

**Efeito da laserterapia na biomodulação da osteogênese em modelo animal**  
**Effect of laser on the biomodulation of osteogenesis in animal model**  
**Efecto de la terapia con láser sobre la biomodulación de la osteogénesis en modelo animal**

Recebido: 08/09/2020 | Revisado: 10/09/2020 | Aceito: 11/09/2020 | Publicado: 13/09/2020

**André Luiz Marinho Falcão Gondim**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3581-419X>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: [algondim@yahoo.com.br](mailto:algondim@yahoo.com.br)

**Wagner Ranier Maciel Dantas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4904-187X>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: [wagnerranier@yahoo.com.br](mailto:wagnerranier@yahoo.com.br)

**Euler Maciel Dantas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1579-8997>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: [eulerdantas@yahoo.com.br](mailto:eulerdantas@yahoo.com.br)

**Henrique Telles Ramos de Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0500-8592>

Fundação para Reabilitação de Deformidades Cranio-Faciais, Brasil

E-mail: [htroliveira@ibest.com.br](mailto:htroliveira@ibest.com.br)

**Luis Ferreira de Almeida Neto**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3141-1227>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: [luisneto\\_w@hotmail.com](mailto:luisneto_w@hotmail.com)

**Karolina Pires Marcelino**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2301-5155>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: [karolpiresm@gmail.com](mailto:karolpiresm@gmail.com)

**Rogério Miranda Pagnoncelli**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8621-3696>

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brasil

## Resumo

A laserterapia de baixa potência é utilizada como recurso terapêutico médico e odontológico, com intuito de possibilitar seu efeito terapêutico sobre o organismo. Ensaios experimentais tanto laboratoriais como em modelo animal, com critério metodológico bem delimitado, sugerem que a laserterapia de baixa potência (LLLT – *Low Level Laser Therapy*) modula diversos processos biológicos em modelos animais depois de expostos a algum trauma. Este estudo teve como objetivo avaliar a biomodulação da osteogênese através do laser infravermelho, na calota craniana de ratos após a confecção de defeitos críticos. Procedeu-se à análise das reações biológicas dos tecidos submetidos ao laser, comparando-se a intensidade de neoformação óssea, distribuídos aleatoriamente em quatro grupos. Os grupos controles (GC-I-II) não receberam laser; os testes (GT-I-II), foram tratados com laser infravermelho, em ambos  $2\text{J}/\text{cm}^2$  e  $90\text{mW}$ . O sacrifício dos animais e as análises microscópicas, com coloração de HE, aconteceram em no tempo de 07 e também 21 dias. Os resultados descritivos mostraram que os grupos irradiados com laser biomodularam positivamente o processo da osteogênese, pois apresentaram, aos 07 e aos 21 dias, um padrão de neoformação óssea superior. A análise estatística demonstrou um escore de neoformação óssea superior em ambos grupos de 21 dias, observando-se maiores áreas de neoformação. A partir da metodologia empregada e com os parâmetros de radiação utilizados, além dos resultados descritivos quantitativos e histomorfométricos obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que: a LLLT pode ser utilizada como coadjuvante no processo de osteogênese no reparo do tecido ósseo. Entretanto, faz-se necessário a realização de ensaios clínicos que comprovem a sua aplicabilidade.

**Palavras-chave:** Desenvolvimento ósseo; Terapia a laser; Osteogênese; Ratos; Cirurgia bucal.

## Abstract

Low power laser therapy is used as a medical and dental therapeutic resource, in order to enable its therapeutic effect on the body. Experimental tests on laboratory and animal models, with well-defined methodological criteria, suggest that low level laser therapy (LLLT - Low Level Laser Therapy) modulates several biological processes in animal models after being exposed to some trauma. This study aimed to evaluate the biomodulation of osteogenesis, using the infrared laser, in the skull cap of rats after making critical defects. The biological

reactions of tissues submitted to laser were analyzed, comparing the intensity of bone neoformation, randomly distributed in four groups. Control groups (GC-I-II) did not receive a laser; the tests (GT-I-II) were treated with infrared laser, both at 2J / cm<sup>2</sup> and at 90mW. Animal sacrifice and microscopic analysis, with HE staining, occurred in 07 and 21 days. The descriptive results showed that the groups irradiated with biomodulated laser positively affected the osteogenesis process, as they presented, at 07 and 21 days, a pattern of superior bone neoformation. The statistical analysis showed a superior bone neoformation score in both groups for 21 days, with larger areas of neoformation being observed. From the methodology used and with the radiation parameters used, in addition to the quantitative and histomorphometric descriptive results obtained in this research, it can be concluded that: LLLT can be used as an adjunct in the osteogenesis process in the repair of bone tissue. However, it is necessary to conduct clinical trials that prove its applicability.

