

## LASER TERAPÊUTICO NO REPARO ÓSSEO DE RATOS SUBMETIDOS À AUSÊNCIA DE CARGA

Nandressa Dayna Mendes Riso<sup>1</sup>  
Tiago Augusto Ferrari<sup>2</sup>  
Luciana Del Rio Pinotti Ciarlini<sup>3</sup>  
Mário Jefferson Quirino Louzada<sup>4</sup>

### RESUMO

Laser de baixa intensidade tem sido utilizado como agente físico em várias áreas das ciências médicas, como para reparo ósseo e tecidual. Entretanto, pouco se sabe sobre seus efeitos em condições adversas como a supressão de carga e osteopenia. Com a hipótese de que o laser Ga-Al-As acelera o processo de consolidação óssea, foi objetivo deste estudo avaliar a densidade mineral óssea (DMO), em osteotomias transversais incompletas em tíbias de ratos Wistar, adultos, tratados com laser terapêutico de baixa potência em três diferentes grupos: G1 (n=10), referência 15 dias; G2 (n=10), suspenso pela cauda e, concomitantemente, tratados com laser por 12 dias; G3 (n=10), suspenso pela cauda por 36 dias sendo que, após o 21º dia, iniciou-se tratamento com laser por 12 dias. A tíbia direita foi tratada com laser e a esquerda serviu de controle. O laser utilizado foi de Ga-Al-As, DMC - Flash Lase III<sup>®</sup>, com comprimento de onda 830nm, 100 mW, 4J, 140 J/cm<sup>2</sup>, 40s de aplicação em 12 sessões. Utilizou-se densitômetro DPX-Lunar<sup>®</sup>, com programa computacional para pequenos animais, e a análise da DMO foi feita no osso todo e na região da osteotomia. Os resultados não demonstraram eficácia da terapia laser no processo de reparação óssea, tanto nos animais do grupo 1, quanto nos do grupo 2 e 3. Conclui-se que ou o laser de baixa potência não teve uma atuação eficaz ou os efeitos da terapia laser se manifestaram não só no local da irradiação como também a nível sistêmico.

**Palavras-chave:** Densitometria óssea, ratos, simulação de ausência de peso, terapia a laser de baixa potência.

### LASER THERAPY ON BONE REPAIR OF RATS SUBMITTED WEIGHTLESSNESS

### SUMMARY

Low-intensity laser has been used as a physical agent in various fields of medical sciences such as bone and tissue repair. Meanwhile little is known about its effects in adverse conditions such as abolition of load and osteopenic. With the assumption that the laser Ga-Al-As accelerates the process of bone consolidation, goal of this study was to evaluate bone mineral density (BMD) in incomplete transverse osteotomies of tibia in adult rats, treated with low power laser therapy in three different groups: G1 (n = 10), reference 15 days; G2 (n=10), suspended by the tail and, accordingly, treated with laser for 12 days; G3 (n = 10),

<sup>1</sup> Mestre em Ciência Animal pelo Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal do Curso de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba – SP, Rua Clóvis Pestana, 793, Bairro Dona Amélia, CEP: 16050-680. Fone (18)3636-1359. [nandressa@hotmail.com](mailto:nandressa@hotmail.com) (Autor para correspondência)

<sup>2</sup> Médico Veterinário pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. [taf\\_vet@yahoo.com.br](mailto:taf_vet@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Professora Assistente Doutora da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Curso de Medicina Veterinária - UNESP. [lupinoti@fmva.unesp.br](mailto:lupinoti@fmva.unesp.br)

<sup>4</sup> Professor Assistente Doutor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Curso de Medicina Veterinária - UNESP. [louzada@fmva.unesp.br](mailto:louzada@fmva.unesp.br)

suspended by the tail by 36 days and that after 21 days, there was laser treatment for 12 days. The right tibia treated with laser and left served as control. The laser was used to Ga-Al-As, DMC - Flash Lase<sup>®</sup> III, with wavelength 830nm, 100 mW, 4J, 140 J / cm<sup>2</sup>, 40s of application in 12 sessions. It was used densitometer-Lunar DPX<sup>®</sup>, with computer program for "small animals", and the analysis of BMD was made in the bone throughout the region and the osteotomy. The results showed no efficacy of laser therapy in the process of bone repair, both in animals of group 1, as in group 2 and 3. It follows that either the low-power laser was not an effective performance or the effects of laser therapy is not only manifested at the site of irradiation as well as the systemic level.

