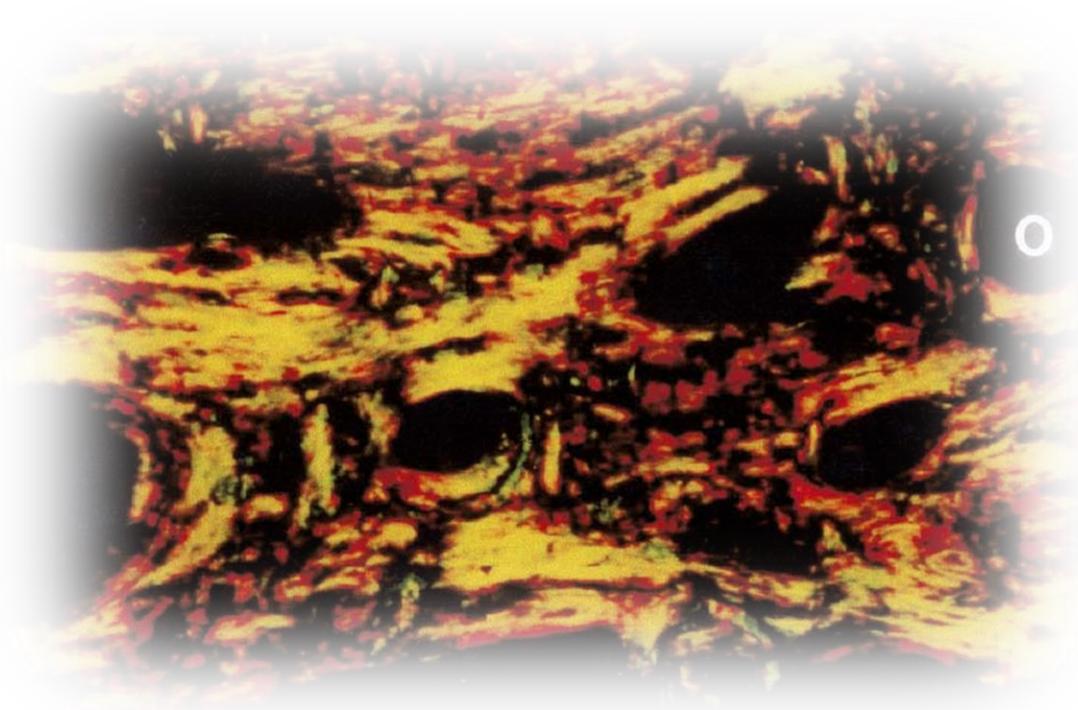


INFLUENCIA DE LA FOTOBIMODULACIÓN EN LA REGENERACIÓN ÓSEA CON XENOINJERTO

Dra. Adriana Ramos Yannuzzi

Tutor: Dr. Luis Guzzetti



Carrera de Especialización en Implantología Oral
Escuela de Graduados – Facultad de Odontología
Universidad de la República
Uruguay, 2021

Tabla de Contenido

1. Resumen	2
2. Palabra clave	3
3. Glosario	3
4. Introducción y Objetivo	4
5. Método	5
6. Desarrollo	6
6.1- Fundamento físico del LASER	6
6.1.1- Dispositivo LASER	7
6.2 - Interacción a nivel tisular	11
6.3 -Terapia láser de Baja Intensidad	12
6.4 - Bases biológicas de la Regeneración ósea	13
6.5 -Mecanismos moleculares de la Fotobiomodulación en el tejido óseo	16
6.6 - Fotobiomodulación y regeneración ósea	23
7. Discusión	26
8. Conclusiones	27
9. Referencias	29

Imagen de tapa

Tomada de Journal of Photochemistry and Photobiology B :Biology 2003 (70) 81–89

1.RESUMEN

La rehabilitación implanto asistida como disciplina, nos impulsa hacia el logro de resultados predecibles.

La disminución de volumen óseo producto de la pérdida dentaria, está en relación directa con el resultado del tratamiento implanto-prostodóncico. Estas alteraciones dimensionales del remanente óseo guiarán la elección de la conducta clínica a seguir; es por ello por lo que se han desarrollado diversas técnicas que se enfocan en la disminución de la morbilidad quirúrgica, y la reducción de tiempos de espera biológicos. El proceso alveolar es un tejido dependiente de la pieza dentaria, que se desarrolla conjuntamente y se remodela con su pérdida. ¹

El tratamiento de la pérdida ósea debido a diferentes factores etiológicos es difícil y muchas técnicas tienen por objetivo mejorar cualitativa y cuantitativamente la cicatrización, incluida una amplia gama de biomateriales, y recientemente la bioingeniería a través de la modulación de reacciones por medio de la aplicación de luz amplificadas por emisión estimulada de radiación.

El aumento de la tasa de remodelación ósea es un objetivo actual de la ingeniería de tejidos; la cicatrización ósea y la osteogénesis pueden acelerarse mediante la aplicación de diversos agentes que incluyen estimulación física (térmica o de ultrasonido), tratamiento químico (Citocinas, factores de crecimiento; proteínas) y fotobiomodulación (Tratamiento con láser / luz)

Las modalidades de tratamiento con láser, para promover la fotobiomodulación se denominan terapia con láser de baja potencia o intensidad (LLLT) y se han explorado como una estrategia terapéutica no invasiva para favorecer la regeneración ósea en diferentes campos de la medicina y odontología.

El uso de la terapia láser ha sido estudiado desde los años 60. Sus efectos terapéuticos sobre los diferentes tejidos biológicos son muy amplios, al inducir efectos regenerativos, antiinflamatorios y analgésicos, destacándose los trabajos que demuestran un aumento en la microcirculación local, proliferación de células epiteliales y fibroblastos, así como un aumento de la síntesis de colágeno.²⁻³

En relación con la reparación ósea, la terapia con láser parece mostrar un enfoque terapéutico efectivo, demostrado en trabajos in vitro e in vivo, en los cuales se observa un aumento en la actividad osteoblástica. Los mecanismos biológicos implicados en la

mejora de la cicatrización del tejido óseo tratado con Terapia Láser de baja potencia, aún no se comprenden claramente. Los estudios sugieren que el láser puede excitar los cromóforos intracelulares, especialmente el citocromo C oxidasa (CCO) ubicados a nivel de las mitocondrias, y así estimular la actividad celular. En consecuencia, aumentan la concentración de ATP y de calcio, la síntesis de proteínas, y activan las vías de señalización, responsables de la proliferación celular. Se evidencia un efecto positivo en la diferenciación de las células mesenquimales en osteoblastos, aumentando la deposición de matriz tempranamente en la formación ósea, por lo que se considera un factor prometedor para acelerar la regeneración.

La medicina regenerativa, es actualmente un campo muy activo de investigación, el cual nos permite obtener resultados predecibles con menor morbilidad.

2. PALABRAS CLAVE: *Low Level Laser Therapy, Photobiomodulation, Bone regeneration, Xenograft.*

3. GLOSARIO

- LASER: Amplificación de luz por emisión estimulada de radiación
- LLLT: Terapia con láser de baja potencia
- PBM: Fotobiomodulación
- ROG: *Regeneración ósea guiada*
- CCO: Citocromo c oxidasa
- ON: óxido nítrico
- W: Watts
- J: Joule

4. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO:

El proceso implicado en la cicatrización es complejo e involucra respuestas locales y sistémicas. Por lo general la cicatrización ósea es más lenta que la observada en tejidos blandos. El tejido óseo tiene una gran capacidad de regeneración, y en la mayor parte de los casos, puede restaurar su arquitectura y propiedades mecánicas habituales. Sin embargo, esta capacidad es limitada y la recuperación completa puede no ocurrir si hay un suministro sanguíneo deficiente, inestabilidad mecánica o competencia con tejidos altamente proliferantes. El tamaño de la lesión es una condicionante para la reparación espontánea y fisiológica.¹

Las consecuencias clínicas de la remodelación posterior a la exodoncia producto de cambios fisiológicos en tejidos blandos y duros, pueden afectar el resultado de las terapias dirigidas a restaurar las piezas perdidas, limitando la disponibilidad ósea y comprometiendo el resultado estético y predictibilidad de las restauraciones protésicas. Existen hoy día diversas técnicas e investigaciones que se han centrado en disminuir la pérdida dimensional de la cresta alveolar, para obtener un resultado estético y funcional más predecible, con menor morbilidad.¹⁻⁴⁻⁵⁻⁶

El **objetivo** que persigue este trabajo monográfico resulta en la búsqueda de evidencia y consensos con relación a la utilización de la terapia láser de baja intensidad (LLLT) como herramienta de bioingeniería tisular enfocada en la fotobiomodulación (PBM), y su influencia en la regeneración de defectos óseos tratados con xenoinjertos. A su vez, explorar la incidencia en los tiempos de espera biológicos, y las características cualitativas del tejido formado.

A partir de esta revisión y análisis de la literatura (incluidas revisiones sistemáticas, estudios clínicos in vivo e in vitro), se persigue encontrar evidencia y sustento en las etapas clínicas de los procedimientos de regeneración, abordando la fotobiomodulación en la regeneración ósea con xenoinjertos como un tema emergente y prometedor.

5. MÉTODO

Se desarrolló una estrategia de búsqueda en la base de datos electrónica PubMed y Timbó; abordando artículos sobre el efecto de la PBM en las células óseas, la regeneración con xenoinjertos y los parámetros óptimos de la LLLT en el remodelado óseo. Debido a que la terapia de fotobiomodulación sobre la regeneración con xenoinjertos son un nuevo dominio en las ciencias humanas, muchos de los estudios relacionados se encuentran en revistas electrónicas y no se evidencian estudios clínicos en humanos al respecto. Los artículos seleccionados incluyeron revisiones sistemáticas y estudios experimentales in vitro o in vivo, que evaluaron los efectos de la LLLT en la cicatrización y regeneración del tejido óseo y su asociación con xenoinjertos.

