

Efectos del láser de baja intensidad en la calcificación ósea

Beatriz Lucina Flores Balleza*
Fermín Guerrero del Ángel**
José Martín Torres Benítez***
Mónica Jasso Romo****
Patricia Alcocer Gregory*****
Octavio Ayala Díaz*****

*Residente de la especialidad en Endodoncia, U.A.I.
**Cirujano Maxilofacial, U.A.I.
***Médico Epidemiólogo, U.A.I.
****Anatomopatólogo, U.A.I.
*****Anatomopatólogo, U.A.I.
*****Médico Veterinario Zootecnista, U.A.I.

- Flores, B.B.L., Guerrero, A.F., Torres, B.J.M., Jasso, R.M., Alcocer, G.P., Ayala, D.O. Efectos del láser de baja intensidad en la calcificación ósea. Oral Año 11 Núm. 33. 2010. 564-568

Descriptor: láser, calcificación, fosfatasa

Keyword: calcification, phosphatase, laser

resumen

Se presenta un estudio en modelo animal realizado en el posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología, de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, mediante el empleo del Láser de Baja Intensidad Galio-Aluminio-Arsénico (Ga-Al-As) con el objetivo de estimular la calcificación ósea.

Se emplearon 24 conejos de la raza Nueva Zelanda a los cuales se les realizaron defectos óseos en el maxilar y la posterior aplicación de la radiación láser por vía trans-mucosa obteniéndose muestras sanguíneas correspondientes para evaluar Fosfatasa Ácida, y enviándose las piezas quirúrgicas a estudio histopatológico para evaluar la presencia de calcio, osteoblastos y colágeno.

abstract

Introduction: the aim was to evaluate the effectiveness of the low powered GaAlAs in the bone calcification.

Methodology: dependent variable bone calcification (acid phosphatase, calcium, collagen and osteoblasts) was selected and the Independent variable, the application of lowpowered Ga-Al-As laser. Twenty four rabbits New Zealand, which develop osteotomies in the vestibular cortical of left maxillar, after application laser radiation, during 7 days, sacrificing the specimens at the 1st, 3rd and 7th week, obtaining corresponding blood samples and sending surgical pieces to histopathology examination.

Results: low powered GaAlAs laser, induce a calcification of the bone defects for the periapical lesions or endoperiodontal that provoke resorption and compromise permanence of tooth in the oral cavity of the functional way.

Conclusion: low powered GaAlAs laser device is an alternative in endodontics for the induction bone calcification like the periapical lesions, can give more scientific forcefulness over the behavior of the bone neoformation.

Introducción

La calcificación es el acumulo de sales de calcio en los tejidos. Normalmente alrededor del 99% de todo el calcio que penetra en el organismo se deposita principalmente en los huesos del esqueleto, dientes y el resto se disuelve en los líquidos corporales, incluida la sangre.

En endodoncia uno de los problemas que se presentan son las reabsorciones patológicas o defectos óseos quirúrgicos a nivel apical teniendo actualmente como varias alternativas para inducir la estimulación ósea, como son las unidades de láser de baja intensidad. En éste estudio se empleó el láser de Galio-Aluminio-Arsénico (Ga-Al-As) para inducir la calcificación ósea basándose en la revisión de diferentes estudios relacionados con estimulación de la energía láser aplicada a hueso.

