FRANCISCO XAVIER PARANHOS COELHO SIMÕES

**AVALIAÇÃO DA REGENERAÇÃO ÓSSEA, SOB A INFLUÊNCIA DO
LASER DE BAIXA INTENSIDADE, NA REGIÃO DA SUTURA
PALATINA DE RATOS APÓS EXPANSÃO DA MAXILA**

São Paulo

2008

Francisco Xavier Paranhos Coêlho Simões

**Avaliação da regeneração óssea, sob a influência do laser
de baixa intensidade, na região da sutura palatina
de ratos após expansão da maxila**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o Título de Doutor, pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientadora: Profa Dra. Ana Lídia Ciamponi

São Paulo

2008

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Simões, Francisco Xavier Paranhos Coêlho

Avaliação da regeneração óssea, sob a influência do laser de baixa intensidade, na região da sutura palatina de ratos após expansão da maxila / Francisco Xavier Paranhos Coelho Simões; orientador Ana Lúcia Ciamponi. -- São Paulo, 2008.

71p. : fig., tab.; 30 cm.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Odontopediatria) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Regeneração óssea – Sutura palatina 2. Laser (Odontologia) – Regeneração óssea 3. Expansão da maxila 4. Odontopediatria

CDD 617.64

BLACK D42

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Simões FXPC. Avaliação da regeneração óssea, sob a influência do laser de baixa intensidade, na região da sutura palatina de ratos após expansão da maxila [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, 04/03/2008.

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DECIDATÓRIA

À Prof.a Dr.a Célia Regina Martins Delgado Rodrigues.

Seu exemplo será lembrado e seguido por muitos que tiveram o privilégio de conhecê-la. Por mais palavras que venha escrever, elas não serão suficientes para expressar a importância que teve e sempre terá na Odontologia.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, a quem devo a minha estada aqui, aprendendo a crescer espiritualmente e ao meu **Anjo da Guarda** pela presença diária na tarefa de minha proteção.

Ao meu **pai**, sempre presente em pensamento, que esteve e está olhando por todos nós, ao lado Daquele que nos ilumina.

À minha mãe **Dulce** exemplo de mãe e amiga. Que soube enfrentar os fatos que a vida impôs, com garra e perseverança, transmitindo amor, dedicação, sabedoria, honestidade e responsabilidade a todos os seus filhos. TE AMO.

À **Tia Stela**, minha mãe de coração, sem você, eu não seria a metade do que sou. Não tenho palavras para agradecer o tanto que faz por mim.

Aos irmãos **Isabel Cristina, Kátia Regina e Antonio José**, me orgulho de tê-los como irmãos e amigos. O amor que nos une é forte e importante na minha vida.

Ao **Prof. Dr. Antonio Carlos Guedes-Pinto** ícone da Odontopediatria Nacional, a quem serei eternamente grato. Obrigado pela oportunidade de ser um aluno do melhor centro de Odontopediatria do mundo. Não existem palavras para agradecer todo o seu apoio.

À **Profa. Dra. Ana Lúcia Ciamponi**, que demonstrou ser competente desempenhando papel importante na elaboração de todo o estudo. Sua amizade é muito valiosa para mim.

À **Profa. Dra. Susana C. Orsini Machado de Souza** pela co-orientação, obrigado pela ajuda constante e serenidade em todos os momentos que a procurei, transmitindo conhecimento, segurança e paz. Minha gratidão.

À **Prof. Dra. Maria Salete Nahás Pires Corrêa, Prof. José Carlos Pettorossi Imparato, Profa. Céres Mendonça Fontes e Prof. Dr. Urbino da Rocha Tunes** pela ajuda constante na minha carreira.

Ao **Prof. Omar Gabriel da Silva Filho**, pelo exemplo de ser humano e profissional, a quem me inspiro. Seu apoio de sempre e principalmente neste projeto foi muito mais que especial. Sua ajuda foi fundamental. Agradeço a oportunidade de tê-lo conhecido.

