

EFEITO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA (ASGA, 904 nm) NA REPARAÇÃO ÓSSEA DE FRATURAS EM RATOS

EFFECT OF LOW-LEVEL LASER (GAAS, 904 nm) FOR BONE REPAIR ON FRACTURES IN RATS

Jorge Alfredo Léo¹, Alessanda da Cunha², Elias Félix de Oliveira³, Reuder Pereira Prado⁴

RESUMO

Objetivo: Analisar os efeitos do laser de baixa potência, AsGa – 904 nm, no reparo ósseo de fraturas de tíbias em ratos. **Métodos:** 40 ratos divididos em quatro grupos de 10 animais: grupo controle, sem fratura (GC); grupo com fratura, sem tratamento (GE II); grupo com fratura tratado com laser a 10J/cm² (GE III) e grupo com fratura tratado com laser a 15J/cm² (GE IV). A fratura foi realizada cirurgicamente e o tratamento teve duração de 45 dias, realizado em dias alternados. Finalizado o tratamento, os ratos foram submetidos à eutanásia e as tíbias tratadas foram radiografadas e submetidas a ensaios mecânicos de flexão em três pontos para avaliar a força máxima (N) para ruptura. **Resultados:** Os valores observados de força máxima (N) foram: grupo controle (GC) de 51,5N ± 7,9N; GE II de 17,2N ± 7,8N; GE III de 16,6N ± 12,1N e GE IV de 30,3N ± 7,8N. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle e os grupos experimentais e também entre o grupo experimental IV e os grupos experimentais II e III. Em relação às radiografias, foi observada a formação de calo ósseo em todos os grupos fraturados, indicando que passaram pelo processo normal de reparo tecidual. **Conclusão:** O grupo GE IV, submetido à terapia laser com dosagem de 15J/cm² obteve o maior valor para força máxima (N) entre os grupos experimentais, indicando a influência da maior dosagem do laser no reparo ósseo.

Descritores – Lasers; Fraturas Ósseas; Consolidação da Fratura

ABSTRACT

Objective: To analyze the effects of low-level laser therapy (GaAs, 904 nm) for bone repair on tibial fractures in rats. **Methods:** Forty rats were divided into four groups of 10 animals: control group without fracture (CG); fracture group without treatment (EG II); fracture group treated with laser at 10 J/cm² (EG III); and fracture group treated with laser at 15 J/cm² (EG IV). The fracture was produced surgically and the treatment lasted 45 days, done on alternate days. After treatment completion, the rats were sacrificed. The tibias were radiographed and subjected to mechanical three-point flexion tests in order to evaluate the maximum force (N) required to break them. **Results:** The observed maximum force values (N) were: control group (CG) of 51.5 N ± 7.9 N; EG II 17.2 N ± 7.8 N; EG III 16.6 N ± 12.1 N; and EG IV 30.3 N ± 7.8 N. There were statistically significant differences between the control group and the experimental groups and also between experimental group IV and the other experimental groups (II and III). Radiographs showed callus formation in all the fractured groups, thus indicating that they had undergone the normal tissue repair process. **Conclusion:** EG IV, which underwent laser therapy with a dosage of 15 J/cm², showed the highest maximum force value (N) among the experimental groups, thus demonstrating the influence of higher laser dosage on bone repair.

Keywords – Lasers; Fractures, Bone; Fracture Healing

INTRODUÇÃO

Uma fratura pode ser causada por doenças, traumas ou procedimentos cirúrgicos, por mecanismos diretos ou indiretos. Nos diretos, o osso é atingido ou atinge um objeto ou superfície dura, produzindo uma fratura

no mesmo local onde ocorreu o trauma. Já nos mecanismos indiretos, ocorre uma força de torção ou angulação, resultando em fratura no lugar onde acumulam as tensões ou onde o osso estiver mais frágil⁽¹⁾. Dada a alta incidência de fraturas decorrentes de acidentes automobilísticos, quedas e traumas esportivos, o estudo do

1 – Doutor e Docente do Curso de Fisioterapia da Universidade de Uberaba – UNIUBE – Uberaba, MG, Brasil.

2 – Mestre e Docente do Curso de Fisioterapia da Universidade de Uberaba – UNIUBE – Uberaba, MG, Brasil.