**Key words:** Bone densitometry, mice, weightlessness simulation, low intensity laser therapy.

## LÁSER TERAPÉUTICO EN REPARACIÓN DE HUESO DE RATONES SOMETIDOS A LA AUSENCIA DE CARGA

### RESUMEN

Láser e baja intensidad se ha utilizado como agente físico en diversos campos de las ciencias médicas, para reparar huesos y tejidos. Mientras tanto, poco se sabe sobre sus efectos en condiciones adversas como la supresión de la carga y osteopenia. En el supuesto de que el láser Ga-Al-As acelera el proceso de consolidación ósea, el objetivo de este estudio fue evaluar la densidad mineral ósea (DMO) en osteotomías transversal incompletas de la tibia de ratones Wistar, adultos, tratados con la terapia láser de baja potencia en tres diferentes grupos: G1 (n = 10), la referencia 15 días; G2 (n = 10), suspendido por la cola y, en consecuencia, tratados con láser durante 12 días, G3 (n = 10), suspendido por la cola durante 36 días, mientras , que después de 21 días, se inició tratamiento con láser durante 12 días. La tibia derecha fue tratada con el láser y la izquierda sirvió como control. El láser utilizado fue Ga-Al-As, DMC - Lase Flash<sup>®</sup> III, con longitud de onda de 830nm, 100 mW, 4J, 140 J / cm<sup>2</sup>, 40 segundos de aplicación en 12 sesiones. Se usó el método de densitómetro Lunar DPX<sup>®</sup>, con el programa de ordenador para los pequeños animales, y el análisis de la DMO se hizo en el hueso todo y en la región de osteotomía. Los resultados no mostraron la eficacia de la terapia con láser en el proceso de reparación ósea, tanto en animales de grupo 1, como en los grupos 2 y 3. Se concluye que o bien el láser de baja potencia no tuvo un desempeño eficaz o los efectos de la terapia con láser no sólo se manifiestan en el lugar de la irradiación, así como el nivel sistémico.

**Palabras-clave:** densitometría ósea, ratones, simulación de la falta de peso, terapia con láser de baja potencia.

### INTRODUÇÃO

Os ossos são estruturas resistentes e rígidas que apesar do aspecto inerte, crescem, remodelam-se e mantêm-se ativos durante toda a vida do organismo. Quando lesados, como ocorre nas fraturas, são capazes de reparação, fenômeno que demonstra sua permanente vitalidade (1). Em condições normais a maioria das fraturas não apresenta problemas de consolidação, porém existem situações em que o processo de reparo pode ser acelerado, assegurando rápido retorno da função músculo-esquelética (2).

Diante da perspectiva de acelerar o reparo ósseo, várias intervenções físicas têm sido estudadas, como o ultrassom, campos elétricos e o laser terapêutico de baixa potência, com a finalidade de estimular a consolidação de fraturas, acelerando a osteointegração ou

osteogênese. As aplicações desses estudos também podem ser úteis, em situações que acarretem um aumento da fragilidade óssea, aumentando a incidência de fraturas, como acontece em pacientes acamados, imobilizados, com restrições à deambulação e ainda em astronautas no espaço, que venham a desenvolver a osteopenia e osteoporose (2-4).

