

Índice

Introdução	1
Materiais e Métodos	3
Desenvolvimento	3
I. Tecido Ósseo	3
II. Remodelação óssea	8
III. Engenharia de Tecidos	11
III. Regeneração óssea guiada/ Regeneração tecidual guiada	13
IV. Enxertos Ósseos	16
1. Autoenxertos	17
1.1. Osso esponjoso autólogo	17
1.2. Osso cortical autólogo	18
1.3. Osso autólogo vascularizado	18
2. Aspiração da medula óssea	18
3. Os homogêneos, alógenos ou aloenxertos	19
4. Xenoenxertos	19
VI. Biomateriais	20
VII. Laser	24
1. História do Laser	24
2. Fundamentos da física do laser	25
3. Propriedades da luz laser	27
4. Efeitos do Laser nos tecidos e normas de segurança para a utilização do Laser	29
5. Classificação dos Lasers	35
5.1 Laser de alta intensidade (LAI)	35
5.2 Laser de Média Intensidade (LMI)	35
5.3 Laser de Baixa Intensidade (LBI)	36
Discussão	41
Conclusão	44
Bibliografia	46

Índice de Figuras

Figure 1 - Estrutura do osso compacto e do osso esponjoso	6
Figure 2 - Princípios da Regeneração Óssea Guiada	14
Figure 3 - Comprimento de onda dos vários Lasers	26
Figure 4 - Laser de baixa intensidade, possibilidade de regulação de parâmetros, DE , E e T. ...	27
Figure 5 - Características da luz laser de monocromaticidade	28
Figure 6 - Características da luz laser de coerência.	28
Figure 7 - Características da luz laser de unidireccionalidade e colimação.	29
Figure 8 - Interação do Laser nos tecidos.....	30
Figure 9 - Lasers no espectro electromagnético	31
Figure 10 - Óculos de protecção do médico dentista, paciente e assistente de Medicina dentária	33
Figure 11 - Secagem da área de aplicação do laser	34
Figure 12 - Aplicação do laser na perpendicular em relação ao tecido e aspiração em simultâneo	35

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Biomateriais clinicamente utilizados para osso e reparação de tecidos moles relacionados.....	21
Tabela 2- Efeitos biológicos do laser.....	30

Índice de Siglas Abreviaturas

Å – Angstroms

A –Área

ANSI – American National standard for safe use of Lasers in Health care facilities

ArF – Argon Fluoride

AsGa – Arsenieto de Gálio

AsGaAL – Arsenieto de Gálio e Alumínio

BMPs - Proteínas Morfogénicas do Osso

Cm² – centímetros quadrados

CO₂ – Dióxido de Carbono

COX – Ciclogenase

DE – Densidade de Energia

DP – Densidade de Potencia

E – energia

EM – Espectro electromagnético

Er:YAG – Érbio-Ítrio-Alumínio-Granada

F₂ – Fluorine

h – constant de Plank

He-Ne – Hélio-Neónio

Hz – Hertz

IR – Infravermelho

J – Joules

KrF - Krypton Fluoride

LAI – Laser de Alta Intensidade

Laser – Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificação da luz por emissão estimulada de radiação)

LBI – Laser de Baixa Intensidade

LMI – Laser de Média Intensidade

m – metros

MEC – Matriz Extracelular

MOD – Matriz Óssea Desmineralizada

MPE – Maximum Permissible Exposure

nanómetros – nm

Nd:YAG – Neodímio-Ítrio-Alumínio-Granada

Nd:YAP – Neodímio-Ítrio-Alumínio-Perovisquite

NHZ – Nominal Hazard Zone

P – Potencia

PGE₂ - Prostaglandina E₂

PGI₂ - Prostaglandina I₂

Pps – pulsos por segundo

ROG - Regeneração Óssea Guiada

S – segundos

T – tempo

UV – ultravioleta

v – frequência

W – Watts

XeCl – Xenon Chloride

XeF – Xenon Fluoride

λ – Comprimento de onda

μm – Micrómetros

Introdução

O tema deste trabalho é Laser de Baixa Intensidade na Regeneração óssea.

A escolha deste tema teve como ponto de partida a realização de um curso na Universidade de São Paulo sobre laser de baixa intensidade para profissionais na área da Saúde. Esta formação despertou-me bastante interesse pelas suas inúmeras aplicações e resultados. Como tal, decidi aprofundar conhecimentos na área da regeneração óssea, de forma a tornar vantajoso o acesso às novas ferramentas médicas, melhorar a prática clínica e consequentemente proporcionar um melhor tratamento e satisfação do paciente.

Ao longo do tempo inúmeros estudos têm sido realizados relativamente à grande capacidade regenerativa do osso. Não obstante, diversas questões foram também surgindo.

Presentemente as perdas ósseas devido a traumas, casos de fracturas (Chow, L. 2009), osteomielites (Spiegel, D. e Penny, J. 2005), tumores odontogénicos (Adebayo, E., Fomete, B. e Ajike, S. 2012), lesões císticas (Dixit S., Acharya S. e Dixit P. 2009), defeitos ósseos periodontais (Souza, P. e Lerner, H. 2003), juntamente com a necessidade de colocação de implantes e a sua osteointegração (Prockt, A., Takahashi, A. e Pagnoncelli, R. 2008) têm levado a uma constante busca de conhecimento na área da regeneração óssea. Desta forma, têm se vindo a desenvolver métodos e materiais que enfatizam a capacidade regenerativa do osso.

Nesse seguimento, e uma vez que durante muitos séculos utilizou-se a luz como instrumento terapêutico, expondo o corpo do doente à luz solar como forma de tratamento de inúmeras doenças. Conjugou-se o método antigo da terapia da luz e a tecnologia a que hoje se tem acesso, tendo-se desenvolvido o Laser (Parker, S. 2007).

Nas últimas décadas, assistiu-se a uma evolução nas aplicações médicas dos aparelhos a Laser, estes foram introduzidos na Medicina Dentária e têm vindo a ser sugeridos em

diversas áreas (Walsh, L. 2003).

Os primeiros lasers a serem inseridos tinham conotação cirúrgica, verificando-se que eram notoriamente vantajosos na cirurgia (Jorge A., Cassoni, A e Rodrigues, J. 2010). Contudo, o tópico de recente interesse são os lasers de baixa intensidade que têm sido desenvolvidos com propósitos terapêuticos (Prockt, A., Takahashi, A. e Pagnoncelli, R. 2008).

De acordo com a literatura os lasers de baixa intensidade têm demonstrado efeitos vantajosos na regeneração óssea, acelerando o processo de reparação óssea, aumentando a formação (Diniz *et al.*, 2008) e densidade do osso (Poppi, R. *et al.*, 2011).

Seguindo esta linha de raciocínio, e apesar deste tema ser bastante controverso, apresentando limitações relativamente à falta de uniformidade dos protocolos aplicados nos diferentes estudos, pretende-se chegar aos seguintes objectivos principais:

- Conhecimento da biologia do osso e do processo de reparação óssea, materiais e técnicas co-adjuvantes no processo de regeneração óssea;
- Capacidade regenerativa do laser de baixa intensidade de forma quantitativa, qualitativa e velocidade de reparação do osso formado;
- Elucidar os profissionais de saúde para a necessidade de formação continua, como forma de beneficiar do avanço da tecnologia médica;
- Efectuar uma revisão bibliográfica sobre o tema.

Concluiu-se que as alterações biológicas e fisiológicas do osso aquando a utilização do LBI resultam num aumento da proliferação e diferenciação de osteoblastos, quantidade de osso formado e aceleram o processo de reparação/regeneração óssea.

Em alguns casos o osso tornou-se mais mineralizado e resistente, bastante proveitoso principalmente em pacientes com patologias sistémicas e/ou locais relativamente aos leitos receptores dos implantes que beneficiam com um aumento do volume e da densidade.

Materiais e Métodos

De modo a ir de encontro aos objectivos propostos, foi efectuada uma pesquisa bibliográfica num período compreendido entre Janeiro de 1990 e Junho de 2013, nas bases de dados, Pubmed (Medline), Scielo e B-on. Na pesquisa seleccionou-se no tipo de artigos "Clinical trial", "review" e "meta-analysis", com a disponibilidade de texto "Free full text available" e "Full text available", as palavras-chave foram: "*Low level laser therapy and bone regeneration*"; "*Bone tissue and engineering laser*"; "*Guided bone and regeneration Laser*" e "*bone graft and low laser therapy*" tendo-se obtido 82, 362, 54 e 50 artigos, respectivamente e perfazendo um total de 548.

A partir dos 548 seleccionaram os artigos em português e inglês, foram realizadas leituras ao abstract e foram excluídos os que não se relacionavam com o tema, fazendo um total de 140 artigos seleccionados.

Foram também utilizados 12 livros pelo seu interesse e complementaridade dos artigos.

Desenvolvimento

I. Tecido Ósseo

A regeneração é geralmente designada como a reposição dos componentes dissipados ou perdidos do organismo. Esse processo pode ser desigual entre os diversos tipos de tecidos, tendo alguns alta capacidade regenerativa toda a vida e outros cicatrizar por reparação (Buser, D. *et al.*, 1996). O tecido ósseo tem uma alta capacidade regenerativa durante o crescimento não obstante, atingindo a idade adulta, a remodelação óssea é muito baixa, apenas é aumentada devido a lesões (Stevens, B. e Lowe, J. 2001). O crescimento, a reparação, a alteração de forma, a síntese de novo tecido ósseo e, até mesmo, a reabsorção deste é conseguido devido à interacção dos seus constituintes.

O Tecido ósseo possui várias funções, além de servir de sustentação a diversas partes moles do organismo, este protege a medula óssea e alguns dos órgãos vitais (cérebro e o coração). Para além dessa função, este tecido intervém na deslocação desenvolvendo

um sistema de alavancas para os músculos de forma a impulsionar a movimentação. A última funcionalidade deste tecido é a sua capacidade de depósito para alguns sais minerais e iões tais como o cálcio e o fosfato, tendo a capacidade de os libertar de forma regulada de forma a não haver alterações na concentração destes no organismo (Gitirana, B. 2004).

O osso é revestido na sua face externa pelo perióstio ou seja, por tecido conjuntivo denso. Já na sua face interna existe tecido conjuntivo laxo que constitui o endóstio. As fibras de Sharpey também constituem o osso, estas são fibras de colagénio que partindo do perióstio, penetram no tecido ósseo e fixam-no ao osso. É também a partir do perióstio que os vasos sanguíneos penetram o osso. Este revestimento externo e interno ocorre em todo o osso com excepção das cartilagens sinoviais (Gitirana, B. 2004).

Histologicamente pode definir-se o tecido ósseo como uma forma altamente especializada de tecido conjuntivo, formado por células e material extracelular calcificado denominado de matriz óssea (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

A matriz óssea é constituída por substâncias orgânicas e inorgânicas. As orgânicas são, principalmente, a proteína colagénica tipo I e em menor quantidade proteoglicanas e proteínas não colagénicas. Relativamente à fracção de substâncias inorgânicas, são sais de cálcio e de fosfato que constituem uma estrutura de cristais de hidroxiapatite. Estão também presentes o bicarbonato, o sódio, o potássio e o citrato (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

Existem quatro tipos de células no tecido ósseo, as células osteoprogenitoras, os osteócitos, os osteoblastos e os osteoclastos (Ross, M. *et al.*, 1993).

Células osteoprogenitoras: são células que estão de reserva, podendo ser estimuladas de forma a se transformar num osteoblasto e assim produzir matriz óssea. Encontram-se nas superfícies dos ossos durante o crescimento e no adulto durante a remodelação óssea (Ross, M. *et al.*, 1993).

Osteócitos: Os osteócitos são osteoblastos maduros que perdem a capacidade de síntese de matriz óssea. Alguns dos osteoblastos ficam retidos nas lacunas e passam a ser denominados de osteócitos. A quantidade de osteoblastos que se transformam em osteócitos é dependente da velocidade de formação do osso. O osso embrionário e o osso de reparação óssea tem mais osteócitos que o osso lamelar (Nanci, A. 2003).

Osteoblastos: são responsáveis pela produção da matriz óssea. Secreta o colagénio e a substancia fundamental e constituem o osso inicial não mineralizado (ióide). Esta célula também interfere na calcificação da matriz secretando para o seu interior umas vesículas (ricas em fosfatase alcalina e cálcio) que ao rebentarem têm a capacidade de iniciar a mineralização (Ross, M. *et al.*, 1993).

Osteoclastos: a sua função é reabsorver o osso, quando activos os osteoclastos repousam sobre a superfície do osso em que vai ocorrer a reabsorção. Forma-se em baixo uma lacuna denominada lacuna de Howship ou de reabsorção (Ross, M. *et al.*, 1993).

No que concerne ao tamanho ósseo, estes podem ser classificados em: longos, curtos, achatados ou irregulares. (Seeley, R. *et al.*, 2005).

Relativamente à estrutura do osso, a região mais densa e compacta denomina-se osso compacto ou cortical enquanto que a mais porosa, constituída por trabéculas e espículas ósseas ramificadas que se estendem em direcção à medula óssea designa-se de osso esponjoso ou trabéculado (Gitirana, B. 2004).

Correlacionando a classificação de tamanho dos ossos com a estrutura destes, tanto o osso esponjoso como compacto, estão presentes em todos os ossos, contudo, numa disposição diferente. Os ossos longos são compostos por duas epífises e uma diáfise. Estes, possuem osso esponjoso na epífise e osso cortical na diáfise, envolvendo-os encontra-se osso cortical. Relativamente aos ossos curtos e irregulares, o exterior é constituído por osso compacto e o interior por osso esponjoso (Phipps, W., Stephens, T. e Tate, P. *et al.*, 2003).

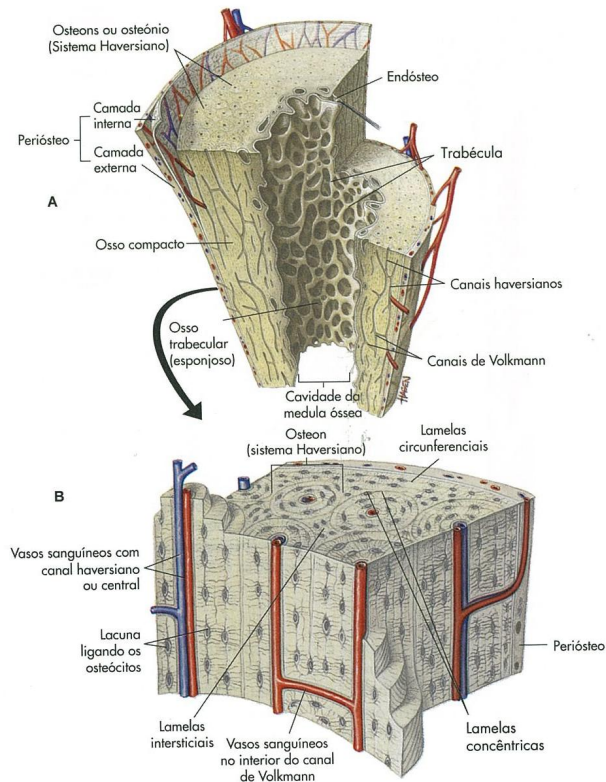


Figure 1 - Estrutura do osso compacto e do osso esponjoso, A- corte longitudinal de um osso longo, visualização do osso compacto e o osso esponjoso. B- Ampliação da ilustração do osso compacto. Adaptado de Phipps, W., Stephens, T e Tate, P. *et al.*, 2003.

