

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTOS DEL USO DE LA LUZ LASER DE BAJA POTENCIA EN EL PROCESO DE  
REPARACIÓN OSEA**

Por

Betina MORALES  
Virginia SOSA

TRABAJO FINAL presentado como uno de los  
requisitos para obtener el título de Doctor en  
Ciencias Veterinarias  
(Orientación Medicina)

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2005**

035 TG  
Efectos del uso  
Morales, Betina



FV/26584

**TRABAJO FINAL aprobado por:**

**Presidente de Mesa:**

-----  
**Prof. Titular del Dpto. de Pequeños Animales.  
Dr. Álvaro Hernández**

**Segundo Miembro (Tutor):**

-----  
**Prof. Adjunto del Dpto. de Pequeños Animales.  
Dr. Gabriel Semiglia**

**Tercer Miembro:**

-----  
**Ayudante del Área de Imagenología.  
Dra. Inés Pison**

**Co Tutor:**

-----  
**Prof. Agregado Banco de Órganos y Tejidos.  
Dr. Jorge Zunino.**

**Fecha:**

-----

**Autores:**

-----  
**Br. Betina Morales.**

-----  
**Br. Virginia Sosa**

16 de noviembre de 2005.

Comisión de Trabajo Final,  
Presente

Por intermedio de ésta y de común acuerdo con los Dres. Álvaro Hernández, Profesor Titular del Departamento de Pequeños Animales; Gabriel Semiglia, Profesor Adjunto del Departamento de Pequeños Animales y la Dra. Inés Pison, Ayudante del Área de Imagenología, sugerimos se les nombre como integrantes del jurado que entenderá en la presentación y defensa de la Revisión Bibliográfica titulada: "Efecto del uso de la luz láser de baja potencia en el proceso de reparación ósea".


Saluda atentamente,



Br. Betina Morales



Br. Virginia Sosa



Dr. GABRIEL SEMIGLIA

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACIÓN.....	II
TABLA DE CUADROS Y FIGURAS.....	III
1. <u>RESUMEN</u> .....	1
2. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	2
3. <u>DESCRIPCIONES GENERALES DEL TEJIDO ÓSEO Y SU BIOLOGÍA</u> .....	3
3.1. <u>TEJIDO ÓSEO</u> .....	3
3.1.1 <u>Definición</u> .....	3
3.1.2 <u>Células Óseas</u> .....	6
3.2 <u>FRACTURAS Y REPARACIÓN ÓSEA</u> .....	8
3.2.1 <u>Responsables de la Cicatrización Ósea</u> .....	8
3.2.2 <u>Secuencia de Reparación Ósea</u> .....	11
4. <u>FISIOTERAPIA</u> .....	14
4.1 <u>DEFINICIÓN</u> .....	14
4.2 <u>AGENTES FÍSICOS EN MEDICINA FÍSICA</u> .....	14
4.2.1 <u>Clasificación de los Agentes Físicos No Ionizantes</u> .....	16
4.3 <u>METAS TERAPEUTICAS DE LOS AGENTES FÍSICOS</u> .....	19
5. <u>RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA</u> .....	20
5.1 <u>DESCRIPCIÓN</u> .....	20
5.2 <u>ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO</u> .....	21
5.3 <u>INTERACCIÓN DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA CON LA MATERIA</u> .....	22
6. <u>LASER</u> .....	24
6.1 <u>HISTORIA</u> .....	24
6.2 <u>CONCEPTO</u> .....	26
6.3 <u>CARACTERISTICAS FÍSICAS DE LA EMISIÓN LASER</u> .....	26
6.4 <u>PRODUCCIÓN DE LA RADIACIÓN LASER</u> .....	28

6.5 TIPOS DE LASER DE ACUERDO A SU POTENCIA.....	29
6.5.1 <u>Láser de Alta Potencia</u> .....	29
6.5.2 <u>Láser de Baja Potencia</u> .....	29
6.6 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE LASER DE BAJA POTENCIA.....	29
6.6.1 <u>Láser de Helio-Neon</u> .....	30
6.6.2 <u>Láser de Arseniuro de Galio</u> .....	31
6.6.3 <u>Láser de CO<sub>2</sub> Desfocalizado</u> .....	33
6.7 DOSIMETRÍA.....	33
6.8 EFECTO BIOLÓGICO DE LOS LÁSERES DE BAJA POTENCIA.....	35
6.8.1 <u>La absorción</u> .....	37
6.8.2 <u>Efecto Fototérmico</u> .....	37
6.8.3 <u>Efecto Fotoguímico</u> .....	37
6.8.4 <u>Efecto Fotoeléctrico</u> .....	38
6.8.5 <u>Estímulo de la Microcirculación</u> .....	38
6.8.6 <u>Aumento del Trofismo y la Reparación</u> .....	38
6.9 PRECAUCIONES Y CONTRAINDICACIONES.....	38
6.9.1 <u>Precauciones</u> .....	38
6.9.2 <u>Contraindicaciones Absolutas</u> .....	39
6.9.3 <u>Contraindicaciones Relativas</u> .....	40
7. <u>RELEVAMIENTO DE TRABAJOS EXPERIMENTALES DE LA ACCIÓN DE LASER DE BAJA POTENCIA SOBRE LA OSTEOGÉNESIS</u> .....	41
7.1 TRABAJOS <i>IN VITRO</i> .....	42
7.2 TRABAJOS RELACIONADOS CON EL TEJIDO CARTILAGINOSO.....	44
7.3 TRABAJOS <i>IN VIVO</i> .....	46
7.3.1 <u>Biomecánica y Calidad del Hueso Neoformado</u> .....	47
7.3.2 <u>Estudio Evaluando el Relleno de Defectos Óseos</u> .....	48
7.3.3 <u>Trabajos Realizados Investigando su Influencia Sobre la Angiogénesis</u> .....	48
7.3.4 <u>Respuesta del Periostio</u> .....	50
7.3.5 <u>Estudio Evaluando la Respuesta Desde la Medula Ósea</u> .....	50
7.3.6 <u>Trabajos Realizados Comparando la Irradiación Pulsada vs Continua</u> .....	51
7.3.7 <u>Trabajos Sobre Dosis y Tiempo de Exposición</u> .....	52
8. <u>DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</u> .....	54
9. <u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u> .....	57

TABLA DE CUADROS Y FIGURAS

FIGURAS	Pag.
FIGURA I. <sup>1</sup> Representación de los dos componentes de la macroestructura ósea.....	4
FIGURA II. <sup>2</sup> Cicatrización ósea.....	12
FIGURA III. <sup>3</sup> Representación esquemática de la interacción de los agentes físicos con el material genético.....	15
FIGURA IV. <sup>4</sup> Índice Terapéutico.....	20
FIGURA V. <sup>5</sup> Onda electromagnética.....	21
FIGURA VI. <sup>6</sup> Absorción, E. espontánea, E. estimulada.....	24
FIGURA VII. <sup>7</sup> Efecto de cancelación de ondas desfasadas (izquierda) y efecto de sumación de ondas en fase (derecha).....	27
FIGURA VIII. <sup>8</sup> Representación esquemática de un tubo de He-Ne.....	30
FIGURA IX. <sup>9</sup> Representación de un diodo de As-Ga.....	32
FIGURA X. <sup>10</sup> Esquema en el que se representa el efecto directo e indirecto de la radiación láser.....	36

TABLAS

CUADROS

TABLA I. Agentes electromagnéticos de utilización frecuente en medicina física	18
--	----

CUADROS

## 1-RESUMEN

La laserterapia de baja potencia es un recurso terapéutico de utilización relativamente reciente en medicina humana y veterinaria. Si bien los efectos celulares de la luz láser fueron estudiados *in vitro* en la segunda década del siglo pasado, su aplicación clínica y terapéutica se documenta a partir de 1961 para el láser de alta potencia y de 1965 para el de baja potencia. En medicina, la luz láser ha sido utilizada en las más variadas patologías y con diferentes resultados. Empíricamente los efectos más destacados que se observan clínicamente a nivel de la zona irradiada con láser son, analgesia, acción antiedematosa y antiinflamatoria, evolución acelerada en la cicatrización de heridas en diversos tejidos, etc. Sin embargo, a pesar de lo extendida de su utilización aun se desconocen los fundamentos biológicos de algunos de estos efectos observados clínicamente.

Los efectos de la luz láser de baja potencia sobre el tejido óseo han sido investigados en forma limitada. Existe, sin embargo, documentación relacionada a los efectos favorables del láser en la reparación y consolidación de fracturas. En relación con los fundamentos de los efectos osteogénicos del láser, se ha documentado que éste puede modular la función del osteocito promoviendo la aceleración del metabolismo celular y una organización más rápida del callo óseo. Un aumento importante de la neovascularización en el área de las fracturas estaría en la base de los fenómenos observados (Coombre, 2001).

## **2- INTRODUCCIÓN**

El hueso un elemento estructural básico en la economía corporal. Además de reservorio metabólico da soporte al sistema musculotendinoso y protege órganos vitales. El tejido que conforma el hueso difiere de otros pues tiene la capacidad de autorepararse y puede alterar sus propiedades y geometría en respuesta a la demanda mecánica (Kaplan, 1994).

Históricamente se han descritos múltiples métodos para la reparación de fracturas. Dentro de los métodos estabilizadores de fracturas se encuentra la fijación interna y la externa. Los métodos que pretenden acelerar el proceso de reparación incluyen injertos de hueso autogénico, alogénico y xenogénico y, disposición de cobertura muscular, ultrasonido de baja intensidad, aplicación de factores de crecimiento, etc. (Terjesen y col., 1988; Aro y Chao, 1990; Joyce y col., 1990; Markel y col., 1991).

El efecto estimulante del láser de baja potencia fue primeramente utilizado en la reparación de heridas. Actualmente, este recurso terapéutico es investigado en la reparación de diversos tejidos biológicos, incluyendo tejido óseo, siendo este el menos establecido y más raramente estudiado (Einhorn, 1995).

En el plan de la presente revisión se consideró importante el establecer la descripción básica de aquellos elementos o fenómenos biológicos que constituyen el sustrato de la osteogénesis, así como de la acción de elementos físicos sobre la misma. Es así que inicialmente se intentará describir componentes biológicos y estructurales del tejido óseo y el hueso. Luego serán analizadas las medidas físicas y fisioterápicas de uso clínico, para focalizarse particularmente en las características físicas de la radiación láser, sus efectos biológicos y la acción terapéutica del láser de baja potencia. Se dedicara mayor atención y profundidad al estudio de la acción de la radiación láser sobre la reparación ósea, capítulo central en esta revisión. En él se discutirán y analizarán los trabajos científicos más relevantes en el área, para finalmente discutir sus resultados y evaluar la evidencia disponible actualmente, para



la obtención de conclusiones válidas sobre el efecto de la laserterapia sobre la osteogénesis, considerándolo de utilidad para el desarrollo de futuras investigaciones en esta área.

### **3- DESCRIPCIONES GENERALES DEL TEJIDO ÓSEO Y SU BIOLOGÍA**

#### **3.1- TEJIDO ÓSEO**

##### **3.1.1- Definición**

El hueso es un órgano individual del sistema musculoesquelético.

Rho y colaboradores (1998) sugieren una organización estructural jerárquica para comprender mejor las propiedades mecánicas del material óseo, comprendiendo:

- a) Macroestructura: hueso esponjoso y cortical.
- b) Microestructura (10-500  $\mu\text{m}$ ): sistemas de Havers, células y trabéculas.
- c) Sub-microestructura (1-10  $\mu\text{m}$ ): "laminillas".
- d) Nanoestructuras (de algunos cientos de nm a 1  $\mu\text{m}$ ): colágeno fibrilar y minerales.
- e) Sub-nanoestructuras: estructuras moleculares de los elementos constituyentes como los minerales, colágeno y proteínas orgánicas no colágenas.

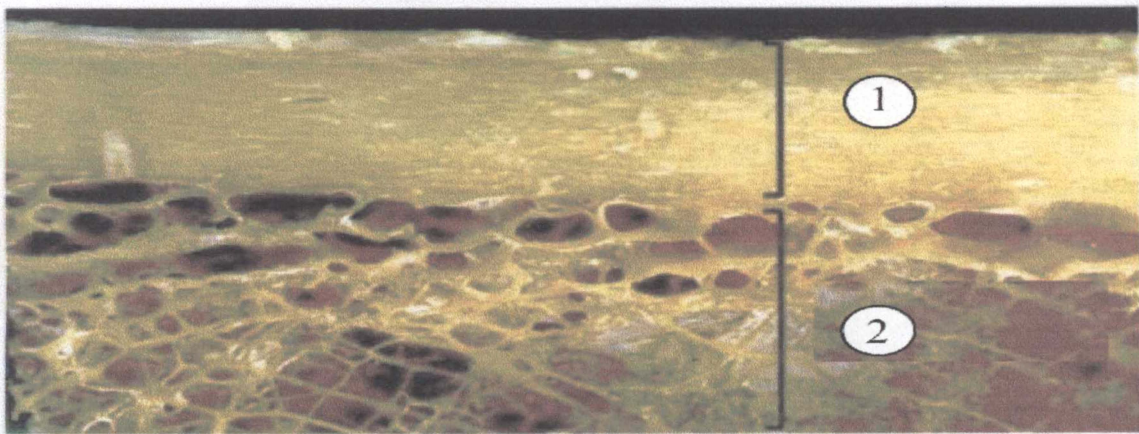
##### **a) Macroestructura**

El esqueleto contiene dos tipos de hueso macroscópicamente diferentes (Fig. 1), el hueso cortical que predomina en los huesos largos de las extremidades y el hueso esponjoso o reticulado que predomina en vértebras y pelvis (Eriksen y col., 1994).

El hueso esponjoso consiste en finas placas o espículas de espesores variados (de 50 a 400  $\mu\text{m}$ ). Estas trabéculas están interconectadas ofreciendo gran resistencia mecánica; que delimitan un sistema laberíntico ocupado por la médula ósea. En áreas sometidas a tensiones mecánicas el patrón trabecular desenvuelve una estructura que garantiza adaptación máxima para el patrón de tensión dada, cambiando la arquitectura

trabecular. El hueso cortical aparece como una masa sólida continua en la cual solo se ven espacios con la ayuda de un microscopio. Las dos formas de hueso se continúan una con otra sin un límite nítido que las separe (Fawcett, 1995)

El hueso cortical representa el 80% de la masa esquelética y el hueso trabecular el 20%. Sin embargo como el hueso esponjoso es metabólicamente más activo por unidad de volumen, el metabolismo del esqueleto queda casi igualmente distribuido entre los dos tipos de tejido óseo (Eriksen y col., 1994).



**Fig I. Representación de los dos componentes de la macroestructura ósea.**

- 1- **Hueso cortical:** constituye el 80% del esqueleto, duro, denso, forma la parte externa y el cuerpo de los huesos largos.
- 2- **Hueso esponjoso:** constituye el 20% restante, son redes tridimensionales de trabéculas, forma vértebras y extremidades de los huesos largos.

**Fuente:** Hollinger y col., 1999

Con pocas excepciones, los huesos están recubiertos por el periostio, una capa de tejido conjuntivo especializado, dotada de potencia osteogénica. La cavidad medular de la diáfisis y las cavidades del hueso esponjoso están revestidas por el endosito, una fina capa celular que también posee capacidad osteogénica (Fawcett, 1995).

El periostio es importante en el contacto aposicional y en la reparación de fracturas. Este provoca un desequilibrio entre formación y reabsorción ósea para que ocurra con el tiempo un aumento óseo (Fawcett, 1995).

El endostio tiene un nivel más elevado de actividad de remodelación. En las superficies endostiales la reabsorción tiende a exceder a la formación, dando una expansión del espacio medular en los huesos largos (Fawcett, 1995).

#### b) Microestructura

El sistema de Havers está formado por canales vasculares circunferencialmente rodeados por hueso laminar y compone el tipo de hueso cortical más complejo, llamado *osteon*. El *osteon* es un cilindro irregular y ramificado con anastomosis, compuesto por un canal neurovascular central longitudinal rodeado por células de la matriz ósea (Kaplan, 1994). Los canales haversianos se comunican unos con otros y con la superficie o la cavidad medular por medio de unos canales transversales u oblicuos llamados canales de *Volkman* (Fawcett, 1995).

#### c) Submicroestructura

Las laminillas son fibras colágenas mineralizadas con una orientación ortogonal que aumenta la resistencia ósea. En el hueso inmaduro, las fibras colágenas están desorganizadas comprometiendo la resistencia ósea (Eriksen y col., 1994).

