

Overekspresi HSP70 oleh Makrofag karena Induksi *low-level laser* pada Luka Bakar

Vera Dewi Mulia, Troef Soemarno

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga
Surabaya

ABSTRAK

Latar belakang

Makrofag merupakan suatu komponen penting yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini dilakukan untuk meneliti pengaruh terapi *low level laser* (LLL) terhadap aktivasi makrofag dalam pelepasan *Heat Shock Protein* (HSP) 70 dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF) pada proses penyembuhan luka bakar pada kulit mencit.

Metode

Enam belas mencit dibagi dalam 2 kelompok dan dilakukan pembuatan luka bakar derajat 2 pada kulit punggung. Pada kelompok kontrol, luka bakar dioles dengan silver sulfadiazine (SSD) 1% secara topikal dan ditutup plaster. Pada kelompok perlakuan, luka bakar diterapi dengan *low level laser Therapy* (LLL) energi 4 J/cm², dioles dengan silver sulfadiazine 1% secara topikal dan ditutup plaster. Pada hari keempat dilakukan biopsi pada lesi luka bakar. Sediaan mikroskopik dibuat dan dipulas dengan pulasan HE dan teknik imunohistokimia.

Hasil

Analisa statistik dengan t-test pada makrofag penghasil HSP70 dan FGF antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Sedangkan, analisa statistik dengan Pearson-test pada makrofag penghasil HSP70 dan FGF antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol menunjukkan adanya hubungan positif dan perbedaan bermakna.

Kesimpulan

Low level laser therapy berperan dalam menginduksi aktivasi makrofag untuk menghasilkan HSP70 endogen dan FGF pada lesi luka bakar derajat 2 pada proses penyembuhan luka.

Kata Kunci : proses penyembuhan, lesi luka bakar derajat 2, *low-level laser* terapi, makrofag.

ABSTRACT

Background

Macrophages have been shown to participate in the wound healing process. This study is to investigate the effects of low-level laser therapy (LLL) on macrophages activation in producing Heat Shock Protein 70 (HSP70) and Fibroblast growth Factor (FGF) on the burn healing process of skin hamster.

Methods

Sixteen hamsters were divided into two groups and subjected to second degree burn lesion. In the control group, second degree burn lesion was applied topically with silver sulfadiazine (SSD) 1% and closed dressing. In the treatment group, second degree burn was treated with LLL at energy densities of 4J/cm², applied topically with silver sulfadiazine 1% and closed dressing. On the fourth days, a biopsy was performed on the burn lesion. Slide microscopic were made and staining with Hematoxylin Eosin (HE) and immunohistochemistry techniques.

Results

Statistical analysis with t-test on HSP70 and FGF producing macrophage between treatment and control group showed that a significantly differences. While analysis with Pearson-test on HSP70 and FGF producing macrophage between treatment and control group showed a positive correlation and significant differences.

Conclusion

Low-level laser therapy (LLL) roled on induced macrophages activation in producing endogenous HSP 70 and FGF on the second-degree burn lesion of the wound healing process.

Keywords: healing process, second degree burn lesion, low-level laser therapy, macrophage

PENDAHULUAN

Prinsip penanganan luka bakar adalah (1) penanganan nyeri, (2) pencegahan infeksi, (3) pencegahan trauma mekanik pada kulit, dan (4) pencegahan terjadinya sikatriks; serta pemulihan lesi.¹ Pada proses pemulihan jaringan akan terjadi aktivasi makrofag yang berperan penting.

Silver sulfadiazine (SSD) adalah suatu antibakterial dan antifungal yang digunakan dalam terapi luka bakar derajat dua dan tiga, yang merupakan suatu standar baku dalam pengobatan lesi luka bakar.² Penggunaan *silver sulfadiazine* (SSD) sering dikaitkan dengan pembentukan *pseudo eschar* dalam waktu dua sampai empat hari, sehingga menyebabkan bekas luka kering dan tidak menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri. Namun, kondisi tersebut dapat menghambat pemulihan jaringan epidermis karena dapat menyebabkan kerusakan lapisan jaringan di bawahnya; serta mempunyai efek toksik terhadap fibroblas dan keratinosit sebab fibroblas lebih sensitif terhadap silver dibandingkan dengan keratinosit.³