Aos Professores da Disciplina de Odontopediatria **Prof. Dr. Antonio Carlos Guedes-Pinto, Profa. Dra. Ana Estella, Haddad, Profa. Dr.a Ana Lídia Ciamponi, Profa. Célia Regina Martins Delgado Rodrigues (in memorium), Profa. Dra. Cláudia Perez Trindade, Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes, Prof. Dr. José Carlos Pettorossi Imparato, Prof. Dr. Marcelo José Strazzeri Bonêcker, Profa. Dra. Márcia Tuolla Wanderley, Profa. Dra. Maria Salete Nahás Pires Corrêa**, meus eternos agradecimentos pelos conhecimentos adquiridos e amizade durante a minha estada em São Paulo.

À **Capes** pela bolsa concedida.

Aos amigos uspianos pela convivência diária e apoio constante: **Kátia, Nair e Alessandra** (Pós Graduação), **Prof. Dr. Nicolau e Douglas** (Materiais Dentários), **Marinho, Júnior e Marta** (Informática), **Elisa e Bia** (Patologia), **Vânia e Glauci** (Biblioteca), **Prof.a Dr.a Cláudia Ronca** (Veterinária)

À **Prof.a Dr.a Suzana C Orsini Machado de Souza, Prof.a Carla Figueredo Brandão, Prof.a Dr.a Gabriela Botelho Martins, Prof. Alexandre Andrade Moreira e Prof. Dr. Jean Nunes** pela colaboração.

Colegas do doutorado: **Alessandra, Fausto, Fê Moraes, Lú Butini, Lú Sanglard, Marise, Monique, Ricardo, Selma, Thiago**, e mestrado: **Adriana, Aninha, Fê Nahás e Daniela**.

Fê Nahas, Anninha e Marise, verdadeiras amizades que conquistei, vocês moram em meu coração. Vocês valem mais que 522 amigos.

Aos animais, peças fundamentais nesta pesquisa e que serviram para um bom propósito, estejam em paz.

Ao **Departamento de Patologia da FOUSP** pela oportunidade de realizar a pesquisa no laboratório.

Aos funcionários/amigos: **Clemência, Conceição, Fátima, Izilda, Júlio, Marise, Thais**: vocês foram e continuaram sendo meus amigos.

Simões FXPC. Avaliação da regeneração óssea, sob a influência do laser de baixa intensidade, na região da sutura palatina de ratos após expansão da maxila [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

Uma das condutas terapêuticas mais adotadas na prática ortodôntica para a correção da mordida cruzada posterior é a expansão rápida da maxila. A recidiva pós-disjunção demonstra a necessidade do uso de contenção para garantir o sucesso da terapia. A sutura neoformada e as maxilas devem se manter em sua nova posição por um período mínimo para adquirir estabilidade. Seria um benefício acelerar a neoformação óssea na sutura palatina após a expansão com o objetivo de reduzir o tempo do período de contenção. O uso do laser na regeneração óssea é justificada pela possibilidade de diminuir o tempo de contenção garantindo assim maior estabilidade pós-tratamento. O presente estudo teve como objetivo verificar o efeito do laser de baixa intensidade com diferentes potências na regeneração óssea na região da sutura palatina. Foram utilizados 20 ratos (Wistar), com 45 (quarenta e cinco) dias de idade, divididos em 5 (cinco) grupos, sendo 4 (quatro) ratos cada um, assim descritos: Grupo 1 – Não irradiados nem submetidos a disjunção e Grupo 2 – Não irradiados, mas submetidos a disjunção. Os Grupos experimentais serão assim distribuídos: Grupo 3 – submetidos a disjunção e irradiados com dose única de $4\text{J}/\text{cm}^2$; Grupo 4 – submetidos a disjunção e irradiados com dose única de $8\text{J}/\text{cm}^2$ e Grupo 5 - submetidos a disjunção e a irradiação com 2 doses de $4\text{J}/\text{cm}^2$. Os grupos irradiados receberam as doses no momento 0 (zero – início do estudo) e dois dias após a primeira dose, quando indicado. A aplicação foi feita na sutura palatina

mediana. Os ratos sofreram eutanásia, nos seguintes tempos: 1^o, 3^o, 7^o e 15^o dia e procedem-se a avaliação histológica dos tecidos. Para a análise dos resultados foi utilizado o teste Exato de Fisher. No grupo 1, observamos desenvolvimento normal do osso na região da sutura palatina mediana. No Grupo 2, observamos área de neo-formação óssea, com a presença de vários osteoblastos. Os grupos submetidos a disjunção e laserterapia (Grupos 3, 4 e 5) apresentaram comportamento similar entre si, mas com algumas particularidades.

