulações distais, como é o caso do cotovelo. Este estudo, reforça o desenho escolhido para o presente ensaio realizado.

Relativamente à osteoartrose, Michelsen (2013) refere duas das resoluções cirúrgicas mais utilizadas: 1) através da remoção da cartilagem defeituosa ao nível do osso subcondral; ou 2) através da sua substituição por um núcleo de osso subcondral coberto por cartilagem articular. No homem, nos últimos anos, as lesões decorrentes de osteoartrose e as lesões da cartilagem articular, foram estudadas no que respeita à tentativa de recuperação através do uso de um sistema de transferência de autoenxerto osteocondral (Cook et al. 2008). Contudo, este procedimento não pode ser recomendado nos cotovelos do cão ou do gato, por se associar a uma elevada potencial morbilidade associada ao processo de colheita da cartilagem na articulação doadora (Michelsen 2013).

Para além de correções cirúrgicas, outras formas de tratamento de osteoartrite do cotovelo estão a ser estudadas. É o caso do uso da radioterapia, que no estudo desenvolvido por Kapatkin et al. (2016), permitiu verificar que a administração de uma única dose baixa de radioterapia parece ter um benefício a curto prazo em cães com osteoartrite do cotovelo. Esta observação está de acordo com estudos já publicados que apoiam a utilização de radioterapia em cavalos com doença ortopédica. A acupuntura quando avaliada objetivamente, não mostrou melhorias no controlo da osteoartrite em cães. No entanto, alguns estudos baseados em inquéritos realizados aos cuidadores, sobre o uso desta técnica na OA do cotovelo em cães, parecem apresentar resultados com algum nível de resposta (Baker-Meuten et al. 2020).

A terapia de fotobiomodulação já tem provas concretas em termos da sua ação em cães com diagnóstico de osteoartrite ao nível do cotovelo, como demonstrou um estudo de Looney et al. (2018). Neste estudo, os doentes apresentaram uma melhoria do nível de claudicação, da dor apresentada e da redução da dose de anti-inflamatórios não esteroides, num período de tempo variável entre o fim do tratamento e até 10 dias da finalização do mesmo. Tomazoni et al. (2016) descreveu que entre os tratamentos para osteoartrite induzida por papaína em joelhos de ratos (medicação anti-inflamatória não esteroide, atividade física e terapia de fotobiomodulação), a terapia de fotobiomodulação é a terapia mais eficaz para reduzir as alterações morfológicas, concluindo que seria assim também a mais eficaz para travar ou mesmo diminuir a progressão da doença. Sustentando a informação descrita, esta análise apoia a teoria de que a fotobiomodulação deveria ser considerada como uma terapia complementar no tratamento de doentes com diagnóstico de osteoartrite ao nível do cotovelo, apoiada sempre com os estudos da evolução da amplitude de movimento medida através da técnica de goniometria. O presente estudo realizado demonstrou que a evolução da goniometria associada aos movimentos de extensão e de flexão, pode ser influenciada pelo tipo de tratamento utilizado no doente, verificando-se com o estudo uma diferença significativa entre os indivíduos que receberam terapia com LASER Classe IV e os que apenas estavam limitados à medicação, como os primeiros a apresentarem evoluções muito mais expressivas do que os segundos.

É conhecido que a deterioração das articulações ocorre com o avanço da idade (Anderson et al. 2020). A massa muscular e o tónus muscular, são inversamente proporcionais à amplitude articular, diminuindo ao longo da idade (Reusing et al. 2020). Por outro lado, a osteoartrite pode não ser clinicamente aguda, mas sim desenvolvendo-se apenas de um modo progressivo até que numa fase mais avançada possa ser reconhecida como tal (Anderson et al. 2020). Considerando isto, ser expectável observar diferenças entre os indivíduos quanto ao parâmetro Idade no momento T0. Contudo, tal não se verificou possivelmente devido ao número da amostra utilizada.

O estudo da amplitude articular com o Membro Afetado, permitiu verificar que no grupo de medicação, a extensão após o tratamento, exibiu uma melhor resposta estatisticamente significativa ($p=0,04$) para o membro esquerdo, mas não para o direito. Relativamente à flexão ($p=0,04$), também o membro direito registou uma menor evolução do que o esquerdo, apesar da maior flexibilidade do membro direito. No grupo de LASER, houve uma diferença estatisticamente significativa na goniometria da extensão em T0 ($p=0,04$), em que se verifica uma maior extensão do membro direito. Ainda houve a observação de uma diferença estatisticamente significativa na goniometria da flexão após o tratamento ($p<0,01$), em que o Membro Esquerdo apresenta uma maior evolução.

Na análise do parâmetro Raça, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas. Na muito limitada literatura sobre o assunto, apenas existe um estudo (Reusing et al. 2020) que compara a goniometria entre indivíduos de raças condrodistróficas e não condrodistrófica, mas não entre cães de raça e sem raça definida. É interessante verificar que o estudo de Reusing et al (2020), concluiu que em cães de porte pequeno não se verificaram diferenças angulares, contrariamente ao registado em cães de porte médio que exibiam uma diferença de 8° em média (36° para raças condrodistróficas, e 28° para não condrodistróficas). Assim, parece serem necessários estudos de goniometria sobre o nível de amplitude articular em cães sem raça definida. Apesar de haver artigos que referem a goniometria de diversas raças, não englobam todas as presentes no recente estudo, dificultando a inferência de qualquer apreciação em relação às diferentes raças puras.

Quanto ao parâmetro Tempo de Claudicação, verificou-se no grupo de LASER uma tendência para a significância estatística relativamente à goniometria de flexão em relação à resposta ao tratamento ao longo do tempo ($p=0,08$). Tal condição pode ser justificada pelo facto de os tutores recorrerem aos serviços médico-veterinários apenas após algum tempo passado do início da deteção dos sinais e sintomas da osteoartrite.

No que respeita ao parâmetro Género, também ele se apresentou tendencialmente significativo para o grupo LASER, onde a extensão na resposta ao tratamento registou um valor de $p=0,06$. O'Neill et al. (2020) concluíram que os indivíduos do género masculino exibem uma maior probabilidade de doença articular do cotovelo do que fêmeas. Tal condição estará associada a uma predisposição genética dominante com penetrância reduzida em fêmeas, ou então associada a fatores como a condição gonadal do indivíduo (castrado ou não), os níveis de exercício, as taxas de crescimento, ou mesmo o peso vivo do indivíduo (Alves-Pimenta et al. 2019).

O presente estudo permitiu verificar que, independentemente das variáveis, com a exceção do membro afetado no caso da goniometria de flexão, o tratamento com terapia de fotobiomodulação – LASER, demonstrou uma evolução sempre semelhante, e positiva, nos diferentes parâmetros avaliados.

Considerando que o valor angular considerado para cada articulação foi uma média de 3 medições por forma a tentar reduzir o erro associado, o facto de não ter existido sedação e / ou anestesia do doente para a realização da goniometria, e de que todos os doentes do estudo estavam com o mesmo protocolo medicamentoso, é possível concluir que as diferenças existentes entre os grupos considerados - grupo medicamento e grupo LASER, são o resultados da ação da fotobiomodulação do LASER nos tecidos, e os seus resultados anti-inflamatórios e analgésicos na área irradiada, assumindo-se assim como uma mais valia terapêutica no controlo da osteoartrite.