6- DESARROLLO

6.1 Fundamento físico del LASER

La palabra **LASER**, Es un acrónimo con origen en la lengua inglesa que significa amplificación de luz por emisión estimulada de radiación (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation). Se genera a través de un dispositivo electrónico, basado en una emisión inducida que amplifica un haz de luz monocromático y coherente. Esta radiación es del tipo electromagnética no ionizante, con características bastante específicas que le confieren propiedades. La potencia óptica del sistema y su longitud de onda determina su interacción con el tejido diana o blanco pudiendo tener finalidad terapéutica o quirúrgica.⁷

“Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” Un análisis de estas palabras ofrece una comprensión de los principios básicos de funcionamiento de un dispositivo Láser.

La **Luz** es una forma de energía electromagnética que se comporta como una onda. La unidad básica de esta energía se llama fotón. La luz láser y la luz ordinaria son significativamente diferentes, mientras que la luz ordinaria suele ser un resplandor blanco difuso, el láser suele ser de un color específico, propiedad llamada monocromaticidad, pudiendo ser visible o invisible. Esta luz láser posee características adicionales; *colimación* (el haz tiene límites espaciales, esto asegura un tamaño y forma

constante del haz emitido desde la cavidad láser); *coherencia* (todos los picos y valles de las ondas son equivalentes)

Hay parámetros que pueden definir la onda de fotones producida por el láser.

- Amplitud, que es la altura total de la oscilación de la onda, esta es una indicación de la intensidad de la onda.
- Longitud de onda, que es la distancia entre dos puntos en el eje horizontal (determina cómo reacciona con el tejido). Las longitudes de onda utilizadas en odontología se mide en micrones o nanómetros. Una propiedad relacionada con la longitud de onda es la frecuencia, que es el número de oscilaciones por segundo. La frecuencia es inversamente proporcional a la longitud de onda (cuanto más corta sea la longitud de onda, mayor será la frecuencia)

La **Amplificación** es parte de un proceso que ocurre dentro de la cavidad láser. El núcleo de la cavidad se compone de elementos químicos, moléculas o compuestos y se llama medio activo. Los láseres se denominan genéricamente por el material del medio activo, que puede ser un recipiente de gas, un cristal o un sólido semiconductor. Existen dos espejos uno en cada extremo de la cavidad óptica colocados paralelos, que permiten aumentar la potencia del haz de fotones.

El término, **Emisión estimulada** tiene su base en la teoría cuántica. Un cuanto es la unidad más pequeña de energía absorbida por los electrones de un átomo o molécula, provocando una breve excitación, luego se libera un cuanto en un proceso llamado *emisión espontánea*. La emisión cuántica también denominada fotón, puede tener varias longitudes de onda porque hay varias órbitas de electrones con diferentes niveles de energía en un átomo. Un cuanto adicional de energía viajando en el campo del átomo excitado, tiene la misma energía de excitación, dando como resultado una liberación de dos cuantos, un fenómeno que denominado *emisión estimulada*. La energía se irradia como dos fotones idénticos, viajando como una onda coherente. Estos fotones pueden energizar más átomos que emiten más fotones idénticos adicionales, estimulando más átomos circundantes. Si las condiciones son adecuadas se produce una inversión de la población, lo que significa que la mayoría de los átomos del medio activo están en el estado elevado, más que en el de reposo. Debe de haber un suministro constante de

energía llamado mecanismo de bombeo para mantener la excitación. Los espejos en los extremos del medio activo reflejan estos fotones hacia atrás y hacia adelante, para permitir una mayor emisión estimulada; pases sucesivos a través del medio activo aumentan la potencia del haz de fotones. Esto es el proceso de *amplificación*. El paralelismo de los espejos asegura que la luz está colimada. Uno de los espejos selectivamente transmisivo, permite que la luz salga de la cavidad óptica.

La **Radiación** refiere a las ondas de luz producidas por el láser como forma de energía electromagnética. El espectro electromagnético es la colección completa de energía de las ondas que van desde rayos gama hasta ondas de radio. Todos los dispositivos de laser dentales tienen longitudes de onda de 500 nm a 10600 nm, por lo tanto, están dentro de la porción visible e invisible, infrarroja no ionizante del espectro electromagnético.⁸ (Imagen 1)

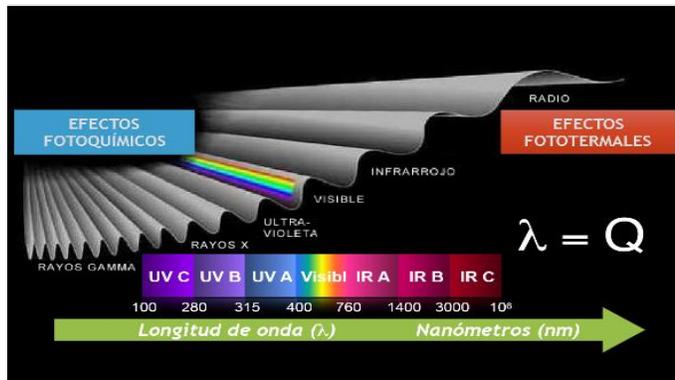


Imagen 1: Tomada de Coluzzi 2016

6.1.1 Dispositivo LASER

El láser odontológico es un dispositivo que actúa en el espectro de luz visible o infrarroja. Posee una potencia propia que se expresa en Watts (W). La potencia combinada con el tiempo de aplicación se expresa en segundos (s), dando como resultado la cantidad de energía aplicada definida en Joules (J).

Se han desarrollado dos grupos de láser para distinguir su efecto sobre el tejido. Los láseres de alta potencia o quirúrgicos logran su efecto a través de una interacción directa,

este efecto es principalmente fototérmico, ya que la energía de la luz incidente es absorbida y convertida en energía térmica causando cambios tisulares.

Los láseres de baja potencia o terapéuticos logran su efecto a través de una interacción indirecta conocida como fotobiomodulación (promoviendo aumento del flujo sanguíneo local, favoreciendo la migración celular y la oxigenación del tejido) ⁹

Modo de emisión del láser

El dispositivo laser puede emitir energía en dos modalidades, encendido constante o encendido y apagado pulsado. Los láseres pulsados pueden dividirse en dos formas diferentes. Por lo tanto, el dispositivo láser puede ser programado para trabajar en tres formas de emisión diferente:

Continua, donde la energía será emitida sin interrupción mientras esté accionado el interruptor. Esta forma de entrega de energía no permite al tejido receptor enfriarse.

Alternada, donde a través de un sistema mecánico (obturador) de apertura y cierre, producirá una entrega intermitente. Permite programar un tiempo de acción y descanso (tiempo on/off).

Pulsado, donde a través de un sistema eléctrico, la energía se emite durante un período corto de tiempo, seguido de un tiempo largo donde está apagado. sin producir sobrecalentamiento; una variación es el superpulsado, donde se acorta el pulso. ¹⁰

La energía producida dentro de un dispositivo láser en forma de fotones tiene la particularidad de ordenarse en un haz de luz dirigido en una misma dirección (coherencia), sobre trayectorias paralelas (colimación). A su vez, son dispositivos capaces de emitir luz con una longitud de onda única y definida (monocromaticidad); y por lo tanto, incluye las características inherentes a cualquier haz de luz, pudiendo ser reflejado, absorbido o transmitido por el tejido. ^{7- 11}

El dispositivo láser está conformado por una cavidad láser con un medio activo, un mecanismo de bombeo y un resonador óptico. El medio activo involucra elementos químicos que pueden ser cristales sólidos, gaseosos, líquidos o semiconductores, que

al aplicarles energía estimulan a que sus átomos sufran cambios en sus valencias o capas internas, convirtiéndose en inestables. Inmediatamente al buscar su estabilización se libera energía en forma de fotones.

El mecanismo de bombeo es una fuente de energía externa (sistemas eléctricos, lámparas de luz, bobinas eléctricas), que bombea energía a los átomos para excitarlos.

(Imagen 2)

La cavidad láser presenta dos espejos dispuestos de forma paralela, uno en cada extremo, que actúan como resonadores ópticos, cuya función es reflejar las ondas para colimar o amplificar el haz. ⁷



Imagen 2: Tomada de Castellanos 2016

Sistemas de entrega.

El rayo coherente y colimado de luz laser debe enviarse al tejido objetivo. Hay dos sistemas de administración disponibles; una es un conductor hueco de ondas o tubo que tiene un acabado de espejo interior. La energía laser se refleja a lo largo del tubo y sale a través de una pieza de mano, llegando al tejido en un modo sin contacto. Se puede conectar una punta accesoria de zafiro al extremo para el contacto con el sitio quirúrgico. El segundo sistema es un cable de fibra óptica de vidrio; este sistema termina en una pieza de mano pudiendo trabajar en modo con o sin contacto. Esta fibra óptica está compuesta por filamentos de vidrio de entre 10 y 400 micrones, y es a través de la cual la luz es emitida en forma de haz por reflexión.

De esta forma, es posible identificar un dispositivo láser conociendo el medio activo por el que está compuesto (fuente generadora como Erblio, Diodo, Neodimio, entre otros), y su potencia o energía generada. De esta forma, se obtienen las características específicas de cada dispositivo láser, que involucran elementos esenciales del haz de

luz y su interacción con la materia como la longitud de onda emitida, la densidad de la potencia, y las características temporales del rayo (emisión continua o pulsada).⁷

Otras variables relacionadas con la transferencia de energía son el contacto o no con el tejido y el tipo de rayo, si es focalizado o desenfocado.