Diversos autores afirmam que a aplicação do laser terapêutico de baixa potência (LLLT) pode acelerar a formação óssea, sendo que tal afirmação se deve ao incremento da atividade osteoblástica (5-6), da vascularização (7), da organização de fibras colágenas (8) e pelo incremento nos níveis de ATP (9).

Para Marino (6) e Ohshiro (10), o laser também apresenta efeitos sistêmicos, por meio de mediadores metabólicos liberados na circulação, atingindo áreas distantes do local de aplicação. Segundo Mikail & Pedro (11), o efeito sistêmico é atingido quando irradiada a corrente sanguínea com comprimentos de onda entre 633 e 890 nm, visando ao tratamento de áreas distantes ao local em que foi aplicado, porém esse efeito parece ser controverso.

O processo de reparação óssea pode ser estudado e compreendido por meio de métodos qualitativos como Raios X e quantitativos como Absorciometria radiográfica (AR), Ultrasonografia quantitativa (USQ), Tomografia computadorizada quantitativa (TCQ) e Absorciometria por Raios X de dupla energia (DXA) (12).

O objetivo deste estudo foi observar densitometricamente os efeitos do laser sobre o processo de consolidação de osteotomias incompletas, em tíbias de ratos submetidos à ausência de carga.

Até o momento não há registros de estudos sobre os efeitos do laser em animais submetidos à ambiente de ausência de carga, tais como viagens espaciais, pacientes acamados e imobilizados, que possam desenvolver a osteopenia por desuso.

## MATERIAL E MÉTODOS

Após aprovação deste trabalho pela comissão de ética na experimentação animal (CEEAE), que adota os princípios éticos da COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) foram utilizados 30 ratos, machos, adultos (*Rattus norvegicus albinus*), da raça Wistar, de massa corporal média ( $395 \pm 36$  g), provenientes do biotério da Unesp de Araçatuba-SP, distribuídos aleatoriamente conforme Figura 1. Estes permaneceram no biotério do laboratório de Biofísica da mesma Universidade, em gaiolas de polipropileno padrão, agrupados em número de 3 a 4 animais, mantidos em ambiente higienizado com iluminação em ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo água e ração balanceada (Rações e Concentrados Primor<sup>®</sup>) *ad libitum*.

Os animais foram anestesiados com uma combinação de cloridrato de ketamina (100 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) aplicados intraperitonealmente. Em seguida, foi realizada a tricotomia da pele sobre a superfície crânio-medial dos membros pélvicos direito e esquerdo. Na seqüência, os animais foram mantidos permanentemente na posição supino, com ambos os membros em rotação externa de quadril e tríplice flexão (quadril/joelho/tornozelo).

Após antisepsia com solução de polivinil pirrolidona iodo, foi realizada incisão da pele no sentido longitudinal, a fâscia miotendínea e os músculos do quadríceps (reto femoral, vasto intermédio, vasto lateral e vasto medial) foram dissecados. Em ambas as tíbias, as fraturas incompletas foram obtidas por meio de osteotomias parciais transversais na região do terço médio da diáfise (crânio-medial), utilizando-se uma broca odontológica de aço comum para contra-ângulo, cilíndrica, de 22 mm de comprimento, nº6, acoplada a motor de baixa rotação de uso odontológico, promovendo-se ao final um defeito ósseo retangular de 4x2 mm, na superfície medial, com preservação do perióstio lateral. Durante todo o período de realização das osteotomias, as tíbias foram irrigadas com soro fisiológico. Finalizando, o tecido muscular foi aproximado com ponto simples separado, utilizando fio absorvível

poliglactina 910 n° 4-0 e a pele foi suturada, utilizando-se ponto simples separado, com fio de seda montado em agulha 4-0 e feito a limpeza local com polivinil pirrolidona iodo.