As principais limitações de estudo realizado relacionam-se com a dimensão da amostra, o que permitiu em alguns parâmetros obter resultados muito próximos, mas não estatisticamente significativos. Outra limitação a considerar, relaciona-se diretamente com a técnica de goniometria, e o facto de esta ter sido realizada sem sedação, o que poderá ter limitado alguns valores de goniometria obtidos. É sabido/conhecido que doentes com osteoartrite natural do cotovelo, exibem valores de goniometria de flexão menores após sedação e/ou anestesia geral e que a goniometria de extensão aumenta após sedação e/ ou anestesia (Clarke et al. 2020).

6. Conclusão

A terapia de fotobiomodulação (PBMT) - LASER, é indolor e não invasiva, utiliza a luz invisível, perto da radiação infravermelha para estimular a cura, fornecer analgesia e reduzir a inflamação dos tecidos irradiados sem criar um efeito térmico. Os alvos celulares absorvem comprimentos de onda de luz específicos, iniciando processos intracelulares que criam efeitos biológicos. Sendo o cotovelo uma articulação única de grande amplitude de movimentos, que envolve três ossos e que suporta a maior percentagem de peso transportada pelos membros torácicos, é fácil de compreender que pequenas alterações nos movimentos de flexão e de extensão podem tornar-se muito relevantes na biomecânica e no movimento do doente. De acordo com os resultados obtidos no estudo, é possível concluir que a amplitude de movimento articular do cotovelo de doentes diagnosticados com OA, é influenciada de uma forma positiva para os movimentos de flexão e de extensão, pela adição do aparelho de LASER classe IV ao tratamento medicamentoso clássico dos doentes. Verificou-se que os parâmetros Idade, Raça, Género, Membro Afetado (com a exceção da goniometria da flexão no final do tratamento) e Tempo de Claudicação, não influenciam, de forma estatisticamente significativas, a evolução da goniometria de flexão e de extensão na linha temporal do tratamento com o uso de LASER Classe IV.

7. Referências Bibliográficas

Abercomby R, Innes J, Clements D. 2018. Arthritis. In: Arthurs G, Brown G, Pettitt R, editors. BSAVA manual of canine and feline musculoskeletal disorders: a practical guide to lameness and joint disease. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association; p. 65-86.

Ahmad M, Wolberg A, Kahwaji CI. 2020. Biochemistry, Electron Transport Chain. [accessed 2021 Jun 21]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526105/?report=classic>.

Aigner T, Kurz B, Fukui N, Sandell L. 2002. Roles of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*. 14(5):578–584. doi:10.1097/00002281-200209000-00018.

Alam M, Ji JR, Kim MS, Kim NS. 2011. Biomarkers for identifying the early phases of osteoarthritis secondary to medial patellar luxation in dogs. *Journal of Veterinary Science*. 12(3):273–280. doi:10.4142/jvs.2011.12.3.273.

Alayat MSM, Aly THA, Elsayed AEM, Fadil ASM. 2017. Efficacy of pulsed Nd:YAG laser in the treatment of patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Lasers in Medical Science*. 32(3):503–511. doi:10.1007/s10103-017-2141-x. <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-017-2141-x>.

Albertini R, Aimbire FSC, Correa FI, Ribeiro W, Cogo JC, Antunes E, Teixeira SA, de Nucci G, Castro-Faria-Neto HC, Zângaro RA, et al. 2004. Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw oedema. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 74(2–3):101–107. doi:10.1016/j.jphotobiol.2004.03.002.

Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MAC, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS. 2007. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 89(1):50–55. doi:10.1016/j.jphotobiol.2007.08.005.

Aliodoust M, Bayat Mohammad, Jalili MR, Sharifian Z, Dadpay M, Akbari M, Bayat Mehrnoush, Khoshvaghti A, Bayat H. 2014. Evaluating the effect of low-level laser therapy on healing of tentomized Achilles tendon in streptozotocin-induced diabetic rats by light microscopical and gene expression examinations. *Lasers in Medical Science*. 29(4):1495–1503. doi:10.1007/s10103-014-1561-0.

Alves ACA, Albertini R, Dos Santos SA, Leal ECP, Santana E, Serra AJ, Silva JA, De Carvalho PDTC. 2014. Effect of low-level laser therapy on metalloproteinase MMP-2 and MMP-9 production and percentage of collagen types I and III in a papain cartilage injury model. *Lasers in Medical Science*. 29(3):911–919. doi:10.1007/s10103-013-1427-x.

Alves-Pimenta S, Ginja MM, Colaço B. 2019. Role of Elbow Incongruity in Canine Elbow Dysplasia: Advances in Diagnostics and Biomechanics. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 32(2):87–96. doi:10.1055/s-0038-1677513.

Anders JJ, Lanzafame RJ, Arany PR. 2015. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*. 33(4):183–184. doi:10.1089/pho.2015.9848.

Anderson, K. L., O'Neill, D. G., Brodbelt, D. C., Church, D. B., Meeson, R. L., Sargan, D., Summers, J. F., Zulch, H., & Collins, L. M. (2018). Prevalence, duration and risk factors for appendicular osteoarthritis in a UK dog population under primary veterinary care. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23940-z>

Anderson KL, Zulch H, O'Neill DG, Meeson RL, Collins LM. 2020. Risk factors for canine osteoarthritis and its predisposing arthropathies: A systematic review. *Frontiers in Veterinary Science*. 7. doi:10.3389/fvets.2020.00220.

Baker-Meuten A, Wendland T, Shamir SK, Hess AM, Duerr FM. 2020. Evaluation of acupuncture for the treatment of pain associated with naturally-occurring osteoarthritis in dogs: A prospective, randomized, placebo-controlled, blinded clinical trial. *BMC Veterinary Research*. 16(1). doi:10.1186/s12917-020-02567-1.

Bendele AM. 1987. Progressive Chronic Osteoarthritis in Femorotibial Joints of Partial Medial Meniscectomized Guinea Pigs. *Veterinary Pathology* 24: 444-448

Bendele AM, White SL. 1987. Early Histopathologic and Ultrastructural Alterations in Femorotibial Joints of Partial Medial Meniscectomized Guinea Pigs. *Veterinary Pathology* 24:436-443

Berger NA, Eeg PH. 2006. General principles. In: Berger NA, Eeg PH, editors. *Veterinary Laser Surgery: A Practical Guide*. Hoboken: Wiley-Blackwell. p. 17.

Bjordal JM, Couppé C, Chow RT, Tunér J, Ljunggren EA. 2003. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. *Australian Journal of Physiotherapy*. 49(2):107–116. doi:10.1016/S0004-9514(14)60127-6.

Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RAB. 2006. Photoradiation in acute pain: A systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomedicine and Laser Surgery*. 24(2):158–168. doi:10.1089/pho.2006.24.158.

Boileau C, Martel-Pelletier J, Moldovan F, Jouzeau JY, Netter P, Manning PT, Pelletier JP. 2002. The in situ up-regulation of chondrocyte interleukin-1-converting enzyme and interleukin-18 levels in experimental osteoarthritis is mediated by nitric oxide. *Arthritis and Rheumatism*. 46(10):2637–2647. doi:10.1002/art.10518.

Boniface RJ, Cain PR, Evans CH. 1988. Articular responses to purified cartilage proteoglycans. *Arthritis & Rheumatism*. 31(2):258–266. doi:10.1002/art.1780310214. <http://doi.wiley.com/10.1002/art.1780310214>.