#### d) Nanoestructura

El hueso está compuesto por colágeno y matriz mineral. De una forma simplificada se puede decir que las fibras de colágeno resisten las fuerzas de tracción y que la matriz mineral resiste la compresión (Alberts, 1989).

#### e) Subnanoestructura

La fase mineral que representa el 70 % de la matriz, está compuesta por depósitos submicroscópicos, principalmente de iones fosfato y calcio, que forman estructuras cristalinas de hidroxiapatita-  $C_{10}(PO_4)_{16}(OH)_2$ . La parte mineral contiene además, cantidades significativas de iones citrato y carbonato y, en pequeñas cantidades, iones magnesio, potasio y sodio, todos ellos de enorme importancia en los procesos metabólicos de las células, participando, asimismo, en el mantenimiento de la

homeostasis y en la elaboración de nuevos tejidos óseos (Eriksen y col., 1994; Mendoza y col., 1994).

La fase orgánica de la matriz extracelular cumple varios roles, determinando propiedades estructurales, mecánicas y bioquímicas del hueso. Aproximadamente el 90% de la matriz orgánica está compuesta por colágeno tipo I, el resto consiste en proteínas no colágenas, otros tipos de colágeno, lípidos y otras macromoléculas. La interacción de hormonas y factores del crecimiento presentes en el tejido óseo, así como los receptores celulares regulan el flujo de iones de calcio de las células, evento este que puede ser la clave del control de la mineralización ósea (Kaplan, 1994).

La asociación de hidroxapatita con fibras colágenas es responsable de la dureza y resistencia del tejido óseo. Luego de la remoción del calcio, el hueso mantiene su forma intacta, puede tornarse tan flexible como los tendones. La destrucción de la parte orgánica que es principalmente colágeno, puede ser realizada por incineración y también deja al hueso con su forma intacta pero tan quebradizo que difícilmente pueda ser manipulado sin partirse (Junqueira y Caneiro, 1999).

### 3.1.2- Células Óseas

Las principales células óseas son osteoblastos, osteoclastos y osteocitos. Una diferencia entre estas células es su localización y su origen. Los osteoblastos se alinean en la superficie ósea, los osteocitos son osteoblastos maduros incluidos en la matriz mineralizada. Estas células son derivadas de las células osteoprogenitoras, que persisten hasta la vida posnatal y se encuentran en casi todas las superficies libres de los huesos: endostio, capa interna del periostio, trabéculas de cartílago calcificado situado en la metafisis de los huesos en fase de crecimiento. Los osteoclastos derivan de la célula progenitora de granulocitos y macrófagos que en alguna fase de su desarrollo genera un osteoclasto progenitor que sigue una vía distinta de diferenciación y que se distribuye en los huesos a través del torrente sanguíneo (Fawcett, 1995).

Los factores que inducen el proceso de diferenciación celular están en constante investigación, estos incluyen la proteína ósea morfogénica, factores del crecimiento, citoquinas, interleuquina- 1 (IL-1), prostaglandina E (PGE), etc. (Gowen y Murdy, 1986; Thompson, 1986; Centrella, 1987; Nemeth, 1988; Kaplan, 1994).

Los osteoblastos producen matriz ósea, que está predominantemente formada por colágeno tipo I; además secretan proteoglicanos, osteocalcina, osteonectina y osteopontina (Kaplan, 1994; Fawcett, 1995). Cuando los osteoblastos terminan su función de sintetizar proteínas óseas pueden: “desdiferenciarse” como células que cubren la superficie del hueso recién formado (*lining cells*); morir por apoptosis; o permanecer incluidas en la matriz y convertirse en osteocitos (Chiappe, 2004).

Los osteocitos son las células más abundantes del hueso (más del 90% del total), están distribuidos volumétricamente en forma homogénea. Su cuerpo celular está contenido en espacios llamados lagunas osteocíticas. Sus extensiones citoplasmáticas se comunican con osteocitos vecinos y con las *lining cells* que cubren la superficie del hueso a través de canaliculos. Debido a su localización estratégica y a su capacidad de comunicarse con otras células, se a postulado que los osteocitos son células mecanosensoras que captan las deformaciones a que los huesos se ven sometidos y que, mediante la referida red de comunicación intercelular, transmiten señales que optimiza la rigidez ósea, por quitar hueso de donde no es necesario y colocarlo donde se requiere reforzar, en relación al régimen habitual de cargas. De esta forma participan en la manutención de la matriz ósea con síntesis y reabsorción en una extensión limitada (Fawcett, 1995; Chiappe, 2004).

El hueso sufre durante toda su vida un proceso interno de remodelación y renovación a través del cual se elimina matriz ósea en múltiples puntos que es sustituida por hueso neoformado. En este proceso, las células que llevan a cabo la reabsorción ósea son los osteoclastos. Estas células ocupan unas cavidades superficiales denominadas lagunas de *Howship*, que se forman a expensas de la acción erosiva del osteoclasto sobre el

hueso subyacente en respuesta a factores liberados por los osteoblastos (Kaplan, 1994; Fawcett, 1995; Marks y Hermes, 1996).

### 3.2- FRACTURA Y REPARACIÓN ÓSEA

La cicatrización ósea es un proceso complejo que involucra la participación coordinada de múltiples tipos celulares. El hueso a diferencia de otros tejidos, es el único que no se repara por tejido cicatrizal, sino que lo hace por tejido óseo que mantiene las mismas propiedades anatómicas y funcionales del tejido preexistente. Aunque la completa restauración de la anatomía original sólo ocurre en organismos jóvenes, la remodelación del nuevo hueso formado en adultos también lleva a la formación de una estructura lamelar estable mecánicamente. Muchos de los procesos celulares y bioquímicos que ocurren durante la cicatrización ósea son comparables con aquellos que toman lugar en la placa de crecimiento durante el desarrollo, en donde la cicatrización ósea ocurre temporalmente (Einhorn, 1998).

Debido a que la cicatrización ósea involucra a una serie de células diferentes que están bajo el control intercelular específico (hormonas, citoquinas, etc) éste puede ser visto como una serie orquestada de eventos biológicos (Einhorn, 1998).

#### 3.2.1- Responsables de la Reparación Ósea

Para comprender los procesos que ayudan a la reparación del hueso, hay que examinar estos eventos en términos de cuatro respuestas de diferentes estructuras. Estas cuatro incluyen aquellas que tienen lugar en la médula ósea, corteza, periostio y en los tejidos blandos externos.

Dependiendo del tipo de fractura, la localización y como fue su tratamiento, una o muchas de estas respuestas pueden ocurrir simultáneamente.

a) Médula ósea:

Pocas investigaciones han estudiado la respuesta de la médula ósea frente a la fractura. Un reporte de Brighton y Hunt (1991) ha demostrado que pocas horas después de la fractura existe una pérdida de la arquitectura normal de los elementos de la médula ósea, desaparición de vasos sanguíneos en la región adyacente al coagulo del callo de fractura, y una reorganización de un complemento de células de la médula en regiones de alta y baja densidad celular. En las regiones de alta densidad celular, se presenta una transformación de células endoteliales en células polimórficas y éstas células, dentro de las 24 horas posteriores a la fractura, expresan un fenotipo osteoblástico y comienzan a formar hueso. Este estudio aporta evidencia de que la médula ósea produce una contribución directa a la formación de hueso durante la fase temprana de la cicatrización.

b) Corteza:

En términos histológicos clásicos, la reparación ósea ha sido dividida en primaria y en secundaria. La cicatrización primaria, o cicatrización primaria cortical, comprende un intento directo de la corteza por reestablecer su continuidad una vez producida la interrupción. Por otro lado, la cicatrización secundaria comprende respuestas en el periostio y tejidos blandos con la consecuente formación del callo de fractura (McKibbin, 1978).

En la cicatrización primaria cortical, para que la fractura se convierta en una unidad debe unirse hueso de un sitio de la corteza con hueso de otro sitio de la corteza para reestablecer la continuidad mecánica. Este proceso ocurre sólo cuando existe una restauración anatómica de los fragmentos óseos, con fijación interna rígida, y cuando la estabilidad de la reducción de la fractura es asegurada con una disminución sustancial de la tensión interfragmentaria. Bajo estas condiciones las células que reabsorben hueso (osteoclastos) producen sus propios caminos a través del hueso cortical generando el camino para el ingreso de vasos sanguíneos. Estos nuevos vasos sanguíneos van acompañados por células endoteliales y células mesenquimales perivasculares las cuales se transforman en células osteoprogenitoras que darán origen

a osteoblastos. Estos eventos resultan en la formación de discretas unidades remodeladoras conocidas como “conos cortantes” (McKibbin, 1978).

#### c) Periostio

Quizás la respuesta más importante en la reparación ósea sea la del periostio. Aquí, células osteoprogenitoras y células mesenquimales indiferenciadas contribuyen en el proceso de cicatrización ósea por una conjunción de la osificación intramembranosa embrionaria y la formación de hueso endocondral. La respuesta desde el periostio es una reacción fundamental para el hueso injuriado y es favorecida por el movimiento e inhibida por fijaciones rígidas (McKibbin, 1978). El hueso que se forma por osificación intramembranosa es encontrado alejado del sitio de fractura y resulta en la formación de un callo óseo duro, y produce hueso directamente sin la formación previa de cartílago. Las proteínas estructurales asociadas con la matriz de hueso aparecen muy temprano en este tejido. El hueso que se forma por osificación endocondral es formado adyacente al sitio de fractura, involucra el desarrollo del cartílago el cual se calcifica y es reemplazado por hueso. (Fawcett, 1995; Einhorn, 1998).

#### d) Tejidos blandos:

La respuesta de los tejidos blandos externos es también un importante proceso en la secuencia de la reparación ósea. Esta respuesta involucra una rápida actividad celular y el desarrollo temprano de un callo provisional que estabiliza los fragmentos de la fractura. Este proceso depende fuertemente de factores mecánicos y posiblemente también sea deprimida por una rígida inmovilización (McKibbin, 1978). El tipo de tejido que es formado por los tejidos blandos externos evoluciona a través del proceso de osificación endocondral en el cual células mesenquimales indiferenciadas son reclutadas, multiplicadas, y eventualmente diferenciadas a células formadoras de cartílago (Einhorn, 1998).



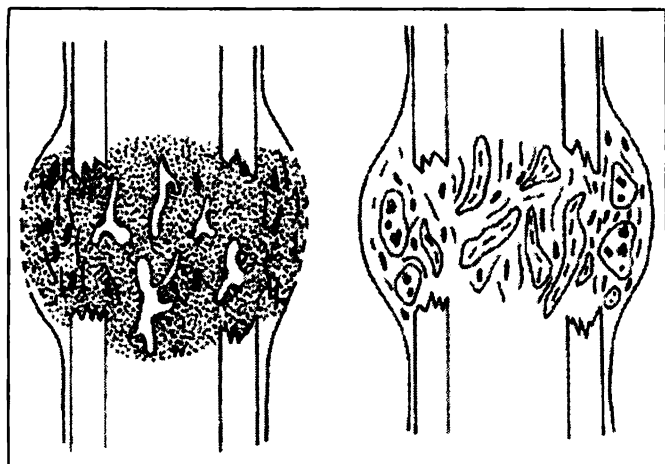
### **3.2.2- Secuencia de Reparación Ósea**

La cicatrización ósea primaria es poco común. La mayoría de las fracturas se reparan por cicatrización ósea secundaria, y esto involucra una combinación de osificación intramembranosa y endocondral. Estos dos procesos participan en la secuencia de reparación de fracturas siguiendo cinco etapas de cicatrización. Estas etapas incluyen una etapa inicial en la cual se forma un hematoma producido por ruptura de los vasos sanguíneos de la zona del traumatismo, acompañada de lesiones en las partes blandas. Esto ocasiona una interrupción del abastecimiento sanguíneo, con la consiguiente muerte de osteocitos y destrucción de matriz ósea (Mendoza y col., 1994). Luego se produce el desencadenamiento de los fenómenos vasculares con manifestaciones inflamatorias de intensidades variadas y dependientes de la importancia de la necrosis tisular. Posteriormente se desarrolla la etapa de angiogénesis, previa limpieza de los restos celulares a expensas de los procesos de fagocitosis, y el cartílago comienza a formarse (Mendoza y col., 1994). Luego tres etapas sucesivas de calcificación del cartílago, remoción del cartílago y formación de hueso; por último la etapa más crónica es la remodelación ósea. El hueso producido por osificación intramembranosa es formado por células osteoprogenitoras que residen en el periostio (Einhorn, 1998).

Recientemente la evidencia sugiere que la función del hematoma producido en la primera etapa de la reparación ósea, es ser el origen de moléculas que tienen la capacidad de iniciar la cascada de eventos celulares que son importantes para la cicatrización ósea (Bolander, 1992). Las células inflamatorias que secretan citoquinas tales como IL-1 e IL-6 tal vez sean importantes en la regulación de eventos tempranos en el proceso de reparación ósea (Einhorn y col., 1995).

Entre los primeros siete a diez días de la reparación, la fractura muestra una osificación intramembranosa temprana debajo del periostio. También existe una transición de los tejidos adyacentes a tejido fibrocartilaginoso. En la mitad de la segunda semana después de la fractura, existe abundante cartílago cubriendo el sitio de fractura y este

tejido condroide comienza las preparaciones bioquímicas para sufrir su calcificación. En este momento, el callo puede ser dividido en dos componentes (Fig. II): callo óseo (duro) en donde la osificación intramembranosa está llevándose a cabo, y el callo fibrocartilaginoso (blando), donde el proceso de osificación endocondral está procesándose (Einhorn, 1998).



**Fig II. Cicatrización ósea.** A la izquierda, callo fibroso: coágulo sanguíneo organizado, tejido de granulación que se condensa en tejido conjuntivo. A la derecha, callo fibrocartilaginoso que lentamente es erosionado y sustituido por hueso.

La calcificación del cartílago del callo de fractura ocurre por un mecanismo idéntico al que tiene lugar en la placa de crecimiento. Aproximadamente a los nueve días después de la fractura, existe una abundancia de condrocitos proliferativos que sufren mitosis y divisiones. Dos semanas después de la fractura, la proliferación celular declina y condrocitos hipertróficos se convierten en el tipo de célula dominante en el callo condroide. Los condrocitos hipertróficos muestran brotes de estructuras membranas para formar cuerpos vesiculares. Estos cuerpos, conocidos como vesículas de la matriz, migran hacia la matriz extracelular donde tienen participación en la regulación de la calcificación (Einhorn, 1998). Las mitocondrias de estas células almacenan y liberan calcio para su transporte mediante estas vesículas (Brighton y col., 1986). Un estudio muestra que las vesículas de la matriz poseen la enzima complementaria para la degradación proteolítica de la matriz extracelular, un paso necesario en la preparación del callo para su calcificación. Es importante resaltar que las vesículas de la matriz son ricas en fosfatasa alcalina (FA) que responde a la vitamina D, una vitamina esencial en la mineralización ósea. Se supone que los cristales de hidroxapatita se depositan en estas vesículas que a su vez se fragmentan y liberan el mineral en la matriz. (Fawcett,

1995). La FA es necesaria para degradar la fosfodiéstera de la matriz. De esta forma se liberan iones fosfato para la precipitación con calcio. Una expresión cuantitativa de la actividad proteasa muestra un pico en todos los tipos de proteasas neutras en aproximadamente 14 días después de la fractura con un pico en la FA que ocurre aproximadamente a los 3 días después (Einhorn y col., 1989). Esta distribución temporal de enzimas coincide con el concepto de que grandes proteínas y proteoglicanos en la matriz extracelular del callo pueden inhibir la calcificación hasta que son degradadas suficientemente (Einhorn, 1998).

Una vez que el cartílago es calcificado, se convierte en un blanco para los vasos sanguíneos que ingresan. Estos vasos aportan con ellos células perivasculares que son las progenitoras de osteoblastos. El cartílago calcificado en el callo de fractura es casi idéntico a la esponjosa primaria encontrada en la placa de crecimiento y, se reabsorbe por condroclastos; el tejido óseo que reemplaza el cartílago calcificado es casi idéntico a la esponjosa secundaria en la placa de crecimiento (Einhorn, 1998).