**Keywords:** Bone development; Laser therapy; Osteogenesis; Rats; Oral surgery.

### **Resumen**

La terapia con láser de baja potencia se utiliza como recurso terapéutico médico y dental, con el fin de permitir su efecto terapéutico en el organismo. Pruebas experimentales en modelos animales y de laboratorio, con criterios metodológicos bien definidos, sugieren que la terapia con láser de bajo nivel (LLLT - *Low Level Laser Therapy*) modula varios procesos biológicos en modelos animales después de haber sido expuestos a algún trauma. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la biomodulación de la osteogénesis, utilizando el láser infrarrojo, en el casquete de ratas después de realizar defectos críticos. Se analizaron las reacciones biológicas de los tejidos sometidos a láser, comparando la intensidad de la neoformación ósea, distribuida aleatoriamente en cuatro grupos. Los grupos de control (GC-I-II) no recibieron un láser; las pruebas (GT-I-II) se trataron con láser infrarrojo, tanto a 2J / cm<sup>2</sup> como a 90 mW. El sacrificio de animales y el análisis microscópico, con tinción HE, ocurrieron a los 07 y 21 días. Los resultados descriptivos mostraron que los grupos irradiados con láser biomodulado afectaron positivamente el proceso de osteogénesis, ya que presentaron, a los 07 y 21 días, un patrón de neoformación ósea superior. El análisis estadístico mostró una puntuación de neoformación ósea superior en ambos grupos durante 21 días, observándose áreas más grandes de neoformación. De la metodología empleada y con los parámetros de radiación utilizados, además de los resultados descriptivos cuantitativos e histomorfométricos obtenidos en esta investigación, se puede concluir que: La TLBI puede utilizarse como coadyuvante en

el proceso de osteogénesis en la reparación del tejido óseo. Sin embargo, es necesario realizar ensayos clínicos que demuestren su aplicabilidad.

**Palabras clave:** Desarrollo óseo; Terapia por láser; Osteogénesis; Ratas; Cirugía bucal.

## 1. Introdução

A laserterapia de baixa potência é utilizada como recurso terapêutico médico e odontológico, com intuito de possibilitar seu efeito terapêutico sobre o organismo. Ensaios experimentais tanto laboratoriais como em modelo animal, com critério metodológico bem delimitado, sugerem que a laserterapia de baixa potência (LLLT – *Low Level Laser Therapy*) modula diversos processos biológicos em modelos animais depois de expostos a algum trauma. Esta terapia possibilita a reparação tecidual, aprimorando a regeneração e a cicatrização de tecidos por meio da modulação da da proliferação celular e formação de tecido de granulação (Karu, 1989; Silva & Camilli, 2006; Fronza et al., 2013).

O uso potencial dos lasers na biomodulação do reparo ósseo através de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas é estudado por pesquisadores em todo o mundo como método de estimulação da osteogênese e redutor do tempo da consolidação óssea. A LLLT atua na modulação de processos biológicos, interagindo com os fotorreceptores existentes nos tecidos, como por exemplo: a hemoglobina, a melanina e os citocromos presentes na cadeia respiratória da mitocôndria, levando a um crescimento da produção de ATP. A energia em forma de ATP pode propiciar a proliferação celular, ou seja, osteogênese. Dessa forma, a LLLT tem ação na fase de proliferação e maturação celular do processo inflamatório, além de estimular a microcirculação, levando a um aumento da nutrição que promove a mitose celular, facilitando a multiplicação celular (Shamir, Rochkind, Sandbank & Alon, 2001; De Marco, Sant'Ana & Ribeiro, 2020).

O efeito fotobioestimulatório da laserterapia de baixa potência (laserterapia) tem sido comprovado pela literatura. Em pesquisas de laboratório, a laserterapia utilizando laser de He-Ne exerce um efeito pronunciado na proliferação, diferenciação e calcificação dos osteoblastos; contudo, há uma janela terapêutica específica para esse efeito. A proliferação das células e síntese de DNA é aumentada pela laserterapia somente quando as células estão na fase de crescimento ativo. Além disso, a laserterapia causa aumento do acúmulo de cálcio e acelera a calcificação *in vitro*, o paralelo *in vivo* também foi comprovado: a laserterapia aplicada no início do processo de reparo em defeitos ósseos causou um aumento da neoformação e maturação óssea (Yasukawa et al., 2007; da Silva, & de Andrade, 2012).

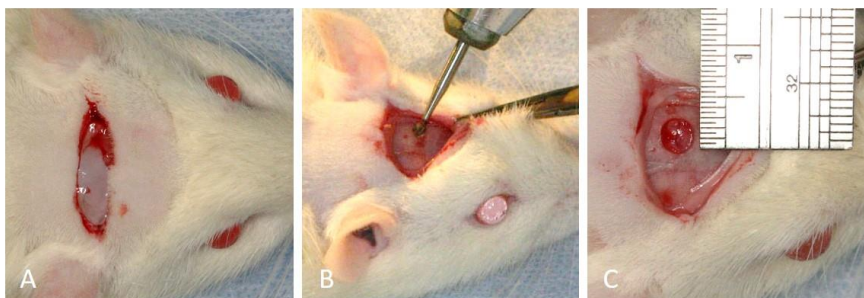
De acordo com o exposto, a pesquisa em questão teve como objetivo avaliar a ação da laserterapia de baixa potência na biomodulação da osteogênese em osteotomias realizadas na calota craniana de ratos, através de uma avaliação histomorfométrica.