Bortone F, Santos HA, Albertini R, Pesquero JB, Costa MS, Silva JA. 2008. Low level laser therapy modulates kinin receptors mRNA expression in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation. *International Immunopharmacology*. 8(2):206–210. doi:10.1016/j.intimp.2007.09.004.

Boumediene K, Felisaz N, Bogdanowicz P, Galera P, Guillou GB, Pujol JP. 1999. Avocado/soya unsaponifiables enhance the expression of transforming growth factor β 1 and β 2 in cultured articular chondrocytes. *Arthritis and Rheumatism*. 42(1):148–156. doi:10.1002/1529-0131(199901)42:1<148::AID-ANR18>3.0.CO;2-U.

Brandt KD, Myers SL, Burr D, Albrecht M. 2010. Osteoarthritic changes in canine articular cartilage, subchondral bone, and synovium fifty-four months after transection of the

anterior cruciate ligament. *Arthritis & Rheumatism*. 34(12):1560–1570. doi:10.1002/art.1780341214. <http://doi.wiley.com/10.1002/art.1780341214>.

Brondon P, Stadler I, Lanzafame RJ. 2005. A study of the effects of phototherapy dose interval on photobiomodulation of cell cultures. *Lasers in Surgery and Medicine*. 36(5):409–413. doi:10.1002/lsm.20183.

Bublitz C, Medalha C, Oliveira P, Assis L, Milares LP aulo, Fernandes KR ossetti, Tim CR oberta, Vasilceac FA ugusto, Mattiello SM arcia, Renno AC laudia M. 2014. Low-level laser therapy prevents degenerative morphological changes in an experimental model of anterior cruciate ligament transection in rats. *Lasers in medical science*. 29(5):1669–1678. doi:10.1007/s10103-014-1546-z.

Bunning RAD, Russell RGG. 1989. The effect of tumor necrosis factor α and γ -interferon on the resorption of human articular cartilage and on the production of prostaglandin e and of caseinase activity by human articular chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism*. 32(6):780–784. doi:10.1002/anr.1780320618.

Burger E, Mendes ACSC, Bani GMAC, Brigagão MRPL, Santos GB, Malaquias LCC, Chavasco JK, Verinaud LM, de Camargo ZP, Hamblin MR, et al. 2015. Low-level Laser Therapy to the Mouse Femur Enhances the Fungicidal Response of Neutrophils against *Paracoccidioides brasiliensis*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 9(2):1–20. doi:10.1371/journal.pntd.0003541.

Burr DB, Radin EL. 1990. Trauma as a factor in the initiation of osteoarthritis. In: Brandt KD editor. *Cartilage Changes in Osteoarthritis*. Indiana University School of Medicine; p. 63.

Campana VR, Moya M, Gavotto A, Simes JC, Spitale L, Soriano F, Palma JA. 2003. He-Ne laser on microcrystalline arthropathies. *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. 21(2):99–103. doi:10.1089/104454703765035529.

Campana VR, Moya M, Gavotto A, Soriano F, Juri HO, Spitale LS, Simes JC, Palma JA. 1999. The relative effects of He-Ne Laser and meloxicam on experimentally induced inflammation. *Laser therapy*. 11(1):36–42. doi:10.5978/islsm.11.36. https://www.jstage.jst.go.jp/article/islsm/11/1/11_1_36/_article.

Campbell IK, Piccoli DS, Roberts MJ, Muirden KD, Hamilton JA. 1990. Effects of tumor necrosis factor α and β on resorption of human articular cartilage and production of plasminogen activator by human articular chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism*. 33(4):542–552. doi:10.1002/art.1780330412.

Cerdeira CD, Lima Brigagão MRP, Carli ML, de Souza Ferreira C, de Oliveira Isac Moraes G, Hadad H, Costa Hanemann JA, Hamblin MR, Sperandio FF. 2016. Low-level laser therapy stimulates the oxidative burst in human neutrophils and increases their fungicidal capacity. *Journal of Biophotonics*. 9(11–12):1180–1188. doi:10.1002/jbio.201600035.

Ceylan Y, Hizmetli S, Siliğ Y. 2004. The effects of infrared laser and medical treatments on pain and serotonin degradation products in patients with myofascial pain syndrome. A controlled trial. *Rheumatology International*. 24(5):260–263. doi:10.1007/s00296-003-0348-6.

Chai B, Yoo H, Pollack GH. 2009. Effect of radiant energy on near-surface water. *Journal of Physical Chemistry B*. 113(42):13953–13958. doi:10.1021/jp908163w.

Chow R, Armati P, Laakso EL, Bjordal JM, Baxter GD. 2011. Inhibitory effects of laser irradiation on peripheral mammalian nerves and relevance to analgesic effects: A systematic review. *Photomedicine and Laser Surgery*. 29(6):365–381. doi:10.1089/pho.2010.2928.

Clarke E, Aulakh KS, Hudson C, Barnes K, Gines JA, Liu C, Aulakh HK. 2020. Effect of sedation or general anesthesia on elbow goniometry and thoracic limb circumference measurements in dogs with naturally occurring elbow osteoarthritis. *Veterinary Surgery*. 49(7):1428–1436. doi:10.1111/vsu.13499. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vsu.13499>.

Coldren LA, Corzine SW, Mašanović ML. 2012. *Diode Lasers and Photonic Integrated Circuits*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <http://doi.wiley.com/10.1002/9781118148167>.

Cook JL, Hudson CC, Kuroki K. 2008. Autogenous osteochondral grafting for treatment of stifle osteochondrosis in dogs. *Veterinary Surgery*. 37(4):311–321. doi:10.1111/j.1532-950X.2008.00383.x.

Cury V, Moretti AIS, Assis L, Bossini P, de Souza Crusca J, Neto CB, Fangel R, de Souza HP, Hamblin MR, Parizotto NA. 2013. Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF, HIF-1 α and MMP-2. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 125:164–170. doi:10.1016/j.jphotobiol.2013.06.004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.06.004>.

Desurvire E. 2011. Optical amplification. *Scholarpedia*, [released 2011 Oct; accessed 2021 Oct 27]. http://www.scholarpedia.org/article/Optical_

Doom M, de Bruin T, de Rooster H, van Bree H, Cox E. 2008. Immunopathological mechanisms in dogs with rupture of the cranial cruciate ligament. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 125(1–2):143–161. doi:10.1016/j.vetimm.2008.05.023.

Erthal V, Maria-Ferreira D, de Paula Werner MF, Baggio CH, Nohama P. 2016. Anti-inflammatory effect of laser acupuncture in ST36 (Zusanli) acupoint in mouse paw edema. *Lasers in Medical Science*. 31(2):315–322. doi:10.1007/s10103-015-1845-z.

Evans RB, Gordon-Evans WJ, Conzemius MG. 2008. Comparison of three methods for the management of fragmented medial coronoid process in the dog: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 21(2):106–109. doi:10.3415/VCOT-07-04-0031.

Farivar S, Malekshahabi T, Shiari R. 2014. Biological effects of low level laser therapy. *Journal of Lasers in Medical Sciences*. 5(2):58–62. doi:10.22037/2010.v5i2.5540.

FDA: Laser hazard classes [Internet]. 2015. U.S. Food and Drug Administration; [updated 2021 Mar 26; accessed 2021 Aug 16] <http://www.fda.gov/radiation-emittingproducts/radiationemittingproductsandprocedures/homebusinessandentertainment/laserproductsandinstruments/default.htm>.