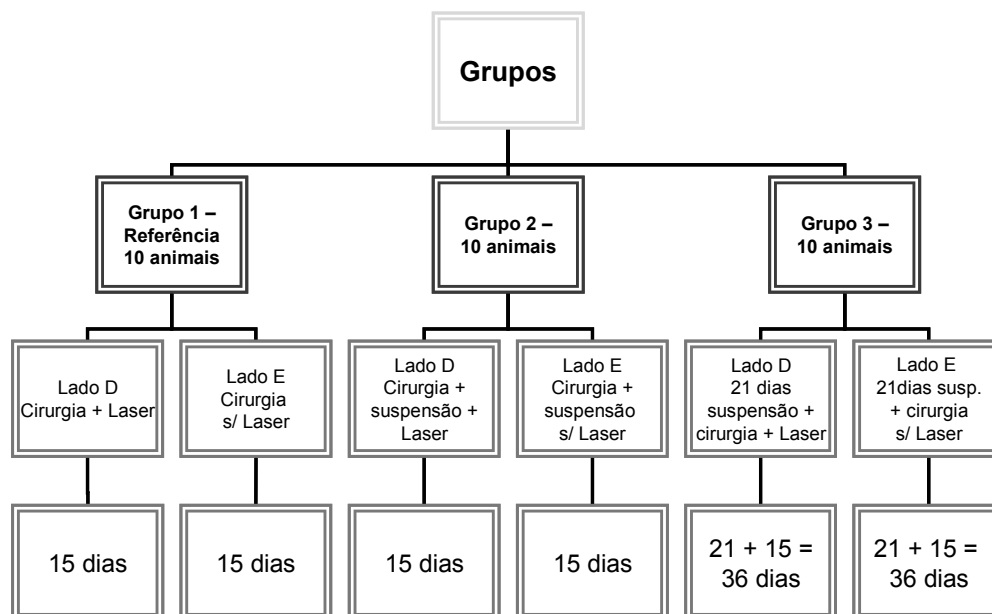


Figura 1. Representação esquemática dos grupos experimentais.

No pós-operatório os ratos receberam uma dose de 2,5mg/kg de flunixin meglumine via subcutânea a cada 12 horas, por um período de três dias. Como profilaxia antimicrobiana foi administrada uma única dose de Pentabiótico Veterinário (benzilpenicilina benzatina 600.000UI, benzilpenicilina procaína 300.000UI, benzilpenicilina potássica 300.000UI, sulfato de dihidroestreptomicina 250mg e sulfato de estreptomicina 250mg) por via intramuscular, na dose de 0,1ml para cada 100g de peso corpóreo do rato.

Para o processo de instalação da suspensão, os animais do grupo 3 foram anestesiados com uma aplicação intramuscular de ketamina e xilazina na dose de 30 mg/kg e 3 mg/kg, respectivamente. Os demais grupos já estavam anestesiados para a cirurgia da tibia.

A suspensão pela cauda foi realizada de acordo com Vicentini et al. (4), porém com as seguintes adaptações: a cauda do animal foi lavada com sabonete líquido antisséptico e substituída a tintura de Benjoin por Polivinil pirrolidona iodo tópico.

Após os procedimentos de preparação da cauda foi aplicado flunexina meglumina, subcutâneo na dose de 2,5 mg/kg. Esta aplicação foi realizada a cada 12 horas por um período de três dias.

A estrutura da gaiola permitiu aos animais movimentação com os membros torácicos, mantendo os membros pélvicos suspensos sem apoio no piso da gaiola ou nas paredes laterais, permanecendo os animais, visualmente inclinado por aproximadamente 30 graus em relação ao assoalho.

Apenas a tibia direita dos animais pertencentes aos três grupos foi tratada com LLLT. O aparelho utilizado foi um modelo portátil de Laser DMC<sup>®</sup>, Ga-Al-As, com comprimento de onda de 830nm, emissão contínua, potência de saída de 100 mW, dose de 4J, fluência de 140 J/cm<sup>2</sup>, com tempo de aplicação de 40 segundos em 12 sessões. As tíbias do lado esquerdo serviram de controle.

