

Artigo Original de Pesquisa

Avaliação histológica da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo: estudo experimental em ratos

Histological evaluation of the effects of LLLT on the epithelial, connective and osseous tissue healing: experimental study in rats

Enio Marcos da SILVA*
Shaiene Patrícia GOMES*
Lucienne Miranda ULBRICH**
Allan Fernando GIOVANINI***

Endereço para correspondência:

Lucienne Miranda Ulbrich
Rua Padre Anchieta, 1.577 – ap. 202
Champagnat – Curitiba – PR – CEP 80730-000
E-mail: lmulbrich@unicenp.edu.br

* Alunos do 5.º ano do curso de Odontologia do Centro Universitário Positivo (UnicenP/PR).
** Professora adjunta do UnicenP/PR. Mestre em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.
*** Professor titular do UnicenP/PR. Doutor em Patologia Bucal.

Recebido em 23/4/07. Aceito em 2/10/07.

Palavras-chave:
reparo tecidual; reparo ósseo; laserterapia; modelo experimental.

Resumo

A cicatrização é um processo fisiológico que ocorre diante de injúrias causadas em tecidos vivos. Muitas pesquisas estão sendo realizadas visando à estimulação do reparo tecidual. O objetivo deste artigo foi avaliar histologicamente a resposta de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo submetidos à laserterapia de baixa intensidade (LBI) em um modelo experimental de reprodução alveolar. Como metodologia, foram realizadas aplicações de LBI em quatro grupos de cinco ratos, nos seguintes parâmetros: 10 mW potência única e 660 nm – 7,5 J/cm²; 660 nm – 15 J/cm²; 780 nm – 7,5 J/cm²; e 780 nm – 15 J/cm². Os tempos experimentais foram 3, 7, 14, 21 e 28 dias. Como resultado, os tecidos epitelial e conjuntivo mostraram renovação celular atípica e acelerada durante o período de irradiação; o tecido ósseo teve sua neoformação acelerada, porém de igual padrão ao grupo controle. Concluiu-se que os tecidos epitelial e conjuntivo reagiram à estimulação de LBI com renovação celular constante. No tecido ósseo

houve uma aceleração da neoformação e reparação óssea, dentro dos padrões de normalidade.

Keywords:

low level laser therapy; bone repair; tissue repair; experimental model.

Abstract

Wound healing is a physiological process of live tissues. Researches have been made in order to improve this process and establish a fast patient rehabilitation. The aim of this study was to evaluate the histological effects of LLLT AsGaAl ($\lambda = 660\text{nm}$, 780nm ; $W = 10\text{mW}$; $\epsilon = 7,5$; $15\text{J}/\text{cm}^2$; $t = 5\text{ min}$) on the epithelial, connective and bone tissue healing, on an alveolar model. Rats were submitted to the surgical creation of an alveolus between the lower incisor and the first mandibular molar, on both sides. After LLLT application, they were sacrificed on 3, 7, 14, 21, and 28 days. The results showed epithelial and connective tissues with accelerated growth during LLLT application; osseous tissue with accelerated neoformation, however following normal patterns. Thus, epithelial and connective tissues responded to LLLT by means of steady cellular renewal; osseous tissue showed accelerated healing, similar to the normal growth patterns.

Introdução

A cicatrização é um dos processos mais estudados atualmente. Pesquisas têm avaliado a importância de sua estimulação na reabilitação funcional e estética do paciente. Esta pode ocorrer por primeira ou segunda intenção, com estágios inflamatório, fibroblástico e remodelador [27, 26].

O *laser* é uma radiação eletromagnética não-ionizante, com características de monocromaticidade, coerência, direcionalidade e possibilidade de focalização em pequenas áreas [3, 12]. Os *lasers* são classificados em alta (LAI) e baixa intensidade (LBI). Entre os mais utilizados para cicatrização estão o de HeNe (hélio-neônio), AsGa (arseneto de gálio) e AsGaAl (arseneto de gálio e alumínio) [32, 7].