3 – Doutor e Docente do Curso de Fisioterapia e Medicina da Universidade de Uberaba – UNIUBE – Uberaba, MG, Brasil.

4 – Acadêmico do Curso de Fisioterapia da Universidade de Uberaba – UNIUBE – Uberaba, MG, Brasil.

Trabalho realizado na Universidade de Uberaba – UNIUBE, Uberaba, MG.

Correspondência: Rua Luís Abrão, 508, Bairro Olinda – 38055-720 – Uberaba, MG. E-mail: jorge.leo@uniube.br; jorgealeo@terra.com.br

Trabalho recebido para publicação: 20/05/2011, aceito para publicação: 20/07/2011

Os autores declaram inexistência de conflito de interesses na realização deste trabalho / The authors declare that there was no conflict of interest in conducting this work

Este artigo está disponível online nas versões Português e Inglês nos sites: www.rbo.org.br e www.scielo.br/rbort
This article is available online in Portuguese and English at the websites: www.rbo.org.br and www.scielo.br/rbort

processo de reparação óssea tem sido objeto de estudo em todo o mundo⁽²⁾.

Nem sempre a consolidação óssea ocorre de forma esperada, pode tornar-se irregular, com atraso na consolidação, podendo levar ao aparecimento da pseudoartrose⁽³⁾. Nesse sentido, diferentes recursos terapêuticos têm sido empregados visando acelerar o processo de reparação, assim como melhorar a qualidade da consolidação óssea⁽⁴⁾. Desta maneira, estudos têm sido realizados para se avaliar a influência da aplicação de correntes elétricas, ultrassom e *laser* no processo de reparação óssea⁽⁵⁾.

Tendo em vista os aspectos acima introduzidos, o presente estudo tem como objetivo analisar, por meio de ensaios mecânicos e exames radiológicos, os efeitos da radiação *laser* de baixa potência de arseneto de gálio (AsGa – 904nm) no reparo ósseo de fraturas de tíbias em ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto para esta pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Uberaba – UNIUBE, em reunião de 17/09/2009 (Ofício CEEA 141/2009).

Para este estudo foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar, com massa corporal média de $247,1 \pm 32,87$ gramas e 45 dias de vida.

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais contendo 10 animais cada: grupo controle (GC), sem fratura; grupo experimental II (GE II): os animais sofreram fratura de tibia direita por meio cirúrgico e não receberam tratamento até o dia da eutanásia; grupo experimental III (GE III): os animais sofreram fratura de tibia direita por meio cirúrgico, foram tratados com *laser* AsGa (arseneto de gálio – 904nm) com dose de 10J/cm²; grupo experimental IV (GE IV): os animais sofreram fratura de tibia direita por meio cirúrgico e foram tratados com *laser* AsGa (arseneto de gálio – 904nm) com dose de 15J/cm².

Antes do procedimento da fratura, os animais foram anestesiados com tiopental sódico com dose de 0,1mg para cada 100 gramas de massa corporal do animal e foi realizada a tricotomia da região anterior da perna e assepsia do local com polivinilpirrolidona-iodo 1%. Os animais receberam como antibioticoterapia aplicações de ampicilina (0,02mg/100g do animal), via intramuscular, de 12 em 12 horas, iniciando um dia antes ao dia da

realização das fraturas e perdurando até sete dias após a realização das mesmas.

Para atingir a tibia, foi realizada uma incisão cirúrgica de aproximadamente 1cm na região anterolateral; deu-se início a fratura na região do terço proximal à médio da tibia por perfuração e a finalização da fratura foi realizada por meio de lâmina de bisturi utilizada para “serrar” a tibia até que esta fosse dividida em dois fragmentos.

Após a fratura, a tibia foi estabilizada com agulha de 30mm por 0,8mm (Figura 1), a qual foi utilizada como haste intramedular. A partir do dia em que as fraturas foram realizadas, os animais receberam aplicações de Ketofen[®] (0,02mg/100g do animal), via intramuscular, de 24 em 24 horas, por três dias após a realização das fraturas, sendo utilizado como anti-inflamatório e analgésico.