A aplicação de laser iniciou-se no primeiro dia após a cirurgia, totalizando 12 sessões. As aplicações foram executadas de forma padronizada a cada 24 horas, com intervalo de um dia após seis sessões consecutivas, como mostra a Figura 2. Para a realização do tratamento,

os animais foram mantidos em contêntor e as irradiações foram realizadas por meio da técnica pontual, fotoestimulando um ponto sobre a pele do animal, na região mais central à incisão. No 16º dia de pós-operatório, os animais foram eutanasiados com dose excessiva de Pentobarbital sódico (100mg/kg), intravenoso para análise densitométrica das tíbias.

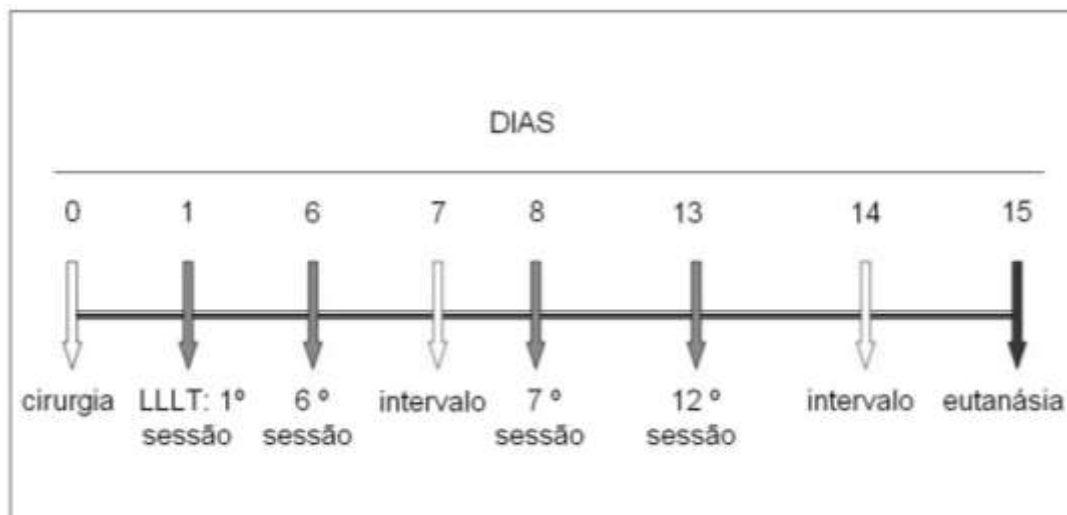


Figura 2: Esquema do tratamento com Laser aplicado aos grupos experimentais.

A densitometria óssea (DXA) foi o critério de avaliação selecionado, por ser um método quantitativo e o mais utilizado para avaliação das alterações na densidade óssea, especialmente para confirmação da osteoporose. As tíbias foram desarticuladas, dissecadas, identificadas e, no mesmo dia do sacrifício, realizadas as análises densitométricas por absorciometria de raios X de dupla energia (DXA), utilizando-se densitômetro modelo DPX-ALPHA LUNAR<sup>5</sup>, com “software” especial para pequenos animais, com alta resolução.

Os ossos foram submersos em um recipiente plástico contendo água a 2cm de profundidade, alinhados corretamente e, em seguida, escaneado como um todo. Posteriormente, as imagens capturadas foram analisadas obtendo-se os valores de área, conteúdo mineral ósseo (CMO) e densidade mineral óssea (DMO). A densidade mineral óssea, obtida em g/cm<sup>2</sup>, foi medida em toda a tíbia e, mais especificamente no terço médio, abrangendo o ponto mais proximal da fratura.