La formación de hueso intramembranoso por el periostio comienza inmediatamente después de producida la fractura pero las actividades proliferativas en las células se detiene después de 2 semanas. En este tiempo el proceso endocondral ha logrado una plataforma de cartílago y una cantidad sustancial de tejido óseo ya ha sido formado adyacente al sitio de fractura. Una vez que la fractura se ha unificado por un puente óseo, el callo ahora completamente compuesto por tejido óseo, sufre remodelación para formar una estructura lamelar competente mecánicamente (Einhorn, 1998).

## **4- FISIOTERAPIA**

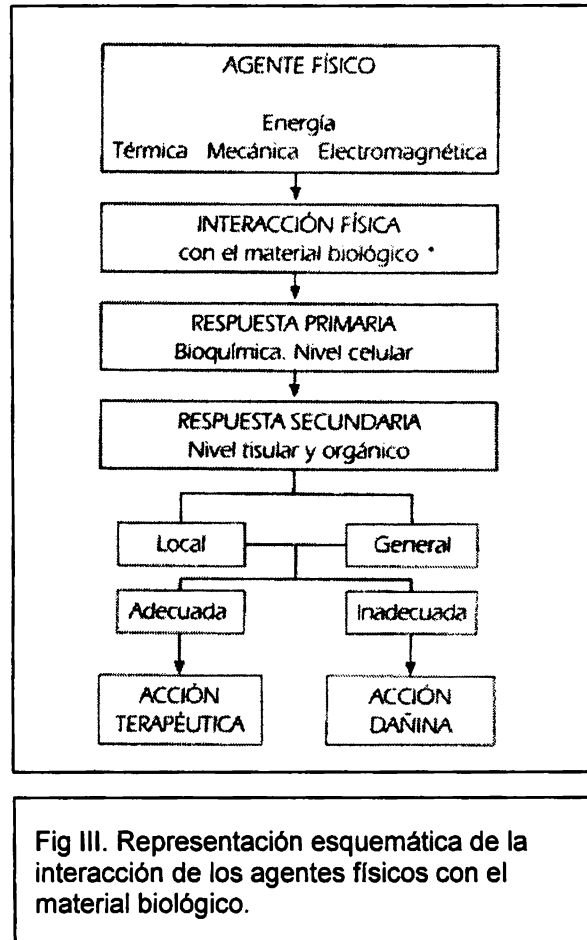
### **4.1- DEFINICIÓN**

Etimológicamente, fisioterapia equivale a terapéutica física, aunque sólo supone una parte de ella, si se considera que esta última incluye a todos los agentes físicos, mientras que la primera se refiere exclusivamente a los agentes no ionizantes. La Confederación Mundial de Fisioterapia establece la siguiente definición: "La fisioterapia es la ciencia del tratamiento físico, es decir, el conjunto de técnicas que mediante la aplicación de agentes físicos, curan, previenen, recuperan y readaptan a los pacientes susceptibles de recibir tratamiento físico" (Martinez y col., 1998).

La medicina física estudia ampliamente los recursos que aportan los agentes físicos no ionizantes (mecánicos, térmicos y electromagnéticos). Los agentes físicos también deben considerarse como elementos con capacidad lesiva para el organismo. Los riesgos potenciales deben conocerse para establecer con claridad los límites de tolerancia y las situaciones en que deba tenerse especial precaución para realizar las diferentes aplicaciones de forma adecuada (Martinez y col., 1998).

### **4.2- AGENTES FÍSICOS EN MEDICINA FÍSICA**

La medicina física fue una de las primeras modalidades que encontró el hombre para aliviar sus padecimientos. A partir de los grandes descubrimientos de la física, esta terapia de tipo "natural" pasó a incorporar agentes físicos producidos artificialmente (electricidad estática, ultrasonidos, microondas, láser, etc.). Todo agente físico es portador de energía y su interacción con el material biológico implica la cesión de toda o parte de ella. La energía cedida y absorbida origina una serie de efectos sobre el material biológico (Fig. III): unos de tipo físico o primario y otros de naturaleza bioquímica o secundaria de los que deriva sus efectos terapéuticos o, en su caso, su acción nociva. (Martínez y col., 1998).



Fuente: Martínez y col.; 1998

Atendiendo a un efecto primario en particular, la capacidad de producir ionizaciones en la materia, los agentes físicos pueden clasificarse en ionizantes y no ionizante (Martínez y col., 1998):

**Agentes ionizantes:**

Incluye las radiaciones que al interactuar con la materia producen la ionización de los átomos que la componen. Estos agentes constituyen el principal interés de la física nuclear y de la radiología.

**Agentes no ionizantes:**

Son los agentes que se emplean en medicina física. En ellos se incluyen el resto de los agentes físicos, naturales y artificiales, cuya interacción con el material biológico no

produce ionizaciones atómicas, pues la energía que trasmite al medio es insuficiente para ello.

#### 4.2.1- Clasificación de los Agentes Físicos No Ionizantes:

Los agentes físicos no ionizantes pueden clasificarse, atendiendo a su naturaleza, en varios grupos (Martínez y col; 1998):

**Agentes cinéticos o mecánicos:**

Implican la emisión y transmisión de fuerza o energía mecánica, que conlleva el movimiento del organismo, los tejidos o las moléculas sobre los que actúan. La aplicación de los agentes cinéticos da lugar a una serie de modalidades en medicina física:

- Kinesiterapia: En su más amplia aceptación significa “tratamiento por el movimiento”. Tiene con frecuencia como objetivo reestablecer movimientos normales.
- Masoterapia: Es el tratamiento mediante masajes, o sea, toda técnica manual o mecánica que moviliza de forma metódica los tejidos con fines terapéuticos, preventivos, higiénicos, estéticos o deportivos.
- Ultrasonidos Terapéuticos: Son ondas mecánicas de tipo longitudinal, que se propagan por las partículas del medio como un movimiento ondulatorio, a una velocidad determinada a partir de su foco emisor. Los ultrasonidos de emisión continua, aplicados a intensidad media o baja, se emplean fundamentalmente por su efecto térmico en profundidad.

**Agentes térmicos:**

El aporte de calor (calentamiento) o la sustracción de éste (enfriamiento) son los recursos físicos más antiguos.

- Termoterapia: El calor produce una serie de respuestas fisiológicas que pueden utilizarse con finalidad terapéutica. Según el mecanismo principal de cesión de

energía térmica al organismo, la termoterapia puede utilizarse por conducción, convección o conversión de otras formas de energía en calor.

- Crioterapia: Se basa en las respuestas fisiológicas de la aplicación de frío sobre el organismo. Así pues, pretende substraerse energía térmica con finalidad curativa.

#### Agentes electromagnéticos:

El método terapéutico que en medicina física utiliza la electricidad como agente físico se estudia en la electroterapia (Tabla I.)

- Electroterapia: Estudia la corriente eléctrica como agente terapéutico. Se incluyen también otras modalidades de energía que se transmiten en forma de ondas electromagnéticas, obtenidas por medios artificiales, como los rayos infrarrojos, láser y campos magnéticos fijos o variables.

- Fototerapia: Utilización terapéutica de la radiación infrarroja, ultravioleta y radiación solar. La laserterapia constituye un apartado especial de la fototerapia.

**Tabla I. Agentes electromagnéticos de utilización frecuente en medicina física.**

Agente	Longitud de onda	Utilización terapéutico
<b>Corrientes estimulantes</b> (baja y media frecuencia)	$3 \times 10^8 - 7,5 \times 10^3$ Km.	Electroestimulación
<b>Onda corta</b> (diatermia)	2m	Termoterapia profunda
<b>Microondas</b> (diatermia)	11mm	Termoterapia profunda
<b>Infrarrojo (IR)</b> IR distales IR proximales	10.000-1.500nm 1,50-780nm	Termoterapia superficial
<b>Láser</b> Láser de As-Ga Láser de He-Ne	904-910nm (IR) 632nm (rojo)	Modulación del dolor Acción trófica
<b>Ultravioleta (UV)</b> UV-A o próximo UV-B o medio UV-C o corto	400-315nm 315-280nm 280-185nm	Acción Fotoquímica, Acción Fotoeléctrica, Bactericida

**Fuente:** Martínez y col., 1998



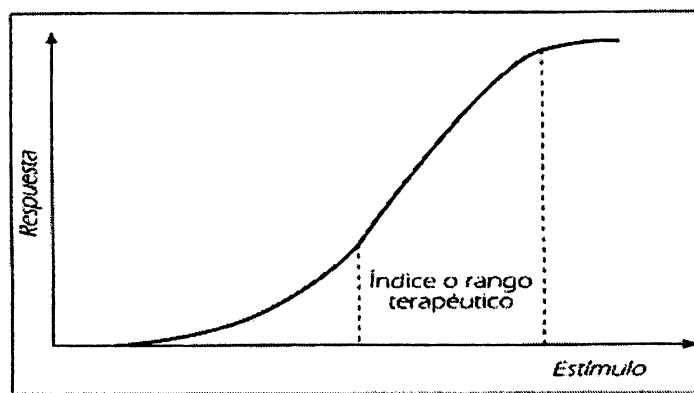
#### 4.3- METAS TERAPÉUTICAS DE LOS AGENTES FÍSICOS:

Los agentes empleados en medicina física van a provocar una reacción, por lo que constituyen una terapia de “reacción”, “reactivación” o “estimulación” de los procesos fisiológicos normales que realiza un tejido u órgano concreto. Quizá la reacción más característica de muchos de los agentes físicos sea la producción de vasodilatación, con el consiguiente aumento de flujo sanguíneo o hiperemia. La hiperemia reactiva contribuye a mejorar la nutrición tisular, al aumentar el aporte de oxígeno y de sustancias nutritivas y defensivas, y a acelerar la descarga de productos de desecho derivados del metabolismo (Martínez y col., 1998).

La meta terapéutica de estos agentes es permitir que el animal utilice con plenitud, la parte corporal injuriada. Sus beneficios abarcan (Taylor, 1994):

- resolución temprana de la inflamación.
- incrementar el flujo sanguíneo-linfático en el área afectada.
- hiperproducción de colágeno.
- prevención de contracción periarticular.
- promoción de la homeostasis articular normal.
- prevención o reducción de la miotrofia.
- defectos psicológicos positivos para el paciente y propietarios.

El principio de *Schultz-Armdt*, aunque ofrece una base algo imprecisa respecto a la correspondencia entre estímulo (dosis) y reacción (respuesta), establece que no se producen reacciones o cambios en los tejidos si la energía absorbida es insuficiente para estimular los tejidos receptores. Por el contrario, un exceso de energía absorbido durante un periodo de tiempo determinado puede alterar la función tisular normal y provocar daños considerables (Fig. IV). De este principio se desprende el concepto de índice terapéutico en el cual hay un margen de dosis en el que la reacción producida es terapéuticamente efectiva (Colls Cruañes, 1984; Martínez y col., 1998).



**Fig. IV. Índice Terapéutico.** Existe un margen en la intensidad del estímulo aplicado y el efecto obtenido. Por debajo de dicho margen, las reacciones no se presentan o son muy débiles. Si se supera, la respuesta resulta excesiva o dañina.

**Fuente:** Martínez y col., 1998

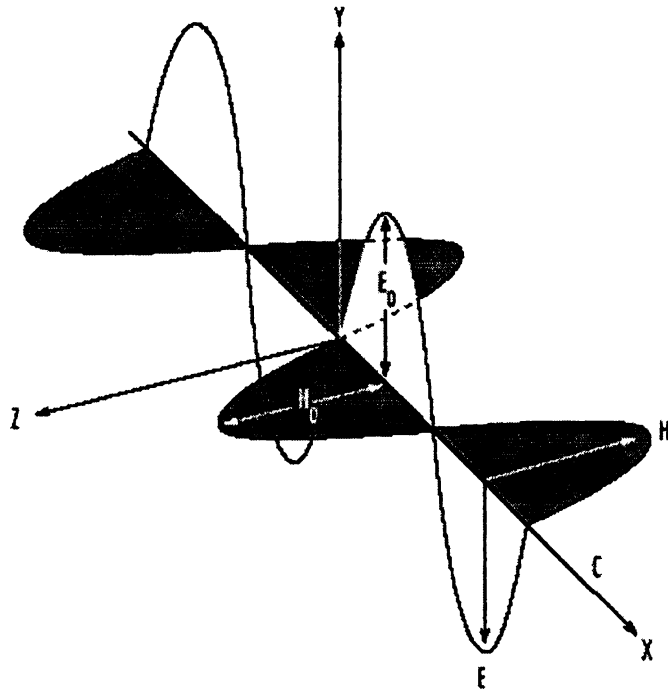
En las aplicaciones terapéuticas hay que tener en cuenta que la mayoría de las veces la respuesta biológica no es inmediata, sino que existe un período de latencia entre la aplicación del agente y la aparición de los efectos. También hay que considerar que los efectos se presentan tanto en forma local (en la zona de aplicación) como general (Martínez y col., 1998).

## **5. RADIACIÓN ELECTROMAGNETICA**

### **5.1. DESCRIPCIÓN**

Las ondas electromagnéticas se caracterizan por un conjunto de parámetros, que incluyen la frecuencia ( $f$ ), la longitud de onda ( $\lambda$ ), la intensidad del campo eléctrico, la intensidad del campo magnético y la velocidad de propagación, entre otros. La Figura V representa la propagación de una onda electromagnética en el espacio. La frecuencia se define como el número de cambios completos por segundo del campo eléctrico o magnético en un punto dado, y se expresa en hertzios (Hz). La longitud de onda es la distancia entre dos crestas o dos valles consecutivos de la onda (máximos o

mínimos). La frecuencia, la longitud de onda y la velocidad de la onda ( $v$ ) se relacionan de la siguiente manera:  $v = f \lambda$ . (Hansson Mild, 1980; Skoog y Leary, 1994)



**Fig. V. Onda electromagnética:** Tiene un componente eléctrico y otro magnético. En una onda plana los campos eléctrico y magnético son perpendiculares entre sí y la dirección de propagación es perpendicular a ambos campos, eléctrico y magnético.

Fuente: Hansson Mild, 1980

## 5.2 ESPECTRO ELECTROMAGNETICO

El conjunto de todas las radiaciones electromagnéticas constituye un espectro de gran amplitud denominado espectro electromagnético. En este se disponen de forma ordenada todas las radiaciones de acuerdo con su frecuencia y longitud de onda. Es un espectro continuo que se extiende desde las ondas de radiofrecuencia y abarca a las microondas, luz infrarroja, luz visible, luz ultravioleta, rayos X, rayos gamma y rayos cósmicos. Conforme se asciende en el espectro, disminuye la longitud de onda y aumenta la frecuencia, con lo que también lo hace la energía de las radiaciones. Una

variedad de términos son usados para identificar un punto o banda en este espectro, como son la energía, frecuencia, y longitud de onda (Blatt, 1991; Skoog y Leary, 1994; Sawcer y Lowe, 2000).

### 5.3 INTERACCIÓN DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA CON LA MATERIA

Albert Einstein propuso tres procesos básicos por la que la radiación electromagnética puede interaccionar con la materia (átomo, molécula, o cristal). Estos procesos de mecánica cuántica son absorción, emisión espontánea, y emisión estimulada (Sawcer y Lowe, 2000).

Toda la materia está compuesta por protones, neutrones y electrones. Los protones y neutrones se encuentran en el núcleo, y los electrones asociados con este núcleo están en "órbitas". Los electrones se dice que existen en niveles de energía o estados (Sawcer y Lowe, 2000).

Bajo condiciones basales, los electrones ocupan los niveles de energía más bajos, y los electrones se dice que están en su estado basal. Si aplicamos energía a este sistema, un electrón se puede elevar desde el nivel inferior al superior. El electrón se dice que esta en un estado excitado. El proceso de absorción (Fig. VI a) se dice que ocurre cuando un fotón ("partícula" de energía luminosa) de una energía apropiada interactúa con un material y esa energía transferida al material, produce el pasaje de un electrón a un estado excitado (Blatt, 1991; Sawcer y Lowe, 2000).