Os animais dos grupos experimentais III e IV foram submetidos a 22 sessões de aplicação de laser arseneto de gálio (AsGa-904nm), com aparelho *Laserpulse Special Diamond* IBRA-LC904, com potência de 30mV, em dias alternados. O *laser* foi irradiado, pontualmente, em três pontos: na face anterior da perna sobre o foco da fratura, sendo um ponto no local da fratura, outro ponto 1cm acima e outro ponto 1cm abaixo (Figura 2).

Para controle radiológico e avaliação da evolução do reparo ósseo foram realizadas radiografias logo após a fratura, e no 15°, 30° e 45° dias do período pós-fratura realizadas com equipamento odontológico Dabi Atlante Spectro 70X na incidência perfil, com filme colocado abaixo da região lateral da tibia, e com distância colimador-perna de 8cm. Para a realização das radio-



Figura 1 – Tibia estabilizada com agulha utilizada como haste intramedular. Fonte: Universidade de Uberaba.



Figura 2 – Aplicação do *laser* arseneto de gálio (AsGa) na pata direita do animal. Fonte: Universidade de Uberaba.

grafias, os animais foram anestesiados com associação de 0,2mg/100g de cloridrato de xilazina e 0,2mg/100g de cloridrato de cetamina via intramuscular.

No 46º dia, os animais foram submetidos à eutanásia, utilizando-se tiopental sódico com dose de 2mg para cada 100g de massa corporal do animal. As tíbias foram dissecadas, as agulhas simulando hastes intramedulares retiradas e os ossos foram congelados a -27°C para posterior procedimento de ensaio mecânico. Para o ensaio mecânico, os ossos foram descongelados em 24 horas, permanecendo em refrigerador comum e mantidos em solução salina até o momento do teste, conforme descrito por Pessan *et al*⁽⁶⁾.

Os ossos foram posicionados em um acessório para a execução de ensaio mecânico destrutivo de flexão em três pontos, de maneira que a força imposta ao osso foi aplicada perpendicularmente ao foco da fratura.

Para este ensaio foi utilizada a Máquina Universal de Ensaio EMIC® modelo DL-3000 pertencente ao

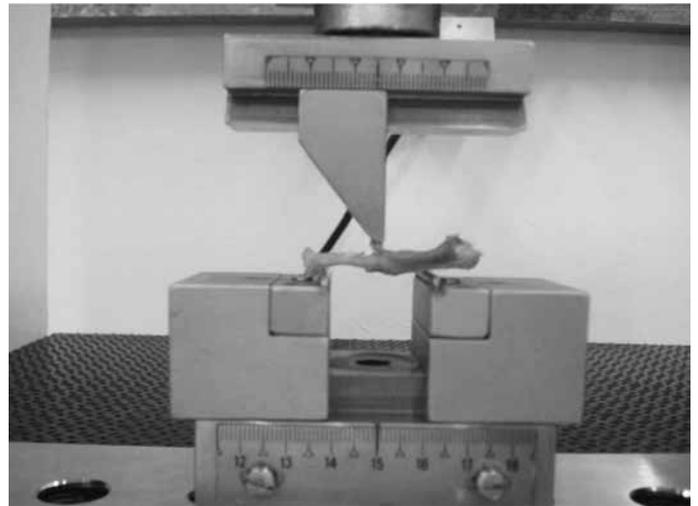


Figura 3 – Tíbia fraturada sendo submetida ao ensaio mecânico de flexão em três pontos. Fonte: Universidade de Uberaba.

Laboratório de Pesquisa em Materiais Odontológicos da Universidade de Uberaba, equipada com uma célula de carga Kratos® de 50kgf de capacidade. A máquina é ligada a um microcomputador equipado com um *software* capaz de captar os valores de carga e deformação durante os ensaios. Dentre os parâmetros do ensaio, foi padronizada uma velocidade de descida de 0,2mm/min. A força aplicada e o deslocamento foram monitorados e registrados por meio de um *software* próprio do equipamento, que forneceu também a curva força-deformação para cada ensaio (Figura 3).

O valor resultante de força máxima (N) foi registrado e foi o parâmetro considerado para este trabalho.