Os LBI infravermelhos são considerados mais eficazes para analgesia, e os do espectro vermelho, para cicatrização [31]. Seus efeitos primários são bioquímicos, bioelétricos e bioenergéticos [33, 27]. O LBI não causa lise celular. Atua pelo aumento do metabolismo, proliferação e maturação celular, aumento da quantidade de tecido de granulação e diminuição dos mediadores inflamatórios, induzindo o processo de cicatrização [5, 7]. A camada tecidual a ser atingida depende do tipo de *laser*, da potência, do comprimento de onda e do tempo de irradiação. Quanto menor o comprimento de onda, maior sua ação e poder de penetração [10, 3]. *Lasers* com comprimentos de onda entre 640 e 940 nm devem ser aplicados de modo pontual à lesão [20, 25, 27].

Entre os processos celulares que respondem à bioestimulação podem ser citados: atividade mitótica

das células epiteliais [17], modificação da densidade capilar [21], estimulação da microcirculação local [13] e síntese do colágeno *in vitro* [1, 8, 20] e *in vivo* [2, 13, 18, 20, 28].

Segundo Carvalho *et al.* (2002) [9], os métodos não-farmacológicos que estimulam o reparo ósseo são atividade física, nutrição, estimulação elétrica, ultra-som e LBI. De acordo com Walsh (1997) [34], estimular a formação de colágeno e aumentar a tensão da ferida são funções da LBI na cicatrização por segunda intenção. Em 2000 Freitas *et al.* [11] utilizaram a LBI de HeNe em fraturas de ratos, nas doses de $3,15\text{ J}/\text{cm}^2$, $31,5\text{ J}/\text{cm}^2$ e $94,7\text{ J}/\text{cm}^2$. Observaram que a neoformação óssea foi maior, e o tempo de reparo, menor, à medida que aumentava a densidade de energia.

Com base na literatura apresentada, este trabalho teve por objetivo estudar a cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo associados a quatro diferentes parâmetros de laserterapia.

Metodologia

Foi realizado um estudo experimental, *in vivo*, randomizado, com 20 indivíduos *Rattus norvegicus albinus*, cepa Wistar, gênero masculino, idade de 150 dias, peso de 300 g, divididos em quatro grupos de cinco ratos. O lado direito da mandíbula foi o controle, e o lado esquerdo, o teste. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do UnicenP – protocolo 111/2006.

Os grupos 1 e 2 receberam LBI (Twin Laser, MM Optics) com comprimento de onda de 660 nm, e os

grupos 3 e 4, de 780 nm. A densidade de energia para os grupos 1, 2, 3 e 4 foi, respectivamente, 7,5, 15, 7,5 e 15 J/cm². As aplicações foram realizadas diariamente por 5 minutos, a cada 24 horas, durante todo o período experimental.

Os ratos foram sedados por 1 minuto com halotano, por via inalatória, e anestesiados com cloridrato de quetamina a 10%, associado a cloridrato de xilazina a 2%, por injeção intraperitoneal. Em seguida infiltrou-se anestésico local na região a ser operada com mepivacaína 2% e adrenalina 1:100.000.

As cirurgias dos dois lados foram realizadas no mesmo tempo operatório. Cada procedimento cirúrgico foi constituído de uma incisão retilínea de 0,5 cm feita com lâmina 15 e cabo de bisturi n.º 3, entre o incisivo inferior e o tendão do músculo masseter. Após, efetuou-se o descolamento dos tecidos epitelial e conjuntivo, expondo-se o tecido ósseo. Nessa área foi feito um defeito ósseo com broca esférica n.º 4, montada em peça reta e motor elétrico de 30.000 rpm sob irrigação e aspiração constantes. O defeito atingiu tecido cortical e medular, sem romper a face lingual da mandíbula. A cavidade foi tratada e seguiu-se a sutura com pontos simples e fio de seda 4.0. Após o término do procedimento cirúrgico o *laser* foi aplicado no lado teste.

No período pós-operatório os animais foram armazenados em gaiolas próprias e alimentados com ração e água. Para a analgesia foi utilizada solução de Paracetamol (40 mg/kg de peso). A sutura foi removida em 7 dias.

Os tempos experimentais foram de 3, 7, 14, 21 e 28 dias pós-operatórios. A eutanásia de um animal de cada grupo a cada tempo experimental foi realizada na câmara de gás. As mandíbulas foram separadas ao meio com o auxílio de um motor elétrico e broca 703. O tecido mole foi removido de toda a peça e separado da área do defeito cirúrgico. As peças foram colocadas dentro de um frasco com formol a 10%, para posterior processamento histológico. As lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina.