Com os resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que a laserterapia tem discreto efeito na remodelação óssea da sutura palatina em ratos e os grupos experimentais apresentaram menor grau de inflamação da região estudada, mas não foi estatisticamente significativa.

Palavras-Chaves: lasers, regeneração óssea, expansão rápida da maxila

Simões FXPC. Evaluation of osseous regeneration, using the low-power lasertherapy in the midpalatal suture in rats after maxillary expansion [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

Rapid maxillary expansion is one of the therapy used in the practice orthodontic to the posterior crossbite correction. Relapsed after expansion treatment required a contention device to guarantee a success therapy. The neoformation suture and the maxilla have maintained in the new position for a period to get the stability. To accelerate the osseous regeneration in the medline suture after expansion to reduce the retention period. The use of laser in the osseous regeneration its possible to decreased the retention period to guarantee the stability after treatment. The aim of the study was to investigate the low power laser efect with different power in the osseous regeneration in the midline palatal suture. Twenty male rats (Wistar) 45 days old were used. The animals were divided into five groups: group 1 – Non irradiation and non expansion; group 2 – Non irradiation and expansion; group 3 – expansion and one dose of irradiation $4\text{J}/\text{cm}^2$; group 4 – expansion and one dose of irradiation $8\text{J}/\text{cm}^2$; and group 5 - expansion and two dose of irradiation $4\text{J}/\text{cm}^2$. The irradiation groups were irradiated in the first day and the group 5, the second irradiation was two days after the first time. The irradiation was done in the palatal suture. The animals received intraperitoneally injection in the: 1^0 , 3^0 , 7^0 and 15^0 day and were evaluated histologically. The results was analysis by the Fisher test. Group 1 showed a osseous normal development in the midline palatal suture. Group 2 showed a osseous regeneration with oosteoblasts. The expansion and lasertherapy group (group 3, 4 e

5) showed similar results. The conclusions drawn from this study are that the laser therapy has a light effect in the osseous regeneration in the midline palatal suture in rats and the experimental group showed less inflammation in the suture area but not statistically significance.

Keywords: Lasers, bone regeneration, palatal expansion technique

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 - Afastamento com espátula de inserção para promover a disjunção cirúrgica	34
Figura 4.2 – Adaptação do dispositivo expensor	35
Figura 4.3 – Dispositivo disjuntor	36
Figura 4.4 – Inserção do compósito com único incremento	36
Figura 4.5 – Aplicação do laser de infravermelho	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Peso inicial e final dos animais para controle da saúde	30
Tabela 4.2 – Avaliação final das lâminas	41
Tabela 5.1 – Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 1 dia após a expansão	42
Tabela 5.2 – Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 3 dias após a expansão	43
Tabela 5.3 – Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 7 dias após a expansão	43
Tabela 5.4 – Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 15 dias após a expansão	43
Tabela 5.5 – P valor do teste exato de Fisher da diferença entre os grupos	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HE	Hematoxicilina/eosina
LM	Microscopia de luz
J/cm ²	Jaules por centímetro quadrado
mm	milímetro

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
™	Trade Mark (marca registrada)

SUMÁRIO

	p
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3 PROPOSIÇÃO.....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 Material	29
4.1.1 População amostral	29
4.1.2 Material.....	31
4.1.3 Equipamentos.....	32
4.2 Método	33
4.2.1 Grupos amostrais	33
4.2.2 Expansão	33
4.2.3 Irradiação com laser	37
4.2.4 Eutanásia	38
4.2.5 Exame histológico	38
4.2.6 Análise estatística.....	41
5 RESULTADOS.....	42
6 DISCUSSÃO.....	46
7 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXOS.....	64

