

Influência do laser de baixa potência (GaAlAs – λ 830nm) na formação óssea em relação à estabilidade primária em osso tipo IV

Influence of low power laser (GaAlAs – λ 830nm) on bone formation related to primary stability in type IV bone

Resumo

Objetivo: Este trabalho *in vivo* com histomorfometria *post mortem* avaliou a influência do laser de baixa potência na formação óssea em implantes em relação à estabilidade primária em osso tipo IV.

Metodologia: Seis coelhos da raça Nova Zelândia receberam quatro implantes cada, dois com ancoragem monocortical e dois com bicortical na tíbia. O grupo experimental recebeu irradiação com laser de GaAlAs – λ 830nm em três pontos ao redor dos implantes, durante 15 dias a cada 48h, totalizando 24J/cm² por tíbia. A rotina do grupo controle foi idêntica, porém com o equipamento desligado. Após 30 dias todos os animais sofreram eutanásia. Obtiveram-se lâminas histológicas para avaliação do percentual de contato osso-implante (%COI).

Resultados: Não houve diferença estatisticamente significativa (teste t-Student, $P > 0,05$) entre os grupos laser e controle com ancoragem mono ($73\% \pm 9$ e $62\% \pm 15$) ou bicortical ($81\% \pm 10$ e $77\% \pm 21$). A histomorfometria sugeriu que o efeito do laser no %COI foi mais positivo nos implantes com menor estabilidade primária. As amostras irradiadas pareceram apresentar maior vascularização e organização lamelar, sugerindo maior maturação em relação ao controle, independente da estabilidade.

Conclusão: O laser não mostrou efeito estatisticamente significativo na %COI. Não obstante, a maior diferença numérica entre o grupo laser e o grupo controle sempre ocorreu nos implantes inseridos com menor estabilidade primária.

Palavras-chave: Laser; implantes; histomorfometria; estabilidade primária

Abstract

Purpose: This *in vivo* study using *post mortem* histomorphometrical analysis evaluated the influence of low power laser on bone formation around implants related to primary stability in type IV bone.

Methods: Six white New Zealand rabbits received four implants each: two with monocortical anchorage and two with bicortical anchorage, in tibia-bones. The laser group was irradiated with GaAlAs – λ 830nm laser in three points around the implants, at 48-hour intervals during 15 days, with a 24J/cm² treatment dose per tibia. The control group was subjected to the same routine but the laser equipment was turned off. After 30 days all animals were subjected to euthanasia. Histological sections were obtained to evaluate the percentage of bone-to-implant contact (%COI).

Results: No statistically significant difference (Student t-test, $P > 0.05$) was found between laser and control groups for either monocortical anchorage ($73\% \pm 9$ and $62\% \pm 15$) or bicortical anchorage ($81\% \pm 10$ and $77\% \pm 21$). The histomorphometrical analysis suggested that laser might improve %COI in implants with lower primary stability. The irradiated group presented greater vascular and lamellar organization, suggesting higher maturation than the control group, independently from stability.

Conclusion: Laser application had no significant effect on %COI. However, the largest difference between laser and control groups always occurred in implants with lower primary stability.

Key words: Laser; implants; histomorphometry; primary stability

Marco Antônio Rambo Osório Torres^a
Eduardo Rolim Teixeira^b

^a EAP/ABO-RS, Porto Alegre, RS, Brasil

^b Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCRS, Porto Alegre, RS, Brasil

Correspondência:

Marco Antônio Rambo Osório Torres
Av. José de Alencar, 521, sala 809
Porto Alegre, RS – Brasil
90880-481
E-mail: marcotorres@cpovo.net

Recebido: 25 de fevereiro, 2008
Aceito: 30 de abril, 2008

Introdução

O uso de implantes osseointegrados representou um grande avanço na perspectiva de reabilitação do edentulismo parcial e total (1). Com a consolidação do uso clínico dentro de um protocolo previsível houve um direcionamento das pesquisas para a melhora dos índices de sucesso inicialmente obtidos (2), principalmente para pacientes com osso tipo IV, com corticais muito finas e osso trabeculado de baixas densidade e resistência, onde a taxa de perda de implantes chega a 35% (3). Alguns dos fatores que mais comumente afetam, impedindo ou dificultando, este processo de osseointegração são: instabilidade mecânica, falhas de vascularização, defeitos ósseos sobrestendidos e tecidos competidores com alta atividade de proliferação (4).