Low level laser therapy (LLLT) merupakan modalitas terapi yang akhir-akhir ini sangat populer. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa LLLT berperan dalam reaksi mediasi hipersensitifitas sel, proses inflamasi dan rasa nyeri, serta pemulihan luka.⁴ Peran LLLT dalam proses penyembuhan luka dapat terjadi melalui beberapa mekanisme respon seluler, diantaranya menginduksi ekspresi sitokin dan faktor pertumbuhan, dengan cara meningkatkan regulasi sitokin dan FGF yang berperan pada proliferasi fibroblas dan migrasi dari bFGF, HGF, dan SCF; serta meningkatkan VEGF, yang berperan penting dalam neovaskularisasi, dan TGF- β , yang berperan dalam menginduksi sintesa kolagen dari fibroblas.⁵ Sedang, penelitian lain menyatakan bahwa biostimulasi dari *low level laser* dapat mempercepat penyembuhan luka bakar dengan cara menstimulasi sintesa kolagen, sehingga dapat mempercepat kontraksi luka, meningkatkan *tensile strength*, mempercepat epitelisasi, mengurangi edema dan inflamasi, dan meningkatkan proliferasi miofibroblas.⁶

Makrofag merupakan sel kunci dalam perbaikan dermis; membantu pembesihan jaringan, melepaskan agen kemotaktik yang menstimulasi proliferasi fibroblas dan sel endotel, sekresi faktor pertumbuhan, serta sekresi laktat untuk menstimulasi sintesis kolagen.⁷

Namun, ternyata peran LLLT terhadap aktivasi makrofag pada proses penyembuhan luka bakar belum jelas. Penelitian ini difokuskan untuk memelajari pengaruh LLLT terhadap ekspresi aktivasi makrofag HSP70 dan FGF, karena induksi LLLT di mana penggunaan LLLT pada luka dapat menginduksi HSP70 yang diikuti dengan peningkatan ekspresi HSP70 dan menginduksi makrofag dalam mempercepat produksi faktor pertumbuhan.⁸ Salah satu faktor pertumbuhan yang dihasilkan makrofag adalah FGF, di mana faktor pertumbuhan ini juga merangsang proliferasi fibroblas yang rentan mengalami kerusakan karena SSD, dan mempercepat proses penyembuhan luka.⁹

Penelitian ini dilakukan untuk meneliti pengaruh terapi LLLT terhadap aktivasi makrofag dalam pelepasan HSP70 dan FGF pada proses penyembuhan luka bakar pada kulit mencit.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan suatu eksperimental laboratorik dengan menggunakan enam belas mencit jantan (*mus musculus*) galur BALB/c dengan berat badan 20-30 gram, umur 2-3 bulan yang dipelihara dalam kandang terpisah, makan dan minum secara *ad libitum*. Pada hari ke-1, Hewan coba dianestesi dengan injeksi intramuskular 50 mg/kgBB *ketamin hidroklorit* pada *muskulus kuadrisep*, kemudian dilanjutkan dengan pencukuran rambut di daerah punggung dan kulit didisinfeksi dengan larutan *povidon iodine*. Paku besi dengan pangkal berbentuk lingkaran dengan diameter 1 cm dipanaskan di dalam air mendidih selama 5 menit. Paku diambil dengan pinset dan ditempelkan pada kulit punggung hewan coba selama 10 detik.⁶ Setelah terbentuk luka bakar, mencit ditempatkan dalam 2 kandang yang berbeda sesuai kelompok. Pada kelompok K (kontrol), pembersihan luka bakar dilakukan dengan larutan NaCl 0.9% dan dioles salep *silver sulfadiazine* (SSD) 1% (Burnazin^e, Darya Varia) 2-3 mm dan ditutup, dengan kasa steril serta dibalut dengan plester (Ultrafix[®], Onemed). Pada kelompok P (treatment), pembersihan luka bakar dilakukan dengan larutan NaCl 0.9%; lalu disinari dengan laser semikonduktor AlGaInP (Kaxing GX-1000), dengan energi 4 J/cm², panjang gelombang 680 nm dan daya 6mWatt selama 60 detik; ditutup dengan kasa steril dan dibalut dengan plester. Perlakuan dilakukan satu

kali setiap hari selama 3 hari. Pada hari keempat, hewan coba dikorbankan dengan cara dekapitasi dan dilakukan biopsi pada lesi luka bakar ukuran 1x1 cm. Kemudian, dimasukkan dalam formalin buffer, dibuat sediaan blok paraffin, spescimen dipotong setebal 4 mikron, dibuat tiga buah sediaan yaitu untuk pewarnaan HE, HSP70 dan FGF. Pengecatan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal HSP70 menunjukkan ekspresi yang terlihat sebagai granula coklat pada inti dan sitoplasma (gambar 1), dan pengecatan imunohistokimia dengan antibodi monoklonal FGF menunjukkan ekspresi yang terlihat sebagai granula coklat pada sitoplasma dan membran (gambar 2). Perhitungan dilakukan secara visual diantara 3 peneliti secara blindness dengan memakai mikroskop cahaya dengan pembesaran 400X. Perhitungan dilakukan perlima lapang pandang secara random dengan menggunakan *grati-culae*. Semua prosedur diatas telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan.