## 2. Metodologia

A amostra foi constituída por 40 ratos, machos, com peso variando de 300 a 500 gramas, da linhagem *Wistar*, que foram alocados de forma aleatória em quatro grupos distintos: dois controles (GC-I-II) e dois experimentais (GT-I-II). Os grupos (GC-I e GT-I) foram observados por 07 dias e os grupos (GC-II e GT-II) foram observados por 21 dias.

A confecção cirúrgica do defeito, na Figura 1, foi feita por um operador, capacitado e experiente. Antes de dar início ao procedimento, os ratos foram submetidos à anestesia geral inalatória. Depois seguiu-se para a tricotomia da região da calota craniana e, depois a antisepsia da região com PVPI. Foi confeccionada incisão linear, com 1,5cm de extensão, na pele da região da calota craniana. Os planos subcutâneo e muscular foram divulsionados, permitindo assim, acesso à cortical externa da calota craniana. Na sequência, realizou-se uma osteotomia com broca, sob irrigação constante, na região do osso parietal direito à 2mm da sutura sagital mediana e apresentando, como parâmetro de profundidade, o rompimento da cortical interna da calota craniana. Após a confecção do defeito, o tecido muscular e a pele do animal foram reposicionados e suturados com fio Mononylon® 4-0.

**Figura 1** – Confecção do defeito. A: incisão da pele; B: osteotomia na calota; C: medição da janela criada na calota.



Fonte: Autores (2020).

Durante a pesquisa houve a perda de quatro animais do grupo teste, sendo dois do GT-I e dois do GT-2. A morte dos animais ocorreu devido à parada cardiorrespiratória durante anestesia inalatória para dar seguimento a cirurgia de confecção da osteotomia na calota

craniana. Sendo assim, a amostra total foi de 36 ratos: GC-I com 10 ratos, GC-II com 10 ratos, GT-I com 8 ratos e GT-II com 8 ratos.

A primeira irradiação do *laser* foi realizada imediatamente após a sutura da pele e a cada 48 horas após, sendo 0, 2, 4 e 6 dias, nos grupos experimentais GT-I e GT-II, conforme protocolo linha de pesquisa em laser da PUC-RS, totalizando quatro aplicações.

O aparelho utilizado para irradiação foi o Thera Laser® (DMC Equipamentos, São Paulo, SP/Brasil), com meio ativo GaAlAs e comprimento de onda de 830nm (grupo experimental GT-I). A LLLT seguiu o seguinte protocolo:

- grupo GT-I: *laser* infravermelho (830nm): 2J/cm<sup>2</sup> localizado a 4m da sutura sagital mediana, aproximadamente no centro do defeito, potência de 90mW, modo contínuo, com um tempo de 27 segundos.
- grupo GT-II: *laser* infravermelho (830nm): 2J/cm<sup>2</sup> localizado a 4m da sutura sagital mediana, aproximadamente no centro do defeito, potência de 90mW, modo contínuo, com um tempo de 27 segundos.
- grupos GC-I e GC-II não foi realizada laserterapia

A energia total aplicada, ao final do experimento, correspondeu a 8J/cm<sup>2</sup>, nos respectivos grupos experimentais GT-I e GT-II, com períodos de observância de 07 e 21 dias.

Para a obtenção das amostras, os animais dos grupos GC-I e GT-I foram sacrificados aos 07 dias de pós-operatório e os animais dos grupos GC-II e GT-II foram sacrificados aos 21 dias de pós-operatório, por meio de inalação contínua de isoflurano em câmara saturada, respeitando-se dessa forma, o que preconiza a Declaração dos Direitos dos Animais. As amostras histológicas foram processadas, recebendo um número de registro, sem o conhecimento dos pesquisadores sobre a que grupo pertencia cada uma das amostras.

A avaliação microscópica foi realizada por meio da análise descritiva das lâminas, coradas com a técnica HE.