Histologicamente podemos observar dois tipos de tecidos ósseos, o tecido ósseo primário (imaturo) e o tecido ósseo secundário (maduro, lamelar). Ambos são formados pelas mesmas células e os mesmos constituintes no entanto o tecido primário é temporário e tende a ser substituído pelo secundário (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

O tecido ósseo primário é assim designado porque é o primeiro tecido a ser formado no osso. Inicialmente é não lamelar sendo progressivamente substituído por lamelar. Este tecido ósseo apresenta uma grande quantidade de osteócitos, fibras de colagénio desorganizadas e uma menor quantidade de minerais (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

O tecido ósseo secundário é composto pelos osteócitos que se encontram espalhados entre lamelas ósseas ou dentro delas e a matriz óssea é mais calcificada em comparação com o osso primário (Gitirana, B. 2004). Este tecido é essencialmente caracterizado

pelas fibras de colagénio (em lamelas) que se encontram organizadas, ficando paralelas umas às outras posicionando-se em camadas concêntricas ao redor de canais com vasos, formando assim os canais de Havers ou ósteons (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008). O facto das lamelas estarem dispostas desta forma permite uma repartição das forças que actuam sobre o tecido ósseo. (Gitirana, B. 2004).

Segundo Junqueira, L e Carneiro, J (2008) as lamelas ósseas organizam-se em 4 sistemas: sistemas circunferências internos, externos, intermediários e de Havers.

Os sistemas circunferenciais interno e externo são compostos por duas faixas, essas faixas estabelecem-se devido à presença de lamelas paralelas em que, uma se encontra ao redor do canal medular, e outra próxima do perióstio (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

Os canais intermédios encontram-se entre os dois sistemas (juntamente com os canais de Havers e os grupos irregulares de lamelas) e têm geralmente uma forma triangular, proveniente de restos de sistemas de Havers que foram destruídos (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

O sistema de Havers é constituído por 20 lamelas concêntricas que formam um cilindro, no centro deste existe um canal onde se encontram vasos e nervos. Esse canal é revestido por endóstio e é denominado canal de Havers. Estes canais estão interligados através dos canais de Volkmann que se encontram transversalmente ou obliquamente permitindo também a comunicação com a superfície externa do osso e com a cavidade medular (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008). Esta complexidade de canais possibilita assim a circulação de artérias e nervos até à cavidade central do osso com o regresso pelas veias (Gitirana, B. 2008). Os canais vasculares só surgem quando se forma matriz óssea ao redor dos vasos existentes (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008).

Sendo um tecido vascularizado, o tecido ósseo irá responder a uma agressão por meio de uma resposta inflamatória (Genovese, W. 2007). Assim sendo, após o defeito ósseo dá início o processo inflamatório e conseqüentemente ocorre proliferação celular de

forma a iniciar os processos de reparação e remodelação óssea necessários para a reconstrução do tecido ósseo. (Genovese, W. 2007).

II. Remodelação óssea

Como visto anteriormente o osso é um tecido biológico dinâmico composto de células metabolicamente activas que estão integradas numa estrutura rígida. A deposição óssea e a reabsorção permite um processo de remodelação (Kalfas, I. 2001) que tem como função ajustar a arquitetura óssea de forma a responder às necessidades mecânicas e a reparar eventuais danos na matriz óssea (Hadjidakis D. e Androulakis, I. 2006).

O tecido ósseo pode ser formado por um processo designado por ossificação intramembranosa que ocorre no interior de membranas de tecido conjuntivo ou por ossificação endocondral que se inicia como cartilagem hialina mas que posteriormente é substituído por tecido ósseo. Como referido anteriormente, este tecido inicialmente formado é um tecido primário que gradualmente é substituído por tecido secundário (Junqueira, L. e Carneiro, J. 2008). Por se tratar de um tecido dinâmico, encontra-se constantemente em remodelação e podemos observar tecido primário e secundário em simultâneo.

Uma combinação de formação e reabsorção de tecido ósseo persiste durante o crescimento do osso. Esta remodelação ocorre em maior quantidade em bebés e crianças mas também ocorre em adultos embora em menor quantidade, na consequência de fracturas ou processos patológicos (Stevens, A e Lowe, J. 2001).

A remodelação óssea é caracterizada por um processo cíclico que ocorre essencialmente através da acção dos osteoblastos e dos osteoclastos. Os osteoblastos fazem a aposição óssea e os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção. Ambos possibilitam uma perfeita homeostasia tecidular (Fernández, J. 2012; Junqueira, L. e Carneiro, J. 2008; Pretel, H., Rosane, F e Ramalho, L. 2007).

O processo de regeneração óssea não é apenas biológico, este também pode ser influenciado por factores como estímulos biofísicos (mecânicos) e bioquímicos que são

de grande importância para a preservação do osso (Meyer, U., Joos, H. e Wiesmann, H. 2004).

Segundo a lei de Wolff, existe uma relação entre o stress transferido e a arquitectura dos ossos uma vez que o osso tem a capacidade de se adaptar a diversos padrões de stress. A magnitude e a direcção das forças exercidas a um defeito ósseo influenciam as propriedades do material e a orientação do novo osso formado (Elias, J. *et al.*, 2000) desta forma, o osso consegue alterar a sua estrutura de forma a conseguir suportar essas novas exigências mecânicas. (Wolff, J. 1986 *cit in* Tsubota, K. *et al.*, 2009).

Este processo é complexo e só é permitido se existir remodelação óssea, que como supracitado intervêm duas actividades celulares opostas, as células osteoblásticas e osteoclásticas que permitem a formação de osso e a reabsorção deste, respectivamente (Junqueira, L. e Carneiro, J. 2008).

Seguindo os princípios da lei de Wolff, a sobrecarga exercida sobre o osso gera potenciais eléctricos que é baseada no conceito de piezoelectricidade (Ferreira, A. 2009).

Segundo o fenómeno de piezoelectricidade a remodelação óssea pode ser influenciada por dois polos eléctricos (Fernández, J. 2012). Uma corrente eléctrica pode surgir a partir de uma diferença de potencial proveniente da aplicação de forças externas num tecido ósseo. São então formadas duas zonas distintas, uma de compressão e uma tracção. Nas zonas de compressão ficam concentrados os electrões (local com potencial negativo) e nas zonas de tracção ficam sem electrões (local com potencial positivo). Uma vez que as cargas negativas têm a capacidade de activar os osteoblastos e as cargas positivas activam osteoclastos ocorre a aposição e a reabsorção óssea, remodelando o osso. A partir de forças externas podemos então promover a migração das células de interesse, ajudando no processo de reparação do tecido (Noris-Suárez K. *et al.*, 2007)

Segundo Chao, E. e Inoue, N. (2003) o tipo de stress aplicado em tecidos imaturos ou indiferenciados pode ditar o seu destino regenerativo. Isto é, forças intermitentes, compressivas ou de cisalhamento dão origem à ossificação endocondral, a tensão dá

origem a ossificação intramembranosa, stress compressivo constantemente inibe a ossificação endocondral e forma cartilagem, por fim, altas forças de cisalhamento originam tecido fibroso.

A reparação/remodelação de um tecido ósseo ocorre após uma lesão. Existem diversas fases no processo de consolidação/reparo do osso: a fase inflamatória; a fase de reparação e a fase de remodelação (Burchardt, H. 1978 *cit in* Kalfas, I. 2001); (DePalma, 1972 *cit in* Kalfas, 2001).

Na fase de inflamação um hematoma é desenvolvido dentro das trabéculas ósseas fracturadas durante as primeiras horas a dias. As células inflamatórias (macrófagos, células polimorfonucleares e linfócitos) juntamente com os fibroblastos infiltram o osso através da mediação de prostaglandinas (kalfas, I. 2001).

Um tecido de granulação é formado, ocorrendo também a migração de células mesenquimais. Os primeiros nutrientes e oxigénio é fornecido por osso esponjoso exposto e musculo. O uso de anti-inflamatórios e medicação citotóxica durante a primeira semana pode alterar a resposta inflamatória e inibe a reparação óssea (kalfas, I. 2001).

Durante o processo de consolidação o suprimento sanguíneo é essencial, sem ele as células intervenientes no local de fractura morrem (Croci, A. *et al*, 2003).

Na fase de reparação óssea os fibroblastos começam a estabelecer um estroma que ajuda no suporte vascular. Enquanto o processo de vascularização ocorre, as fibras de colagénio e substancia fundamental são formadas a partir dos osteoblastos (provenientes do mesenquima) (Guidugli-neto, J. 1997) dando origem ao osteóide que posteriormente é mineralizado levando à formação de um calo ósseo em redor do local de reparação. Este calo tem pouca resistência nas primeiras 4 a 6 semanas do processo de reparo. (kalfas, I. 2001).

Como referido anteriormente, são depositadas fibras de colagénio, estas estão desorganizadas dando origem ao osso não lamelar (imaturado) simultaneamente a este

processo, ocorre a formação de cartilagem. Esta última só se forma em locais em que há mais movimento. Assim, os condroblastos acabam por morrer e a matriz é calcificada. Esta matriz e o osso não lamelar são invadidos por osteoblastos, osteoclastos e capilares. Ocorre assim, a substituição de tecido cartilágneo por tecido ósseo (ossificação endocondral) (Guilduglineto, J. 1997).

No calo provisório é depositada matriz osteóide que calcifica. O reparo da fractura é completo durante o processo de remodelação óssea. Esta ocorre lentamente durante meses até anos. (kalfas, I. 2001) Os feixes de colagénio orientam-se formando os sistemas de Havers e assim formando o osso lamelar (Guilduglineto, J. 1997). Nesta fase o osso é restaurado até à sua forma, estrutura e força mecânica originais.

É essencialmente devido às células vivas do tecido ósseo que a remodelação ocorre. A engenharia de tecidos tem como objectivo, a partir dessas células vivas desenvolver métodos de forma a substituir um tecido ou órgão humano através da sua regeneração ou substituição. Para regenerar ou substituir um tecido através de células vivas é necessário um suporte que permita a proliferação celular e conduza o crescimento do tecido de forma a organiza-lo para que este exerça a sua função correctamente (Vacanti, J e Vacanti, C. 2007).

III. Engenharia de Tecidos

A substituição e reparação de osso perdido devido a trauma, patologias do complexo estomatognático e defeitos ósseos periodontais é um grande desafio clínico. Com efeito o tecido ósseo tem uma grande importância funcional e a sua capacidade regenerativa tornou-se um alvo para a engenharia de tecidos cuja investigação tem aumentado bastante nos últimos anos (Horner, E. *et al.*, 2010).

Com o objectivo de estabelecer novas estratégias terapêuticas abordou-se este tema de uma forma interdisciplinar (Drosse, I. *et al.*, 2008) procurando-se traduzir resultados de pesquisas nas áreas de ciência de biomateriais, biologia de células mesenquimais, e biomineralização em aplicações clínicas (Horner, E. *et al.*, 2010). Diversos animais tais como ratos (Seitz, S *et al*, 2007), ovelhas (Schantz, J. *et al.*, 2002) e coelhos (El-

Ghannam, A. *et al.*, 2007) foram utilizados como modelos para a regeneração óssea.

Com o passar do tempo, assistimos assim a diversos avanços nesta área. Várias técnicas e materiais surgiram, no entanto, é imprescindível conhecer a biologia do osso e o processo de reparação óssea. A aplicação dos enxertos ósseos autógenos, alógenos, proteínas Morfogénicas do osso (BMPs), células mesenquimais, entre outros, podem ser utilizados presentemente como ferramentas na regeneração óssea (Giannoudis, P. 2005).

Para além da selecção do material e da técnica adequada, alguns princípios biológicos da engenharia de tecidos devem ser respeitados de forma a maximizar a capacidade de regeneração óssea e assim promover a osteointegração. Estes são: a osteogénese, a osteocondução e a osteoindução (Vaccaro, A. *et al.*, 2002).

A osteogénese é a capacidade que o enxerto tem de produzir novo osso, este processo é dependente da presença de células vivas do osso. Os materiais de enxerto ósseo podem conter células vivas com a capacidade de formar osso (osteoblastos). Exemplos: osso autógeno recente e em células da medula óssea (Muschler, G., Lane, J. e Dawson, E. 1990)

A osteocondução é a capacidade que o material tem em dirigir a proliferação do novo tecido ósseo formado através de um arcabouço, a sua matriz de suporte. Enquanto que o tecido ósseo é formado, a matriz deve ser reabsorvida de forma a que o tecido substitua o local da matriz. São estes materiais osteocondutores que formam um arcabouço permitindo a deposição e proliferação de células com a capacidade de produzir tecido ósseo (actividade osteoblástica) (Carvalho, P. *et al.*, 2004). Exemplos: autoenxertos ósseos e aloenxertos esponjosos, hidróxido de cálcio, colagénio e fosfato de cálcio. (Muschler, G., Lane, J. e Dawson, E. 1990)

A osteoindução é a capacidade que o material do enxerto possui de induzir a formação de novo tecido ósseo pela diferenciação de células mesenquimais em células maduras do osso (Muschler, G., Lane, J. e Dawson, E. 1990). Este processo é tipicamente associado com a presença de factores de crescimento ósseos dentro do biomaterial ou como um suplemento do enxerto ósseo. (Carvalho, P. *et al.*, 2004) Exemplos: Proteínas

morfogénicas do osso e a MOD (Muschler, G., Lane, J. e Dawson, E. 1990).

Segundo Drosse, I. *et al.* (2008) e de acordo com os princípios biológicos da engenharia novas opções de tratamento oferecem todos os elementos chaves para a reparação de fracturas e regeneração de tecidos ósseos de forma a melhorar substancialmente os resultados nos pacientes. Os elementos são os seguintes: células osteoprogenitoras, matrizes osteocondutoras (*scaffold*), factores de crescimento osteoindutores e suplementos sanguíneos.

Através desta engenharia podemos manipular *in vitro* o tecido ósseo com a aplicação de células activas metabolicamente num suporte tri-dimensional (Meyer, U. e Joos, H. e Wiesmann, H. 2004) acrescentando a aplicação controlada de factores de crescimento de forma a tornar vitais os enxertos de biomateriais e implanta-los repondo a função do tecido no local lesado (Drosse, I. *et al.*, 2008).

Segundo Rakhmatia, Y. *et al.*, 2013, para aplicações dentárias, diversos métodos foram desenvolvidos de forma a ampliar o volume do osso e aumentar o processo de crescimento do novo tecido. Para além da osteoindução e osteocondução temos também distracção óssea e a regeneração óssea guiada.

Actualmente, a Regeneração Óssea Guiada (ROG) e o uso de materiais de enxerto ósseo ou a combinação de ambos os métodos apresentam resultados muito satisfatórios na suas aplicações clínicas (Chiapasco, M. 2009; Hammerle, C. 2002).