HASIL

Uji normalitas terhadap rerata makrofag yang mengekspresikan HSP70 dan FGF dilakukan dengan menggunakan *t-test*. Hasil analisis menunjukkan data rerata makrofag yang mengekspresikan HSP70 dan FGF berdistribusi normal ($p > 0.05$).

Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis secara deskriptif yang menunjukkan rerata dan simpangan baku data nilai makrofag yang mengekspresikan HSP70 untuk kelompok kontrol (K) adalah 58.23 ± 15.50 , dan kelompok perlakuan (P) adalah 86.54 ± 5.89 (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata persentase makrofag pengeksresi HSP70 pada kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	n	Persentase makrofag Mengeksresi Hsp70			t-test
		x	SD	Min Maks	
SD	8	58,23	15,50	34,12 75,44	t=-4,827
SD+laser	8	86,54	5,89	78,99 95,37	p=0,001*

Keterangan : *signifikan pada $\alpha=0,05$

Tabel di atas menunjukkan persentase makrofag yang mengekspresikan HSP70 lebih tinggi pada kelompok perlakuan (P) dibandingkan kelompok kontrol (K).

Uji beda dilakukan terhadap tiap kelompok dengan menggunakan *independent sample t-test* untuk melihat pengaruh perlakuan pada hari ke-4. Uji ini dilakukan dengan cara membandingkan rerata makrofag yang meng-

ekspresikan HSP70 pada tiap kelompok. Hasil *independent sample t-test* menunjukkan adanya perbedaan persentase makrofag yang mengekspresikan HSP70 antar kelompok perlakuan (P) dengan $p = 0.001$ ($p < 0.05$) (table 1).

Data hasil analisis deskriptif menunjukkan rerata dan simpangan baku data nilai makrofag yang mengekspresikan FGF untuk kelompok kontrol (K) adalah 45.68 ± 5.43 , dan kelompok perlakuan (P) adalah 75.03 ± 2.51 (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata persentase makrofag pengeksresi FGF pada kelompok perlakuan

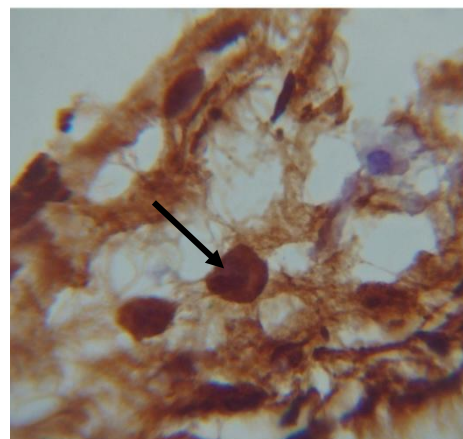
Kelompok Perlakuan	n	Persentase makrofag Mengeksresi FGF			t-test
		x	SD	Min Maks	
SD	8	45,68	5,43	36,59 54,08	t=-13,880
SD+laser	8	75,03	2,51	71,88 78,95	p=0,000*

Keterangan : *signifikan pada $\alpha=0,05$

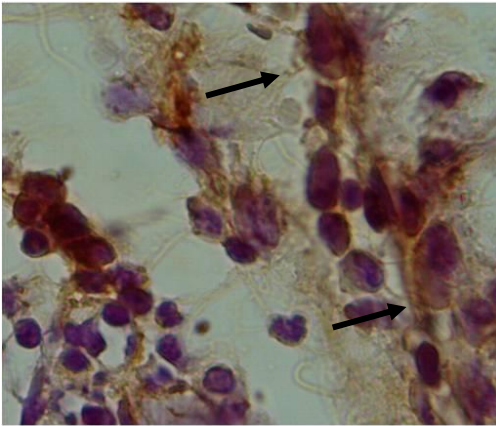
Tabel di atas menunjukkan persentase makrofag yang mengekspresikan FGF lebih tinggi pada kelompok perlakuan (P) dibandingkan kelompok kontrol (K).