Resultados

Tecidos epitelial e conjuntivo – grupo controle: no 3.º e no 7.º dia, houve processo inflamatório difuso agudo e crônico. No 21.º dia, ocorreu presença de tecido fibroso, e no 28.º, processo de cicatrização completo.

Tecidos epitelial e conjuntivo – grupos teste: no grupo 1, no 3.º dia, foi possível observar presença marcante de processo inflamatório agudo. No 7.º dia,

verificou-se epitélio acantótico com proliferação de camada basal e tecido conjuntivo denso associado a moderado processo inflamatório crônico (figura 1A). No 14.º dia, houve início de células vacuolizadas com núcleo picnótico e tecido conjuntivo com características usuais (figura 2A). No 21.º e no 28.º dia, notou-se cicatrização completa com atrofia epitelial e fibrose tecidual.

O grupo 2 apresentou resultados semelhantes ao grupo 1 no 3.º dia. No 7.º, houve proliferação da camada basal e início de vacuolização de células epiteliais, em processo de apoptose (figura 1B). Observou-se evolução desse quadro no 14.º dia, com intenso processo queratótico profundo circundado por células em apoptose e tecido conjuntivo denso (figura 2B). No 21.º e no 28.º dia, ocorreu cicatrização tecidual com atrofia epitelial e fibrose tecidual.

Já no grupo 3, deu-se marcante processo inflamatório crônico no 3.º dia. No 7.º, observou-se início de vacuolização epitelial e processo apoptótico, com perda da coesão epitelial e intenso processo inflamatório crônico (figura 1C). No 14.º, evidenciaram-se áreas de acantose epitelial e ortoqueratose (figura 2C). No 21.º e no 28.º dia, houve evolução das características do 14.º dia e término da cicatrização.

Nos três primeiros dias, o grupo 4 foi semelhante ao grupo 3. No 7.º dia, verificaram-se áreas focais de queratinização e fibrose de tecido conjuntivo (figura 1D). Em 14 dias, houve discreto número de células com padrão de vacuolização e queratinização mais evidente, associada a processo inflamatório crônico em grande quantidade (figura 2D). No 21.º dia, ocorreram diminuição da vacuolização, conjuntivo denso e fibroso, apoptose e degeneração celular. Em 28 dias, notou-se final da cicatrização com diminuição das características de 21 dias.

Tecido ósseo – grupo controle: no 3.º e no 7.º dia, observaram-se presença de processo inflamatório agudo e início de deposição de osteóide. Em 14 dias, formação de ilhas de osso compacto, entremeadas por tecido conjuntivo denso. No 21.º dia houve formação óssea compacta, cortical e medular. No 28.º, notou-se o calo ósseo, cortical e medular, de aspecto compatível com a normalidade.

Tecido ósseo – grupos teste: no grupo 1, no 3.º e no 7.º dia, começou a deposição de osteóide. Em 14 dias, ocorreu início da ossificação proveniente do perióstio na área periférica da cavidade (figura 3A). No 21.º e no 28.º dia, deu-se formação óssea completa, com espículas interligadas, similares à formação óssea intramembranosa.

O grupo 2 apresentou o mesmo padrão do grupo 1 no 3.º dia. No 7.º, houve maior formação óssea comparada ao grupo 1, de mesmo padrão (figura 3B). No 28.º dia, formou-se calo ósseo.

No grupo 3 ocorreu ossificação em maior quantidade, se comparada com os mesmos tempos dos grupos anteriores. Em 14 dias, verificaram-se tecido de granulação ricamente vascularizado e aposição de tecido ósseo no fundo da cavidade (figura 3C). No 21.º dia, observou-se osso medular formado, circundado por cortical. No 28.º, deu-se formação óssea normal.

O grupo 4 teve ossificação acelerada em relação ao grupo 3. No 7.º dia, observou-se formação óssea centrífuga. Em 14 dias, notou-se processo de ossificação intramembranosa, com alto grau de neoformação óssea (figura 3D). No 21.º dia, ocorreram ilhas de osso compacto entremeadas por tecido conjuntivo, com áreas de processo inflamatório crônico. No 28.º dia, o tecido que circundou a loja óssea se apresentou moderadamente compacto, porém não a envolveu como um todo.