RESULTADOS

As Figuras 4, 5 e 6 correspondem a imagens radiográficas das tíbias direitas realizadas logo após cirurgia para obtenção da fratura (A), e no 15º (B), 30º (C) e 45º (D) dias.

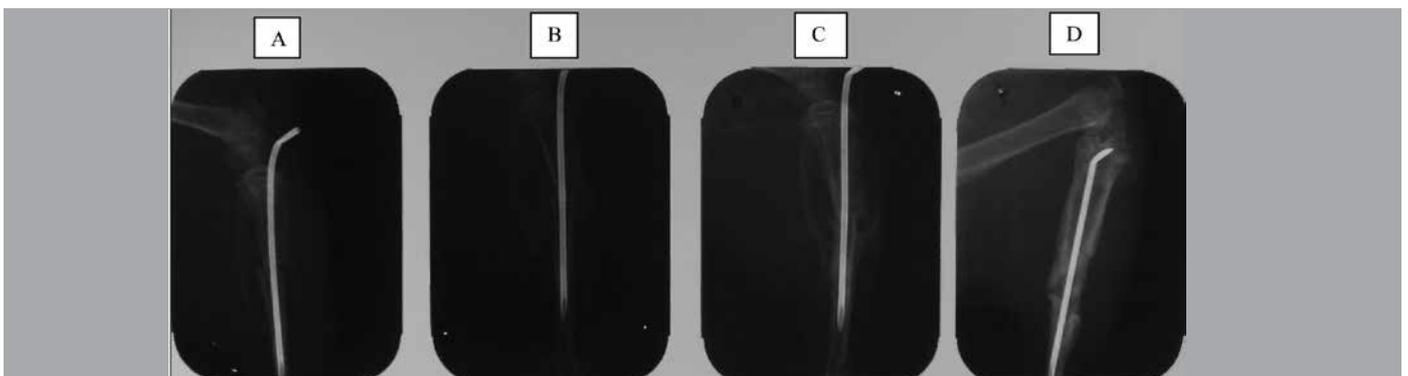


Figura 4 – Radiografias com incidência em perfil do grupo experimental II (GE II), sendo (A) logo após a fratura, (B) no 15º dia, (C) no 30º dia e (D) no 45º dia. Fonte: Universidade de Uberaba.

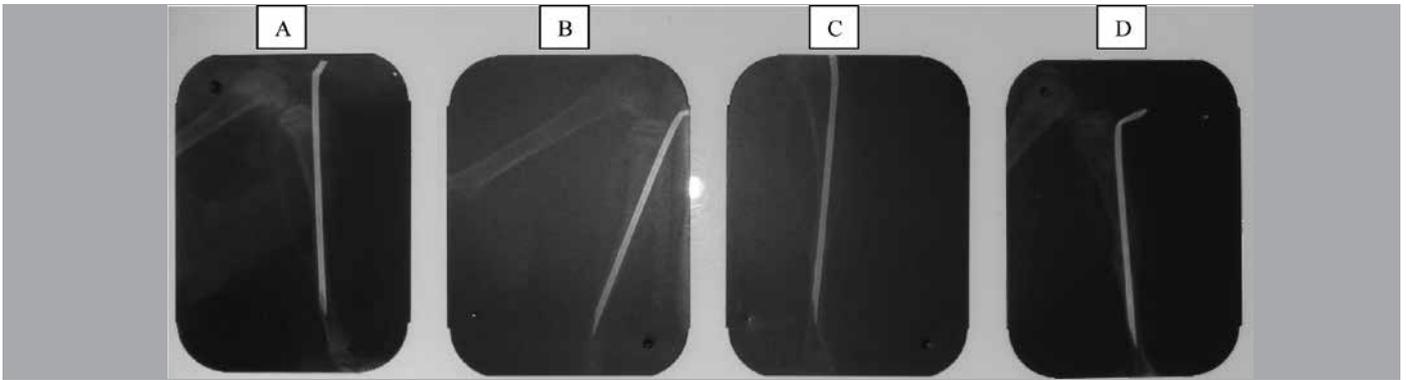


Figura 5 – Radiografias com incidência em perfil do grupo experimental III (GE III), sendo (A) logo após a fratura, (B) no 15º dia, (C) no 30º dia e (D) no 45º dia. Fonte: Universidade de Uberaba.