1 INTRODUÇÃO

O objetivo da ortodontia é voltado para o estabelecimento da oclusão normal. As bases ósseas devem estar bem relacionadas entre si nos três sentidos do espaço: sagital., vertical e transversal e com a base do crânio. As dimensões do arco dentário superior devem ser maiores do que as do arco dentário inferior. Com frequência é observado atresia do arco dentário superior e na ausência de discrepância sagital entre as bases apicais, a atresia do arco dentário superior culmina com a mordida cruzada posterior. Na dentadura mista a mordida cruzada posterior representa 18% das crianças brasileiras portadoras de má oclusão (SILVA FILHO; FREITAS; CAVASSAN, 1990). Uma terapia bastante utilizada na correção da atresia maxilar é a expansão rápida da maxila (ERM) (CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997; SILVA FILHO; CAPELOZZA FILHO, 1988). A ERM tem sido utilizado há mais de 140 anos e tem como objetivo, a correção da deficiência maxilar transversal. Uma vez indicada a ERM, a preocupação do ortodontista está voltada para a estabilidade pós-tratamento. Mesmo após a fase de contenção existe a tendência do arco dentário superior a retornar a sua forma original (POLING, 1999; SILVA FILHO et al., 2004; LINDER-ARONSON; LINDGREN, 1979; MOUSA; O'REILLY; CLOSE, 1995).

De fato, a recidiva tende a ser uma constante em ortodontia, mesmo para o procedimento de ERM. Alguns estudos são realizados objetivando garantir maior estabilidade do tratamento após a ERM, e exemplo de Simões (2001).

2 REVISÃO DE LITERATURA

Estudo realizado por (PRITCHARD; SCOTT; GIRGIS 1957) verificou o desenvolvimento das suturas craniofaciais e seu papel no mecanismo de crescimento intramembranosa da maioria dos ossos da face e do crânio (WRIGHT, 1911). As suturas se fecham por fusão depois de cessado o processo ativo de expansão (WAGEMANS; VELDE; KUIJPERS-JAGTMAN, 1988).

A maxila humana se desenvolve a partir de um centro de ossificação intramembranoso, surgindo no lado externo da cápsula nasal., abaixo e lateralmente ao nervo infra-orbital. A ossificação se estende no processo palatino para formar a maior parte anterior do palato duro, prolongando-se nos três processos dos ossos palatinos e dentro da lâmina horizontal., formando a porção posterior do palato duro bilateralmente, em direção à linha mediana. Neste local., observa-se diferenciação celular em fibroblastos, com o objetivo de constituir o tecido sutural (BITTENCOURT, 1995).

A atresia do arco dentário superior caracteriza-se pela forma triangular, podendo ser tratada desde a dentição decídua (SILVA FILHO et al., 2000). Alguns fatores devem ser considerados, como a ausência ou não de discrepância sagital e a natureza da atresia, se dento-alveolar ou esquelética. Não ocorrendo compensação dentária inferior, o quadro clínico é definido como mordida cruzada posterior. Esta condição, geralmente mostra-se unilateral., devido ao deslocamento funcional da mandíbula, na busca de oclusão estável entre os arcos em máxima intercuspidação habitual (CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997).

O tratamento com a ERM tem sido utilizada há mais de 140 anos. Vários protocolos de ativação tem sido desenvolvidos ao longo desse período: expansão lenta, expansão semi-rápida, expansão rápida e expansão rápida assistida cirurgicamente (KRAUT, 1984; POGREL, 1992; LAGRAVÈRE et al., 2006). O primeiro relato para esta prática é datado de 1860 (HASS, 1961; CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997), na cidade de São Francisco, nos Estados Unidos por ANGELL, em um paciente de 14 anos e meio de idade. Este foi o marco da expansão rápida da maxila e os resultados publicados deixaram a comunidade científica curiosa (ANGELL, 1860). No entanto, no início do século 20, a idéia do crescimento ósseo intersticial estimulado pela movimentação ortodôntica, defendido por Angle, foi decisiva para que os ortodontistas americanos abandonassem por meio século a ERM. Enquanto isso, os pesquisadores europeus obtiveram excelentes resultados com a ERM. Isto foi decisivo para que a comunidade científica americana retomasse suas pesquisas, estabelecendo uma nova era da Ortodontia nos Estados Unidos (CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997). HAAS (1961) popularizou a prática expansionista, realizando estudos em porcos e descrevendo as alterações ocorridas na maxila, cavidade nasal e mandíbula. Posteriormente, em humanos, comprovou os efeitos decorrentes da ERM em 10 pacientes com insuficiência maxilar ou respiratória, sugerindo que a resistência do pilar zigomático era responsável pela separação da maxila em forma de cunha.