A osseointegração é um processo delicado e complexo que requer o recrutamento de células indiferenciadas precursoras de osteoblastos, sua diferenciação, produção de osteóide e calcificação da matriz extracelular, o que é altamente regulado por hormônios sistêmicos e por fatores locais (5). Assim, a tensão de oxigênio na interface, somada à energia de superfície, rugosidade e topografia do implante, vai ajudar a determinar se estas células pluripotenciais irão se diferenciar em fibroblastos, condroblastos ou osteoblastos (6). Além disso, a estabilidade inicial é um dos fatores fundamentais para a obtenção da osseointegração. Porém, uma adequada ancoragem primária é geralmente difícil de ser conseguida em ossos do tipo IV, mesmo modificando-se a técnica cirúrgica, o desenho e a superfície dos implantes (7).

Uma vez que a interface osso-implante com perfeita integração é crucial ao sucesso da reabilitação protética, não só a cirurgia e o implante, mas também os ossos poderiam ter suas características melhoradas. Assim, defende-se a otimização da neoformação óssea através da utilização do "Low Level Laser Treatment" (LLLT), que responde pela habilidade de induzir processos fotobiológicos atérmicos, não-destrutivos (8). A radiação laser de baixa intensidade é um feixe de luz monocromática, altamente focado, que pode penetrar em camadas mais profundas dos tecidos em comprimentos de onda (CO) entre 300 e 1300nm e estimular fotorreceptores. Estes são capazes de absorver fótons de determinados CO, com doses entre 1 e 50J/cm², provocando uma transformação na atividade funcional e metabólica das células. É o que ocorre, por exemplo, nos fotorreceptores da retina levando ao processo de geração da imagem no cérebro humano (9).

No LLLT a transmissão através da pele também é muito importante, pois há um efeito direto na vascularização abaixo desta e uma pequena quantidade de luz pode ser transmitida através de quase todos os tecidos (10,11). Além disso, a fotoativação do laser não ocorre somente na área de incidência do feixe, mas numa área tridimensional, dispersando-se nos tecidos, por cerca de 1cm ao redor do ponto central de transmissão, em todas as direções (12). Comprovando isto, Banzer et al. (13) demonstraram em humanos, em tempo real, aumento no fluxo sanguíneo a

8mm de profundidade do ponto de irradiação na superfície da pele. Com relação às células ósseas, estudos controlados de culturas irradiadas com LLLT, indicam que doses de 1 e 1,6J/cm² são acompanhadas de um efeito bioestimulante e com 2J/cm² há inibição do crescimento celular (14,15). Em adição, no acompanhamento da cicatrização óssea de defeitos padronizados em calvária de ratos, o LLLT (830nm, dose de 23J/cm²) promoveu uma melhora significativa no reparo em relação ao controle. Na análise histoquímica os tecidos irradiados continham mais cálcio, fósforo e proteínas e a histomorfometria mostrou maior angiogênese e formação de tecidos conjuntivo e ósseo mais organizados do que o tecido controle (16).

Paralelamente, trabalhos recentes com culturas celulares sobre superfícies de titânio (17) e experimentos *in vivo* com implantes em tíbias de coelhos (18-21) indicam que o LLLT possui um efeito positivo na bioestimulação da osseointegração de implantes dentais. Entre outros fatores, citam o aumento da capacidade de adesão ao titânio e proliferação de células osteoprogenitoras em sua direção, com significativo aumento da produção de fatores de crescimento celulares e mineralização do osso neoformado. Estes fatores podem ser determinantes para o sucesso de implantes inseridos com baixa estabilidade primária em ossos do tipo IV. Dessa forma, esta pesquisa objetivou determinar o efeito da terapia de LLLT com um dispositivo laser diodo de GaAlAs na melhora ou aceleração da formação óssea sobre implantes inseridos com ancoragem mono e bicortical em osso tipo IV, através da avaliação quantitativa do %COI por meio de histomorfometria com microscopia ótica (aumento de 40×).