Las lesiones periapicales representan el 15% del resultado de focos discretos de tejidos granulomatosos o quísticos, que suelen agravarse y provocar procesos infecciosos severos, además de un proceso inflamatorio que produce muerte pulpar y necrosis subsecuente según Lalonde. El crecimiento centrífugo de estas lesiones provocan una resorción osteoclástica, además de prosta-

glandinas y otros factores producidas por las células inflamatorias y elementos celulares presentes en la porción periapical.¹

El tratamiento periodontal y métodos profilácticos específicos en órganos dentarios, pudo establecerse ampliamente hasta la aparición de la odontología conservadora. En éste campo la endodoncia abarca cada vez más terreno, ya que con ayuda de métodos cada vez más específicos, el tratamiento de endodoncia se ha ido haciendo extensivo. Por lo tanto en la selección de los casos el diagnóstico, la preparación, y obturación de los conductos, el tratamiento suele tener éxito.⁵

Franchino y Salerno en 1977, desarrollaron el sistema capaz de hacer el láser útil para la práctica médica.³ Gordenstani en 1977 realizó un estudio piloto utilizando un láser infrarrojo para estimular el metabolismo del hueso en la zona de los parietales de ratas Wistar, evaluando 28 días posterior a la irradiación, un incremento en la producción de osteoblastos.⁴ Gordenstani en 1975, realizó una descripción detallada de muchas sustancias químicas de interés metabólico que tienen una localización característica en el epitelio de la mucosa bucal y tejido óseo,⁵ Cabrini, mencionó que los sectores de la mucosa que no se

queratinizan como el epitelio de adherencia o los bordes en la proliferación de la heridas, están desprovistos de FA.⁶ Bosatra en 1984, valoró la activación de fibroblastos en dermis mediante la irradiación del láser de baja intensidad, visto al microscopio electrónico de barrido.⁷

Labajos en 1988, realizó un estudio evaluando las modificaciones en las concentraciones plasmáticas diferentes de los iones Cl, Na, K, Ca, tras la irradiación simple y múltiple con láser de baja potencia sobre cartílago de crecimiento de ratas Wistar, con resultados al tercer día con el láser de (Ga-Al-As).⁸ Takeda en 1988, empleó la terapia láser en alvéolos después de realizadas las extracciones dentarias en ratas, con el láser de Ga-Al-As, durante cinco minutos diarios. Los resultados obtenidos revelan una proliferación mayor de fibroblastos en el grupo irradiado con respecto al control, sugiriendo una mayor formación de tejido osteoide trabecular tras la irradiación láser.⁹

Bobadilla en 1992, realizó un estudio investigando los efectos del láser Helio-Neón en relación al aumento de la proliferación de fibroblastos. Comparando cultivos de fibroblastos expuestos a diferentes dosis de radiación, con cultivos control, no encontrando significancia en el incremento de proliferación de fibroblastos *in vitro*.⁵

Pastor Vega en 1993, realizó un estudio donde se analizaron las modificaciones de los niveles séricos de los diferentes parámetros de calcio, fosfatasa alcalina y fósforo sérico, tras la irradiación con el láser de Ga-Al-As irradiando cartílago de crecimiento de ratas Wistar en comparación con el láser de Helio-Neón, demostrando elevaciones estadísticamente significativas en los niveles séricos de las sustancias mencionadas, especialmente en los iones de calcio.¹¹

Baxter en 1994, publicó la fotobiomodulación del láser de baja intensidad en la cicatrización de heridas presentando una estimulación de las fibras colágenas del tipo 1 un 80 %, que se encuentran involucradas en el proceso de remodelación ósea.¹² Hollinger en 1996, identificó biológicamente las sustancias activas en la promoción de la reparación de los trazos de fracturas en el proceso de cicatrización. Comprobándose que existe una relación importante de los fibroblastos, tejido conectivo y colágeno tipo 1 y 4.¹³

Yokoya en 1997, realizó un estudio para investigar el mecanismo de la remodelación ósea, durante las fuerzas aplicadas en ortodoncia. Evaluando la presencia de osteoclastos y pre osteoclastos por medio de la inmunohistoquímica del tipo hidrógeno positivo de adenosin trifosfato (ATP). Encontrando una fuerte proliferación de los osteoclastos al décimo cuarto día.¹⁴

Saito en 1997, estudió los efectos del láser de Ga-Al-As en la regeneración ósea de la sutura media palatina durante la expansión maxilar demostrando así que el láser acelera la regeneración ósea de la sutura media palatina y por lo tanto disminuye el período de retención.¹⁵

