

2011년 8월  
박사학위논문

발광다이오드의 조사시간에 따른  
혈소판풍부섬유소내 성장인자의  
유리변화

조선대학교 대학원

치 의 학 과

유 현 주

발광다이오드의 조사시간에 따른  
혈소판풍부섬유소내 성장인자의  
유리변화

Light emitting diode irradiation influences the  
release of PDGF-BB from platelet-rich fibrin

2011년 8월 25일

조선대학교 대학원

치의학과

유 현 주

발광다이오드의 조사시간에 따른  
혈소판풍부섬유소내 성장인자의  
유리변화

지도교수 김 병 옥

이 논문을 치의학 박사학위신청 논문으로 제출함.

2011년 4월

조선대학교 대학원

치 의 학 과

유 현 주

# 유현주의 박사학위 논문을 인준함

위원장	조선대학교	교수	김동완	
위원	연세대학교	교수	김창성	
위원	조선대학교	교수	유훈	
위원	조선대학교	교수	박자근	
위원	조선대학교	교수	김병욱	

2011년 6월 일

조선대학교 대학원

# 목 차

ABSTRACT.....	iv
I. 서 론.....	1
II. 연구재료 및 방법.....	3
III. 연구결과.....	5
IV. 고찰.....	7
참고문헌.....	9

# 표 목 차

Table 1. Values of PDGF-BB after irradiation with light emitting diode in each individual (unit: pg/ml).....	5
Table 2. Values of VEGF after irradiation with light emitting diode in each individual (unit: pg/ml).....	6
Table 3. Values of IGF-1 after irradiation with light emitting diode in each individual (unit: pg/ml).....	6

# 도 목 차

Fig. 1. PRF exudate taken.....	3
Fig. 2. LED used in this study.....	3

# ABSTRACT

Light emitting diode irradiation influences the release of PDGF-BB from platelet-rich fibrin

Yoo Hyun Joo, D.D.S

Advisor : Prof. Kim Byung-Ock, D.D.S., Ph.D.

Department of Dentistry,

Graduate School of Chosun University

Phototherapy, such as lighting emitting diode (LED) and platelet-rich fibrin have recently been used as a means of enhancing wound healing and new bone formation in regenerative therapy. The aim of this study was to evaluate the release of three growth factors, platelet-derived growth factors-BB (PDGF-BB), vascular endothelial growth factor (VEGF), and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) from the PRF clot exudate serum irradiated with LED.

Blood collection was carried out on 20 healthy volunteers (non-smoker males from 22 to 27 years of age). Blood of 20 ml was collected from each volunteer. Blood samples were taken in 10 ml glass-coated plastic tubes (without anticoagulant) that were immediately centrifuged at 3,000 rpm (approximately 400g) for 10 minutes. LED with 618 nm wavelength and 20 mW/cm<sup>2</sup> output power irradiation was applied to the PRF membranes during 20-, 40- and 60-minutes, respectively. The values of PDGF-BB, IGF-1, and VEGF from these samples after stimulating with LED was quantified by ELISA. All experiments were triplicated. The values obtained were analysed statistically the difference of the each average. The experimental results were tested by using paired t-test, with a 5% significance threshold.

Within the limits of this study, the results showed that LED irradiation influences the release of PDGF-BB from PRF as time goes.

# I. 서론

상실된 치주조직을 치료하는 방법으로는 삭제형 치료법과 재생형 치료법으로 대별될 수 있었는데, 상실된 치아를 수복하는 방법으로 임플란트가 기능적으로나 심미적으로 성공률이 높다는 것이 증명되면서 20세기 후반부터는 보존 가능한 치아도 발치하고 임플란트를 식립할 수 있는 치료방법으로 변화되고 있다. 이러한 치료개념의 변화에 따라서 임플란트가 식립될 부위에 골결손이 존재할 경우 골재생을 향상시킬 수 있는 많은 방법들 즉, 기계적인 자극을 가하는 방법, 생물학적인 성장인자를 이용하는 방법, 생체재료를 이용하는 방법, 과동형의 전자장을 이용하거나 저장도의 과동형의 초음파를 이용하는 생물리화적인 자극을 가하는 방법, 혈소판 응축물을 이용하는 방법, 그리고 발광다이오드(lightning emitting diode, LED)를 이용하는 광치료법 등이 소개되고 있다.