Las propiedades ópticas de los elementos tisulares determinan la naturaleza de la respuesta del tejido a los procesos de absorción, transmisión, reflexión y dispersión del rayo. La interacción entre los tejidos y la luz láser está determinada por dos variables dependientes entre sí: la longitud de onda específica y las características ópticas del tejido.

Los factores que se encuentran bajo el control del operador de modo de obtener máxima eficacia terapéutica son: el nivel de potencia aplicada, la energía total aplicada sobre un área (fluencia), la velocidad y duración de la exposición y la forma de trabajar (continua, pulsada, en contacto, sin contacto). Estas variables hacen posible un control preciso del instrumento láser.

- *Selección de la Potencia:* Irradiación es sinónimo para densidad de potencia, que es definida como la potencia óptica útil del láser, expresada en Watts (W), dividida por el área irradiada, expresada en centímetros cuadrados (cm²). La potencia es fija, en la mayoría de los dispositivos, pero en los de última generación, es posible variarla. El aspecto más importante, es conocer la potencia óptica útil del equipo, es decir, la potencia medida en la salida de la pieza de mano, ya que este es uno de los datos que componen la ecuación para cálculo de la dosimetría o fluencia. Es de considerar que al tratarse de fenómenos ondulatorios (haz de luz), estos obedecen a la ley cuadrática inversa. Esta establece que para una onda como por ejemplo el haz que se propaga de la fuente, la intensidad disminuye de acuerdo con el cuadrado de la distancia a la fuente de emisión. Por lo tanto, al alejar el rayo del área blanco se amplía el área irradiada, pero disminuye la intensidad.
- *Selección de longitud de onda:* La longitud de onda es quien define la profundidad de penetración en el tejido a tratar y se expresa en nanómetros (nm). Diferentes longitudes de onda presentan diferentes coeficientes de absorción para un mismo tejido.

La longitud de onda es visible desde aproximadamente 400–750 nm; más allá de 750 nm, la luz es invisible. Desde 750–1500 nm, la luz se define como infrarrojo

cercano. Los dispositivos de baja intensidad generalmente están dentro del rango de 600-1000 nm.

- *Selección del modo de emisión del láser:* En general, es posible controlar el modo de emisión del láser. Normalmente la opción está entre el modo de emisión continua y pulsada.
- *Diámetro del haz:* El área de la sección transversal del haz láser se expresa en centímetros cuadrados (cm²) y varía según el dispositivo.
- *Fluencia:* La Fluencia (o densidad de energía o, dosimetría), es la dosis de energía por sesión de aplicación del láser necesaria para producir el efecto deseado, y varía según el tipo de tejido a tratar. Es el resultado de multiplicar la irradiación (expresada en Watts) por centímetro cuadrado (W/cm²), por el tiempo de exposición (expresado en segundos) obtendremos la fluencia o densidad de energía, expresada en Joules por centímetro cuadrado (J/cm²).

Al realizar laserterapia resulta imprescindible indicar la dosis (fluencia) y el número estimado de sesiones, ya que de ello depende la energía total entregada al tejido receptor.

6.2 Interacción a nivel tisular

Los tejidos son heterogéneos desde el punto de vista óptico y, por lo tanto, absorben y reflejan energía de manera distinta. Aquellos queratinizados, como la piel, reflejan más la luz láser que los tejidos sin queratina, como las mucosas. Cuando un rayo de luz incide sobre una superficie, el porcentaje de luz que será reflejada dependerá del ángulo de incidencia de este rayo. De esta forma, cuanto más agudo sea el ángulo formado entre el rayo incidente y la superficie irradiada, mayor será la reflexión de este rayo y, por lo tanto, tendremos menor absorción de energía por parte del tejido. Es por ello por lo que el haz de luz debe posicionarse perpendicular al tejido, evitando así reflexión y maximizando la absorción). Cuando la energía es absorbida por los tejidos, se puede verificar diferentes tipos de interacciones, fotoquímica, fototérmica, fotomecánica y fotoeléctrica. Todas estas interacciones, se producen en un rango de fluencia de 1J/cm² y 1000 J/cm².¹⁰

Para que la luz de baja potencia tenga efecto en un sistema biológico vivo, los fotones deben ser absorbidos por fotorreceptores moleculares que se denominan cromóforos (efecto fotoquímico). Esos cromóforos pueden ser de tipo endógeno o aportados por el operador a través de colorantes, con el objetivo de determinar reacciones biológicas de uso diagnóstico o terapéutico (sustancias foto sensibilizantes). Una vez que la energía fotónica es absorbida por los cromóforos, puede intervenir físicamente en 3 niveles; macromolecular, molecular y atómico. El espectro clínico utilizado en odontología tiene su principal interacción energética a nivel macromolecular. ¹²

La foto excitación induce cambios en la actividad del CCO (Citocromo C Oxidasa), la principal molécula foto aceptora, que se localiza en las mitocondrias. Este evento a su vez puede causar aumento en el gradiente de protones electroquímicos que conducen a un aumento de la síntesis de ATP y otros cambios REDOX. Esta cadena de amplificación de la foto señal, conduce a un aumento de la proliferación celular. ¹³

6.3 Terapia con láser de baja intensidad (LLLT)

Los dispositivos láser generan radiación electromagnética controlada en relación con su longitud de onda, fase y polarización, lo que permite la terapia láser de baja intensidad (LLLT). Esta modalidad de terapia láser involucra la aplicación de luz a un sistema biológico, induciendo reacciones fotoquímicas que dan como resultado la modulación de diferentes procesos celulares, como promover la regeneración de tejidos, reducir la inflamación y aliviar el dolor. ²

La LLLT comprende la utilización de un haz de rayos rojo o infrarrojo cercano con una longitud de onda que oscila entre 600-1100 nm y una potencia de salida de 0.5 a 1 Watts (W). Este tipo de radiación es una onda continua o pulsada que consiste en un haz constante de densidad de energía relativamente baja (0.04–50 J / cm²). La LLLT transmite energía a niveles bajos y, por lo tanto, no emite calor, sonido ni vibraciones. ¹⁴ La aplicación de la terapia láser en odontología se basa en el conocimiento de una serie de procesos físicos y biológicos, que dependen de diversos factores. En función de la longitud de onda del láser y donde se aplique, se podrán producir diferentes fenómenos ópticos: transmisión, reflexión, refracción y absorción. Los fenómenos de absorción

dependen de dos factores, la longitud de onda del láser y las características ópticas del tejido a ser irradiado. ⁷⁻¹⁰⁻¹⁵

Es importante recordar las leyes físicas, donde la energía generada nunca se pierde, sino que se transforma. Llevado a la práctica y teniendo en cuenta lo mencionado, la dirección de aplicación del rayo en relación con el tejido receptor determinará la energía entregada.

6.4- Bases biológicas de la Regeneración Ósea

El tejido óseo puede definirse como un tipo de tejido conjuntivo cuya especialización es la función de soporte. Se origina en el tejido mesenquimal y está conformado por células y sustancia intercelular que contienen grandes cantidades de fibras de colágeno. La característica principal de este tipo de sustancia intercelular es su contenido mineral, que le proporciona resistencia para ejercer presión, tracción y torsión.

Esta matriz está formada por materia orgánica (fibras de colágeno tipo 1, proteoglicanos y glicoproteínas) y materia inorgánica (conformada por sustancias diseñadas para resistir deformación y compresión). La asociación de Hidroxiapatita con fibras de colágeno es responsable de la dureza del tejido. ⁴

La acción del modelado y remodelado alveolar, es evidenciado en la literatura a partir de la pérdida de altura y ancho en los primeros 6 meses posteriores a la exodoncia. Estos cambios ocurren en un rango entre 11 y 22 % en sentido vertical a los 6 meses post exodoncia, mientras que en sentido horizontal alcanzan un 32% a los 3 meses, y pueden llegar a 63% a los 6 meses post extracción.¹⁶ Esta remodelación natural del tejido necesita de tres componentes que deben estar presentes: las células, las señales y la matriz (o andamiaje). ¹⁷

- Las células, constituidas por células madre y unidades celulares formadoras de colonias en sus etapas incipientes, hasta llegar a las células pre osteoblásticas.
- Las señales tienen que ver con los factores de crecimiento y diferenciación como las prostaglandinas (PDGFs) y múltiples formas de factor de crecimiento transformante, entre los que se incluyen las proteínas morfogenéticas (BMPs). Estos factores de crecimiento actúan estimulando los receptores de membrana celular externos.

- La matriz es una red biológica de colágeno y moléculas de adhesión celular (andamiaje), sobre el cual crece el tejido y sobre el que migran las células. ¹⁷

Para intentar minimizar o prevenir la reabsorción ósea posterior a la exodoncia y preservar la integridad de la cresta, se han implementado diversas técnicas y materiales. Entre ellas, encontramos la ROG como tratamiento de elección, tiene por objetivo lograr la formación de tejido óseo mediante el uso de membranas de barrera. Es por esto por lo que se considera un tratamiento con finalidad terapéutica para la regeneración de defectos óseos localizados. ¹⁶

La regeneración ósea requiere de la migración de células pluripotenciales y osteogénicas al sitio del defecto óseo, y la exclusión de células que impiden la formación del tejido óseo (por ejemplo, células epiteliales y fibroblastos). Para lograr la regeneración de un defecto óseo, la tasa de osteogénesis desde los márgenes óseos adyacentes debe exceder la tasa de fibrogénesis que crece desde el tejido blando circundante. La técnica debe cumplir cuatro principios: exclusión del epitelio y el tejido conectivo, mantenimiento del espacio, estabilidad del coágulo de fibrina y cierre primario de la herida. El proceso de regeneración ósea sucede en dos fases; la formación de tejido reticular inmaduro, seguido por la remodelación y la maduración. Dentro de las primeras 24 horas, el espacio creado por la barrera y el material del injerto se llena con el coágulo de sangre que libera factores de crecimiento y citocinas, para atraer neutrófilos y macrófagos. A través de estos vasos sanguíneos, los nutrientes y las células madre mesenquimales capaces de diferenciación osteogénica pueden transportarse y contribuir a la formación de osteoides. ¹⁻⁴⁻¹⁸⁻¹⁹ El hueso inmaduro posteriormente es sustituido por hueso lamelar altamente organizado. Esta formación ósea primaria se produce 3-4 meses después del proceso de remodelación de hasta 12 meses; el tiempo varía en función del defecto. Albrektsson en 2001, mediante estudios in vivo sobre conducción y remodelado, concluyó que la vascularización completa es necesaria para la formación ósea. ²⁰

La regeneración ósea se puede lograr a través de tres mecanismos diferentes: osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción.

