

## بررسی اثر لیزر کم توان به همراه کاربرد DFDBA در ترمیم استخوان خرگوش

دکتر مسعود سیفی\*، دکتر فائزه عطری\*\*، دکتر محمد مسعود یزدانی\*\*\*، دکتر اصغر عبادی فر\*\*\*\*

### چکیده

**سابقه و هدف:** درمان لیزر کم توان در بسیاری از زمینه های پزشکی و دندانپزشکی به کار می رود. از این جمله به درمانهای ضایعات استخوانی می توان اشاره کرد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر لیزر کم توان (GaAlAs) به همراه کاربرد DFDBA در ضایعات استخوانی تیبیای خرگوش است.

**مواد و روشها:** تحقیق به صورت تجربی روی ۱۲ رأس خرگوش نر از نژاد albino با وزن تقریبی ۱/۵ کیلوگرم و سن حدودی ۶ ماه انجام شد. به منظور انجام عمل جراحی، حیوانات با استفاده از داروی ۱۰٪ Ketamin و ۲٪ Xylazine به صورت داخل رگی بی‌هوش شدند. با استفاده از دریل ایمپلنت به قطر ۲/۸ میلی‌متر با ارتفاع ۴mm، در استخوان تیبیا حفره ای ایجاد شده و در آن، DFDBA قرار داده شد. تابش لیزر طبق پروتکل تعیین شده (۱۰ روز تابش، ۱۴ روز استراحت، ۱۰ روز تابش، ۱۴ روز استراحت) در محل ضایعات انجام شد. لیزر مورد استفاده در تحقیق نیز از نوع gallium-aluminum-arsenide (GaAlAs) با طول موج ۸۰۸ نانومتر و انرژی ۶ ژول بر سانتی‌متر مربع به صورت ممتد بوده است. در گروه شاهد، هیچ تابشی صورت نگرفت. پس از ۴۸ روز حیوانات قربانی شدند و از پای خرگوش‌ها برش هیستولوژیک تهیه شده و زیر میکروسکوپ مطالعه شد. تجزیه تحلیل داده ها با Wilcoxon signed rank test انجام شد.

**یافته‌ها:** در بررسی هیستولوژیک، گروه مورد تابش لیزر به طور معنی داری استخوان سازی و رگ سازی بیشتری نسبت به گروه کنترل داشت ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** در شرایط این تحقیق تابش لیزر GaAlAr به همراه استفاده از DFDBA موجب ترمیم بهتر و استئوژنز و انژیوژنز بیشتر در ضایعات پای خرگوش شد.

**کلید واژگان:** لیزر کم توان، ضایعه استخوانی، DFDBA.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۹ تاریخ اصلاح نهایی: \_\_\_\_\_ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۱۱

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۹، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰، ۳۴۶-۳۵۱

### مقدمه

میکرواسترین باعث افزایش شکل‌گیری استخوان و نیروهای بیشتر از ۲۰۰۰ میکرواسترین باعث کاهش شکل‌گیری استخوان می‌گردند. این عوامل همراه با درد و ناراحتی بیمار هنگام استفاده طولانی مدت از آنها می‌باشد (۵-۱). تابش لیزر کم‌توان (low-level laser) یکی از روش‌های جدید مطرح در شکل‌گیری مجدد استخوان است که دارای برخی محاسن نظیر کاهش درد، کاهش التهاب، تحریک ساخت کلاژن و تکثیر یا پرولیفراسیون سلولی می‌باشد (۶). لیزرهای کم‌توان بر فعالیت سلول‌های استخوانی نیز تأثیر گذاشته و افزایش سلول‌های استئوبلاست سطحی و