Metodologia

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (Ofício 0533/07); foram aplicados os princípios éticos determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

Cirurgia, Laserterapia e Eutanásia

Foram utilizados seis coelhos machos jovens da raça Nova Zelândia, com idade média de três meses, pesando entre 3,0 e 4,0kg. Os animais foram distribuídos aleatoriamente e mantidos em gaiolas suspensas e individualizadas durante o período de 30 dias do experimento, recebendo alimentação sólida (Linha Natural, Purina®) e água *ad libidum*, até a eutanásia. Vinte e quatro implantes de titânio cilíndricos autorosqueáveis, feitos especialmente para a pesquisa (Ø3,75 mm no corpo, Ø4,1 mm na plataforma; 5 mm de comprimento, Conexão Sistemas de Prótese, São Paulo, SP, Brasil), foram inseridos, após tricotomia, sendo dois em cada uma das tíbias. Sob anestesia geral (Zoletil® 50mg, 15mg/kg IM, Lab. Virbac S.A.) e anestesia local com infiltração subcutânea (Cloridrato de Lidocaína 2% com Epinefrina 1:50.000, DFL Indústria e Comércio S.A., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) realizou-se uma incisão de 3cm nos membros posteriores, na face interna das tíbias em seus

terços proximais, seccionando pele e tecidos subcutâneos incluindo o periósteo, expondo a cortical óssea da diáfise tibial. As perfurações foram feitas com motor elétrico (Driller Blm 600 Plus®, VK Driller Equipamentos Elétricos Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e contra-ângulo redutor 16:1 a 1200rpm, com torque de 35N/cm e irrigação constante de soro fisiológico a 0,9%. Localizaram-se de 10 a 15mm abaixo da articulação tibio-femoral, com uma distância de aproximadamente 10mm entre ambas. Em função da diminuição progressiva da diáfise tibial da articulação do joelho

em direção ao tornozelo, os primeiros implantes de cada tíbia (posição 1, numerados com final 1) obtiveram travamento apenas na cortical superior (Fig. 1A). Já os mais distantes do joelho (posição 2, numerados com final 2) ancoraram também na cortical inferior (Fig. 1B). Os implantes foram inseridos com a plataforma ao nível da cortical superior e o parafuso de cobertura acima desta, favorecendo a sua correta localização com violeta de gengiana 1% através da apalpação, após a sutura contínua e por pontos isolados (Fig. 2A e 2B).