- La osteogénesis implica la formación y el desarrollo de tejido óseo, incluso en ausencia de células madre mesenquimales locales no diferenciadas.

- La osteoinducción comprende la transformación de células madre mesenquimales indiferenciadas en osteoblastos o condroblastos, a través de factores de crecimiento que solo existen en los huesos vivos. Alberkthson, lo define como el proceso por el cual se induce la osteogénesis. Con el estímulo correcto (agente inductivo), una célula mesenquimatosa indiferenciada puede transformarse en un pre-osteoblasto. Las proteínas morfogenéticas ósea, son los únicos agentes inductivos conocidos, y son liberadas naturalmente en respuesta a traumas o durante la remodelación ósea. Por otra parte, los estímulos físicos como el estrés influyen en la inducción ósea. Este proceso comienza inmediatamente después de la lesión y es muy activo durante la primera semana.
- La osteoconducción es el proceso que proporciona un andamio Bioinerte o matriz física adecuada para la deposición de tejido, estimulando a las células mesenquimales diferenciadas a crecer a lo largo de la superficie del injerto. La osteoconducción depende en gran medida de la osteoinducción previa.

Todos los materiales de injerto tienen uno o más de estos tres mecanismos de acción. Los mecanismos por los cuales actúan los injertos normalmente están determinados por su origen y composición. El hueso autógeno actúa por osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción. Los aloinjertos tienen propiedades osteoconductoras y posiblemente osteoinductoras, pero no son osteogénicas y los xenoinjertos son solo osteoconductores.¹⁸

Independientemente del origen o del método de producción, el material de injerto óseo debe cumplir determinadas exigencias y disponer de ciertas características. La geometría debe favorecer la invasión de vasos sanguíneos, la cual es esencial para la formación de hueso dentro del material. La macro porosidad determina la revascularización de los materiales de injerto que suele producirse entre partículas.

Los xenoinjertos, son biomateriales desarrollados a partir de la ingeniería de tejidos con excelentes propiedades osteoconductoras, y la evidencia científica respalda su amplia utilización en procedimientos reconstructivos complejos.

Los xenoinjertos están compuestos por un mineral óseo de animal o de materiales derivados de corales o algas calcificantes, de los que se ha retirado el componente orgánico. El hueso esponjoso bovino se ha utilizado como fuente para estos materiales de sustitución óseos, debido a su semejanza con el tejido óseo esponjoso humano. Los huesos minerales bovinos desnaturalizados suelen ser biocompatibles y

osteoconductores; es por ello por lo que han demostrado ser una alternativa exitosa a los autoinjertos.¹⁷

A pesar del éxito del uso de biomateriales en el proceso de reparación ósea, varios estudios evaluaron diferentes tipos de tratamiento dirigidos a mejorar los resultados cualitativa y cuantitativamente. Por ello el uso de energía amplificada por emisión estimulada de radiación, asociada a biomateriales se ha aplicado en varias investigaciones.²¹

6.5 Mecanismos moleculares de la Fotobiomodulación en el tejido óseo

La **fotobiomodulación es la acción en la cual son promovidos eventos bioquímicos y celulares** (a través de la transferencia de energía), que tienen como fin el restablecimiento de las condiciones de salud del órgano objetivo; forma parte de las denominadas interacciones fotoquímicas, capaces de alterar o estimular el metabolismo celular. El mecanismo de acción detrás del término fotobiomodulación (PBM), adoptado por NAALT (North American Association for Photobiomodulation Therapy) en 2003, implica la acción de moléculas (foto receptores cromóforos), capaces de interactuar con las longitudes de onda específica que dan origen a la cascada de eventos que generan la acción biomoduladora.¹²⁻²²⁻²³

El mecanismo de acción de la PBM se atribuye a la activación de los componentes de la cadena respiratoria de las mitocondrias, que resulta en la iniciación de la cascada de reacciones celulares. Estos efectos foto físicos cambian el comportamiento intracelular, influyendo en la cadena respiratoria, generando aumento del ATP en la membrana mitocondrial, que eleva el metabolismo celular, facilitando la angiogénesis y la síntesis de colágeno; promoviendo a su vez la liberación de varios factores de crecimiento implicados en la formación celular, la cicatrización de heridas y analgesia.¹⁵

La fotobiomodulación in vitro, depende de parámetros relacionados con el láser como ser longitud de onda, potencia, tiempo de irradiación, tipo de célula irradiada y características fisiológicas de la célula en el momento de la irradiación. Como consecuencia de estos factores, la interacción de la luz láser con las células puede estimular o inhibir la proliferación celular.²⁴ El tejido tiene la necesidad de disponer de energía suficiente para poder realizar los mecanismos reparadores, energía que es suministrada por los procesos de respiración celular. La LLLT activa este complejo

mitocondrial favoreciendo las actividades reparadoras de la célula. El objetivo de su aplicación es acelerar la regeneración tisular y cicatrización de heridas disminuyendo la inflamación y el dolor. ³

La radiación óptica no ionizante en el rango espectral visible e infrarrojo cercano es absorbida por los cromógenos endógenos para provocar eventos fotoquímicos en varias escalas biológicas sin provocar daño térmico. Involucra el uso de formas no ionizantes, incluidos láser, diodos emisores de luz y luz de banda ancha, para causar cambios fisiológicos y beneficios terapéuticos. ²⁵

Para que la luz visible de baja intensidad tenga algún efecto sobre un sistema biológico vivo, los fotones deben ser absorbidos por un cromóforo molecular o foto aceptor. El citocromo c oxidasa (CCO) es el fotorreceptor primario para el rango rojo-infrarrojo. Es una proteína de membrana terminal de la cadena de transporte de electrones y juega un papel vital en la bioingeniería de la célula. ¹⁴⁻²⁶

La energía suministrada se acumula en el cromóforo que la absorbe, la cual modifica su estado electrónico, llevándolo a mayor nivel energético. Estos cambios de estado de energía de la molécula objetivo representan los efectos primarios de la radiación láser en el tejido, y se caracterizan por un aumento de energía a causa de los cromóforos, que son catalizadores de reacciones bioquímicas o celulares. La activación de estas sustancias da origen a los efectos secundarios, que consisten en estimulación celular que formará parte de la base de los procesos reparadores.

Al proceso de producción de Adenosín Trifosfato (ATP), se llama respiración celular, fosforilación oxidativa o cadena transportadora de electrones, y se encuentra en la mitocondria, que es el sitio generador de energía de la célula. Las *mitocondrias* son organelos intracelulares cuya función principal es generar ATP, que es la fuente principal de energía celular. Juegan un papel importante en la regulación del estrés oxidativo, el metabolismo del calcio, la apoptosis y una serie de vías de señalización. Las mitocondrias son los sitios iniciales de absorción y la enzima CCO es el fotorreceptor (unidad IV en la cadena respiratoria mitocondrial). ²⁶ imagen 3

Ésta a su vez es inhibida por el ON; la LLLT disocia la unión entre el ON y la CCO, permitiendo que se reanude la producción de ATP, y así iniciar la cascada de señalización celular.

Por otra parte, los canales iónicos sensibles a la luz pueden activarse permitiendo que el calcio (Ca^{2+}) ingrese a la célula. Después de los eventos iniciales de absorción de

fotones, se activan numerosas vías de señalización a través de especies reactivas de oxígeno, AMP cíclico, ON y Ca^{2+} , lo que conduce a la activación de los factores de transcripción. Estos factores de transcripción pueden conducir a una mayor expresión de genes relacionados con la síntesis de proteínas, la migración y proliferación celular, la señalización antiinflamatoria y las enzimas antioxidantes. Las células madre y las células progenitoras parecen ser particularmente susceptibles a LLLT. La fotobiomodulación, estimula la proliferación y diferenciación de osteoblastos in vivo e in vitro, lo que lleva a una mayor formación de tejido óseo, acompañada de un aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina y en la expresión de osteocalcina. Esto indica que la LLLT puede estimular directamente la formación de tejido óseo. ²⁷⁻²⁸

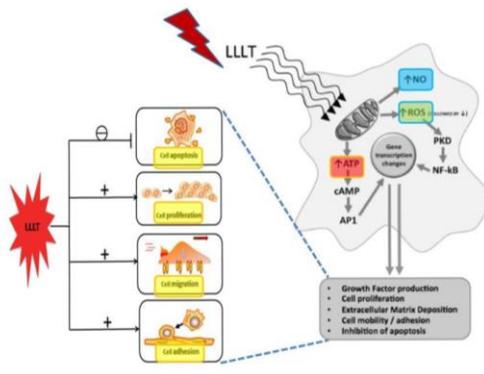


Imagen 3: Tomada de Carroll 2014, desarrollo de la terapia de baja potencia

La absorción de fotones da como resultado una cascada de reacciones conocidas como vías de señalización celular; lo que lleva a la disociación de ON, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el aumento de la síntesis de ATP. El número de mitocondrias en las células varía y está correlacionado con los requisitos metabólicos. Células como los osteoblastos, los queratinocitos y los fibroblastos tienen un número menor de mitocondrias, mientras que las células musculares, las células neurales, las células que componen los órganos internos y las células miocárdicas presentan mayor cantidad de mitocondrias. ²⁹