Tadahiko en 1998, investigó los efectos del láser de baja intensidad Ga-Al-As al irradiar pulpas de perros comprobando que un puente dentinario sólido se formó con la combinación de fibroblastos, matriz fibrosa y odontoblastos.¹⁶

El hueso cortical mantiene una función mecánica y protectora y el hueso trabecular una función metabólica.¹⁷ El cartílago embrionario es avascular, a etapas tempranas

el hueso socavado es formado por osificación intramembranosa en el área debajo del pericondrio. Justo después de la calcificación de este hueso, los vasos sanguíneos penetran y forman hueso esponjoso.¹⁸

Otras enzimas que presentan los conejos de la raza Nueva Zelanda son la Proteasa Ácida, Dehidrogenasa Láctica, Transaminasa Glutámica Oxalacética, Trasaminasa Glutámica Pirúvica.¹⁷

Los neutrófilos aparecen al cabo de algunas horas. Los monocitos se presentan en las heridas rápidamente y modulando dentro de los macrófagos, alcanzando un número máximo a las 24 horas.¹⁹ Con el tiempo existe un remodelado del colágeno. Los osteoclastos muestran una alta actividad en la FA y contiene otras enzimas hidrolíticas tales como la B-glucoronidasa, B-Galactosidasaja citocromo oxidasa, la aminopeptidasa y la estearasa no específica.²⁰

En apoyo a esta teoría está el hecho de que fibras de colágena purificada, preparadas de otros tejidos corporales que no son el hueso, también provocan precipitación de cristales de hidroxiapatita del plasma.²¹

Por otra parte, las grandes concentraciones de iones calcio deprimen la actividad neuronal, sobretudo en el sistema nervioso central: esto ocurre posiblemente porque la membrana no se despolariza con la facilidad normal.²²

En ocasiones se encuentra FA en diferentes enfermedades como la Enfermedad de Gaucher, Enfermedad de Paget, Mieloma múltiple, Hiperparatiroidismo Primario, Metástasis Oseas Osteolíticas, Leucemias Linfoblásticas.²³

Por todo lo anterior es que nos referimos a un efecto analgésico y antiinflamatorio del láser diódico, por la especificidad de acción foto eléctrica de los impulsos láser de media potencia así como por la normalización del metabolismo celular de los tejidos.³

Metodología

Este estudio fue llevado a cabo en el posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología, de la Universidad Autónoma de Tamaulipas con el propósito de evaluar la efectividad del láser de baja intensidad Galio-Aluminio-Arsénico (GaAlAs) en la calcificación ósea. Se emplearon 24 conejos machos de la raza Nueva Zelanda divididos en dos grupos experimental y control, a los cuales se les realizaron osteotomías en la cortical vestibular del maxilar del lado izquierdo y la posterior aplicación de la radiación láser por vía transmucosa durante 30 segundos, tres veces al día, a una dosis calibrada de 7.2 jules/cm², durante siete días, sacrificándose los especímenes a la primera, tercera, y séptima semana, obteniéndose muestras sanguíneas correspondientes para evaluar la actividad de la fosfatasa ácida y enviándose las piezas quirúrgicas a estudio histopatológico.

Como Variable Dependiente se manejo, la Calcificación Ósea.(Fosfatasa Ácida, Sales de Calcio, Colágeno y Osteoblastos) y la Variable Independiente, la aplicación de láser de baja intensidad ga-al-as.

Resultados

Calcio

Después de irradiar el área del defecto óseo de maxilares de conejos de la raza Nueva Zelanda, durante una semana, tres veces por día, 30 segundos por sesión a una dosis de 7.2 jules/cm² con láser de Ga-Al-As se analizaron los porcentajes de calcificación entre el grupo control y experimental, obteniendo los siguientes resultados.