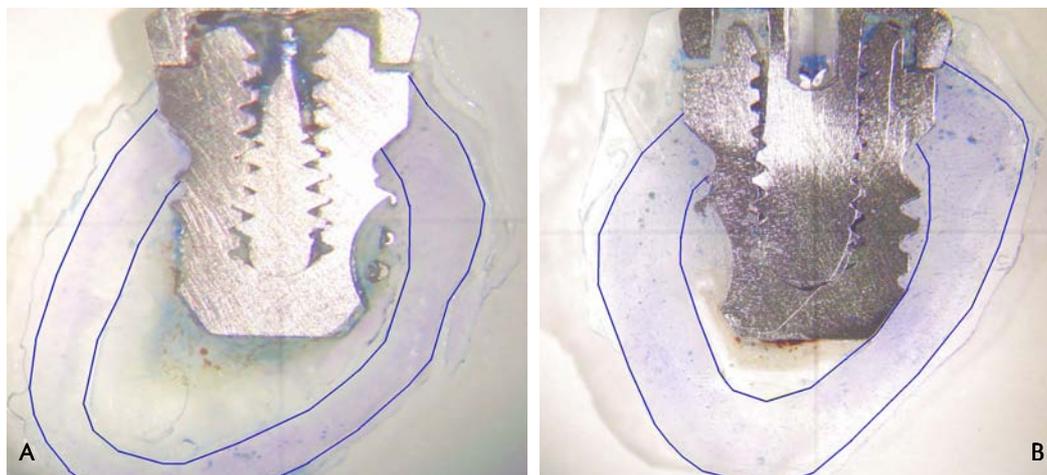


Fig. 1. Cortes histológicos dos dois implantes de uma mesma tíbia evidenciando a diferença na ancoragem cortical: (A) monocortical e (B) bicortical. Os limites internos e externos da cortical óssea foram demarcados em azul para facilitar a comparação visual em função da translucidez acentuada das amostras devido à espessura menor do que 20µm.



Fig. 2. Posição dos implantes na tíbia (A) e seqüência de irradiação laser (B,C,D).

Terminada a cirurgia, os animais foram divididos aleatoriamente, três a três, em grupo controle e grupo laser. Apenas este último grupo recebeu, então, desde o pós-operatório imediato, durante 15 dias a cada 48 horas, irradiação transcutaneamente por 10s, com potência de saída de 100mW, de forma contínua, com um equipamento de laser de diodo semiconductor de Arseneto de Gálio e Alumínio (GaAlAs) com CO de 830nm (Photon Laser III[®], DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brasil). Cada tibia foi irradiada em três pontos ao redor dos implantes por vez com 1J/cm² (Fig. 2B, 2C, 2D), totalizando 24J/cm², ou 48J/cm² por coelho do grupo laser. Os animais do grupo controle passaram pela mesma rotina, mas com o aparelho desligado. Todos os coelhos receberam, por cinco dias consecutivos após a cirurgia, uma dose intramuscular de Pentabiótico[®] (penicilina, estreptomicina, 20.000UI) e, para analgesia, no recipiente de água 20 gotas/dia de Alívium[®] (Ibuprofeno, 50mg/mL). Ao fim de 30 dias da colocação dos implantes os coelhos sofreram eutanásia em câmara de CO₂.

Preparação das Amostras e Histomorfometria

A preparação para a histomorfometria baseou-se na metodologia de Rohrer e Schubert (22). As tíbias foram separadas, dissecadas, identificadas quanto ao grupo e fixadas em formalina 10% por sete dias. Em seguida, os blocos com implante foram seccionados com turbina de alta rotação e broca diamantada cilíndrica, sob refrigeração, a 1cm de distância dos parafusos de cobertura, lateralmente a cada implante. Após desidratação com sequência de álcool até 100% e dessecação com sílica por 72h, foram incluídos individualmente em resina Kit Embed 812 (Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, PA, EUA). Cada implante foi seccionado em cinco a seis cortes de cerca de 120µm em uma máquina de corte metalográfica Labcut[®] 1010 (Extex, Inglaterra), com um disco diamantado série 15LC (Ø102mm e 0,3mm de espessura) da marca Buehler[®] (Lake Bluff, Illinois, EUA). A obtenção da espessura final entre 10 e 19µm deu-se por cuidadoso processo de polimento (DPU-10[®], Panambra Ind. e COM. AS, São Paulo, SP, Brasil), com velocidade de 20 a 100rpm, com lixas d'água 500, 600 e 1200 (3M[®], São Paulo, SP, Brasil) sob refrigeração abundante. As amostras, montadas em lâminas de vidro simples de 1mm de espessura com ponta fosca para microscopia foram coradas com Azul de Toluidina, renumeradas para cegamento, e analisadas e fotomicrografadas num microscópio óptico (MO) Olympus BX 50 (Olympus Optical CO. Ltda, Japão) com aumentos de 40 a 1000 vezes (×), e numa lupa estereomicroscópica Zeiss Stemi SV6 (Zeiss, Alemanha) com aumentos de 10 a 32×. A aquisição das imagens foi feita através de uma câmera digital (Sony DSC P-92, Japão) montada em tripé e conectada a um computador portátil. A mensuração do percentual de contato