Os dados obtidos na densitometria óssea foram analisados com o programa *GraphPAD Instat 3*<sup>®</sup>, utilizando-se a análise de variância (ANOVA) para comparação simultânea dos grupos. A análise de *Tukey-Kramer* foi utilizada para verificar a existência de diferença significativa entre os grupos precisando o nível de significância. O nível de significância utilizado foi de 5% em todas as análises ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

A DMO do osso todo, obtida nas amostras das tíbias irradiadas no grupo 1 mostrou-se significativamente maior ( $p < 0,01$ ) que ambas as tíbias do grupo 3. Semelhantemente, quando comparadas as tíbias não irradiadas do grupo 1 com ambas as tíbias do grupo 3, observou-se que também houve uma diferença bastante significativa ( $p < 0,05$ ). As tíbias não

<sup>5</sup> LUNAR™, processo Fapesp n. 04/13264-7

tratadas do grupo 2 também apresentaram DMO significativamente maior ( $p < 0,05$ ) que no grupo 3 que recebeu tratamento com laser (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores da média e desvio padrão da DMO ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) observadas no osso todo de ratos nos diferentes grupos.

Grupos	DMO	
	D	E
G1	$0,200 \pm 0,018^a$	$0,191 \pm 0,021^a$
G2	$0,187 \pm 0,026$	$0,182 \pm 0,033^{a,c}$
G3	$0,156 \pm 0,022^b$	$0,154 \pm 0,021^{b,c}$

Valores na mesma linha e coluna seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A DMO analisada na região da osteotomia não demonstrou alterações quantitativas significativas entre os grupos ( $p = 0,0688$ ) e está representada na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores da média e desvio padrão da DMO ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) observadas na região do defeito ósseo de ratos nos diferentes grupos.

Grupos	DMO	
	D	E
G1	$0,164 \pm 0,012$	$0,155 \pm 0,018$
G2	$0,164 \pm 0,024$	$0,164 \pm 0,033$
G3	$0,150 \pm 0,028$	$0,153 \pm 0,029$

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos e lados (ANOVA - Tukey ( $P > 0,05$ )).

## DISCUSSÃO

A suspensão pela cauda, que coloca os membros pélvicos em uma condição de ausência de carga e permite o desenvolvimento de significativa diminuição de massa óssea, tem sido analisada por meio de ensaio mecânico (4,13-16), microscopia de fluorescência óssea (16) e densitometria radiográfica (4), porém sem a realização até o momento de uma análise densitométrica (DXA).

No presente estudo, a análise densitométrica do osso todo evidenciou que o objetivo de induzir uma diminuição de massa óssea foi alcançado, tendo de acordo com cada período de suspensão uma alteração decrescente da DMO.

A DMO obtida nas amostras das tíbias tratadas e não tratadas do grupo 1, grupo que não passou pela suspensão pela cauda, mostrou-se significativamente maior que ambas as tíbias do grupo 3, grupo que permaneceu suspenso pela cauda por 36 dias. Conforme explica Kaplan et al. (17), para que haja um aumento na DMO, é necessário que ocorra a realização de exercícios, a presença de cargas e até o tratamento com certos agentes terapêuticos. No presente estudo, ocorreu o inverso do que explica Kaplan et al. (17), houve um decréscimo na DMO do grupo 3, causado especialmente pela ausência de carga e mobilidade diminuída.

Dessa forma, observou-se que o grupo 1, que realizou movimentação ativa com os membros pélvicos, garantiu a atuação das descargas mecânicas aos ossos e ainda foi irradiado

com laser, diferentemente do grupo 3 que apenas foi irradiado com laser, o que explicaria a diminuição nos valores da DMO.

Cabe destacar, que pela análise densitométrica do osso todo, o período de 36 dias pode servir de modelo para se avaliar as modificações ósseas advindas com o envelhecimento onde se têm alterações na microarquitetura.

Quando analisada a região do defeito ósseo, não se observou alterações significativas capazes de diferenciar os grupos entre si.