Estudo radiográfico e histológico realizado por Debbane (1958) sobre o efeito ortopédico na sutura palatina mediana, mostrou separação dos ossos maxilares e deposição assimétrica de novo tecido ósseo em suas margens. Na região mais anterior da maxila observou-se elevado número de feixes rompidos, dilatação dos vasos sanguíneos e edema, com desorganização do tecido conjuntivo.

Estas constatações indicaram que o crescimento sutural pode ser influenciado em algum grau por fatores mecânicos. Murray e Cleall (1971) realizaram trabalho demonstrando a resposta tissular à expansão. Observaram que a abertura da sutura envolvia três alterações histológicas: adaptação do tecido conectivo às forças aplicadas; proliferação do mesmo tecido com grande reabsorção para permitir a separação dos ossos maxilares; e intensa remodelação do osso. Em estudo com animais, Nascimento (1995) mostrou que as suturas destes apresentam ossos mais esponjosos, interdigitados e com características de envelhecimento, com fibras com feixes mais espessos.

O aparelho expansor fixo tipo Hass, ou seja, dento-muco-suportado, representa um dos dispositivos utilizados para promover a separação dos ossos maxilares (HAAS, 1961; HAAS 1965; SILVA FILHO et al., 1989). Este recurso tem sido utilizado como rotina no tratamento da deficiência transversa real ou relativa da maxila (TEN CATE; FREEMAN; DICKINSON, 1977, CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997) e em qualquer estágio de desenvolvimento da oclusão (SILVA FILHO; GIMAIEL; OKADA, 1995).

A ERM inclui uma fase ativa, utilizando forças laterais que têm início 24 horas após a instalação do aparelho, com término após a última ativação do parafuso expansor, com 2 a 3mm de sobrecorreção, posto que, além de esperada recidiva dento-alveolar, a recidiva esquelética também acompanha a expansão, e uma fase passiva ou de contenção, que consiste em manter o aparelho expansor na boca enquanto a sutura palatina mediana se reorganiza (MEW, 1983). A neoformação óssea tem início logo após cessada a fase ativa (STARNBACH et al., 1966; MOSS, 1968; VARDIMON et al., 1998).

Em pacientes adultos, a correção da deficiência transversal da maxila é potencializada e possibilitada pela expansão ortopédica assistida cirurgicamente (ROBIONY et al., 2007). Esta imposição é explicada pela rigidez estrutural do esqueleto facial., em especial da face média, com o passar dos anos. Além do mais, sutura palatina mediana consolida-se por volta dos 14 a 15 anos de idade no gênero feminino e entre 15 e 16 anos no gênero masculino. Após a consolidação das suturas circum-maxilares, a expansão ortopédica maxilar tem o sucesso duvidoso, ocorrendo movimento dentário em detrimento de movimento esquelético. A ERM em pacientes adultos causa dor, complicações periodontais e recessão gengival nos dentes de ancoragem. Por isso, a indicação da ERM assistida cirurgicamente pode permitir melhores resultados em pacientes adultos (ATAC; KARASU; AYTAC, 2006) devido à eliminação da resistência das suturas: intermaxilares, zigomatico-maxilares, naso-maxilares e pterigo-maxilares (ROBIONY et al., 2007).

Finalizada a fase ativa, o expansor é mantido na cavidade bucal por um período mínimo de três meses, caracterizando a primeira fase de contenção (MOSS, 1968; EKSTRÖM; HENRIKSON; JENSEN, 1977; HICKS, 1978; BELL, 1982; CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997). A manutenção do aparelho expansor durante esse período é importante para garantir a neoformação óssea na região da sutura palatina mediana (HICKS, 1978; CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997) e permitir que a força residual acumulada nas suturas maxilares se dissipe completamente (HICKS, 1978). Durante a contenção, o diastema entre os incisivos centrais superiores é fechado progressivamente, até que os dentes retornem a sua posição original (SILVA FILHO; HERNANDES; FERRARI JÚNIOR, 1995).