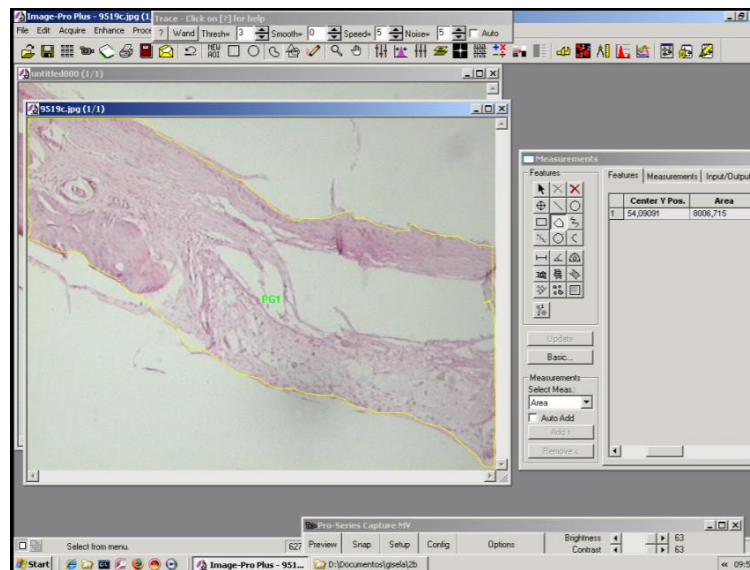
A análise das lâminas foi realizada pela microscopia óptica, visando o estudo do processo de osteogênese. Para tal, foi utilizado o aumento microscópico de 40X. A avaliação histológica das peças ósseas submetidas à radiação com *laser* de baixa potência, Thera Laser® (DMC Equipamentos, São Paulo, SP/Brasil), com meio ativo GaAlAs, bem como das peças ósseas do grupo controle foram descritas levando-se em consideração a neoformação de tecido ósseo. Todas as lâminas foram codificadas, então, não era possível a identificação a qual grupo de estudo pertenceria a lâmina analisada.



A avaliação microscópica mostrou-se ser imprescindível na quantificação do osso neoformado na região do defeito. Desta forma, as lâminas obtidas de cada animal foram analisadas microscopicamente através do *software Image-Pro® Plus* versão 4.5.1 desenvolvido por *MediaCybernetics* como pode ser visualizado na Figura 2. A imagem do microscópio foi capturada pela câmera acoplada ao microcomputador, sob um foco fixo e luz adequada, num aumento de 40X, transformada em sinal elétrico na forma analógica e transmitida para a tela do computador, onde a imagem foi digitalizada, sendo constituída por um conjunto de *pixels* (1 pixel = 6,5 µm).

Logo depois das imagens digitalizadas no formato *JPEG*, em um total de 36 cortes histológicos correspondentes a todos os grupos do estudo (controle e experimental), foram direcionadas a ferramenta de histomorfometria *Image Tool Scripting Language*. Através deste programa, na Figura 2, pôde-se realizar a mensuração, através da delimitação do contorno das regiões desejadas, com o auxílio do cursor *mouse*, avaliando, desta forma, o processo de evolução do reparo ósseo, pela mensuração das áreas de neoformação óssea nas regiões de endóstio e medula.

**Figura 2** – Realização da histomorfometria no *software Image-Pro Plus*.



Fonte: Autores (2020).

Os valores obtidos das novas trabéculas ósseas formadas foram descritos numa tabela, onde foi calculada o grau de osteogênese total em cada lâmina. Todos os valores foram exportados para o programa Microsoft Excel for Windows® e submetidos à análise estatística no programa SPSS.

Toda a análise histomorfométrica foi realizada sem o conhecimento prévio da distribuição das imagens nos seus respectivos grupos de estudo, sendo, portanto, codificadas todas as lâminas do estudo e, conseqüentemente, todas as imagens capturadas.

A qualidade do reparo ósseo foi avaliada comparativamente entre os grupos estudados, determinando-se, de forma descritiva, as alterações teciduais ocorridas. Foram observados:

- a) neoformação óssea nas margens do defeito (aumento de 40x);
- b) neoformação óssea no centro do defeito (aumento de 40x).

Após a aquisição da imagem, realizou-se, com o auxílio do mouse, a delimitação do contorno das regiões desejadas (osso neoformado), e o valor dessas áreas, em  $\mu\text{m}^2$ , foi quantificado através do sistema computacional de captura e análise de imagem - Image-Pro Plus 4.5.1. Foi quantificada também a área inicial de cada defeito para que pudéssemos obter a proporção de osso neoformado:

$$\text{Proporção de Osso Neoformado} = \frac{\text{Área de Osso Neoformado}}{\text{Área Total do Defeito}}$$

### 3. Resultados

Na Tabela 1 observou-se a comparação entre os grupos com os tempos distintos (7 e 21 dias). No tempo de 7 dias, a média numérica foi superior no grupo teste (0,52) em relação ao grupo controle (0,16), o mesmo acontecendo para o tempo de 21 dias, onde o grupo teste atingiu média de neoformação óssea de (6,33) e o grupo controle de (4,52). Através do teste t-student, observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos em ambos os tempos (7 e 21 dias), sendo  $p=0,093$  e  $p=0,158$  respectivamente. O Gráfico 1, nos traz as médias comparativas em relação aos tempos estudados (7 e 21 dias).