EVALUACIÓN 1ª SEMANA

Durante la primera semana de tratamiento en el grupo control no se apreciaron indicios de calcificación (0%), mientras que en el grupo experimental reportó un porcentaje de calcificación de un 3.0%.

EVALUACIÓN 3ª SEMANA

La variable calcificación, posterior a la irradiación del defecto óseo presentó los siguientes resultados. Para el grupo control su porcentaje de calcificación fue de 1.25%. Mientras que en el grupo experimental se obtuvo una calcificación del 10%.

EVALUACIÓN 7ª SEMANA

Luego de la irradiación, se presentaron los siguientes porcentajes de calcificación; el porcentaje del grupo control presentó una calcificación de 2.50%. El porcentaje para el grupo experimental fue de 21.25%.

Osteoblastos

EVALUACIÓN 1ª SEMANA

Luego de la irradiación con láser de Ga-Al-As del defecto óseo en el grupo experimental, se presentaron los siguientes resultados: para el grupo control, no se encontró presencia de osteoblastos (0%), mientras que en el grupo experimental fue de 57.50%.

EVALUACIÓN 3ª SEMANA

La presencia de osteoblastos posterior a la irradiación con el láser de baja intensidad Ga-Al-As, para el grupo control fue de 17.50% y para el grupo experimental fue de 66.25%.

EVALUACIÓN 7ª SEMANA

Tras la irradiación de los defectos óseos se obtuvieron los siguientes porcentajes de osteoblastos, correspondiendo para el grupo control de 41.2 % y para el grupo experimental de 41.2%.

Colágeno

EVALUACIÓN 1ª SEMANA

Posterior a la irradiación de los defectos óseos con el láser de baja intensidad Ga-Al-As, se obtuvieron los siguientes resultados: no se encontró la presencia de colágeno tanto para el grupo control como en el grupo experimental (0%).

EVALUACIÓN 3ª SEMANA

Irradiados los defectos óseos con el láser de Ga-Al-As, se obtuvieron los siguientes resultados: no se encontró la presencia de colágeno para el grupo control (0%), en tanto que para el grupo experimental presentó un 3.0%.

EVALUACIÓN 7ª SEMANA

Posterior a la irradiación de los defectos óseos del grupo experimental, se reportaron los siguientes porcentajes: para el grupo control fue de 10% y para el grupo experimental de 30%.

Fosfatasa Ácida

EVALUACIÓN 1ª SEMANA

Los niveles séricos de fosfatasa ácida posterior a la irradiación de los defectos óseos con el láser de baja intensidad Ga-Al-As del grupo experimental, presentó los siguientes resultados:

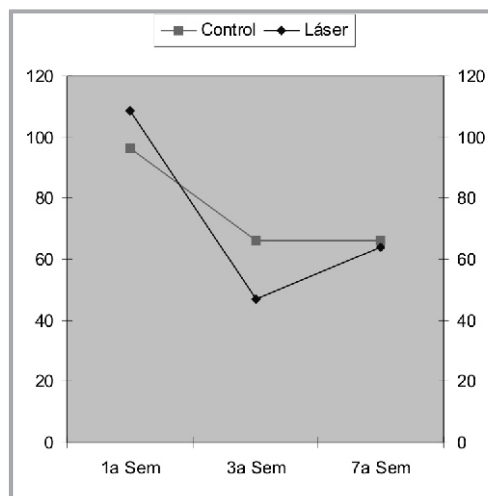
La media para el grupo control fue de 96.4 UI/ml y la media para el grupo experimental de 108.4 UI/ml. Con una diferencia entre medias de 12.0. Se realizó una prueba de t de student para la valoración de medias independientes. Encontrándose una probabilidad estadísticamente significativa. ($p < 0.05$).