Formenton MR, de Lima LG, Vassalo FG, Joaquim JGF, Rosseto LP, Fantoni DT. 2019. Goniometric Assessment in French Bulldogs. *Frontiers in Veterinary Science*. 6. doi:10.3389/fvets.2019.00424.

Fox SM. 2016. *Multimodal Management of Canine Osteoarthritis*. CRC Press. <https://www.taylorfrancis.com/books/9781498749367>.

Freemont AJ, Byers RJ, Taiwo YO, Hoyland JA. 1999. In situ zymographic localisation of type II collagen degrading activity in osteoarthritic human articular cartilage. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 58(6):357–365. doi:10.1136/ard.58.6.357.

Fulop AM, Dhimmer S, Deluca JR, Johanson DD, Lenz R v., Patel KB, Douris PC, Enwemeka CS. 2009. A meta-analysis of the efficacy of phototherapy in tissue repair. *Photomedicine and Laser Surgery*. 27(5):695–702. doi:10.1089/pho.2009.2550.

Galloway R, Lester S. 1995. Histopathological evaluation of canine stifle joint synovial membrane collected at the time of repair of cranial cruciate ligament rupture. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 31(4):289–294. doi:10.5326/15473317-31-4-289. <https://meridian.allenpress.com/jaaha/article/31/4/289/174829/Histopathological-evaluation-of-canine-stifle>.

Gatsura S v., Gladkikh SP, Titov MN. 2004. Effect of low-energy laser irradiation on the area of experimental myocardial infarction, lipid peroxidation, and hemoglobin affinity for oxygen. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 137(4):355–357. doi:10.1023/B:BEBM.0000035128.90752.a6.

Goldring MB, Berenbaum F. 1999. Human chondrocyte culture models for studying cyclooxygenase expression and prostaglandin regulation of collagen gene expression. *Osteoarthritis and Cartilage*. 7(4):386–388. doi:10.1053/joca.1998.0219.

Goldring MB, Goldring SR. 2010. Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1192:230–237. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05240.x.

Goldring MB, Marcu KB. 2009. Cartilage homeostasis in health and rheumatic diseases. *Arthritis Research and Therapy*. 11(3). doi:10.1186/ar2592.

Goldring SR, Goldring MB. 2004. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*.(427 SUPPL.):27–36. doi:10.1097/01.blo.0000144854.66565.8f.

Goodson WH 3rd, Hunt TK. 1979. Wound healing and the diabetic patient. *Surg Gynecol Obstet*. 149(4):600-608.

Gopal Nambi S, Kamal W, George J, Manssor E. 2017. Radiological and biochemical effects (CTX-II, MMP-3, 8, and 13) of low-level laser therapy (LLLT) in chronic osteoarthritis in Al-Kharj, Saudi Arabia. *Lasers in Medical Science*. 32(2):297–303. doi:10.1007/s10103-016-2114-5. <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-016-2114-5>.

Greene LM, Marcellin-Little DJ, Lascelles BDX. 2013. Associations among exercise duration, lameness severity, and hip joint range of motion in labrador retrievers with hip dysplasia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 242(11):1528–1533. doi:10.2460/javma.242.11.1528.

Greisen HA, Summers BA, Lust G. 1982. Ultrastructure of the articular cartilage and synovium in the early stages of degenerative joint disease in canine hip joints. *American journal of veterinary research*. 43(11):1963–1971. <http://europepmc.org/abstract/MED/7181195>.

Gruen ME, Thomson AE, Griffith EH, Paradise H, Gearing DP, Lascelles BDX. 2016. A Feline-Specific Anti-Nerve Growth Factor Antibody Improves Mobility in Cats with Degenerative Joint Disease-Associated Pain: A Pilot Proof of Concept Study. *Journal of veterinary internal medicine*. 30(4):1138–1148. doi:10.1111/jvim.13972.

Gyger O, Botteron C, Doherr M, Zurbriggen A, Schawalder P, Spreng D. 2007. Detection and distribution of apoptotic cell death in normal and diseased canine cranial cruciate ligaments. *Veterinary Journal*. 174(2):371–377. doi:10.1016/j.tvjl.2006.07.006.

Hagiwara S, Iwasaka H, Okuda K, Noguchi T. 2007. GaAAs (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats. *Lasers in Surgery and Medicine*. 39(10):797–802. doi:10.1002/lsm.20583.

Hall RN, Fenner GE, Kingsley JD, Soltys TJ, Carlson RO. 1962. Coherent Light Emission From GaAs Junctions. *Physical Review Letters*. 9(9):366–368. doi:10.1103/PhysRevLett.9.366.

Harrington P, Vickers J. 2021. Class IV Therapy Lasers Maximize Primary Biostimulative Effects.

Hawkins D. 2005. Low Level Laser Therapy (LLLT) as an Effective Therapeutic Modality for Delayed Wound Healing. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1056(1):486–493. doi:10.1196/annals.1352.040. <http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1352.040>.

Henrotin YE, Labasse AH, Jaspard JM, De Groot DD, Zheng SX, Guillou GB, Reginster JYL. 1998. Effects of three avocado/soybean unsaponifiable mixtures on metalloproteinases, cytokines and prostaglandin E2 production by human articular chondrocytes. *Clinical Rheumatology*. 17(1):31–39. doi:10.1007/BF01450955.

Heu F, Forster C, Namer B, Dragu A, Lang W. 2013. Effect of low-level laser therapy on blood flow and oxygen- hemoglobin saturation of the foot skin in healthy subjects: A pilot study. *Laser Therapy*. 22(1):21–30. doi:10.5978/islm.13-OR-03.

Hesbach AL. 2007. Techniques for Objective Outcome Assessment. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 22(4):146–154. doi:10.1053/j.ctsap.2007.09.002.

Hewitt P. 2001. *Conceptual Physics*, 9 edn. Boston: Addison Wesley.

Hilborn, RC. 1982. Einstein coefficients, cross sections, f values, dipole moments, and all that. *American Journal of Physics*. 50(11):982. doi:10.1119/1.12937

Hoover, D, and Ritzline, P. 2011. The Temporomandibular Joint. In: LeVangie PK, Norkin CC, editors. *Joint Structure and Function: A Comprehensive Analysis*. 5 ed. FA Davis; p.213-229

Honmura A, Ishii A, Yanase M, Obata J, Haruki E. 1993. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin-induced inflammation. *Lasers in Surgery and Medicine*. 13(4):463–469. doi:10.1002/lsm.1900130411.

Hsieh YL, Cheng YJ, Huang FC, Yang CC. 2014. The fluence effects of low-level laser therapy on inflammation, fibroblast-like synoviocytes, and synovial apoptosis in rats with adjuvant-induced arthritis. *Photomedicine and Laser Surgery*. 32(12):669–677. doi:10.1089/pho.2014.3821.

Hsieh YL, Chou LW, Chang PL, Yang CC, Kao MJ, Hong CZ. 2012. Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury: Possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α). *Journal of Comparative Neurology*. 520(13):2903–2916. doi:10.1002/cne.23072.

Hsieh YL, Fan YC, Yang CC. 2016. Low-level laser therapy alleviates mechanical and cold allodynia induced by oxaliplatin administration in rats. *Supportive Care in Cancer*. 24(1):233–242. doi:10.1007/s00520-015-2773-y.