É importante salientar que os defeitos cirúrgicos realizados em outros estudos com laser tinham comprimento reduzido em relação aos defeitos criados no presente trabalho (8,18-19). O tamanho reduzido dos defeitos poderiam então justificar o melhor reparo ósseo observado por estes autores. Neste trabalho os defeitos cirúrgicos tinham 4x2mm, que segundo Shimitz & Hollinger (20) são defeitos de tamanho crítico, ou seja, de difícil reparação. Melo (21), ao realizar defeitos críticos de 4x2 mm, observou no grupo controle reparação óssea de todas as osteotomias realizadas nos animais.

Dessa forma, o resultado encontrado na análise densitométrica levantou o questionamento de que, pelo fato de ser necessária uma reparação óssea bilateral, um efeito sistêmico tenha sido desencadeado pela ação do laser, o que explicaria a similaridade no resultado da DMO das tíbias direita e esquerda. Para Ohshiro (10), Kitchen & Partridge (22), Laakso et al. (23), Pinheiro et al. (24), a ação do laser pode se manifestar não só no local da irradiação como também sistemicamente devido à ação de mediadores metabólicos liberados na circulação, atingindo áreas distantes do local de aplicação, entretanto, este efeito ainda é controverso.

De acordo com Meirelles (25), outra possível explicação para a similaridade dos resultados encontrados na região osteotomizada, é que a análise densitométrica deveria idealmente ser mensurada de maneira volumétrica ou espacial (gramas por cm<sup>3</sup>) e não como é atualmente expressa, em área ou superfície (gramas por cm<sup>2</sup>). Embora a densitometria seja considerada técnica padrão-ouro para medida de massa óssea em função de sua precisão, a análise realizada de maneira volumétrica fornece uma imagem tridimensional como na TCQ que separa osso trabecular de osso cortical garantindo maior acurácia por eliminar possíveis artefatos como sombras ou sobreposição de imagens, permitindo avaliar melhor o defeito ósseo e seu reparo.

Apesar de vários estudos destacarem o sucesso da terapia laser no tratamento de fraturas (8,18,26-27), outros autores discordam completamente da atuação do laser terapêutico para essa finalidade (28-30). Estes autores acima citados estudaram o calo ósseo, porém com parâmetros e tempo de tratamento diferentes, o que dificultou a comparação com os valores do presente trabalho.

A análise dos resultados não permitiu que os mesmos fossem confrontados com a literatura, visto não ter sido encontrado trabalhos que relacionassem osso normal, osso osteopênico, fraturas incompletas, laser terapêutico de baixa potência e densidade mineral óssea.

## CONCLUSÕES

Neste estudo, a análise densitométrica não evidenciou aceleração no processo de consolidação óssea, em animais submetidos à laserterapia de baixa potência e ausência de carga. Tal fato sugere ou que o laser de baixa potência não influenciou o processo de reparo ósseo ou que houve um efeito sistêmico.

Data de Aprovação da Comissão de ética para experimentação animal: 28/04/2006.

