

**UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA  
INSTITUTO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO**

**LEANDRO VIEIRA DE LANDA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE TERAPIA COM LASER DE  
BAIXA POTÊNCIA E TERAPIA ULTRA-SÔNICA NA  
PROMOÇÃO DA OSTEOGÊNESE EM RÁDIO DE COELHO**

**São José dos Campos, SP  
2005**

**LEANDRO VIEIRA DE LANDA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE TERAPIA COM LASER DE  
BAIXA POTÊNCIA E TERAPIA ULTRA-SÔNICA NA  
PROMOÇÃO DA OSTEOGÊNESE EM RÁDIO DE COELHO**

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia, da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Acosta Avalos  
Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roxo Barja

**São José dos Campos, SP  
2005**

L24e

Landa, Leandro Vieira de

Estudo comparativo entre terapia laser de baixa potência e terapia ultra-sônica na promoção da osteogênese em rádio de coelho/ Leandro Vieira de Landa. São José dos Campos: Univap, 2005.  
54f.: il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2005.

I. Terapia a laser de baixa intensidade 2. Terapia por Ultra-som 3. Osteogênese 4. Fisioterapia I. Avalos, Daniel Acosta, Orient. II. Barja, Paulo Roxo, Co-Orient. III. Título

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiadores ou transmissão eletrônica.

Assinatura do aluno:



Data: 31/04/05

**“Estudo comparativo entre terapia com laser de baixa potência e terapia ultra-sônica na promoção da osteogênese em rádio de coelho”**

Leandro Vieira de Landa


Banca Examinadora:

Profa. Dra. RENATA AMADEI NICOLAU (UNIVAP) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. DANIEL ACOSTA AVALOS (UNIVAP) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. PAULO ROXO BARJA (UNIVAP) \_\_\_\_\_

Prof. Dr. DENISE LOUREIRO VIANA (UNICID) \_\_\_\_\_

  
Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco  
Diretor do IP&D - Univap  
São José dos Campos, 14 de abril de 2005.

## **DEDICATÓRIA**

A minha esposa Danielli, que sempre esteve ao meu lado, nos principais momentos de minha vida, dando-me todo amor incentivo e apoio para seguir em frente.

Aos meus pais pelo amor e carinho eterno.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, fonte de vida e sustento.

Ao Professor Dr. Daniel Acosta Avalos, orientador deste trabalho, pela amizade, dedicação, disposição e muita conversas esclarecedoras, que muito enriqueceram este trabalho.

Ao Professor Dr. Paulo Roxo Barja, co-orientador deste trabalho, pela sua gentileza e auxílio.

A Professora S fora Vieira da Silva Gouveia de Barros, cirurgiã do Hospital Veterinário da UVV, pela sua dedica o, paciência, amizade e por sua grandiosa habilidade cirúrgica durante todos os procedimentos.

Ao meu amigo Rodrigo Marçal Pereira, pelo seu companheirismo durante toda está caminhada.

Aos professores da Bioengenharia pelo conhecimento transmitido, aos funcionários, colegas e alunos da bioengenharia pela agradável companhia.

Aos funcionários do Hospital Veterinário e do biotério da UVV.

## RESUMO

Vários estudos têm avaliado os efeitos do ultra-som e da radiação laser de baixa intensidade no reparo ósseo. No entanto, são escassas as comparações entre essas duas modalidades terapêuticas. O presente estudo teve como objetivo analisar os efeitos do ultra-som e do laser de baixa intensidade na osteogênese de rádio de coelhos submetidos à perfuração óssea padronizada. Os coelhos foram divididos em três grupos, cada um com 6 animais, e cada grupo denominado como grupo I (tratamento com laser), grupo II (tratamento com ultra-som) e grupo III (grupo controle). No grupo I foi utilizado um laser de diodo AsGa com densidade de energia de  $15 \text{ J/cm}^2$ , com o tempo de aplicação de 300 segundos; no grupo II foi utilizado o ultra-som de frequência de 1 Mhz com modulação de frequência 16 Hz, ciclo de pulso 20%, utilizando a intensidade de  $0,5 \text{ W/cm}^2$ , com tempo de aplicação de 60 segundos. Ambas terapias foram usadas durante 21 dias. As fraturas foram monitoradas ao longo dos dias através de exame radiográfico, e avaliadas visualmente e através da transmitância na região óssea sadia e na região da perfuração na chapa radiográfica, analisando de forma indireta a densidade óssea em função do tempo. Esta avaliação quantitativa permitiu a comparação entre os grupos e verificou-se que o grupo laser obteve melhores resultados na osteogênese em relação aos outros grupos. Pode-se concluir que a terapia com laser promoveu aceleração do processo de osteogênese no vigésimo primeiro dia pós-cirúrgico no modelo experimental utilizado neste estudo.

Palavras-chave: Laser, ultra-som, osteogênese.

## ABSTRACT

Lots of studies have analysed the effects of therapies with ultrasound and low intensity laser radiation in bone reparation. But there are few comparisons between those therapeutical modalities. This study has the objective of analyse the effects of ultrasound and low intensity laser therapies in the osteogenesis of rabbit radio bones submitted to standard drilling. The rabbits were divided in three groups, each one with six animals, and each group denominated as group I (laser treatment), group II (ultrasound treatment) and group III (control). In the group I was used an AsGa laser diode, with energy density of  $15 \text{ J/cm}^2$ , with time application of 300 seconds; in the group II was used a ultrasound of 1 MHz frequency, with frequency modulation of 16 Hz, pulse cicle of 20%, with intensity of  $0,5 \text{ W/cm}^2$ , and time application of 60 seconds. Both therapies were used by 21 days. Fractures were monitored as function of days through radiographic exame, and evaluated visually and with the transmittance in the drilled bone region relative to the one of bone in good conditions, in the radiographic sheet, analyzing indirectly the bone density in function of time. This quantitative evaluation permit the comparison between the groups and was verified that the laser treatment had the better results in osteogenesis when compared to the other groups. It can be concluded that laser therapy was capable to accelerate the osteogenesis proces in twenty one days after the drilling surgery in the experimental model used in this study.

Keywords: laser, ultrasound, osteogenesis.



## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1-** Animal do Grupo I recebendo o tratamento com o laser AsGa no rádio perfurado.

**Figura 2-**Animal do Grupo II recebendo o tratamento com ultra-som no rádio perfurado.

**Figura 3-** Demonstração da captação da intensidade transmitida do laser passando pela chapa radiográfica.

**Figura 4 -** Demonstração da incidência do laser na chapa radiográfica.

**Figura 5-** Box plot, semana zero.

**Figura 6-** Box plot, semana um.

**Figura 7-** Box plot, semana dois.

**Figura 8-** Box plot, semana três.

**Figura 9-** Demonstração da taxa de variação entre o crescimento ósseo e função semana.

## **LISTA DE QUADROS**

**Quadro 1-** Distribuição dos diferentes equipamentos com os seus respectivos comprimentos de onda e ações. (GUIRRO; GUIRRO, 2002).

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1-** Avaliação radiográfica visual da fratura nos coelhos do grupo I(Laser).

**Tabela 2-** Avaliação radiográfica visual da fratura nos coelhos do grupo II(Ultra-som).

**Tabela 3-** Avaliação radiográfica visual da fratura nos coelhos do grupo III(Controle).

**Tabela 4.** Parâmetros estatísticos da semana zero.

**Tabela 5.** Parâmetros estatísticos da semana um.

**Tabela 6.** Parâmetros estatísticos da semana dois.

**Tabela 7.** Teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer.Semana dois.

**Tabela 8.** Parâmetros estatísticos da semana três.

**Tabela 9.** Teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer. Semana três.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**ATP:** trifosfato de adenosina

**GaAs:** Arseneto de gálio

**GaAsAl:** Arseneto de gálio e Alumínio

**HeNe:** Hélio Neônio

**J:** Joule

**nm:** Nanômetro

**mW:** Miliwatts

**W:** Watts

**W/cm<sup>2</sup>:** Watts por centímetro quadrado

**MHz:** Mega hertz

**Hz:** Hertz

**TLBP:** Terapia a laser de baixa potência

**LBP:** Laser de baixa potência

**UV:** Ultravioleta

**LILT:** Terapia Laser de Baixa Intensidade

**mg/Kg:** Miligrama por kilograma

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Objetivo .....</b>	<b>2</b>
<b>3. Tecido ósseo.....</b>	<b>3</b>
<b>4. Laserterapia .....</b>	<b>9</b>
<b>5. Terapia Ultra-Sônica .....</b>	<b>18</b>
<b>6. Material e métodos .....</b>	<b>23</b>
<b>6.1 Animais .....</b>	<b>23</b>
<b>6.2 Pré-operatório .....</b>	<b>23</b>
<b>6.3 Intervenção cirúrgica.....</b>	<b>23</b>
<b>6.4 Grupos de estudo .....</b>	<b>24</b>
<b>6.5 Avaliação radiográfica.....</b>	<b>26</b>
<b>6.6 Avaliação da intensidade transmitida .....</b>	<b>26</b>
<b>6.7 Análise matemática dos dados .....</b>	<b>27</b>
<b>6.8 Análise estatística entre os grupos .....</b>	<b>29</b>
<b>7. Resultados .....</b>	<b>30</b>
<b>7.1 Avaliação radiográfica visual.....</b>	<b>30</b>
<b>7.2 Análise matemática dos dados .....</b>	<b>31</b>
<b>7.3 Análise estatística entre os grupos .....</b>	<b>37</b>
<b>8. Discussão .....</b>	<b>40</b>
<b>9. Conclusão .....</b>	<b>42</b>
<b>Referências .....</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O reparo tecidual é observado em uma variedade de tecidos biológicos, podendo ser considerado como um dos mecanismos primários de sobrevivência (LIZARELLI; LAMANO, 1999). Um dos tecidos com maior capacidade de reparação é o tecido ósseo, exibindo um potencial de regeneração capaz de restaurar perfeitamente sua estrutura original e suas propriedades mecânicas (SCHENK, 1996).

Fratura é uma palavra usada para conceituar qualquer tipo de lesão mecânica produzida num tecido ósseo. Esta lesão pode vir de uma pequena trinca sem deslocamento, perfuração até o rompimento completo e o esmagamento de todo o tecido ósseo. A consolidação normal de uma fratura é um processo biológico, denominado osteointegração devido à osteogênese, que é a formação de novo tecido ósseo.

O interesse neste estudo se deve, principalmente, aos fatores capazes de acelerar a osteogênese. Atualmente são usadas várias técnicas para acelerar o processo de osteogênese, dentre eles: ultra-som pulsado de baixa intensidade e laser de baixa potência (PILLA et al, 1990).

A utilização de alguns recursos na fisioterapia auxilia a acelerar o processo de osteogênese. O uso do ultra-som com frequência de 1 MHz, no modo pulsado e com intensidade entre 0,3 a 1,5 W/cm<sup>2</sup>, sugere-se a osteogênese, através dos efeitos mecânicos do ultra-som. O laser de baixa potência também tem o seu papel na recuperação do tecido ósseo, principalmente pelo seu efeito fotoquímico.

## **2. OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho é analisar e comparar os efeitos do ultra-som de baixa intensidade e do laser de baixa potencia na osteogênese de rádio de coelho.

### 3. TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é o constituinte principal do esqueleto, servindo como suporte para os tecidos moles e protegendo os órgãos vitais. É um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e material extracelular calcificado, a matriz óssea. O osso é altamente especializado sendo caracterizado por sua rigidez e resistência a pressão. Tal dureza resulta da interação entre o componente orgânico e o componente mineral da matriz, já que o osso é um grande depósito sobretudo de íons de cálcio e fosfato (STEVENS; LOWE, 2000).