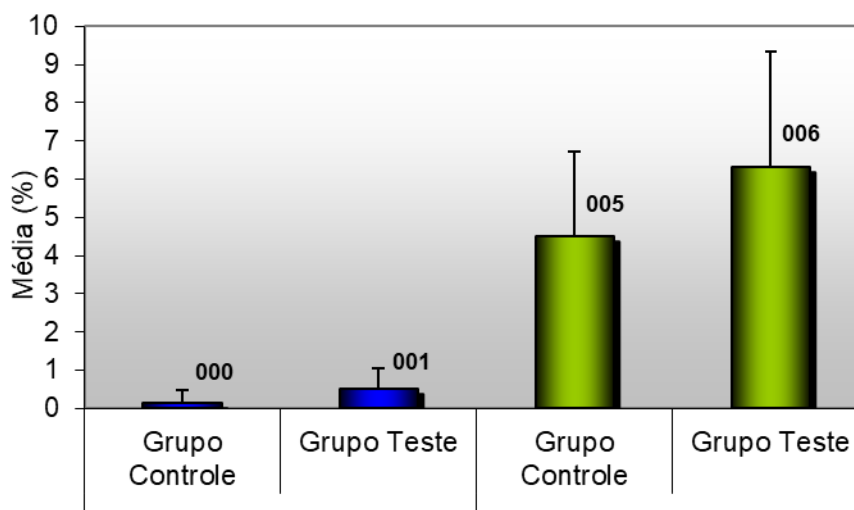


**Tabela 1** – resultados da comparação entre os grupos controle e teste para cada tempo.

Grupo	Nº casos	Média	Desvio-padrão	t	P
<b>Tempo 7 dias</b>					
Grupo Controle	10	0,16	0,33	-1,787	0,093
Grupo Teste	8	0,52	0,53		
<b>Tempo 21 dias</b>					
Grupo Controle	10	4,52	2,21	-1,480	0,158
Grupo Teste	8	6,33	3,00		

Fonte: Autores (2020).

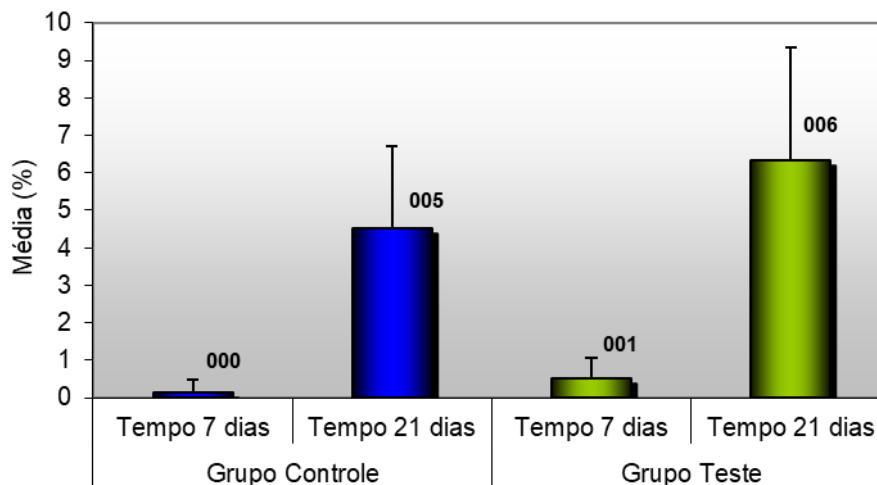
**Gráfico 1** – Resultados da Comparação entre os grupos Controle e Teste para cada tempo.



Fonte: Autores (2020).

Pelo teste *t-student*, observou-se diferença estatisticamente significativa na comparação entre os tempos (7 e 21 dias), onde o tempo de 21 dias obteve média (5,32) e o tempo de 7 dias (0,32), com  $p=0,000$ . Também pelo teste *t-student*, no Gráfico 2, observou-se diferença estatisticamente significativa para a comparação entre os tempos para cada grupo, (controle) e (Laser), mostrando que em ambos os grupos, o tempo de 21 dias obteve média de neoformação óssea superior ao tempo de 7 dias, com valor de  $p$  estatisticamente significativo ( $p=0,000$ ).

**Gráfico 2** – Resultados da Comparação entre os tempos 7 e 21 dias para cada grupo.



Fonte: Autores (2020).

#### 4. Discussão

O surgimento do *laser* trouxe muitos benefícios para a humanidade. No entanto, por se tratar do mais recente avanço tecnológico, o modo de aplicação no tecido ósseo requer pesquisas detalhadas nesta área para estabelecer os parâmetros de uso que contribuem para o efeito de biomodulação do laser. Portanto, é necessário definir protocolos adequados para estabelecer a correta densidade de potência e energia, comprimento de onda, frequência, tempo e modo de exposição do equipamento laser, bem como a interação entre cada tipo de *laser* e os tecidos a serem irradiados (Hallman, Basford, O'Brien & Cummins, 1988; Kreisler, Christoffers, Al-Haj, Willershausen & d'Hoedt, 2002; Kolárová; Ditrichová & Wagner, 1999).