EVALUACIÓN 3ª SEMANA

Posterior a la irradiación con láser de Ga-Al-As de los defectos óseos en los maxilares de conejos del grupo experimental, los resultados son los siguientes: la media para el grupo control fue de 66.1 UI/ml y la media del grupo experimental fue de 46.7 UI/ml. Con una diferencia de medias de 19.4. Realizándose una prueba de t de student para la valoración de medias independientes. Encontrándose una diferencia estadísticamente significativa. ($p < 0.001$).

EVALUACIÓN 7ª SEMANA

Los resultados de los niveles séricos de fosfatasa ácida después de la irradiación de los defectos óseos con el láser de Ga-Al-As son los siguientes: la media para el grupo control fue de 66.0 UI/ml y para el grupo experimental fue de 63.97 UI/ml. La diferencia de medias fue de 2.0. Aplicándose una prueba de t de student para la valoración de las medias independientes. La probabilidad estadística es no significativa. (NS).



Gráfica 2. Modificaciones en la fosfatasa ácida del grupo control y láser en las tres mediciones, posterior a irradiación de los defectos óseos artificiales con el láser de Ga-Al-As.

Discusión

Los resultados en relación a la interpretación histológica muestran, en la variable calcificación, que a la primera semana no se apreciaron indicios de depósitos de calcio en el grupo control, mientras que en el grupo experimental, reportó un 3.0% de calcificación.

Saito en 1997 investigó sobre los efectos del láser de Ga-Al-As, aplicado sobre la sutura media palatina durante

el proceso de expansión ortodóncica, reportando que a los siete días se presentaba nuevo hueso mineralizado.⁵

Takeda en 1988, realizó un estudio histopatológico para evaluar el proceso de cicatrización de alvéolos en ratas Wistar, mediante la aplicación del láser de Ga-Al-As por cinco minutos durante un día, posterior a extracciones dentarias, en donde al séptimo día se reportó la presencia de tejido óseo trabecular.⁹

A la tercera semana, el resultado de calcificación para el grupo control fue de 1.25% y en el grupo experimental de 10%. A la séptima semana el resultado de calcificación fue de 2.50% mientras que en el grupo experimental fue de 21.25%.

Gordestani en 1994, en su estudio observó que el metabolismo del hueso proporciona la presencia de calcificación a los 28 días, así como los depósitos de hidroxiapatita, en estudios realizados en ratas, a las cuales se les aplicó el láser de Ga-Al-As presentando un incremento significativo del colágeno y reducción subsecuente del mismo al depositarse el calcio.⁵

El colágeno en el proceso de reparación de las heridas o alteraciones óseas, considerándose un tejido proliferativo que presenta entre los 10 y 15 días siguientes a la lesión, acompañándose de neoangiogénesis y fibroplasia para que la síntesis del colágeno se lleve a cabo; éste tejido forma el estado llamado tejido de granulación, el cual sufre de remodelación para dar paso al depósito de elementos que dan origen a tejidos específicos como son piel, músculo, hueso, cartilago.⁸

En relación a la presencia de colágeno en el grupo control y posterior a la irradiación de los defectos óseos del grupo experimental, los resultados de la primera semana reportaron que no existían indicios de la presencia de colágeno.

A la tercera semana, el resultado del grupo control no reportó presencia de colágeno y para el grupo experimental hubo un incremento del 30%. En 1984 Bosatra realizó un estudio in vitro con fibroblastos humanos, en el cual reporta que el ser estimulados con el láser de baja intensidad da origen a la formación de fibrillas colágenas.⁷

Tadahiko en 1998, preparó cavidades para exponer las pulpas dentarias de perros y estimular por medio de la aplicación del láser de Ga-Al-As, la disminución del proceso inflamatorio con la estimulación del proceso de cicatrización mediante la aparición de elementos como es el colágeno, encontrando a la primera y tercera semana la presencia del tipo 1 de colágeno y a la séptima semana la disminución del mismo con la subsecuente aparición de odontoblastos.¹⁶

Por lo que es explicable que la disminución del colágeno a la séptima semana en el grupo control así como en el grupo experimental, en relación con la primera semana, se debe a la presencia de osteoblastos y depósitos de calcio. En el estudio se evaluó la presencia de osteoblastos tanto para el grupo control como para el grupo experimental posterior a la irradiación con el láser de baja intensidad, encontrando que a la primera semana, no existió evidencia de osteoblastos para el grupo control, en tanto que para el grupo experimental el resultado fue de 57.50%.