Dentre os tipos celulares que compõem o tecido ósseo encontram-se:

- Osteoprogenitoras: Geralmente é considerada uma célula em repouso ou de reserva que pode ser estimulada para se transformar em um osteoblasto e produzir a matriz óssea. As células osteoprogenitoras também têm capacidade de dividir-se (ROSS; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000).
- Osteoblastos: Células que sintetizam a parte orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas) da matriz óssea. Secreta o colágeno e a substância fundamental que constituem o osso inicial não mineralizado ou *osteóide*. Também está associado à calcificação da matriz. Os osteoblastos no momento em que estão envolvidos completamente por matriz óssea dão origem aos osteócitos (ROSS; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000). A matriz óssea adjacente aos osteoblastos ativos e que não estão ainda calcificados recebe o nome de “tecido osteóide”, “pré-osso” ou “osso imaturo”.
- Osteócitos: São células localizadas em cavidades ou lacunas dentro de trabéculas ósseas no interior da matriz óssea. Cada lacuna contém apenas um osteócito. Estas células estão associadas à nutrição das trabéculas, possuindo estas,

prolongamentos citoplasmáticos que conectam umas às outras (ROSS; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000).

- Osteoclastos: Células que participam dos processos de reabsorção do tecido ósseo. São células gigantes e multinucleadas, extensamente ramificadas, derivadas da fusão de monócitos que atravessam os capilares sanguíneos. Os osteoclastos através da ação enzimática escavam a matriz óssea, formando depressões conhecidas como superfícies de reabsorção ou lacunas de Howship (ROSS; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000).

A matriz óssea compõe-se de duas partes. A inorgânica, composta de grande quantidade de íons fosfato, cálcio, de pequena quantidade de magnésio, potássio, citratos e bicarbonato. O cálcio e o fósforo formam os cristais de hidroxiapatita. A parte orgânica da matriz é formada por fibras colágenas (95%) e por pequena quantidade de substância fundamental amorfa (colágeno do tipo I). A associação de hidroxiapatita com as fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência do tecido ósseo. A mineralização consiste na deposição de íons inorgânicos, principalmente o fosfato de cálcio. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). A matriz óssea é, de maneira geral, o resultado da secreção de produtos pelas células ósseas (osteoblastos) e sua mineralização. É constituída por 33% de matriz orgânica, dos quais 28% é colágeno e os restantes 5% são proteínas não colágenas. A matriz é permeada por cristais de hidroxiapatita deficientes de cálcio que perfazem os 67% remanescentes (SCEENK, 1996).

O tecido ósseo frente às lesões tem uma capacidade de reparação. O mecanismo de reparação óssea em condições normais ocorre inicialmente por um aumento da atividade osteoblástica, formando rapidamente tecido ósseo imaturo, matriz orgânica, seguida pelo depósito de sais de cálcio. Os osteoblastos secretam colágeno e substância fundamental amorfa que constituem tecido ósseo não mineralizado, ou osteóide. Esta matriz colágena é passível de mineralização posterior.



A resposta do osso à fratura, perfuração, infecção, interrupção da fonte sanguínea e às lesões de expansão é relativamente limitada. O osso inerte deve ser reabsorvido, e o osso novo deve ser formado, ocorrendo crescimento de vasos sanguíneos na área envolvida (GUYTON, 1981; ROSS; ROMRELL, 1993).

Segundo Dahlin et al. (1996), os termos consolidação primária e secundária ou seus correlatos, cicatrização por primeira intenção ou segunda intenção, originam-se após muitos anos do estudo da cicatrização de feridas, de incisões na pele e tecidos adjacentes.

Na reparação por primeira intenção, células osteogênicas e endoteliais dos capilares morrem próximas da região lesionada do osso devido à interrupção da circulação. Os osteócitos que circundam os canais de *Havers*, também morrem. Nas regiões dos canais de *Havers* onde as células estão vivas, ocorre proliferação celular, crescimento celular e neoformação capilar. As células osteogênicas se transformam em osteoblastos que corroem os canais, alargando-os, enquanto outras células osteogênicas se transformam em osteoblastos e começam a reconstruir mais canais de *Havers*. Esse processo avança até a região da área agredida, passando a ser chamado de osso imaturo.

Na reparação por segunda intenção, inicialmente há uma formação do coágulo, que posteriormente se retrai. Em seguida ocorre uma reorganização do coágulo, realizada pela proliferação do tecido conjuntivo jovem, instalando-se um processo inflamatório agudo que se torna crônico no final da primeira semana.

Posteriormente, ocorre formação de tecido osteóide. A primeira semana é caracterizada pelo aumento das trabéculas de osteóide que se originam da periferia do defeito ósseo e vão preenchendo a cavidade em relação ao centro. O maior número de células e o volume reduzido de substância intercelular calcificada torna esse osso imaturo, mais radiolúcido que o maduro. Em consequência ocorre substituição do osso imaturo por tecido ósseo maduro, ou osso lamelar. Todo esse osso neoformado passará a ser remodelado, podendo esse processo ser observado radiograficamente ainda meses após a lesão (NYMAN et al, 1989).

Qualquer lesão óssea (fratura, defeito, fixação de implantes, perfuração, interrupção do suprimento sanguíneo) ativa a regeneração óssea local pela liberação de fatores de crescimento e indutores. O osso é uma das fontes mais ricas em fatores de crescimento. Entre os fatores de crescimento detectados no osso, alguns são produzidos pelas células ósseas, tais como: fator de crescimento semelhante à insulina, fator de crescimento de transformação, fator de crescimento de fibroblasto, fator de crescimento derivado de plaquetas enquanto outros fatores são sintetizados por tecidos ósseos relacionados (interleucina-1 {IL-1 } e o fator de necrose tumoral {FaNT}) (SCHENK, 1996).

A cicatrização óssea, independentemente do agente indutor da lesão no osso resulta em uma série de eventos. Portanto, uma fratura ou ainda a perfuração irá produzir uma resposta similar nos tecidos. Os eventos que ocorrem durante a cicatrização normal das feridas de tecidos moles também ocorrem durante o reparo ósseo, mas em contraste com os tecidos moles, osteoblastos e osteoclastos atuam na reconstrução e remodelação do tecido ósseo lesado (OLIVEIRA, 1999).

A fase inflamatória do reparo é caracterizada pela formação de um coágulo sanguíneo que envolve as superfícies ósseas no local da fratura, estendendo-se pelo periósteo e cavidades medulares próximas acompanhadas de edema. Instala-se, assim, um processo inflamatório agudo com grande mobilização de neutrófilos e macrófagos, provocado pela liberação de substâncias quimiotáticas, ou seja, substâncias que provocam uma migração celular para o local lesionado: substâncias exógenas como produtos bacterianos e substâncias endógenas como (1) componente do sistema complemento como o C5a; (2) produtos da via lipoxigenase como leucotrieno B<sub>4</sub>; e (3) as citocinas IL-8. Em seguida, inicia-se a remoção do coágulo das regiões necrosadas com osteócitos mortos que surgem nas superfícies ósseas da lesão, através da fagocitose, a qual divide-se em três processos: inicialmente os neutrófilos e os macrófagos reconhecem e englobam o agente agressor, então ocorre o englobamento com formação do vacúolo fagocitário e finalmente a destruição ou degradação do material ingerido. Os fenômenos identificados nesta fase da regeneração óssea são os mesmos referidos na fase exsudativa da regeneração da pele e das mucosas. O edema

inflamatório constitui a forma reacional própria de qualquer tecido, inclusive o ósseo, aos processos lesivos do meio ambiente. Portanto, na zona da lesão o edema inflamatório é a primeira manifestação do processo de cura no tecido ósseo. O coágulo constitui o suporte para a migração das células associadas com o processo da cicatrização. Ele é uma estrutura temporária, sendo substituído gradualmente pelo tecido de granulação, em seguida, torna-se organizado pela invasão de fibroblastos que crescem na rede de fibrina (ROBBINS, COTRAN, KUMAR, 1994).

A fase reparadora inicia-se com o aparecimento de um grande número de fibroblastos produtores de colágeno e responsáveis pela formação de um calo fibroso, no qual as fibras colágenas envolvem a região fraturada tentando oferecer o primeiro sistema de imobilização dos fragmentos. À medida que prossegue a ação dos macrófagos reabsorvendo coágulo e tecido ósseo necrosado, surge gradativamente uma nova rede capilar, oriunda das células endoteliais remanescentes dos vasos rompidos e das células mesenquimais indiferenciadas, invadindo a região do coágulo juntamente com fibroblastos e osteoblastos para a neoformação rápida de tecido ósseo no local fraturado, resultando em osso imaturo (SCHENK, 1996; OLIVEIRA, 1999).

As células osteoprogenitoras ou células de revestimento ósseo estão localizadas em geral nas vizinhanças dos vasos sanguíneos perto de uma superfície óssea podem ficar em repouso ou entrar em atividade para produzir osso, daí o nome osteoprogenitoras. Os canais vasculares no interior do osso compacto são continuações dos envoltórios de periósteo ou endósteo. Todos estes envoltórios englobam dois fatores importantes: potencial osteogênico e vascularização abundante, participando das atividades moderadoras e remodeladoras, como também no reparo ósseo (ROSS, ROMRELL, 1993; SCHENK, 1996).

A formação óssea depende de dois pré-requisitos indispensáveis: suprimento vascular amplo e suporte mecânico. Esta sempre se inicia por depósito de matriz osteóide que subsequente se mineraliza e o intervalo entre o depósito de matriz osteóide imatura e a mineralização é curta (um a três dias). Comparada ao osso imaturo,

a formação do osso maduro ocorre lentamente, podendo apresentar uma mineralização da matriz osteóide madura em torno de oito a 10 dias (SCHENK, 1996).

O osso imaturo é um tecido altamente celular e de formação rápida (30 a 50 $\mu$ m/dia ou mais). Quando comparado ao osso maduro, ele é relativamente pouco mineralizado, com fibras orientadas ao acaso e pouca resistência. É rapidamente substituído por osso maduro ou lamelar que é o principal suporte de cargas do esqueleto adulto, e tem formação relativamente lenta (0,6 $\mu$ m/dia) (TOREZAN, 1998).

O tecido ósseo exibe um potencial de regeneração restaura perfeitamente sua estrutura original e suas propriedades mecânicas, porém certas condições negativas devem ser levadas em consideração como: falha na vascularização, instabilidade mecânica e tecidos competidores com uma alta atividade de proliferação celular. Segundo Schenk (1992) a interrupção do suprimento sanguíneo causa necrose dos fragmentos e prejudica a união óssea. A perda dos fragmentos ou sua remoção cirúrgica provoca grandes defeitos, difíceis de serem preenchidos espontaneamente por osso. Por outro lado as células dos tecidos moles adjacentes podem proliferar mais rapidamente e ocupar o local do defeito mais rapidamente do que a taxa de crescimento ósseo.

## 4. LASERTERAPIA

O termo Laser consiste num acrônimo para Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (amplificação de luz por emissão estimulada de radiação), sendo este o princípio em que foi baseada sua criação (HERCH, 1987; TUNER;HODE, 1999).

A luz laser é diferente da luz comum por ser monocromática, o que significa que ela tem um só comprimento de onda, e pela coerência espacial.

Fontes de luz não-laser tipicamente irradiam de maneira uniforme para todas as direções. No entanto, o laser é altamente colimado (feixes de luz emitidos em paralelo), propriedade conhecida como coerência espacial (BAXTER et al, 1998).