Hasil *independent sample t-test* menunjukkan adanya perbedaan persentase makrofag yang mengekspresikan FGF antar kelompok perlakuan (P) dengan $p=0.000$ ($p < 0.05$) (tabel 2).

Hasil analisis dengan korelasi Pearson menunjukkan nilai $r=0.743$ dan $p=0.001$ ($p < 0.05$), hal ini menunjukkan ada hubungan positif antara persentase makrofag yang mengekspresikan HSP70 dengan FGF, yang berarti semakin tinggi persentase makrofag yang mengekspresikan HSP70 maka semakin tinggi pula persentase makrofag yang mengekspresikan FGF.



Gambar 1. Makrofag yang mengeksresi HSP70 (penunjuk panah) (IHK, 400x).



Gambar 2. Makrofag yang mengekspresi FGF (penunjuk panah) (IHK, 400x).

DISKUSI

Penyembuhan luka merupakan suatu proses biologi dan biokemikal yang kompleks.⁹ Pada penelitian histologis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan mekanisme proses penyembuhan luka antara luka bakar dan luka insisi pada kulit.⁷ Pemulihan luka terjadi dalam waktu 24 jam setelah jejas melalui emigrasi dan induksi proliferasi fibroblas dan sel endotel. Dalam 3 sampai 5 hari, muncul jenis jaringan khusus yang mencirikan terjadinya penyembuhan yang disebut jaringan granulasi. Gambaran histologiknya ditandai dengan proliferasi sel fibroblas dan kapiler baru didalam ECM yang longgar.¹⁰ Jaringan granulasi mulai terbentuk pada daerah luka 2-3 hari setelah terjadi luka. Makrofag yang teraktivasi akan mengeluarkan faktor pertumbuhan, yaitu DGF, TGF- β dan FGF yang berfungsi untuk menstimulasi proliferasi fibroblas, merangsang migrasi fibroblas ke daerah luka dan sintesis *glycosaminoglycan*, *proteoglycan* dan kolagen untuk pembentukan ECM.¹¹

Makrofag berperan penting untuk penyembuhan luka. Makrofag merupakan sel kunci dalam perbaikan dermis. Makrofag membantu debridemen jaringan, melepaskan agen kemotaktik yang menstimulasi proliferasi fibroblas dan sel endotel, sekresi faktor pertumbuhan, serta sekresi laktat untuk menstimulasi sintesis kolagen.⁶ Makrofag mensekresi faktor pertumbuhan dan sitokin terutama pada hari ketiga dan keempat yang penting untuk tahap proliferasi pada proses penyembuhan luka.¹² Hal inilah

yang mendasari lamanya waktu perlakuan terhadap mencit dalam penelitian ini.

Jejas/kerusakan yang luas pada epidermis menyebabkan pasien mudah terpapar lingkungan luar. Epidermis berperan sebagai pelindung dari sinar ultraviolet, dehidrasi dan infeksi. Karena itu diperlukan terjadinya percepatan penyembuhan luka. Beberapa modalitas terapi dapat diterapkan untuk mempercepat penyembuhan luka, salah satunya adalah terapi dengan *low level laser*.¹³

Low level laser Therapy (LLLT) adalah penyinaran dengan laser berkekuatan rendah. Efektifitas dari *low level laser* sangat ditentukan oleh absorpsi foton oleh jaringan dengan panjang gelombang tertentu.⁹ Dalam hal klinis, LLLT merupakan suatu modalitas terapi yang telah banyak digunakan karena efisien, non-invasif, mengurangi udem, nyeri dan inflamasi serta meningkatkan sirkulasi dan mempercepat proses penyembuhan luka.¹³ Penyinaran *low level laser* dapat mempercepat proses penyembuhan luka melalui perangsangan makrofag.⁴ Peneliti lain mengatakan bahwa terapi laser pada luka mekanik dan luka bakar dapat mempercepat penyembuhan luka dibandingkan dengan luka tanpa terapi laser.⁶ Sedang, penelitian lain menyatakan bahwa biostimulasi pada luka bakar menghasilkan pemulihan yang lebih cepat. Hal ini dibuktikan bahwa penggunaan LLLT dapat menstimulasi pemulihan jaringan (dermis) dan makrofag juga dapat distimulasi untuk melepaskan factor pertumbuhan dan substansi lain.⁵ Di samping itu, dilaporkan bahwa LLLT dapat meningkatkan ATP, angiogenesis, dan aktivitas anti apoptosis, dan *heat shock protein*, serta total antioksidan.¹⁴