ترمیم ضایعات استخوانی در اثر اعمال جراحی، بیماری‌های مادرزادی، تروما و کشیدن دندان و... از نگرانی‌های بیماران و پزشکان می‌باشد. عوامل مختلفی بر سرعت ریمادلینگ استخوان و در نتیجه، سرعت حرکت دندان در استخوان آلوئول تأثیرگذار هستند که از جمله آنها می‌توان به عوامل متابولیک نظیر هورمون پاراتورمون و استروژن، نیروی وارده بر استخوان، تزریق داروها، تحریک الکتریکی و کاربرد فراصوت اشاره نمود. هورمون پاراتورمون باعث افزایش سرعت شکل‌گیری استخوان و استروژن باعث کاهش آن می‌گردد. همچنین، نیروهای کمتر از ۱۰۰۰

\*استادگروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

\*\*نویسنده مسئول: دستیار تخصصی گروه پروتزیهای دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

E-mail: faezeh.atri@yahoo.com

\*\*\* دستیار تخصصی گروه جراحی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی.

\*\*\*\* استادیار گروه ارتودنسی، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های دندانی - فکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

بوده، همچنین، محیط زندگی همگی حیوانات یکسان بود (دمای ۲۳ درجه، محیط با روشنایی ۱۲ ساعت تاریک و ۱۲ ساعت روشن به همراه تغذیه یکسان). خرگوش‌ها، همگی خصوصیات یکسانی از نظر رشد کامل و سلامت کامل جسمانی داشتند. به منظور انجام عمل جراحی، حیوانات با استفاده از داروی ۱۰٪ Ketamin و ۲٪ Xylazine به صورت داخل رگی بی‌هوش شدند. با استفاده از دریل ایمپلنت به قطر ۲/۸ میلی‌متر با ارتفاع ۴mm، در استخوان تیبیا حفره ای ایجاد شده و در آن، DFDBA قرار داده شد. برای این منظور، پودر DFDBA ساخت شرکت همانندسان بافت و با نام تجاری CenoBone با حجم یکسانی از سالین مخلوط شده و برای قرار گیری در ضایعه آماده شد. ۶ خرگوش در گروه لیزر، تحت تابش لیزر طبق پروتکل تعیین شده (۱۰ روز تابش، ۱۴ روز استراحت، ۱۰ روز تابش، ۱۴ روز استراحت) در محل ضایعات قرار گرفت. لیزر مورد استفاده در تحقیق نیز از نوع gallium-aluminum- (arsenide (GaAlAs) با طول موج ۸۰۸ نانومتر و انرژی ۶ ژول بر سانتی‌متر مربع به صورت ممتد بوده است. ۶ خرگوش در گروه شاهد، مورد تابشی قرار نگرفت.

بعد از ۴۸ روز، حیوانات پس از بی‌هوشی عمیق با استفاده از کتامین ۱۰٪، به صورت شفقت‌آمیز قربانی شده، پس از جداسازی پاها، نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. نمونه‌ها، سپس، به مدت ۱۰ روز در اسید نیتریک قرار گرفته و دکلسیفیه شدند. پس از پاس دادن نمونه‌ها، آنها به مدت ۲۴ ساعت در درون محلول فرمالین ۱۰٪ غوطه‌ور شدند. سپس، مراحل دهیدراتاسیون با قرارگیری نمونه‌ها در محلول الکل با غلظت‌های افزایشی انجام و برای این منظور، برش‌ها به مدت یک ساعت و نیم در الکل ۷۰٪، یک ساعت و نیم در الکل ۸۰٪، ۲ ساعت و نیم در الکل ۹۶٪ و ۲ ساعت و نیم در الکل ۱۰۰٪ قرار گرفتند. بعد از آن، نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در زایلول و ۸ تا ۱۸ ساعت در پارافین مذاب با دمای ۶۷-۵۶ درجه قرار گرفتند. نمونه‌ها غوطه‌ور شده و بافت‌ها نیز با استفاده از ابزار rotary microtome تحت برش قرار گرفتند. از هر نمونه، برش‌های متعددی به دست آمد. بعد از برش بافت‌ها، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در فور با دمای ۸۰-۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و مراحل رنگ‌آمیزی H&E (هماتوکسیلین ائوزین) انجام شد. در مرحله بعدی، برش‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری Nikon (E-400)

ضخامت استئوئید در ناحیه تابش لیزر نیز گزارش شده است (۳). تابش لیزر، همچنین، فاقد اثرات سوء سیستمیک ناشی از کاربرد مواد شیمیایی به صورت تزریقی یا خوراکی می‌باشد (۷).