Hsieh YL, Hong CZ, Chou LW, Yang SA, Yang CC. 2015. Fluence-dependent effects of low-level laser therapy in myofascial trigger spots on modulation of biochemicals associated with pain in a rabbit model. *Lasers in Medical Science*. 30(1):209–216. doi:10.1007/s10103-014-1654-9.

Huang X, Das R, Patel A, Duc Nguyen T. 2018. Physical Stimulations for Bone and Cartilage Regeneration. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 4(4):216–237. doi:10.1007/s40883-018-0064-0.

Hunt JR, Goff M, Jenkins H, Harris J, Knowles TG, Duncan X Lascelles B, Enomoto M, Mendl M, Whay HR, Murrell JC. 2018. Electrophysiological characterisation of central sensitisation in canine spontaneous osteoarthritis. *Pain*. 159(11):2318–2330. doi:10.1097/j.pain.0000000000001336.

Hurlbeck C, Einspanier R, Pfeil I, Bondzio A. 2014. Evaluation of biomarkers for osteoarthritis caused by fragmented medial coronoid process in dogs. *Research in Veterinary Science*. 96(3):429–435. doi:10.1016/j.rvsc.2014.02.012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.02.012>.

Hwang J, Castelli DM, Gonzalez-Lima F. 2016. Cognitive enhancement by transcranial laser stimulation and acute aerobic exercise. *Lasers in Medical Science*. 31(6):1151–1160. doi:10.1007/s10103-016-1962-3.

IEC. 2014. Safety of laser products - Part1: Equipment classification and requirements (IEC 60825-1:2007). International Standard. 05:1–13.

Iozzo R v. 1998. Matrix proteoglycans: From molecular design to cellular function. *Annual Review of Biochemistry*. 67:609–652. doi:10.1146/annurev.biochem.67.1.609.

Ip D. 2015. Does addition of low-level laser therapy (LLLT) in conservative care of knee arthritis successfully postpone the need for joint replacement? *Lasers in Medical Science*. 30(9):2335–2339. doi:10.1007/s10103-015-1814-6.

Itzkan, I. and Drake, E. 1997. History of laser in medicine. In: Arndt KA, Dover JS, Olbricht SM, editors. *Lasers in Cutaneous and Aesthetic Surgery*. 1st ed. Philadelphia. Lippincott-Raven; p. 3–10.,

Jackson A, Gu W. 2009. Transport Properties of Cartilaginous Tissues. *Current Rheumatology Reviews*. 5(1):40–50. doi:10.2174/157339709787315320.

Jacques SL. 2013. Erratum: Optical properties of biological tissues: A review (*Physics in Medicine and Biology* (2013) 58). *Physics in Medicine and Biology*. 58(14):5007–5008. doi:10.1088/0031-9155/58/14/5007.

Jaeger GH, Marcellin-little DJ, Depuy V, Lascelles BDX. 2007. Validity of goniometric joint measurements in cats. *AJVR*. 68(8).

Jaegger G, Marcellin-Little DJ, Levine D. 2002. Reliability of goniometry in Labrador Retrievers. *American Journal of Veterinary Research*. 63(7):979–986. doi:10.2460/ajvr.2002.63.979. <https://avmajournals.avma.org/doi/10.2460/ajvr.2002.63.979>.

Johnston SA. 1997. Osteoarthritis. Joint anatomy, physiology, and pathobiology. *The Veterinary clinics of North America Small animal practice*. 27(4):699–723. doi:10.1016/S0195-5616(97)50076-3.

Kannu P, Bateman JF, Belluoccio D, Fosang AJ, Savarirayan R. 2009. Employing molecular genetics of chondrodysplasias to inform the study of osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 60(2):325–334. doi:10.1002/art.24251.

Kapatkin AS, Nordquist B, Garcia TC, Griffin MA, Theon A, Kim S, Hayashi K. 2016. Effect of single dose radiation therapy on weight-bearing lameness in dogs with elbow osteoarthritis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 29(4):338–343. doi:10.3415/VCOT-15-11-0183.

Karu TI, Pyatibrat L v., Kolyakov SF, Afanasyeva NI. 2005. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: Reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 81(2):98–106. doi:10.1016/j.jphotobiol.2005.07.002.

Karu TI, Pyatibrat L v., Kolyakov SF, Afanasyeva NI. 2008. Absorption measurements of cell monolayers relevant to mechanisms of laser phototherapy: Reduction or oxidation of cytochrome c oxidase under laser radiation at 632.8 nm. *Photomedicine and Laser Surgery*. 26(6):593–599. doi:10.1089/pho.2008.2246.

Kidd JA, Fuller C, Barr ARS. 2010. Osteoarthritis in the horse. *Equine Veterinary Education*. 13(3):160–168. doi:10.1111/j.2042-3292.2001.tb00082.x. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-3292.2001.tb00082.x>.

Kim S, Shin S, Jeong S. 2015. Effects of tissue water content on the propagation of laser light during low-level laser therapy. *Journal of Biomedical Optics*. 20(5):051027. doi:10.1117/1.jbo.20.5.051027.

Kimura KW, Pollack GH. 2015. Particle Displacement in Aqueous Suspension Arising from Incident Radiant Energy. *Langmuir*. 31(38):10370–10376. doi:10.1021/la5048535.

Knazovicky D, Helgeson ES, Case B, Gruen ME, Maixner W, Lascelles BDX. 2016. Widespread somatosensory sensitivity in naturally occurring canine model of osteoarthritis.

Krupkova O, Smolders L, Wuertz-Kozak K, Cook J, Pozzi A. 2018. The pathobiology of the meniscus: A comparison between the human and dog. *Frontiers in Veterinary Science*. 5(APR):1–15. doi:10.3389/fvets.2018.00073.

Laakso EL, Cabot PJ. 2005. Nociceptive scores and endorphin-containing cells reduced by low-level laser therapy (LLLT) in inflamed paws of Wistar rat. *Photomedicine and Laser Surgery*. 23(1):32–35. doi:10.1089/pho.2005.23.32.

Lascelles BD, Knazovicky D, Case B, Freire M, Innes JF, Drew AC, Gearing DP. 2015. A canine-specific anti-nerve growth factor antibody alleviates pain and improves mobility and function in dogs with degenerative joint disease-associated pain. *BMC Veterinary Research*. 11(1):1–12. doi:10.1186/s12917-015-0413-x. ???

Lavi R, Shainberg A, Shneyvays V, Hochhauser E, Isaac A, Zinman T, Friedmann H, Lubart R. 2010. Detailed analysis of reactive oxygen species induced by visible light in various cell types. *Lasers in Surgery and Medicine*. 42(6):473–480. doi:10.1002/lsm.20919.

Libretexts: Laser Radiation Properties [Internet]. 2020. California: LibreTexts libraries. [updated 2020 Jun 9, accessed 2021 Jul 21] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/JASDL/Courseware/Introduction_to_Lasers/03_Basic_Principles/01_Laser_Radiation_Properties](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/JASDL/Courseware/Introduction_to_Lasers/03_Basic_Principles/01_Laser_Radiation_Properties).

Lipinski B. 2011. Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2011. doi:10.1155/2011/809696.

Lohr NL, Keszler A, Pratt P, Bienengraber M, Wartier DC, Hogg N. 2009. Enhancement of nitric oxide release from nitrosyl hemoglobin and nitrosyl myoglobin by red/near infrared radiation: Potential role in cardioprotection. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 47(2):256–263. doi:10.1016/j.yjmcc.2009.03.009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.03.009>.