Heat shock protein (HSPs) merupakan komponen penting yang berperan sebagai mekanisme pertahanan sel terhadap jejas maupun berbagai macam stres, sehingga melindungi sel dan jaringan dari kerusakan.¹⁵ Pelepasan faktor-faktor pertumbuhan yang lebih tinggi oleh makrofag karena pengaruh *low level laser* dikatakan ada hubungannya dengan sintesis suatu protein spesifik yang dikenal dengan *heat shock protein 70* (HSP70).^{8,15} Selain itu, aksi HSP70 dalam penyembuhan luka diperantarai oleh makrofag melalui peningkatan regulasi fungsi fagosit serta menginduksi makrofag dalam pelepasan sitokin dan faktor pertumbuhan.¹⁶ Ekspresi dari HSPs (salah satunya HSP70) pada neoepidermis jaringan

luka berhubungan dengan proliferasi, migrasi dan diferensiasi dari keratinosit. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi HSP70 juga dapat mengurangi efek toksik dari SSD topikal terhadap keratinosit, dimana keratinosit merupakan bagian utama dari epidermis yang berperan sebagai pelindung.¹²

ROS berperan sebagai sinyal molekular terhadap oksidasi dari protein terhadap fosfatase, kinase, oksidoreduktase dan pertukaran regulasi dari protein pada *signaling pathway*.¹⁷ ROS dihasilkan oleh NADPH oksidase selama sel mengalami stress untuk mengaktifasi *stress-response pathway* dan menginduksi mekanisme pertahanan.¹⁸ Pada saat sel mengalami stres fisik maka protein akan mengalami denaturasi yang menyebabkan *celular redox homeostasis* terganggu sehingga meningkatkan level ROS dan menginduksi kerusakan protein, keadaan ini menginduksi *heat shock factor 1*.¹⁸ Studi *in-vitro* menunjukkan bahwa peningkatan ROS dapat menginduksi HSP70.^{18,20} Pengaruh LLLT terhadap overekspresi HSP70 menyatakan bahwa pada saat penyerapan dari sinar laser maka akan terjadi transfer elektron sehingga menginduksi produksi dari *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan dan dapat menyebabkan kerusakan dari komponen sel.^{14,22}

Penggunaan antimikroba topikal penting untuk mencegah infeksi pada luka bakar. SSD topikal merupakan standar Baku dalam pengobatan topikal luka bakar dan berguna sebagai agen profilaksis atau terapi terhadap kolonisasi mikroorganisme yang dapat menghambat proses penyembuhan luka. Juga dilaporkan bahwa keratinosit dan fibroblas rentan terhadap kerusakan yang dapat mematikan saat terpapar dengan SSD.³ Namun, FGF dapat menstimulasi fibroblas sehingga dapat mengurangi efek toksik SSD topikal terhadap fibroblast.¹⁵

Tabel 1 menunjukkan ekspresi HSP 70 oleh makrofag pada kelompok P lebih tinggi dibanding kelompok K; artinya kelompok P yang menggunakan LLLT menunjukkan adanya pemulihan jaringan yang lebih baik, karena terjadinya pelepasan faktor-faktor pertumbuhan, yaitu makrofag (gambar 1). Hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa penggunaan LLLT berkekuatan rendah dapat mempercepat pemulihan luka bakar melalui perangsangan makrofag.^{4,5,6,20} Peneliti lain menyatakan bahwa terapi laser pada luka mekanik dan luka bakar dapat mempercepat

penyembuhan luka dibandingkan dengan luka yang diterapi tanpa laser.⁷ Peneliti lainnya menyatakan bahwa terapi laser dapat menginduksi ekspresi HSP70 sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka.^{20,22}

Sedangkan tabel 2 menunjukkan bahwa ekspresi FGF pada kelompok P lebih tinggi dibanding kelompok K; artinya factor pertumbuhan yang dihasilkan makrofag adalah FGF (gambar 2), yang juga berperan pada proliferasi fibroblast dan migrasi seperti proliferasi fibroblast, migrasi dari bFGF, HGF, dan SCF. Hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa makrofag yang teraktivasi akan mengeluarkan factor-faktor pertumbuhan, yaitu DGF, TGF- β dan FGF yang berfungsi untuk menstimulasi proliferasi fibroblas, merangsang migrasi fibroblas ke daerah luka dan sintesis *glycosaminoglycan*, *proteoglycan* dan kolagen untuk pembentukan ECM.^{6,9,11}

KESIMPULAN

Nilai makrofag pengekspresi HSP70 dan FGF lebih tinggi pada kelompok yang mendapatkan terapi *low level laser*, dan terdapat hubungan yang searah dan bermakna antara HSP70 dan FGF. Pemberian terapi *low level laser* dapat mempercepat proses penyembuhan luka melalui aktivasi HSP70 yang berperan sebagai proteksi dan induksi makrofag.