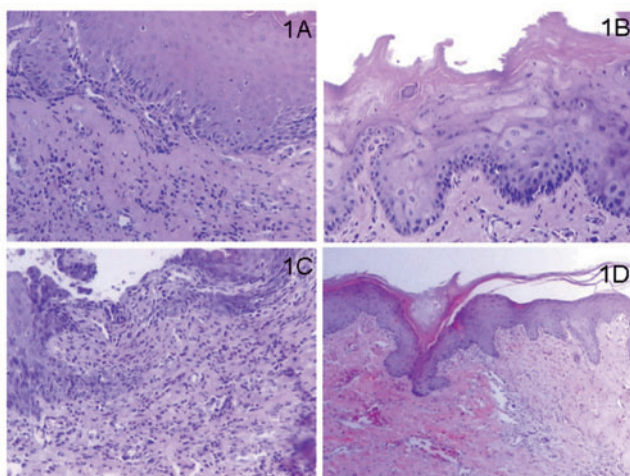


Figura 1 - 7 dias - tecidos epitelial e conjuntivo - HE
A: 40X; B: 100X; C: 40X; D: 40X

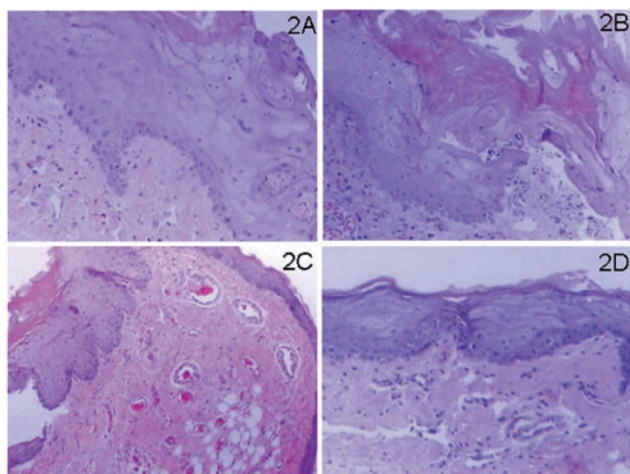


Figura 2 - 14 dias - tecidos epitelial e conjuntivo - HE
A: 100X; B: 100X; C: 40X; D: 40X

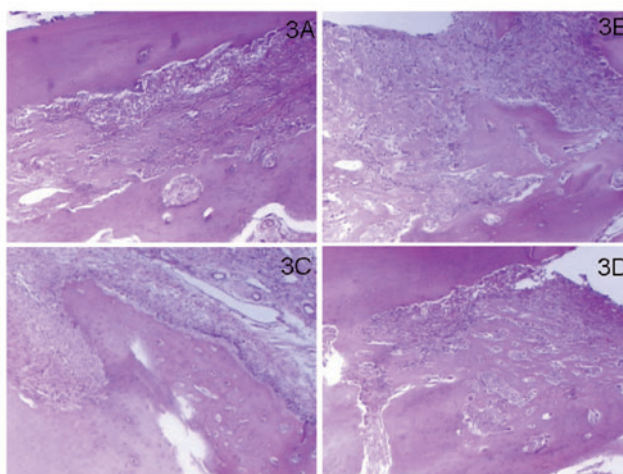


Figura 3 - 14 dias - tecido ósseo - HE
A: 100X; B: 40X; C: 100X; D: 100X

Discussão

Para este estudo foi criado um modelo experimental que simulou o alvéolo. Autores como Mester *et al.* (1971) [22], Anneroth *et al.* (1988) [4], Schindl *et al.* (1998) [29], Abergel *et al.* (1987) [2], Tatarunas *et al.* (1998) [31], Ozawa *et al.* (1998) [24], Freitas *et al.* (2000) [11], Giordano *et al.* (2001) [16] e Bayat *et al.* (2006) [6] utilizaram ratos para estudo de cicatrização. Já Takeda (1988) [30], Neiburger (1995) [23] e Garcia *et al.* (1996, 2000) [12, 15] realizaram suas pesquisas na cavidade bucal dos ratos favorecendo a aplicação dos resultados na clínica odontológica.