Após a primeira fase de contenção, inicia-se a segunda fase, que é caracterizada pela instalação de uma placa de contenção removível em substituição

ao aparelho expensor fixo, por pelo menos seis meses (ZIMRING; ISAACSON, 1965; EKSTRÖM; HENRIKSON; JENSEN, 1977; CAPELOZZA FILHO; SILVA FILHO, 1997).

Em seus estudos, Linder-Aronson e Lindgren (1979) também relataram uma recidiva significativa como resultado da expansão maxilar. Em contrapartida, inúmeros outros trabalhos contradizem esses achados, a exemplo do de Moussa, O'Reilly e Close (1995), que encontraram bons resultados nos 55 pacientes tratados por HAAS, com acompanhamento de oito a dez anos após o período de contenção.

A sobrecorreção é imprescindível e deve ser em torno de 2 a 3mm, posto que, além da esperada recidiva dento-alveolar, a recidiva esquelética também acompanha a expansão. Murray e Cleall (1971) realizaram trabalho demonstrando a resposta tissular à expansão. Observaram que a abertura da sutura envolvia três alterações histológicas: adaptação do tecido conectivo às forças aplicadas; proliferação do mesmo tecido com grande reabsorção para permitir a separação das maxilas; e intensa remodelação do osso. O período de contenção é fundamental para evitar recidiva ou, pelo menos, para amenizar seu efeito, pois, quando insuficiente pode comprometer a qualidade do tratamento executado (BINDER, 1988).

A recidiva observada com a remoção prematura do aparelho disjuntor demonstra a necessidade do uso de contenção para garantir o sucesso da terapia até que seja estabelecida uma condição de equilíbrio nas suturas da maxila (ZIMRING; ISAACSON, 1965). Por essa razão, o aparelho expensor deve ser mantido como contenção até haver formação de novo tecido ósseo na região expandida. Estudos realizados em 1970 relataram a eficácia da disjunção da sutura, relacionando os resultados obtidos com a maturação esquelética (CAPELOZZA

FILHO; SILVA FILHO, 1997). Outros autores afirmaram que a sutura era neoformada e que as maxilas deveriam se manter em sua nova posição por um período para adquirir estabilidade (GARDNER; KRONMAN, 1971). A habilidade do profissional em medir as mudanças que ocorrem após a expansão é importante para precaver-se dos efeitos finais do tratamento ortodôntico (COBO; VIJANDE; SUAREZ-QUINTANILLA, 1992).

Com o intuito de evitar ou neutralizar a tendência de recidiva é necessário ter conhecimento de mecânica (VARDIMON et al., 1998), tendo como principal objetivo, a necessidade de dissipação da força aplicada. A reação da força aplicada durante a fase ativa da disjunção, consiste em dois estágios. O estágio inicial é caracterizada pela somatória da força aplicada durante as ativações. O estágio tardio é caracterizado pela manutenção do nível presumível da força denominada força residual (BROSH et al., 1998).

Case (1920) e Attia (1993) afirmaram que a contenção é uma parte da Ortodontia tão indispensável na obtenção do sucesso do tratamento que, em algumas situações, deve-se preconizar a utilização de contenção permanente. Case (1920) ainda enfatiza a necessidade de contenção permanente nos casos em que se realizam movimentos dentários de corpo envolvendo um grande número de dentes de um mesmo arco, nos pacientes tratados com expansão ou com extensos movimentos méso-distais.

Os especialistas propõem procedimentos terapêuticos para compensar esse efeito, pois, mesmo após a fase de contenção, existe uma tendência do arco dentário superior a retornar a sua forma original (VARDIMON et al., 1998; POLING, 1999). Para atender a esse objetivo são utilizados aparelhos fixos e/ou removíveis, em período integral ou parcial (BINDER, 1988; POLING, 1999). O tipo de

aparatosia a ser utilizada e a duração de uso são aspectos que devem ser avaliados previamente, levando-se em consideração diversos fatores (BINDER, 1988), como o potencial de crescimento, o período da dentição, a intercuspidação obtida e a saúde periodontal (JOSELL, 1999).