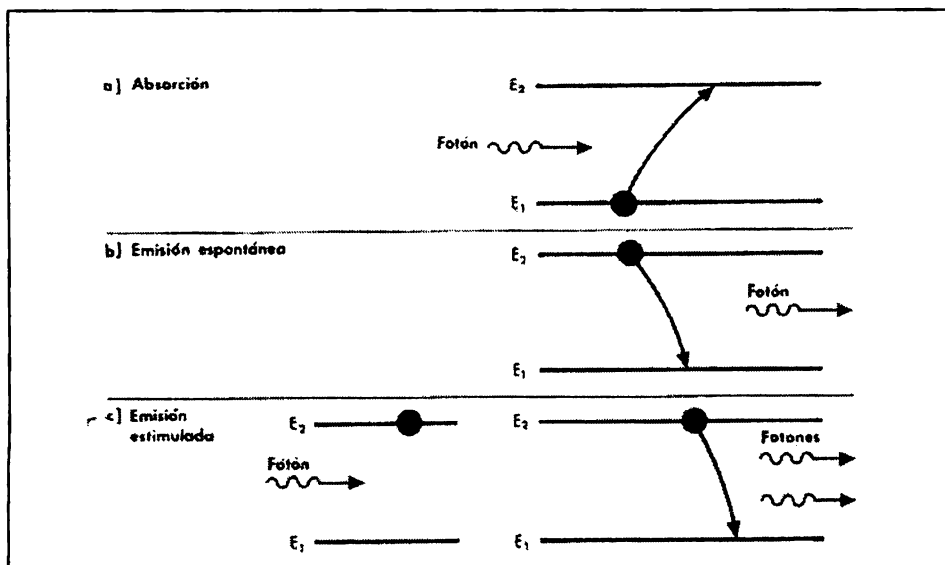
Comparado con el estado excitado, el estado basal es una situación más estable. La mecánica cuántica predice que después de un período de tiempo, el material en un estado excitado tiende espontáneamente a retornar al estado basal, y en este acto pierde el exceso de energía y emite un fotón. Este es el proceso de emisión espontánea (Fig. VI b). El fotón producido de esta manera es de la misma energía, frecuencia y longitud de onda. Sin embargo, la radiación producida es definida como no coherente. Para que se produzca una emisión coherente, es necesario que los electrones

corticales del material emisor se desexciten al mismo tiempo y siempre entre los mismos niveles (Blatt, 1991; Sawcer y Lowe, 2000).

El tercer proceso descrito por Einstein es el proceso de emisión estimulada de la radiación (fig VII c), por la que se induce al sistema a decaer desde el estado superior hasta el inferior como resultado de la exposición de una radiación de frecuencia determinada. Existe una interacción de la materia en un estado excitado con un segundo fotón de la misma energía que la que causó la excitación inicial. Cuando esta interacción ocurre, existe una gran probabilidad que el material que fue estimulado para decaer a un estado inferior pueda emitir un fotón adicional de idéntica energía. El fotón emitido y el fotón estimulado están relacionados; ambos son espacial y temporalmente coherentes en su viaje en la misma dirección, están en fase y tienen la misma energía (Skoog y Leary, 1994; Sawcer y Lowe, 2000).

En un láser, átomos o moléculas idénticos se llevan a un estado excitado mediante la energía suministrada por la lámpara de bombeo. Cuando los átomos o moléculas se encuentran en un estado excitado, un fotón puede estimular a un átomo o molécula excitados para que emitan un segundo fotón de la misma energía que viaja en fase en la misma dirección que el fotón estimulante (Fig. VI c). Con ello se ha amplificado al doble la luz emitida. Este mismo proceso repetido en cascada hace que se forme un haz luminoso que se refleja hacia delante y hacia atrás entre los espejos de la cavidad resonante. Al ser uno de estos espejos parcialmente transparente, una parte de la energía luminosa abandona la cavidad resonante dando lugar a la emisión del haz láser. Aunque en la práctica los dos espejos paralelos suelen estar curvados para producir una situación de resonancia más estable, el principio básico es el mismo para todos los láseres (Slaney; 1984; Blatt, 1991; Skoog y Leary, 1994; Sawcer y Lowe, 2000).





**Fig. VI Absorción, E. espontánea, E. estimulada:** En la figura vemos que, al aplicar una energía exterior al átomo, un electrón puede desplazarse a una órbita más alejada. Si este electrón en cambio cae a un orbital más abajo desprenderá una energía en forma de radiación electromagnética. (REM).

Fuente: Colls Cruaños, 1985

## 6. LÁSER

### 6.1- HISTORIA

La historia del láser comienza en el año 1916, cuando Albert Einstein estudiaba el comportamiento de los electrones en el interior del átomo, y previó la posibilidad de estimular los electrones para que emitiesen luz de una longitud de onda determinada. El estímulo se lo proporcionaría una luz adicional de la misma longitud de onda; de esta manera describió el fenómeno teórico de emisión estimulada de la radiación y en 1951, Pourcell y Pound lo realizaron experimentalmente (Martinez y col., 1998; Colls Cruaños., 1985).

En el año 1951, Townes descubre el concepto de amplificación y así, de esta manera, se arma el concepto de la amplificación de la luz por emisión estimulada de radiación.

En 1960, Theodore H. Maiman construyó el primer emisor de láser a rubí, y en el año 1961 se practicó con éxito la primera intervención quirúrgica con láser (láser de alta potencia). En 1962, fue desarrollado el primer láser semiconductor. El láser en la práctica terapéutica aparece en 1965 por medio de los Dres. Sinclair y Knoll "láser de baja potencia". El modo de acción del láser se comenzó a estudiar por medio de cultivos celulares y a partir de estos y otros estudios se llegó a la conclusión de que a pesar de que toda irradiación queda absorbida a nivel superficial los efectos terapéuticos se manifiestan a una profundidad superior. (Colls Cruañes, 1985)

Uno de los primeros pioneros en la aplicación de láser de baja intensidad en áreas biomédicas fue Endre Mester (1966) con la publicación de un trabajo referente a los efectos atérmicos de la luz láser sobre la piel de ratas. Durante la década del 70, Mester inicio estudios en células y en animales de experimentación, en la cual intentó demostrar lo que consideraba ser, los potenciales efectos carcinogénicos del láser de He-Ne de baja potencia. En uno de los experimentos Mester utilizó el láser de He-Ne para irradiar carcinomas experimentales en ratones, esperando encontrar una aceleración en el crecimiento de los carcinomas como resultado de la irradiación. Para su sorpresa, los carcinomas experimentales no fueron afectados por la irradiación de He-Ne. Entretanto, y sorprendentemente, los animales irradiados (que habían sufrido tricotomía para los propósitos del experimento) tuvieron un crecimiento de pelos más rápido que los animales del grupo control (Baxter, 1997).

Al poco tiempo, Mester y su equipo realizaron una serie de experimentos con animales y todos mostraron un efecto estimulante en la velocidad de reparación de tejido en varias heridas inducidas experimentalmente como resultado de la irradiación láser de He-Ne de baja potencia. Basado en el éxito de este trabajo experimental, este mismo grupo de investigadores comenzó a realizar estudios clínicos en pacientes humanos portadores de heridas crónicas de varias etiologías que no respondían a otros tratamientos. Resultados similarmente gratificantes fueron encontrados en estos pacientes que demostraron la primera evidencia directa del potencial fotobioestimulante de la terapia láser de baja energía en humanos *in vivo* (Baxter, 1997).

A partir de este trabajo pionero, una diversidad de proyectos de investigación se iniciaron durante la década del 80, principalmente en Europa, China y la antigua Unión Soviética (Baxter, 1997).

El uso de la aplicación de la terapia láser de baja intensidad creció considerablemente en los años siguientes y ha sido utilizada con éxito en diversas áreas, incluyendo fisioterapia, medicina veterinaria, odontología y como una alternativa de las agujas metálicas en acupuntura (Baxter, 1997).

## 6.2- CONCEPTO

Un láser es un dispositivo que produce energía radiante electromagnética coherente dentro del espectro óptico comprendido entre la zona final del ultravioleta y el infrarrojo lejano (Sliney, 1987).

La palabra láser es un acrónimo de las palabras inglesas: *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, es decir, amplificación de luz mediante emisión estimulada de radiación (Martinez y Sendra, 1998).

## 6.3- CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA EMISIÓN LÁSER

Para la emisión de luz visible a partir de un foco, debe comunicarse a este una energía que excite sus átomos. Generalmente se producirá una desexcitación inmediata con emisión continua de radiaciones que son: heterocrómicas (de distinta longitud de onda), no son coherentes (no se encuentran en fase) y se propagan en todas las direcciones del espacio (Skoog y Leary, 1994).

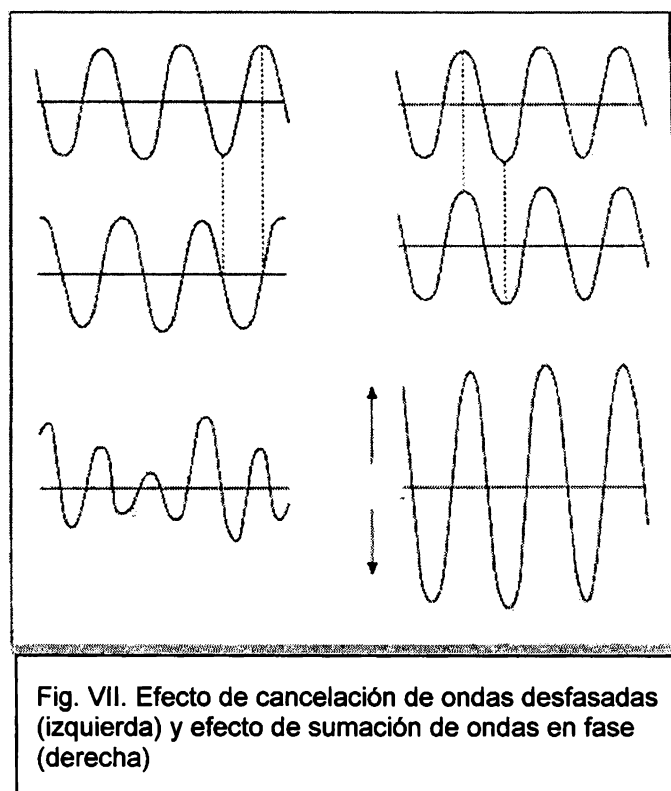
La radiación láser posee todas las propiedades de la luz; pero proporciona una forma de emisión de la radiación luminosa de características especiales. La radiación láser es monocromática (una sola longitud de onda), posee una gran direccionalidad (escasa



divergencia) y puede concentrar un elevado número de fotones en fase (coherencia) en áreas muy pequeñas (Martínez y Sendra, 1998).

**Monocromaticidad:** Permite aprovechar las características físicas y biológicas que posee la radiación de una longitud de onda determinada. Actualmente, existen láseres que emiten en el visible, infrarrojo, ultravioleta e, incluso, en la banda espectral de los rayos X.

**Coherencia:** Todos los fotones de la radiación están en fase. Al coincidir en una misma dirección de propagación, los estados vibracionales se suman. El resultado es un efecto de amplificación en la intensidad luminosa emitida (Fig. VII)



Fuente: Martínez y Sendra, 1998

**Direccionalidad:** La disposición de una cavidad resonante, uno de los más importantes requisitos técnicos en la construcción de los sistemas láser, proporciona otra de las características de esta radiación, su escasa divergencia. Dado que solo se amplifican los fotones emitidos en el sentido de un eje del material emisor, la radiación resultante

posee una marcada direccionalidad de emisión, lo cual la hace idónea para diversas aplicaciones prácticas, en las que se requiere precisión en la iluminación (Skoog y Leary, 1994; Martínez y Sendra, 1998; Plaja, 2003).

#### 6.4 PRODUCCIÓN DE RADIACIÓN LÁSER

Un sistema de emisión láser debe contar con: un medio activo, un sistema de bombeo y una cavidad resonante. Al desexcitarse los átomos del medio activo, se genera radiación monocromática de longitud de onda característica, fenómeno que se estimula en presencia de otra radiación de igual longitud de onda. El sistema de bombeo debe aportar la energía necesaria para producir la excitación de los átomos.

Para obtener un proceso de emisión láser, es necesario alcanzar las condiciones umbrales de funcionamiento que permitan la reacción en cadena de los fotones estimulados. Debe conseguirse que haya mayor número de electrones en el nivel energético de excitación que en el nivel de energía estable. Este fenómeno se conoce como inversión de población (Martínez y Sendra, 1998).

La cavidad resonante, constituida por dos paredes reflectantes paralelas, consigue un gran flujo de fotones en la misma dirección. Esta cavidad permite alcanzar tres objetivos esenciales:

- Aprovechar al máximo la inversión de población.
- Realizar la amplificación en una única dirección.
- Lograr la predominante monocromaticidad de la emisión.

Cuando la inversión de población se ha producido, la caída espontánea de unos cuantos electrones al nivel estable origina los fotones, con la frecuencia adecuada para iniciar la reacción en cadena de emisión estimulada, en un medio que siempre mantiene un nivel de población invertida, gracias al sistema de bombeo, y en el que constantemente hay fotones de idéntica frecuencia pasando a su través, manteniendo

la emisión estimulada hasta que cese el bombeo energético. (Martínez y Sendra, 1998).

## 6.5- TIPOS DE LASER DE ACUERDO A SU POTENCIA

### 6.5.1- Láser de Alta Potencia

El efecto térmico de la radiación láser de elevada potencia, del orden de watos, sobre los tejidos, es la base del denominado "láser quirúrgico". Los principales tipos son: el láser de rubí, el de dióxido de carbono, el de argón y el de neodimio-YAG (Martínez y Sendra, 1998; Plaja, 2003).

### 6.5.2- Láser de Baja Potencia

Trabajan a potencias del orden de los miliwatos y no elevan la temperatura tisular. Su acción se basa en efectos fotoquímicos. Los principales tipos son: el láser de Helio-Neón (He-Ne), el láser de arseniuro de galio (As-Ga) y el de CO<sub>2</sub> desfocalizado (Martínez y Sendra, 1998; Plaja, 2003).

## 6.6 DESCRIPCIÓN DE LOS TIPOS DE LÁSER DE BAJA POTENCIA

Los equipos principalmente empleados en laserterapia de baja potencia son, el de Arseniuro de Galio (Ga-As, láser pulsado con longitud de onda de 904 nm), el de Arseniuro de Galio y Aluminio transmisible por fibra óptica (Ga-Al-As con longitud de onda de 830 nm) y el de Helio-Neón (He-Ne con longitud de onda de 632,8 nm), este último dentro del espectro visible, concretamente el rojo. Estos láseres se fabrican en unidades aisladas o combinadas, en tamaño pequeño (portátil o consola) y tipo cañón.

### 6.6.1- Láser de He-Ne

Se trata del primer láser de funcionamiento continuo y aún sigue siendo uno de los sistemas láser más empleado en la actualidad. De las líneas que es capaz de emitir, la línea roja continua de 632,8 nm es, probablemente, la que ha sido más utilizada, y tiene gran importancia en laserterapia bioestimulativa.

El plasma de He-Ne, que constituye el medio activo, está compuesto de una mezcla de ambos gases nobles, con predominio del helio (85-90%) sobre el neón (10-15%), contenido en un tubo de características especiales (Fig. VIII). La emisión de una descarga eléctrica en el interior del gas provoca que muchos átomos de helio se sitúen en niveles metaestables, esto es, estados en los cuales un átomo existe durante un largo tiempo antes de decaer a un nivel inferior, porque la probabilidad de un decaimiento espontáneo hasta el estado fundamental es muy remota. Estos niveles pierden la excitación principalmente por colisión con otros átomos. En la mezcla de gases, tienen lugar colisiones entre los átomos de helio en estado metaestable y los de neón en estado fundamental, por lo que se produce entre ellos una transferencia de energía. Posteriormente, la desexcitación de los átomos de neón puede producir una serie de emisiones; la de 632,8 nm es la más intensa. De todas la radiaciones emitidas, sólo una pequeña parte tomará una dirección paralela al capilar central instalado en el tubo, la cual deberá ser amplificada por una cavidad óptica o "resonador óptico" (Martinez y Sendra, 1998).