لیزرهای متفاوتی در این زمینه شامل هلیوم-نئون (helium-neon) (با طول موج ۶۳۲/۸ نانومتر)، گالیم-آلومینوم-آرسناید (gallium-aluminum-arsenide) (با طول موج  $805 \pm 25$  نانومتر) و گالیم آرسناید (gallium arsenide) (با طول موج ۹۰۴ نانومتر) در دوزها و رژیم‌های درمانی مختلف به کار گرفته شده‌اند (۸، ۹). همچنین، استفاده از لیزر GaAlAs در ۱۰ سال گذشته افزایش چشم‌گیری داشته است. این نوع لیزر، عمق نفوذ بیشتری در مقایسه با سایر لیزرها داشته و در نتیجه، به نظر می‌رسد ابزار مناسبی در دستیابی به ترمیم ضایعات استخوانی باشد (۱۰).

آلوگرافت‌ها، گروهی از مواد پیوندی هستند که کاربردهای فراوانی در بازسازی ضایعات استخوانی دارند. دو فرم اصلی آنها نیز شامل DFDBA (demineralized freeze-dried bone allograft) و FDBA (freeze-dried bone allograft) هستند. FDBA در انسان و حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفته و سازگاری بیولوژیکی و اثرات مثبت کلینیکی آن به اثبات رسیده است (۱۱، ۱۲). DFDBA نیز از نظر القای استخوان‌سازی و درمان ضایعات پریدنتالی، در برخی تحقیقات ارزیابی شده است. همزمان، نتایج متفاوتی در زمینه خصوصیات مواد پیوندی فوق گزارش شده و در حالی که برخی تحقیقات، نشان دهنده برتری القای استخوان (bone induction) به دنبال کاربرد DFDBA بوده (۱۲)، برخی دیگر، FDBA را از این جهت برتر دانسته (۱۳) و همزمان، تفاوت آشکاری بین خصوصیات القای استخوان در استفاده از آن دو در برخی موارد گزارش نشده است (۱۴).

در این راستا، هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر لیزر کم توان GaAlAr به همراه DFDBA در ضایعات استخوانی ایجاد شده در تیبیا خرگوش است.

#### مواد و روشها:

تحقیق به صورت تجربی روی ۱۲ رأس خرگوش نر از نژاد albino با وزن تقریبی ۱/۵ کیلوگرم و سن حدودی ۶ ماه انجام شد. خرگوش‌ها همگی از سلامت عمومی برخوردار

فتوشیمیایی بوده و با افزایش میزان تکثیر سلولی، از طریق تغییرات فتوشیمیایی بعد از اینکه نور لیزر در دوزهای تابشی اندک از طریق مولکول‌های رنگی (chromophore) بین سلولی در میتوکندری‌ها جذب شد، مرتبط باشد (۱۵-۱۷). از طرف دیگر، این مکانیسم چندعاملی و شامل برقراری آنژیوژنزیس (۱۸)، تولید کلاژن (۱۹)، تکثیر سلول‌های osteogenic و تمایز (۲۰)، احیای میتوکندری و ترکیب ATP نیز می‌باشد (۲۱، ۲۲). علاوه بر این، LLLT می‌تواند میزان گردش خون موضعی را نیز افزایش داده و به دنبال آن، سلول‌های گردشی، تغذیه، اکسیژن و نمک‌های غیرآلی در ضایعه استخوانی را نیز افزایش دهد (۲۳). به عنوان مثال، Yoshihide (۱۹۹۹) نشان داد در بافت‌های تحت تابش LL، جریان خون intraosseous به میزان تقریبی ۸۰٪ و فشار اکسیژن نیز به میزان ۱۵٪ افزایش یافته بود (۲۴). Shimizu و Kawasaki (۲۰۰۰) نشان دادند تابش لیزر کم‌توان منجر به افزایش تعداد استئوکلاست‌ها در سمت فشار در طول حرکت تجربی دندان در موش شده بود (۵).