El monóxido de carbono y en mayor grado el ON, pueden bloquear la respiración mediante su unión a la enzima CCO, obstaculizando la unión con el oxígeno. La luz roja e infrarroja liberan a la enzima CCO de estos compuestos, permitiendo que el oxígeno se una y se dé la respiración celular adecuadamente, desencadenando la reparación. ³⁰

Luego de la aplicación de LLLT, se observa la disociación de la molécula de ON de la molécula de CCO; es por esto considerado un regulador fisiológico, permitiendo la reorganización de los efectos de señalización.³¹

Pequeños cambios en el nivel de ATP pueden alterar significativamente el metabolismo celular; el ATP no solo es una molécula de energía, sino que también es una molécula de señalización crítica que permite la comunicación intercelular.¹⁴

Es probable que las células o tejidos hipóxicos o dañados, respondan más al LLLT debido a la inhibición de ON. Los efectos de LLLT pueden seguir funcionando durante algún tiempo (horas o días) después de la aplicación, porque el ON desplazado no puede volver fácilmente a inhibir el CCO. La liberación de ON de las mitocondrias es uno de los principales factores que conducen al aumento de la angiogénesis.³²

Estudios in vitro sobre células óseas sugieren que la LLLT puede estimular la proliferación y diferenciación celular especialmente en células inmaduras, pudiendo ser una herramienta interesante para la terapia regenerativa e ingeniería tisular. Cuanto mayor proliferación de células tronco-mesenquimales mayor es la capacidad regenerativa y cicatrización de los tejidos.³³⁻³⁴

No hay consenso en los parámetros y protocolos para la LLLT. Algunos grupos han recomendado el uso de una densidad de potencia de más de 100 mW/cm^2 y una densidad de energía de 4 a 10 J/cm^2 a nivel del tejido objetivo. Otros recomiendan hasta 50 J/cm^2 en la superficie del tejido. La amplia gama de parámetros que se pueden aplicar en algunos casos ha dado resultados contradictorios.³⁵

Las teorías actuales sugieren que las reservas de ATP dentro de la célula comienzan a agotarse por dosis excesivas. La producción de especies reactivas de oxígeno excesivas, pueden ser tóxicas y dañar las células; el metabolismo celular disminuye y la función se inhibe. Concepto, representado por la ley Arndt-Schultz de respuesta a la dosis bifásica. Sin embargo, el rango apropiado de valores de fluencia e irradiancia en los que ocurren estas transiciones no está ampliamente acordado.³⁶

El protocolo aceptado, por algunos estudios sugieren que la bioestimulación ocurrirá en el rango de 0.5 a 1 J/cm^2 en una herida abierta y en el rango de 2 a 4 J/cm^2 si el objetivo se encuentra a través de la superposición de la piel. Sin embargo, otros estudios

sugieren que las dosis utilizadas para objetivos superficiales tienden a estar en la región de $4\text{J}/\text{cm}^2$ con un rango de 1 a $10\text{J}/\text{cm}^2$. Las dosis para objetivos asentados más profundos deben estar en el rango de 10 a $50\text{J}/\text{cm}^2$.

Las proteínas no colágenas que se encuentran en la matriz orgánica de tejido óseo como ser la osteoclastina, osteoproteína, y osteonectina, se usan comúnmente como marcadores de mineralización a través de microscopía e inmunohistoquímica; estudios en animales como Stella en 2015 y Hoseinepur en 2019, revelan los cambios a nivel de las principales proteínas de esta matriz, que están asociadas con la formación de este tejido frente a la aplicación de LLLT teniendo un efecto en todas las etapas del proceso de reparación, tanto acortando las fases como aumentando la expresión de éstos marcadores.³⁷⁻²⁷

Es posible que la fotobioestimulación a nivel del tejido óseo, sea consecuencia de un aumento en la liberación del factor de crecimiento de fibroblastos, que se encuentra en el tejido. Algunos autores, han señalado que la LLLT puede acelerar la formación ósea al aumentar la actividad osteoblástica, la vascularización y la organización de las fibras de colágeno, generando redes trabeculares más densas.³⁸⁻³⁹⁻⁴⁰⁻⁴¹

Dado que existe una amplia variación en el método de estudios que evalúan la eficacia de la LLLT en la cicatrización ósea, es difícil comparar los resultados.³³

Pinheiro en 2003, evaluó el efecto histológico de la PBM en la reparación de defectos utilizando una dosis por punto de $4\text{J}/\text{cm}^2$, una dosis por sesión de $16\text{J}/\text{cm}^2$ y una dosis de tratamiento de $112\text{J}/\text{cm}^2$; obteniendo como resultado un efecto más evidente si el tratamiento se lleva a cabo en las primeras etapas, (en presencia de una alta proliferación celular). Los resultados sugieren que la LLLT acelera la cicatrización ósea en los primeros períodos después de la cirugía.³⁸ Si bien la LLLT presentó un efecto bioestimulante local positivo en la etapa temprana de cicatrización ósea, el efecto no se observó a distancia del área evaluada.⁴² Si bien la dosis entregada tiene un efecto sobre la viabilidad y la proliferación de osteoblastos, este es transitorio (48 hs).⁴³⁻⁴⁴

Jawad en 2013, analizó el efecto de diferentes dosimetrías, intentando establecer parámetros óptimos para la LLLT aplicadas a la proliferación y diferenciación de células osteoblásticas fetales humanas. El resultado sugiere que el uso de la LLLT puede desempeñar un papel importante en la estimulación de estas células para mejorar la formación ósea, particularmente cuando la potencia no excede los 200mW y se usa en un tiempo de exposición de 6 min para la LLLT de 940nm.⁴²

Huertas en 2014, analizó los efectos de la LLLT en el crecimiento de osteoblastos humanos in vitro, utilizando un láser de diodo de una longitud de onda de 940 nm, con una potencia de 0.5–2 W e intensidades de 1–5 J/cm². La irradiación con el láser de diodo ajustado a una intensidad de 1,5 W / cm² y una fluencia de 3 J /cm² mostró el mayor efecto sobre la proliferación celular, con un aumento mayor de 30% en comparación con el cultivo de control. La irradiación a la misma intensidad y fluencias de 4 y 5 J/cm² produjeron incrementos similares en el crecimiento celular. ⁴⁵

Romao en 2015, a través de un ensayo clínico controlado; Hamad en 2015, a través de un examen histológico; Kulkarni en 2019. y Noba en 2017, mediante revisión sistemática afirman una mejora potencial en la reparación ósea cuando se utiliza PBM en alvéolos post exodoncia. El análisis tomográfico e histomorfométrico evidenció que el volumen óseo formado fue significativamente mayor y con una conformación trabecular más densa representada por trabéculas más cercanas. La evidencia sugiere un aumento en la expresión de los marcadores de osteogénesis, además de nuevos vasos sanguíneos y tejido de granulación más fibroso. ⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸⁻⁴⁹

Freitas en el 2000, evidencia una maduración acelerada del nuevo tejido óseo, mayor cantidad de deposición de matriz y un tejido conectivo altamente vascularizado. Los alvéolos mostraron una infiltración masiva de osteoblastos y una gran cantidad de vasos sanguíneos nuevos a los 7 y 14 días después de la extracción, lo que indica que la terapia estimuló la diferenciación de osteoblastos y células endoteliales.

Las microscopías de luz y electrónicas revelaron que el tratamiento con láser en lesiones creadas, con dosis de 31.5 y 94.7 J cm² resultó en la formación de trabéculas óseas más gruesas, lo que indica una mayor síntesis de fibras de colágeno y, por lo tanto, la actividad osteoblástica se incrementó. ⁵⁰

Se puede inferir la relación entre la LLLT con la angiogénesis y con el incremento en la migración de osteoblastos y el aumento de su actividad.

Es importante tener en cuenta que la frecuencia de aplicación y las combinaciones específicas de los parámetros de la LLLT pueden influir en los resultados. Las células osteogénicas responden de manera diferente a combinaciones específicas de longitudes de onda y dosis. ⁵¹

En 2017, Ryo y Kunimatsu mediante estudios similares en animales evaluaron los efectos de la irradiación con láser de diodo infrarrojo cercano de alta frecuencia (910 nm) a diferentes dosis, sobre la proliferación y migración de células osteoblásticas. La irradiación con láser a una dosis de 2,85 J / cm² indujo a las células mesenquimales a migrar más rápidamente que las células de control no irradiadas, y la aplicación de una dosis de 17.1 J / cm² produjo una ligera disminución en la síntesis de ADN, la proliferación y la síntesis de ATP. ⁵²⁻⁵³

Para Freitas en 2018, una sola sesión fue efectiva para acelerar la reparación ósea, observando tejido conectivo con fibras de colágeno bien organizadas, así como una mayor formación de tejido óseo. Esto indica que la terapia aceleró el proceso de reparación, corroborando resultados de estudios previos. Este resultado podría explicarse debido al aumento de los niveles de ATP, que aumentan la actividad osteoblástica, estimula la angiogénesis, reduce la actividad osteoclástica promueve la organización de las fibras de colágeno, proporciona proliferación de las células epiteliales y fibroblastos con mejora en la síntesis de colágeno. ⁵⁴