III. Regeneração óssea guiada/ Regeneração tecidular guiada

Conjugar os princípios da engenharia de tecidos com os métodos desenvolvidos é fundamental para melhorar os resultados da regeneração óssea. Assim sendo, com a técnica da ROG começaram a ser utilizadas membranas de forma a separar o tecido conectivo circundante da área pretendida para a regeneração óssea (área que poderá estar preenchida por biomateriais), de acordo com os princípios da ROG (Rothamel, D. *et al.*, 2012).

A regeneração óssea guiada foi introduzida à cerca de 50 anos atrás a partir da utilização de filtros de acetato de celulose que foram utilizados para a regeneração de nervosa tendões (Ashley, 1959 *cit in* Rakhmatia, Y. *et al.*, 2003). Actualmente a ROG é considerada uma sub-área especializada da engenharia de tecidos (Kellomaki, M. *et al.*, 2000).

Os princípios básicos da ROG envolve a colocação de barreiras mecânicas para proteger os coágulos de sangue e para isolar o defeito ósseo do tecido de conectivo ao seu redor, ou seja, a membrana (barreira mecânica) impede a proliferação de fibroblastos e proporciona um espaço próprio para a osteogénese juntamente com o coágulo (Murray G, Holden R, Roschlau W., 1957 *cit in* Leeuwen, A. *et al.*, 2012).

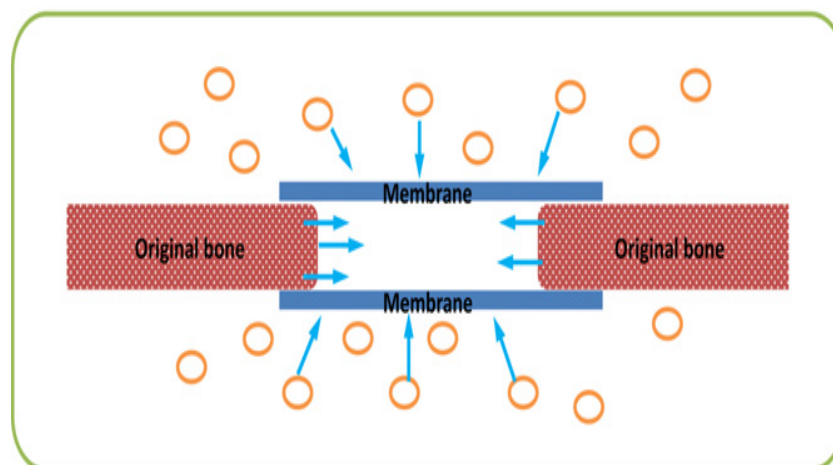


Figure 2 - Princípios da Regeneração Óssea Guiada, adaptado de Rakhmatia, Y et al., 2003

De acordo com este princípio, o uso da barreira é vantajoso, facilitando o aumento do rebordo alveolar (Hammerle, C. *et al.*, 2003; Hallman, M. *et al.*, 2002; Polimeni, G. *et al.*, 2004), melhora nos resultados dos enxertos ósseos (Taschieri, S. *et al.*, 2007) e de defeitos periodontais (Rosetti, E. *et al.*, 2013).

Para melhores resultados da regeneração óssea guiada um design adequado da membrana óssea é fundamental para esta exercer as suas funções que para além aumentar o novo osso formado e estabilizar o enxerto ósseo que se encontra por baixo

membrana também minimiza os riscos da membrana colapsar e permitir a proliferação de fibroblastos para o local destinado a tecido ósseo (Santana, R. 2010; El-Fayomy, S. *et al.*, 2003; Sverzut, C. *et al.*, 2008).

Para que estas membranas possam ser utilizadas como dispositivos médicos é necessário respeitar alguns critérios: biocompatibilidade, capacidade de criar um espaço, possuir oclusividade, integração tecidual e ser clinicamente maleável (Scantlebury, T. 1993).

Para que a membrana garanta o suporte e estabilidade necessários tem que possuir, por ela própria uma estabilidade ótima. Uma vez que as membranas mais bioabsorvíveis são mais maleáveis, estas não podem ser aplicadas sem fixação adicional (Matsuo, A. 2010). Segundo Amano, Y. *et al.*, (2004) a formação óssea é potencialmente aumentada quando a membrana reabsorvível está imobilizada na superfície do osso.

O efeito de barreira pode ser atingido com vários materiais biocompatíveis. A seleção adequada do material pode proporcionar um aumento do crescimento ósseo ao longo da superfície do dispositivo utilizado. Um *scaffold* utilizado para cobrir um local de fractura ou um defeito ósseo serve como um guia para a regeneração óssea. No entanto o tipo de *scaffold* utilizado irá depender do tipo de aplicação e do lugar da aplicação. Os *scaffolds* podem ser membranas, malhas, placas, parafusos, entre outros (Kellomaki, M. *et al.*, 2000).

Actualmente, podemos ter acesso a dois tipos de membranas. As não reabsorvíveis e as reabsorveis. As reabsorveis podem ser de colagénio (Behfarnia, P. *et al.*, 2012) e poliésteres como o poliglicólico e o polilático (Lee, E. *et al.*, 2009). As não reabsorvíveis incluem-se as de politetrafluretileno e a malha de titânio. (McAllister, B. *et al.*, 2007)

Embora as não reabsorvíveis sejam mais vantajosas relativamente à manutenção de um ótimo espaço destinado à regeneração óssea, outras características tornam-na desvantajosa, nomeadamente a necessidade de ser retirada numa segunda intervenção cirúrgica (Machtei, E. 2001; Wang, H e Carroll, W. 2001).

Os materiais de enxertos ósseos utilizados podem ser alógenos, autoenxertos, aloenxertos xenóenxertos e biomateriais, estes podem preencher o defeito ósseo (Allegrini, J. *et al.*, 2008). De acordo com Gugala, Z. 1999 (*cit in* Dimitriou, R. 2012) as membranas podem ajudar a prevenir, em cerca de 40% a 50%, a absorção do enxerto.

IV. Enxertos Ósseos

No início do século XX os defeitos ósseos e de tecidos moles devido a lesões ou patologias eram considerados incuráveis, a amputação, em casos de defeitos ósseos extensos era a sua única solução. No entanto, como visto anteriormente várias técnicas foram desenvolvidas de forma a superar esse tipo de situações (Giannoudis, P. 2005).

Como supracitado existem de facto, diversas situações que podem provocar perdas ósseas. Para a reabilitação de defeitos ósseos o osso autógeno permanece o Gold standard (Freitas, R. *et al.*, 2008) no entanto estão associadas algumas desvantagens tais como dor (Schlegel, K. *et al.*, 2003) e morbidade (Kim, D. *et al.*, 2009). Em alternativa aos enxertos autógenos temos os aloenxertos e os xenoenxertos que apresentam também restrições relativamente às barreiras imunológicas (rejeição) e ao risco de transmissão de doenças (Meyer, U., Joos, H. e Wiesmann, H. 2004); (Precheur, H. 2007).

Devido a esses inconvenientes, diferentes substitutos ósseos artificiais foram estabelecidos como alternativas de forma a suprimir as intolerâncias provocadas pelos enxertos mencionados e podem ser adquiridos na forma e quantidade necessária para preenchimento do defeito pretendido (Turrer, C. *et al.*, 2008).

Inúmeros substitutos ósseos artificiais foram desenvolvidos à base de metais, cerâmicas, polímeros e foram introduzidos com o intuito de manter a funcionalidade do osso (Oliveira, S. *et al.*, 2009). Não obstante, cada material tem específicas desvantagens e nenhum pode perfeitamente substituir os enxertos autógenos na prática clínica (Meyer, U., Joos, H. e Wiesmann, H. 2004).

Os materiais de enxertos ósseos podem ser autoenxertos, aloenxertos xenóenxertos e biomateriais sintéticos (aloplasticos) (Allegrini, J. *et al.*, 2008).

1. Autoenxertos

O material autólogo, foi usado desde 1978 para a regeneração óssea (Burchardt H. 1983 *cit in* Rodella, F. 2011) e é geralmente considerado o *Gold standard* em enxertos ósseos (Calori, A. 2012) visto que possui propriedades osteogénicas, osteocondutoras e osteoindutivas (Vaccaro, A. *et al.*, 2002).

O enxerto autógeno é retirado de um lugar anatómico e é transplantado para outro, no mesmo indivíduo. Este é classificado em 3 subtipos: enxertos autógenos esponjosos, corticais e corticais vascularizados. Estes subtipos de enxerto autógeno possuem, em diferentes graus, os três princípios fundamentais que estimulam o crescimento ósseo: osteogenicidade, osteocondutividade e osteoindutividade (Vaccaro, A. *et al.*, 2002).

Relativamente à origem dos enxertos ósseos autógenos, estes podem ser adquiridos a partir de locais extra-orais e intra-orais. Os locais extra-orais são: calota craniana, crista ilíaca, tibia, e costela. Os intra-orais são: tuberosidade maxilar, sínfise mandibular, corpo mandibular, ramo ascendente e zigoma (Raghoobar G. *et al.*, 2007). De acordo com Nóia, C. *et al.* (2009), para reconstruções da cavidade oral têm sido mais utilizados as áreas doadoras intra-orais nomeadamente a tuberosidade da maxila seguida pelo ramo ascendente e por ultimo a sínfise mandibular. As áreas doadoras extra-orais foram muito pouco utilizadas, sendo a crista ilíaca a região mais empregada, seguida pela tibia.

1.1.Osso esponjoso autólogo

De acordo com a constituição estrutural do osso, o osso esponjoso ou trabéculado é mais poroso. A maioria das autoenxertos utilizados são compostos por este osso. Uma vez que a sua porosidade é maior, pode ser mais rapidamente revascularizado, contém células osteoprogenitoras e células hematopoiéticas, assim a sua remodelação é mais

rápida (Enneking, 1975 *cit in* Vaccaro, A. *et al.*, 2002) e o sucesso da implantação também, como é demonstrado no caso de uma patologia lombar degenerativa que se utilizou este autoenxerto para fazer fusões ao nível da coluna vertebral (Manish, K. *et al.*, 2012). Contudo, este enxerto carece de resistência à compressão (Enneking, 1975 *cit in* Vaccaro, A. *et al.*, 2002).

1.2. Osso cortical autólogo

Como visto anteriormente na estrutura do osso, este é constituído por uma região mais densa, a cortical (Gitirana, B. 2004) que possui resistência mecânica, proporcionando-lhe um suporte da carga imediata (Boden, S. 2000). Devido ao facto desta camada ser mais densa, a sua revascularização é mais demorada pois a sua porosidade é reduzida, contém menos células osteoprogenitoras e células hematopoiéticas; assim sendo a sua remodelação é também mais lenta comparativamente ao osso esponjoso (Enneking, W. 1975 *cit in* Vaccaro, A. *et al.*, 2002).

1.3. Osso autólogo vascularizado

Enxertos autógenos vascularizados são colhidas juntamente com o seu pedículo vascular, que é anastomosado no lugar da sua aplicação. O suprimento vascular contínuo permite a incorporação óssea mais rápida. Este enxerto é indicado em casos seleccionados, tendo-se obtido bons resultados quando aplicado em defeitos com tamanhos superiores a 12 cm (Enneking, W. 1980 *cit in* Vaccaro, A. 2002).

2. Aspiração da medula óssea

O enxerto autógeno e a medula óssea são as únicas fontes disponíveis de células osteoprogenitoras. Num paciente jovem, cerca de 1:50000 é uma célula osteoprogenitora. O aspirado da medula óssea autógena pode ser utilizado sozinho ou utilizado como um adjuvante para alguns materiais de enxerto (Vaccaro *et al.*, 2002).

3. Os homogêneos, alógenos ou aloenxertos

Tecido ósseo é obtido a partir de doadores, ou seja, indivíduos da mesma espécie, no entanto com diferentes genótipos (Precheur, H. 2007) e são fornecidos a partir de bancos de ossos (Oltramari *et al.*, 2007). Este enxerto alógeno tem propriedades osteocondutoras e osteoindutoras (Oliveira *et al.*, 2009).

Como visto anteriormente a utilização de aloenxertos é limitada, devido ao risco de contrair doenças, devem ser realizados exames clínicos como despiste de qualquer hipótese de patologia, dirigidos ao doador e à sua família (Kao, S. 2007) e (Acocella, A. *et al.*, 2012).

Como os enxertos alógenos são fornecidos a partir de bancos, permite o acesso a diversas formas de tamanhos de enxerto (Oltramari, P. *et al.*, 2007).

Segundo Vaccaro (2002) existem diversos tipos de aloenxertos: aloenxerto de osso fresco, aloenxerto ósseo fresco congelado e aloenxerto liofilizado.

A matriz óssea desmineralizada (MOD) é um tipo de enxerto de osso transformado que é maioritariamente osteoindutor, no entanto possui um pequeno número de produtos que possuem capacidades osteocondutoras (Jones, C. 2005) e (Watson, J. 2005). A MOD é um aloenxerto humano que passa por diversos procedimentos, lavagem, desmineralização, secagem, preparação, e esterilização. (Russell, J. 2000).

Segundo Ehrlert, D. e Vaccaro, A. (2000) a utilização de enxerto de osso alógeno é um adjuvante eficaz quando utilizado na situação clínica adequada.

4. Xenoenxertos

Os enxertos xenógenos são materiais obtidos de outra espécie (Precheur, H. 2007) como é o caso do osso de origem bovina (Mardas, N. *et al.*, 2009) e que tem sido utilizado para diversos tipos de defeitos ósseos com resultados satisfatórios (Oltramari, P. *et al.*, 2007) defeitos periodontais (Gokhale, S. e Dwarakanath, C. 2008), aumento do rebordo

alveolar (Zitzmann, N. *et al.*, 2012) e aumento do seio nasal (Froum, S. *et al.*, 2001). Devido à ausência da proteína (factor de transformação de crescimento factor beta), a utilização de xenoenxertos em humanos é considerada segura (Benke *et al.*, 2001)

Os xenoenxertos têm propriedades diferentes dependentemente da sua origem, constituição e processamento (Oltamari, P. *et al.*, 2007).

De forma a suprimir as intolerâncias dos autoenxertos, aloenxertos e xenoenxertos criaram-se os biomateriais que actualmente possuem várias aplicações médicas (Satyanarayana, K. *et al.*, 2012); (Nevins, M. *et al.*, 2013); (Lindgren, C. *et al.*, 2010); (Hu, H. *et al.*, 2011).

VI. Biomateriais

Diversos materiais sintéticos, devido à sua biocompatibilidade foram considerados alternativas aos enxertos supracitados. Estes biomateriais presentemente são utilizados em diversas aplicações na área da medicina dentária e medicina. Estes podem ser aplicados para tratamento de defeitos periodontais (Satyanarayana, K. *et al.*, 2012), aumento do rebordo alveolar (Nevins, M. *et al.*, 2013), aumento do seio nasal (Lindgren, C. *et al.*, 2010), para patologias lombares (Ilona, M *et al.*, 2008) e revestimentos para implantes em titânio (Hu, H. *et al.*, 2011).