به دلیل تنوع در وضعیت اکسیداسیون، احیا و pH سلولی متعاقب آن، یک سلول حتی می‌تواند در زمان‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی در برابر تابش یک نوع لیزر خاص نشان دهد، به طوری که اثر لیزر در هنگام درگیری مکانیزم‌های پیچیده و وجود بیش از یک نوع سلول در یک زمان، پیچیده‌تر می‌گردد. همچنین، در برخی موارد اثر تابش نه تنها قوی‌تر یا ضعیف‌تر شده، بلکه طبیعت آن نیز متفاوت و به تناوب گاهی مهار کننده و گاهی تحریک کننده خواهد بود. (۲۵)

بدیهی است فرآیندهای ایمونولوژیک، نورولوژیک و فیزیولوژیک دخیل در استخوان‌سازی، غضروف‌سازی و ترمیم ضایعات در میزبان آن قدر وسیع، پیچیده و دارای تداخلات متقابل هستند که ترسیم یک مسیر علت - معلولی واضح و مشخص برای نشان دادن اثرات تابش یک لیزر خاص بسیار مشکل بوده و با اطلاعات موجود تقریباً غیر ممکن می‌باشد. از طرف دیگر، بسیاری از عوامل مداخله‌گر مانند عکس‌العمل سیستم دفاعی میزبان در برابر تابش لیزر، وضعیت متابولیک و pH سلولی در زمان آغاز تابش، تأثیرات واقعی و گاهی متضاد و ناشناخته مدياتورهای بافتی در واکنش‌های اتوکرین، پاراکرین و اندوکرین به همراه اثرات پیچیده‌تر انواع مختلف لیزرها بر این واکنش‌ها

(Japan) از نظر علائم و شواهد استخوان‌سازی، وجود التهاب، رگ‌سازی و تداخل با بافت پیوندی ارزیابی شدند. در مورد متغیر کیفی استخوان‌سازی با توجه به میزان تراکول‌ها رتبه‌های ۱ (کم) و ۲ (متوسط) و ۳ (زیاد) و در مورد رگ‌سازی نیز به همین صورت رتبه‌های ۱ (کم) و ۲ (متوسط) و ۳ (زیاد) داده شد.

تجزیه تحلیل داده‌ها با Wilcoxon signed rank test انجام شد.

#### یافته‌ها:

رتبه کیفی استخوان‌سازی در گروه کنترل ۲ و در گروه لیزر ۳ بوده و همپنین رگ‌سازی گروه کنترل ۱ و گروه لیزر ۳ گزارش شد. در نتیجه لیزر نقش مهمی در افزایش معنی دار ترمیم ضایعات استخوانی ایفا می‌کند ( $P < 0.05$ ).

#### جدول ۱- معیارهای کمی شاخص‌های استخوان‌سازی و

رگ‌سازی		
لیزر	استخوان‌سازی	رگ‌سازی
۳	۳	۳
کنترل	۲	۱

در بررسی ریزبینی نمونه‌های تهیه شده از گروه شاهد، در بافت همبند زیرین، رشته‌های کلاژن، عروق خونی و تراکول‌های استخوانی همراه با ریم استئوبلاستیک و لاکونا‌های حاوی استئوسیت دیده می‌شد. تراکول استخوانی نرمال بوده و التهاب قابل توجهی هم به چشم نمی‌خورد.

در بررسی ریزبینی نمونه‌های گروه لیزر، در بافت همبند زیرین، رشته‌های کلاژن، عروق خونی و تراکول‌های استخوانی همراه با ریم استئوبلاستیک و لاکونا‌های حاوی استئوسیت دیده می‌شد. تراکول استخوانی نرمال بوده و التهاب قابل توجهی به چشم نمی‌خورد. میزان استئوژنزیس و آنژیوژنزیس از گروه کنترل بیشتر بود ( $p < 0.05$ ).