Os lasers são divididos em lasers de alta e baixa potência. Os primeiros são destinados à remoção, corte e coagulação de tecidos, enquanto os lasers de baixa potência (LBP) são utilizados em processo de reparação tecidual. Os primeiros efeitos gerados pelo LBP nos tecidos têm natureza estimulatória, causando aumento do metabolismo celular e vascularização (BRUGNERA JUNIOR;PINHEIRO, 1998).

O laser de baixa potência (LBP) tem sido usado desde o final da década de 60, sendo a sua potência de radiação tão baixa (2 a 30 mW) que os efeitos biológicos ocorrem devido aos efeitos diretos da irradiação e não como resultado do aquecimento (GUIRRO ; GUIRRO, 2002).

Quando o laser interage com um tecido biológico, haverá uma absorção da radiação do LBP, gerando alterações de seu metabolismo tanto nos tecidos superficiais como nos profundos (GIESE 1980; SVAASAND, 1990; GENOVESE, 2000).

Sua capacidade de penetração não vai além de poucos milímetros, sendo que a sua energia é absorvida nos diferentes estratos da pele. As diferenças entre os

equipamentos de laser de baixa e alta intensidade são várias (GUIRRO; GUIRRO, 2002):

O laser de baixa intensidade tem um efeito cicatricial muito eficaz. Seu êxito se deve às particularidades de respostas que induz nos tecidos, como redução de edema, diminuição do processo inflamatório, aumento de fagocitose, da síntese de colágeno além de acelerar a cicatrização e regeneração.

A penetração da luz é assinalada por moléculas, os aminoácidos e ácidos nucléicos, assim como os cromóforos. Os aminoácidos têm alta absorção intermediária do espectro ultravioleta e também nos comprimentos de onda menores do ultravioleta; os ácidos nucléicos têm seu espectro de absorção nas mesmas faixas dos aminoácidos, além da região infravermelha, e os cromóforos, tais como a hemoglobina e a melanina absorvem luz na região visível do espectro (BAXTER, 1998).

Os efeitos fotobiológicos podem convencionalmente ser divididos naqueles de curto prazo ou direto e aqueles de longo prazo ou de resposta indireta à radiação. As respostas de curto prazo são aquelas em que o efeito pode ser observado poucos segundos ou minutos depois da irradiação. Os efeitos de longo prazo são observados horas ou ainda dias depois do final da irradiação. Entre a resposta de curto prazo estão a fotoestimulação da taxa respiratória e a síntese de ATP (KARU, 1998).

No transporte de elétrons mitocondriais, vão ser produzidos radicais livres e sua taxa de produção dependerá primariamente do estado metabólico da mitocôndria. Pela ativação do fluxo de elétrons na cadeia respiratória das células irradiadas com laser, pode-se esperar um aumento na produção de oxigênio. A mitocôndria possui um mecanismo para a reabsorção de oxigênio e este pode ser uma fonte de elétrons para a fosforilização oxidativa de ADP sob condições fisiológicas, estimulando a formação de ATP. O ATP estimulará a atividade enzimática para obter restauração dos processos fisiológicos (KARU, 1998).

O efeito fotoquímico ocorre devido à presença de fotorreceptores sensíveis a determinados comprimentos de onda. A absorção desses fótons por biomoléculas intracelulares específicas produz estimulação ou inibição de atividade enzimática e de reações fotoquímicas. Então estas ações determinarão mudanças fotodinâmicas em cadeias complexas e moléculas básicas relacionadas a processos fisiológicos com conotação terapêutica. A cadeia respiratória é, portanto, afetada pela luz visível de baixa intensidade. Isto explica satisfatoriamente a dependência da dose e do comprimento de onda no efeito estimulativo de tal radiação (KARU, 1998).

As respostas desencadeadas pela radiação laser nos tecidos biológicos estão relacionadas com o comprimento de onda, o regime de pulso e o nível de energia depositado, os quais vão desde os efeitos bioestimulantes até os cirúrgicos (Quadro 1).

**Quadro 1. Distribuição dos diferentes equipamentos com os seus respectivos comprimentos de onda e ações. P – Pulsado e C – Contínuo. (GUIRRO; GUIRRO, 2002, p.211).**

<b>MATERIAL</b>	<b>COMPRIMENTO DE ONDA</b>	<b>REGIME DE PULSO</b>	<b>INDICAÇÃO</b>
<b>CRISTAIS</b>			
Rubi	694 nm	P/C	Remoção de tatuagem e pêlos
Alexandrite	755 nm	P	Remoção de pêlos
Neodímio – YAG	1064 nm	P	Coagulação de tumores
Hólmio – YAG	2130 nm	P	Endodontia
Érbio – YAG	2940 nm	P	Peeling
<b>SEMICONDUCTORES</b>			
Al-Ga-InP	630 – 685 nm	C	Biomodulação
As-Ga-Al	780 – 870 nm	C	Biomodulação
As-Ga	904 nm	P	Biomodulação
<b>GASES</b>			
Exímeros	193, 248, 308 nm	P	Cirurgia vascular e oftálmica
Argon	350 – 514 nm	C	Cirurgia oftálmica e dermatológica
Vapor de cobre	578 nm	P/C	Cirurgia dermatológica
He-Ne	632,8 nm	C	Bioestimulante
CO <sub>2</sub>	10600 nm	P/C	Cirurgia dermatológica

O laser de baixa intensidade pode promover: maiores velocidades de cicatrização e reparo, aceleração da neoformação, maior formação de tecido de



granulação, maior número de fibroblastos, aumento da síntese de ATP (KITCHEN; PARTRIDGE, 1991; VEÇOSO, 1993).

A radiação laser de baixa potência tem apresentado efeitos positivos na melhora de fraturas ósseas em animais, baseado em medidas morfométricas, bioquímicas e radiográficas (LUGER et al., 1998).

A terapia laser de baixa potência acentua o reparo de defeitos ósseos. Em um estudo com 12 coelhos, pinos cilíndricos de hidroxiapatita foram parafusados distalmente em ambos os fêmures de cada animal. A partir do primeiro dia pós-operatório e por cinco dias consecutivos, o fêmur esquerdo dos animais recebeu tratamento laser AsGaAl (780 nm) e o fêmur direito recebia tratamento placebo. Quatro a oito semanas após a colocação do implante, análises histológicas e histomorfométricas avaliaram o contato. Os resultados mostraram uma melhor acentuação na interface osso-implante na cirurgia, com a utilização de laser de baixa potência (GUZZARDELLA et al., 2001).

Silva Junior et al. (2002) realizaram a avaliação computadorizada morfométrica de defeitos ósseos criados no terço médio de fêmures de ratos tratados com terapia laser de baixa potência. Eles concluíram que sob estas condições experimentais, a laserterapia de baixa potência aumentou o reparo ósseo em estágios precoces deste processo.

Marino (2003) investigou o efeito da Terapia Laser de Baixa Intensidade (TLBP) no reparo ósseo em tíbia de ratos e cita a existência de uma suposta ação modulatória sobre o processo inflamatório atribuída a TLBP. Possíveis ações como reabsorção mais rápida de exudatos, aumento da atividade fagocitária, contribuem para osteossíntese inicial mais ativa.

Lomnitskii e Biniashvskii (1983) estudaram o efeito de várias doses de radiação emitidas por laser de HeNe (632,4 nm) em 105 coelhos e os resultados obtidos sugeriram estímulo na osteogênese. Eles verificaram que a terapia a laser de baixa potência (TLBP) causava efeitos nas células osteoblásticas e na regeneração óssea. Os

autores inferiram que esta terapia ativa as células osteoblásticas e acelera seu desenvolvimento e a calcificação.

Trelles e Mayayo citado por Nicolau, 2001, observaram que o laser de HeNe (632,8 nm) com densidade de energia de  $2,4 \text{ J/cm}^2$  aplicado em dias alternados, num período de três semanas, auxiliava na reparação de fraturas ósseas. Esses autores detectaram aumento da largura trabecular, além de maior número de fibroblásticos nos calos ósseos irradiados quando comparados aos não irradiados.

Takeda citado por Nicolau, 2001, utilizou o laser de AsGa (904 nm) com densidade de energia de  $20 \text{ J/cm}^2$  e densidade de potência de  $25 \text{ mW/cm}^2$ , durante cinco minutos, em uma única aplicação, em animais com periodontite. O autor observou maior proliferação de fibroblastos nos animais irradiados, além de maior formação do tecido osteóide (osso neoformado).

Ozawa et al. (1998) verificaram a ação da irradiação de 500 mW com laser de AsGaAl (830 nm, 10 min com densidade de energia de  $3,82 \text{ J/cm}^2$ ) com irradiação nos dias 1, 6, 12 e 15 em várias culturas de osteoblastos de rato. Os resultados demonstraram que a irradiação promoveu maior proliferação celular e aumento da fosfatase alcalina, com a presença de células osteocalcina positivas mais altas no grupo irradiado. Este fato é importante porque essas células são precursoras dos nódulos ósseos. Foi percebida maior formação de nódulos ósseos nas culturas irradiadas, após 21 dias. Os autores ressaltaram dois pontos importantes neste estudo: um que houve a estimulação da proliferação celular de osteoblastos em estágios iniciais, outro é que a irradiação ocasionou estímulo na diferenciação celular, percebida pela maior diferenciação de células osteoblásticas e incremento na formação óssea.

De Tejada et al. (1990) estudaram o efeito da irradiação com laser de HeNe (632,8 nm) com potência de 6 mW, em fratura de fêmur de rato, através de análise ultra-estrutural e hormonal. Os resultados levaram os autores a concluir que a terapia a laser de baixa potência (TLBP) aumenta a vascularização e o rápido aparecimento de células osteogênicas.

Yamada citado por Nicolau, 2001, verificou que a TLBP promove um efeito positivo na proliferação, e diferenciação das células osteoblásticas *In Vitro*.

Cafalli et al. (1993) realizaram estudo em coelhos submetidos à terapia a laser de baixa potência (TLBP) após lesões em osso subcondral dos joelhos. Os animais foram sacrificados após 15, 30, 45 e 60 dias. Verificou-se que o tecido ósseo reparou-se mais rápidos nos animais irradiados. Na fase final do processo de reparação os resultados são semelhantes nos animais tratados e não tratados com TLBP.

Burushka, Yaakobi e Oron (1995) utilizaram a TLBP (HeNe 632,8 nm), com uma dose de 15 J/cm<sup>2</sup> durante 3 minutos, com potência de 6 mW; aplicada sobre pequenas perfurações em tibia de rato no quinto e sexto dia pós-cirurgia. Verificaram que a TLBP promoveu o aumento no número de osteoblastos e o estágio de reparação foi aproximadamente duas vezes mais acelerado, avaliados pela elevação da fosfatase alcalina e histomorfometria respectivamente.

Glinkowsky e Rowinsky (1995) utilizaram a terapia a laser de baixa potência (TLBP) em fratura de tibia de ratos e demonstraram através de análise radiográfica que a densidade óptica nos grupos irradiados era maior que no grupo controle.

David et al. (1996) estudaram o efeito do utilizando o laser de HeNe (632,8 nm), na reparação óssea de fraturas com fixação interna em tibia de ratos. Sessenta e dois animais tiveram ambas as tíbias submetidas à cirurgia, tendo sido utilizada a tibia contralateral como controle. A irradiação foi feita com doses de 0,2 e 4 J/cm<sup>2</sup>, com uma potência de 10 mW, sobre uma área de 7 mm<sup>2</sup>, de forma transcutânea. Os animais foram submetidos à irradiação diária, sendo sacrificados após duas e seis semanas pós-cirurgia. Avaliaram a reparação óssea das tíbias através de radiografias e estudo histológico. Os resultados demonstraram não haver diferenças significativas entre a região de reparação nas tíbias irradiadas quando comparados aos controles.