최근, 국내에서는 골재생을 향상시키기 위하여 혈소판 응축물을 이용하거나 LED를 이용하는 연구가 진행되고 있다. 체내에서 가장 좋은 성장인자의 공급원은 혈소판인데, 치과수술에 이용하기 위하여 혈소판풍부혈장 (platelet rich plasma, PRP)을 만드는 혈소판 응축물 기법이 발표되었다. PRP는 골재생율을 증가시키고 질적으로 골형성을 향상시키는 방법으로 특히 망상골의 밀도를 15%에서 30%까지 증진시킬 수 있다고 보고되었으며,<sup>1)</sup> PRP가 자가골과 복합적으로 사용되었을 때 초기 경화와 이식재 광화에 소요되는 시간은 자가골 단독으로 사용했을 때에 비해서 약 1/2정도로 감소된다고 보고되었다.<sup>2)</sup> 그러나, Shanaman 등<sup>3)</sup>은 치조제 결손부에 PRP와 동종골을 복합해서 사용한 후 조직학적으로 평가하였는데 동종골 단독으로 사용했을 때와 비교해서 새로이 형성된 골양과 골질이 향상된 것처럼 보이지 않았다고 보고하였다. 그 이후로 Choukroun 등<sup>4)</sup>은 혈소판풍부섬유소 (platelet rich fibrin, PRF)를 이용하는 방법을 소개하였다. 이 방법의 주요 이론적인 근간은 섬유소 기질이 개조되는 동안 cytokine이 유리되어 창상치유가 촉진될 수 있으며 골형성이 촉진될 수 있다는 것이다. PRP와는 달리 PRF는 혈액을 채취한 후 항응고물질, bovine thrombin, 그리고 calcium chloride 등을 사용하지 않으며 비교적 간단하게 치유에 관련된 인자들을 비교적 쉽게 채취할 수 있는데, 섬유소 기질이 개조되는 동안 cytokine을 유리시켜 창상치유를 촉진시킬 수 있으며 골형성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 최근 이<sup>5)</sup>는 한국인의 혈액에서 PRF를 채취한 후 platelet-derived growth factors-BB (PDGF-BB), vascular endothelial growth factor (VEGF), 그리고 insulin-like growth factor-1 (IGF-1)의

농도를 보고하였으며, Simion 등<sup>6)</sup>은 발치와에 PRF를 사용하여 골밀도가 우수함을 보고하였다.

또한, 수많은 세포의 기능을 조절하는 것으로 알려진 저강도의 광치료법(low intensity light therapy)은 가시과장역의 원적선 (far red)에서 근적외선 (near-infrared) 영역 내의 빛을 이용하는 것으로 의학분야에서 널리 이용되고 있다. LED는 열이 발생되지 않고 다양한 크기로 제작할 수 있어 광원으로서 널리 이용되고 있는데 창상치유를 촉진키는 것으로 알려져 있는데,<sup>7,8,9)</sup> Brawn과 Kwong-Hing<sup>10)</sup>은 발치와에 LED를 조사했을 때 골치유가 촉진되었다는 것을 보고하였다. 또한 최근에 석<sup>11)</sup>은 LED를 조사한 후 PDGF와 IGF-1의 유리가 유의성있게 증가한다고 하였다.

현재까지, 창상치유를 촉진시키기 위해서 임상에서는 PRF나 LED를 단독으로 사용하고 있으나 그 임상효과에 대한 연구는 아직 부족하고, 특히 병용해서 사용했을 경우에 대한 연구는 없는 실정이다. 따라서, 이 연구는 창상치유를 촉진시키기 위해 사용되는 LED의 조사시간에 따른 PRF내 성장인자 (PDGF, IGF-1, vascular endothelial growth factor; VEGF)의 유리변화를 평가하고자 시행되었다.

## II. 연구재료 및 방법

### A. 혈액채취 및 PRF 제조

혈액은 전신질환이 없으며, 담배를 피우지 않으며, 본 실험의 목적에 동의한 건강한 남성 (20-27세)을 대상으로 채취되었다(CDMDIRB-015-003).