Daré en 1997, identificó los efectos de la radiación

láser aplicadas al hueso, las cuales inducían al crecimiento y diferenciación de nuevos osteoblastos.^{24,25}

A la tercera semana, los resultados para el grupo control fue, de 17.50% y para el grupo experimental de 66.25%. Los resultados muestran a la séptima semana, que los osteoblastos en el grupo control, fueron de 41.2% y en el grupo experimental de 41.12%. Guyton menciona que se encuentran osteoblastos en las superficies óseas y en las actividades del hueso. En todos los huesos vivos ocurre de continuo un grado pequeño de actividad osteoblástica, de tal modo que constantemente se forma cuando menos un hueso nuevo.^{21,22}

Baxter en 1994, encontró que las células osteoblásticas pueden y son estimuladas tempranamente al irradiarse el grupo experimental y posteriormente disminuir su porcentaje al presentarse depósitos de calcio.¹²

Favus en 1993, publicó la secuencia en la formación del hueso, en el cual los osteoblastos regulan ésta función mediante la formación, síntesis y maduración de colágeno, para dar como resultado la eventual formación de hueso calcificado.¹⁸

La fosfatasa ácida es una enzima que se localiza en el hueso y uno de sus orígenes son los glóbulos rojos y se encuentra relacionada con la actividad osteoclástica.²³

Lo correspondiente a los resultados de los niveles séricos de fosfatasa ácida, tanto para el grupo control como para el grupo experimental irradiados con el láser de Ga-Al-As, reportaron lo siguiente: a la primera semana el grupo control presentó 96.4 UI/ml y el grupo experimental tuvo un resultado de 108.4 UI/ml.

A la tercera semana, el resultado del grupo control fue de 66.1 UI/ml y el del grupo experimental de 46.7 UI/ml. Y en la séptima semana los resultados para el grupo control fueron de 66. =UI/ml, en tanto que para el grupo experimental fue de 81.3 UI/ml. Con éstos resultados corroborados en la literatura se demuestra que la fosfatasa ácida se encuentra en relación con la actividad osteoclástica y de acuerdo al proceso de reparación de los defectos óseos, los niveles séricos disminuyen y se estabilizan progresivamente.⁷

Los resultados obtenidos en éste estudio demuestran que la aplicación del láser de baja intensidad Ga-Al-As, es una alternativa para inducir la calcificación de los defectos óseos que son ocasionados por lesiones periapicales o endoperiodontales que provocan resorciones importantes y comprometen la permanencia de un órgano dentario en la cavidad oral de manera funcional.

Con ésta investigación se motiva a seguir buscando, en base a éstos resultados y tratando de superar las variables antes descritas y así conocer de manera más amplia, los beneficios que puede proporcionar el empleo del láser de baja intensidad Galio-Aluminio-Arsénico.

Conclusión

- 1.-La utilización de la unidad de láser de baja intensidad de Galio-Aluminio-Arsénico es una alternativa que se puede emplear en la endodoncia para la inducción en el proceso de calcificación de defectos óseos y que mediante un estudio con

variables diversas como son las lesiones peria-picales, puedan dar mayor contundencia científica sobre el comportamiento de la neoformación ósea.