Yaakobi et al. (1996) obtiveram bons resultados em ratos com lesões tibiais tratados com a terapia a laser de baixa potência (TLBP), (HeNe 632,8 nm). A

dosimetria aplicada neste estudo foi de  $31 \text{ J/cm}^2$ , com potência de 5,3 mW, durante 3 minutos diretamente sobre a região de perfuração no quinto e sexto dia pós-cirurgia. Os autores avaliaram a quantidade de fosfatase alcalina e cálcio na região de reparação. Nos animais submetidos ao laser houve mais deposição de cálcio, assim como aumento da fosfatase alcalina, sugerindo maior atividade e/ou número de osteoblastos no local de reparação.

Saito et al. (1997) investigaram os efeitos da irradiação laser de baixa potência na regeneração do osso durante a expansão mecânica da sutura palatina, no período de 7 dias, valendo-se para isto de um laser diodo de AsGaAl (100 mW), modificando o tempo e a frequência de aplicação. Os resultados sugeriram que a irradiação pode acelerar a regeneração da sutura palatina durante rápida expansão, porém este efeito depende da frequência da irradiação e da dosagem do laser.

Luger et al. (1998) investigaram o efeito da terapia a laser de baixa potência (TLBP) na reparação de fraturas ósseas em ratos. Neste trabalho cinquenta ratos Wistar, divididos dois grupos de vinte e cinco animais, foram submetidos à fratura da tíbia, fixada internamente. Um dos grupos foi tratado com laser de HeNe (632,8 nm, 35 mW), diariamente durante catorze dias, 30 minutos por dia. O segundo grupo serviu como um controle. Depois de quatro semanas, a tíbia foi analisada por teste de tensão. A dureza estrutural da tíbia (dureza de calo) e a carga máxima de extensão e fraturas foram medidas. A carga máxima e dureza estrutural da tíbia foram significativamente maiores no grupo irradiado quando comparados aos controles. Em quatro animais controle observou-se a não consolidação da fratura.

Sathaiah, Nicolau e Zângaro citado por Nicolau, 2001, investigaram o efeito da TLBP na reparação óssea de ratos Wistar através da técnica de Espectroscopia Raman (ER) no infravermelho próximo. Neste estudo foram utilizados 30 ratos Wistar (20 irradiados e 10 controles), os quais tiveram a tíbia direita perfurada. Os animais foram irradiados a cada 24 horas em quatro sessões com  $4 \text{ J/cm}^2$ ; 2,68 mW; durante 100 segundos, através de um laser de HeNe (632,8 nm). Os animais foram sacrificados 5, 10, 15, 20, e 25 dias após a cirurgia e as amostras óssea submetidas a ER em cinco

pontos cada. A análise de resultados foi realizada observando o deslocamento Raman do pico de hidroxiapatita de cálcio ( $960\text{ cm}^{-1}$ ) através de espectros Raman. Observou-se que o pico da hidroxiapatita de cálcio apresentou-se significativamente mais intensos nos animais irradiados, sendo esta diferença mais evidente no grupo com 15 dias pós-cirurgia. Os autores concluíram a existência de maior incorporação de hidroxiapatita de cálcio em estruturas ósseas sobre a ação do laser de HeNe.

Lizarelli, Lamano-Carvalho (1999) observaram a ação do laser de AsGaAl (790 nm) sobre reparação óssea alveolar em ratos. Para tal estudo utilizaram  $1,5\text{ J/cm}^2$ , 30 mW, durante 20 segundos, sobre uma área de  $0,4\text{ cm}^2$ , aplicados em uma dose única em forma de varredura imediatamente após a cirurgia. O estudo foi realizado através de análise histológica 7, 14 e 21 dias pós-cirurgia. Após 7 e 14 dias o grupo irradiado apresentou uma quantidade de tecido ósseo formado cerca de 10% maior que o grupo controle.

Freitas, Baranauskas e Cruz-Hofling (2000) estudaram a influência do laser de HeNe sobre a osteogênese pós fratura, em tibia de ratos Wistar. O tratamento foi realizado 24 horas após a lesão com doses de 3,15; 31,5 e  $94,7\text{ J/cm}^2$ . Os animais foram sacrificados 8 e 15 dias após a fratura, e a lesão analisada por microscopia eletrônica de varredura. Com dose de  $3,5\text{ J/cm}^2$  os animais irradiados não apresentaram diferenças significantes, em relação aos controles. Entretanto com a dose de  $94,7\text{ J/cm}^2$  houve maior consolidação no grupo irradiado. Além disso, os autores observaram aumento do volume trabecular e dos osteoblastos após a TLBP.

## 5. TERAPIA ULTRA-SÔNICA

O som consiste em vibrações mecânicas num meio estático. O ultra-som é uma onda mecânica de forma senoidal. Foi descoberto por Langevin em 1917 e posteriormente Pohlmann construiu um aplicador terapêutico, sua primeira aplicação no Hospital Martin Luther de Berlim (HOOGLAND, 1986).

As ondas mecânicas perceptíveis ao ouvido humano estão compreendidas, aproximadamente, entre as frequências de 20 Hz a 20.000 Hz. Quanto maior a frequência, mais agudo é o som; quanto menor a frequência, mais grave é o som.

Os sons de frequência abaixo de 20 Hz e acima de 20.000Hz são inaudíveis ao ouvido humano, sendo denominados, respectivamente, infra-sons e ultra-sons. A frequência média de ultra-sons terapêuticos é de 0,7 a 3 Mhz.

O ultra-som foi originalmente produzido através de um cristal de quartzo vibrante quando submetido a uma corrente de alta frequência. Hoje são utilizados cristais cerâmicos sintéticos. A vibração aciona as partículas do meio, produzindo ondas por compressão e descompressão.

O equipamento de ultra-som consiste em duas partes: um circuito eletrônico e um transdutor com um material que possui propriedades piezoelétricas. A energia elétrica é convertida em energia mecânica pela aplicação de uma tensão alternada ao transdutor. A passagem das ondas ultra-sônicas através de um material depende da impedância acústica que é a resistência oferecida pelo tecido (HOOGLAND, 1986).

O equipamento ultra-sônico pode ser dividido em contínuo ou pulsado com diferentes características. O primeiro possui ondas sônicas contínuas, sem modulação. O segundo possui ondas sônicas pulsadas, modulação em amplitude com frequência de 16 Hz a 100 Hz.

De acordo com sua biofísica, o ultra-som apresenta um comportamento à medida que se propaga através dos tecidos, podendo ser reflexão, absorção, refração.

- Reflexão: Quando a onda ultra-sônica é emitida e volta ao meio de origem, conservando sua frequência e velocidade. A reflexão em uma superfície ocorre quando as impedâncias acústicas dos meios forem diferentes. Se os dois meios possuírem a mesma impedância isto não ocorrerá.
- Absorção: Quando a onda ultra-sônica penetra, acontecem perdas de energia. Esta perda é chamada de absorção e ocorre quando a energia vibracional é transformada em energia molecular. Neste caso, a intensidade diminui à medida que as ondas de ultra-som passam pelo meio absorvedor.
- Refração: Dá-se quando a onda emitida, passa para outro meio sofrendo mudança na sua velocidade, mas conservando sua frequência. A onda penetra no tecido a um ângulo e sai deste tecido a um ângulo diferente.

Na passagem do feixe de ultra-som através do corpo a energia é perdida, com o aumento da profundidade dos tecidos, devido à absorção (HAAR, 1985). A onda de energia diminui exponencialmente com a profundidade. Os diferentes tecidos atenuam o ultra-som em vários graus, dependendo de sua impedância acústica e da frequência da onda.

Segundo Duarte (1983) o osso goza da propriedade de ser um perfeito transdutor de energia. Este fato pode ajudar explicar não apenas o reparo ósseo em condições de trauma, mas até as hipóteses de remodelamento, fornecendo subsídios para um melhor entendimento dos mecanismos de crescimento do osso.

O osso humano possui características piezoelétricas, um fator favorável ao uso do ultra-som, levando em consideração a consolidação de fraturas através da sua aplicação.

As cargas elétricas necessárias ao reparo ósseo são produzidas no osso por meio do efeito piezoelétrico, pois o ultra-som pulsado atinge a superfície do osso por uma sucessão de impulsos, cada um deles resultando em um sinal elétrico como resposta do osso. Daí por diante o processo de crescimento do osso é regulado pelo campo elétrico assim formado e o metabolismo ósseo é estimulado bioeletricamente. Um fato interessante a respeito do método ultra-sônico é que ele se assemelha ao processo natural, pois sendo o osso piezoelétrico e, portanto, estando o esqueleto sujeito a cargas mecânicas como o próprio peso da pessoa, a deambulação, a corrida, ou até mesmo em repouso, quando a balística cardíaca produz uma onda de choque cujo impulso atinge o osso, para todos estes estímulos o osso tem resposta elétrica, que por sua vez aciona a divisão celular, mantendo o equilíbrio entre remodelagem e absorção (DUARTE 1983).

A colocação de cargas elétricas na superfície celular, decorrente da aplicação de energia ultra-sônica pulsada, mantém a polarização elétrica média enquanto durar o estímulo. Essa polarização faz com que os osteoblastos alterem seus potenciais de membrana permitindo o bombeamento de íons e a captação de nutrientes. As células atuam como um transdutor biológico, onde o estímulo elétrico produz uma maior atividade das células, as quais se agruparão segundo a polaridade compatível com a sua natureza, isto é, os osteoblastos serão atraídos pelo pólo negativo e os osteoclastos pelo pólo positivo, promovendo assim, o reparo ósseo (GUIRRO, 2002).

A reparação do osso acontece por um processo de reparo que consiste em fases superpostas: inflamatória e remodeladora (KITCHEN; BAZIN, 1996).

A fase inflamatória é extremamente dinâmica e, durante seu transcorrer, células de vários tipos (plaquetas, mastócitos, macrófagos, neutrófilos) entram e saem do local lesionado. O ultra-som terapêutico pode interagir com estas células, influenciando sua atividade e levando à aceleração do reparo (GUIRRO, 2002).

Um dos principais agentes químicos modificadores do ambiente da ferida, nesta ocasião após a lesão, é a histamina. O mastócito é a principal fonte deste fator, que normalmente é liberado por um processo conhecido como desgranulação mastocitária.



Neste processo, ocorre o rompimento da membrana celular, em resposta a um aumento dos níveis de cálcio intracelular (YURT, 1981), liberando histamina e outros produtos no local da ferida. Foi demonstrado que uma única aplicação por ultra-som, caso seja administrado logo após a lesão (durante a fase inflamatória inicial) pode estimular a desgranulação dos mastócitos, deste modo liberando a histamina, para os tecidos circunjacentes (FYFE CHAHL, 1982; HASHSH, 1986).

É possível que o ultra-som estimule o mastócito a promover a desgranulação, ao aumentar sua permeabilidade ao cálcio. Os íons cálcio podem funcionar como mensageiros intracelulares; quando sua distribuição e concentração mudam em resposta às modificações ambientais da membrana plasmática, funcionam como um sinal intracelular para a resposta metabólica apropriada. (DYSON, 1987).

Dyson (1987) relata que o reparo das fraturas das fíbulas foi acelerado e modificado através do tratamento com ultra-som terapêutico. O ultra-som foi aplicado a uma intensidade de  $0,5 \text{ W/cm}^2$  (cume comum, temporal de espaço), com pulso de 2 ms ligado, 8 ms desligado durante 5 minutos em quatro dias sucessivos durante cada semana de tratamento. A terapia por ultra-som teve eficiência quando usada durante as duas primeiras semanas depois da lesão, quer dizer, durante as fases inflamatória e proliferativa logo após o trauma (antes de formação de calo duro). O reparo do osso tendeu a ser do tipo juvenil e ocorreu ossificação rápida com pequena produção de cartilagem quando o tratamento foi limitado a este período. Também foi determinado que, se o tratamento fosse retardado, isto é, iniciado na terceira ou quarta semana após a lesão, aparentemente o ultra-som estimulava o crescimento da cartilagem, retardando a união óssea.