혈액표본은 PRF protocol과 Precess (Nice, France)에 의해 제공된 채취 기구로 처치되었다. 항응고제가 없는 10 mL의 glass-coated plastic tubes를 이용해서 20 mL의 혈액을 채취한 직후 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리시켰다(Fig. 1).

### B. LED 조사

이 실험에는 618 nm의 파장을 발광하는 Osseopulse<sup>®</sup>(BIOLUX, Canada)(Fig. 2)를 이용하였는데, 제조된 PRF에 LED 20분 조사군 (LED-20), 40분 조사군 (LED-40), 60분 조사군 (LED-60)으로 구분하여 조사되었다.

### C. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 분석

PRF내 PDGF-BB, IGF-1와 VEGF 유리변화는 ELISA (Quantikine; R&D Systems, Minneapolis, Minn, USA)를 이용하여 분석되었다. 모든 실험은 각각 3번씩 시행되었다.



Fig. 1. PRF exudate taken.



Fig. 2. LED used in this study.

#### D. 통계학적 분석

유리된 성장인자의 양이 개인차가 너무 컸으므로 평균의 차이를 통계학적으로 분석하였다. 통계 paired t-test (5% 신뢰도) (SPSS, version 12.0)를 사용하여 분석되었다.

### Ⅲ. 연구결과

#### 1) LED 조사시간에 따른 PRF내 PDGF-BB 농도

PRF에 LED를 조사했을 때 PDGF-BB는 조사시간 경과에 따라 유의성 있게 그 농도가 증가하였다 (Table 1).

Table 1. Values of PDGF-BB after irradiation with light emitting diode in each individual (unit: pg/ml)

Patient	control	L20*	L40**	L60**
1	221.3 ± 46.8	239.1 ± 23.4	321.3 ± 49.1	280.5 ± 58.1
2	150.2 ± 48.1	163.6 ± 53.3	208.0 ± 16.8	288.0 ± 42.9
3	159.1 ± 53.9	174.7 ± 30.1	154.7 ± 21.4	192.4 ± 13.9
4	203.6 ± 20.0	179.1 ± 16.8	341.3 ± 45.4	307.2 ± 100.1
5	334.7 ± 30.1	359.1 ± 40.7	343.6 ± 70.6	419.1 ± 13.9
6	174.7 ± 34.2	183.6 ± 37.1	396.9 ± 46.7	415.8 ± 107.3
7	481.3 ± 44.4	390.2 ± 46.7	905.8 ± 40.7	1023.6 ± 64.3
8	132.4 ± 43.4	139.1 ± 36.7	274.7 ± 71.3	225.8 ± 55.5
9	141.3 ± 16.8	108.0 ± 21.4	141.3 ± 49.1	154.7 ± 70.7
10	205.8 ± 67.1	243.6 ± 30.6	341.3 ± 138.8	270.5 ± 53.9
Mean ± SD	220.4 ± 108.7	218.0 ± 92.2	342.9 ± 215.8	357.8 ± 245.7

SD: standard deviation, L: LED group, L20: 20-minute irradiation, L40: 40-minute irradiation, L60: 60-minute irradiation.

\*: Significant difference between control and L20, L40 and L60, respectively (P<0.05)

+: Significant difference between L20 and L40 and L60, respectively (P<0.05)

#### 2) LED 조사시간에 따른 PRF내 VEGF 농도

PRF에 LED를 조사했을 때 VEGF는 조사시간 경과에 따라 유의성이 있는 결과가 나타나지 않았다(Table 2).