osso-implante (%COI) foi realizada de forma cega ao tratamento, com o programa ImagePro Plus v.4.0 para Windows[®] (Média Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA), utilizando-se apenas os dois cortes mais centrais de cada implante (23). Realizou-se um estudo para avaliação do grau de confiabilidade das medições do %COI através de um levantamento repetido aleatoriamente em 12,5% das amostras, sem diferença estatisticamente significativa entre as duas medições ($P=0,71$).

Como as variáveis estudadas apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste paramétrico t-Student para a comparação entre os grupos de tratamento (laser e controle) em relação à posição tibial 1 e 2, ou seja, em relação à estabilidade primária. Para o processamento e análise dos dados foi utilizado o programa SPSS versão 10.0.

Resultados

As médias de %COI dos grupos experimentais estão dispostas na Tabela 1. Para os implantes com ancoragem monocortical o LLLT obteve uma diferença positiva na média do %COI de 11% em relação ao controle, mas sem diferença estatística ($P=0,16$). Nos implantes com ancoragem bi ou tricortical, a diferença foi de 4% em favor do LLLT, sem diferença estatisticamente significativa ($P=0,68$).

Tabela 1. Porcentagem de COI dos grupos em função do tratamento de irradiação e do tipo de ancoragem.

Ancoragem	Tratamento	Média (%COI)	Desvio-padrão	P
monocortical	Laser	72,9	9,2	0,16
	Controle	61,9	15,4	
bicortical	Laser	81,2	10,1	0,68
	Controle	77,1	21,0	

Na análise qualitativa e morfológica ao microscópio ótico, observou-se similaridade na estruturação do osso compacto original da diáfise entre os grupos laser e controle, onde foi possível identificar claramente todos os sistemas lamelares. Com relação ao osso formado a partir da colocação do implante, durante os 30 dias de osseointegração, evidenciou-se um efeito positivo na formação óssea nos tecidos irradiados.

A partir do sistema circunferencial interno, a formação de um novo arcabouço ósseo composto de ósteons, que se projetam da cortical pré-existente em direção à superfície do implante, apresentou-se mais organizada no grupo irradiado. Percebeu-se, também, que o diâmetro dos canais de Havers do osso novo foi maior no grupo do laser do que no grupo controle (Fig. 3A e 4B).

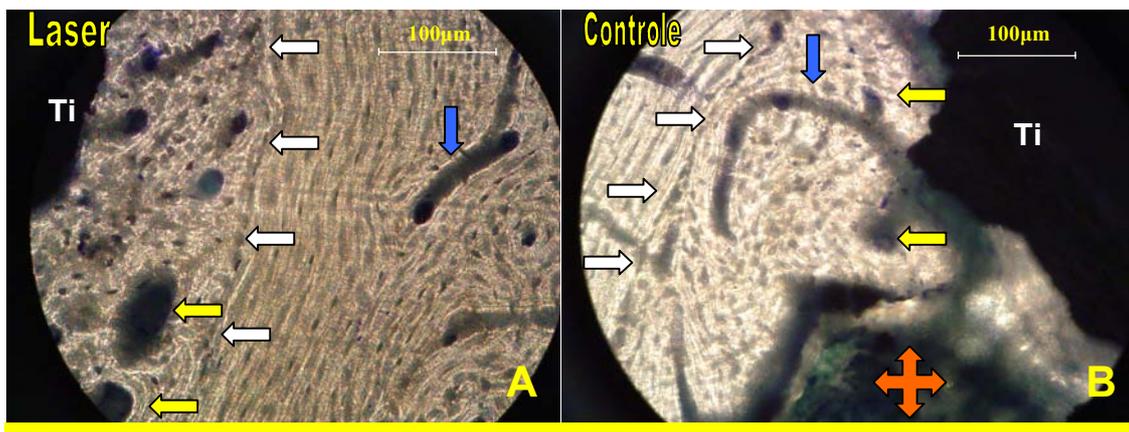


Fig. 3. Micrografias de lâminas coradas com Azul de Toluidina. Osso neoformado (setas brancas) em direção ao implante (Ti) nos grupos laser (A) e controle (B). Canais de Havers do osso novo (setas amarelas). Canais de Volkmann (setas azuis). Tecido medular não-mineralizado (setas laranjas). Aumento original de 400 \times .