Young e Dyson (1990) estudaram lesões cutâneas provocadas em ratos, as quais foram expostas ao ultra-som terapêutico ( $0,1 \text{ W/cm}^2$ , 0,75 MHz ou 3,0 MHz) diariamente durante 7 dias (5 minutos por dia, por ferida). Por volta de 5 dias após a lesão inicial, os grupos tratados pelo ultra-som apresentavam um número consideravelmente menor de células inflamatórias no leito da ferida e tecido de granulação mais abundante que os controles. Do mesmo modo, o alinhamento dos

fibroblastos nos leitos das feridas nos grupos tratados pelo ultra-som foi indicativo de um tecido mais avançado que o alinhamento aleatório dos fibroblastos observado nas lesões do grupo de controle. Os resultados obtidos sugerem ter ocorrido uma aceleração das feridas durante a fase inflamatória do reparo; em resposta à terapia pelo ultra-som. Portanto, aparentemente a terapia por ultra-som acelera o processo, limitando o desenvolvimento da granulação.

Tsai et al. (1991) demonstraram ser possível acelerar o reparo das fraturas fibulares de coelhos com o uso de níveis terapêuticos de ultra-som (1,5 ou 3 MHz, pulsado, 0,5 W /cm<sup>2</sup>).

Tsai et al. (1992) demonstraram um incremento no reparo das fraturas femorais, quando foram utilizadas baixas intensidades de ultra-som (1,5 MHz, pulsado, 0,5 W /cm<sup>2</sup>); contudo, quando estes autores tentaram 1,5 W / cm<sup>2</sup>, verificaram que os tratamentos inibiam o reparo.

Heckman et al (1994) investigaram a eficácia do ultra-som de baixa intensidade na consolidação das fraturas tibiais. As fraturas foram examinadas numa avaliação duplo-cega randomizada e prospectiva do ultra-som de baixa intensidade. O grupo tratado exibiu uma diminuição significativa no tempo de consolidação óssea (86 dias), em comparação com o grupo de controle (114 dias).

Mayr et al. (2000) afirmam que o ultra-som pulsado de baixa intensidade pode ser um método de tratamento não-cirúrgico muito promissor para alterações de reparo tecidual.

Takikawa et al. (2001) postulam que o ultra-som pode exercer uma força mecânica nas células dos tecidos moles no local da fratura, sugerindo uma investigação do efeito piezoelétrico com o objetivo de esclarecer se o efeito *in vivo* é apenas devido ao material como transdutor ou se as células também se comportam como um transdutor.

## **6. MATERIAL E MÉTODOS**

### **6.1 Animais**

O experimento foi conduzido no Hospital Veterinário do Centro Universitário Vila Velha, e no Laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento do IP&D.

Foram utilizados 18 coelhos da raça Nova Zelândia, machos, com peso médio de 2000 g e idade entre dez e doze meses, fornecidos pela Fazenda Universitária do Centro Universitário de Vila Velha.

Os animais foram ambientados no período de quatro semanas em gaiolas apropriadas e condições de iluminação e climatização controladas (temperatura média de 22° C e umidade média de 55%).

Foi fornecida ração granulada (Purina<sup>R</sup> para coelhos) e água à vontade, sendo interrompido o fornecimento destes 12 horas antes do ato cirúrgico.

### **6.2 Pré-operatório**

Foi ministrado um protocolo anestésico consistindo de Acepromazina (0,2 mg/Kg IV) e anestesia com Tiletamina/Zolazepan (15 mg/Kg IV). Cada coelho recebeu 40.000 UI/Kg IM de Penicilina Benzatina, no momento da medicação pré-anestésica.

### **6.3 Intervenção cirúrgica**

A intervenção foi realizada sobre uma mesa cirúrgica previamente desinfetada e coberta por panos de campo estéreis, onde o animal foi posicionado em decúbito lateral, de maneira que a área operada ficasse voltada para o cirurgião.

Um bisturi com lâmina nº 15 foi utilizado para a incisão, seguindo o rádio direito, percorrendo 10 cm no sentido longitudinal.

Com o tecido ósseo exposto os animais foram submetidos a uma perfuração padronizada, realizada com brocas de aço esféricas de 0,2mm de diâmetro, no rádio direito, localizada a três centímetros da articulação rádio-cárpica. As extremidades da perfuração foram lavadas com solução fisiológica. Os tecidos muscular e subcutâneo foram aproximados com fio absorvível 3-0 e a sutura da pele foi feita com fio inabsorvível.

#### **6.4 Grupos de estudo**

Após as perfurações ósseas, os coelhos foram divididos em três grupos, cada um com 6 animais, e cada grupo denominado como I, II ou III.

O **grupo I** (ou grupo Laser) recebeu uma irradiação pontual diária sobre a região perfurada, com laser de diodo AsGa (904 nm), utilizando densidade de energia de 15 J/cm<sup>2</sup> com tempo de aplicação de 300 segundos. O tratamento durou vinte e um dias. O laser empregado foi da marca IBRAMED, modelo Laserpulse, com o comprimento de onda de 904 nm, potência máxima de emissão 45 W, potência de emissão 0,05W, frequência de 2000Hz. Um exemplo de aplicação da luz laser pode ser observado na figura 1.

O **grupo II** (ou grupo Ultra-som) recebeu uma aplicação diária sobre a região perfurada com ultra-som terapêutico de 1,0 MHz, com modulação de frequência 16Hz, ciclo de pulso 20% (2/8 ou 2ms/8ms), utilizando a intensidade de 0,5 W/cm<sup>2</sup>, por um tempo de 60 segundos, e gel a base de água para o acoplamento de cabeçote, durante vinte e um dias. O ultra-som empregado foi da marca KLD biosistemas, modelo Avatar V, com área de 3,00 cm<sup>2</sup> de cabeçote, frequência de 1,0 MHz, e com potência máxima de 10W. Um exemplo da aplicação do ultra-som pode ser observado na figura 2.

O **grupo III** (ou grupo Controle) não recebeu nenhum tratamento, deixando a fratura consolidar fisiologicamente.



**Figura 1:** Animal do Grupo I recebendo o tratamento com o laser AsGa no rádio perfurado.



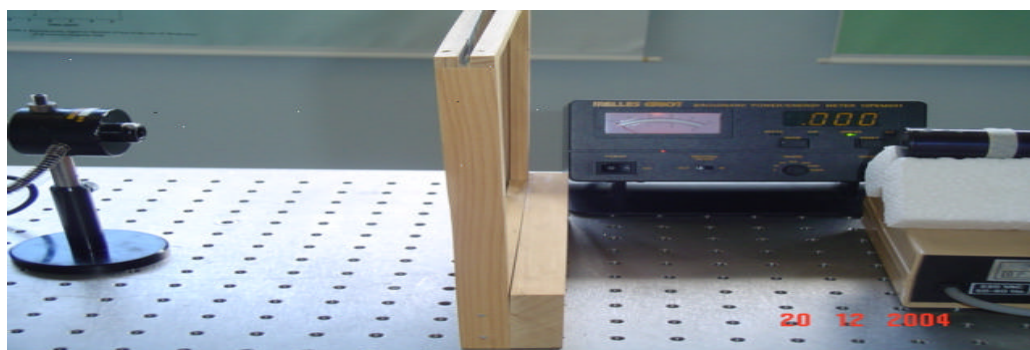
**Figura 2:** Animal do Grupo II recebendo o tratamento com ultra-som no rádio perfurado.

### 6.5 Avaliação radiográfica

A avaliação radiográfica foi realizada com o aparelho CRX DM 125, com distância foco-filme de um metro, técnica KV=48, MA=100, T= 0,04 s em radiografias convencionais (filme de 18 cm x 24 cm, marca IBF-Medix), com a técnica utilizada obtidas na incidência médio-lateral dos membros operados, realizadas no pós-operatório e semanalmente até a terceira semana. O preenchimento da perfuração óssea foi classificado visualmente (observando a chapa radiográfica) em ausente (-), parcial (+) e total (++) .

### 6.6 Avaliação da intensidade transmitida.

A avaliação da intensidade transmitida foi realizada através da incidência de um feixe de luz laser de HeNe (632,8 nm) (Uniphase, modelo 1101P), com potência de 0,5 mW. A incidência foi na região da perfuração na chapa radiográfica e na região próxima ao osso sadio na chapa radiográfica, com distância entre o laser e a chapa radiográfica de 15 cm, colocando a chapa radiográfica em um suporte para sua fixação. Foi utilizado um potenciômetro (Power / Energy meter, modelo 13PM001, marca Melles Griot), para a medição da intensidade da luz que passa pela chapa radiográfica, com distância da chapa radiográfica de 15 cm, como demonstram as figuras 3 e 4.



**Figura 3** - Esquema experimental usado na detecção da intensidade transmitida do laser HeNe passando pela chapa radiográfica. Da esquerda para a direita temos, potenciômetro, suporte com a chapa radiográfica e laser.



**Figura 4** - Demonstração da incidência do laser na chapa.

### 6.7 Análise matemática dos dados

Os valores da transmitância relativa foram analisados matematicamente, foi medido em cada chapa radiográfica a intensidade transmitida numa região óssea sadia e na região da perfuração. Definiu-se a densidade da chapa radiográfica (Mees, 1954) como:

$$D = \text{Log}_{10} ( 1/T ) = \gamma (\text{Log}_{10} E - \text{Log}_{10} i) \quad (1)$$

onde T é a transmitância da região analisada (  $T = I / I_0$ , sendo I a intensidade de luz transmitida e  $I_0$  a intensidade de luz incidente),  $\gamma$  é uma constante de proporcionalidade, E é a *magnitude da exposição* ou simplesmente *exposição* e corresponde com o produto da intensidade dos raios X incidentes na chapa vezes o tempo de incidência, e  $i$  é uma constante chamada de inércia, onde o inverso do seu valor esta relacionado com a velocidade de emulsão da camada fotossensível da chapa.

Segundo a definição da exposição E, pode-se escrever este parâmetro da seguinte forma:

$$E \propto I_{\text{chapa,RX}} \times t_{\text{exp}} = I_{0,\text{RX}} e^{-\beta X_{\text{osso}}} \times t_{\text{exp}} \quad (2)$$

onde  $I_{\text{chapa,RX}}$  é a intensidade de raios X que chega na chapa radiográfica,  $I_{0,\text{RX}}$  é a intensidade inicial de raios X incidindo no osso analisado,  $\beta$  é o coeficiente de absorção de raios X do osso, e  $X_{\text{osso}}$  é a espessura de osso atravessada pelos RX.