Table 2. Values of VEGF after irradiation with light emitting diode in each individual (unit: pg/ml)

Patient	control	L20	L40	L60
1	26.2 ± 4.0	22.2 ± 5.6	44.5 ± 6.5	30.9 ± 7.6
2	36.9 ± 4.0	53.5 ± 5.1	38.5 ± 21.2	27.9 ± 12.7
3	29.2 ± 3.6	24.5 ± 3.1	33.9 ± 9.3	19.2 ± 8.2
4	54.9 ± 5.0	59.9 ± 10.0	104.5 ± 28.2	95.2 ± 15.5
5	59.5 ± 15.6	32.5 ± 7.6	25.2 ± 15.5	16.2 ± 19.1
6	63.5 ± 8.6	57.9 ± 7.0	39.5 ± 24.1	44.5 ± 30.7
7	36.2 ± 4.6	32.9 ± 9.1	8.2 ± 2.6	14.2 ± 10.6
8	23.5 ± 8.7	7.9 ± 3.5	13.9 ± 4.2	23.2 ± 4.0
9	26.5 ± 6.1	44.2 ± 6.0	30.9 ± 6.4	34.9 ± 2.5
10	80.2 ± 17.1	56.2 ± 7.0	80.9 ± 24.4	50.5 ± 11.4
mean ± SD	43.7 ± 19.5	39.2 ± 17.8	42.0 ± 29.5	35.7 ± 24.0

SD: standard deviation.

### 3) LED 조사시간에 따른 PRF내 IGF-1의 농도

PRF에 LED를 조사했을 때 IGF-1은 조사시간 경과에 따라 유의성있는 결과가 나타나지 않았다(Table 3).

Table 3. Values of IGF-1 after irradiation with light emitting diode in each individual (unit: pg/ml)

Patient	control	L20	L40	L60
1	4231 ± 904	3931 ± 676	4681 ± 3162	3131 ± 606
2	75431 ± 2642	71581 ± 5253	75631 ± 5417	91631 ± 17885
3	20081 ± 3001	23231 ± 2775	17531 ± 7201	12481 ± 4114
4	88581 ± 5339	73431 ± 8352	86681 ± 2839	68681 ± 14769
5	10981 ± 2257	9881 ± 1997	8931 ± 300	8981 ± 568
6	5731 ± 2186	5781 ± 984	4831 ± 755	5381 ± 173
7	27631 ± 4222	26431 ± 2186	12081 ± 7709	22381 ± 377
8	10381 ± 1203	10231 ± 2325	8681 ± 2392	7431 ± 150
9	6331 ± 964	7631 ± 676	6531 ± 397	6881 ± 173
10	5481 ± 937	5981 ± 709	2581 ± 2330	3081 ± 687
Mean ± SD	25486 ± 30835	23811 ± 26729	22816 ± 31146	23006 ± 31107

SD: standard deviation.

## IV. 고 찰

많은 연구가들이 창상치유와 재생에 관련된 세포 및 분자 기전에 대해 탐구한 결과로 20세기 후반부터 이와 연관된 치료법과 재료들이 제시되고 있다. 이러한 치료법인 조직공학과 재생의학은 예전에 개발된 치료법보다는 덜 침습적이고 보다 더 빠르게 창상을 치유시키는 것을 목적으로 하고 있는데, 현재 체내에서 성장인자의 가장 좋은 공급원인 혈소판과 재조합 단백질치료법이 여기에 속한다.<sup>12)</sup>

이 연구는 창상치유를 촉진시킨다고 알려진 PRF와 발광다이오드의 임상적 지침을 제공하고자 시행되었다. 즉, PRF에 발광다이오드를 조사하여 시간경과에 따른 3가지 성장인자의 양적 변화를 평가하였다.

먼저, 이 연구에 이용된 PRF는 2세대 혈소판응집체로서 백혈구와 혈소판이 풍부한 섬유소로서 재형성이 가능한데, 이들 혈구들이 transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), PDGF, IGF-1, VEGF, thrombospondin-1, fibronectin, 그리고 vitronectin 등을 유리한다는 전제에 근거하고 있다. PRF의 유리에 대해서 연구한 Dohan 등<sup>13)</sup>은 실험기간동안 TGF  $\beta$ -1, PDGF-AB, VEGF, 그리고 thrombospondin-1 등이 1주일 동안 천천히 유리된다고 보고하면서 특히, 섬유소내에 걸쳐있는 백혈구들이 TGF  $\beta$ -1과 VEGF를 지속적으로 생성할 수 있음을 보고하였다.