De um ponto de vista médico, os biomateriais foram definidos como substâncias, excepto alimentos ou fármacos, contidos em sistemas terapêuticos ou de diagnóstico, que têm a capacidade de co-existir em contacto com os tecidos do corpo humano, sem causar danos a esse corpo (Peppas, N. e Langer, R.1994); (Williams, D. 2008).

Há, de facto, diversas situações em que os materiais e os tecidos possam interagir de tal forma que esta co-existência possa ser comprometida, assim, a busca de biomateriais que são capazes de proporcionar um melhor desempenho na sua aplicação tem-se baseado na aquisição de conhecimento e compreensão sobre essas interações apoiando-se no conceito da biocompatibilidade (Williams, D. 2008).

Os biomateriais correspondem aos enxertos aloplásticos e podem ser classificados ou subdivididos conforme sua origem: natural ou sintética (Oliveira, S. 2009). São considerados biomateriais naturais os que são ou possuem propriedades macromoleculares semelhantes à matriz extracelular (MEC), como por exemplo, o colagénio e a hidroxiapatite (Drury, J. 2003).

Os materiais naturais como a quitosona, glicoproteínas e fibrinogénio têm capacidade osteocondutora, são biocompatíveis e biodegradáveis. Contudo, possuem desvantagens como as suas baixas propriedades mecânicas, baixa reprodutibilidade, dificuldades de procedimento e por vezes imunogenicidade (Burg, K., Portel, S. e Kellam, J. 2000); (Vats, A. *et al.*, 2003); (Salgado, A., Coutinho, O. e Reis, R., 2004).

Os biomateriais sintéticos são vantajosos porque têm grande reprodutibilidade, assim, podem ser reproduzidos em várias formas, com específicos pesos moleculares e para além disso pode-se definir a sua qualidade devido ao controle as propriedades químicas e mecânicas. Alguns materiais sintéticos são: Politetrafluoretileno e ácido polilático (Drury, J e Mooney, D. 2003).

Independentemente da sua composição ou aplicação, o material utilizado para reparo de algum tecido do corpo deve atender à biocompatibilidade e à biofuncionalidade. A biocompatibilidade é a capacidade que um material possui em realizar uma apropriada resposta no hospedeiro numa determinada aplicação. A biofuncionalidade é a capacidade que o material possui para executar o propósito para o qual foi designado. Para que isso ocorra é necessário que o material possua propriedades mecânicas, físicas e de química de superfície (Barrère, F. *et al.*, 2008).

Vários tipos de substitutos sintéticos têm sido desenvolvidos a fim de cumprir com biofuncionalidade e biocompatibilidade (Barrère, F. *et al.*, 2008). Classificando segundo a sua composição química estes podem ser: metálicos, cerâmicos, poliméricos ou compósitos (Oliveira, S. *et al.*, 2009).

Composição	Tipo	Origem	Aplicações Clínicas	Principais propriedades
Fosfato de Cálcio: hidroxiapatite sintética, fosfato de tricálcico etc.	Cerâmica	Sintético	Regeneração óssea, locais de não suporte de cargas, preenchimento	União óssea, biodegradáveis,
Alumina	Cerâmica	Sintético	Próteses	Boas propriedades mecânicas, não ocorre união óssea
Sílica à base de fosfato de cálcio	Vidro Cerâmica	Sintético	Regeneração óssea, locais de não suporte de cargas, preenchimento	União óssea, biodegradável
Titânio e Ligas	Metal	Sintético	Regeneração óssea, locais de suporte de cargas	Conexão óssea em alguns casos, não é corrosivo, resistência à fadiga
Aço inoxidável e ligas de cromo-cobalto	Metal	Sintético	Regeneração óssea, locais de suporte de carga	Corrosivo a longo prazo
Polimetilmetacrilato	Polímero	Sintético	Regeneração óssea, locais de suporte de carga, preenchimento	Não degradável

Poliésteres: ácido polilático, poliglicólico, policaprolactona	Polímero	Sintético	Osso degradável, fixação, preenchimento, sutura de tecidos moles	Degradável e propriedades mecânicas
Poliétileno de alto peso molecular	Polímero	Sintético	Superfícies articulares de próteses ortopédicas, locais de suporte de forças	Propriedades de lubrificantes

Tabela 1 - Biomateriais clinicamente utilizados para osso e reparação de tecidos moles relacionados, adaptado a partir de Barrère, F. *et al.*, 2008

Para além das classificações supracitadas, estes também podem ser classificados biologicamente como: bioinerte, biotolerado, bioactivo e reabsorvível. Esta classificação é baseada no comportamento biológico de acordo com resposta do tecido hospedeiro (Bauer, T e Muschler, G. 2000).

A perda óssea é um problema clínico importante na medicina dentária moderna, intervenções terapêuticas que utilizam o material de enxerto doado são limitadas (Kao, S. *et al.*, 2007) e enxertos autógenos provocam morbidade (Kim, D. *et al.*, 2009) e desconforto no paciente (Schlegel, K. *et al.*, 2003).

Para atender às futuras exigências no sector de saúde nomeadamente na área de regeneração de tecidos, ocorreram diversas mudanças, entre elas, passou a utilizar-se biomateriais sintéticos para a regeneração de tecidos. Embora o próprio tecido ósseo apresente uma boa capacidade regeneração, o que resulta na recuperação das suas propriedades estruturais e mecânicas, esta capacidade de reparação pode ser prejudicada por diversos factores. Como forma de melhorar a recuperação de grandes defeitos

ósseos começou a utilizar-se a aplicação do Laser de baixa intensidade (LBI) (Nayer, S. *et al.*, 2009).

VII. Laser

1. História do Laser

Em 1917 Einstein propôs o princípio da emissão estimulada, este princípio foi fundamental para o desenvolvimento do laser. Os pioneiros de todo o trabalho teórico foram Basov, Prokhorov e Townes, possibilitando o desenvolvimento do *visible maser* que se baseava na mesma ideia do primeiro laser a ser inventado no entanto, surgindo 10 anos antes deste (Moritz, A. 2006).

O LASER foi demonstrado a primeira vez em 1960 por Maiman, e possuía como meio activo um rubi. O nome LASER é um elegante acrónimo de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (Moritz, A. 2006). Os lasers são denominados a partir da estimulação do seu núcleo, ou meio activo, que é composto por elementos químicos, moléculas ou compostos (Mathew, S. e Thangaraj, D. 2010).

Para além do meio activo ou amplificador, o Laser também é composto por um mecanismo de excitação ou bombeamento e um ressonador, onde se encontra um espelho totalmente reflector e um parcialmente reflector onde o feixe de laser sai da cavidade (Steen, W. e Mazumder, J. 2008).

De acordo com o seu meio activo, os lasers podem ser considerados sólidos, gasosos, semicondutores, semi-sólidos, excímero ou líquidos. Os sólidos (Rubi, Nd:YAG e Nd:glass), gasosos (CO₂, He-Ne e Ar) ou líquidos (rodamine e cumarina) (Steen, W. e Mazumder, J. 2009). No entanto, segundo outros autores existem outras classificações como os semicondutores (diodo - AsGaAl, AsGa), semi-sólidos (Nd-YAG, Er-YAG, YAP) e excímeros (F₂, ArF, KrF, XeCl, XeF) (Moritz, A. *et al.*, 2009).

2. Fundamentos da física do laser

A luz consiste num campo electromagnético, este é composto por um campo eléctrico e um campo magnético perpendicular. As ondas electromagnéticas não necessitam de um meio para se propagar (contrariamente às do som que propagam-se através do ar), estas propagam-se com uma velocidade de $c = 299\,792\,458\text{ m/s}^{-1}$ no vácuo. Uma onda electromagnética para além da velocidade é descrita também através do comprimento de onda, frequência. Estas características estão relacionadas (Berlien, H, 2003):

$$c = \lambda \cdot \nu$$

Sendo, ν = frequência; λ = comprimento de onda; c = velocidade da luz.

A frequência das ondas electromagnéticas é medida pelo número de ciclos /pulsos por segundo (pps) sendo expressa em Hertz (Hz) ou ciclos (Milonni, P. & Eberly, J. 2010).

Para que ocorra a produção de luz Laser existem três processos de extrema importância, estes três processos são a absorção, emissão espontânea e emissão estimulada (Bagnato, V. 2008).

A absorção de um fóton por um sistema anatómico é causado pela transferência de electrão de um nível de baixa energia para um nível de alta energia (Bagnato, V. 2008).

A emissão espontânea é exactamente a situação contrária, ocorrendo a transferência de um electrão para um nível de baixa energia, libertando energia na forma de luz (libertação de fóton) (Bagnato, V. 2008).

A emissão estimulada consiste na passagem de um electrão excitado (no nível de maior energia), no entanto a sua passagem para um nível de menor energia demoraria mais tempo. Para antecipar este processo é necessário um agente externo. Exemplificando a situação de uma bola no topo de uma montanha que se encontra num equilíbrio instável, para descer necessita um estímulo. O mesmo ocorre com um electrão que é estimulado por um fóton e provoca a transição para um nível inferior. Desta forma, é

libertado um fóton (resultante desta transição) juntamente com o fóton que estimulou o electrão (Bagnato, V. 2008).

Assim, os fótons estimulam outros fótons consecutivamente e posteriormente ocorrerá a amplificação (devido à reflexão dos espelhos e assim colisão dos fótons) da luz que será emitida através da abertura do laser resultando na emissão de fracção de luz de desse sistema, designada de feixe de luz laser (Bagnato, V. 2008).

A energia de um fóton é calculada através de (Moritz, A. 2006):

$$E = h \cdot \nu$$

$$\text{logo, } E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

Sendo, E= energia do fóton; h= constante de Plank = $6625 \cdot 10^{-34} \text{J.s}$

Ou seja, a energia do fóton é inversamente proporcional ao comprimento de onda. O comprimento de onda é a unidade de espaço, é a distancia entre as cristas da onda (Genovese, W. 2007). pode ser dado em metros (m), micrómetros (μm), nanómetros (nm) e angstroms (\AA) (Silfvast, W. 2004).

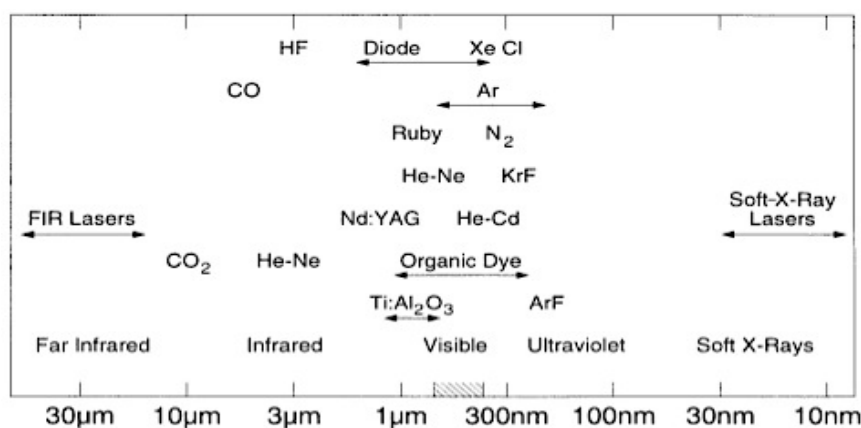


Figure 3 - Comprimento de onda dos vários Lasers, adaptado de Silfvast, W. 2004

A Potência é a grandeza que determina a quantidade de energia (fótons) concedida por uma fonte a cada unidade de tempo (J/s, ou seja W), esta é calculada através de (Moritz,

A. 2009):

$$P(W) = \frac{E(J)}{t(s)}$$

A Densidade de Potencia (DP) é a P(W) por unidade de área (cm²) e a sua unidade é W/cm² (Niemz, M. 2003):

$$DP = \frac{P}{A}$$

A Densidade de Energia (DE) é a quantidade de energia (J) entregue por Área (cm²) e a unidade é J/cm² (Niemz, M. 2003):

$$DE = \frac{E}{A}$$

$$P(W) = \frac{DE(J/cm^2) \times A (cm^2)}{T(s)}$$



Figure 4 - Laser de baixa intensidade, possibilidade de regulação de parâmetros, DE , E e T.

3. Propriedades da luz laser

A luz laser diferencia-se da luz comum devido às suas propriedades. As propriedades da

luz laser são: a monocromaticidade, a variabilidade de potência, a coerência e a direccionalidade ou colimação (Svelto, O. 2010).

Na monocromaticidade a luz é pura, ou seja, todos os fótons constituintes são da mesma cor e com o mesmo comprimento de onda. O tecido humano tem a capacidade de fazer absorção selectiva (Genovese, W. 2007).

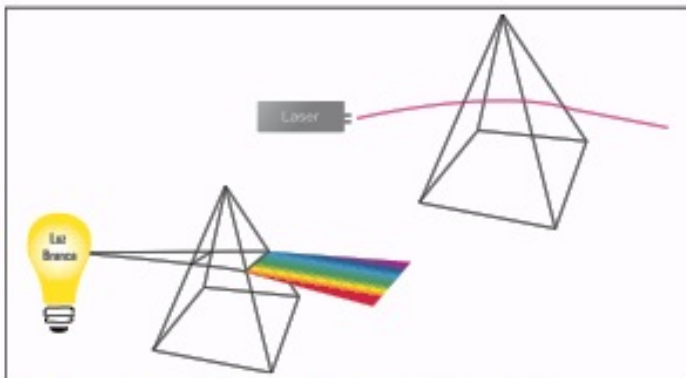


Figure 5 - Características da luz laser de monocromaticidade, adaptado de Neves, L. *et al.*, 2005

A coerência permanece igual ao longo do tempo e do espaço as suas ondas possuem amplitudes iguais e viajam ordenadamente relativamente ao tempo. (Genovese, W. 2007).

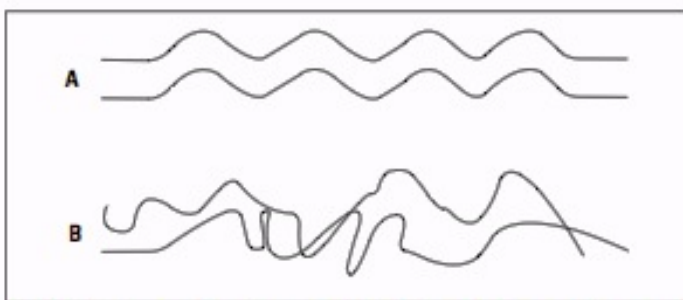


Figure 6 - Características da luz laser de coerência. Em A, comprimentos de onda coerentes no tempo e espaço, em B, comprimentos de onda incoerentes no tempo e espaço, adaptado de Neves, L. *et al.*, 2005

Na direccionalidade ou colimação existe um tubo onde a energia é produzida, o feixe de

fótons é paralelo ao eixo desse tubo uma vez que a luz laser possui divergência angular diminuta, desta forma concentra-se toda a energia num ponto focal (Genovese, W. 2007).