Na análise feita neste trabalho, analisamos o logaritmo natural do quociente entre a intensidade de luz transmitida pela chapa radiográfica na região do tecido ósseo sadio ( $I_2$ ) e a região de osso com furo ( $I_3$ ). Então, o que foi quantificado é:

$$\log_e \left( \frac{I_2}{I_3} \right) = \log_e \left( \frac{I_2 / I_0}{I_3 / I_0} \right) = \log_e \left( \frac{T_2}{T_3} \right) = \log_e(T_2) - \log_e(T_3) = \log_e \left( \frac{1}{T_3} \right) - \log_e \left( \frac{1}{T_2} \right) = d \cdot (D_3 - D_2) \quad (3)$$

onde  $\delta$  é uma constante para compensar a mudança de logaritmo. Observando a equação (1) podemos escrever:

$$\log_e \left( \frac{I_2}{I_3} \right) = d \cdot [\log_{10} E_3 - \log_{10} i - (\log_{10} E_2 - \log_{10} i)] = d \cdot (\log_{10} E_3 - \log_{10} E_2) \quad (4)$$

A partir da relação (2) podemos re-escrever a equação (4) da seguinte forma:

$$\log_e \left( \frac{I_2}{I_3} \right) = d \cdot \log_{10} \left( \frac{E_3}{E_2} \right) = d \cdot \log_{10} \left( \frac{I_{3,\text{chapa}} \times t_{\text{exp}}}{I_{2,\text{chapa}} \times t_{\text{exp}}} \right) = d \cdot \log_{10} \left( \frac{I_{3,\text{chapa}}}{I_{2,\text{chapa}}} \right) = d \cdot [\log_{10}(I_{3,\text{chapa}}) - \log_{10}(I_{2,\text{chapa}})] \quad (5)$$

Usando a expressão para  $I_{\text{chapa}}$  na relação (2), podemos escrever (5) da seguinte forma:

$$\log_e \left( \frac{I_2}{I_3} \right) = d \cdot [\log_{10}(I_{0,\text{RX}} \times e^{-\beta X_{\text{furo}}}) - \log_{10}(I_{0,\text{RX}} \times e^{-\beta X_{\text{osso}}})] = d \cdot [\log_{10}(I_{0,\text{RX}}) + \log_{10}(e^{-\beta X_{\text{furo}}}) - \log_{10}(I_{0,\text{RX}}) - \log_{10}(e^{-\beta X_{\text{osso}}})] =$$



$$d \cdot \left[ \log_{10} \left( e^{-bX_{\text{furo}}} \right) - \log_{10} \left( e^{-bX_{\text{osso}}} \right) \right] = d \cdot \left[ -bX_{\text{furo}} \cdot \log_{10} e + bX_{\text{osso}} \cdot \log_{10} e \right] = db \log_{10} e \cdot (X_{\text{osso}} - X_{\text{furo}}) \quad (6)$$

A partir da equação (6) podemos concluir que:

$$\log_e \left( \frac{I_{\text{osso}}}{I_{\text{furo}}} \right) = \log_e \left( \frac{I_2}{I_3} \right) \propto X_{\text{osso}} - X_{\text{furo}} \quad (7)$$

Então, medindo o logaritmo natural do cociente indicado em função do tempo, estaremos monitorando a variação da espessura do osso no lugar da fratura relativa à espessura do osso sadio numa região próxima.

### 6.8 Análise estatística entre os grupos

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente com o programa de análise estatística *InStat* através do teste de análise de variância (ANOVA) para comparação das médias entre os grupos I, II e III. A análise de Tukey-Kramer foi utilizada para verificar quais pares de grupos apresentavam diferenças significativas entre suas médias.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Avaliação radiográfica visual

As radiografias seriadas mostram a evolução da reparação das perfurações ósseas em ambos os grupos (Tabelas 1, 2 e 3).

Naqueles animais que receberam a terapia a laser (grupo I), observou-se radiopacidade precoce compatível com o tecido ósseo na região da perfuração, quando comparada com a do controle e o do ultra-som, na terceira semana, e todos os do grupo I apresentaram um preenchimento visual total na quarta semana.

Quando comparado os grupos na segunda semana de tratamento, verifica-se que o preenchimento parcial nos grupos I e II foi mais evidente que no grupo III.

A formação de tecido ósseo, evidenciada pela radiopacidade, foi diferente entre os grupos tratados e controle, porém demonstrando um preenchimento total nos grupos tratados com laserterapia em relações ao grupo do ultra-som e controle.

**Tabela 1:** Avaliação radiográfica visual da fratura nos coelhos do grupo I (Laser).

Coelho	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3
1	-	+	+	++
2	-	+	+	++
3	-	-	+	+
4	-	+	+	++
5	-	-	+	++
6	-	+	+	++

Nota: (-) preenchimento ausente,  
 (+) preenchimento parcial,  
 (++) preenchimento total.

**Tabela 2:** Avaliação radiográfica visual da fratura nos coelhos do grupo II (Ultrason).

Coelho	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3
1	-	+	+	++
2	-	-	-	-
3	-	+	+	+
4	-	+	+	+
5	-	-	-	+
6	-	+	+	+

Nota: (-) preenchimento ausente,  
 (+) preenchimento parcial,  
 (++) preenchimento total.

**Tabela3:** Avaliação radiográfica visual da fratura nos coelhos do grupo III (controle).

Coelho	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3
1	-	+	+	++
2	-	+	+	+
3	-	-	-	+
4	-	-	+	+
5	-	-	-	+
6	-	-	-	+

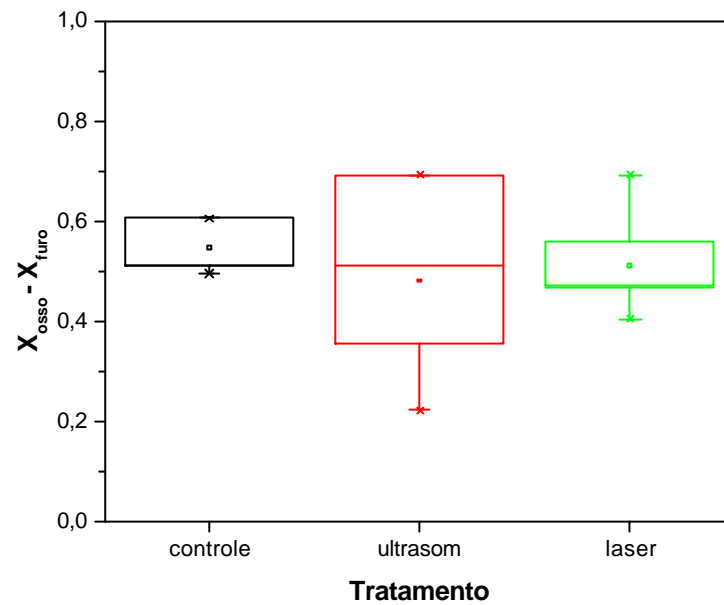
Nota: (-) preenchimento ausente,  
 (+) preenchimento parcial,  
 (++) preenchimento total.

Deve-se observar que esta avaliação é subjetiva e depende do critério do avaliador.

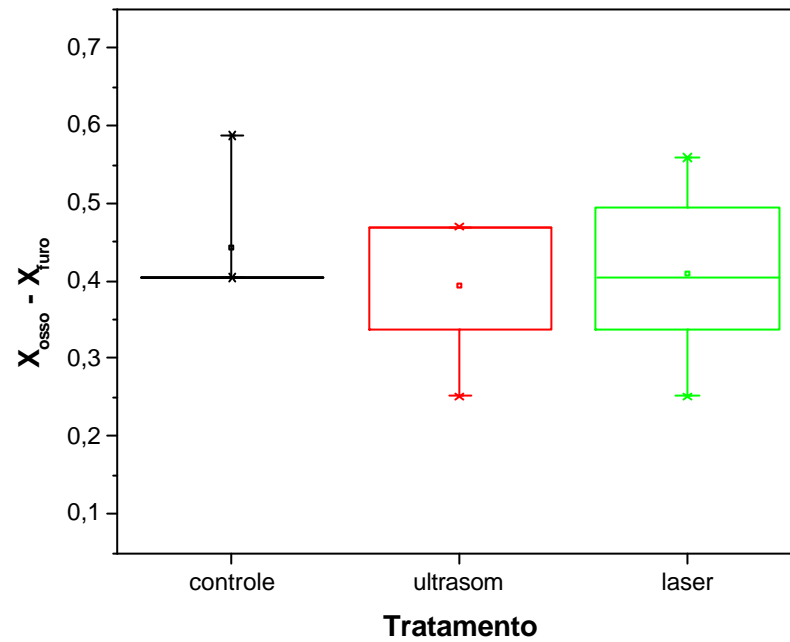
Neste trabalho o mesmo avaliador foi quem julgou o grau de preenchimento ósseo em todas as radiografias.

## 7.2 Análise matemática dos dados

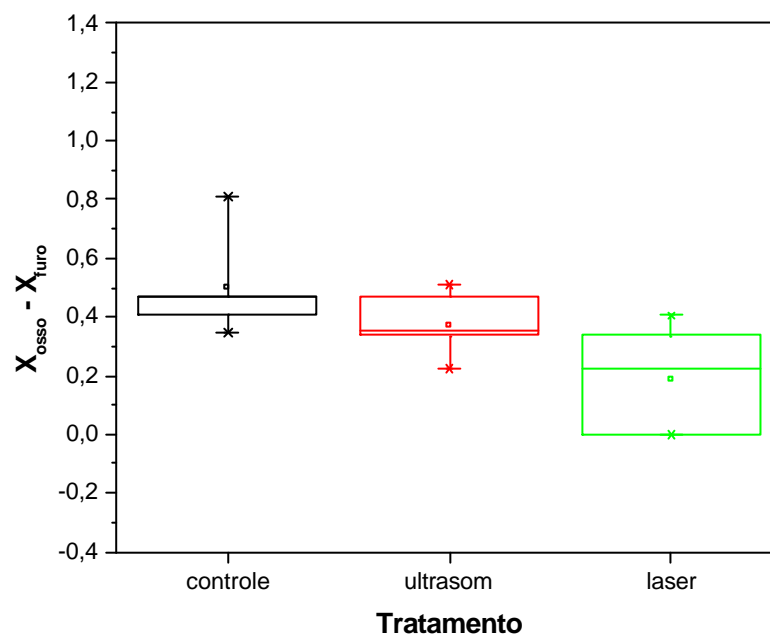
Os resultados pode ser observados nas figuras 5 a 9, verificando na espessura da regeneração em função da semana de medição e da terapia utilizada. As figuras foram feitas usando o software Microcal Origin



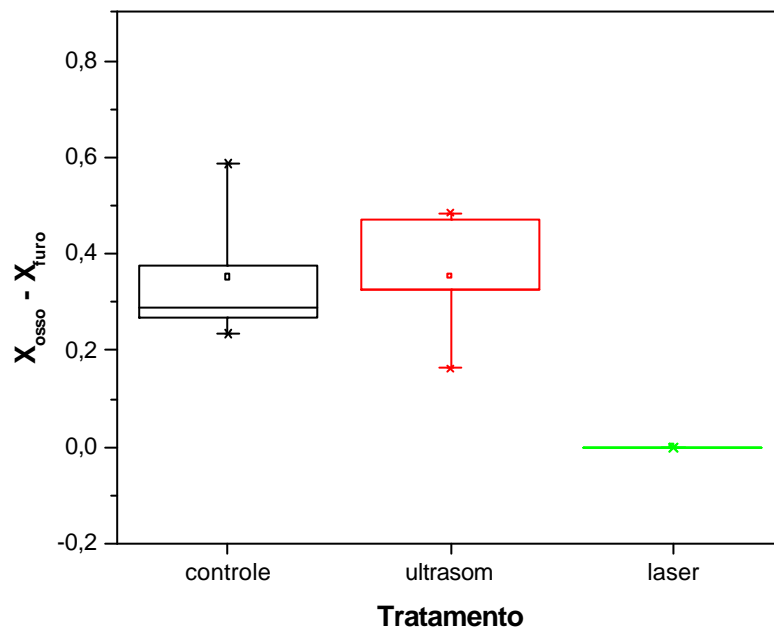
**Figura 5:** Box plot mostrando a distribuição de valores na diferença entre a espessura do osso normal e a espessura do osso perfurado medido através da transmitância, em função do tratamento, na semana zero. Nos tratamentos: laser = grupo I, ultra-som = grupo II e controle = grupo III.