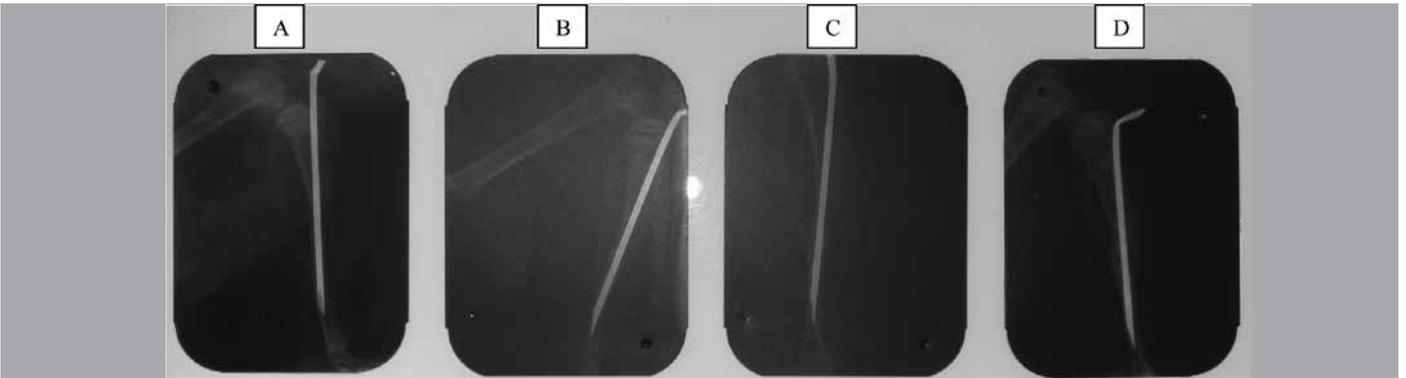


Figura 6 – Radiografias com incidência em perfil do grupo experimental IV (GE IV), sendo (A) logo após a fratura, (B) no 15º dia, (C) no 30º dia e (D) no 45º dia. Fonte: Universidade de Uberaba.

Percebe-se por meio das radiografias realizadas no 15º dia até a realizada no 45º dia a formação de calo ósseo em torno da região da fratura, em todos os grupos estudados, o qual aumentou gradualmente. Assim, sugere-se que teve início o processo de consolidação óssea, que é precedido pela formação de calo fibroso. Porém, não foi possível, por meio desta análise, qualificar e quantificar o processo de reparo ósseo comparando os diferentes grupos. Os dados da Figura 7 apresentam os resultados da média \pm DP dos valores das forças máximas (N) obtidas no ensaio mecânico de flexão em três pontos para cada grupo estudado, com os respectivos desvios padrão em cada grupo.

Verifica-se, por meio da análise, que houve diferença estatística significativa ao comparar os valores das médias de força máxima (N) entre os grupos experimentais e o grupo controle, evidenciando uma fratura efetiva. Ainda que realizada a estimulação com *laser*, os valores obtidos pelos grupos experimentais III e IV, comparados ao GC, indicaram que os ossos não retornaram ao nível de resistência encontrada nos ossos não submetidos à fratura.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais (GE II, GE III e GE IV), sendo os valores das médias das forças máximas (N) do grupo experimental IV, maiores.