DAFTAR PUSTAKA

1. Moenadjat Y. Luka bakar: masalah dan tatalaksananya. 4th ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2009.
2. Wing L, Vincy S. Comparison of moist exposed burn ointment (MEBO) with silver uslfadiazine (Ag-S) for the treatment of deep burn injury [dissertation]. Hong Kong: Baptist University School of Chinese Medicine; 2004.
3. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing. *Burns*. 2007;33:139-48.
4. Dube A, Bansal H, Gupta PK. Modulation of macrophage structure and function by low level He-Ne laser irradiation. *Photochem Photobiol*. 2003;2:851-5.
5. Hamblin MR, Demidova TN. Mechanism of low level light therapy. *Proc.SPIE*. 2006;61:14001.

6. Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N, Taheri S, Rakhshan M. Effect of low level laser therapy on mast cell number and degranulation in third degree burns of rats. *J Rehabil Res Dev.* 2008; 45(6):931-8.
7. Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N, Taheri S, Rakhshan M. Effect of low level laser therapy on the healing of second degree burns of rats. *J Rehabil Res Dev.* 2005 Jan 8;78:171-7.
8. Jian-da Z, Cheng-qun L, Hui-qing X, Xin-min N, Yan-zhong Z. Increased expression of heat shock protein 70 and heat shock factor 1 in chronic dermal ulcer tissue treated with laser aided therapy. *Chin Med J.* 2008;121(14):1269-73.
9. Rezende SB, Ribeiro MS, Nunez SC, Garcia VG, Maldonado EP. Effect of a single near-infrared laser treatment on cutaneous wound healing: biometrical and histological study in rat. *Photochem Photobiol.* 2007 Mar 19;87:145-53.
10. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Tissue renewal, regeneration, and repair. 8th ed. Schmitt W, editor. Philadelphia (PA): Pathologic Basis of disease; 2010.
11. Tsiogianni AK, Moutsopoulos HM. Wound healing: immunological aspects. *Injury.* 2006;37(1):5-12.
12. Singer AJ, Richard AF, Clark. Cutaneous wound healing. *N Eng J Med.* 1999:738-46.
13. Terblanche U, Evans DH, Abrahamse H. Effect of low level laser therapy of human skin keratinocytes. *MTSA.* 2009;23(2):23-9.
14. Tafur J, Mills PJ. Low-intensity light therapy: exploring the role of redox mechanism. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26(4):323-5.
15. Korbelik M, sun J, Cecik I. Photodynamic therapy-induced cell surfaced expression and released of heat shock proteins: relevance for tumor response. *Cancer Res.* 2005;65: 1018-1026.
16. Kovalchin JT, Wang R, Wagh MS. In vivo delivery of heat shock protein 70 accelerates wound healing by up-regulating macrophage-mediated phagocytosis. *Wound Repair Regen.*2008;6;14:129-37.
17. Kim HJ, Hwang NR, Lee KJ. Heat shock responses for understanding diseases of protein denaturation. *Mol Cell.* 2007; 23:123-31
18. Suzuki N, Mittler R. Reactive oxygen species and temperature stress: a delicate balance between signaling and destruction. *Physiol Plant.* 2006; 126:45-51.
19. Gomer CJ, Ryter SW, Ferrario A. Photodynamic therapy-mediated oxidative stress induce expression of heat shock roteins. *Cancer Res.* 1996; 56:2355-60.
20. Zhang HJ, Doctrow SR, Oberley LW, Krejehl KC. Chronic antioxidant enzyme mimetic treatment differentially modulates hyperthermia-induced liver hsp70 expression with aging. *J Appl Physiol.* 2005;10:1-33.
21. Wilmlink GJ, Opalenik SR, Beckham JT, Abraham AA. Molecular imaging-assisted optimization of hsp70 expression during laser-induced thermal preconditioning for wound repair enhancement. *J Invest Dermatol.* 2009;129:205-16.
22. Silveira PCL, Silva LA, Tuon T, Freitas TP, Streck EL, Pinho RA. Effects of low-level laser therapy on epidermal oxidative response induced by wound healing. *Rev Bras Fisioter.* 2009; 13(4):281-7.