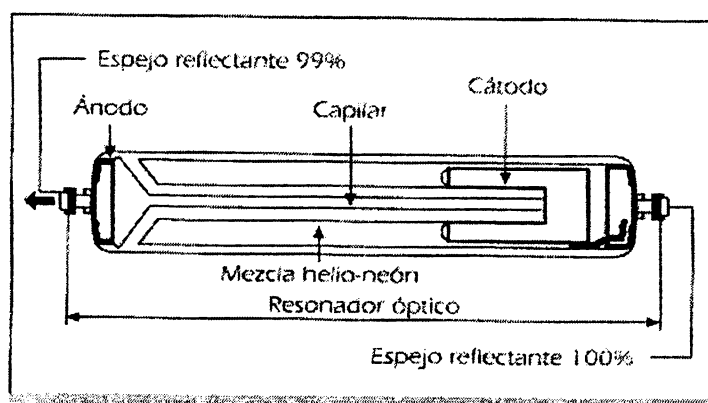


Fig.VIII. Representación esquemática de un tubo de He-Ne

Fuente: Martínez y Sendra, 1998

La parte fundamental del láser de He-Ne es el tubo presurizado, en el que se encuentra la mezcla gaseosa de helio y neón. La potencia de salida es fija, dependiente de la dimensión del tubo y de la densidad de gas utilizada. En las unidades de consola oscila entre 1 y 15 mW. En las unidades de tipo cañón, que permiten emplear tubos más grandes, la potencia de salida puede superar los 30 mW. Por lo general, estos equipos de He-Ne emiten de forma continua, aunque mediante un simple dispositivo puede interrumpirse el haz para aplicarlo a impulsos con la frecuencia deseada (Martinez y Sendra, 1998; Plaja, 2003).

En los equipos portátiles y consolas, la radiación se transmite por una fibra óptica que se acopla al orificio de salida de la radiación láser y conduce ésta hacia el extremo opuesto, que se utiliza como aplicador. Las fibras ópticas están constituidas por dos cuerpos cilíndricos (interior y exterior) de cuarzo o plástico, transparentes, aunque de distinto índice de refracción. La utilización de fibra óptica permite aplicaciones puntuales, colocando su extremo en contacto con la piel, dirigiendo el haz en forma perpendicular al lugar que se pretende irradiar (Martinez y Sendra, 1998).

Los equipos de He-Ne de mayor potencia se fabrican en forma de cañón. En estas unidades, el tubo se dispone en el interior de una carcasa alargada, que se articula a una consola con una base rodante, para facilitar su desplazamiento. La radiación láser se emite por un extremo y puede aplicarse directamente o mediante fibra óptica (Martinez y Sendra, 1998).

#### 6.6.2- Láser de Arseniuro de Galio

Se trata de un láser de infrarrojos por semiconductores. Los semiconductores son aquellas sustancias que, sin ser aislante, posee una conductividad inferior a la de los metales. Al combinar el galio con el arsénico, obtenemos un cristal de características eléctricas similares, Arseniuro de Galio (As-Ga) que ha dado excelentes resultados en la elaboración de los láseres de inyección (Colls Cruañes, 1985; Martínez y Sendra, 1998). Para construir un diodo semiconductor, es preciso unir dos cristales del mismo

semiconductor: uno de ellos con exceso de electrones en la banda de valencia (Tipo N); el otro con defecto de electrones o, lo que es lo mismo, exceso de huecos (Tipo P). Al aplicar una corriente, se producen sucesivas recombinaciones electrón-hueco, acompañadas de emisión de radiación electromagnética (Fig. IX).

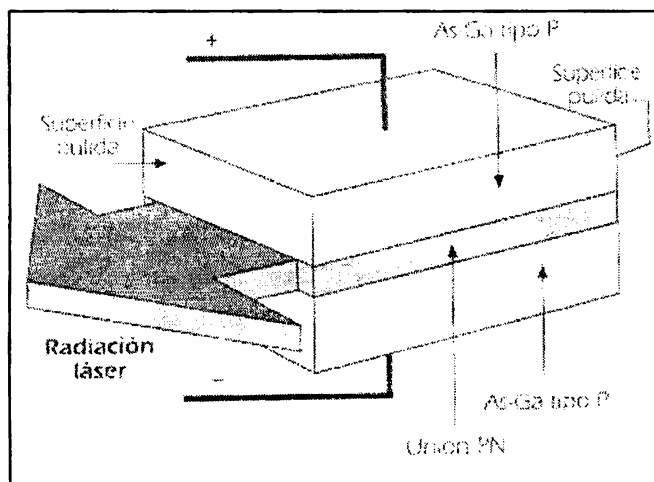


Fig. IX. Representación de un diodo de As-Ga

Fuente: Martínez y Sendra; 1998

En las unidades de As-Ga, la emisión de la radiación se produce desde el diodo, que está compuesto por dos capas semiconductoras, cortadas con precisión. Al aplicar corriente eléctrica a cada lado, la radiación láser se genera en la unión entre las dos capas (unión P-N). Estos láseres producen haz de forma elíptica, con una divergencia de 10 a 35 grados. El diodo de As-Ga más comúnmente usado produce una radiación de 904 nm emitida a impulsos. La alta intensidad que debe atravesar el diodo produce una gran cantidad de calor mediante el efecto Joule, lo que obliga a que el láser deba funcionar durante cortos períodos de tiempo, seguidos de largos períodos de enfriamiento (ciclo de trabajo muy corto). De hecho lo que controla la emisión es el ciclo de trabajo, que es el porcentaje de tiempo que puede estar funcionando el diodo durante un período. Normalmente se emplean valores del 0,1% (Martínez y Sendra, 1998; Plaja, 2003).

Hoy día se prefiere utilizar potencias de pico no muy elevadas, pero que puedan trabajar con un ciclo de trabajo alto. Se dispone de diodos que ofrecen potencias medias elevadas (hasta 200 mW), y algunos de los cuales con la posibilidad de emisión continua (con potencias de 100 mW) a temperatura ambiente. Igualmente, la posibilidad de emplear As-Ga dopado con diferentes materiales permite obtener diversas longitudes de onda tales como, 635,780, 810, 830 y 904 nm (Martínez y Sendra, 1998). En las consolas y equipos p<sup>ó</sup>rtatiles, el diodo se encuentra situado en el extremo del aplicador, pieza de metal o de pl<sup>á</sup>stico resistente en forma de cilindro alargado, que se conecta a la consola mediante cables que conducen la energ<sup>í</sup>a el<sup>é</sup>ctrica hacia el diodo. En el extremo del aplicador, suele colocarse una lente para corregir la divergencia de salida, especialmente si la potencia media no es muy elevada. Es importante el aporte de la superficie de dep<sup>ó</sup>sito del aplicador para la dosificaci<sup>ó</sup>n (Martínez y Sendra, 1998).

#### 6.6.3- Láser de CO<sub>2</sub> Desfocalizado

El láser de CO<sub>2</sub> quirúrgico, que trabaja a potencias elevadas (vatios), también puede actuar a potencias inferiores (miliwatios), si se desfocaliza el haz; de este modo se obtiene su efecto terapéutico y bioestimulante. La principal ventaja que presenta es que consigue dosis superiores que las de los equipos de As-Ga y He-Ne 80-110 mW (Skoog y Leary, 1994; Plaja, 2003).

#### 6.7- DOSIMETRÍA

La aplicaci<sup>ó</sup>n del láser de baja potencia es relativamente simple, pero deben conocerse ciertos principios de dosimetría para determinar la dosis depositada en cada tratamiento (Martínez y Sendra, 1998). La efectividad de la terapia láser se basa en el aporte suficiente de energ<sup>í</sup>a para que, mediante su absorci<sup>ó</sup>n y transformaci<sup>ó</sup>n, pueda generarse el proceso terapéutico (Colls Crua<sup>ñ</sup>es, 1985).

Todo generador láser emitirá más o menos fotones por unidad de tiempo según cuál sea su potencia de emisión. De esta forma, la energía es el producto de la potencia por el tiempo que dura la aplicación (Martínez y Sendra, 1998):

$$\text{Energía (J)} = \text{Potencia (W)} \times \text{Tiempo (s)}$$

En laserterapia se acostumbra establecer la dosis que hay que aplicar en término de densidades de energía, que representa la densidad de potencia durante el tiempo de aplicación (Martínez y Sendra, 1998):

$$\text{Densidad de energía (J/cm}^2\text{)} = \text{Potencia (W)} \times \text{Tiempo (s)} / \text{Superficie (cm}^2\text{)}$$

En todos los equipos, debe considerarse para su cálculo la potencia de salida y el tipo de emisión: continua o pulsada.

#### Emisión continua

En este caso (láser de He-Ne y algunos láseres de semiconductores), la potencia de salida coincide con la de emisión. Conociendo la superficie que abarca el haz y la densidad de energía que quiera alcanzarse, puede calcularse el tiempo de duración del tratamiento, según la expresión (Martínez y Sendra, 1998):

$$\text{Tiempo(s)} = \text{Densidad de energía (J/cm}^2\text{)} \times \text{Superficie (cm}^2\text{)} / \text{Potencia (W)}$$

#### Emisión pulsada

En este caso, la potencia de salida o potencia de pico no coincide con la potencia real de emisión (potencia media). Este tipo de emisión es característica del láser de As-Ga y se necesitan tres parámetros para definirla: a) potencia pico, b) duración del pulso, y c) frecuencia de pulsos. (Martínez y Sendra, 1998)



La potencia media puede calcularse de la siguiente manera (Martínez y Sendra, 1998):

$$\text{Energía de un impulso} = \text{Potencia pico (Pp)} \times \text{Tiempo de duración del pulso (Ti)}$$

$$\text{Potencia media} = \text{Pp} \times \text{Ti} / \text{Ti} + \text{Tr (tiempo de reposo)}$$

Puesto que la frecuencia F es el número de veces que se repite un ciclo (Ti + Tr) por segundo, la potencia media será:

$$\text{Potencia media} = \text{Pp} \times \text{Ti} \times \text{F}$$

Cuando se utiliza el término potencia siempre debe entenderse como energía que puede ser proporcionada en un segundo, si hablamos de un láser continuo la potencia ya es indicativa, pero si se trata de un láser a impulsos (Diodo) la potencia a emplear siempre deberá ser la potencia media, nunca la de pico, pues sólo la potencia media nos está indicando la capacidad de aportar energía, la capacidad de provocar mayor o menor reacción fotobiológica. Nunca un pico de potencia de una emisión láser de pocos nanosegundos de duración puede asignársele una mayor reacción fotobiológica. Solo la cantidad de energía es capaz de provocar esta reacción y solo la potencia media de los láseres diódicos indica el grado de eficiencia energética que se puede obtener por segundo (Colls Cruaños, 1985).

En cada trabajo de aplicación de láser de baja potencia debe especificarse la dosificación de acuerdo a las características de cada equipo utilizado.

## 6.8- EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS LASERES DE BAJA POTENCIA

Los efectos de la radiación láser sobre los tejidos dependen de la absorción de su energía y de la transformación de ésta en determinados procesos biológicos. Tanto la longitud de onda de la radiación como las características ópticas del tejido considerado forman parte de los fenómenos que rigen la absorción, pero el efecto sobre la estructura

viva depende principalmente de la cantidad de energía depositada y del tiempo en que ésta ha sido absorbida (Martínez y Sendra, 1998).

La absorción de la radiación láser se produce en los primeros milímetros de tejido, por lo que determinados efectos observables a mayor profundidad, incluso a nivel sistémico, no estarían justificados por una acción directa de la energía absorbida. La energía depositada en los tejidos produce una acción primaria o directa, con efectos locales de tipo: fototérmico, fotoquímico y fotoeléctrico (Fig.X). Estos efectos locales provocan otros, los cuales constituyen la acción indirecta (estímulo de la microcirculación y aumento del trofismo), que repercutirá en una acción regional o sistémica (Martínez y Sendra, 1998).

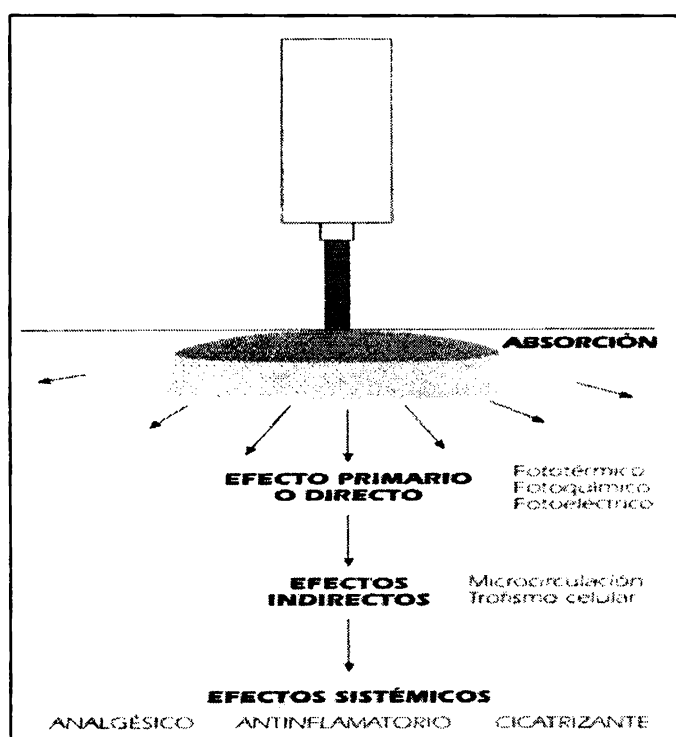


Fig. X. Esquema en el que se representa el efecto directo e indirecto de la radiación láser.

Fuente: Martínez y Sendra, 1998.

### 6.8.1- La Absorción

Está demostrado que la absorción de las radiaciones electromagnéticas comprendidas desde el ultravioleta hasta las infrarrojas, pasando por el visible, se efectúan en su mayor parte a nivel de la epidermis y dermis y, en cualquier caso, la transmisión al tejido conjuntivo carece de valor energético. El valor que tiene efectuar la irradiación con láseres más potentes es que el efecto fotobiológico es muy superior y, en consecuencia, sus efectos terapéuticos se manifiestan más rápidamente y en mayor profundidad. Según la longitud de onda empleada la energía útil absorbida es distinta (Plaja, 2003).

La diferencia importante de los He-Ne y semiconductores es que emiten a baja potencia, por debajo del umbral destructivo de los láser quirúrgicos en los que hay disipación calórica. Por ello su empleo es exclusivamente terapéutico (Colls Cruaños, 1985).

### 6.8.2- Efecto Fototérmico

No causan un aumento significativo de temperatura en el tejido irradiado. Existen teorías interesantes y controvertidas, que señalan la posibilidad de que tan bajos niveles de energía constituyan una forma de "mensajes" o energía utilizable por la propia célula, para la normalización de las funciones alteradas. Se trata de un efecto fotoenergético o fotobioenergético (Martínez y Sendra, 1998).

### 6.8.3- Efecto Fotoquímico

Localmente se produce la liberación de sustancias preformadas (autacoides), como son la histamina, serotonina, bradicinina, etc. Así como el aumento de ATP intracelular, el estímulo de la síntesis proteica y modificando las reacciones enzimáticas normales (Colls Cruaños, 1985).

#### 6.8.4- Efecto Fotoeléctrico

Hay normalización del potencial de membrana en las células irradiadas por dos mecanismos: directo, sobre la movilidad iónica e indirecto, al incrementar el ATP producido por la célula, necesario para hacer funcionar la bomba sodio-potasio (Colls Cruañes, 1985).

#### 6.8.5- Estímulo de la Microcirculación

Acción directa sobre el esfínter precapilar. Las sustancias vasoactivas lo paralizan y producen vasodilatación capilar y arteriolar, con dos consecuencias (Colls Cruañes, 1985):

- El aumento de nutrientes y oxígeno y eliminación de catabolitos (mejora el trofismo de la zona).
- El incremento de aporte de elementos defensivos, tanto humorales como celulares.

#### 6.8.6- Aumento del Trofismo y la Reparación

Estos fenómenos se ven acelerados y mejorados por el estímulo de la microcirculación, el aumento de producción de ATP celular, la síntesis proteica, la modulación de síntesis enzimática y la activación de multiplicación celular (Martínez y Sendra, 1998).

### 6.9- PRECAUCIONES Y CONTRAINDICACIONES

#### 6.9.1- Precauciones

Los láseres pueden utilizarse sin peligro si se adoptan medidas apropiadas para controlar el riesgo. Existen normas de ámbito mundial para la utilización segura de los láseres, la mayoría de ellas "armonizadas" entre sí (Slaney, 1987).

El espectro visible está comprendido entre 400 y 780 nm. Los láseres pueden abarcar además del espectro visible, el de UV y también el de IR. En cuanto a los láseres, el uso de los mismos en cualquiera de sus aplicaciones presenta un capítulo especial, donde según la clasificación del ANSI (USA) su riesgo está catalogado en forma simplificada de la siguiente manera (Skvarca, 2000):

- CLASE 1: Dispositivos de riesgo insignificante (Barras lectoras en cajas registradoras).
- CLASE 2: Bajo riesgo, baja potencia, menor de 1mW (Punteros Láser).
- CLASE 3a: Bajo riesgo, potencia media entre 1 y 5 mW.
- CLASE 3b: Riesgo moderado, potencia media menor de 0,5 W (Telemetría).
- CLASE 4: Alto riesgo y gran potencia, mayor de 0,5 W (Láseres Quirúrgicos e Industriales).