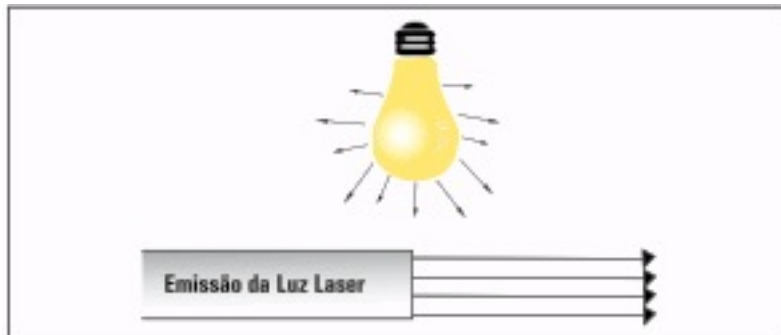


Figure 7 - Características da luz laser de unidireccionalidade e colimação. A luz natural é divergente e a luz laser é paralela ao tubo onde é produzida, adaptado de Neves *et al.*, 2005

4. Efeitos do Laser nos tecidos e normas de segurança para a utilização do Laser

A interacção da luz nos tecidos ocorre segundo as leis da física. A luz pode ser reflectida, absorvida, difundida ou transmitida (Olivi, G. 2011).

A reflexão é o fenómeno em que um feixe de luz laser atinge um alvo e é reflectida por falta de afinidade (Olivi, G. 2011).

A absorção é o fenómeno da energia incidente sobre o tecido com o qual tem afinidade, sendo absorvido e desta forma exercendo os seus efeitos biológicos (Olivi, G. 2011).

A difusão é o fenómeno da luz incidente que penetra a uma determinada profundidade de uma forma não uniforme relativamente ao ponto de interacção, exerce efeitos biológicos dependente da distância a que se encontra da superfície (Olivi, G. 2011).

Finalmente a transmissão é o fenómeno pelo qual o raio laser tem a capacidade de atravessar o tecido, sem afinidade e sem qualquer efeito (Olivi, G. 2011).

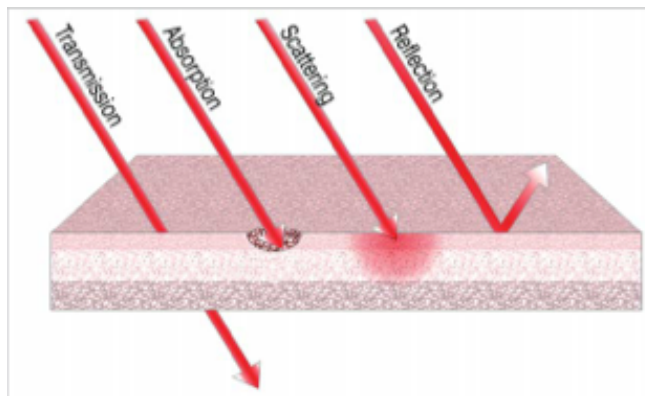


Figure 8 - Interação do Laser nos tecidos, adaptado de Olivi, G. 2011

Como visto anteriormente o laser pode ter diversos efeitos relativamente ao tecido, contudo, a interação com o tecido só ocorre quando há afinidade óptica entre eles, ou seja, por meio de absorção ou difusão, a que não tiver afinidade é reflectida ou transmitida. Os efeitos biológicos que se criam são os responsáveis pelas acções terapêuticas e estes podem ser: fototérmicos, fotomecânicos e fotoeléctricas (inclui os efeitos acústicos) e fotoquímicos (Olivi, G. 2011).

Interações Fototérmicas são causadas por temperatura elevada após absorção da energia do laser pelas substâncias presentes no tecido para o qual tem afinidade. (Brahmavar, S. e Hetzel, F., 2001) A hipertermia de 45 a 65° c provoca a coagulação e volatilização, a 100°c os tecidos com elevadas percentagens de água (como tecidos moles), observa-se ablação. Aos 200°c o tecido é totalmente desidratado e depois queimado, sendo carbonizado e causando um trauma térmico a toda a área circundante (Niemz, M. 2003).

As interações fotoquímicas são causadas após a absorção da energia do laser em que ocorrem efeitos químicos nas macromoléculas e no tecido. (Niemz, M. 2003).

Nas interações fotomecânicas e fotoeléctricas ocorre ruptura do tecido por acção de forças mecânicas e de foto acústica enquanto que a interação foto eléctrica dá-se a foto plasmólise na qual o tecido é removido pela formação de iões e partículas electricamente carregadas (Niemz, M. 2003).

A fracção do espectro electromagnético (EM) relacionada com os lasers é denominada de porção óptica dos espectro, esta é formada pela zona do infravermelho (IR), a ultravioleta (UV) e a zona visível (Moritz, A. 2006). Os comprimentos de onda de interesse são (Brahmavar, S.e Hetzel, F. 2001):

- Infravermelho (780nm-1mm) em que existe o IR-A na faixa dos 780-1400nm e o IR-B e o IR-C na faixa dos 1400nm-1mm;
- o ultravioleta (200-400nm) em que o UV-B e o UV-C estão na faixa dos 200-315nm e o UV-A esta na faixa dos 315 aos 400 nm;
- Visível (400-780nm).

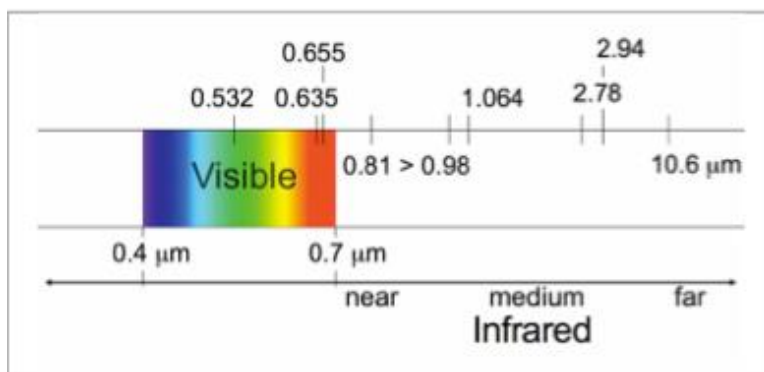


Figure 9 - Lasers no espectro electromagnético, adaptado de Olivi, G.(2011)

A partir dos anos 80 foram estabelecidas algumas normas de segurança para a utilização dos aparelhos a laser (Mello, 2001). O laser pode provocar diversos tipos de lesões oculares tais como conjuntivites, embranquecimento de córnea e também lesões na pele como queimaduras (Barrows, T. e Grove, M. 2011), bolhas, ressecamento excessivo, (Sweeney, C. *et al.*, 2009), eritemas (Brahmavar, S. e Hetzel, F. 2001).

Comprimento de onda	Olho	Pele
UV-C (0.200-0.280 microns)	Fotoqueratite	Eritema Cancro da pele

UV-B (0.280-0.315 microns)			Envelhecimento da pele Aumento da pigmentação
UV-A (0.315-0.400 microns)	Características fotoquímicas		Escurecimento do pigmento Reacções fotossensíveis Queimaduras
Visível (0.400-0.780 microns)	Lesões fotoquímicas e térmicas na retina		Reacções fotossensíveis Queimaduras de Pele
IR-A (0.780-1.40 microns)	Queimadura da retina		Queimaduras de pele
IR-B (1.40 – 3.00 microns)	Queimadura da córnea Possíveis cataratas embranquecimento de córnea		Queimaduras de pele
IR-C (3.00-1000 microns)	Queimadura da córnea		Queimaduras de pele

Tabela 2- Efeitos biológicos do laser adaptado de Brahmavar, S. e Hetzel, F. 2001

Em relação às normas de segurança, os aparelhos de laser são classificados quanto ao EM e os seus riscos em provocar lesões (Mello, J. 2001). Para reduzir os riscos do laser devem ser tomadas medidas para proteger os olhos do *staff* e dos pacientes, pois o MPE (Maximum Permissible Exposure) pode ser ultrapassado, colocando as pessoas na zona de perigo nominal, NHZ (Nominal Hazard Zone) (Sweeney, C. *et al.*, 2009).

A MPE é o máximo nível de radiação laser sem efeitos biológicos adversos para os olhos e para a pele no ser humano de acordo com a norma ANSI Z136.3 (American National Standard for safe Use of Lasers in Health Care Facilities).

Os óculos de protecção devem cobrir na totalidade a região peri-orbital, não possuir arranhões superficiais ou estar danificados para além de que devem possuir uma extensão lateral de forma impedir a entrada feixe de laser difusa (Sweeney, C. *et al.*, 2009).



Figure 10 - Óculos de protecção do médico dentista, paciente e assistente de Medicina dentária

Estes óculos devem ser construídos com material específico do comprimento de onda para atenuar a energia do laser ou para conter a energia dentro do MPE de acordo com a densidade óptica ideal (capacidade do escudo de vidro ou de policarbonato para atenuar o feixe de laser, opacidade do filtrar) (Sweeney, C. *et al.*, 2009).

As normas que especificam a natureza e adequação dos óculos de protecção do laser estão contidos em ANSI (ANSI Z136.1) para os usuários da América do Norte, EN 207/208 para os utilizadores europeus e IEC (IEC 60825) para todas as outras regiões (Sweeney, C. *et al.*, 2009).

O comprimento de onda ou comprimentos de onda que o óculos de protecção específico para deve ser carimbado nos escudos de vidro ou de lado. É necessário ter em atenção que nos óculos pode estar marcado por exemplo: 810 nm - 2890 nm, o que significa que os óculos protegem contra todos lasers com os comprimentos de onda entre os dois limites exteriores. No entanto, se estiver marcado 810 nm, e por baixo 2890 nm, isto significa que os olhos são protegidos apenas contra estes dois comprimentos de onda, não existe qualquer protecção para comprimentos de onde entre os dois (Sweeney, C. *et al.*, 2009).

Para além da protecção pessoal, segundo a ANSI Z136.1 é também necessário medidas de controle administrativas. Estas consistem em procedimentos e informações proporcionadas à equipa com o objectivo de diminuir os riscos do laser. Assim, é necessário um responsável pela segurança com o laser (Laser Safety Officer) que avaliará se algum controle é necessário e informará, entre outros aspectos, a classe do laser e os limites de emissão para o laser em questão, os procedimentos de operação padrão, o treinamento necessário, que pessoal deve permanecer na sala, quais os equipamentos de protecção pessoal, que tipo de sinais/etiquetas de advertência são indicados para cada classe de laser.

Em aplicação intra-oral, a superfície a ser irradiada deverá estar limpa e seca (Brugnera Junior *et al.* 2003 *cit in* Catão, M.).

O ângulo de incidência do raio deverá ser perpendicular em relação ao tecido para que o índice de refração seja menor. Desta forma a luz emitida nesta direcção é mais absorvida (Ukhanov, A. *et al.*, 2002; Milonni, P. e Eberly, J. 2010).

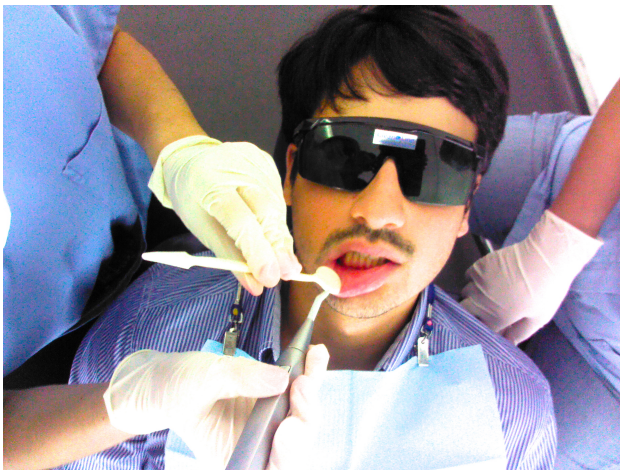


Figure 11 - Secagem da área de aplicação do laser



Figure 12 - Aplicação do laser na perpendicular em relação ao tecido e aspiração em simultâneo

5. Classificação dos Lasers

Como supracitado os lasers podem ser considerados de acordo com o seu meio activo. Contudo, estes também podem ser classificados de acordo com a potência de emissão em: laser de alta, média e baixa intensidade (Genovese, W. 2007).

5.1 Laser de alta intensidade (LAI)

Os lasers de alta intensidade são também conhecidos como laser cirúrgico, laser quente, laser duro ou *hard laser* emitem radiação de alta potência levando a um potencial destrutivo, estes lasers são aplicados em cirurgias ou remoção de tecido cariado devido à sua interacção fototérmica de corte, vaporização, coagulação e esterilização dos tecidos. Os principais lasers de alta intensidade são o Excimer, Argónio, Kriptón, Dye, Rubi, Família YAG (ítrio-alumínio-granada) e CO₂ (Genovese, W. 2007).

5.2 Laser de Média Intensidade (LMI)

Os lasers de média intensidade ou *mid-laser* emitem radiações de media potência, isto é, sem poder destrutivo, a sua maior aplicação ocorre na área da fisioterapia. Entre eles encontram-se o laser de Hélio- Neônio (He-Ne) e o Arseniato de gálio (AsGa)

(Genovese, 2007).

5.3 Laser de Baixa Intensidade (LBI)

Os lasers de baixa intensidade podem também ser designados por “soft-laser”, laser mole, laser frio ou laser terapêutico. O LBI tem a capacidade de emitir radiações de baixas potências, possuindo assim um potencial não destrutivo. A sua acção é analgésica, anti-inflamatória e de bioestimulação tecidual. Entre os lasers de baixa intensidade encontra-se os lasers: He-Ne (Hélio- Neônio), diodo (Arseniato de gálio - AsGa e Arseniato de gálio e alumínio - AsGaAl) (Genovese, W. 2007).

Diversos estudos têm procurado determinar os efeitos analgésicos, anti- inflamatórios e de cicatrização de tecidos que o LBI proporciona, especialmente, durante o processo de reparação (Kahraman, S. 2004).

O seu efeito analgésico ocorre devido à interferência do LBI na mediação da mensagem de dor através da inibição dos sinais nociceptivos por mediação dos receptores opióides periféricos (Serra, A. 2010).

A sua acção anti-inflamatória está associada ao ácido araquidónico que é convertido em prostaglandinas e tromboxanos. A prostaglandina E2 (PGE₂) é de particular interesse porque está envolvida em todos os processos que levam aos sinais clássicos da inflamação: rubor, edema e dor (Ricciotti, E. 2011).

Segundo Barberis, G. *et al.*, (1996) a terapia a laser de He-Ne, 632,8nm a 88J/cm², com 15 aplicações, diminui a síntese de prostaglandinas E2, o que poderá explicar a diminuição de dor pelos pacientes com artrite reumatóide. Um estudo de Bjordal, J. (2006) corrobora com os resultados anteriores demonstrando que o LBI de 904nm E= 5,4J tem um efeito anti-inflamatório e de diminuição de dor com diminuição da concentração de PGE₂.

Segundo Tam, G. (1999) a laserterapia de GaAs, 904nm, DP=20mw/cm² actua na síntese de prostaglandinas, aumentando a transformação de prostaglandina G2 e

prostaglandina H₂ em prostaglandina I₂. De acordo com Ricciotti, E. (2011) o PGI₂ é, contrariamente ao PGE₂ um vasodilatador potente, inibidor da agregação de plaquetas, adesão de leucócitos, proliferação de células musculares endoteliais e poderá ter um efeito anti-inflamatório.