Brasolatti en 2018 mediante revisión sistemática, evaluó los protocolos vigentes para la PBM en el tratamiento de defectos óseos críticos en animales. Al evaluar los parámetros de forma aislada consideraron que la elección de la longitud de onda es principalmente el más relevante porque está directamente relacionado con el tipo y profundidad de la lesión a ser tratada. Si bien el tratamiento podría intensificar el proceso de diferenciación ósea y proliferación, no solo la elección de los parámetros de PBM son importantes para lograr los efectos deseados, sino también la magnitud del defecto a tratar, porque la cantidad de sesiones está directamente relacionada con la cantidad de estimulación entregada al tejido y esto influye directamente en el resultado final. Las longitudes de onda de 808 nm son las más prometedoras para la estimulación de osteoblastos, por lo tanto, es difícil establecer los efectos reales de la LLLT en la longitud de onda que comprende el rojo, porque aún no hay consenso sobre la capacidad fotobiomoduladora, planteando dudas sobre su aporte. Debido a esto es posible sugerir que la PBM en la longitud de onda en el rango infrarrojo es más efectivo para la reparación ósea. ⁵⁵

6.6 Fotobiomodulación y regeneración ósea

La vascularización es un componente clave de la regeneración ósea; por lo tanto, encontrar terapias alternativas que puedan mejorar la angiogénesis reviste un gran interés. En este sentido la PBM puede generar un aumento no invasivo de la neovascularización en diversos tejidos; la PBM puede regular numerosos factores osteogénicos, factores angiogénicos, factores de crecimiento y mediadores de la inflamación que facilitan la formación ósea.²⁷⁻⁵⁶⁻⁵⁷

Soares en 2013, sugiere que el uso de la LLLT es eficaz incrementando la formación de tejido óseo tanto en autoinjertos como en xenoinjertos. La neoformación es cualitativa y cuantitativamente mayor; utilizando parámetros de 780 nm, 70 mW, 21,5 J/cm², cada 48 hs durante 12 días. Evidenció un efecto positivo en la diferenciación de células mesenquimales en osteoblastos y aumento de la deposición de la matriz siendo un factor clave para acelerar la regeneración ósea. Probablemente esto resulta de la estimulación de la vascularización desde la periferia del injerto.²¹⁻⁵⁸

Escudero , analiza la literatura científica publicada hasta el 2018 con respecto a la PBM en el proceso de reparación de defectos óseos, asociando el incremento de los procesos de regeneración vinculados con la mayor deposición de hidroxiapatita y colágeno en la matriz osteoide, mejorando de esta manera las propiedades biomecánicas del tejido óseo y favoreciendo la proliferación vascular. El uso de biomateriales combinados con terapia de fotobiomodulación potencian sus efectos.¹⁵

Los hallazgos histológicos realizados por Gerbi en 2018, revelaron un aumento en la formación ósea y la cantidad de fibras de colágeno alrededor del injerto dentro de la cavidad a 15 días de la cirugía. Se evidenció un incremento en la deposición de fibras de colágeno, así como una mayor cantidad de trabéculas óseas bien organizadas en las áreas irradiadas al combinar la LLLT, proteínas morfogenéticas óseas y xenoinjerto.⁵⁹

El efecto de la LLLT en la regeneración ósea depende no solo de la dosis de irradiación total, sino también del tiempo de irradiación y el modo de irradiación

El tratamiento intraoperatorio, demostró un remodelado óseo cualitativo y cuantitativamente superior. El uso combinado en tratamientos de regeneración de proteínas morfogenéticas con xenoinjertos mejora la reparación ósea cualitativamente. Los resultados revelaron un aumento significativo en la cantidad de fibras de colágeno, estimulación de la maduración y secreción de la matriz ósea, encontrando una

disposición laminar compacta asociada con un aumento de la vascularización y al inicio temprano de la respuesta inflamatoria. ³⁷⁻³⁸⁻⁶⁰

La aplicación múltiple en diferentes puntos alrededor del defecto mejora los resultados.⁵⁷ Es de suponer que la presencia de las partículas de xenoinjerto, implantes o membranas de barrera, podrían dificultar la penetración de la luz en los tejidos. En análisis histomorfométrico en animales, se confirma el efecto positivo de la LLLT en el proceso de formación ósea, pero se evidencia que no es capaz de acelerar la reabsorción de partículas de este material. ⁶¹

El efecto biomodulador en la cicatrización de los defectos óseos, se expresó mayormente cuando se realizó la LLLT en el lecho quirúrgico intra operatoriamente, antes de la colocación del injerto óseo, lográndose mejores resultados cuando la irradiación se lleva a cabo en los bordes de la herida. ⁵³

Gerbi en 2018, evaluó con análisis histológicos e histomorfométrico el efecto de la PBM en la reparación de defectos quirúrgicos creados, tratadas con proteínas morfogenéticas y xenoinjerto. La terapia consistió en 16 J por sesión divididos en 4 puntos (4 J /cm²) alrededor del defecto. Los resultados mostraron evidencia histológica de una mayor deposición de fibras de colágeno, así como una mayor cantidad de trabéculas óseas bien organizadas, de calidad y cantidad significativamente más altas al final de los 30 días. ⁵⁰⁻⁵³ Barbos en 2003, en estudio similar con xenoinjerto y asociada a membrana ósea cortical bovina descalcificada, utilizando misma dosis y alineadas con varios informes anteriores, sugieren efectos positivos tanto en tejido óseo como en los tejidos blandos. Los resultados mostraron evidencia de una reparación más avanzada, caracterizada por una densa deposición de fibras de colágeno alrededor de las partículas y el aumento de la formación de tejido óseo. ⁶¹⁻⁶²⁻⁶³

Jakse en 2017, demostró mediante estudio en animales, que la LLLT no es efectiva en la regeneración ósea después de un procedimiento de elevación sinusal por ventana lateral; la contradicción puede estar asociada a una irradiancia inadecuada (menos de 4 J / cm²) de la mano de la aplicación en un defecto en profundidad.⁶⁴

El espectro infrarrojo es el más utilizado en procesos reconstructivos ya que muestra mayor penetración en los tejidos, alcanzando los 2 mm de profundidad; en espesores mayores la pérdida de energía es muy pequeña (162mW/cm²). ⁶⁵

Dortbudack en 2000, AlGhamdi en 2012, Amid en 2014, y Rosso en 2019, a través de revisiones sistemáticas, evaluaron el uso de la LLLT para mejorar la proliferación de varias líneas celulares cultivadas, incluidas las células madre. Estas sugieren que un valor de densidad de energía de 0.5 a 4.0 J / cm² y un espectro visible de 600 a 700 nm, mejora la proliferación, aumentando el número de células, la síntesis de ADN y ARN y la producción de colágeno, y además puede iniciar la mitosis en células cultivadas. La mayoría de los estudios concordaron en que PBM tuvo efectos positivos en el tejido óseo y se considera una herramienta útil en los tratamientos regenerativos. ⁶⁶⁻⁶⁷⁻⁶⁸⁻⁶⁹

Por el contrario, Fekrazad en 2015 evaluó la sinergia entre la terapia láser de baja potencia y las células madre mesenquimales en la regeneración ósea, evidenciando en condiciones experimentales durante un período de tres semanas un efecto cualitativamente significativo frente al uso de la LLLT; sin embargo la combinación con células madre mesenquimales no resultó en una diferencia significativa. ⁷⁰

Luca en 2020 a través de un estudio demostrativo evaluó la PBM en el proceso de regeneración utilizando xenoinjertos y membrana de barrera de colágeno, en diferentes períodos de cicatrización. Evidenció que la PBM proporciona beneficios en la cicatrización, comparado con el solo hecho de recibir el biomaterial; sin embargo, su efectividad se constató en las primeras etapas del tratamiento (primeros 14 días posteriores a la cirugía) y cuando la terapia se aplica intra operatoriamente, directamente en el defecto óseo, antes del procedimiento de injerto. Constató mayor vascularización, mayor actividad osteoblástica, mejor organización de fibras de colágeno y cambios en los niveles mitocondriales e intracelulares de ATP. ⁷¹

7- DISCUSIÓN

La evaluación de la literatura que describe las aplicaciones clínicas de la PBM en la oseointegración de biomateriales y reparación ósea es compleja por las amplias variaciones en la metodología y la dosimetría entre los diferentes estudios. La variación en el rango de diferentes longitudes de onda, los tiempos de exposición y la frecuencia de los tratamientos, genera controversia en su aplicación. ⁶³

Acercar la remodelación es un desafío para el campo de la ingeniería de tejidos. Varios estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que la PBM tiene un efecto estimulante en la formación ósea.

Son varios los informes de revisiones sistemáticas que dan cuenta del incremento en la proliferación y diferenciación celular, así como de la deposición de fibras de colágeno incrementada y una configuración trabecular más densa.

Los mecanismos subyacentes a la estimulación de la cicatrización ósea pueden ser multifactoriales e incluyen: promoción de la angiogénesis, producción de colágeno, proliferación y diferenciación celular osteogénica. ²⁷⁻⁴⁷⁻⁶⁶⁻⁶⁷

Aunque los estudios informan el comienzo del tratamiento inmediatamente después del procedimiento quirúrgico, no hay consenso sobre el protocolo de aplicación. Los estudios apuntan a una sola aplicación, hasta 21 días de tratamiento, donde varía la dosimetría. ⁴⁹

Esta falta de consonancia tanto en los parámetros utilizados, como en el número y la duración de las sesiones hace que sea difícil estandarizar un protocolo para la regeneración ósea.