En la práctica siempre es preferible confinar totalmente el láser y la trayectoria del haz de manera que no sea accesible ninguna radiación láser potencialmente peligrosa (Sliney, 1987). Se sabe que si la irradiación traspasase el medio acuoso y transparente del ojo, sería absorbida o depositada en la retina produciendo un proceso degenerativo que podría conducir incluso a una ceguera irreversible. Todo ello, en el caso de que esta aplicación fuese puntiforme, o sea que el haz incidiera directamente en la retina. Para el empleo del láser se deben utilizar gafas oscuras especiales, que sólo permitan pasar un máximo del 5% de la irradiación. También se debe evitar que en la habitación donde se efectúan los tratamientos halla espejos u otros objetos de brillo metálico que puedan reflejar involuntariamente la irradiación (Colls Cruaños, 1985).

#### **6.9.2- Contraindicaciones Absolutas**

Hay tres casos en los que la irradiación debe evitarse: en retina, en pacientes neoplásicos y en procesos bacterianos agudos. Es conveniente diferenciar entre dos fenómenos distintos: la oncogénesis y la estimulación de una neoplasia ya existente (Colls Cruaños, 1985).

Aunque se trata de radiaciones sin capacidad ionizante, que no han demostrado efectos mutagénicos ni transformaciones neoplásicas, sin embargo, existen estudios en los que se ha observado la proliferación de células neoplásicas cuando son estimuladas (Martínez y col, 1998).

Cuando hay procesos bacterianos agudos solo se irradiará en caso que haya que resolver otra sintomatología coadyuvante y si hay cobertura previa de antibiótico. Hay pruebas de laboratorio que han demostrado que irradiando focos bacterianos se puede llegar a producir una aceleración y extensión del problema (Colls Cruañes, 1985).

### 6.9.3- Contraindicaciones Relativas

En este grupo se encuentran las situaciones en las que hay discrepancias sobre la aplicación del láser o no. Por lo cual no se aconseja irradiar a (Colls Cruañes, 1985):

- Pacientes con tratamiento de esteroides.
- Pacientes con mastopatías fibroquísticas
- Pacientes epilépticos
- Hembras preñadas sobre todo en el primer tercio de la gestación
- Pacientes con disfunciones tiroideas o cardíacas.
- Irradiación prolongada en pacientes jóvenes en edad de crecimiento.
- Combinación con fármacos que producen fotosensibilidad.

Algunas de las contraindicaciones citadas anteriormente están basadas en relación al efecto bioestimulante que posee este láser y a las hipotéticas consecuencias que habría que esperar sobre las células germinativas tanto benignas como malignas (Oltra-Armon, 2004).

## **7 - RELEVAMIENTO DE TRABAJOS EXPERIMENTALES DE LA ACCIÓN DE LASER DE BAJA POTENCIA SOBRE LA OSTEOGÉNESIS**

Los efectos de la radiación electromagnética -como el láser de baja potencia-, en el crecimiento y reparación ósea, han sido investigados de forma limitada (Barushka y colaboradores, 1995). Sin embargo, estos han sido exhaustivamente estudiados en la cicatrización muscular, dérmica, regeneración axonal, conducción nerviosa, etc. (Plaja, 2002).

Marino (2003) investigó el efecto de la luz láser de baja potencia en la reparación ósea en tibia de ratas y cita la existencia de una supuesta acción moduladora sobre los procesos inflamatorios atribuidos a la luz láser. Posibles acciones como reabsorción más rápida de exudados, control de liberación de factores quimiotácticos, aumento de actividades fagocitarias y/o aumento de neovascularización, contribuirían a una osteogénesis inicialmente más activa, propiciando condiciones locales favorables para la reparación ósea.

El láser de baja intensidad podría promover: mayores velocidades de cicatrización y reparación, aceleración de la neovascularización, cierre de heridas, mayor formación de tejido de granulación, mayor número de fibroblastos y fibras colágenas, aumento en la síntesis de ATP, liberación de histamina pre-formada, reducción del pH intracelular y alteraciones en la proliferación y motilidad celular, fagocitosis y respuesta inmune (Kitchen y Partridge; 1991; Vecoso, 1993).

La bioestimulación consiste en la aceleración de la cadena respiratoria de las células por pequeñas cantidades de fotoenergía. (Karu, 1989) La acción del láser de baja potencia sería en este sentido bioestimuladora sobre cualquier tejido u órgano, sin preferencia sobre ninguno de sus constituyentes. (De Cuyper y Lambert, 1991; Lam y col., 1986; Becerra y col., 1991) Este fenómeno se ha observado en trabajos *in vitro*, como se verá a continuación.

## 7.1 TRABAJOS *IN VITRO*

Ozawa y col.(1998), analizaron el efecto de la irradiación de láser de baja intensidad de 830 nm, en cultivos de células óseas de ratones. Ellos observaron que el láser, probablemente, estimula la formación de hueso a través de dos funciones: 1) estimulación de la proliferación celular, principalmente en la formación de células de la línea osteoblástica; 2) estimulación de la diferenciación celular, resultando en un aumento de células osteoblásticas diferenciadas, con el consecuente aumento en la neo formación ósea.

En otro estudio se evaluó el efecto de la luz láser de baja potencia directamente sobre los osteoblastos derivados de células mesenquimales que fueron extraídos de la medula ósea. Se formaron tres grupos que fueron irradiados los días 3, 5 y 7 con un láser de diodo pulsátil (690 nm , por 60 segundos) otros tres grupos fueron los controles. Se evaluó el crecimiento óseo los días 8, 12 y 16 respectivamente. Los cultivos irradiados demostraron un aumento significativo de depósito óseo comparado con los cultivos no irradiados, por lo tanto existe una bioestimulación del láser de baja potencia sobre los osteoblastos *in vitro* (Dörtbudak y col.; 2000).

La cuantificación de FA (Fosfatasa Alcalina) circulante (sérica) ha sido considerada como medida de osteogénesis. Esta está compuesta por diferentes isoenzimas: la intestinal, hepática, renal y ósea. A pesar de esta heterogeneidad, la FA total suele ser un buen reflejo de la isoenzima ósea siempre que se excluya la existencia de una hepatopatía. Esta isoenzima es de origen osteoblástico, por lo que la elevación de sus niveles podría considerarse un reflejo de un aumento del “turnover” (ciclo reabsorción-formación óseo). En la práctica clínica, su determinación aislada tiene escaso valor diagnóstico, pudiendo encontrarse niveles elevados en muchas enfermedades óseas metabólicas, traumáticas o malignas. Sin embargo, su monitoreo periódico resulta eficaz para el seguimiento evolutivo de una enfermedad o de la respuesta a un tratamiento. Si el funcionamiento hepático es normal y no hay colestasis, el aumento de FA suele significar mayor actividad osteoblástica, ya que estas células secretan grandes



cantidades de FA cuando están depositando activamente matriz ósea.( Hernandez y Torres, 1988; Guyton y Hall, 1997)

En un estudio realizado por Guzzardella y col. (2002) se realizaron defectos óseos estandarizados en las epífisis distales de 12 fémures explantados de 6 ratas, y éstos fueron cultivados en un medio especial por 21 días. La mitad de los defectos óseos fueron tratados diariamente con luz láser de Ga-Al-As, 780nm por 10 días consecutivos, mientras tanto el resto fue sometido a un simulacro de tratamiento (grupo control). El índice Fosfatasa alcalina/Proteína Total (FAS/ PT) y el contenido de Oxido Nítrico fueron testados cuantitativamente en los días 7, 14 y 21 para monitorear el metabolismo del hueso cultivado. El porcentaje de cicatrización de los defectos óseos fue determinado por análisis histomorfométricos.

Luego de los 21 días, se obtuvieron incrementos significativos en la relación FAS/PT en el grupo irradiado comparado con grupo control ( $p < 0.001$ ); también se obtuvieron aumentos significativos de Oxido Nítrico en el grupo tratado versus el grupo control. También se observó que la cicatrización del área del defecto óseo en el grupo irradiado con Ga-Al-As fue mayor que en el grupo control ( $p = 0.007$ ).

De particular interés resulta el estudio de marcadores osteogénicos, objeto de investigaciones relativamente recientes.

Se conoce que la osteopontina (OP) esta fuertemente unida a la hidroxiapatita y esta implicada en la fijación de osteoblastos y osteoclastos al hueso. Ésta es secretada por los osteoblastos y su síntesis es estimulada por la vitamina D. Otro componente de la matriz, es la sialoproteína ósea (BSP) siendo ésta otro marcador osteogénico (Fawcett, 1995).

En un trabajo realizado por Stein, (2005) evaluaron la acción del láser de baja potencia sobre la proliferación y diferenciación de líneas osteoblásticas humanas. Cultivos de células osteoblásticas fueron irradiados, usando láser de He-Ne (632nm, 10mw de potencia). En el segundo y tercer día después de la siembra los osteoblastos fueron expuestos a la irradiación láser. El efecto de la irradiación en la proliferación de

osteoblastos fue cuantificado por conteo celular y métodos calorimétricos, luego de 24 y 48 horas después de la segunda irradiación. Se obtuvieron incrementos importantes de viabilidad celular (31-58%) y un conteo celular más elevado en las siembras celulares irradiadas en comparación con las células no irradiadas. La diferenciación y maduración fue seguida por marcadores osteogénicos: Fosfatasa alcalina (FAS), Osteopontina (OP) y Sialoproteína ósea (BSP). Se obtuvo una acumulación de FAS, y la expresión de OP y BSP fue mucho mayor en las células irradiadas comparadas con los osteoblastos no irradiados. Se concluye entonces que el LLLT, promueve la proliferación y maduración de las células osteoblásticas humanas *in vitro*.

Un estudio que evaluó los efectos del láser terapéutico en células osteoblásticas humanas, utilizó dosis diarias de láser de GaAlAs (830nm, 90mw, 1.7 a 25.1 J/cm<sup>2</sup> de energía) durante 10 días. La viabilidad celular no fue alterada por la radiación láser, demostrando ser ésta mayor al 90% en todos los grupos experimentales. La proliferación y activación celular no fue significativamente afectada por los niveles de energía o regímenes de exposición investigados. La investigación de la concentración de calcio intracelular reveló una tendencia de movilización transitoria positiva posterior a la irradiación. El aumento del calcio intracelular fue interpretada en este estudio como producto de la respuesta positiva de las células osteoblásticas a la luz láser. (Coombre y col., 2001)

## 7.2 TRABAJOS RELACIONADOS CON TEJIDO CARTILAGINOSO

La reparación ósea secundaria es una combinación de procesos de osificación intramembranosa y endocondral. El estímulo del láser sobre la condrogénesis, podría acelerar el proceso de reparación ósea a través de la formación más rápida del callo fibrocartilaginoso.

Para establecer los efectos bioestimulantes del láser de Ga-Al-As (780nm, 3000mw) sobre células cartilaginosas, Morrone y col. utilizaron condrocitos retirados del cóndilo medial femoral de conejos, que se cultivaron en 4 grupos que recibieron diferente

dosis radiante; el grupo 4 constituyó el grupo control. Todos los grupos irradiados fueron superiores en viabilidad celular al grupo control. (Morrone y col.; 1998)

En otro estudio se evaluó la bioestimulación láser sobre lesiones osteocondrales. Estas lesiones fueron creadas en el cóndilo medial femoral de conejos. Las rodillas izquierdas, fueron tratadas intraoperatoriamente con láser diodo de Ga-Al-As (780nm, 300J/cm<sup>2</sup>, 1W, 300Hz, por 10 minutos.), las rodillas derechas fueron los controles. Los animales se dividieron en 3 grupos (A, B, y C), según el tiempo de sobrevida (2, 6, y 12 semanas respectivamente). La región osteocondral fue examinada morfométricamente. Los resultados mostraron rápida curación de la lesión a las 2 semanas (p: 0.043) y una mejoría en la morfología celular (p =0.044), A las 12 semanas se observó un tejido osteocartilaginoso con aspecto más regular (p =0.004), demostrando una relación positiva entre la bioestimulación láser y la reparación osteocondral (Morrone y col., 2000).

Guzzardella y col. (2001) evaluaron lesiones osteocondrales de las rodillas de conejos tratados en el intraoperatorio con luz láser de baja potencia. Estos fueron evaluados a las 24 semanas posteriores a la lesión. Se utilizaron 6 conejos a los cuales se les realizó lesiones osteocondrales bilaterales con trefina en los cóndilos mediales femorales. Todas las lesiones izquierdas fueron inmediatamente estimuladas usando el diodo de As-Ga (780 nm) siendo las rodillas derechas el grupo control. Luego de 24 semanas, los explantes de todas las rodillas, fueron examinados histológicamente. Los resultados obtenidos en los cóndilos expuestos a la luz láser mostraron una buena morfología celular y un aspecto regular del tejido osteocartilaginoso reparado.

### 7.3 TRABAJOS *IN VIVO*

Existen muchos trabajos experimentales sobre los efectos del láser de baja potencia sobre cultivos celulares expuestos directamente a la radiación. Esto ocasiona dudas acerca de la posibilidad de extrapolarlos a la práctica clínica, en la que el láser atraviesa tejidos que lo absorben y difunden (King, 1989).

En 1987 fueron reportados trabajos sobre la terapia láser de baja potencia (LLLT) sobre la estimulación en la cicatrización ósea realizados por Trelles y Mayayo en fémures de ratones, quienes sugerían que el láser de baja potencia podía modular la función del osteocito promoviendo la aceleración del metabolismo y reacción más rápida del callo óseo. En su experimento, fracturas de tibia de 30 ratas fueron tratadas con láser de He-Ne (632nm, 4mw, 2, 4 J), por 10 minutos (a 20cm de distancia del foco de fractura), en días alternos en un total de 12 sesiones, con inicio en el post operatorio inmediato. Un tratamiento simulado fue utilizado para el control. Al microscopio óptico el grupo tratado mostró un aumento importante de la vascularización y formación más rápida del tejido óseo con una densa red trabecular, comparado con el grupo control, que apenas presentó tejido cartilaginoso y pobre vascularización.

Más adelante en un estudio hecho con fracturas circulares de tibias en 292 ratas, Barushka y col. (1995) demostraron que la radiación láser de baja potencia puede alterar la actividad y el número de osteoblastos y osteoclastos como reflejo de la actividad de la FAS (Fosfatasa Alcalina Sérica) y Fosfatasa Ácida Tartrato-Resistente y promueve la reparación ósea local de la lesión en modelos in vivo. El láser (He-Ne, 632nm, 6.0mw de potencia, diámetro de "superficie" 1,9 mm y dosis de 31 J/cm<sup>2</sup>) fue utilizado al quinto y sexto día post osteotomía por 2,3 minutos. Este protocolo fue escogido luego de una serie de experimentos preliminares. En estos experimentos fue observado que si la lesión fue irradiada de 1 a 3 días post lesión, la extensión de intensificación de reparación ósea era menor que aquel del protocolo citado anteriormente. Análisis histomorfométricos revelan un acúmulo más rápido de tejido óseo de reparación en el tejido irradiado, doblando aproximadamente la velocidad de reparación.

Por su lado, Yaakobi (1996), estudió el efecto del láser de He-Ne sobre la reparación de hueso cortical de tibias de ratas, usando métodos bioquímicos y radioactivos. Fueron creados defectos circulares fijos en el aspecto lateral de las tibias y la formación del nuevo tejido fue colectado del defecto óseo creado en el hueso cortical. La irradiación

directa del sitio de injuria con láser de He-Ne los días 5 y 6 post injuria alteró la actividad osteoblástica en el sitio lesionado, reflejado por la actividad de FAS. La irradiación causó un incremento significativo (aproximadamente del doble) en el Ca acumulado en el sitio lesionado por 9 – 18 días post-cirugía. Se concluyó que el proceso de reparación ósea en los defectos creados en las tibias de ratas tuvo un marcado incremento por la irradiación directa del láser de He-Ne en el sitio injuriado.