بحث:

مکانیسم عملکرد لیزر کم توان، هنوز به طور دقیق شناسایی نشده است؛ البته به نظر می‌رسد ماهیت آن

در مورد استفاده از DFDBA نتایج متفاوتی در مقالات حاصل شده است. T Lundgren و T Koutouzis (۲۰۱۰) در مطالعه ای نشان دادند کاربرد DFDBA مجاور ایمپلنت در ساکت دندان کشیده شده Bone loss مشابه با شرایط ایمپلنت در استخوان طبیعی را دارد. (۳۴) Pinheiro و همکاران (۲۰۰۳) نیز در مطالعه ای روی ۲۴ rat با ایجاد ضایعه روی استخوان فمور و تقسیم بندی به سه گروه (کنترل، استخوان غیر الی، استخوان غیز الی و لیزر کم توان) نشان داد که استخوان غیر الی ترمیم بیشتر از گروه کنترل و گروه لیزر و استخوان غیر الی ترمیم بیشتر از آن دو گروه داشته است. (۳۵) در مطالعه ای دیگر Lee DW و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد مواد جایگزین استخوان انسانی در بازسازی ضایعات استخوانی تفاوتی در میزان ترمیم نداشته است. (۳۶)

با توجه به مطالعات گذشته لیزر کم توان در ترمیم ضایعات استخوانی اثر بسزایی داشته است. ولی در مورد DFDBA نتایج مختلفی گزارش شد. که در تحقیق حاضر به بررسی همزمان این دو عامل پرداخته شد که استخوان سازی بهتر را نشان داد.

### نتیجه گیری:

براین اساس، تابش لیزر GaAlAs به همراه استفاده از ماده پیوندی DFDBA، موجب افزایش ترمیم ضایعات استخوانی می شود. پیشنهاد می شود این تحقیق با تابش لیزر GaAlAs در انرژی‌ها و توان‌های مختلف، استفاده از لیزرهای کم توان دیگر نظیر هلیوم-نئون برای مقایسه نتایج و سایر اثرات درمانی لیزرهای کم توان نظیر درد و التهاب انجام گیرد.

### تقدیر و تشکر:

مقاله حاضر قسمتی از پایان نامه دکترای عمومی دندانپزشکی به شماره ۳۰۴۰ مربوط به خانم فائزه عطری به راهنمایی آقای دکتر مسعود سیفی و مربوط به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می باشد.

شناسایی نشده و همین عامل باعث ایجاد تنوع و تناقض در نتایج تحقیقات مختلف در شرایط آزمایشگاهی به ظاهر یکسان شده است. البته نقش شدت و توان لیزر مورد استفاده، روش تابش لیزر، روش کشت سلولی و روش‌های بررسی هیستولوژیکی نیز در این زمینه غیرقابل انکار است. (۲۵).

در این تحقیق از گروه کنترل خارجی استفاده شده است زیرا که نتایج سیستمیک LLLT در برخی تحقیقات به تأیید رسیده است (۲۶-۲۸). مشخص گردیده LLLT می‌تواند موادی مانند فاکتورهای رشدی و سایتوکاین‌ها را در سیستم گردش خون آزاد کرده و در نتیجه، سمت بدون تابش لیزر در حیوان یا انسان را تحت تأثیر قرار دهد؛ شاید یکی از دلایلی که برخی مطالعات با استفاده از گروه‌های کنترل داخلی نتوانسته‌اند تفاوت‌های آشکاری میان گروه‌های تحت تابش لیزر و نواحی کنترل داخلی (سمت دیگر انسان یا حیوان) شناسایی نمایند، این موضوع باشد. استفاده از لیزر کم توان GaAlAs نیز به دلیل کاربرد مکرر آن در تحقیقات دیگر بوده است.