Hay acuerdo entre los diferentes estudios en que la intensidad del efecto de la PBM depende del estado fisiológico de la célula, ya que el efecto estimulante parece ser máximo durante la fase inicial de proliferación y diferenciación de las células indiferenciadas, en comparación con las etapas más avanzadas de cicatrización. ⁵⁹

Este hecho sugiere que el uso de la LLLT podría incluirse como protocolo de apoyo en casos de regeneración con la finalidad de una mejora cualitativa a nivel de la formación ósea. ⁵⁻⁴⁶

En las heridas, se crean condiciones que impiden el crecimiento celular, como ser la baja concentración de oxígeno o la variación en el pH. Si la regeneración ósea con xenoinjertos depende en gran medida del suministro sanguíneo suficiente, al aumentar éste podríamos suponer que la migración, diferenciación y proliferación celular se incrementarían al igual que la mayor deposición de fibras y posterior maduración ósea.

8- CONCLUSIONES

El uso de la terapia láser de baja intensidad para la modulación de la reparación ósea como herramienta de bioingeniería tisular, ha dado lugar a varios estudios in vivo e in vitro para encontrar formas de promover un período posoperatorio menos marcado, una cicatrización más rápida y una mejor calidad del tejido neoformado.

Se ha sugerido que la terapia con láser involucra la posibilidad de alterar el metabolismo celular, lo que resulta en un aumento de las funciones, especialmente en tejidos lesionados que conducen a la recuperación o reparación de estos. Este cambio se produce debido a la absorción de los fotones en la membrana interna de las mitocondrias, aumentando la producción de ATP y, en consecuencia, la funcionalidad celular.

La LLLT, es un recurso prometedor para estimular positivamente el tejido óseo tanto in vivo como in vitro. Tratado con longitudes de onda infrarroja muestra un aumento en la proliferación osteoblástica, deposición de colágeno y neoformación ósea, en comparación con el tejido no tratado. Se observa un resultado positivo cuando el tratamiento se lleva a cabo en etapas tempranas, promoviendo una alta proliferación celular, lo que supone una disminución en el tiempo de cicatrización, aunque no hay protocolos definidos y el nivel de evidencia aún se considera débil.

Varios estudios han demostrado resultados positivos estimulando la oseointegración de los biomateriales y mejorando el crecimiento óseo y recuperación funcional, en etapas temprana del proceso. Representando una de las modalidades de tratamiento más prometedoras para mejorar la integración de los biomateriales.

De todos modos, son pocos los estudios en humanos que evalúan la asociación de la LLLT con el uso de biomateriales. Los datos recabados en la literatura confirman que puede estimular la osteointegración de biomateriales y mejorar el crecimiento y la recuperación funcional del tejido. Sin embargo, las diferencias en modelos experimentales y la ejecución entre los estudios dificultan la comparación de los resultados y podría explicar la controversia y la falta de definición de parámetros óptimos. La LLLT en la regeneración ósea es un enfoque terapéutico interesante. Se necesitan más estudios para una mejor definición de protocolos efectivos de PBM en el tratamiento con diferentes biomateriales que genere un efecto sinérgico en el proceso de reparación. La importancia de seleccionar los parámetros óptimos, como la longitud de onda, la

fluencia, la densidad de potencia, la estructura del pulso y el tiempo, y la necesaria capacitación del personal para personalizar y medir con precisión los mismos, puede ser la clave en el éxito clínico.

En el análisis cualitativo, la mayoría de los estudios presentaron resultados primarios o secundarios positivos, mostrando que el tratamiento con la LLLT promueve una mejora en la cicatrización; al activar los factores osteogénicos, estimular la angiogénesis, e inducir la proliferación celular.

Se podría inferir que el uso de la LLLT como protocolo de tratamiento de apoyo, en terapias de ROG con xenoinjertos, podría disminuir tiempos biológicos y contribuir a mejorar la calidad ósea.

En la presente revisión, se obtuvieron artículos que nos permiten desarrollar una visión sobre los efectos fotobiomoduladores positivos en el proceso de regeneración ósea; sin embargo, los resultados actuales son prometedores y estimulan a una mayor investigación clínica que estandarice protocolos de uso.

9.REFERENCIAS

1. Weng D., Stock V., Schliephake H. Are socket and ridge preservation techniques at the day of tooth extraction efficient in maintaining the tissues of the alveolar ridge ? Systematic review, consensus statements and recommendations of the 1st consensus conference in september 2010, Aerzen, Germany. Eur J Oral Implantol 2011; 4 (suppl): s59-s66.
2. Farivar S., Malekshahabi T., Shiari R. Biological Effects of Low Level Laser Therapy. Journal of Lasers in Medical Sciences 2014, v5 (2): 58-62
3. Oltra-Arison D, España-Tost AJ, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Aplicaciones del láser de baja potencia en Odontología. RCOE, 2004, Vol 9, (5), 517-524
4. Barone A.; Nannemark U. Bone Biomaterials y Beyond. Ed Amolca 2015.
5. Tani A., Chellini F., Giannelli M., Nosi D., Zecchi-Orlandini S., Sassoli C. Red (635 nm), near-infrared (808 nm) and violet blue (405 nm) photobiomodulation potentiality on human osteoblasts and mesenchymal stromal cells: A morphological and molecular in vitro study. International Journal of Molecular Sciences (2018) 19(7)
6. Kheiri A, Amid R, Kheiri L, Namdari M, Mojahedi M, Kadkhodazadeh M Effect of Low- Level Laser Therapy on Bone Regeneration of Critical-Size Bone Defects: A Systematic Review of In Vivo Studies and Meta-Analysis. Arch Oral Biol. 2020 Sep;117
7. Castellanos J. Láser en odontología: fundamentos físicos y biológicos. Universitas Odontológica, 2016, 35(75), ISSN: 0120-4319 / 2027-3444.
8. Coluzzi D. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. Dent Clin N Am 48 (2004) 751–770.
9. Parker S. Laser-tissue interaction. British Dental Journal. V. 202 N°. 2 JAN 27 2007
10. Convissar R. The biologic rationale for the use of lasers in dentistry .Dent Clin N Am 48 (2004) 771–794
11. Briceño JF, Gaviria DA, Carranza YA. Láser en odontología: fundamentos físicos y biológicos. Univ Odontol. 2016 Jul-Dic; 35(75). <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo35-75.loff>
12. Parker, S., Cronshaw, M., Anagnostaki, E., Bordin-Aykroyd, S. R., & Lynch, E. (2019). *Systematic Review of Delivery Parameters Used in Dental Photobiomodulation Therapy. Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery.* doi:10.1089/photob.2019.4694
13. Passarella S., Karu T. Absorption of monochromatic and narrow band radiation in the visible and near IR by both mitochondrial and non-mitochondrial photoacceptors results in photobiomodulation. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 140 (2014) 344–358
14. AlGhamdi K., Kumar A., Moussa N. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. Lasers Med Sci (2012)

- 27:237–249 Torricelli P. et al. Laser biostimulation of cartilage: in vitro evaluation. *Biomed Pharmacother* 2001 ; 55 : 117-20
15. Escudero J., Benitez M., Oliveira M., Buchaima D., Pomini K., Guissoni L., Audi M., R., Buchaim R. Photobiomodulation therapy (PBMT) in bone repair: A systematic review. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2019.0Caroll9.031>
16. Tan W., Wong T., Wong M., Lang N. A systematic review of post – extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin Oral Impl Res.* 23 (suppl. 5), 2012: 1 – 21.
17. Buser D.; 20 años de regeneración ósea guiada en implantología oral. ED. Quintessense 2012.
18. Liu J., Kerns D. Mechanisms of Guided Bone Regeneration: A Review. *The Open Dentistry Journal*, 2014, 8, (Suppl 1-M3) 56-65
19. Retzepi M., Donos N. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clin. Oral Impl. Res.* 21, 2010 / 567–576
20. Albrektsson T., Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* (2001) 10:S96–S101.
21. Soares L., Barreto E., Magalhães C., Fortes C., Marques A., Pinheiro A. New Bone Formation around Implants Inserted on Autologous and Xenografts Irradiated or not with IR Laser Light: A Histomorphometric Study in Rabbits. *Braz Dent J* 24(3) 2013: 218-223
22. Verma S., Maheshwari S., Singh R., Chaudhari P. Laser in dentistry: An innovative tool in modern dental practice. *National Journal of Maxillofacial Surgery ; Vol 3 , Issue 2, Jul-Dec 2012 : 124*
23. Maggioni M., Attanasio T., Scarpelli F. *Laser en Odontología*. Ed Amolca 2010.
24. Lima P., Pereira C., Nissanka N., Arguello T., Gavinic G., Marandub C., Diaz F., Moraes C. Photobiomodulation enhancement of cell proliferation at 660 nm does not require cytochrome c oxidase. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 194 (2019) 71–75
25. Anders J., Arany P., Baxter D., Lanzafame R. Light-Emitting Diode Therapy and Low-Level Light Therapy Are Photobiomodulation Therapy. *Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery* 2019. DOI: 10.1089/photob.2018.4600
26. Carroll J., Milward M., Cooper P., Hadis M., Palin W. Developments in low level light therapy (LLLTT) for dentistry. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.02.006>
27. Hosseinpour S., Fekrazad R., Arany P., Ye Q. Molecular impacts of Photobiomodulation on bone regeneration: A systematic review. *Prog Biophys Mol Biol.* 2019 Apr 17.
28. Freitas L., Hamblin M. Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, vol. 22, no. 3, may/june 2016.
29. Zein, R. Selting W., Hamblin M. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. *Journal of Biomedical Optics* 23(12), 120901 (December 2018)