A variação nos parâmetros utilizados pela LLLT no processo de cicatrização dificulta a explicação completa de seus efeitos e da diversidade dos modelos utilizados. Isso porque, como não há parâmetros reconhecidos, os parâmetros usados para definir o protocolo de uso do laser são selecionados com base na experiência do autor. Além disso, muitos pesquisadores que usam protocolos e dispositivos a laser semelhantes relataram resultados conflitantes. Acredita-se que nenhum parâmetro produzirá regulação biológica por si só, mas diferentes parâmetros e suas mudanças são combinados de acordo com modelos experimentais (Pinheiro & Gerbi, 2006).

Nesta pesquisa, utilizou-se o *laser* diodo infravermelho de GaAlAs ( $\lambda=830$  nm) pela sua característica de maior penetração nos tecidos, principalmente, nos tecidos subcutâneos. É de conhecimento comum, a penetração e a dispersão da luz (vermelha e infravermelha) na

pele estão diretamente relacionadas ao comprimento de onda da fonte de emissão e às várias propriedades ópticas da camada da pele. Segundo Basford (1995) o *laser* de GaAlAs apresenta maior penetração tecidual ( $\geq 2\text{mm}$ ) que o *laser* HeNe (luz vermelha), o qual trabalha com um comprimento de onda na faixa de  $\lambda = 632,8 \text{ nm}$  e tem um poder de penetração superficial de 0,5 a 1mm, antes de perder 37% de sua intensidade. Quanto às propriedades teciduais, observa-se que o *laser* infravermelho demonstra baixa absorção pela água ou cromóforos da pele, assegurando, desta forma, uma penetração mais profunda nos estratos teciduais (Gordjestani; Dermaut & Thierens, 1994; Kolárová et al., 1999).

A relevância de escolher um nível adequado de energia vem sendo na literatura, porém a energia recomendada para a obtenção de uma biomodulação considerável varia muito. Dados experimentais nos mostram que baixas doses (10-103 J/cm<sup>2</sup>) aplicadas em períodos curtos (10-100s) causam efeitos biomoduladores positivos, que perduram por um longo intervalo de tempo (Karu, 1989).

Nos procedimentos de radiação executados nesta pesquisa, foi utilizada a dose efetiva de 2 J/cm<sup>2</sup> por sessão, segundo o protocolo clínico estabelecido pela linha de pesquisa Laser em Odontologia da PUCRS. Pinheiro & Gerbi (2006) e Khadra, Lyngstadaas, Haanæs & Mustafa (2005) recomendam, através da observação de experimentos clínicos, que a laserterapia de baixa intensidade visando a obtenção de efeitos terapêuticos e biomoduladores em tecidos moles e ósseos deverá ser estabelecida com densidades de energia variando entre 1,8 e 5,4 J/cm<sup>2</sup> e com densidades de potência variando entre 5 e 90 mW, como também, Kreisler et al. (2002) observaram que doses variando de 2 a 8 J/cm<sup>2</sup> são capazes de biomodular efeitos positivos nas células radiadas.

A radiação a cada 48h após a confecção do defeito cirúrgico objetivou aguardar a diminuição do processo inflamatório e o início do processo do reparo das feridas cirúrgicas, onde o *laser* parece ser mais efetivo, incrementando as mitoses celulares e criando condições para acelerar o reparo ósseo, como anteriormente descrito por Karu (1989), Silva Júnior et al. (2000), Merli, Santos, Genovesse & Faloppa (2005), Silva & Camilli (2006), da Silva & de Andrade (2012) e De Marco, Sant'Ana & Ribeiro (2020).

O presente estudo apresentou valores numéricos de média de área, através da análise histomorfométrica, uma maior formação de trabeculado ósseo nos grupos 7 e 21 dias do experimento, submetidos à radiação laser, porém sem significância estatística. Este fenômeno sugere o motivo pelo qual a frequência da aplicação da laserterapia, a cada 48 horas, pode ser efetiva, quando aplicada durante a fase celular proliferativa, confirmando os estudos de Karu (1989), Pinheiro & Gerbi (2006) e Weber, Pinheiro, Oliveira, Oliveira & Ramalho (2006).

A angiogênese é um dos fatores responsáveis pelo reparo ósseo. A produção de fatores de crescimento e outros mediadores angiogênicos influenciam na diferenciação dos osteoblastos. A hipóxia provocada pela injúria tecidual conduz a regulação na produção de fatores de angiogênicos e seus receptores procuram restaurar o suprimento sanguíneo na loja cirúrgica. Os vasos sanguíneos são importantes para a formação e a manutenção do tecido ósseo. É observado que os *lasers* são mediadores responsáveis pelo estímulo e aumento dos níveis dos fatores de crescimento fibroblásticos e osteoblásticos, encontrados na cicatrização do tecido ósseo. Estes fatores de crescimento agem diretamente na proliferação, agrupamento e diferenciação das células, localizadas em todas as superfícies ósseas, aumentando os níveis de proliferação e estimulando a maturação e a secreção da matriz óssea (Pinheiro & Gerbi, 2006). O presente estudo sugere que a aceleração do reparo ósseo pode ser resultado da LLLT na síntese da matriz óssea através de um incremento na vascularização e modulação do processo de síntese celular.