O estudo da LBI na cavidade bucal permitiu a avaliação dos tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo, o que concorda com os autores Garcia (1992) [13], Garcia *et al.* (1995, 1996, 2000) [14, 12, 15], Theodoro e Garcia (2001) [32], Baxter (1994) [5], Bourguignon Filho *et al.* (2005) [7], Dallan e Oliveira (2000) [10], Almeida (2004) [3], Mester (1973) [18], Mester e Jaszgagi-Nagy (1973) [19], Mester *et al.* (1971, 1978, 1985) [22, 21, 20], Kana *et al.* (1981) [17], Abergel *et al.* (1984, 1987) [1, 2], Bulton e Marshall (1986) [8], Walsh (1997) [34], Anneroth *et al.* (1988) [4], Takeda (1988) [30], Neiburger (1995) [23], Schindl *et al.* (1998) [29], Tatarunas *et al.* (1998) [31], Ozawa *et al.* (1998) [24], Freitas *et al.* (2000) [11], Giordano *et al.* (2001) [16] e Bayat *et al.* (2006) [6].

Entre os *lasers* disponíveis comercialmente foi escolhido o de AsGaAl, em dois comprimentos de onda. O de 780, infravermelho, apresentou os melhores resultados na cicatrização, o que concorda com Tatarunas *et al.* (1998) [31].

Segundo Dallan e Oliveira (2000) [10] e Almeida (2004) [3], a profundidade de penetração é

inversamente proporcional ao comprimento de onda. Os comprimentos de onda empregados (660 nm e 780 nm) fazem parte do espectro de ondas eletromagnéticas curtas, o que favoreceu o seu uso para estudo da cicatrização óssea como descrito nos trabalhos de Giordano *et al.* (2001) [16] e Ozawa *et al.* (1998) [24], que utilizaram, respectivamente, 670 e 830 nm.

Segundo Parizzoto e Baranauskas (1998) [25] e Rocha (2004) [27], a aplicação deve ser pontual, dado o modo de absorção da luz pelas células. Esta metodologia seguiu esse modo de aplicação.

Em relação à potência e à densidade de energia, Mester *et al.* (1971) [22], Abergel *et al.* (1987) [2], Anneroth *et al.* (1988) [4], Takeda (1988) [30], Garcia *et al.* (1996, 2000) [12, 15], Tatarunas *et al.* (1998) [31], Freitas *et al.* (2000) [11], Giordano *et al.* (2001) [16] e Bayat *et al.* (2006) [6] trabalharam, respectivamente, com 0,5, 1, 4, 5 e 10 J/cm²; 1,56 mW – 1,22 J/cm²; 0,5-3,5 mW; 25 nW – 20 J/cm²; 0,5, 3,5 mW, 10 mW – 0,36 J/cm²; 27 mW – 2 e 4 J/cm²; 3,15 J/cm², 31,5 J/cm² e 94,7 J/cm²; 10 mW – 6 J/cm²; 1,2 J/cm²; 120 s e 2,4 J/cm². Este trabalho utilizou potência única de 10 mW e densidades de energia de 7,5 e 15 J/cm². O objetivo foi associar comprimentos de onda curtos com densidade de energia elevada, buscando um padrão de cicatrização acelerado e compatível com a normalidade.

O tempo de aplicação foi de 5 minutos diários, durante todo o período experimental. Os resultados histológicos mostraram que os grupos que receberam LBI por mais dias apresentaram estímulos celulares e teciduais diferenciados.

A combinação desses parâmetros sobre tecidos epitelial e conjuntivo resultou em presença marcante de processo inflamatório agudo e crônico, vacuolização epitelial, mitose atípica, apoptose, atrofia epitelial, tecido conjuntivo denso e fibroso e queratinização anormal. Baxter (1994) [5], Bourguignon Filho *et al.* (2005) [7], Kana *et al.* (1981) [17], Mester *et al.* (1971) [22], Garcia *et al.* (1995) [14], Abergel *et al.* (1984, 1987) [1, 2], Bulton e Marshall (1986) [8], Walsh (1997) [34], Takeda (1988) [30], Tatarunas *et al.* (1998) [31], Schindl *et al.* (1998) [29] e Bayat *et al.* (2006) [6] encontraram resultados semelhantes.