두 번째로, 이 연구에 이용된 LED는 618 nm의 가시광장역에서 작용하는 것으로 수술 1주일 후부터 하루에 20분씩(에너지 밀도: 20 mW/cm<sup>2</sup>) 2주 동안 환부에 조사된다. 이 연구에서는 PRF에 LED 조사시간(20분, 40분, 그리고 60분씩)에 따른 성장인자의 유리정도를 정량적으로 분석하였다. 광치료법의 유용성에 대한 증거는 많아지고 있는 반면, 그 분자기전에 대해서는 연구중에 있다. 현재 기초가 되고 있는 기전은, LED를 조사하면 photoacceptor cytochrome c oxidase가 자극을 받아 에너지 물질대사와 생산이 초래되며<sup>14)</sup>, 그 다음에 이것은 2차적인 세포신호전달 경로를 개시한다.<sup>15)</sup> 또한, Komine 등<sup>16)</sup>은 LED에 의한 섬유아세포의 증식기전에 대해서 연구하였는데, LED 조사는 PDGF-C의 생성을 증가시키고 PDGF 수용체의 인산화를 통한 extracellular signal-regulated kinase (ERK) 경로를 활성화시키므로써 세포증식을 촉진시킨다고 하였다. 여러 연구에서 광치료법은 PDGF, TGF, 그리고 bFGF의 생산을 촉진시킬 수 있음이 보고되었고,<sup>17,18)</sup> 이 성장인자들은 ERK 경로를 활성화시킬 수 있다고 인정되고 있다.

LED에 관련된 연구를 살펴보면, Whelan 등<sup>19)</sup>은 근적외선광요법이나 LED와 hyperbaric oxygen을 병행할 경우 창상치유가 촉진될 수 있음을 보고하였다. Houreld와 Abrahamse<sup>20)</sup>는 세포의 생활력과 증식은 레이저광의 조사량 (5 J/cm<sup>2</sup>)과 파장(632.8 nm)에 좌우되어 영향을 받는다고 하였다. Zungu 등<sup>21)</sup>은 광치치는 수산화요소 (hydroxyurea)의 존재하에서 세포이주를 촉진시킨다고 하였다. Uysal 등<sup>22)</sup>은 LED가 티타늄으로 된 교정용 미니스크루의 부착에 양호한 효과를 끼쳐 임플란트의 안정성을 증가시킨다고 보고하였다. 최근, 석<sup>11)</sup>은 이 실험과 동일한 LED를 20분조사한 후 PDGF-BB와 IGF-1의 유리가 유의성있게 증가함을 보고한 바 있는데, 이 연구는 LED 조사시간에 따른 성장인자들의 유리변화를 평가하였다. 이 연구결과, LED의 조사시간이 길어짐에 따라 PDGF-BB에서만 그 양이 유의성있게 증가되는 것을 알 수 있었다. Komine 등<sup>16)</sup>의 섬유아세포를 이용한 실험에서는 LED 조사에 의해 PDGF-C mRNA 표현이 증가된다고 보고한 것과 비교해 본다면 차이가 있음을 알 수 있었다. 따라서, 그 분자기전에 대한 세심한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

반면, VEGF와 IGF-1에 관련된 연구결과를 보면 LED 조사시간이 길어진다고 할지라도 그 양은 증가되지는 않았는데, 이 성장인자들에 관해서는 여러 다른 조사량과 파장대에서 포괄적인 연구가 필요하리라 생각된다.

임상가들이 이 연구에 이용된 LED를 임상에서 사용할 때는 수술 1주일 후에 2주일 동안 20분 동안 환부에 조사된다. 사실, 이 연구의 목적은 LED를 조사하므로써 창상치유에 관련된 성장인자의 양을 증가시킬 뿐만 아니라, 부가적으로 환자가 1주일 동안 매일 LED를 조사하는 불편감을 해소하고자 수술도중에 미리 준비된 PRF에 LED를 조사하여 성장인자의 양을 증가시켜 매일 조사하는 불편감을 해소할 수는 방안을 마련하고자 시행되었다. 그러나, PDGF의 생성은 LED 조사시간이 길어짐에 따라 증가되는 것을 알 수 있었으나, IGF-1이나 VEGF의 양은 유의성 있게 증가되는 것을 관찰할 수 없었으며 또한, PRF내에 존재하는 각각의 성장인자들의 양이 개인적인 차이가 너무 크다는 것을 알 수 있었던 바, 향후에는 이러한 문제점들을 해결할 수 있는 다른 파장대의 LED를 개발할 필요가 있을 것으로 생각되었다.