Discussão

O presente estudo é pioneiro na comparação *in vivo* do efeito do LLLT sobre a osseointegração de implantes dentais em relação à estabilidade primária. Poucos trabalhos avaliaram a osseointegração *in vivo* com delineamento randomizado, cego e placebo-controlado (9,11). A avaliação histomorfométrica é considerada, atualmente, a análise padrão na pesquisa com implantes *in vivo* com diversos modelos animais, associada ou não a outros testes, como torque de remoção, permitindo entender os efeitos das variáveis pesquisadas em nível celular. Entretanto, experimentos em modelos animais não podem simplesmente ser extrapolados para outros animais diferentes (ratos, coelhos, porcos e ovelhas) ou seres humanos, mas sim servem como uma forma objetiva de comparar o efeito de diferentes tratamentos (19). Além disso, há que se ter cautela na comparação de pesquisas com laser, pois a literatura sobre LLLT evidencia a falta de padronização quanto à metodologia de irradiação, tornando a comparação dos resultados difícil ou mesmo impossível.

Neste experimento comparativo *in vivo*, cego e controlado, não houve diferença estatisticamente significativa da formação óssea sobre implantes inseridos com ancoragem mono e bicortical em osso tipo IV quando foi aplicado laser diodo de GaAlAs. Uma limitação dos resultados é o tamanho reduzido da amostra e a variabilidade dos valores de %COI. Entretanto, houve uma diferença média de 11% do %COI com LLLT em relação ao grupo controle com ancoragem monocortical, embora sem diferença estatística. Khadra et al. (19) observaram em coelhos uma diferença de 10% na %COI do LLLT em relação ao controle, mas não citaram se houve ou não significância estatística. Contudo, tais autores utilizaram implantes em forma de discos com roscas, colocados apenas na porção cortical, em cavidades especificamente preparadas para não penetrar na porção medular, cobertos com uma membrana de Polite-trafluoretano Expandido, maximizando a osseointegração.

Já em outro trabalho, Khadra et al. (17) relataram que as capacidades de adesão e proliferação foram melhoradas em culturas de osteoblastos de mandíbula humana sobre discos de titânio irradiadas com laser de GaAlAs por três dias consecutivos com 3J/cm² (CO=830nm; P=84mW), com significativo aumento de produção de osteocalcina e fator de crescimento transformador β_1 (TGF- β_1).

Os achados do presente estudo sugerem maior organização dos sistemas lamelares e presença de canais de Havers com diâmetro de três a quatro vezes maiores no grupo irradiado com laser. Uma revisão de 34 artigos de trabalhos controlados *in vitro* e *in vivo* mostrou que a resposta vascular aumentada seria um dos principais fatores responsáveis pelo efeito positivo do laser, com melhora na proliferação dos osteoblastos, deposição de colágeno e neoformação óssea (11). Assim, a maior organização lamelar na interface periimplantar sugere que o LLLT poderia ter um efeito positivo na maturação do osso irradiado durante o período de osseointegração. Nesse sentido, o potencial ósseo para regeneração depende do suprimento vascular amplo, pois os osteoblastos exercem suas atividades apenas nas proximidades de vasos sanguíneos, e a simples redução do oxigênio para essas células pode direcionar fenotipicamente à formação de tecido fibroso ou fibrocartilaginoso (4). Logo, a formação de canais de Havers maiores no osso permitiria maior vascularização sanguínea, melhorando o potencial de regeneração e maturação óssea. Este aumento do suprimento vascular causado pela irradiação laser foi confirmado em tempo real num experimento em humanos num delineamento randomizado, duplo-cego, placebo-controlado, numa profundidade de 8mm do ponto de irradiação (13).