No entanto, de acordo com Matsumoto, M. *et al.*, 2008 a PGE₂ poderá ter um papel como acelerador do processo de reparação óssea. A ciclogênase (COX) permite a conversão do ácido araquidónico em prostaglandinas. Após a aplicação do LBI de AsGa a 16 J/cm² às 48h, 7,14 e 21 dias, verificou-se aos 14 dias um aumento de concentração da COX-2 e da osso formado nesse período. Este estudo está em concordância com o estudo de Zhang, X. *et al.*, (2002) em que os resultados demonstraram que a COX-2 interfere na regulação e diferenciação de células mesenquimais no processo de reparação óssea. De acordo com o estudo a COX-2 é induzida na fase inicial de reparação óssea e produz quantidades elevadas da Prostaglandina E₂ (PGE₂). Esta, por sua vez, pode induzir as proteínas morfogénicas do osso para aumentar a *cbfa-1* e *osteorix* que são factores de transcrição necessários para o desenvolvimento e maturação dos osteoblastos (Igarashi, M. *et al.*, 2004).

Como supracitado a remodelação óssea envolve a actividade de osteoblastos que sintetizam novo tecido ósseo e dos osteoclastos para removerem o tecido danificado. A terapia de LBI durante o tempo de reparação do osso, tem vindo a demonstrar diversos efeitos benéficos na reposição óssea e no crescimento ósseo. Verificou-se um aumento da vascularização (Garavello, I. *et al.*, 2004) proliferação e diferenciação celular, acelerando o processo de reparação e mineralização óssea (Silva, A. 2011).

Segundo a literatura o tecido ósseo secundário é constituído por lamelas concêntricas que se vão depositando ao redor dos vasos, formando assim os canais de Havers (Junqueira, L e Carneiro, J. 2008) Segundo um Poppi, R. *et al.*, (2011) o tratamento de LBI induziu o preenchimento de defeitos ósseos por osso trabecular, observando-se também uma maior área vascularizada devido à formação de novos vasos.

De acordo com Freitas, I. *et al.*, (2000) com a aplicação do laser de He-Ne a 31.5 e 94.7 J/cm² aumentou a proliferação de osteoblastos *in vitro* e simultaneamente a este processo verificou-se aumento da fosfatase alcalina, osteopontina e sialoproteína.

O mesmo se observou *in vivo* relativamente à proliferação e diferenciação de osteoblastos com a aplicação do LBI de 830nm a 160J/cm² (Silva, A. 2011).

Segundo a literatura existem diversas glicoproteínas no tecido ósseo, tais como osteocalcina e a osteopontina que apresentam sítios de ligação para os cristais de hidroxiapatite (HA). A sialoproteína do osso é uma proteína da matriz que possui sítios de ligação e para as integrinas (proteínas presentes na membrana nos osteoblastos e osteoclastos). Estas proteínas são importantes reguladores no processo de diferenciação dos osteoblastos (Gitirana, 2004).

Contrariamente aos resultados dos estudos supracitados Filho, H. *et al.*, (2011) demonstrou que o LBI, com 685nm a 25, 77 e 130 J/cm não influencia a proliferação e desenvolvimento células uma vez que os resultados indicam que o crescimento de culturas de células osteogénicas não foi estatisticamente relevante, para além de que a viabilidade celular dentro de 24 horas também não apresentou resultados estatisticamente significantes. No entanto, de acordo com Pyo, S. *et al.*, (2012) o tratamento do LBI de GAALAs de 808 nm não só ajuda a recuperação estrutural dos osteoblastos traumatizados como aumenta a sua viabilidade celular. De acordo com este estudo o LBI pode ser utilizado para a engenharia de tecidos em condições em que o osso se encontre traumatizado e em reparação de grandes defeitos ósseos como em casos de defeitos com colocação de enxertos ósseos e instalação de implantes.

Como visto anteriormente, de acordo com a constituição do osso, os osteoblastos secretam matriz óssea, alguns ficam retidos nas lacunas por deposição da matriz e são denominados osteócitos. A quantidade de osteócitos formados é diretamente proporcional à velocidade de formação do osso (Nanci, A. 2013). Assim sendo, segundo o estudo de Poppi, R. *et al.*, (2011) com a aplicação de LBI a 660nm e 808nm, 133 J/cm² aos 14 e 21 dias, verificou-se em ratos com osteopenia um aumento do número de osteócitos nas lacunas trabeculares imersos em matriz óssea. Sugere-se que ocorreu

maturação do novo tecido ósseo formado aos 21 dias e comparativamente ao grupo controle, os grupos com o tratamento de LBI possuíram um osso com maior consistência e mais compacto.

A aplicação do LBI na reparação de uma fractura demonstrou, na análise histoquímica que o LBI estimulou significativamente a deposição de cálcio e fosforo. Com isto, aumentou a deposição de hidroxiapatite durante estágios iniciais do processo de reparação óssea. Uma grande acumulação de hidroxiapatite apresenta um osso mais resistente e calcificado (Pinheiro, A. *et al.*, 2013)

A adição de biomateriais ao local de fractura óssea pode beneficiar a sua reparação. Assim, com a utilização do LBI de 780nm, 16 J/cm² durante duas semanas, verificou-se um pico de intensidade na concentração de HA quando associado também o biomaterial (HA). Nos grupos em que foi realizado regeneração óssea guiada, diminuiu os níveis de HA provavelmente devido ao uso da membrana que provocou uma atenuação da passagem de luz, reduzindo a passagem da luz laser e assim a energia entregue ao tecido (Pinheiro, A. *et al.*, 2013).

Pinheiro, A. *et al.* (2003) utilizou um LBI com comprimento de onda de 830nm, 16 J/cm² a cada 48 horas durante 15 dias, os grupos irradiados demonstraram uma densa deposição e fibras de colagénio ao redor do enxerto ósseo dentro da cavidade, ao 15º dia foi evidente a neo-formação óssea em comparação aos grupos controle. Os autores concluíram que associado ou não à membrana, a incidência do LBI teve um efeito positivo na reparação de defeitos ósseos utilizando o enxerto ósseo de bovino.

Na reparação de defeitos ósseos tratados com proteínas morfogénicas do osso (BMPS) e enxerto ósseo de bovino verificou-se o aumento da deposição de fibras de colagénio entre os 15 e 21 dias e uma melhor organização de trabéculas ósseas ao dia 30, comparativamente aos grupos controle. O LBI de 830nm, 16 J/cm², 7 sessões a cada 48h, juntamente com BMPs e enxerto xenógeno promovem a osteointegração do enxerto (Gerbi, M. *et al.*, 2008).

De acordo com Soleimani, M. *et al.* (2012) o efeito do LBI na proliferação e

diferenciação celular é dependente da dose. A partir dos resultados demonstrou-se que a densidade de energia de $2\text{J}/\text{cm}^2$ e $4\text{J}/\text{cm}^2$ aumenta a proliferação de células mesenquimais em osteoblastos. Já uma densidade de $3\text{J}/\text{cm}^2$ aumenta a diferenciação celular das células mesenquimatosas em neurónios.

Para além da DE, o tempo e o comprimento de onda também podem influenciar os resultados da aplicação do LBI. Apesar de a densidade óssea no local da fractura aos 7 dias ser maior nos grupos que foram tratados com o laser ($DE= 140\text{J}/\text{cm}^2$) comparativamente aos de controle (independentemente do comprimento de onda) aos 14 dias verificou-se que entre os dois lasers de baixa intensidade (vermelho e infravermelho) o infravermelho demonstrou melhores resultados. Sugeriu-se que comprimentos de onda maiores são mais resistentes à dispersão do que as com comprimentos de onda menores e conseguem penetrar mais profundamente. No entanto, aos 21 dias não foram encontradas diferenças de densidade óssea entre todos os grupos (Barbosa, D. *et al.*, 2013).

Existem diversas circunstâncias que podem causar hipóxia ao osso. Pode ocorrer por falta de suprimento sanguíneo e estas situações podem ser devido a inflamações, fracturas, diabetes e possivelmente em locais de enxertos ósseos com falta de vascularização. AboElsaad, N. *et al.*, (2009) demonstrou efeitos positivos do LBI de 830nm , $16\text{J}/\text{cm}^2$ durante 3, 5 e 7 dias, em hipóxia, acelerando o processo de formação óssea e mineralização que são essenciais para a reparação do osso resultando numa significativa melhora na qualidade de recuperação. É bastante importante no caso de pacientes com patologias sistémicas ou locais, como é o caso de diabetes que podem atrasar o processo de cicatrização óssea. Desta forma, o laser de irradiação GaAlAs melhorou as actividades celulares de forma a acelerar o processo de regeneração, reduzindo o tempo de recuperação e consequentemente diminuindo também o desconforto do paciente devido ao tratamento cirúrgico ou trauma.

Várias patologias sistémicas, como a osteoporose podem causar fracturas ósseas. A osteoporose é uma doença esquelética caracterizada pela redução e deterioração da micro-arquitetura do tecido ósseo com a consequência do aumento da fragilidade e susceptibilidade à fractura (Genant, H. *et al.*, 2007; Renno, A. *et al.*, 2006).

Num estudo utilizou-se ratos ovariectomizados uma vez que possuem perda óssea devido à deficiência de estrogénio, desenvolvendo osteopenia e consequentemente redução da massa e aumento da fragilidade óssea. O estudo demonstrou que o laser o LBI de 904 nm, a 50 J/cm^2 acelerou o processo de reparação óssea em fracturas os provocadas por osteopenia, especialmente na fase inicial da regeneração óssea. (Oliveira, D. *et al.*, 2010).

Relativamente ao aumento do volume do osso trabecular nas vertebrae lombares e torácicas em ratos com osteopenia demonstrou que com a utilização do LBI de 830nm, $DE= 4 \text{ J/cm}^2$, durante 8 semanas e a adição de biofosfonatos, ocorreu um aumento de volume ósseo de tal forma superior que ficou com níveis iguais aos grupo controle, ou seja, sem osteopenia (Diniz, J. *et al.*, 2009).

A estimulação com laserterapia pode acentuar a cicatrização do tecido ósseo, como demonstrado anteriormente diversos estudos experimentais foram realizados em defeitos ósseos e reparação de fracturas. Presentemente também se obteve resultados positivos relativamente ao uso da laserterapia como promotor da osteointegração de implantes endosseos (Prockt, A., Takahashi, A. e Pagnoncelli, R. 2008).

Dörtbudak, O. *et al.* (2002) examinou os efeitos da laserterapia de 690nm 6 J por minuto em osteócitos e na reabsorção óssea de implantes ósseos em macacos verificando-se um maior numero de osteócitos e maior viabilidade comparativamente ao grupo controle.

Segundo Khadra, M. *et al.*, (2004) o laser AsGaAl de 830nm, 23 J/cm^2 durante 6 dias promoveu a osteointegração de um implante de titânio, obtiveram-se resultados positivos na análise histomorfogénica e o aumento da força mecânica da interface entre osso e implante, observando-se um maior contacto.

Discussão

Diversos estudos têm sido realizados procurando determinar os efeitos analgésicos (Serra, A. 2010), anti-inflamatórios (Bjordal, J. 2006) e de reparação de tecidos

(Barbosa, D *et al.*, 2013) provocados pelo LBI. No entanto, a utilização do LBI como efeito anti-inflamatório ainda não foi bem explicado (Lins, R. *et al.*, 2010).

Albertini, R. *et al.* (2007) demonstrou que o laser de GaAsAl diminuía a expressão da ciclooxigenase-2 e do edema, isto sugere que ocorreu diminuição da Prostaglandina E₂ que segundo Ricciotti, E. (2011) esta envolvida em todos os processos que levam aos sinais clássicos da inflamação como rubor, edema e dor. Segundo o estudo de Bjordal, J. (2006), os resultados corroboram com os obtidos anteriormente uma vez que com a aplicação do LBI ocorreu a diminuição da concentração de PGE₂ e a diminuição da dor.

Segundo Tam, G. (1999) a laserterapia actua na síntese de prostaglandinas, aumentando a transformação de prostaglandina G₂ e prostaglandina H₂ em prostaglandina I₂. O PGI₂ é um vasodilatador potente e um inibidor da agregação de plaquetas, adesão de leucócitos, proliferação de células musculares endoteliais, tem efeito imunológico e possivelmente anti-inflamatório (Ricciotti, E. 2011).

Contrariamente ao supracitado, Matsumoto *et al.*, (2008), demonstrou que após 14 dias da aplicação do LBI verificou um aumento de concentração da COX-2 o que conduziu a quantidades elevadas da Prostaglandina E₂ (PGE₂) e a um aumento substancial de formação de osso.

O processo inflamatório é a 1ª fase no processo de reparação óssea e é necessário que ele ocorra para se iniciar o processo de reparação (Kalfas, I. 2001). A razão pela qual se pretende um efeito anti-inflamatório encontra-se no facto de que as alterações decorrentes do processo inflamatório, como o edema e a libertação de mediadores químicos afectam as terminações nervosas provocando dor e uma resposta inflamatória exacerbada o que poderá aumentar ainda mais a lesão tecidual (Meireles, G e Santos, A. 2010). O ideal seria que o paciente passasse pela fase de inflamação com quadro de menor edema, e conseqüentemente menor dor e desconforto (Lopes, L. 2002 *cit. in* Meireles).

Relativamente à reparação do tecido ósseo, diversos estudos demonstraram que o LBI estimula a proliferação e diferenciação de osteoblastos com um consequente aumento de osso formado e aumento da mineralização (Silva, A. 2011 e Poppi, R. et al., 2011).

Em diversos estudos observou-se uma área bastante significativa de osso neo-formado (Pipi, E. *et al.*, 2010; Oliveira, D. *et al.*, 2010).

Segundo Pipi, E. *et al.*, (2010) esse processo ocorreu nos estádios intermédios e finais, entre os 13 e os 25 dias da reparação óssea demonstrando trabéculas ósseas maduras o que diminuiu o tempo de reparação óssea (a aplicação do laser foi de 830nm a 50 J/cm²). Oliveira, D. *et al.*, (2010) também verificou uma aceleração no processo de reparação óssea no entanto ocorreu em períodos iniciais (a aplicação de laser de 904nm a 50 mJ/cm²).

De acordo Barbosa, D. *et al.*, (2013), o processo de reparação óssea também foi acelerado, os resultados demonstraram um aumento da quantidade de mineralização, ou seja, com a aplicação do LBI o osso apresentou maior densidade óssea ao 7 e 15º dia, ou seja, maior mineralização, em comparação ao grupo controle, no entanto, ao 21º dia não se verificaram diferenças de densidade entre os grupos.

O mesmo não se verificou num estudo em ratos com osteopenia em que o laser acelerou o processo de regeneração óssea e o tecido ósseo formado era mais consistente e compacto do que no grupo controle (Poppi, R. *et al.*, 2011).

A aplicação do LBI com a adição de Biomateriais promove a formação de osso mais resistente. Segundo Pinheiro, A. *et al.*, (2013) a junção de LBI com Hidroxiapatite apresentou níveis mais elevados da concentração o que demonstra um osso mais resistente e calcificado.