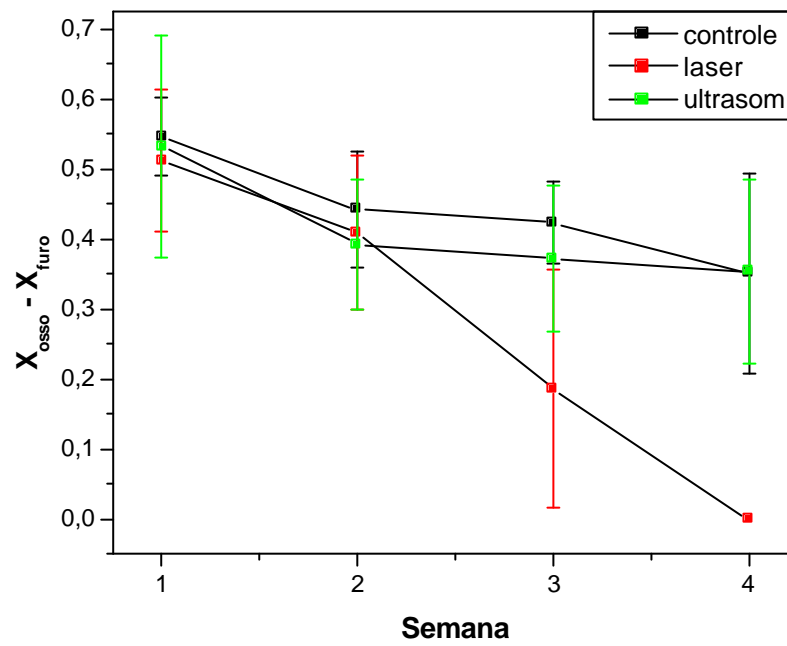
**Figura 6:** Box plot mostrando a distribuição de valores na diferença entre a espessura do osso normal e a espessura do osso perfurado medido através da transmitância, em função do tratamento, na semana um. Nos tratamentos: laser = grupo I, ultra-som = grupo II e controle = grupo III.



**Figura 7:** Box plot mostrando a distribuição de valores na diferença entre a espessura do osso normal e a espessura do osso perfurado medido através da transmitância, em função do tratamento, na semana dois. Nos tratamentos: laser = grupo I, ultra-som = grupo II e controle = grupo III.



**Figura 8:** Box plot mostrando a distribuição de valores na diferença entre a espessura do osso normal e a espessura do osso perfurado medido através da transmitância, em função do tratamento, na semana três. Nos tratamentos: laser = grupo I, ultra-som = grupo II e controle = grupo III.



**Figura 9:** Taxa de variação do crescimento ósseo em função da semana de tratamento. Pode-se observar uma variação diferenciada no grupo laser (grupo I), chegando a zero na quarta semana, compatível com o preenchimento ósseo total dentro do furo.



### 7.3 Análise estatística entre os grupos

Os dados do  $\ln\left(\frac{I_{osso}}{I_{furo}}\right)$  para cada semana foram analisados usando o programa

de análise estatística *InStat*. As tabelas a seguir mostram os resultados obtidos.

**Tabela 4.** Parâmetros estatísticos da semana zero.

	Controle	Ultra-som	Laser
N	6	6	6
Média	0,546	0,480	0,511
Desvio Padrão	0,055	0,189	0,102

Os dados mostrados na tabela 4 foram analisados através do teste de ANOVA, pois o teste Kolmogorov-Smirnov constatou que os dados se encontravam numa distribuição Normal, e o teste de Bartlett mostrou que as variâncias são semelhantes. O teste de ANOVA, com nível de significância de 5% mostrou que as médias da tabela 4 são todas estatisticamente iguais ( $p = 0,7176$ ).

**Tabela 5.** Parâmetros estatísticos da semana um.

	Controle	Ultra-som	Laser
N	6	6	6
Média	0,442	0,392	0,409
Desvio Padrão	0,081	0,092	0,109

Os dados mostrados na tabela 5 foram analisados através do teste de ANOVA, pois o teste Kolmogorov-Smirnov constatou que os dados se encontravam numa distribuição Normal, e o teste de Bartlett mostrou que as médias são semelhantes. O teste de ANOVA, com nível de significância de 5% mostrou que as médias da tabela 5 são todas estatisticamente iguais ( $P = 0,6975$ ).

**Tabela 6.** Parâmetros estatísticos da semana dois.

	Controle	Ultra-som	Laser
N	6	6	6
Média	0,501	0,372	0,186
Desvio Padrão	0,181	0,104	0,169

Os dados mostrados na tabela 6 foram analisados através do teste de ANOVA, pois o teste Kolmogorov-Smirnov constatou que os dados se encontravam numa distribuição Normal, e o teste de Bartlett mostrou que as médias são semelhantes. O teste de ANOVA, com nível de significância de 5% mostrou que as médias da tabela 6 são estatisticamente diferentes ( $P = 0,0136$ ).

Para saber quais eram as colunas com medias diferentes, foi feito o teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer. Os resultados são mostrados na tabela a seguir:

**Tabela 7.** Teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer para a semana dois.

Comparação	Valor de P
Controle vs Ultra-som	$P > 0,05$ não significativo
Controle vs Laser	$P < 0,05$ significativo
Ultra-som vs Laser	$P > 0,05$ não significativo

Observamos que na semana 2, a média das medidas do tratamento com o Laser é estatisticamente diferente da média do grupo controle.

**Tabela 8.** Parâmetros estatísticos da semana três.

	Controle	Ultra-som	Laser
N	6	6	6
Média	0,351	0,354	0,0
Desvio Padrão	0,142	0,131	0,0

Os dados mostrados na tabela 8 foram analisados através do teste de ANOVA, pois o teste Kolmogorov-Smirnov constatou que os dados se encontravam numa distribuição Normal, e o teste de Bartlett mostrou que as médias são semelhantes. O

teste de ANOVA, com nível de significância de 5%, mostrou que as médias da tabela 8 são estatisticamente diferentes ( $P = 0,0001$ ).

Para saber quais eram as colunas com médias diferentes, foi feito o teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer. Os resultados são mostrados na tabela a seguir:

**Tabela 9.** Teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer para a semana três.

Comparação	Valor de P
Controle vs Ultra-som	$P > 0,05$ , não significativo
Controle vs Laser	$P < 0,001$ , significativo
Ultra-som vs Laser	$P < 0,001$ , significativo

Observamos que na semana 3, a média das medidas do tratamento com o Laser é estatisticamente diferente das médias do grupo Controle e do grupo com Ultra-som, porém as médias dos grupos controle e ultra-som continuam sendo estatisticamente iguais.

## 8. DISCUSSÃO

Os resultados da presente pesquisa mostram que a osteogênese é melhor estimulada pela laserterapia do que a terapia ultra-sônica. As medidas da transmitância, analisadas estatisticamente e as análises visuais das radiografias demonstram esta eficiência.

Na análise estatística dos dados foi verificado que os dados do grupo I começam a se diferenciar dos grupos II e III a partir da terceira semana, sendo que é neste grupo onde se atingiu o maior grau de reparação na terceira semana. Porém, na análise visual os grupos I e II começam a se diferenciar do grupo III na segunda semana.

Associando estes achados aos resultados da análise visual pode-se mostrar a eficiência do laser em acelerar o processo de regeneração óssea já relatados nos estudos mencionados no capítulo 4.

No presente estudo, a utilização da medida de transmitância na chapa radiográfica, no grupo tratado com ultra-som, após tratamento matemática em função do tempo, demonstrou que a espessura do osso no lugar do furo não mostra diferença estatística em relação ao osso sadio na quarta semana de tratamento. Isto pode ser explicado pelo tempo reduzido de tratamento (21 dias), quando comparado com outros autores que estudaram o efeito do ultra-som no reparo ósseo, como Gebauer et al. (2002) que utilizaram 42 dias de tratamento ultra-sônico e Azuma et al. (2001) que sacrificaram em 28 dias após a cirurgia. Eles afirmam que tratamentos mais longos são mais efetivos.

Diferente da presente investigação, Gebauer et al. (2002) afirmam que o ultra-som melhora as propriedades mecânicas, como maior torque no limite máximo e maior rigidez de ossos fraturados de ratos. No entanto, estes resultados foram obtidos com 42 dias de tratamento ultra-sônico.

Sun et al. (1999) utilizaram 14 dias de tratamento ultra-sônico em defeito de fêmur de rato *in vitro*, mas com uma intensidade mais alta que a usual neste tipo de tratamento ( $3,0 \text{ W/cm}^2$ ) e demonstraram aceleração no reparo ósseo.

Heckman et al. (1994) realizou, respectivamente, em média 87 dias de estimulação ultra-sônica, e obtiveram sucesso no tratamento de fraturas recentes. Duarte e Xavier (1983) obtiveram sucesso no tratamento de fraturas não consolidadas com 30 dias de tratamento no mínimo.

Pela análise feita neste trabalho ficou evidente que o tecido ósseo tratado com laser apresentou melhor osteointegração no lugar do furo, relativo ao osso sadio numa região próxima na chapa radiográfica, o que não foi observado no grupo Ultra-som e Controle. Sendo assim a laserterapia apresentou melhores resultados do a terapia de ultra-som com predomínio da fase de formação óssea em tempo curtos de tratamento, no nosso caso 21 dias após a realização da perfuração.

## **9. CONCLUSÃO**

A principal conclusão deste trabalho é que o tratamento de perfurações com o laser de AsGa apresenta melhores resultados quando comparada com o tratamento com ultra-som, o qual não apresentou diferenças quando comparado com a regeneração óssea natural, tudo após 21 dias de tratamento. As diferenças achadas neste trabalho podem ser produto do tempo utilizado neste estudo, o qual é menor do que o tempo usado em outros trabalhos publicados por outros autores.

### **Sugestões de trabalhos futuros.**

Uma continuação interessante a este trabalho seria a avaliação da regeneração óssea, usando o mesmo monitoramento feito aqui, porém com um tempo maior de tratamento, para observar se o tratamento com ultra-som diferencia-se do grupo controle.

## REFERÊNCIAS

AZUMA, Y. et. al. Low intensity pulsed ultrasound accelerates rat femoral fracture healing by acting on the various cellular reactions in the fractures callus. **J Bone Miner Resa**, v. 16, n. 4, p. 671-680, 2001.

BARUSHKA, O; YAAKOBI, T; ORON U. Effect of low energy laser (He-Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia. **Bone**. v.16, p. 47-55, 1995.

BAXTER, D. Laserterapia de baixa intensidade. In KITCHEN, S; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton**. São Paulo: Manole, p. 191-210, 1998.

BAXTER, G.D. **Therapeutic Lasers: Theory and Praticce**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994.

BAXTER, G.D; BEL,L A J;ALLEN, J.M; RAVEY, J. Low level laser therapy: current clinical pratctice in Northern Ireland. **Physiotherapy**, p.77,1991.

BEAR, M.F; CONNORS, B.W; PARADISO, M.A. **Neurociências – Desvendando o Sistema Nervoso**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002.

BOECHAT, A. Princípios básicos do laser. Artigo. **Revista de Cosmiatria & Estética**. Jan/Fev/Mar., 1999.

BRUGNERA JUNIOR, A.; PINHEIRO, A L..B. **Laser na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.

CAFALLI, F.A S.; BORELLI, V.; HOLZCHUH, M.P; FARIAS, E.C; CIPOLA, W.W.W.; COUTINHO NETO A .C. Estudo experimental dos efeitos da radiação laser de baixa energia na regeneração osteocartilagínea em joelhos de coelhos: **Rev. Brás. Ortop**. v.28, n.9 p. 673-978, 1993.