- 2.-La calcificación ósea es estimulada con rapidez empleando el láser de baja intensidad en presencia de defectos óseos.
- 3.-Los osteoblastos son estimulados en función y replicación para dar origen a una matriz extracelular y permitir posteriormente los depósitos de sales de calcio.
- 4.-El colágeno puede ser estimulado para iniciar el proceso de reparación de los defectos óseos en maxilares de conejos de la raza Nueva Zelanda.
- 5.-La fosfatasa ácida es una enzima, la cual su concentración sérica disminuye al depositarse las sales de calcio en los defectos óseos lo cual fue comprobado en el presente estudio.

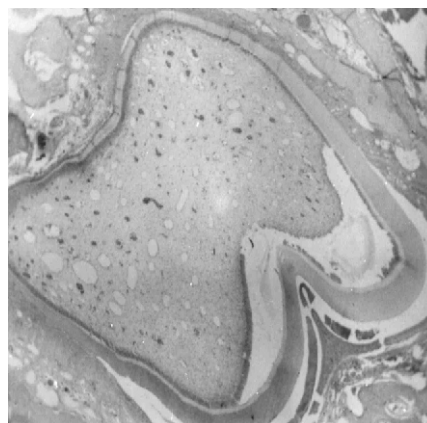
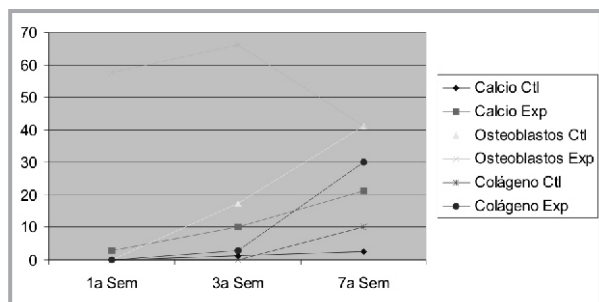


Figura 1. Reparación del defecto óseo (Do) con proliferación central de colágeno (Co) y depósitos de calcio (Ca) en la periferia de la yema formativa a la séptima semana del grupo control. (4x/0.10)



Gráfica 1. Porcentajes en la calcificación, proliferación de osteoblastos y colágeno, a la 1ª, 3ª y 7ª semana del grupo control y experimental posterior a irradiación de los defectos óseos artificiales con el láser de Ga-Al-As.



Figura 2. Replicación de osteoblastos (Ob) en contacto con las fibras colágenas (Co) y depósitos de calcio (Ca) presentando defectos lacunares (La) correspondiente a formación de grasa medular. (4x/1.25)

Bibliografía

- 1.-Weine, F. *Histofisiología y Enfermedades de la Pulpa Dental. Terapéutica Endodóntica*. Edit. Salvat. 2a. edición. Cap. 3. pag: 79-160.
- 2.-Langeland, K., Guildner, P. *Endodoncia. Diagnóstico y Tratamiento*. 3a. Edición. 1995. Editorial Cuellar.
- 3.-Corpas, L. *Curso Básico de Laserterapia. Instituto de Investigaciones Láser. Fundación Veda-Spall. Capítulo 1. Pag 1-30.*
- 4.-Baxter, D. *Therapeutic laser theory and practice*. Churchill Livingstone. 1994.
- 5.-Gordestani, M. *Infrared Laser Bone and Metabolism. A pilot study. Int. Journal Oral and Maxillofacial Surg. 1994;23. pag 54-56.*
- 6.-Cabrini, R. *Histoquímica de la Mucosa Bucal. Enfermedades de la Boca. Editorial Mundi, Buenos Aires, Argentina. 1970. Vol. 1. pag: 473-486.*
- 7.-Bosatra, M., Cols. *Influencia del Láser de Baja Intensidad sobre la Capacidad de Proliferación de los Fibroblastos Humanos en Cultivo. Rehabilitación. 1992.*
- 8.-Labajos, M., Cols. *Efectos de la Irradiación Simple y Múltiple sobre el Cartilago de Crecimiento con Láser de Baja Potencia en los Niveles de Iones Plasmáticos en la Rata Wistar. Dolor e Inflamación, pags: 25-30.*
- 9.-Takeda, Y. *Irradiation Effect of Low-Energy Láser on Alveolar Bone after Tooth Extraction. J. Internacional of Oral Maxillofac Surg. 1988;17: 388-391.*
- 10.-Bobadilla, M. Cols. *Influencia del Láser de Baja Intensidad sobre la Capacidad Proliferativa de los Fibroblastos Humanos en Cultivo. Rehabilitación. 1992.*
- 11.-Pastor, P. Cols. *Modificación de los Niveles Séricos de Fosfatasa Alcalina, Calcio, y Fosforo tras irradiación de Cartilago de Crecimiento de Ratas Wistar con Láser de Helio-Neón y Arsenurio de Galio. Rehabilitación. 1993.27,3. pag: 228-232.*
- 12.-Baxter, David. *Láser Fotobiomodulation of wound healing Therapeutic Láser. (theory and practice)*. Churchill Livingstone. 1994. pag: 89-139.
- 13.-Hollinger, J. Cols. *The Integrated processes of hard tissue regeneration with special emphasis on fracture healing. Oral Endod. 1996;82:594-606.*