A alteração epitelial mais marcante, principalmente após os 14 dias, foi a vacuolização de células epiteliais, seguida de mitoses atípicas e apoptose, levando à atrofia tecidual. Isso sugere que, quanto mais irradiadas forem as células, maiores serão o metabolismo e a renovação tecidual. Levando em conta essa observação, sugere-se que a LBI não seja aplicada após o tempo fisiológico de cicatrização.

Sobre o tecido ósseo, a alteração mais evidente foi a aceleração da neoformação, em todos os seus estágios. O padrão de formação e a celularidade não foram alterados pela LBI nos grupos 1, 2 e 3. No grupo 4, a aplicação por 28 dias resultou em processo inflamatório crônico entremeado no tecido formado, retardando a cicatrização, o que corrobora os resultados encontrados por Carvalho *et al.* (2002) [9], Takeda (1988) [30], Garcia *et al.* (1996, 2000) [12, 15], Ozawa *et al.* (1998) [24].

Freitas *et al.* (2000) [11] obtiveram aumento da neoformação óssea e diminuição do tempo de reparo proporcionais ao aumento da densidade de energia da LBI. Tal aspecto concorda com este trabalho, uma vez que o grupo 3 apresentou a melhor cicatrização óssea. Foi possível observar, também, que em todos os grupos estudados as alterações seguiram padrões semelhantes à cicatrização fisiológica.

Conclusão

Com base nos parâmetros estudados, foi possível concluir que:

- o modelo experimental proposto possibilitou o estudo do reparo alveolar;
- nos tecidos epitelial e conjuntivo, os resultados favoráveis da estimulação por LBI ocorreram até o término do tempo de cicatrização fisiológica;
- no tecido ósseo, a LBI acelerou a neoformação e a cicatrização, o que favoreceu a reparação óssea, com o mesmo padrão celular da normalidade;
- mais estudos se fazem necessários para elucidar os mecanismos de atuação da LBI e os parâmetros ideais que devem ser utilizados na prática clínica.

Referências

1. Abergel RP, Lam TS, Meeker CA, Dwyer RM, Uitto J. Low energy lasers stimulate collagen production in human skin fibroblast cultures. *Clin Res.* 1984;32:16-25.
2. Abergel RP, Lyons RF, Castel JC, Dwyer RM, Vito J. Biostimulation of wound healing by lasers. Experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *J Dermat Surg Oncol.* 1987;13:127-33.
3. Almeida L. Laserterapia na odontologia. *Biodonto.* 2004;1(1):1-89.