Looney AL, Huntingford JL, Blaeser LL, Mann S. 2018. A randomized blind placebo-controlled trial investigating the effects of photobiomodulation therapy (PBMT) on canine elbow osteoarthritis. *Canadian Veterinary Journal*. 59(9):959–966.

Lotz M. 1999. The role of nitric oxide in articular cartilage damage. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 25(2):269–282. doi:10.1016/S0889-857X(05)70067-3.

Loudon R. 2001. *The quantum theory of light*. 3rd ed. New York: Clarendon Press

Mantineo M, Pinheiro JP, Morgado AM. 2014. Low-level laser therapy on skeletal muscle inflammation: evaluation of irradiation parameters. *Journal of Biomedical Optics*. 19(9):098002. doi:10.1117/1.jbo.19.9.098002.

Marcellin-Little DJ, Levine D, Millis DL. 2014. 35 - Physical Rehabilitation for Geriatric and Arthritic Patients. In: Millis D, Levine D, editors. *Canine Rehabilitation and Physical Therapy (Second Edition)*. Second Edition. St. Louis: W.B. Saunders. p. 628–641.

Marcellin-Little DJ, Levine D. 2015. Principles and Application of Range of Motion and Stretching in Companion Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. 45(1):57–72. doi:10.1016/j.cvsm.2014.09.004.

Martel-Pelletier J, Welsch DJ, Pelletier JP. 2001. Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*. 15(5):805–829. doi:10.1053/berh.2001.0195.

Mathews K, Kronen PW, Lascelles D, Nolan A, Robertson S, Steagall PV, Wright B, Yamashita K. 2015. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *The Veterinary Nurse*. 6(3):164–173. doi:10.12968/vetn.2015.6.3.164.

Mauviel A, Loyau G, Pujol JP. 1991. [Effect of unsaponifiable extracts of avocado and soybean (Piasclédine) on the collagenolytic action of cultures of human rheumatoid synoviocytes and rabbit articular chondrocytes treated with interleukin-1]. *Revue du rhumatisme et des maladies osteo-articulaires*. 58(4):241–245.

McDevitt C, Gilbertson E, Muir H. 1977. An experimental model of osteoarthritis; early morphological and biochemical changes. *The Journal of Bone and Joint Surgery British volume*. 59-B(1):24–35. doi:10.1302/0301-620X.59B1.576611. <https://online.boneandjoint.org.uk/doi/10.1302/0301-620X.59B1.576611>.

Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Silva LI, Bonfleur ML, Bertolini GRF. 2012. Avaliação do papel de opioides endógenos na analgesia do laser de baixa potência, 820 nm, em Joelho de ratos Wistar. *Revista Dor*. 13(2):152–155. doi:10.1590/s1806-00132012000200011.

MeSH. 2016. Photobiomodulation. [accessed 2021 Nov 30] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=photobiomodulation>.

Mester E, Szende B, Gärtner P. 1968. Die Wirkung der Lasstrahlen auf den Haarwuchs der Maus [The effect of laser beams on the growth of hair in mice]. *Radiobiol Radiother (Berl)*. 9(5):621-6. PMID: 5732466.

Michelsen J. 2013. Canine elbow dysplasia: Aetiopathogenesis and current treatment recommendations. *Veterinary Journal*. 196(1):12–19. doi:10.1016/j.tvjl.2012.11.009.

Millis DL, Levine D. Canine rehabilitation and physical therapy.

Mittermayr R, Osipov A, Piskernik C, Haindl S, Dungal P, Weber C, Vladimirov YA, Redl H, Kozlov A v. 2007. Blue laser light increases perfusion of a skin flap via release of nitric oxide from hemoglobin. *Molecular Medicine*. 13(1–2):22–29. doi:10.2119/2006-00035.Mittermayr.

Miwa M, Saura R, Hirata S, Hayashi Y, Mizuno K, Itoh H. 2000. Induction of apoptosis in bovine articular chondrocyte by prostaglandin E2 through cAMP-dependent pathway. *Osteoarthritis and Cartilage*. 8(1):17–24. doi:10.1053/joca.1999.0266.

Mizutani K, Musya Y, Wakae K, Kobayashi T, Tobe M, Taira K, Harada T. 2004. A clinical study on serum prostaglandin E2 with low-level laser therapy. *Photomedicine and Laser Surgery*. 22(6):537–539. doi:10.1089/pho.2004.22.537.

Mochizuki-Oda N, Kataoka Y, Cui Y, Yamada H, Heya M, Awazu K. 2002. Effects of near-infra-red laser irradiation on adenosine triphosphate and adenosine diphosphate contents of rat brain tissue. *Neuroscience Letters*. 323(3):207–210. doi:10.1016/S0304-3940(02)00159-3. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394002001593>.

Moldovan F, Pelletier JP, Hambor J, Cloutier JM, Martel-Pelletier J. 1997. Collagenase-3 (matrix metalloproteinase 13) is preferentially localized in the deep layer of human arthritic cartilage in situ: In vitro mimicking effect by transforming growth factor β . *Arthritis and Rheumatism*. 40(9):1653–1661. doi:10.1002/art.1780400915.

Moosa Y, Esterhuyse DJ. 2010. Heliotherapy: A South African perspective. *South African Medical Journal*. 100(11):728–733. doi:10.7196/samj.4008.

Morgan JP, Wind A, Davidson AP, Audell L. 2000. Hereditary bone and joint diseases in the dog: osteochondroses, hip dysplasia, elbow dysplasia. *Schlütersche*.

Mort JS, Billington CJ. 2001. Articular cartilage and changes in arthritis matrix degradation. *Arthritis Research*. 3(6):337–341. doi:10.1186/ar325.

Moskowitz RW, Goldberg VM. 1987. Studies of osteophyte pathogenesis in experimentally induced osteoarthritis. *The Journal of rheumatology*. 14(2):311–320. <http://europepmc.org/abstract/MED/3598999>.

Musstaf RA, Jenkins DFL, Jha AN. 2019. Assessing the impact of low level laser therapy (LLLT) on biological systems: a review. *International Journal of Radiation Biology*. 95(2):120–143. doi:10.1080/09553002.2019.1524944.

Nagase H, Visse R, Murphy G. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research*. 69(3):562–573. doi:10.1016/j.cardiores.2005.12.002.

Nathan MI, Dumke WP, Burns G, Dill FH, Lasher G. 1962. Stimulated emission of radiation from GaAs p-n junctions. *Applied Physics Letters*. 1(3):62–64. doi:10.1063/1.1777371.

Norkin CC, White DJ. 2016. Basic Concepts. In: Norkin CC, White DJ, editors. *Measurement of joint motion: a guide to goniometry*. 5th ed. Philadelphia: F. A. Davis Company. p. 3-16

Notoya K, Jovanovic D v., Reboul P, Martel-Pelletier J, Mineau F, Pelletier J-P. 2000. The Induction of Cell Death in Human Osteoarthritis Chondrocytes by Nitric Oxide Is Related to the Production of Prostaglandin E 2 Via the Induction of Cyclooxygenase-2 . *The Journal of Immunology*. 165(6):3402–3410. doi:10.4049/jimmunol.165.6.3402.