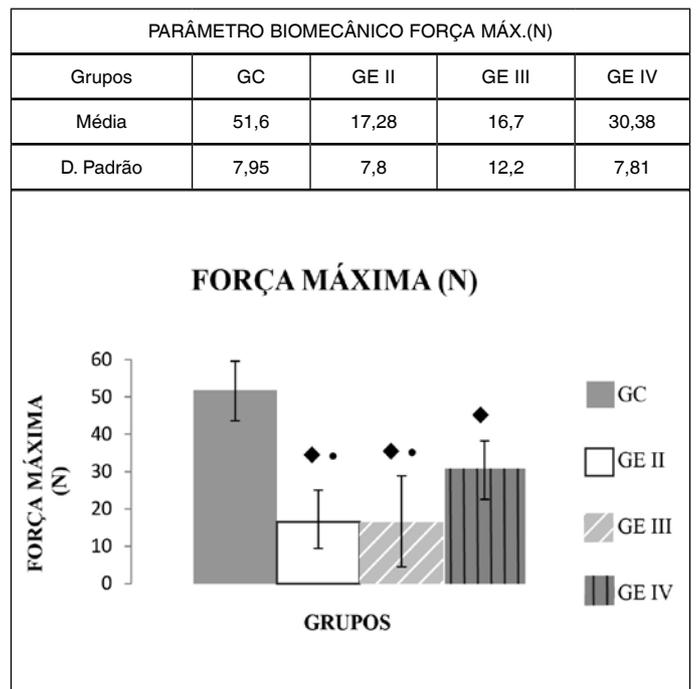


Figura 7 – Comparativo da média das forças máximas (N) entre os grupos. O símbolo ♦ representa diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais II, III e IV (GE II, GE III e GE IV) *versus* grupo controle (GC); o símbolo • representa diferença estatisticamente significativa entre o grupo experimental II (GE II) e grupo experimental III (GE III) *versus* grupo experimental IV (GE IV).

DISCUSSÃO

Para a realização deste estudo foram escolhidos como animais experimentais ratos da linhagem Wistar, por serem animais de fácil manuseio, baixo custo, necessitam de menos espaço e pela facilidade em adquirir por meio do biotério da Universidade de Uberaba. Foram escolhidos ratos machos para evitar as alterações ósseas geradas pelos hormônios sexuais femininos e manter um padrão de controle de aumento de massa corporal e crescimento linear e em espessura da tíbia⁽⁷⁾.

Os ossos, por serem responsáveis juntamente com os músculos pela sustentação, movimentação e proteção de órgãos vitais, estão constantemente sujeitos a esforços de tração, compressão, torção e flexão, sendo que, na maioria das vezes, suportam uma combinação desses esforços, o que torna útil e necessário o conhecimento sobre suas propriedades mecânicas para avaliação de sua integridade⁽⁸⁾.

Desde as observações de Galileo Galilei, tem-se assumido que a arquitetura óssea é influenciada pela tensão mecânica associada à sua função, e, a partir do século XIX, essa relação entre estrutura e função passou a ser conhecida como lei de Wolff, que tem seus princípios baseados no conceito de que há uma correlação entre os padrões de alinhamento trabecular e as direções de tensões que ocorrem na função⁽⁶⁾.

Sabe-se que medidas de densidade e força mecânica são importantes características quando avaliado o tecido ósseo. As diretrizes propostas pelo FDA (*Food and Drug Administration*) sugerem mensurar não somente a densidade óssea e marcadores bioquímicos do *turnover* ósseo, mas também a força óssea por teste biomecânico, teste que é reportado por diversos autores como uma das formas de se avaliar a consolidação óssea⁽⁹⁾.

Durante o ensaio mecânico de flexão de três pontos, a deformação na qual a força e o deslocamento são proporcionais fornece uma curva linear, denominada fase elástica da deformação. Esta deformação não é permanente, o que significa que quando a carga aplicada é retirada, o material retorna à sua forma original e permanece não lesado. A partir daí, se a força continuar a ser aplicada (força máxima), ocorre uma deformação permanente (fase plástica), que, por uma perspectiva atômica, corresponde à quebra de ligações entre trabéculas vizinhas; e mesmo com a remoção da força eles não retornam à sua posição original, conduzindo a lesões estruturais e, conseqüentemente, a fratura óssea⁽¹⁰⁾.

Neste trabalho, o ensaio mecânico de flexão em três pontos apresentou-se suficiente para a análise proposta,

por ser um ensaio de fácil aplicação e amplamente utilizado no meio científico.

Vários estudos reforçam o sucesso da terapia *laser* de baixa potência no tratamento de fraturas⁽¹¹⁻¹⁷⁾. Porém, apesar dos resultados positivos encontrados, os estudos utilizam tipos de aparelhos para emissão de radiação *laser* com diferentes comprimentos de onda, além de apresentarem doses e duração de tratamentos muito diferentes, dificultando a comparação dos mesmos e a padronização de um protocolo de tratamento.