**REFERÊNCIAS**

1. Katchburian E, Arana V. Tecido ósseo. In: Katchburian E, Arana V. Histologia e embriologia oral: texto - atlas e correlações clínicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 39-74.
2. Giordano V, Knackfuss IG, Gomes RC, Giordano M, Mendonça RG, Coutinho F. Influência do laser de baixa energia no processo de consolidação de fratura de tíbia: estudo experimental em ratos. *Rev Bras Ortop.* 2001; 36: 174-8.
3. Carvalho DCL, Rosim GC, Gama LOR, Tavares MR, Tribioli RA, Santos IR, et al. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. *Rev Saúde Pública.* 2002; 36: 647-54.
4. Vicentini CR, Rosa RAC, Ciarlini LDRP, Santos PH, Louzada MJQ. Análise biomecânica em fêmures de ratos submetidos a ausência de carga e atividade física em esteira. *Vet Zootec.* 2007; 14: 62-71.
5. Barushka O, Yaakobi T, Oron U. Effect of low-energy laser (He-Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia. *Bone.* 1995; 16: 47-55.
6. Marino JAM. Efeito do laser terapêutico de baixa potência sobre o processo de reparação óssea em tíbia de rato [dissertação]. São Carlos: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos; 2003.
7. Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med.* 1987; 7: 36-45.
8. Garavello-Freitas I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M, Cruz-Höfling MA. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2003; 70: 81-9.
9. Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B Biol.* 1995; 27: 219-23.
10. Ohshiro T, Calderhead RG. Low reactive-level laser therapy: practical application. Chichester: John Wiley & Sons; 1991.
11. Mikail S. Laser terapêutico. In: Mikail S, Pedro CR. Fisioterapia veterinária. São Paulo: Manole, 2006. p. 81-90.
12. Hodgson S. Guia da clínica mayo sobre osteoporose. Rio de Janeiro: Anima; 2005.
13. Galante J, Rostoker W, Ray RD. Physical properties of trabecular bone. *Calcif Tissue Res.* 1970; 5: 236-46.
14. Martin RB, Boardman DL. The effects of collagen fiber orientation, porosity, density and mineralization on bovine cortical bone bending properties. *J Biomech.* 1993; 26: 1047-54.
15. Silva AV, Volpon JB. Modelo de simulação de microgravidade e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato. *Acta Ortop Bras.* 2004; 12: 22-31.



16. Shimano, MM. Microestruturas e propriedades mecânicas de ossos cortical e trabecular de ratos após período de suspensão pela cauda e exercitação [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2006.
17. Kaplan FS, Hayes WC, Keaveny TM, Boskey A, Einhorn TA, Lannotti JP. Form and function of bone. In: Simon SR. Orthopaedic basic science. Chicago: AAOS Press, 1994. p. 57-9.
18. Silva Júnior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg.* 2002; 20: 83-7.
19. Lirani-Galvão AP, Jorgetti V, Silva OL. Comparative study of how low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound affect bone repair in rats. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24: 735-40.
20. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res.* 1986; 205: 299-308.
21. Melo LGN. Avaliação do processo de reparo ósseo em cavidades cirúrgicas preenchidas com partículas de vidro bioativo associadas ou não à barreira de sulfato de cálcio. Estudo histomorfométrico em tíbias de ratos [dissertação]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista; 2003.
22. Kitchen SS, Partridge CJ. A review of low level laser therapy. *Physiotherapy.* 1991; 77: 161-8.
23. Laakso L, Richardson C, Cramond T. Quality of light - is laser necessary for effective photobiostimulation? *Aust J Physiother.* 1993; 39: 87-92.
24. Barbos Pinheiro AL, Limeira Júnior FA, Márquez Gerbi ME, Pedreira Ramalho LM, Marzola C, Carneiro Ponzi EA, et al. Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. *J Clin Laser Med Surg.* 2003; 21: 383-8.
25. Meirelles ES. Diagnóstico por imagem na osteoporose. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 1999; 43: 423-7.
26. Luger EJ, Rochkind S, Wollman Y, Kogan G, Dekel S. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med.* 1998; 22: 97-102.
27. Freitas IGF, Baranauskas V, Cruz-höfling MA. Laser effects on osteogenesis. *Appl Surf Sci.* 2000; 154-155: 548-54.
28. Hunter J, Leonard L, Wilson R, Snider G, Dixon J. Effects of low energy laser on wound healing in a porcine model. *Lasers Surg Med.* 1984; 3: 285-90.
29. David R, Nissan M, Cohen I, Soudry M. Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. *Lasers Surg Med.* 1996; 19: 458-64.
30. Kucerová H, Dostálová T, Himmlova L, Bártová J, Mazánek J. Low-level laser therapy after molar extraction. *J Clin Laser Med Surg.* 2000; 18: 309-15.

**Recebido em: 09/09/2009**

**Aceito em: 22/03/2010**