لیزر GaAlAs (گالیم-آلومینوم-آرسناید) که در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفت، در مقایسه با لیزرهای دیگر، عمق نفوذ بیشتری داشته و به عنوان یک ابزار نفوذ کننده مؤثر در دسترس کلینیسین‌ها قرار دارد. گزارش شده که تابش این لیزر با طول موج ۸۴۰-۸۲۰ نانومتر به دلیل کاهش جذب آب و هموگلوبین، موجب نفوذ بیشتری در بافت می‌گردد (۲۹، ۱۰).

Nicola RA و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه روی ۴۸ rat به این نتیجه رسیدند که LLLT فعالیت سلولهای استخوانی را در محل ترمیم بدون تغییر در ساختار افزایش می دهند. (۳۰) در مطالعه Bossini و همکاران (۲۰۱۲) روی ۳۰ rat مبتلا به استئوپروز نشان داده شد که LLLT ترمیم استخوان ها را با تحریک ساخت استخوان جدید، فیبرو واسکولاریزاسیون و آنژیوژنز بهبود داده است. (۳۱) در مطالعه Kang H و همکاران (۲۰۱۱) نتیجه ای مشابه در استخوان کورتیکال موش های استئوپروتیک با Minimally invasive laser needle system گزارش شده است. (۳۲) در مطالعه ای da Silva AP (۲۰۱۱) نشان داد که LLLT پس از REM موجب افزایش تکثیر و بیان سلولهای استئوبلاستیک در درز میانی کام می شود (۳۳).

Archive of SID

## References

1. Seifi M, Eslami B, Saffar AS: The effect of Prostaglandin E2 and calcium gluconate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. *Eur J Orthod* 2003 Apr; 25(2):199-204.
2. Roberts E: Tissue reactions in orthodontics In: Graber TM, Vanarsdall RL: *Orthodontics current principals and techniques*. 3rd Ed. St. Louis: The C.V. Mosby Co. 2000;Chap2:218.
3. Cruz DR, Kohara EK, Ribeiro MS, Wetter NU: Effects of low-intensity of laser therapy on the orthodontic movement velocity of human teeth: a preliminary study. *Lasers Surg Med* 2004;35(2):117-120.
4. Proffit WR, Fields HW: *Contemporary orthodontics*. 3rd Ed. St Louis: Mosby Inc; 2000:296-321.
5. Kawasaki K, Shimizu N: Effect of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. *Lasers Surg Med* 2000;26(3):282-291.
6. Mizutani K, Musya Y, Wakae K: A clinical study on serum prostaglandin E2 with low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg* 2004 Dec;22(6):537-539.
7. Limpanichkul W, Godfrey K, Srisuk N, Rattanayatikul C: Effects of low-level laser therapy on the rate of orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofac Res* 2006 Feb; 9(1):38-43.
8. Basford JR: Low intensity laser therapy: still no an established clinical tool. *Lasers Surg Med* 1995;16:331-342.
9. Walsh LJ: The current status of low level laser therapy in dentistry. Part I. Soft tissue application. *Aust Dent J* 1997;42:247-254.
10. 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.
11. Rosen PS, Reynolds MA, Bowers GM: The treatment of intrabony defects with bone grafts. *Periodontol* 2000;22:88-103.
12. Mellonig JT, Bowers GM, Bailey RC: Comparison of bone graft materials. Part I. New bone formation with autografts and allografts determined by Strontium-85. *J Periodontol* 1981;52:291-296.
13. Piattelli A, Scarano A, Corigliano M, Piattelli M: Comparison of bone regeneration with the use of mineralized and demineralized freeze-dried bone allografts: A histological and histochemical study in man. *Biomaterials* 1996;17:1127-1131.
14. Rummelhart JM, Mellonig JT, Gray JL, Towle HJ: A comparison of freeze-dried bone allograft and demineralized freeze-dried bone allograft in human periodontal osseous defects. *J Periodontol* 1989;60:655-663.
15. Luger EL, Rochkind S, Wollman Y, Kogan G, Dekel S: Effect of Lowpower laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers Surg Med* 1998;22:97-102
16. Friedmann H, Lubart R, Laulich I, Rochkind S: A possible explanation of laser-induced stimulation and damage of cell cultures. *J Photochem Photobiol B* 1991;11: 87-95.
17. Karu T: Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys* 1989;56:691-704.
18. Khadra M, Rønold HJ: Low level laser effect on the osseointegration between implant and bone. *J Dent Res (Spec Iss A)* 2002;81:A-366.
19. Lam TS, Abergel RP, Meeker CA, Castel JC, Dwyer RM, Uitto J: Laser stimulation of collagen synthesis in human skin fibroblast cultures. *Lasers Life Sci* 1986;1:61-77.