Quanto à instabilidade mecânica, Jafim e Bermann (3) concluíram que a taxa de perda em cinco anos foi de 35% para implantes lisos nos ossos onde a cortical era muito fina e o osso trabecular era de baixa densidade e pobre resistência (osso tipo IV). No presente trabalho, o modelo animal utilizado apresenta qualidade de osso semelhante ao osso

tipo IV em humanos. Dentro das limitações inerentes à análise histomorfométrica, 100% dos implantes foram considerados osseointegrados ao final dos trinta dias do experimento, com 38,2% a 98,6% de COI. A qualidade do substrato ósseo é também um fator determinante para a manutenção da osseointegração durante a função (7). Através de espectroscopia Raman evidenciou-se que o laser de GaAlAs aumentou significativamente a mineralização da nova matriz óssea formada, com aumento da quantidade de cálcio e fósforo, durante o processo de osseointegração em 30 e 45 dias (18,20,21). Entretanto, não há como prever o comportamento clínico dos implantes com diferentes %COI, pois outros fatores interagem no fracasso/sucesso da osseointegração quando o implante é colocado em função mastigatória.

Com relação à dosimetria do LLLT adotada neste estudo, utilizou-se a densidade de energia de 1J/cm² por ponto, sendo três pontos por tíbia, ou seja, 3J/cm² ao redor dos implantes de cada tíbia, a intervalos de 48 horas. Trabalhos *in vitro* com culturas de células de rato e células humanas concluíram que houve efeito bioestimulante do crescimento das células osteoprogenitoras na densidade de energia de 1J/cm², mas doses acima de 2J/cm² provocaram inibição do crescimento celular (14,15). Todavia, estes trabalhos usaram culturas celulares e nesse caso a otimização da dose é superior, já que não há interação da irradiação com outros tecidos orgânicos. Recentes trabalhos *in vivo* (8,19,20) comprovam que não há um consenso sobre a dosimetria ideal para obter otimização do crescimento e da maturação óssea, sendo que a literatura aponta efeitos bioestimulantes entre 1 e 50J/cm² por aplicação (9).

Uma das explicações para o mecanismo de bioestimulação do metabolismo celular pelo LLLT com um protocolo similar ao do presente estudo seria o aumento da formação de um gradiente de fóton eletroquímico transmembrana nas mitocôndrias, gerando a liberação de cálcio no citoplasma por um processo antiporto que dispara a mitose e a proliferação da célula (9,10). Já a opção por apenas dois

pontos de irradiação por implante, um de cada lado, foi usada por Reinisch (10) e Brugnera Jr. (12), que aplicaram a energia pontualmente sobre a pele, havendo dispersão e penetração num raio de ação de cerca de 1cm². Com o protocolo de irradiação adotado no presente estudo, tendo 3,75mm de diâmetro por 5mm de comprimento, há uma abrangência da energia emitida ao redor de todo o implante sem duplicação de dose.

Em síntese, pesquisas recentes (8,11,13-21) têm mostrado um efeito positivo do LLLT sobre a vascularização e o aumento do potencial de reparo do tecido ósseo. Isto pode ser benéfico para a osseointegração, principalmente em ossos de baixa qualidade e pouca possibilidade de ancoragem primária. Porém, são necessárias novas pesquisas de modo a preencher as lacunas ainda existentes quanto ao entendimento dos mecanismos biológicos na mediação dos processos necessários à osseointegração de implantes de titânio, bem como dos parâmetros dosimétricos para obtenção da bioestimulação óssea.

Conclusões

O laser de baixa potência não mostrou diferença estatisticamente significativa na %COI em relação à estabilidade primária em osso tipo IV. Não obstante, a maior diferença entre o grupo laser e o grupo controle sempre ocorreu nos implantes inseridos com menor estabilidade primária.