- 14.-Yokoya, K. Cols. *Distribution of Changes of Osteoclast and Cells Preosteoclast in Periodontal Tissue durin Dental Moving Dental Quantitative Immunohistoquimical. Journal Dental Restauration. 76 (1): 580-587. 1997.*
- 15.-Saito, S. Cols. *Stimulatory Effects of Low-Power Láser Irradiation on Bone Regeneration in Midpalat Suture during Expansión in the Rat. Am. J. Ortho Dentofac Orthop. 1997; 111: 525-532.*
- 16.-Tadahiko, U. *A histopathology study of the effects of low-power láser irradiation on wound healing of exposed dental pulp tissues in dogs, with special reference to lectins and collagens. Journal of Endodontics. 1998. Vol.24. No.3: 187-193.*
- 17.-Kozma, C. Cols. *Anatomía, Physiology, and Biochemistry of th Rabbit. The Biology of The Laboratory Rabbit. Cap. No. 3. Academic Press. New York. San Francisco. London. 1974: pags: 49-69.*
- 18.-Murray, F. *Primer on the metabolic bone disease and disorders of mineral metabolism. 2th. edition. Raven Press. 1997 New York. Cap 1. Anatomy and Ultraestructure of Bone. Pag: 3-9.*
- 19.-Stephen, F. Cols. *Healing of Traumatic Injuries. Cap 2. Oral and Maxillofacial Trauma. Vol 1. W.B. Sanders Company. 1991. Pag: 13-57.*
- 20.-Mundy, G. *Bone resorbing cells. Cap. 5. Primer on the metabolic bone diseases and disorders mineral metabolism. 1997 Raven Press. New York.*
- 21.-Seltzer, S. *Endodoncia. Consideraciones biológicas en los procedimientos endodónticos. Cap.4 Edit. Mundi. S.A.A.C. y F. 1979. Pag: 89-165.*
- 22.-Guyton, A. *Hormona Paratiroidea, Calcitonina, Metabolismo de Calcio y Fosfato. Vitamina D, Huesos y Dientes. Tratado de Fisiología Médica. 7a. Edición. Me Graw Hill. 1989 Pag: 928-944.*
- 23.-Guyton, A. *Metabolismo del Calcio, Hueso, Hormona paratiroidea y fisiología de los dientes. Fisiología Humana. McGraw-Hill. 6a. Edición 1987. Pags: 604-620.*
- 24.-Lynch, M. Cols. *Enzimas celulares del suero. Métodos de laboratorio. 2a. edición. Edit. Interamericana 1972. pag: 329-355.*
- 25.-Daré, A. *Effects of ionizing radiation on proliferation and differentiation of osteoblast-like cells. J.Dent res 76(2): 658-664, February, 1997.*