Os resultados obtidos pela análise descritiva quantitativa demonstraram que a neoformação óssea foi maior, porém sem associação estatística significativa, no grupo experimental quando comparada ao grupo controle, estando assim, de acordo com os estudos de Saito & Shimizu (1997), Freitas; Kawasaki & Shimizu (2000), Ueda & Shimizu (2003), Gerbi et al. (2005), Merli et al. (2005) e Weber et al. (2006).

Do ponto de vista quantitativo, os resultados obtidos neste experimento demonstraram diferenças entre os grupos, experimental e controle, com maiores áreas de trabeculados ósseos nos grupos submetidos à radiação LLLT, contudo, sem associação estatística significativa, o que evidenciou a ação positiva do *laser* de baixa intensidade no processo de reparo ósseo. Estes resultados estão de acordo com os estudos de Saito & Shimizu (1997), Kawasaki & Shimizu (2000), Silva Júnior et al. (2000), Merli et al. (2005), os quais também encontraram aumento da neoformação óssea frente à radiação com LLLT, utilizando *software* para análise das imagens e posterior estudo morfométrico.

Ao analisar quantitativamente as médias de trabeculado ósseo neoformado, segundo os períodos de observação, evidenciou-se que o modelo de estudo animal adotado apresentou maiores índices de formação óssea durante os primeiros 21 dias do experimento, com valores de neoformação óssea homogêneos quando comparados aos 07 dias do experimento, diferentemente de Pinheiro et al. (2003), Gerbi et al. (2005); Merli et al. (2005) e Silva e Camilli (2006), que especificam que os primeiros 14 dias de pós-operatório coincidem com o início do declínio da atividade da fosfatase alcalina, o qual se revela como um marco importante na atividade de proliferação, diferenciação e maturação osteoblástica e com o nível

mais superior de atividade da fosfatase ácida, o qual é um ponto importante para a atividade osteoclástica, iniciando assim, os processos de reabsorção óssea.

A literatura revela, através do estudo dinâmico da osteogênese, que a superfície externa dos ossos compactos é revestida por uma camada de tecido fibroso condensado e altamente vascularizada, denominado por periósteo, o qual contém numerosas células osteoprogenitoras. Durante o crescimento ou o reparo ósseo, as células osteoprogenitoras diferenciam-se em osteoblastos, os quais são responsáveis pela deposição e pela maturação de lamelas concêntricas de osso cortical através do crescimento aposicional da matriz óssea orgânica. É considerado como o agente principal no reparo das fraturas ósseas (da Silva & de Andrade, 2012; De Marco, Sant'Ana & Ribeiro, 2020).

Observando-se as áreas de trabeculado ósseo e os períodos de observação, evidenciou-se média de trabeculado ósseo maior e estatisticamente significativa no grupo experimental, e em progressão proporcional ao período de observação. Este fato é justificado pelo processo dinâmico de remodelamento ósseo. Pode-se afirmar que, o aumento das trabéculas ósseas observado até os 21 dias do experimento corrobora com a literatura, conforme os estudos Gerbi et al. (2005) e Merli et al. (2005).

O uso potencial dos *lasers* na biomodulação da osteogênese através de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas são estudados por vários pesquisadores em todo o mundo, contudo, a literatura evidencia que o mecanismo regulador do reparo ósseo sob a influência da LLLT ainda permanece incerto. Detalhados e específicos estudos de deverão solidificar os resultados obtidos no presente trabalho, objetivando assim, o aprofundamento dos efeitos biomoduladores positivos vistos nesta pesquisa. O advento de novas tecnologias na área, poderão definir melhores resultados da laserterapia na biomodulação de processo de reparo no tecido ósseo.

Este estudo teve algumas limitações como o óbito de quatro camundongos no grupo teste, entretanto não inviabilizou as análises, tendo mesmo assim conseguido resultados estatisticamente significativos. Além disso, é importante enfatizar que a resposta da fisiológica do modelo animal em ratos é semelhante à humana, mas não igual. Então, faz-se necessário a realização de ensaios clínicos em humanos para que seja comprovada a eficácia da laserterapia como fator positivo na biomodulação da osteogênese.

## 5. Considerações Finais

De acordo com a metodologia empregada e com os parâmetros de radiação utilizados, além dos resultados descritivos quantitativos e histomorfométricos obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que a LLLT pode ser utilizada como coadjuvante no processo de osteogênese no reparo do tecido ósseo. Entretanto, faz-se necessário a realização de ensaios clínicos que comprovem a sua aplicabilidade.