Relativamente à ROG, não apresentou vantagens no processo de reparação óssea, sugerindo-se que a membrana provocou uma atenuação da passagem de luz, reduzindo assim a energia entregue ao tecido (Pinheiro, A. *et al.*, 2013).

Para além da formação de osso mais resistente o LBI juntamente com os Bifosfonatos também proporcionou os melhores resultados relativamente ao aumento do volume de osso trabecular no tratamento de vértebras lombares e torácicas em ratos com osteopenia comparativamente aos outros grupos. O aumento do osso formado foi de tal forma superior que atingiu o mesmo nível de volume ósseo que no grupo controle (sem osteopenia) (Diniz, J. *et al.*, 2009).

Gerbi, M. *et al.*, (2008) investigou o efeito da junção do LBI com os factores de crescimento (BMPs). Verificou-se que o LBI aumentou a deposição das fibras de colagénio aos 15-21 dias e aos 30 dias verificou-se uma melhor organização das trabéculas ósseas em comparação com os outros grupos. Isto sugere que esta junção promove a osteointegração do enxerto.

O processo terapêutico resultado de avanços tecnológicos nos últimos anos levou a um aumento da esperança média de vida o que consequentemente aumenta a idade da população portuguesa e até mesmo mundial (Almeida, L. 2010; Areosa, S. e Areosa, L. 2008), como tal, diversas patologias estão associadas ao envelhecimento (Gottlie, V. *et al.*, 2007).

Os efeitos positivos do LBI têm bastante relevância quando aplicados na presença de patologias sistémicas ou locais como osteoporose ou diabetes mellitus (AboElssad, N. *et al.*, 2009). Diversos estudos em animais com osteopenia demonstraram o efeito do laser no aumento da angiogenese, proliferação e diferenciação celular (Oliveira, D. *et al.*, 2010) resultando numa aceleração no processo de reparação óssea, importante no caso de pacientes com diabetes, num aumento da formação óssea (Diniz *et al.*, 2008) e de densidade óssea (Poppi, R. *et al.*, 2011). Tudo isto resulta na diminuição do tempo de tratamento proporcionando uma melhora na recuperação pós-cirurgia com menor desconforto para o paciente (AboElssad, N. *et al.*, 2009).

Conclusão

Relativamente ao efeito anti-inflamatórios, este ainda não está claro. Em determinados estudos a COX-2 diminui e consequentemente as prostaglandinas também, resultando

na diminuição da inflamação. Por outro lado, a produção de Pgl₂ também poderá aumentar actuando possivelmente como efeito anti-inflamatório. Para além destas duas opções o LBI pode também aumentar a produção de COX-2 em determinado período.

Esta diversidade de resultados levam a uma falta de consenso relativamente ao seu efeito anti-inflamatório. Sugerindo-se que esta diversidade é proveniente de uma falta de rigor devido a protocolos, dosimetrias e modelos de estudos.

De acordo com diversos estudos realizados a terapia do LBI na estimulação da reparação óssea têm demonstrado resultados positivos. As alterações biológicas e fisiológicas do osso aquando a utilização do LBI resultam num aumento da proliferação e diferenciação de osteoblastos promovendo um aumento da quantidade de osso formado e conseqüentemente acelerando o processo de reparação/regeneração óssea. Para além deste efeito, verificou-se que em alguns casos ocorreu o aumento da densidade óssea, tornando o osso mais mineralizado e resistente.

De acordo com os estudos, o LBI é possivelmente também uma das modalidades mais promissoras na osteointegração, tanto ao nível pré-operatório como pós-operatório. Desta forma, aumentando a velocidade da remodelação óssea e a proliferação de osteoblastos, principalmente em pacientes com patologias que alterem o processo de reparação óssea, poderá ser proveitoso no pré-operatório uma vez que os leitos receptores de implantes poderão beneficiar com o aumento do volume e da densidade óssea.

A nível do pós-operatório também se verificam algumas vantagens, acelerando o processo de reparação óssea, melhorando a osteointegração de materiais e diminuindo o tempo de tratamento de forma a proporcionar uma melhor recuperação pós-cirurgia com menor desconforto para o paciente. Ao nível da colocação de implantes, a sua osteointegração é beneficiada demonstrando menor reabsorção óssea e um melhor contacto na interface osso-implante.

Uma vez que a população mundial tem envelhecido significativamente, surgiu a necessidade de um maior número de pesquisas relativamente às fisiopatologias e a

novas formas de prevenção e tratamentos para lidar com o avanço da idade. Com isso, a utilização das ferramentas tecnológicas, nomeadamente o LBI além de ter efeitos satisfatórios em tecidos ósseos sem alterações patológicas, também tem demonstrado efeitos positivos em pessoas com patologias sistémicas e locais, enquadrando-se perfeitamente numa das ferramentas tecnológicas adaptáveis no presente momento e no futuro.

Na ROG segundo os estudos a membrana absorve a energia de forma a impedir a passagem de energia até ao local alvo, com isto sugere-se que em estudos futuros se calcule a quantidade de energia absorvida pela membrana de forma a chegar a um consenso da dose mais indicada, ou seja, da dose que tenha resultados positivos na aplicação.

No entanto, como estão associados ao laser diversos parâmetros (potência, densidade de energia comprimento de onda, entre outros), torna-se difícil comparar estudos relativamente à aplicação do LBI devido às dosimetrias, protocolos e modelos experimentais.

As diferentes dosimetrias utilizadas pelos trabalhos de pesquisa devem ser comparadas de forma a criar protocolos de aplicação clínica únicos e assim utilizar o laser com maior conhecimento em adequadas indicações.

Estudos futuros devem ser bem controlados com uma selecção racional de lasers e de parâmetros de tratamento.

Bibliografia

AboElsaad, N. *et al.*, (2009). Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of infra-bony defects (a clinical study), *Lasers in medical Science*, 24, pp.387–395.

Acocella, A. *et al.* (2012) Maxillary alveolar ridge reconstruction with monocortical fresh-frozen bone blocks: A clinical, histological and histomorphometric study, *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 40, pp. 525-533.

- Adebayo, E., Fomete, B. e Ajike, S. (2012), Spontaneous bone regeneration following mandibular resection for odontogenic myxoma, *Annals of african medicine*, 11(3)pp.182-185.
- Albertini, R. *et al.*, (2007). COX-2 mRNA expression decreases in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation after low level laser therapy, *Inflammation Research*, 56 (6), pp. 228-239.
- Allegrini, J. *et al.*, (2008). Alveolar ridge sockets preservation with bone grafting-review, *Annales Academiae Medicae Stetinensis*, 54(1), pp. 70-81.
- Almeida, A. (2010). Os serviços de saúde pública e o sistema de saúde, *Revista portuguesa de Saúde Pública*, 28(1), pp.79-92.
- Amano Y. *et al.*, (2004). Evaluation of a poly-l-lactic acid membrane and membrane fixing pin for guided tissue regeneration on bone defects in dogs, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 97, pp. 155-163.
- American National Standard (2011). Safe Use of Lasers in Health Care Facilities. [em linha]. Disponível em < <http://webstore.ansi.org/RecordDetail.aspx?sku=ANSI+Z136.3-2011>> [consultado em 15.08.2013].
- Areaosa, S. e Areosa, A. (2008). Envelhecimento e dependência: desafios a serem enfrentados, *Revista Textos & Contextos Porto Alegre*, 7(1), pp. 138-150.
- Bagnato, V. (2008). *Laser e suas aplicações em Ciência e Tecnologia*. São Paulo, Editora Livraria da Física.
- Barberis G, *et al.*, (1996). In vitro synthesis of prostaglandin E2 by synovial tissue after helium-neon laser radiation in rheumatoid arthritis, *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 14(4), pp. 175–177.
- Barbosa, D. *et al.*, (2013). Effects of low-level laser therapy (LLLT) on bone repair in rats: optical densitometry analysis, *Lasers in medical Science*, 28, pp. 651–656.
- Barrère F. *et al.* (2008). Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Materials Science & Engineering. R, reports: a review journal*, 59, pp.38-71.
- Barrows, T. e Grove, M. (2011). Laser eye protection for the dental professional. *Journal of Laser Dentistry*, 19 (2), pp. 240-241.
- Bauer, T e Muschler, G. (2000). Bone Graft Materials. *Clinical Orthopaedics and related research*, 37, pp.10-27.
- Behfarnia, P. *et al.*, (2012). Histological and histomorphometric analysis of animal

- experimental dehiscence defect treated with three bio absorbable GTR collagen membrane, *Journal of Dental Research*, 9(5), pp. 574–581.
- Benke D. et. (2001). Protein-chemical analysis of bio-oss bone substitute and evidence on its carbonated content. *Biomaterials*, 22,pp.1005- 1012.
- Berlien, H. e Muller, G. (2003). *Applied Laser Medicine*. Berlin, Springer.
- Bjordal, J. (2006). A randomised, placebo controlled trial of low level laser therapy for activated Achilles tendinitis with microdialysis measurement of peritendinous prostaglandin E₂ concentrations, *British Journal of Sports Medicine*, (40), pp. 76–80.
- Boden S. (2000). Biology of lumbar spine fusion and use of bone graft substitutes: Present, future and next generation. *Tissue Engineering*, 6(4),pp.383-399.
- Brahmavar, S. e Hetzel, F. (2001). Medical Lasers: Quality control, safety standards and regulations, American Association of Physicists in Medicine and American College of Medical Physics. [Em linha]. Disponível em <http://www.aapm.org/pubs/reports/rpt_73.pdf> [consultado em 20/08/2013].
- Burg, K., Porter, S. e Kellam, J. (2000) Biomaterial developments for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 21, pp. 2347–2359.
- Buser,D. et al., (1996). *Regeneração óssea Guiada na Implantodontia*. São Paulo: Quintessence, p.155-187.
- Carvalho, P. et al., (2004) Revisão e proposta de nomenclatura para os biomateriais, *Implant News*, São Paulo,3, pp. 255-260.
- Catão, M. (2004) Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia, *Revista Brasileira de Patologia Oral*, 3(4), pp. 214-218.
- Chao, E. e Inoue, N. (2003). Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodeling, *European Cells and Materials*, 6, pp.72-85.
- Chiapasco M., Casentini P. e Zaniboni M. (2009). Bone augmentation procedures in implant dentistry. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*,24, pp. 237–259.
- Chow, L. (2009). Next generation calcium phosphate-based biomaterials, *Dental materials*, 28(1), pp. 1–10.
- Clarke B. (2008). Normal Bone Anatomy and Physiology, *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3, pp.131–139.
- Croci, A. et al., (2003). Effect of Plasma Concentrate on Bone Defects Induced in Mice Femurs via Stimulation of Bone Formation: An Experimental Study, *Acta ortopedica*

Brasileira, 11(4), pp. 230-239.

Dimitriou, R. *et al.*, (2012). The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence, *BMC Medicine*, 10(81), pp.1-24.

Diniz, J. *et al.*, (2009). Effect of low-power gallium-aluminum-arsenium laser therapy (830 nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study, *Lasers in medical Science*, 24:347–352.

Dixit S., Acharya S. e Dixit P. (2009). Multiple odontogenic keratocysts associated with Gorlin-Goltz syndrome, *Kathmandu University Medical Journal*, 7(4), pp. 414-418

Dörtbudak, O. *et al.* (2002). Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. *Clinical Oral Implants Research, Lasers in medical Science* 13, pp. 288-292.

Drosse, I. *et al.*, (2008). Tissue engineering for bone defect healing: An update on a multi-component approach, *Injury-international journal of the care of the injured*, 39(2), pp.9–20.

Drury, J. e Mooney, D. (2003). Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 24, pp. 4337–4351.

Ehrler, M. e Vaccaro, A. (2000). The Use of Allograft Bone in Lumbar Spine Surgery, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1(371), pp.38-45.

El-Fayomy, S. *et al.*, (2003) Healing of Bone Defects by Guided Bone Regeneration (GBR): An Experimental Study, *Egyptian journal of plastic and reconstructive surgery*, 27(2), pp.159-166.

El-Ghannam, A. *et al.*, (2007). Bone engineering of the rabbit ulna, *journal of oral and maxillofacial surgery*, 65(8), pp. 1495-1502.

Elias, J., Frassica, F. e Chao, E. (2000). The open section effect in a long bone with a longitudinal defect – a theoretical modeling study, *Journal of Biomechanics*, 33, pp. 1517-1522.

Fernandez, J., Aznar G. e Martinez, R. (2012). Piezoelectricity could predict sites of formation/resorption in bone remodelling and modeling, *Journal of Theoretical Biology*, 292, pp. 86–92.

Ferreira, A. (2009). Bone collagen role in piezoelectric mediated remineralization. *Acta Microscopica*, 18 (3), pp. 278–286.

Filho, H. *et al.*, (2011). Effects of low-level laser therapy (685nm) at different doses in

- osteogenic cell cultures, *Lasers in Medical Science*, 26, pp539-543.
- Freitas I et al., (2000) Laser effects on osteogenesis, *Applied surface Science*, 154, pp. 548–55.
- Freitas, R. (2008) Aloenxertos ósseos na osteossíntese, de fracturas traumáticas a morbidade, *Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia*, 16(1), pp.31-42.
- Froum S. et al. (2013). A histomorphometric comparison of Bio-Oss alone versus Bio-Oss and platelet-derived growth factor for sinus augmentation: a postsurgical assessment, *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 33(3), pp. 269-79.
- Garavello I. et al., (2004). The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae, *Histology and histopathology*, 19, pp.43-48.
- Genant, H. et al., (2007). Severity of vertebral fracture reflects deterioration of bone microarchitecture, *Osteoporos International*, 18, pp.69–76.
- Genovese, W. (2007). *Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia*. São Paulo, Editora Santos, pp.1-130.
- George, R. (2009). Laser in Dentistry – Review. *International Journal of Dental Clinics*,1(1), pp. 13-19.
- Gerbi, M. et al., (2008). Infrared laser light further improves bone healing when associated with bone morphogenic proteins: an in vivo study in a rodent model, *Photomedicine and Laser Surgery*, 26, pp. 55–60.
- Giannoudis, P. (2005). Tissue regeneration. The past, the present and the future, *Injury*, 4, pp.2-5.
- Gitirana, B. (2004). *Histologia: conceitos básicos dos tecidos*. São Paulo: Atheneu
- Gokhale S. e Dwarakanath, C. (2012). The use of a natural osteoconductive porous bone mineral (Bio-Oss™) in infrabony periodontal defects, *Journal of Indian Society of periodontology*, 16(2), pp. 247-252.
- Gottlie, V. et al., (2007). Aspectos genéticos do envelhecimento e doenças associadas: uma complexa rede de interações entre genes e ambiente. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 10(3), pp. 273-283.
- Guidugli-neto, J. (1997). *Elementos de patologia geral*. São Paulo, Editora Santos
- Hadjidakis D. e Androulakis, I. (2006). Bone remodeling. 1092, pp.385-396.
- Hallman, M. (2002). A clinical and histologic evaluation of implant integration in the posterior maxilla after sinus floor augmentation with autogenous bone, bovine

hydroxyapatite, or a 20: 80 mixture, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 17(5), pp. 635–643.