4. Anneroth G, Hall G, Ryden H, Zetterqvist L. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. *Brit J Oral Maxillofac Surg.* 1988;26:12-7.
5. Baxter GD. *Therapeutic lasers: theory and practice.* New York: Churchill Livingstone; 1994.
6. Bayat M, Vasheghani MM, Razavi N. Effect of low-level helium-neon laser therapy on the healing of third-degree burns in rats. *Photochem Photobiol.* 2006;83:87-93.
7. Bourguignon Filho AM, Feitosa RCA, Beltrão GC, Pagnoncelli MR. Utilização do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização tecidual. Revisão de literatura. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial.* 2005;46(1):37-43.
8. Bulton M, Marshall J. He-Ne laser stimulation of human fibroblast proliferation and attachment in vitro. *Lasers Life Sci.* 1986;1:125-34.
9. Carvalho CLD, Rosim CG, Gama ROL, Tavares RM, Tribioli AR, Santos RI et al. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. *Rev Saúde Pública [serial online]* 2002 out [cited 2007 mar 17]; 36(5):[12 screens]. Available from: URL:http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102002000600017&lng=pt&nrm=iso.
10. Dallan LAO, Oliveira SA. Cirurgia de revascularização transmiocárdica a laser de CO₂. *Rev Bras Cirur Cardiovasc.* 2000;15:89-104.
11. Freitas IGF, Baranauskas V, Cruz-Hofling MA. Laser effects on osteogenesis. *Appl Surf Sci.* 2000; 154-5.
12. Garcia GV, Okamoto T, Kina RJ, Fonseca GR, Theodoro LH. Reparação de feridas de extração dental submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo histológico em ratos. *Rev Fac Odontol Lins.* 1996 jan/jul;9(1):33-42.
13. Garcia VG. Comportamento de feridas cutâneas submetidas à ação do raio laser. Estudo clínico, biométrico e histológico em ratos. [Tese - Livredocência]. Araçatuba: UNESP; 1992.
14. Garcia VG, Kina JR, Milanezi LA. Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo clínico em ratos. *Rev Facul Odontol Lins.* 1995;8:9-15.
15. Garcia GV, Theodoro LH, Colman SL, Fonseca GR, Okamoto T. Influência do número de aplicações de raio laser de bioestimulação sobre a reparação de feridas de extração dentária. Estudo histológico em ratos. *Rev Fac Odontol Lins.* 2000 jan/dez;12(1/2):29-37.
16. Giordano V, Knackfuss I, Gomes R, Giordano M, Mendonça R, Coutinho F. Influência do laser de baixa energia no processo de consolidação de fratura de tibia. Estudo experimental em ratos. *Rev Bras Ortop.* 2001 maio;36(5):174-8.
17. Kana JS, Hutschenreiter G, Jaina D, Wandelich W. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch Surg.* 1981;116:293-6.
18. Mester E. Stimulation of wound healing by means of laser rays. Clinical and electron microscopical study. *Acta Chir Acad Sci Hung.* 1973;14:347-56.
19. Mester E, Jaszszagi-Nagy E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen biosynthesis. *Stud Biophys.* 1973;35:227-30.
20. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med.* 1985;5:31-9.
21. Mester E, Nagylucskay S, Tesza S, Mester A. Stimulation of wound healing by means of laser rays III. Investigation of the effect on immune competent cells. *Acta Chir Acad Sci Hung.* 1978;19:163-70.
22. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg.* 1971;122:532-5.
23. Neiburger EJ. The effect of low-power lasers on intraoral wound healing. *NY State Dent J.* 1995;61:40-3.
24. Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone.* 1998;22:347-54.
25. Parizotto NA, Baranauskas V. Structural analysis of collagen fibrils after HeNe laser photostimulated regenerating rat tendon. 2nd Congress World Association for Laser Therapy; 1998 Sep 2-5. p. 66.

26. Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR. Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 57-67.
27. Rocha JCT. Terapia laser, cicatrização tecidual e angiogênese. RBPS. 2004;17(1):44-8.
28. Saperia D, Glassberg E, Lyons RF, Abergel P, Baneux P, Castel JC et al. Demonstration of elevated type I and type III procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with helium-neon laser. Proposed mechanism for enhanced wound healing. Biochem Biophys Res Commun. 1986;138:1.123-8.
29. Schindl M, Schon H, Knobler R, Havelec L, Schindl L. Low intensity laser irradiation improves skin circulation in patients with diabetic microangiopathy. Diabetic Care. 1998;21:580-4.
30. Takeda Y. Irradiation effect of low energy laser in alveolar bone after tooth extraction. Experiment study in rats. Int J Oral Maxillofac Surg. 1988;17:388-91.
31. Tatarunas AC, Matera JM, Dagli MLZ. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico: utilização do laser de baixa potência AsGa (904nm). Acta Cir Bras. 1998;13:86-93.
32. Theodoro LH, Garcia VG. Lasers em implantodontia. JBC. 2001 nov/dez;5(30):525-9.
33. Veçoso MC. Laser em traumatologia. In: Laser em fisioterapia. São Paulo: Lovise; 1993. p. 65.
34. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part I. Soft tissue applications. Aust Dent J. 1997;42:247-54.



LOJA: CENTRO

phones: (41) 232.1022 / 222.8324 - fax: 222.4158
Al. Dr. Muricy, 336 - Centro - Curitiba-PR - CEP 80010-120
e-mail: perboni@matrix.com.br

Loja: Água Verde

fone/fax: 41 343.8374
Av. República Argentina, 995 - sl. 01 - Galeria Usina do Corpo
Água Verde - Curitiba-PR - 80.620-010