As doses de 10J/cm² e de 15J/cm² foram escolhidas com base em estudos encontrados na literatura, sendo valores mais encontrados ou próximos aos mais encontrados^(13,15,17).

Foi fixado um tempo de tratamento total de 45 dias, em dias alternados, por ser o tempo médio necessário para consolidação do tipo de fratura de tíbia realizada neste trabalho⁽¹⁸⁾ e por meio do estudo piloto previamente realizado com diferentes tempos de tratamento, em que, no 45º dia foi observada melhor qualidade de consolidação óssea.

A avaliação biomecânica foi realizada por meio da comparação do parâmetro força máxima (N), evidenciando efeitos positivos no reparo das fraturas tratadas com radiação *laser* com dose de 15J/cm² no tempo estudado, sendo favoráveis para facilitação da formação do calo fibroso e, conseqüentemente, para facilitação do reparo tecidual ósseo. Estes resultados vêm de encontro aos observados por Liriani⁽¹⁶⁾, que verificou um valor maior de força máxima (N) no grupo tratado com radiação *laser* em relação ao grupo de animais fraturados e não irradiados.

Por outro lado, a radiação *laser* com dose de 10J/cm² não mostrou efetividade em acelerar o processo de reparo ósseo em fratura de tíbias de ratos, pois os valores de força máxima (N) obtidos no ensaio mecânico de flexão em três pontos não foram diferentes estatisticamente aos valores obtidos pelo grupo GE II.

Pinheiro *et al*⁽¹²⁾ encontraram efeitos positivos no realinhamento ósseo após irradiação com *laser* infravermelho de AsGaAl (830nm) e sugerem, baseados em trabalhos anteriores⁽¹⁹⁾, que células mesenquimais não diferenciadas foram bioestimuladas positivamente para se tornarem osteoblastos que mais rapidamente se tornaram osteócitos. Os mecanismos biológicos envolvidos na melhora do crescimento do tecido ósseo irradiado por *laser* de baixa potência ainda não são claramente entendidos. A hipótese defendida por Freitas⁽²⁰⁾, corroborada por outros trabalhos, é de que a energia do *laser* possa excitar as porfirinas e os citocromos (que são cromóforos intracelulares) e, desta maneira, induzir um aumento da atividade celular e conseqüente aumento da concentração

de ATP, liberando cálcio. Essas alterações morfológicas que ocorrem na estrutura óssea após a exposição à radiação *laser* podem vir a explicar o aumento da força máxima (N) no grupo tratado com 15J/cm², pois, com facilitação do realinhamento ósseo, maior número de células bioestimuladas em osteócitos e aumento na concentração de ATP e cálcio, os ossos provavelmente suportaram uma maior carga imposta à sua estrutura durante o ensaio mecânico de flexão em três pontos.

O intervalo de 15 dias entre cada radiografia foi utilizado neste trabalho para analisar a evolução do processo de consolidação óssea das fraturas, simulando a prática clínica de avaliação do reparo ósseo de fraturas.

A análise radiográfica demonstrou formação de calo ósseo em todos os ossos fraturados, independente de ser um grupo irradiado ou não. Porém, esta análise não foi suficiente para quantificar o processo de reparo ósseo comparando os diferentes grupos, visto que todos os grupos apresentaram a formação de calo ósseo de maneira semelhante.

Sugerem-se novos estudos analisando as demais propriedades mecânicas como deflexão (mm) e rigidez (N/m) do osso, assim como análise da densidade óssea, que podem complementar os resultados encontrados neste estudo.

Finalizando, acreditamos na necessidade de mais estudos sobre os efeitos da terapia *laser* de baixa potência

sobre todo processo de reparo ósseo, principalmente analisando o efeito do *laser* em nível celular e biomolecular, visando estabelecer um protocolo eficaz para tratamento de fratura óssea, com base em parâmetros evidenciados cientificamente.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir com este estudo que a terapia *laser* de baixa potência mostrou resultado positivo no processo de reparo ósseo de fratura em tíbia de ratos, aumentando a força máxima suportada pelo grupo tratado com dose de 15J/cm².

Foi observado também que a dose de 10J/cm² não se mostrou eficaz em acelerar o processo de reparo ósseo em fraturas, evidenciando que o reparo ósseo tecidual é dose-dependente, e que doses mais altas parecem ser mais eficazes para estimular o processo de reparo ósseo.