COLLS. J, **A terapia laser, hoy**. Barcelona: Meditec, 1984.

DAHLIN, C.; SENNERBY, L.; LEKHOLM, U.; LINDE, A; NYMAN, S. Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: An experimental study in rabbits. **Int. J. Oral Max. Impl.** v.4, n.1, p.19-25. 1996.

DAVID, R; NISSAN, M; COHEN, I; SOUDRY, M. Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. **Lasers Sug. Med.** v.19, p. 458-464, 1996.

DE TEJADA, T.HG; MARIN, D.R; SORIANO, F.M. Efecto de la irradiación con laser de He-Ne en el callo de fractura experimental. Repercusión ultra-estructural, morfométrica y hormonal. **Rev Ortop Traum**, v.34, p. 84-91, 1990.

DUARTE, L.R.; XAVIER, C.A.M. Estimulação ultra-sônica do calo ósseo. Aplicação clínica. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 18, n. 3 , p. 73-80, mai/jun, 1983.

DYSON, M. Mechanisms involved in therapeutic ultrasound. **Physiotherapy**, v. 73, n. 3, p. 116-120, 1987.

FYFE, M.C, CHAHL, L.A. Mast cell degranulation: a possible mechanism of action of therapeutic ultrasound. **Ultrasound med Biol**, v. 8, p. 62. 1982.

FITZPATRICK, J.E ; AELING. J.L. **Segredos em Dermatologia**. São Paulo: Artes Médicas, 2000.

FREITAS, I.G.F.; BARANAUSKAS, V.; CRUZ-HOFLING, M.A. Laser effects on osteogenesis. **Applied Surface Science**, v. 154-155, p. 548-554, 2000.

GARG, A.K. **Prática da implantodontia**. Premier, cap 1, p.1-10. 2001.



GEBAUER, G.P. et.al. Low-intensity pulsed ultra-sound increases the fractures callus strength diabetic BB Wistar rats bus does not affect cellular proliferation. **J Orthop Res**, v. 20, n. 3, p. 587-592, 2002.

GENOVESE, W.J. Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia. São Paulo: Lovise, p. 49-50, 77-86,78-79, 2000.

GIESE, AC. Photobiology and oen problems. In: PRATESI, R; SACCHI, CA. **Laseres Photomed. Photobiol.** Springer Verlag, p. 26-39,1980.

GLINKOWSKY, W; ROWINSKI, J. Effect of low incident levels of infrared laser energy on the healing of experimental bone fractures. **Laser Ther.** v. 7, p. 67-70, 1995.

GOMES, D.R.; SERRA, M.C.; PELLON, M.A. **Tratamento de queimaduras** – um guia prático. Rio de Janeiro: Revinter, 1997.

GRAY, H. **Anatomia.** 29.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia dermatofuncional:** fundamento, recursos e patologias. 3. ed. Rev.Ampl.. São Paulo: Manole, 2002.

GUYTON, A.C. **Fisiologia Humana.** 5. ed., Rio de Janeiro: Interamericana, 1981.

GUZZARELLA, G.A. et al. Laser technology in orthopedics: preliminary study on low power laser therapy to improve the bone-biomaterial interface. **Int J Artif Organs**, v. 24, p. 898-902, dec. 2001.

HAAR, G., DYSON, M., OAKLEY, E.M. The use of ultrasound by physiotherapists in Britan. **Ultrasound Med Biol**, v.13, p. 659-663, 1985.

HASHISH, I. **The effects of ultrasound therapy on post operative inflamation.** Tese (Doutorado), Universidade de Londres, 1986.

HECKMAN, J.D; RYABY, J.P; MCCABE, J; FREY, J.J.; KILCOYNE, R.F. Acceleration of tibial fracture-healing by non-invasive, low-intensity pulsed ultrasound. **Jornal of Bone and Joint Surgery**, v. 76, p. 26-34, 1994.

HERCH J; TERESI, D. **El rayo laser.** Barcelona: Salvat Editores . 1987.

HOBKIRK, J.A; WATSON, R.M; ALBREKTSSON, T. **Implatologia dental e maxilofacial.** Artes Médicas, p.13-16, 1996.

HOOGLAND, R. **Ultrasound therapy.** Enraf Nonius, Delf, Holand, 1986.

JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO J. **Histologia Básica.** 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

KARU, T. I. Photobiological fundamnetals of low-power laser therapy. **IEEE Journal os quantum Electrnics**, v. QE23, n.10, 1987.

KARU, T. I. **The Science of Low Power Laser Therapy**, London: :Gordon and Breach, 1998.

KITCHEN, S.; BAZIN, S. **Eletroterapia de Clayton.** 10.ed. São Paulo, Manole,1996. p. 191-210.

KITCHEN, S.S; PARTRIDGE, C.J. A review of low level laser therdapy. **Physiotherapy**, v. 77, n.3, p. 161-168, 1991.

LIZARELLI, R. F. Z; LAMANO, C.T.L. 1999 **Histometrical evaluation of the healing of the dental alveolus in rats irradiation with a low-powered GaAlAs laser.** *Lasers Dent*, n. 3543, p. 49-56, 1999.

LOMNITSKII, I; BINIASHEVSKII, E.U. **Mechanism of the stimulation of reparative osteogenesis by laser irradiation.** *Stomalogia (Mosk)*. v. 62, n.5, p. 18-20, 1983.

LUGER, E.J. et al. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surgery Medicine*, v. 22, n.2, p. 97-102, 1998.

MARINO, J.A.M. Efeito do laser terapêutico de baixa potência sobre o processo de regeneração óssea em tíbia de rato. 107p. Dissertação-Universidade Federal de São Carlos, 2003.

MAYR, E. et al. Does low intensity, pulsed ultrasound speed healing of scaphoid fractures. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, v.32, n.2 p. 115-122, 2000.

MESS, C. E. K. **The theory of the photographic process**, New York: The MacMillan Company, 1954. cap.5.

NILOLAU, R. N. **Efeito do laser de baixa potência (As-Ga-Al) em tecido ósseo de rato submetido à lesão, analisado por histomorfometria óssea.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, 2001.

NYMAN, S; GOTTLow, J.;KRRING, T. Reattachment- new attachment. **Textbook of Clinical Periodontology**. 2. ed. Copenhagen: Muunksgard, p.450-476, 1989.

OHSHIRO T. **Low Reactive-level Laser Therapy: Practical Application**. Chichester: Wiley, 1991.

OLIVEIRA, M.A.M. **Efeito da radiação laser não cirúrgico na bioestimulação óssea pós-implante: análise com Microscopia Eletrônica de Varredura.** (Monografia – especialização em Cirurgia e Traumatologia buço Maxilo Facial) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.

ORTIZ M.C.S., CARRINHO P.M., SANTOS A.A.S., GONÇALVES R.C., PARIZOTTO N.A. Laser de baixa intensidade: princípios e generalidades – Parte 1. **Fisioterapia Brasil.** v.2, n.4, p. 221-240, 2001.

OZAWA, Y; SHIMIZU, N; KARIYA, G; ABIKO,Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone.** v.22, n.4, p. 347-354, 1998.

PILLA, A A; FIQUEIREDO, M.; NASSAR, P.; MONT, M.; KHAN, S.; KAUFMAN, J.J; SIFFERT, R.S. Non-intensity pulsed ultrasound: a potent accelerator of bone repair. **Trans. Orthop. Res. Soc.** v. 15, p. 139,1990.

ROBBINS, S.L; COTRAN, R.S; KUMAR, V. **Patologia estrutural e Funcional.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.50-61,1994.

ROSS, M.; ROWRELL, L. J. **Histologia: Texto e Atlas.** São Paulo: Panamericana, 1993.

SAITO, S.; SHIMISU, N. Estimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. **J. Orthod. Dentofac. Orthop.** v. 111, n. 5, p. 32-525, 1997.

SAMPAIO, S.A.P. ; RIVITTI, E.A. **Dermatologia.** 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 2001.

SATHAIAH, S; NICOLAU, R.A; ZÂNGARO, R.A. **Promotion of bone repair by low power laser therapy: araman spectral investigation** In: international conference ICASS and FACSS, 45, p. 24-29, Canadá, 1999.

SCHENK, R.K. Regeneração óssea bases biológicas. In: BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R.K. **Regeneração Óssea Guiada na Implantologia**. São Paulo: Quintessence Books, 1996.

SCHENK, R.K. Biology of fracture repair. In: BROWNER, BD et al. **Skeletal Trauma**. Philadelphia: Saunders, 1992. p.31-75.

SILVA, C.M.M. **Avaliação da ação do alendronato sódio sobre a reparação óssea na ausência dos hormônios ovarianos**. 103f 2000. Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal)- Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 2000.

SILVA JUNIOR, et al. Computarezed morphometric assesment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. **Journal of clinical Laser Medicine & Surgery**, v.20, n. 2, p 83-87, 2002.

STEVENS, A; LOWE, J. Sistema Muscular Esquelético. In:\_\_\_\_\_. **Histologia Humana**. São Paulo: Manole, 2000. p. 227-250.

SUN, J. et. al. Bone defect healing enhanced by ultrasound stimulation: an in vitro tissue culture model. **J Biomed Mater Res**, v. 46, n.2, p. 253-261, 1999.

SVAASAND, L.O. Bioestimulation with low-intensity lasers- physics or metaphysics? **Nordisk Med** p.105-172, 1990.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: An experimental study in rat. **Int J Oral Maxillofac Surg**. v.17, p. 388-391, 1988.

TAKIKAWA, S. et al. Low-intensity pulsed ultrasound initiates bone healing in rat nonunion fracture model. **Journal of Ultrasound Medicine**, n.20, p.197-205, 2001.

TOREZAN, J.F.R. **Estudo comparativo entre dois tipos de superfícies de implantes cilíndricos de titânio análise histológica e biomecânica em Tíbia de coelhos. 1998.** Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica - Área de Cirurgia Buço -Maxilo - Facial). Faculdade de Odontologia de Piracicaba-Unicamp, 1998.

TRELLES, M.; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates faster with low power laser. **Lasers Surg Med**, v.7, p. 36-45, 1987.

TSAI, C.L.; CHAN, W.H.; LIU, T.K. Preliminary studies of duration and intensity of ultrasonic treatments on fracture repair. **Chinese Journal of Physiology** v.35, p. 21-26, 1992.

\_\_\_\_\_. Ultrasonic effect on fracture repair and prostaglandin E2 production. **Chinese Journal of Physiology**. v.34, p. 168, 1991.

TUNER J.; HODE L. **Low level laser therapy**. Clinical practice and scientific background. Sweden: Prima Books, 1999.

VEÇOSO, M.C. Mecanismos de ação e efeitos da radiação laser. In: \_\_\_\_\_. **Laser em fisioterapia**. São Paulo: Lovise, 1993. p.33.

YAAKOBI, K.; MALTZ, L.; ORON,U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (HeNe) irradiation. **Calcif. Tissue Int.**, v.59, p. 297-300, 1996.

YAMADA, K. Biological effect of low-power laser on clonal osteoblastic cells (Mc 3T3-E1). **Nippon Seikergoka Gakkai Zasshi**, v. 65, p.787-799, 1991.

YOUNG, S.R; DYSON, M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. **Ultrasound Med Biol**, v.16, p. 261-269, 1990.

YOUNG, SR; DYSON, M. The effect of therapeutic ultrasound on the healing of full-thickness excised skin lesions. **Ultrasonics**, v. 28, p. 175-180, 1990.

YURT, R.W. Role of the mast cell in trauma. In: DINEENM, P., HILDICK-SMITH, G.(eds) **The Surgical Wound**. Philadelphia: Lea and Febiger, 1981.p.62.