### 7.3.1 Biomecánica y Calidad del Hueso Neoformado

En una investigación (Luger, 1998) hecha en ratas, la carga máxima soportada y la rigidez estructural del callo de la tibia fracturada fueron significativamente más elevadas en el grupo que recibió tratamiento con radiación láser. Otro dato interesante es que el 21% de las fracturas no tratadas evolucionaban para la no-unión, esto no ocurrió en ninguna fractura del grupo tratado, sugiriendo entonces un aspecto positivo del láser en el proceso de reparación ósea. Los animales fueron divididos en dos grupos de 25, todos sufrieron fractura transversa total del tercio medio de la tibia, acompañada de fijación interna con alambre de Kirschner intramedular. El grupo 1 fue tratado con LLLT (low level láser therapy) de He-Ne continuo, 632.8nm, 35mw inmediatamente posterior a la cirugía, a una distancia de 20cm por 30 minutos diarios (10 minutos en el área fracturada, 10 en el área superior y 10 en el área inferior a la fracturada por 14 días consecutivos). El grupo 2 fue el control. Los callos óseos del grupo tratado fueron testados con distracción a las 2, 4 y 6 semanas. Con 2 semanas los callos estaban muy inmaduros, con 4 semanas la resistencia del callo era similar a la de una fractura completamente curada, a las 6 semanas las fracturas estaban totalmente curadas. La radiación láser también ha mostrado efectos positivos en la cura de fracturas óseas en animales, basados en medidas, bioquímicas, radiográficas u en microscopía electrónica.

### 7.3.2 Estudio Evaluando el Relleno de Defectos Óseos

Silva junior (2002), realizó la evaluación computarizada, morfométrica de defectos óseos (de  $1\text{cm}^2$ ) creados en el tercio medio de fémures de ratas tratadas con LLLT. Cuarenta animales fueron divididos en 4 grupos de 10: grupo A (12 sesiones,  $4.8\text{J}/\text{cm}^2$  por sesión, tiempo de observación 28 días) grupo C (3 sesiones,  $4.8\text{J}/\text{cm}^2$  por sesión, tiempo de observación 7 días). Los grupos B y D fueron los grupos controles no irradiados. Cuarenta y ocho horas post cirugía los grupos A y C comenzaron a ser tratados con láser diodo de onda continua (40mw, 830nm) 3 veces por semana, con un total de 12 aplicaciones ( $57.6\text{ J}/\text{cm}^2$ ) en el grupo A y 3 aplicaciones ( $14.4\text{ J}/\text{cm}^2$ ) en el grupo C. La morfometría computarizada demostró una diferencia significativa, entre las áreas de hueso mineralizado de los grupos C y D ( $p = 0.017$ ). No hubo diferencias entre los grupos A y B ( $p = 0.383$ ) que fueron sacrificados 28 días post cirugía. Se concluye entonces, que sobre estas condiciones experimentales, la LLLT aumento la reparación ósea en estados precoces de este proceso.

Nicolau y col. (2003), estudiaron la actividad de células óseas después de la irradiación láser 660 nm extraídas del sitio de injuria ósea. Los fémures de 48 ratas fueron perforadas (realizando una perforación ósea estándar). El grupo tratado (24 ratas), fue irradiado con láser de Ga-Al-As de 660nm,  $10\text{J}/\text{cm}^2$ , el 2do, 4to, 6to y 8vo día post-cirugía. Las restantes 24 ratas fueron el grupo control. Los resultados histomorfométricos obtenidos demostraron un incremento en la actividad celular ósea (resorción y formación), alrededor del sitio de reparación sin cambios en la estructura ósea basándose en un mayor volumen óseo, aumento del "turnover" (ciclo reabsorción-aposición ósea).

### 7.3.3 Trabajos Realizados Investigando su Influencia Sobre la Angiogénesis

El término angiogénesis significa crecimiento de vasos sanguíneos promovido por diferentes *factores estimulantes de su generación y desarrollo (angiogénicos)*, liberados

sea por tejidos isquémicos, tejidos que crecen rápidamente o tejidos con tasas metabólicas excesivas.

La influencia de la radiación láser de He-Ne sobre la formación de nuevos vasos sanguíneos en la médula ósea fue estudiada por Gavarello (2004). Se ensayó un área de regeneración en la mitad de la diáfisis corticales en tibias de ratas. Fue realizado quirúrgicamente un pequeño hoyo con una fresa dentaria sobre la tibia y el sitio injuriado recibió terapia láser diariamente durante 7 o 14 días, transcutáneamente, comenzando 24 horas post-cirugía. Las densidad de energía utilizadas fue de 31,5 y 94,5 J/cm<sup>2</sup> durante el periodo de cicatrización del tejido óseo estudiado. Se estudio los preparados histológicos del área injuriada por microscopía óptica y cuantificación de los nuevos vasos sanguíneos. El tratamiento láser de baja potencia aceleró la deposición de matriz ósea y se observaron características histológicas compatibles con una recuperación activa de los tejidos injuriados. La terapia láser He-Ne incrementó significativamente el número de vasos sanguíneos luego de 7 días de irradiación y con una energía de 94,5 J/cm<sup>2</sup> ; pero existió una disminución significativa del número de vasos sanguíneos en las tibias que fueron irradiadas hasta los 14 días independientemente de la dosis energética. Estos efectos fueron atribuidos al tratamiento láser, a partir que no se detecto un incremento en vasos sanguíneos entre los días 8 y 15 en el grupo control no irradiado. Los mecanismos moleculares implicados en la terapia láser de baja intensidad para la angiogénesis en la regeneración de hueso necesitan todavía futuras investigaciones.

En un estudio realizado por Khadra (2004), se evaluó el efecto de la LLLT usando el diodo Ga-Al-As en la cicatrización ósea en defectos creados en ratas. El ensayo tuvo una duración de cuatro semanas. Se practicaron en forma standard defectos\_circulares de 2,7 mm de diámetro en cada hueso parietal de 20 ratas (n=40). Los animales fueron divididos al azar en un grupo experimental y en un grupo control de 10 animales cada uno. En el grupo experimental se aplicó láser diodo Ga-Al-As inmediatamente post cirugía y luego diariamente por seis días consecutivos. El grupo control recibió el mismo manejo y tratamiento pero con el láser apagado. Cinco ratas de cada grupo

fueron sacrificadas y evaluadas el día 14 post cirugía y el resto el día 28. De cada defecto óseo se preparó muestras para su estudio por histoquímica y muestras del tejido contralateral para histología. Los niveles de Calcio, Fósforo y Proteínas fueron determinados usando espectrometría atómica de absorción, colorimetría y fotometría respectivamente. En el mismo tiempo las muestras de tejido de los animales experimentales mostraron un aumento significativo del Ca, P y proteínas comparado con el grupo control. Similarmente, los análisis histológicos, revelaron mayor producción de angiogénesis y formación de tejido conectivo así como una evolución más rápida en la formación ósea en el grupo irradiado comparado con el grupo control. Se concluye en este trabajo que la LLLT puede mejorar la formación de hueso en defectos óseos de ratas.

#### **7.3.4 Respuesta del Periostio**

Veçosö (1993) explica que la mitosis celular por parte del periostio ejerce un papel fundamental en la consolidación de fracturas. La aceleración en la velocidad mitótica proporciona un aumento en la velocidad en la consolidación ósea etapa inicial de formación de callo perióstico).

#### **7.3.5 Estudio Evaluando la Respuesta Desde la Medula Ósea**

En 1994, Pyczek y col. estudiaron el efecto de la luz láser de baja potencia sobre el sistema hematopoyético de ratas. Fue utilizado el láser de As-Ga de luz pulsada (904 nm, potencia 80 mW, duración del pulso 200 ns). Los fémures de las ratas fueron irradiados a través de la piel intacta. Fueron analizadas muestras de sangre periférica antes y después de los experimentos. Estos estudios indicaron que la luz láser de As-Ga produjo una disminución de mastocitos en la medula ósea y de basófilos en la sangre periférica con un incremento en el número de eosinófilos. Un incremento en la actividad mitótica en la médula ósea fue observado en los grupos expuestos. No se encontraron cambios significativos en la Hemoglobina, niveles de eritrocitos o niveles de reticulocitos en la sangre periférica.



### 7.3.6 Trabajos Realizados Comparando la Irradiación Pulsada versus Continua

En un estudio diseñado por Ueda y Shimizu, se irradiaron células osteoblásticas con láser de GaAlAs (830nm, 500mw) en dos modalidades de irradiación diferentes. Un grupo de células con radiación continua y el otro con radiación pulsada: 1Hz, también hubo un grupo control. Ambos grupos irradiados mostraron una estimulación en la proliferación celular, formación ósea, actividad de FAS y expresión del gen FAS significativamente mayor comparado con el grupo control. Estos factores fueron marcadamente estimulados por el grupo irradiado con láser pulsátil vs irradiación continua. Ueda y Shimizu (2001), concluyeron que la pulsación láser (1Hz) es un factor importante que afecta la formación ósea de manera positiva.

El propósito del trabajo realizado por Ueda, (2003) fue determinar el efecto de las frecuencias pulsadas de la terapia láser de baja potencia en la formación nodular de hueso *in vitro*. Varios efectos fotobioestimulantes de la LLLT, incluyendo formación de hueso, son afectados por algunos factores de la irradiación como ser la dosis de energía total, la fase de la irradiación, el espectro láser y la potencia. También la frecuencia de pulsación es importante para la formación de hueso. Para demostrar esto, células osteoblásticas cultivadas de ratas fueron irradiadas con láser de GaAlAs (830nm, 500 mw, 0,48 – 3,84J/ cm<sup>2</sup>) en 4 modos de irradiación diferentes: irradiación continua e irradiación pulsada con 1, 2, y 8 Hz. Luego se investigó los efectos en la proliferación celular, formación nodular de hueso, actividad de la FAS y expresión del gen de FAS. La irradiación láser en los cuatro grupos estimulo la proliferación celular, formación nodular de hueso, actividad de FAS y expresión del gen de FAS, comparado con el grupo control no irradiado. El grupo con irradiación pulsada de 1 y 2 Hz, apreciablemente estimulo estos factores cuando fue comparado con el grupo con irradiación continua y con el grupo con irradiación pulsada de 8 Hz; y el grupo con irradiación pulsada de 2 Hz fue el mejor considerado para la formación nodular de hueso en las condiciones experimentales de este trabajo. De esto se concluye que la irradiación pulsada de baja frecuencia significativamente estimula la formación de hueso

*in vitro*, y un importante factor que afecta la respuesta biológica del hueso en formación es el pulso de frecuencia utilizada en la terapia láser de baja potencia.

### 7.3.7 Trabajos Sobre Dosis y Tiempo de Exposición

La influencia de la dosis energética diaria de la irradiación láser de He-Ne de 0,03; 0,3 y 0,9 J en la reparación de lesiones quirúrgicas producidas en tibias de ratas fue estudiada por Garavello y col. (2003). El tratamiento láser fue comenzado 24 horas luego del trauma y continuado diariamente por 7 o 14 días en dos grupos de 9 ratas (n=3 por dosis de láser y periodo). Fueron utilizados dos grupos controles (n=9 cada uno) con tibias igualmente lesionadas. El curso de la cicatrización ósea fue monitoreada usando análisis morfométricos del área trabecular. Luego de 7 días, existió un aumento significativo en el área de trabéculas neoformadas en las tibias irradiadas con 0,3 y 0,9 J comparadas con los controles. El grupo irradiado diariamente con dosis de 0,9 J (15 minutos de irradiación por día) durante 7 días mostró un incremento en el crecimiento trabecular óseo comparado con el grupo irradiado por 14 días. De todas maneras, la irradiación láser con dosis diarias de 0,3 J no produjo una disminución significativa en el área trabecular en el grupo tratado por 14 días comparado con el grupo tratado por 7 días, pero existió un incremento significativo en el área trabecular del grupo control a los 15 días comparado con el control a los 8 días. La irradiación incremento el número de osteoclastos hipertróficos comparados con las tibias no irradiadas (controles) al día 8 y 15. También el estudio de la organización de las fibras de colágeno reveló bandas paralelas de fibras de colágeno en el sitio de reparación al día 14 de irradiación de las tibias, independientemente de la dosis. Esta organización mejoró cuando comparamos las tibias irradiadas por 7 días y el grupo control. Estos resultados muestran que la terapia láser de baja potencia estimulo el crecimiento del área trabecular y la concomitante invasión de osteoclastos durante la primer semana y activo la organización de la matriz colágena (alineamiento paralelo de las fibras) en una segunda fase no visto en el grupo control.

La laserterapia en el tratamiento de fracturas óseas mostró ser dosis-dependiente. Freitas y col. (2000) estudiaron los efectos del láser He-Ne en la osteogénesis experimental en ratas, el defecto óseo creado se realizó con una fresa dentaria siendo apenas de 2mm de diámetro en una sola superficie cortical de tibia. Veinticuatro horas post cirugía comenzaron el tratamiento con láser de He-Ne 633 nm de 1 mw de potencia. Fueron utilizadas dosis de 3,15; 31,5 y 94,7 J/cm<sup>2</sup> para 3 grupos de animales y el tiempo de exposición de radiación fue de 30, 5 y 15 minutos respectivamente. Las tibias contralaterales fueron utilizadas como control. Luego del sacrificio los animales en el 8º y 15 días de tratamiento fueron realizados análisis histológicos a través de microscopias óptica y organización estructural tridimensional por microscopia electrónica de barrido. La aceleración del proceso de formación ósea fue claramente observado en los animales tratados con dosis de 31,5 y 94,7 J/cm<sup>2</sup>, siendo mayor con la dosis de 94,7 J/cm<sup>2</sup>. Sin embargo los tratamientos con dosis de 3,15 J/cm<sup>2</sup> no presentaron diferencias aparentes con los controles. La eficacia del tratamiento con láser demostró ser dosis dependiente. Al día 8 y 15 la dosis de 3,15 J/cm<sup>2</sup> no fue diferente con relación a los controles. La dosis de 31,5 y 94,7 J/cm<sup>2</sup> causaron consolidación ósea progresiva y más rápida cuando fueron comparadas con los grupos controles. Los resultados de este estudio demostraron que el uso sucesivo diario de láser de He-Ne en dosis de 31,5 y 94,7 J/cm<sup>2</sup> (en periodos de 12 y 14 días de irradiación) aseguran una mejor restauración de las lesiones óseas siendo las dosis de 94,7 J/cm<sup>2</sup> la más efectiva. Los estudios histológicos demuestran que los osteoblastos fueron depositados lado a lado de forma tal que parecían un epitelio simple en la periferia de las trabéculas óseas. Esta disposición es característica de osteoblastos activos en la síntesis de la matriz ósea. Como fue utilizado un láser de baja potencia (1mw), los resultados de este estudio demuestran que procesos foto-biológicos no relacionados a efectos térmicos probablemente constituyen los mecanismos básicos relacionados con la recuperación del tejido lesionado.

## **8-DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

Los primeros trabajos sobre la terapia láser de baja potencia (LLLT) en la estimulación de la cicatrización ósea fueron realizados por Trelles y Mayayo en 1987 en fémures de ratones. En esta condición los huesos irradiados cicatrizaron más rápido que los grupos controles. Durante la siguiente década se realizaron estudios avanzados (Barushka y col. 1995; Yaakobi 1996; Ozawa y col. 1998; Luger y col. 1998) que también investigaron y demostraron que la LLLT es efectiva para promover la estimulación de la cicatrización ósea. También han sido demostrados efectos positivos en implantes óseos por Dörtbudak (2002); Guzzardella (2003) y Khandra (2004).

Como ya se expuso en el capítulo 3 referido a la biología ósea la reparación del hueso comprende respuestas de diferentes estructuras que incluyen aquellas que tienen lugar en la médula ósea, corteza, periostio y en los tejidos blandos externos.

Se ha demostrado que la médula ósea produce una contribución directa a la formación de hueso durante la fase temprana de la cicatrización, ya que una vez producida la fractura se presenta una transformación de células endoteliales en células polimórficas que más adelante expresaran un fenotipo osteobástico comenzando a formar hueso. En 1994, Pyczek y col. estudiaron el efecto de la luz láser de baja potencia sobre el sistema hematopoyético de ratas. Este estudio indicó que la luz láser de As-Ga produjo un incremento en la actividad mitótica en la médula ósea. Otros estudios analizando la acción de la LLLT sobre la angiogénesis concluyeron que la misma mejoraba la vascularización desde la médula ósea como consecuencia de la formación más rápida de nuevos vasos sanguíneos (Dörtbudak y col. 2000; Gavarello, 2004; Khadra, 2004).