## Referências

- Basford, J. R. (1995). Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers in Surgery and Medicine*, 16(4), 331-342.
- da Silva, R. M., & de Andrade, P. R. (2012). A laserterapia na osteogênese: uma revisão de literatura. *Revista de Atenção à Saúde*, 10(34), 56-62.
- De Marco, R., Sant'Ana, E., & Ribeiro, E. D. (2020). Uso de laserterapia em pós-operatório de osteotomias sagitais bilaterais do ramo mandibular: revisão de literatura. *Research, Society and Development*, 9(9), e125997103-e125997103.
- Dörtbudak, O., Haas, R., & Mailath-Pokorny, G. (2000). Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clinical oral implants research*, 11(6), 540-545.
- Freitas, I. G. F., Baranauskas, V., & Cruz-Höfling, M. A. (2000). Laser effects on osteogenesis. *Applied Surface Science*, 154, 548-554.
- Fronza, B., Somacal, T., Mayer, L., De Moraes, J. F., De Oliveira, M. G., & Weber, J. B. B. (2013). Assessment of the systemic effects of low-level laser therapy (LLLT) on thyroid hormone function in a rabbit model. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 42(1), 26-30.
- Gerbi, M. E. M., Pinheiro, A. L. B., Marzola, C., Júnior, F. D. A. L., Ramalho, L., Ponzi, E. A., ... & Gonçalves, T. O. (2005). Assessment of bone repair associated with the use of

organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. *Photomedicine and Laser Therapy*, 23(4), 382-388.

Gordjestani, M., Dermaut, L., & Thierens, H. (1994). Infrared laser and bone metabolism: a pilot study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 23(1), 54-56.

Hallman, H. O., Basford, J. R., O'Brien, J. F., & Cummins, L. A. (1988). Does low-energy helium-neon laser irradiation alter "in vitro" replication of human fibroblasts?. *Lasers in surgery and medicine*, 8(2), 125-129.

Karu, T. (1989). Photobiology of low-power laser effects. *Health phys*, 56(5), 691-704.

Kawasaki, K., & Shimizu, N. (2000). Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 26(3), 282-291.

Khadra, M., Lyngstadaas, S. P., Haanæs, H. R., & Mustafa, K. (2005). Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. *Biomaterials*, 26(17), 3503-3509.

Kolárová, H., Ditrichová, D., & Wagner, J. (1999). Penetration of the laser light into the skin in vitro. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 24(3), 231-235.

Kreisler, M., Christoffers, A. B., Al-Haj, H., Willershausen, B., & d'Hoedt, B. (2002). Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 30(5), 365-369.

Merli, L. A. D. S., Santos, M. T. B. R. D., Genovese, W. J., & Faloppa, F. (2005). Effect of low-intensity laser irradiation on the process of bone repair. *Photomedicine and Laser Therapy*, 23(2), 212-215.



Pinheiro, A. L. B., & Gerbi, M. E. M. (2006). Photoengineering of bone repair processes. *Photomedicine and Laser Therapy*, 24(2), 169-178.

Saito, S., Shimizu, N., & of Dentistry, F. N. U. S. (1997). Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 111(5), 525-532.

Shamir, M. H., Rochkind, S., Sandbank, J., & Alon, M. (2001). Double-blind randomized study evaluating regeneration of the rat transected sciatic nerve after suturing and postoperative low-power laser treatment. *Journal of reconstructive microsurgery*, 17(02), 133-138.

Silva Júnior, A. N., Pinheiro, A. L., Oliveira, M. G., Weismann, R., Pedreira Ramalho, L. M., & Amadei Nicolau, R. (2002). Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, 20(2), 83-87.

Silva, R. V., & Camilli, J. A. (2006). Repair of bone defects treated with autogenous bone graft and low-power laser. *Journal of Craniofacial Surgery*, 17(2), 297-301.

Ueda, Y., & Shimizu, N. (2003). Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, 21(5), 271-277.

Weber, J. B. B., Pinheiro, A. L. B., Oliveira, M. G. D., Oliveira, F. A. M., & Ramalho, L. M. P. (2006). Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomedicine and Laser Surgery*, 24(1), 38-44.

Yasukawa A., Hrui H., Koyama Y., Nagai M., Takakuda K. (2007). The effect of low reactive level laser therapy (LLLT) whit heliun-neon laser onoperative wound healing in a rat model. *J VetMed Sci*. 69(8), 799-806.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

André Luiz Marinho Falcão Gondim – 40,0%

Wagner Ranier Maciel Dantas – 5,0%

Euler Maciel Dantas – 5,0%

Henrique Telles Ramos de Oliveira – 20,0%

Luis Ferreira de Almeida Neto – 5,0%

Karolina Pires Marcelino – 5,0%

Rogério Miranda Pagnoncelli – 20,0%