Uma nova metodologia foi estabelecida para realização de cirurgia, visando obtenção de fratura para realizar estudos em lesões ósseas.

O ensaio mecânico de flexão em três pontos mostrou-se eficiente para analisar a propriedade mecânica estudada (força máxima para ruptura) nos grupos controle e experimentais.

REFERÊNCIAS

- Gabriel MRS. Fisioterapia em traumatologia, ortopedia e reumatologia. Rio de Janeiro: Revinter; 2001.
- Pinheiro AL, Limeira Júnior Fde A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J.* 2003;14(3):177-81.
- Guarniero R, Vaz CES, Santana PJ, Molin ED, Braum J, Harada MS. Avaliação do efeito do ibandronato na consolidação de fratura: estudo experimental em coelhos. *Rev Bras Ortop.* 2007;42(8):254-60.
- Carvalho DCL, Rosin GC, Gama LOR, Tavares MR, Tribioli RA, Santos IR, Cliquet Júnior A. Non-pharmacological treatments in the stimulation of osteogenesis. *Rev Saude Publica.* 2002; 36(5):647-54.
- Liriani APR.; Lazaretti-Castro M. Evidences of physical agents action on bone metabolism and their potential clinical use. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005;49(6):891-896.
- Pessan VJO, Volpon JP, Shimano AC. Ensaio mecânico de flexão nas faces côncava e convexa da diáfise do fêmur de ratas. *Rev Bras Ortop.* 1996;31(7):600-4.
- Carvalho DCL. Ação do ultra-som de baixa intensidade em ossos de ratas osteopênicas [dissertação]. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo; 2001.
- Guagnelli RS. Propriedades mecânicas do osso esponjoso e cortical do rato, após período de imobilização por aparelho gessado ou pela cauda [dissertação]. Ribeirão Preto: Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo; 2006.
- Delgado-Martínez AD, Martínez ME, Carrascal MT, Rodríguez-Avial M, Munuera L. Effect of 25-OH-vitamin D on fracture healing in elderly rats. *J Orthop Res.* 1998;16(6):650-3.
- Phillips RW. Skiner materiais dentários. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993.
- Silva Júnior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg.* 2002;20(2):83-7.
- Pinheiro ALB, Oliveira, MG, Martins, PPM, Ramalho LMP, Oliveira MAM, Novaes Júnior A, et al. Biomodulatory effects of LLLT on bone regeneration. *Photomed Laser Surg.* 2001;13(1):73-9.
- Nicola RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MT, dos Reis LM, Zângaro RA. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci.* 2003;18(2):89-94.
- Marino JAM, Taciro C, Zuanon JAS, Benatti Neto C, Parizotto NA. Efeito do LASER terapêutico de baixa potência sobre o processo de reparação óssea em tíbia de ratos. *Rev Bras Fisioter.* 2003;7(2):167-73.
- Cerqueira A, Silveira RL, Oliveira MG, Sant'ana Filho M, Heitz C. Bone tissue microscopic findings related to the use of diode laser (830 nm) in ovine mandible submitted to distraction osteogenesis. *Acta Cir Bras.* 2007;22(2):92-7.
- Liriani APR. Estudo comparativo dos efeitos do ultra-som e do LASER de baixa intensidade no reparo ósseo de tíbia de rato [dissertação]. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo; 2004.
- Pes JV, Mazzanti A, Silveira AF, Agne JE, Ros DL, Trichez, KV. LASER arseneto de gálio na estimulação da osteogênese. *Fisioter Bras.* 2007;8(5):313-316.
- Hebert S. Ortopedia e traumatologia: princípios e prática. Porto Alegre: Artes Médicas; 2009.
- Pinheiro ALP, Frame JF. Laser em odontologia: seu uso atual e perspectivas futuras. *Rev Gaucha Odontol.* 1992;40(5):327-32.
- Freitas IGF. Ação do LASER de HeNe na osteogênese [tese]. Campinas: Departamento de Semicondutores, Instrumentos e Fôtonica Faculdade de Engenharia Elétrica e Computação da Universidade Estadual de Campinas; 2001.