O'Neill DG, Brodbelt DC, Hodge R, Church DB, Meeson RL. 2020. Epidemiology and clinical management of elbow joint disease in dogs under primary veterinary care in the UK. *Canine Medicine and Genetics*. 7(1). doi:10.1186/s40575-020-0080-5.

Pacifici M, Koyama E, Iwamoto M. 2005. Mechanisms of synovial joint and articular cartilage formation: Recent advances, but many lingering mysteries. *Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews*. 75(3):237–248. doi:10.1002/bdrc.20050.

Pallotta RC, Bjordal JM, Frigo L, Leal Junior ECP, Teixeira S, Marcos RL, Ramos L, de Moura Messias F, Lopes-Martins RÁB. 2012. Infrared (810-nm) low-level laser therapy on rat experimental knee inflammation. *Lasers in Medical Science*. 27(1):71–78. doi:10.1007/s10103-011-0906-1.

Paschotta R. 2016. Modes of laser operation. RP Photonics Consulting GmbH; [accessed 2021, Jul 26]. https://www.rp-photonics.com/modes_of_laser_operation.html

Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Tardif G, Martel-Pelletier J. 1996. The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes: Possible role in osteoarthritic cartilage degradation. *Osteoarthritis and Cartilage*. 4(1):77–81. doi:10.1016/S1063-4584(96)80009-4.

Prianti ACG, Silva JA, dos Santos RF, Rosseti IB, Costa MS. 2014. Low-level laser therapy (LLLT) reduces the COX-2 mRNA expression in both subplantar and total brain tissues in the model of peripheral inflammation induced by administration of carrageenan. *Lasers in Medical Science*. 29(4):1397–1403. doi:10.1007/s10103-014-1543-2.

Pritzker KP. 1994. Animal models for osteoarthritis: processes, problems and prospects. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 53(6):406–420. doi:10.1136/ard.53.6.406. <https://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/ard.53.6.406>.

Redondo MS, Stephens BJ. 2019. *Veterinary Laser Therapy in Small Animal Practice*. Sheffield, U.K: 5M Publishing Ltd

Reusing M, Brocardo M, Weber S, Villanova J. 2020. Goniometric Evaluation and Passive Range of Joint Motion in Chondrodystrophic and Non-Chondrodystrophic Dogs of Different Sizes. *VCOT Open*. 03(02):e66–e71. doi:10.1055/s-0040-1713825.

Riegel RJ. 2017. The History of Laser Therapy In: Riegel RJ, Godbold JC, editors. *Laser Therapy in Veterinary Medicine:Photobiomodulation*. 1st ed. American Institute of Medical Laser Applications; p1-6.

Riegel RJ, Godbold JC. 2017. Fundamental Information. In: Riegel RJ, Godbold JC, editors. *Laser Therapy in Veterinary Medicine: Photobiomodulation*. 1st ed. American Institute of Medical Laser Applications; p9-18.

Roberts DB, Kruse RJ, Stoll SF. 2013. The effectiveness of therapeutic class IV (10 W) laser treatment for epicondylitis. *Lasers in Surgery and Medicine*. 45(5):311–317. doi:10.1002/lsm.22140.

Rodrigues NC, Brunelli R, Abreu DCC, Fernandes K, Parizotto NA, Renno ACM. 2014. Morphological aspects and cox-2 expression after exposure to 780-nm laser therapy in injured skeletal muscle: An in vivo study. *Brazilian Journal of Physical Therapy*. 18(5):395–401. doi:10.1590/bjpt-rbf.2014.0057.

Sakurai Y, Yamaguchi M, Abiko Y. 2000. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *European Journal of Oral Sciences*. 108(1):29–34. doi:10.1034/j.1600-0722.2000.00783.x.

Samoy Y, van Ryssen B, Gielen I, Walschot N, van Bree H. 2006. Review of the literature. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 19(01):01–08. doi:10.1055/s-0038-1632965. <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0038-1632965>.

Santana-Blank L, Rodríguez-Santana E, Santana-Rodríguez KE. 2013. Photobiomodulation of aqueous interfaces: Finding evidence to support the exclusion zone in experimental and clinical studies. *Photomedicine and Laser Surgery*. 31(9):461–462. doi:10.1089/pho.2013.3583.

dos Santos SA, Alves ACA, Leal ECP, Albertini R, Vieira RDP, Ligeiro AP, Silva JA, de Carvalho PDTC. 2014. Comparative analysis of two low-level laser doses on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. *Lasers in Medical Science*. 29(3):1051–1058. doi:10.1007/s10103-013-1467-2.

Schaible H-G, Ebersberger A, Segond G, Banchet V. 2002. Mechanisms of Pain in Arthritis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 966: 343–354

Sekhejane PR, Houreld NN, Abrahamse H. 2011. Irradiation at 636 nm positively affects diabetic wounded and hypoxic cells in vitro. *Photomedicine and Laser Surgery*. 29(8):521–530. doi:10.1089/pho.2010.2877.

Shaw KK, Alvarez L, Foster SA, Tomlinson JE, Shaw AJ, Pozzi A. 2020. Fundamental principles of rehabilitation and musculoskeletal tissue healing. *Veterinary Surgery*. 49(1):22–32. doi:10.1111/vsu.13270.

Siegman AE. 1986. *Lasers*. Sausalito: University Science Books

Silveira LB, Prates RA, Novelli MD, Marigo HA, Garrocho AA, Amorim JCF, Sousa GR, Pinotti M, Ribeiro MS. 2008. Investigation of mast cells in human gingiva following low-intensity laser irradiation. *Photomedicine and Laser Surgery*. 26(4):315–321. doi:10.1089/pho.2007.2140.

Sloan M. 2018. *Red Light Therapy: Miracle Medicine*. 2nd ed. [place unknown]: EndAllDisease Publishing.

Smith GK, Gregor TP, Rhodes WH, Biery DN. 1993. Coxofemoral joint laxity from distraction radiography and its contemporaneous and prospective correlation with laxity,

subjective score, and evidence of degenerative joint disease from conventional hip-extended radiography in dogs. *American journal of veterinary research*. 54(7):1021–1042. <http://europepmc.org/abstract/MED/8368595>.

Smith GK, Mayhew PD, Kapatkin AS, McKelvie PJ, Shofer FS, Gregor TP. 2001. Evaluation of risk factors for degenerative joint disease associated with hip dysplasia in German Shepherd Dogs, Golden Retrievers, Labrador Retrievers, and Rottweilers. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 219(12):1719–1724. doi:10.2460/javma.2001.219.1719. <http://avmajournals.avma.org/doi/abs/10.2460/javma.2001.219.1719>.

Smith Jr. GN, Myers SL, Brandt KD, Mickler EA, Albrecht ME. 1999. Diacerhein treatment reduces the severity of osteoarthritis in the canine cruciate-deficiency model of osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 42(3):545–554. doi:10.1002/1529-0131(199904)42:3<545::AID-ANR20>3.0.CO;2-4. [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131\(199904\)42:3<545::AID-ANR20>3.0.CO;2-4](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1529-0131(199904)42:3<545::AID-ANR20>3.0.CO;2-4).

Smith KC. 2005. Laser (and LED) Therapy Is Phototherapy. *Photomedicine and Laser Surgery*. 23(1):78–80. doi:10.1089/pho.2005.23.78. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/pho.2005.23.78>.