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS. À Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde do Estado do Rio Grande do Sul pelo uso do biotério e auxílio técnico. À Conexão Sistemas de Prótese pela doação dos implantes utilizados. Ao Prof. Dr. Kleber Ricardo Monteiro Meyer pelo auxílio nas cirurgias.

Referências

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark P-I. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981;10:387-416.
2. Cochran DL, Shenck RK, Lussi A, Higginbottom FL, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 1998;40:1-11.
3. Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixture in type IV bone: A 5 year analysis. *J Periodontol* 1991;62:2-4.
4. Schenk RK. Regeneração óssea: bases biológicas. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK. Regeneração óssea guiada na implantodontia. São Paulo: Quintessence Books; 1996. p. 49-100.
5. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, Boyan BD. The role of implant surface characteristics in the healing of bone. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7:329-45.
6. Raghavendra S, Wood MC, Taylor TD. Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:425-31.
7. Martinez H, Davarpanah M, Missika P, Celletti R, Lazzara R. Optimal implant stabilization in low density bone. *Clin Oral Impl Res* 2001;12:423-32.
8. Silva Júnior AN. Avaliação do efeito do laser diodo (GaAlAs) infravermelho de 830 nm na biomodulação da cicatrização óssea [dissertação]. Porto Alegre (RS): Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2000.
9. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schön H, Schindl L. Low-intensity laser therapy: a review. *J Investig Med* 2000;48:312-26.
10. Reinisch L. Laser physics and tissue interactions. *Otolaryngol Clin North Am* 1996;29:893-914.
11. Pinheiro AL, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg* 2006;24:169-78.

12. Brugnera Jr A, Ladalardo TC, Da Cruz FM. Introdução à laserterapia aplicada à clínica odontológica. In: Brugnera JR A. Laserterapia aplicada à clínica odontológica. São Paulo: Santos; 2003. p.1-7.
13. Banzer W, Hübscher M, Seib M, Vogt L. Short-time effects of laser needle stimulation on the peripheral microcirculation assessed by laser doppler spectroscopy and near-infrared spectroscopy. *Photomed Laser Surg* 2006;24:575-80.
14. Dörtbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clin Oral Impl Res* 2000;11:540-45.
15. Do Nascimento RX, Callera F. Low-level laser therapy at different energy densities (0,1 – 2,0 J/cm²) and its effects on capacity of human long-term cryopreserved peripheral blood progenitor cells for the growth of colony-forming units. *Photomed Laser Surg* 2006;24:601-4.
16. Khadra M, Kasem N, Haanæs HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:693-700.
17. Khadra M, Lyngstadaas SP, Haanæs HR, Mustafa K. Effect of laser therapy on attachment, proliferation e differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. *Biomaterials* 2005;26:3503-9.
18. Lopes CB. Biomodulação laser em implantes ósseos: um estudo com Espectroscopia Raman [dissertação]. São José dos Campos (SP): Faculdade de Odontologia da Universidade do Vale do Paraíba; 2002.
19. Khadra M, Kasem N, Lyngstadaas SP, Haanæs HR, Mustafa K. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Impl Res* 2004;15: 325-32.
20. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, Duarte J, Martins MC. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a raman spectroscopic study. *Photomed Laser Surg* 2005;23: 27-31.
21. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, Da Silva NS, Salgado MA. Infrared laser photobiomodulation (830 nm) on bone tissue around dental implants: a raman spectroscopic and scanning eletronic microscopy study in rabbits. *Photomed Laser Surg* 2007;25:96-101.
22. Rohrer MD, Schubert CC. The cutting-grinding technique for histologic preparation of undecalcified bone and bone-anchored implants – improvements in instrumentation and procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;74:73-78.
23. Brito OF, Vidigal Júnior GM, Almeida GM. Análise da interface osso-implantes instalados em tíbias de coelhos: uma comparação entre 1 e 7 secções. *Braz Oral Res* 2004;18(Suppl):244.