20. Yaakobi T, Maltz L, Uoron U: Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. *Calcif Tissue Int* 1996;59:297-300.
21. Morimoto Y, Arai T, Kikuchi M, Nakajima S, Nakamura H: Effects of low intensity Argon laser irradiation on mitochondria respiration. *Lasers Surg Med* 1994; 15:191-199.
22. Yu W, McGowan M, Ippolito K, Lanzafame RJ: Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photochem Photobiol* 1997;66:866-871.
23. Chen JW, Zhou YC: Effect of low level carbon dioxide laser radiation on biochemical metabolism of rabbit mandibular bone callus. *Laser Therapy* 1989;2:83-87.
24. Yoshihide K: Effects of infrared radiation on intrasosseous blood flow and oxygen tension in the rat tibia. *Kobe J Med Sci* 1999;45:27-39.
25. Karu T: Mechanism of low-power laser light action on cellular level. In: Simunovic Z: *Laser in medicine and dentistry*. 1st Ed. Vita Graf Croatic 2000;Chap4:98-116.
26. Inoue K, Nishioka J, Hukuda S: Suppressed tuberculine reaction in guinea pigs following laser irradiation. *Lasers Surg Med* 1989;9:271-275.
27. Schindl A, Heinze G, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, Schindl L: Systemic effects of low-intensity laser irradiation on skin microcirculation in patients with diabetic microangiopathy. *Microvasc Res* 2002;64:240-246.
28. Braverman B, McCarthy RJ, Ivankovich AD, Forde DE, Overfield M, Bapna MS: Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. *Lasers Surg Med* 1989;9:50-58.
29. Hillenkamp F: Interaction between laser radiation and biological systems. In: Hillenkamp F, Pratesi R, Sacci CA: *Lasers in biology and medicine*. New York: Plenum Press. 1980;37-68.
30. Nicola RA, Jorgetti V, Riqua J, Pacheco MT. Effect of low level laser (660nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. *Lasers Med Sci*. 2003;18:89-94.
31. Bossini PS, Renno AC, Ribeiro DA: Low Level Laser therapy (830 nm) improves bone repair in osteoporotic rats: Similar outcomes at two different dosage. *Exp Gerontol*. 2012 feb;47:136-42.
32. Kang H, Ko CY, Ryu Y, Seo DH, Kim HS, Jung B. Development of a minimally invasive laser needle system: effects on cortical bone of osteoporotic mice. *Lasers Med Sci*. 2011 nov 9. [Epub ahead of print]
33. Da Silva AP, Petri AD, Crippa GE, Stuaní AS, Rosa AL. Effect of low level laser therapy after rapid maxillary expansion on proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *Lasers Med Sci*. 2011 Aug 13. [Epub ahead of print]
34. Koutouzis T, Lundgren T. Crestal bone level changes around implants placed in post extraction sockets augmented with demineralized freeze dried bone allograft: a retrospective radiographic study. *J Periodontol*. 2010;81:1441-8.
35. Pinheiro AL, Limeira Junior Fde A, Gerbi ME, Ponzi EA. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz dent J* 2003;14:177-81.
36. Lee Dw, KOO KT, Seol YJ, Lee YM, Ku Y. Bone regeneration effects of human allogeneous bone substitutes: a preliminary study. *J Periodontal Implant Sci*. 2010;40:132-8.