Svelto O. 2010. Introductory Concepts. In: Svelto O. *Principles of Lasers*. 5th ed. Springer; p. 1-16

Tedford CE, Delapp S, Jacques S, Anders JJ. 2015. Quantitative analysis of transcranial and intraparenchymal light penetration in human cadaver brain tissue. *Lasers in Surgery and Medicine*. 47(4):312–322. doi:10.1002/lsm.22343.

Thinklaser: How to make a laser – the four basic elements [Internet]. 2012. *Remedy Health Media* [updated 2012 Jan 16; accessed 2021 Oct 13]. <https://www.practicalpainmanagement.com/treatments/complementary/lasers/class-iv-therapy-lasers-maximize-primary-biostimulative-effects>.

Thomovsky SA, Chen A v., Kiszonas AM, Lutskas LA. 2016. Goniometry and Limb Girth in Miniature Dachshunds. *Journal of Veterinary Medicine*. 2016:1–5. doi:10.1155/2016/5846052.

Tomaz de Magalhães M, Núñez SC, Kato IT, Ribeiro MS. 2016. Light therapy modulates serotonin levels and blood flow in women with headache. A preliminary study. *Experimental Biology and Medicine*. 241(1):40–45. doi:10.1177/1535370215596383.

Tomazoni SS, Leal-Junior ECP, Frigo L, Pallotta RC, Teixeira S, de Almeida P, Bjordal JM, Lopes-Martins RÁB. 2016. Isolated and combined effects of photobiomodulation therapy, topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and physical activity in the treatment of osteoarthritis induced by papain. *Journal of Biomedical Optics*. 21(10):108001. doi:10.1117/1.jbo.21.10.108001.

Tomazoni SS, Leal-Junior ECP, Pallotta RC, Teixeira S, de Almeida P, Lopes-Martins RÁB. 2017. Effects of photobiomodulation therapy, pharmacological therapy, and physical exercise as single and/or combined treatment on the inflammatory response induced by experimental osteoarthritis. *Lasers in Medical Science*. 32(1):101–108. doi:10.1007/s10103-016-2091-8.

Vaughan-Scott T, Taylor JH. 1997. The pathophysiology and medical management of canine osteoarthritis. 68:21–25.

Verzyl N, DeGroot J, Thorpe SR, Bank RA, Shaw JN, Lyons TJ, Bijlsma JWJ, Lafeber FPJG, Baynes JW, TeKoppele JM. 2000. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *Journal of Biological Chemistry*. 275(50):39027–39031. doi:10.1074/jbc.M006700200.

Volk SW, Kapatkin AS, Haskins ME, Walton RM, D'Angelo M. 2003. Gelatinase activity in synovial fluid and synovium obtained from healthy and osteoarthritic joints of dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 64(10):1225–1233. doi:10.2460/ajvr.2003.64.1225.

Wakabayashi H, Hamba M, Matsumoto K, Tachibana H. 1993. Effect of irradiation by semiconductor laser on responses evoked in trigeminal caudal neurons by tooth pulp stimulation. *Lasers in Surgery and Medicine*. 13(6):605–610. doi:10.1002/lsm.1900130603.

Wang P, Liu C, Yang X, Zhou Y, Wei X, Ji Q, Yang L, He C. 2014. Effects of low-level laser therapy on joint pain, synovitis, anabolic, and catabolic factors in a progressive osteoarthritis rabbit model. *Lasers in Medical Science*. 29(6):1875–1885. doi:10.1007/s10103-014-1600-x.

Wang X, Tian F, Soni SS, Gonzalez-Lima F, Liu H. 2016. Interplay between up-regulation of cytochrome-c-oxidase and hemoglobin oxygenation induced by near-infrared laser. *Scientific Reports*. 6. doi:10.1038/srep30540.

Weinberg JB, Fermor B, Guilak F. 2007. Nitric oxide synthase and cyclooxygenase interactions in cartilage and meniscus: Relationships to joint physiology, arthritis, and tissue repair. *Sub-Cellular Biochemistry*. 42:31–62. doi:10.1007/1-4020-5688-5_2.

Wieneke S, Gerhard C. 2018. Laser basics. In: *Lasers in Medical Diagnosis and Therapy*. IOP Publishing. (2053-2563). p. 1–1 to 1–36. <http://dx.doi.org/10.1088/978-0-7503-1275-2ch1>.

Woods A, Wang G, Beier F. 2007. Regulation of chondrocyte differentiation by the actin cytoskeleton and adhesive interactions. *Journal of Cellular Physiology*. 213(1):1–8. doi:10.1002/jcp.21110. <http://doi.wiley.com/10.1002/jcp.21110>.

Wu ZH, Zhou Y, Chen JY, Zhou LW. 2010. Mitochondrial signaling for histamine releases in laser-irradiated RBL-2H3 mast cells. *Lasers in Surgery and Medicine*. 42(6):503–509. doi:10.1002/lsm.20924.

Xavier M, de Souza RA, Pires VA, Santos AP, Aimbire F, Silva JA, Albertini R, Villaverde AB. 2014. Low-level light-emitting diode therapy increases mRNA expressions of IL-10 and type I and III collagens on Achilles tendinitis in rats. *Lasers in Medical Science*. 29(1):85–90. doi:10.1007/s10103-013-1280-y.

Xia B, di Chen, Zhang J, Hu S, Jin H, Tong P. 2014. Osteoarthritis Pathogenesis: A Review of Molecular Mechanisms. *Calcified Tissue International*. 95(6):495–505. doi:10.1007/s00223-014-9917-9.

Xu Y, Lin Y, Gao S, Shen J. 2018. Study on mechanism of release oxygen by photo-excited hemoglobin in low-level laser therapy. *Lasers in Medical Science*. 33(1):135–139. doi:10.1007/s10103-017-2363-y.

Yan W, Chow R, Armati PJ. 2011. Inhibitory effects of visible 650-nm and infrared 808-nm laser irradiation on somatosensory and compound muscle action potentials in rat sciatic

nerve: Implications for laser-induced analgesia. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 16(2):130–135. doi:10.1111/j.1529-8027.2011.00337.x.

Yuan GH, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. 2003. Immunologic intervention in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 48(3):602–611. doi:10.1002/art.10768.

Zaragoza C, Balbín M, López-Otín C, Lamas S. 2002. Nitric oxide regulates matrix metalloprotease-13 expression and activity in endothelium. *Kidney International*. 61(3):804–808. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00224.x.

Zhang R, Mio Y, Pratt PF, Lohr N, Wartier DC, Whelan HT, Zhu D, Jacobs ER, Medhora M, Bienengraeber M. 2009. Near infrared light protects cardiomyocytes from hypoxia and reoxygenation injury by a nitric oxide dependent mechanism. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46(1):4–14. doi:10.1016/j.yjmcc.2008.09.707. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.09.707>.

Zheng J ming, Chin WC, Khijniak E, Khijniak E, Pollack GH. 2006. Surfaces and interfacial water: Evidence that hydrophilic surfaces have long-range impact. *Advances in Colloid and Interface Science*. 127(1):19–27. doi:10.1016/j.cis.2006.07.002.

Zhou Y. 1984. Innovations. An advanced clinical trial with laser acupuncture anesthesia for minor operations in the oro-maxillofacial region. *Lasers in Surgery and Medicine*. 4(3):297–303. doi:10.1002/lsm.1900040311.

8. Anexos

Anexo 1 – Imagens da seleção das frequências utilizadas no tratamento com o LASER de Classe IV doctorVet V1