Trabajos realizados sobre la corteza (Barushka, 1995; Yaakobi, 1996; Freitas 2000; Silva junior, 2002) estudiaron los efectos del láser de baja potencia en la osteogénesis en ratas. Los resultados demostraron que los osteoblastos presentaban la disposición característica que estos exhiben durante la síntesis activa de la matriz ósea. Las razones para estos efectos positivos en todas las circunstancias experimentales,

basados en el aumento de marcadores osteogénicos tales como FAS, Oxido Nítrico, osteopontina y sialoproteína ósea, así como también el incremento del calcio intracelular, lleva a concluir que existe un efecto bioestimulante sobre las células osteoblásticas. La actividad osteoblástica fue ampliamente estudiada en trabajos *in vitro* (Ozawa y col., 1998; Dörtbudak y col., 2000; Coombre y col., 2001; Guzzardella y col. 2002; Stein, 2005). Siendo que la LLT actuaría sobre la estructura cortical, si se lograra una reducción y coaptación perfecta de los cabos óseos se aceleraría la cicatrización ósea primaria.

La respuesta desde el periostio es una reacción fundamental para el hueso injuriado. Veçosö (1993) explica que en la consolidación de fracturas, la mitosis celular por parte del periostio ejerce un papel fundamental. El cuadro global de fractura en su conjunto constituye una indicación para el uso de laserterapia ya que este involucra sintomatología dolorosa, edematosa y sobretudo un proceso de reparación. La aceleración en la velocidad mitótica proporciona un aumento en la velocidad en la consolidación ósea.

La respuesta de los tejidos blandos externos es también un importante proceso en la secuencia de la cicatrización ósea ya que origina el desarrollo temprano de un callo provisional que estabiliza los fragmentos de la fractura (McKibbin, 1978). La acción del láser sobre los tejidos blandos ha sido muy estudiada por sus efectos analgésicos, antiedematosos y antiinflamatorios, mejorando así la evolución de este callo provisional (Kitchen y Partridge, 1991; Veçoso, 1993; Marino, 2003). El tejido de neoformación evoluciona a través del proceso de osificación endocondral en el cual células mesenquimales indiferenciadas son diferenciadas a células formadoras de cartílago. La LLLT también promueve la actividad de los condrocitos originando un tejido osteocartilaginoso más regular (Morrone y col 1998, Morrone y col. 2000, Guzzardella y col. 2001).

Por último también se ha demostrado su acción sobre la remodelación ósea por incrementar la actividad osteoblástica y la deposición de sales de calcio en la matriz osteoide (Barushka y col, 1995; Yaakobi 1996; Freitas y col 2000; Nicolau 2003).

En base a la evidencia expuesta, podría concluirse que la terapia láser de baja potencia ósea tiene efectos positivos sobre la reparación, principalmente en las etapas precoces de este proceso. Aún siguen sin dilucidarse –sin embargo- algunos de los fundamentos biológicos de estos efectos. Tampoco existen protocolos definidos sobre la dosificación ideal que produzca el efecto óptimo. Este es un punto importante ya que un exceso de energía o tiempo de exposición podría causar un efecto negativo sobre la osteogénesis así como también un aporte energético bajo quizá no tendría efectos sobre este proceso.

Acorde a lo expuesto, surge la importancia de continuar la investigación en esta área, en virtud de que la aceleración del proceso de reparación ósea sería determinante de un rápido restablecimiento funcional, aumento en la calidad de vida y prevención de complicaciones en nuestros pacientes.

## **9- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. **Alberts B.** (1989). Differentiated Cell and the Maintenance of Tissues. En: Alberts B. Molecular Biology of the Cell. 2<sup>nd</sup> ed. Unites States of America, Ed. Garland Publishing, pp. 989-990.
2. **Aro HT, Chao EYS.** (1990). Effect of Delayed Dynamization on Healing of Unstable Experimental Fractures in the Canine Tibia. Tans Orthop Res Sos; 15: 116.
3. **Barushka O, Yaakobi T, Oron U.** (1995). Effect of Low-Energy Laser (He-Ne) Irradiation on the Process of Bone Repair in the Rat Tibia. Bone; 16 (1): 47-55.
4. **Baxter GD.** (1997). Therapeutic Lasers: Theory and Practice. Unites States of America. Ed. Churchill Livingstone.
5. **Blatt FJ.** (1991). Fundamentos de Física. 3<sup>a</sup> ed. México Ed. Prentice-Hall Hispanoamerica S.A 878 p.
6. **Bolander ME.** (1992). Regulation of Fracture Repair by Growth Factors. Proc Soc Exp Biol Med; 200:165-170.
7. **Brighton CT, Hunt RM.** (1991). Early Histological and Ultrastructural Changes in Medullary Fracture Callus. Journal Bone Joint Surgery; 37 A: 832- 847.
8. **Brighton CT, Hunt RM.** (1986). Histochemical Localization of Calcium in the Fracture Callus whit Potassium Pyroantimonate. Journal Bone Joint Surgery; 68 A: 703-715.
9. **Centrella M.** (1987). Transforming Growth Factor  $\beta$  is a Bifuncional Regulator of Replication and Collagen Synthesis in Osteoblast-en-Riched Cell Cultures from Fetal Rat Bone. J Biol Chem; 262: 2869-2874.
10. **Chiappe Barbará MA.** (2004). Mecanismos Reguladores de la Biología Ósea, su Importancia en la Patogénesis de las Osteopatías Fragilizantes Primera Parte). Revista de Medicina Veterinaria; 85 (1): 8-15.

11. **Colls Cruaños J.** (1985). La Terapia Láser, hoy. 2ª ed. España, Ed. Centro Documentación Láser de Meditec, S.A., 175 p.
- ✓  
12. **Coombre AR.** (2001). The Effects of Low Level Laser Irradiation on Osteoblastic Cells. Clin Orthop Res; 4: 3-14
13. **Dörtbudak O.** (2002). Effect of Low-Power Laser Irradiation on Bony Implant Sites. Clin Oral Implants Res; 13 (3): 288-292.
14. **Dörtbudak O, Haas R, Mallath-Pokorny G.** (2000). Biostimulation of Bone Marrow Cells With a Diode Soft Láser. Clin Oral Implants Res; 11 (6): 540-545.
15. **Einhorn TA.** (1998). The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing. Clinical Orthopaedics and Related Research; 355: 7-21
16. **Einhorn TA.** (1995). Enhancement of Fracture-Healing. Journal of bone and Joint Surgery; 77-A (6): 940- 956.
17. **Einhorn TA, Majeska RJ, Rush EB.** (1995). The Expression of Cytokine Activity by Fracture Callus. J Bone Miner Res; 10: 1272-1281.
18. **Einhorn TA, Hirschman A, Kaplan C.** (1989). Neutral Protein-Degrading Enzymes in Experimental Fracture Callus: a preliminary report. J Orthop Res; 7: 792-805.
19. **Eriksen EF, Axelrod DW, Melsen F.** (1994). Bone Histomorphometry. New York, Ed. Raven Press.
20. **Fawcett, MD.** (1995). Tratado de Histología. 12ª ed. España, Ed. McGraw-Hill/ Interamericana, 1044 p.
21. **Freitas IGF, Baranauskas V, Cruz-Höfling MA.** (2000). Laser Effects on Osteogenesis. Applied Surface Science; 154: 548-554.



22. **Garavello I.** (2004). The Effects of Low Laser Irradiation on Angiogenesis in Injured Rat Tibiae. *Histol Histopathol*;19(1): 43-48.
23. **Garavello I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M, Da Cruz-Höfling MA.** (2003). *Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology*; 70(2): 81-89.
24. **Gowen M, Murdy GM.** (1986). Action of Recombinant Interleukin 1, Interleukin 2, and Interferon on Bone Resorption in vitro. *J Immunol*; 136: 2478-2482.
25. **Guyton AC, Hall JE.** (1997). *Tratado de Fisiología Medica*. 9ª ed. México, Ed. Interamericana. McGraw-Hill, 1262 p.
26. **Guzzardella GA.** (2003). Osseointegration of Endosseous Ceramic Implants After Postoperative Low-Power Laser Stimulation: an in vivo Comparative Study. *Clin Oral Implants Res*; 14 (2): 226-232.
27. **Guzzardella GA, Fini M, Torricelli P.** (2002). Laser Stimulation on Bone Defect Healing: an in vitro Study. *Lasers Med Sci*; 17 (3): 216-220.
28. **Guzzardella GA, Tigani D, Torricelli P.** (2001) Low Power Diode Laser Stimulation of Surgical Osteochondral Defects: results after 24 weeks. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*; 29 (3): 235-244.
29. **Hansson Mild K.** (1980). Occupational Exposure to Radio-Frequency Electromagnetic Fields. *Proc IEEE*; 68: 12-17.
30. **Hernandez Nieto L, Torres Ramirez A.** (1988). *Enfermedades Óseas. Generalidades*. En: Rozman C, Farreras Valenti P. *Medicina Interna*. 11ª ed. España, Ed. Doyma, pp.1005-1009.
31. **Hollinger JO, Buck DC, Melsen F.** (1999). *Biology of Bone Healing its Impact on Clinical Therapy*. En: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. *Tissue Engineering*. Quintessence Publishing Co, Inc.

32. **Joyce ME**, Roberts AB, Sporn MB, Bolander ME. (1990). Transforming Growth Factor  $\beta$  and the Initiation of Chondrogenesis and Osteogenesis in the Rat Femur. *J Cell Biol*; 110: 2195- 2207.
33. **Junqueira LC**, Carneiro J. (1999). Tecido Ósseo. En: Carneiro J. *Histología Básica*. 9ª Ed. Guanabara Koogan, pp 111-128.
- ✓  
34. **Kaplan FS**. (1994). Form and Function of Bone. En: Simon SR. *Orthopaedic Basic Science*. American Academy of Orthopaedic Surgeons.
35. **Khadra M**. (2004). Enhancement of Bone Formation in Rat Calvarial Bone Defects Using Low-Level Laser Therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 97 (6): 693-700.
36. **Khadra M**, Maawan R. (2004). Low Level Laser Therapy Stimulates Bone-Implant Interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res*; 15 (3): 325- 333.
37. **Kitchen SS**, Partridge CJ. (1991). A Review of Low Level Laser Therapy. *Physiotherapy*; 77 (3): 161-168.
38. **Luger EJ**. (1998). Effect of Low-Power Laser Irradiation on the Mechanical Properties of Bone Fracture Healing in Rats. *Lasers Surgery Medicine*; 22 (2): 97-102.
39. **Marino JAM**. (2003). Efeito do Laser Terapeutico de Baixa Potência Sobre o Processo de Reparação Óssea em Tibia de Rato. *Dissertação (Mestrado)*. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil, 107 p.
40. **Markel MD**, Wikennheiser MA, Chao EYS. (1991). Formation of Bone in Tibial Defects in a Canine Model. *The Journal of Bone and Joint Sugery*; 73-A (6): 914-923.
41. **Marks SC**, Hermey DC. (1996). The Structure and Development of Bone. En: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. *Principles of Bone Biology*; 1: 3-14.

42. **Martínez Morillo M**, Pastor Vega JM y Sendra Portero F. (1998). Medicina Física. En: Martínez Morillo M, Pastor Vega JM, Sendra Portero F. Manual de Medicina Física. España, Ed. Harcourt-Brace, pp 1-22.
43. **Martínez Morillo M**, Sendra Portero F. (1998). Láser. En: Martínez Morillo M, Pastor Vega JM, Sendra Portero F. Manual de Medicina Física. España, Harcourt-Brace, pp. 254-275.
44. **McKibbin B**. (1978) The Biology of Fracture Healing in Long Bones. Journal Bone Joint Surgery; 60 B: 150-162.
45. **Mendoza D**, Mendonça VO, Laurino LB. (1994). Patología Ósea Fundamentos. Fundo Editorial BYK, Sao Paulo. 203 p.
46. **Mester E**, Mester AF, Mester A. (1985). The Biomedical Effects of Laser Application. Laser Surgery and Medicine; 5: 31-39.
47. **Morrone G**, Guzzardella GA, Torricelli P. (2000). Osteochondral Lesion Repair of the Knee in the Rabbit after Low-Power Diode Ga-Al-As Laser Bioestimulation: an Experimental Study. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol; 28 (4): 321-336.
48. **Morrone G**, Guzzardella GA, Torricelli P. (1998). In vitro Experimental Research of Rabbit Chondrocytes Biostimulation whit Diode Laser GaAlAs: preliminary study. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol; 26 (4): 437-439.
49. **Nemeth GG**. (1988). Growth Factors and their Role in Wound and Fracture Healing. En: Barbul A y col. Growth Factors and other Aspect of Wound Healig: biological and clinical implications. New York, Ed. Alan R. Liss, pp. 1-17.
50. **Nicolau RA**, Jorgetti V, Rigau J. (2003). Effect of Low-Power GaAlAs Laser (660nm) on Bone Structure and Cell Activity: an experimental animal study. Lasers Med Sci; 18 (2): 89-94.

51. **Oltra-Armon D.** (2004). Aplicaciones del Láser de Baja Potencia en Odontología. RCOE; 9 (5): 517-524.
52. **Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G.** (1998). Low-Energy Laser Irradiation Stimulates Bone Nodule Formation at Early Stages of Cell Cultura in Rat Calvarial Cells. Bone; 22: 347-354.
53. **Plaja J.** (2003). Analgesia por Medios Físicos. España, Ed. McGraw Hill Interamericana, 558 p.
54. **Pyzek M, Sopala M, Dabrowski Z.** (1994). Effect of Low-Energy Laser Power on the Bone Marrow on the Rabbit. Folia Biol; 42 (3-4): 151-156.
55. **Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P.** (1998). Mechanical Properties and the Hierarchical Structure of Bone. Medical Engineering and Physics; 20: 92-102.
56. **Sawcer D, Lowe N.** (2000). Laser Physics for Clinicians. En: Lask GP, Lowe NJ. Lasers in Cutaneous and Cosmetic Surgery. United States of America. Ed. Churchill Livingstone, pp.1-14.
57. **Silva Junior.** (2000). Computerized Morphometric Assesment of the Effect of Low-Level Laser Therapy on Bone Repair: an experimental animal study. J Clin Laser Med Surg; 20 (2): 83-87.
58. **Skoog DA, Leary JJ.** (1994).Análisis Instrumental.4ª ed. España, Ed.McGraw Hill,935 p.
59. **Skvarca J.** (2000). Radiación Electromagética No Ionizante. Seminario: Estructura de Telecomunicaciones en Municipios, Normas y Principios de Seguridad pp.13-26.
60. **Sliney DH.** (1987). Láser. Radiaciones No Ionizantes. En: Sliney DH. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. pp.49.18-49.20
61. **Stein A.** (2005). Low-Level Laser Irradiation Promotes Proliferation and Differentiation of Human Osteoblasts in vitro. Photomed Laser Surg; 23 (2): 161-166.

62. **Taylor R.** (1994). Fisioterapia. *Selecciones Veterinarias*; 2 (5): 229-335.
63. **Terjesen T, Apalset K.** (1988). The Influence of Different Degrees of Stiffness of Fixation Plates of Experimental Bone Healing. *J Orthop Res*; 6: 293-299.
64. **Thompson BM.** (1986). Osteoblast Mediate IL-1 Stimulation of Bone Resorption by Rat Osteoblasts. *J Exp Med*; 164: 104-112.
65. **Trelles MA, Mayayo E.** (1987). Bone Fracture Consolidates Faster with Low-Power Laser. *Lasers in Surgery and Medicine*;7: 36-45.
66. **Ueda Y.** (2003). Effects of Pulse Frequency of Low-Level Laser Therapy (LLLT) on Bone Nodule Formation in Calvarial Cells. *J Clin Laser Med Surg*; 21 (5): 271-277.
67. **Ueda Y, Shimizu N.** (2001). Pulse Irradiation of Low-Power Laser Stimulates Bone Nodule Formation. *J Oral Sci*; 43 (1): 55-60.
68. **Veçoso MC.** (1993). *Láser em Fisioterapia*. 1ª ed. São Paulo, Ed. Lovise Científica. 258 p.
69. **Yaakobi T.** (1996). Promotion of Bone Repair in the Cortical Bone of the Tibia in Rats by Low Energy Laser (He-Ne) Irradiation. *Calcif Tissue int*; 59 (4): 297-300.