이 연구는 구강내 연조직 및 경조직 결손부의 창상치유를 촉진시키기 위해서 사용되고 있는 PRF와 LED의 효능을 향상시킬 수 있는 방법을 모색하고자 시행되었는데, 이 제한된 연구결과에 의하면, PRF에 LED의 조사시간을 길게 하면 PDGF-BB의 농도가 유의성있게 증가함을 알 수 있었다.

## 참고문헌

1. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85: 638-646.
2. Marx RE, Gard Ak. Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen. In: Jensen OT *The Sinus Bone Graft.* Chicago: Quintessence. 1999:183-190.
3. Shanaman R, Filstein MR, Danesh-Meyer MJ. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2001;21:345-355.
4. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A. et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endo* 2006;101:E56-60.
5. Lee JW. The identification of growth factors contained in platelet rich fibrin. Thesis of MSD, 2010.
6. Simion BI, Gupta P, Tajbakhsh S. Quantitative evaluation of extraction socket healing following the use of autologous platelet-rich fibrin matrix in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2011;31:285-295.
7. Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg.* 2005;31:334-340.
8. Brawn P, Kwong-Hing A, Aptekar A. Accelerated implant stability after LED photobiomodulation treatment. *J Dent Res(Spec Issue B)* 2008;2021.
9. Khadra M, Kasem N, Brawn P. Phototherapy promotes attachment and subsequent proliferation of human osteoblast-like cells. *J Dent Res(Spec Issue B)* 2008;3308.
10. Brawn PR, Kwong-Hing A. Histologic comparison of light emitting diode phototherapy-treated hydroxyapatite-grafted extraction sockets: a same-mouth case study. *Implant Dent.* 2007;16:204-211.

11. Seok SD. Effects of low intensity pulsed ultrasound and light emitting diode on the release of growth factors from platelet-rich fibrin in vitro. Thesis of PhD, 2010.
12. Lynch SE, Marx R, Nevins M, Wisner-Lynch L. Tissue engineering applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics. 2nd ed. Quintessence books, 2008,3-25.
13. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*. 2009;27:63-69.
14. Desmet KD, Paz DA, Corry JJ, Eells JT, Wong-Riley MT, Henry MM, et al. Clinical and experimental applications of NIR-LED photobiomodulation. *Photomed Laser Surg*. 2006;24:121-128.
15. Eells JT, Wong-Riley MT, VerHoeve J, et al. Mitochondrial signal transduction in accelerated wound and retinal healing by near-infrared light therapy. *Mitochondrion*. 2004;4:559-567.
16. Komine N, Ikeda K, Tada K, Hashimoto N, Sugimoto N, Tomita K. Activation of the extracellular signal-regulated kinase signal pathway by light emitting diode irradiation. *Lasers Med Sci*. 2010;25:531-537.
17. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. *Photochem Photobiol*. 1994; 59:167-170.
18. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ. Expression of growth factors in early wound healing in rat skin. *Lasers Surg Med*. 1994;15:281-289.
19. Whelan HT, Smits RL Jr, Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, et al. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. *J Clin Laser Med Surg*. 2001;19:305-314.
20. Houreld NN, Abrahamse H. Laser light influences cellular viability and proliferation in diabetic-wounded fibroblast cells in a dose- and wavelength-dependent manner. *Lasers Med Sci*. 2008;23:11-18.
21. Zungu IL, Mbene AB, Hawkins Evans DH, Houreld NN, Abrahamse H. Phototherapy promotes cell migration in the presence of hydroxyurea.

Lasers Med Sci. 2009;24:144-150.

22. Uysal T, Ekizer A, Akcay H, Etoz O, Guray E. Resonance frequency analysis of orthodontic miniscrews subjected to light-emitting diode photobio-modulation therapy. Eur J Orthod. 2010 Dec 27. [Epub ahead of print]