Hammerle, C. *et al.*, (2003) Bone augmentation by means of barrier membranes. *Periodontology* 2000, 33, pp.36–53.

Horner, E. *et al.*, (2010). Long bone defect models for tissue engineering applications: criteria for choice, *Tissue Engineering Part B Reviews*, 16(2), pp.263-271.

Hu, H. *et al.* (2011). Formation and bioactivity of porous and nanostructured TiO₂/beta-TCP coating on titanium, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*,(12), 10913-19016.

Igarashi M *et al.*, (2004). Inductive effects of dexamethasone on the gene expression of Cbfa1, Osterix and bone matrix proteins during differentiation of cultured primary rat osteoblasts, *Journal of Molecular Histology*, 35(1), pp.3-10.

Jones C. (2005) Biological Basis of Fracture Healing. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 19, pp.1-3.

Jorge A., Cassoni, A. e Rodrigues, J. (2010). Aplicações dos lasers de alta potência em odontologia, *Revista saúde*,4(3), pp.25-33.

Junqueira, L. e Carneiro, J. (2008) *Histologia básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Kahraman, S. (2004). Low-level laser therapy in oral and maxillofacial surgery, *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 16, pp. 277-288.

Kalfas, I. (2001). Principles of bone healing, *Neurosurgical Focus*, 10(4), pp. 1-3.

Kao, S. *et al.* (2007). A review of bone substitutes. *Oral & Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 19 p.513-521.

Kellomaki, M. *et al.*, (2000). Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation, *Biomaterials*, 21, pp. 2495-2505.

Khadra M, *et al.*, (2004). Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 97, pp.693-700.

Kim, D. *et al.*, (2009). Prospective study of iliac crest bone graft harvest site pain and morbidity, *The Spine Journal*, 9(11), pp. 886-892.

Lee, E. *et al.*, (2009), Membrane of hybrid chitosan-silica xerogel for guided bone regeneration, *Biomaterials*, 30, pp.743-750.

Leeuwen, A. *et al.*, (2011). Guided bone regeneration in rat mandibular defects using

resorbable poly (trimethylene carbonate) barrier membranes, *Acta Biomaterialia*, 8, pp.1422-1429.

Lindgren, C. Et al. (2010). Back-scattered electron imaging and elemental analysis of retrieved bone tissue following sinus augmentation with deproteinized bovine bone or biphasic calcium phosphate, *Clinical Oral Implants Research*, 21(9), pp. 924-930.

Lins, R, *et al.*, (2010). Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85(6), pp.849-855.

Machtei, E. (2001). The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis, *Journal of Periodontology*, 72(4), pp.512–516.

Manish K. *et al.* (2012). Clinical and Radiographic Outcomes Using Local Bone Shavings as Autograft in Minimally Invasive Transforaminal Lumbar Interbody Fusion, *World neurosurgery*, 78 (1/2), pp. 185-190.

Mardas, N. (2010). Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute or a bovine-derived xenograft: a randomized, controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, 21 (7), p 688-698.

Mathew, S. e Thangaraj D. (2011). *Lasers in Endodontics*. *Journal of Indian Academy of Dental Specialists*, 1 (1), pp. 31-37.

Matsumoto, M. *et al.*, (2009). Low-level laser therapy modulates cyclo-oxygenase-2 expression during bone repair in rats, *Lasers in Medical Science*, 24, pp.195-201.

Matsuo, A. (2010). Clinical application of a custom-made bioresorbable raw particulate hydroxyapatite/poly-L-lactide mesh tray for mandibular reconstruction, *Odontology*, 98, pp. 85-88.

McAllister, B. e Haghghat, K. (2007). Bone augmentation techniques. *Journal of Periodontology*, 78, pp. 377-396.

Meireles, G e Santos, A. (2010). Mecanismos de acção da laserterapia sobre componentes do processo de inflatório, *Revista Eletrônica da Fainor*, Vitória da Conquista, 3(1), p.30-40.

Mello, J. *et al.*, (2001). *Laser em odontologia*. São Paulo, Editora Santos

Meyer, U. e Joos, H. e Wiesmann, H. (2004). Biological and biophysical principles in extracorporal bone tissue engineering Part I, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 33, pp.325-332.

Meyer, U. e Joos, H. e Wiesmann, H. (2004). Biological and biophysical principles in extracorporal bone tissue engineering Part II, *International Journal of Oral and*

Maxillofacial Surgery, 33, pp. 523-530.

Milonni, P. e Eberly, J. (2010). *Laser Physics*. New Jersey, John Wiley & Sons.

Moritz, A. *et al.*, (2006). *Oral Laser Application*, Berlim, Quintessenz.

Muschler, G., Lane. J., Dawson, E. (1990). *The biology of spinal fusion*. Spinal Fusion Science and Technique. Berlin, Springer-Verlag.

Nanci, A. (2013). *Oral Histology: development, structures and function*. Missouri, Elsevier Mosby.

Nayer, S. *et al.*, (2009). Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of infra-bony defects (a clinical study), *Lasers in Medical Science*, 24, pp. 387–395.

Neves, L. *et al.*, (2005). A utilização do laser em Ortodontia, *Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial*, 10(5), pp. 149-156.

Nevins, M. Et al. (2013). A prospective, randomized controlled preclinical trial to evaluate different formulations of biphasic calcium phosphate in combination with a hydroxyapatite collagen membrane to reconstruct deficient alveolar ridges, *The Journal of Oral Implantology*, 39(2), pp.133-9.

Niemz, M. (2003). *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*, New York, Springer, 3a edição.

Noia C. *et al.* (2009). Uso de Enxerto Ósseo Autógeno nas Reconstruções da Cavidade Bucal. Análise Retrospectivade 07 Anos. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 2009, 50, pp.221-225.

Noris-Suárez K. *et al.*, (2007). In vitro deposition of hydroxyapatite on cortical bone collagen stimulated by deformation-induced piezoelectricity, *Biomacromolecules*, 8(3), p. 941-948.

Oliveira, D. *et al.* (2008). Evaluation of low-level laser therapy of osteoblastic cells. *Photomedicine and Laser Surgery*, 26(4), pp.401–404.

Oliveira, S. *et al.* (2009) Engineering Endochondral Bone: *In Vivo* Studies. *Tissue Eng. Part A*, 15(3), p.635-643.

Olivi, G. *et al.*, (2011). *Laser in Endodontics (Part I)*. *Roots International Magazine of Endontology*, 7 (1), pp. 6-9.

Oltramari P *et al.* (2007). Orthodontic movement in bone defects filled with xenogenic graft: an experimental study in minipigs. *Am. J. Orthod. Dentofacial. Orthop.* 131, pp.310-317.

- Parker, S. (2007). Low-level laser use in dentistry, *British Dental Journal*, 202(3), pp.131-138.
- Peppas, N. & Langer, R. (1994). New Challenges in Biomaterials, *Science*, 263, pp.1715-1720
- Phipps, W., Sands, J., Marek, J. (2003). *Enfermagem Médico-Cirúrgica, Conceitos e Prática clínica*. Loures, Lusociência .
- Pinheiro, A. *et al.*, (2003). Effect of 830-nm Laser Light on the Repair of Bone Defects Grafted with Inorganic Bovine Bone and Decalcified Cortical Osseous Membrane, *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 21(5), Pp. 301–306.
- Pinheiro, A. *et al.*, (2013). The efficacy of the use of IR laser phototherapy associated to biphasic ceramic graft and guided bone regeneration on surgical fractures treated with miniplates: a Raman spectral study on rabbits, *Lasers in medical Science*, 28(2), pp.513-518.
- Pípi, E. *et al.*, (2010). Comparative study of the effects of low-intensity pulsed ultrasound and low-level laser therapy on bone defects in tibias of rats, *lasers in medical science*, 25, pp.727-732.
- Polimeni G *et al.*, (2004). Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of tissue occlusion on alveolar bone regeneration with guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, pp. 730–735.
- Poppi, R. *et al.*, (2011). Evaluation of the osteogenic effect of low-level laser therapy (808 nm and 660 nm) on bone defects induced in the femurs of female rats submitted to ovariectomy, *Lasers in medical Science* , 26, pp.515–522.
- Precheur, H. (2007). Bone Graft Materials. *Dental Clinics of North America*, 51, p.729-746.
- Pretel, H., Rosane, F e Ramalho, L. (2007). Effect of Low-Level Laser Therapy on Bone Repair: Histological Study in Rats, *Lasers in Surgery and Medicine*, 39, pp. 788-796.
- Prockt, A., Takahashi, A. e Pagnoncelli, R. (2008). Uso de Terapia com Laser de Baixa Intensidade na Cirurgia Bucomaxilofacial, *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 49(4), pp.247-255.
- Pyo, S. *et al.*, (2012). Effects of Low Laser therapy (LLLT) on Pressured Human Osteoblasts: a Histomorphologic and Quantitative Study, *Laser Physics*, 22(3), pp.620-625.

- Raghoobar G. *et al.* (2007). Morbidity of mandibular bone harvesting: a comparative study, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 22, pp. 359-365.
- Rakhmatia, Y. *et al.*, (2013). Current barrier membranes: Titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications, *Journal of Prosthodontic Research*, 57, pp. 3–14.
- Renno, A. *et al.*, (2006). Effects of 830 nm laser used in two doses, on biomechanical properties of osteopenic rat femora. *Photomedicine and Laser Surgery*, 24, pp.202–206
- Ricciotti, E. (2011). Arterioscler Thromb Vasc Biology, *Journal of the American Heart Association*, 31, pp. 986-1000.
- Rodella, F. *et al.* (2011). Biomaterials in Maxillofacial Surgery: Membranes and Grafts, *InternatIonal journal of Biomedical science*, 7(2), pp. 81–88.
- Rosetti, E. *et al.*, (2013) Root coverage stability of the subepithelial connective tissue graft and guided tissue regeneration: A 30-month follow-up clinical trial, *Journal of Dentistry*, 41(2),pp. 114-12.
- Ross, M. e Wojciech, P. (2012). *Histologia: texto e atlas*. São Paulo, Guanabara Koogan.
- Rothamel D. *et al.*, (2012). Biocompatibility and biodegradation of a native porcine pericardium membrane: results of in vitro and in vivo examinations, *The international journal of Oral & Maxillofacial Implants*;27(1), pp.146-154.
- Russell J. *et al.* (2000). Surgical harvesting of bone graft from the ilium: point of view. *Medical Hypotheses*, 55, pp.474-479.
- Salgado, A., Coutinho, O. e Reis, R. (2004). Bone tissue engineering: state of the art and future trends, *Macromolecular Bioscience*, 4, pp. 743–765.
- Santana, R. *et al.*, (2010). Superficial topography and porosity of an absorbable barrier membrane impacts soft tissue response in guided bone regeneration, *Journal of Periodontology*, 81(6), pp.926-933.
- Satyanarayana K. *et al.* (2012). Clinical evaluation of intrabony defects in localized aggressive periodontitis patients with and without bioglass- an in-vivo study, *Kathmandu University Medical Journal*, 10(37), pp.11-15.
- Scantlebury, T. (1993), 1982–1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration, *Journal of Periodontology*, 64, pp. 1129–37.

Schantz J. et al., (2002) Induction of ectopic bone formation by using human periosteal cells in combination with a novel scaffold technology, *Cell Transplantation*, 11, pp.125–138.

Schlegel, K. et al., (2003) Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 18, pp. 53-58.

Seeley, R., Stephens, T. e Tate, P. (2005) Anatomia & Fisiologia. Loures, Lusociência

Seitz, S. et al., (2007). Influence of in vitro cultivation on the integration of cell-matrix constructs after subcutaneous implantation, *Tissue Engineering*, 13, pp.1059–1067.

Serra, A (2010). Influence of Naloxone and Methysergide on the Analgesic Effects of Low-Level Laser in an Experimental Pain Model, *Brazilian Journal of Anesthesiology*, 60(3), pp. 302-310.

Silfvast, W. (2004). *Laser Fundamentals*. Cambridge, Cambridge University Press

Silva, A (2012). Effect of low-level laser therapy after rapid maxillary expansion on proliferation and differentiation of osteoblastic cells, *Lasers in medical Science*, 7(4), pp.777-83.

Soleimani, M. (2012). The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts—an in vitro study, *Lasers in medical Science*, 27, pp. 423–430

Souza, P. e Lerner, U. (2013). The role of cytokines in inflammatory bone loss, *Immunological Investigations*, 42(7), pp. 555-622.

Spiegel, D. et al., (2005). Chronic Osteomyelitis in Children, *Techniques in Orthopaedics*, 20(2), pp. 142–152.

Steen, W. e Mazumder, J. (2010). *Laser Material Processing*. Londres, Springer.

Stevens, A; Lowe, J. *Histologia Humana*. São Paulo: Manole, 2001.

Svelto, O. (2010). *Principles of Lasers*. New York, Springer

Sverzut, C et al., (2008). Reconstruction of mandibular segmental defects using the guided bone regeneration technique with polylactide membranes and/or autogenous bone graft: a preliminary study on the influence of membrane permeability, *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 66, pp.647–56.

Sweeney, C. et al., (2009). Laser Safety in dentistry: A position paper. *Journal of laser dentistry*, 17(1), pp.39-49.

Tam, G. (1999). Low power laser therapy and analgesic action, *Journal of Clinical*

Laser Medicine & Surgery, 17, pp.29-33.

Taschieri, S. *et al.*, (2007). Efficacy of xenogeneic bone grafting with guided tissue regeneration in the management of bone defects after surgical endodontics, *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 65, pp. 1121-1127.

Tsubota, K. *et al.*, (2009). Computer simulation of trabecular remodeling in human proximal femur using large-scale voxel FE models: Approach to understanding Wolff's law, *Journal of Biomechanics*, 42(8), pp. 1088–1094.

Turrer, C. *et al.*, (2008). O uso de implantes de compósito bioativo de biocerâmica em matriz polimérica na reconstrução do complexo zigomático orbitário: novas perspectivas em biomateriais, *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 71(2), pp.153-156.

Ukhanov, A. *et al.*, (2002). Orientation dependence of the optical properties in InAs quantum-dash lasers on InP, *Applied physics letters*, 81(6), pp.981-983.

Vacanti, J. e Vacanti, C. (2007). *Principles of Tissue Engineering.*, London, Elsevier.

Vaccaro A. *et al.* (2002) Bone grafting alternatives in spinal surgery. *The Spine Journal*, 2, pp.206-215.

Vats, A. *et al.*, (2003) Scaffolds and biomaterials for tissue engineering: a review of clinical applications, *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences*, 28 pp. 165–172.

Walsh, L. (2003). The current status of laser applications in dentistry. *Australian Dental Journal*. 48 (3), pp. 146-155.

Wang, H e Carroll, W. (2001). Guided bone regeneration using bone grafts and collagen membranes, *Quintessence International*,32(7), pp.504–515.

Watson J. (2005). Overview of Biologics. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 19, pp.14-

Williams, D (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), pp. 2941-2953.

Zhang, X. *et al.* (2002) Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *The Journal of Clinical Investigation*, 109, pp.1405–1415

Zitzmann N. *et al.* (2001). Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss: a histologic study in humans, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 21(3), pp. 288-295.