30. Pandeshwar P., Roa M., Das R., Shastry S., Kaul R., Srinivasreddy M. Photobiomodulation in oral medicine: a review. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* (2016), 7, 114–126.
31. Karu T. Mitochondrial Mechanisms of Photobiomodulation in Context of New Data About Multiple Roles of ATP. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 28, Number 2, 2010. 159–160.
32. Chen A., Huang y., Arany P., Hambling M. Role of Reactive Oxygen Species in Low Level Light Therapy. doi: 10.1117/12.814890. SPIE 2009.
33. Ebrahimi T., Moslemi N., Rokn A., Heidari M., Nokhbatolfighahaie H., Fekrazad R. The Influence of Low-Intensity Laser Therapy on Bone Healing. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran* (2012; Vol. 9, No. 4)
34. Barboza CA, Ginani F, Soares DM, Henriques AC, Freitas RA. Laser de baixa intensidade induz à proliferação in vitro de células-tronco mesenquimais. *Einstein*. 2014;12(1):75-81.
35. Zein, R. Selting W., Benedicenti S. Effect of Low-Level Laser Therapy on Bone Regeneration During Osseointegration and Bone Graft. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume XX, Number XX, 2017.
36. Huang y., Sharma S., Carroll J., Hamblin M. Biphasic dose response in low level light therapy – an update. DOI: 10.2203/dose-response.11-009.
37. Sella V., Costa do Bomfim F., Machado P., Morsoleto M., Chofi M., Plaper H. Effect of low-level laser therapy on bone repair: a randomized controlled experimental study. *Lasers Med Sci* (2015) 30:1061–1068
38. Pinheiro A., Gerbi M. Photoengineering of Bone Repair Processes. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 24, Number 2, 2006. Pp. 169–178
39. Radmila R. Obradović & Ljiljana G. Kesić & Svetlana Peševska. Influence of low-level laser therapy on biomaterial osseointegration: a mini-review. *Lasers Med Sci* (2009) 24:447–451
40. Pinheiro A., Martinez M., Limeira F., Arruda E., Marques A., Montagn C., De Carneiro R., Chagas P., Nória M., Pedreira L. Bone repair following bone grafting hydroxyapatite guided bone regeneration and infra-red laser photobiomodulation: a histological study in a rodent model. *Lasers Med Sci* (2009) 24:234–240
41. Garavello-Freitas, Baranauskas V., Joazeiro P.P., Padovani C.R, Silva M., Hofling M. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 70 (2003) 81–89
42. Jawad M., Husein A., Azlina A., Alam M., Hassan R., Shaari R. Effect of 940 nm low-level laser therapy on osteogenesis in vitro. *Journal of Biomedical Optics* 18(12), 128001 (December 2013)
43. Bölükbaşı Ateş G., Ak Can A., Gülsoy M. Investigation of photobiomodulation potentiality by 635 and 809 nm lasers on human osteoblasts. *Lasers Med Sci* (2017) 32:591–599.

44. Batista J., Sargenti S., Dechichi P., Rocha F., Pagnoncelli R. Low-level laser therapy on bone repair: is there any effect outside the irradiated field?. *Lasers Med Sci* DOI 10.1007/s10103-015-1752-3
45. Huertas R., Luna E., Ramos J., Medina F., Ruiz C., Effect and Clinical Implications of the Low-Energy Diode Laser on Bone Cell Proliferation. *Biological Research for Nursing* 2014, Vol. 16(2) 191-196
46. Romao A., Marques M., Cortes A., Horliana A., Moreira M., Lascala C. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of human alveolar bone repair induced by laser phototherapy: a pilot study. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2015
47. Hamad S., Naif J., Abdullah M. Effect of Diode Laser on Healing of Tooth Extraction Socket: An Experimental Study in Rabbits. *J. Maxillofac. Oral Surg.* DOI 10.1007/s12663-015-0842-x
48. Kulkarni S., Meer M., George R. Efficacy of photobiomodulation on accelerating bone healing after tooth extraction: a systematic review. *Lasers Med Sci* (2019) 34:685–692
49. Noba C., Mello-Moura A., Gimenez T., Tedesco T., Moura-Netto C. Laser for bone healing after oral surgery: systematic review. *Lasers in Medical Science* doi.org/10.1007/s10103-017-2400-x.
50. Freitas I., Baranauskas V., Cruz-Hofling M. Laser effects on osteogénesis. *Applied Surface Science* 154–155 2000 548–554
51. Santinoni C., Olivera H., Batista V., Lemos C., Verri F. Influence of low-level laser therapy on the healing of human bone maxillofacial defects: A systematic review- *Journal of Photochemistry Photobiology, B. Biology.* 169 (2017) 83-89.
52. Kunimatsu R., Gunji H., Tsuka Y., Yoshimi Y., Awada T., Sumi K., Nakajima K., Kimura A., Hiraki T., Abe T., Naoto H., Yanoshita M., Tanimoto M. Effects of high-frequency near-infrared diode laser irradiation on the proliferation and migration of mouse calvarial osteoblasts. *Lasers in Medical Science* <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2426-0>
53. Ryo K., Hidemi G., Tsuka Y., Yoshimi Y., Tetsuya A., Keisue et al. Effects of high-frequency near-infrared diode laser irradiation on the proliferation and migration of mouse calvarial osteoblasts. *Lasers in Medical Science* . <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2426-0>
54. Freitas N., Guerrini L., Esper L., Sbrana M., Dalben G., Soares S., Almeida A. Evaluation of photobiomodulation therapy associated with guided bone regeneration in critical size defects. In vivo study. *J Appl Oral Sci.* 2018;26: e20170244
55. Brassolatti, P., de Andrade, A.L.M., Bossini, P.S. *et al.* Photobiomodulation on critical bone defects of rat calvaria: a systematic review. *Lasers Med Sci* **33**, 1841–1848 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10103-018-2653-z>
56. Cunha M., Esper L., Sbrana M., Effect of Low-Level Laser on Bone Defects Treated with Bovine or Autogenous Bone Grafts: In Vivo Study in Rat Calvaria.

BioMed Research International Volume 2014, Article ID 104230.
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/104230>

57. Kheiri A., Amid R., Kheiri L., Namdari M., Mojahedi M., Kadkhodazadeh M. Effect of Low- Level Laser Therapy on Bone Regeneration of Critical-Size Bone Defects: A Systematic Review of In Vivo Studies and Meta-Analysis. *Archives of Oral Biology* 117 (2020) 104782
58. Soares L., Marques A., Guarda M., Aciole J., Pinheiro A., Nunes dos Santos J. Repair of Surgical Bone Defects Grafted with Hydroxylapatite + β -TCP and Irradiated with $\lambda=850$ nm LED Light. *Braz Dent J.* 2015 26(1): 19-25.
59. Gerbi M., Miranda J., Almeida J., et al. Photobiomodulation Therapy in Bone Repair Associated with Bone Morphogenetic Proteins and Guided Bone Regeneration: A Histomorphometric Study. *Photomedicine and Laser Surgery* Volume 36, Number 11, 2018
60. Martínez M. , Barbosa A. , Pedreira L. Effect of IR laser photobiomodulation on the repair of bone defects grafted with organic bovine bone. *Photobiomod Lasers Med Sci* (2008) 23:313–317.
61. Bosco A., Faleiros P., Carmona L., García V., Theodoro L., Januario N., Hitomi N., Milanezi J. Effects of low-level laser therapy on bone healing of critical-size defects treated with bovine bone graft. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* Vol 163; 2016: 303-310.
62. Barbos A. et al. Effect of 830-nm Laser Light on the Repair of Bone Defects Grafted with Inorganic Bovine Bone and Decalcified Cortical Osseous Membrane. *Journal of Clinical LaserMedicine & Surgery* Volume 21, (6), 2003 ; 383– 388
63. Ghahroudi A., Rokn A., Kalhori K., Khorsand A., Pournabi A., Fekrazad R. Pinheiro A., Effect of low-level laser therapy irradiation and Bio-Oss graft material on the osteogenesis process in rabbit calvarium defects: a double blind experimental study. *Lasers Med Sci* (2014) 29:925–932.
64. Jakse N., Payer M., Tangl S., Berghold A., Kirmeier R., Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin. Oral Impl. Res.* 18, 2007 / 517–524
65. De Oliveira M., Buchaim D., Torres K., Botteon B., Bertoni C., Galletti J., Duarter G., Leone R. Photobiomodulation Therapy (PBMT) Applied in Bone Reconstructive Surgery Using Bovine Bone Grafts: A Systematic Review. *Materials (Basel).* 2019 Dec; 12(24): 4051.
66. AlGhamdi M., Kumar A., Moussa N. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers Med Sci* (2012) 27:237–249 DOI 10.1007/s10103-011-0885-2
67. Amid R, Kadkhodazadeh M, Ahsaie MG, Hakakzadeh A (2014) Effect of low level laser therapy on proliferation and differentiation of the cells contributing in bone regeneration. *J Lasers Med Sci* 5(4):163–170

68. Dortbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. *Clin Oral Impl Res* 2000; 11: 540–545
69. Rosso M. , Buchaim D., Torres K. , Botteon B. , Bertoni C., Galletti J. , Duarte G. and Leone R. Photobiomodulation Therapy (PBMT) Applied in Bone Reconstructive Surgery Using Bovine Bone Grafts: A Systematic Review. *Materials* 2019, 12, 4051; doi:10.3390/ma12244051
70. Fekrazad R., Ghuchani M. , Eslaminejad M , Taghiyar L., Kalhori K. , Pedram M. , Shayan A. , Aghdami N , Abrahamse N. The effects of combined low level laser therapy and mesenchymal stem cells on bone regeneration in rabbit calvarial defects. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 151 (2015) 180–185
71. Luca RE, Giuliani A, Mănescu A, Heredea R, Hoinoiu B, Constantin GD, Duma VF, Todea CD. Osteogenic Potential of Bovine Bone Graft in Combination with Laser Photobiomodulation: An Ex Vivo Demonstrative Study in Wistar Rats by Cross-Linked Studies Based on Synchrotron Microtomography and Histology. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 25;21(3):778. doi: 10.3390/ijms21030778.