Durante o tratamento ortodôntico, existe um remodelamento constante do osso alveolar de suporte e concomitante reorganização do ligamento periodontal e das fibras gengivais. A estabilização dessas mudanças e a acomodação dos dentes em suas novas posições não ocorrem definitivamente no período de contenção rígida. Uma vez removida a contenção fixa, as forças mastigatórias e as fibras colágenas dos ligamentos periodontais se organizarão no período de 90 a 120 dias (BINDER, 1988).

Espera-se alguma alteração na relação dentária após a conclusão da fase ativa de tratamento, que não necessariamente signifique recidiva. A despeito da tendência a retornar às dimensões pré-tratamento, certa mudança pós-tratamento é aceitável, e é desejável, com o objetivo de permitir melhor ajuste oclusal., assim como o estabelecimento adequado da guia anterior (SADOWSKY; SAKOLS, 1982). Alguns estudos têm mostrado um alinhamento insatisfatório dos incisivos inferiores a longo prazo, após a finalização da fase de contenção do tratamento ortodôntico, com ou sem extração dentária (DUGONI et al., 1995; ARTUN; GAROL; LITTLE, 1996), com ou sem expansão dos arcos dentários (DUGONI et al., 1995).

A estabilidade pós-tratamento é um dos assuntos mais controversos na Ortodontia. Em seus estudos (LINDER-ARONSON; LINDGREN, 1979) também relataram uma recidiva significativa como resultado da expansão maxilar. Em contrapartida, inúmeros outros trabalhos contradizem esses achados, a exemplo do de (MOUSSA; O REILLY; CLOSE, 1995), que encontraram bons resultados nos 55

pacientes tratados por HAAS, com acompanhamento de oito a dez anos após o período de contenção.

O tempo necessário para o ajuste esquelético durante a contenção e o potencial de recidiva dependem do valor da força residual ao final da disjunção. Utilizando um dinamômetro fixo no expensor, foi observado, em pacientes jovens, que essa força, presente no complexo craniofacial., somente desaparece cerca de cinco a sete semanas durante o período de contenção. Daí a necessidade de realizarem-se ativações mais lentas para evitar o acúmulo de forças maiores. As forças produzidas por uma ativação geralmente se dissipam em um período de 12 horas. Porém, forças residuais acumuladas no período entre as ativações concorrem para a produção de cargas totais mais altas (ZIMRING; ISAACSON, 1965).

O período exigido para a neo-formação óssea aumenta com a idade. Como a consolidação do osso após a movimentação dentária é importante, o período ideal de contenção deve ser avaliado previamente (KAHL-NIEKE; FISCHBACH; SCHWARZE, 1996). Ekström, Herinkson e Jensen (1977) utilizaram radioisótopo I em um menino de dez anos de idade com atresia maxilar e mordida cruzada unilateral visando medir a mineralização na parte anterior da sutura palatina mediana após expansão. No primeiro mês, observaram uma rápida deposição de conteúdo mineral., que continuou por dois meses, embora em menor velocidade. Às margens da sutura, o conteúdo mineral diminuiu durante o primeiro mês da medição, mas retornou ao nível inicial cinco semanas depois. Ao final do período de medição, três meses após completar a abertura da sutura, o conteúdo mineral era o mesmo em todas as áreas medidas, sugerindo estabilização do processo de mineralização na sutura expandida.

A contenção é necessária por três motivos: as estruturas periodontais e os tecidos afetados pela movimentação dentária requerem um período para se reorganizarem após a fase ativa do tratamento; as unidades dentárias reposicionadas estão sujeitas a recidiva pela pressão dos tecidos moles circunvizinhos; e, por fim, as mudanças pelo crescimento natural podem modificar o resultado final (JOSELL, 1999).

Simões (2001) avaliou a densidade óptica na região da sutura palatina mediana de humanos antes, durante e após a expansão rápida da maxila no período de três meses pós-expansão. Os resultados demonstraram diminuição da densidade logo após o término da ativação e aumento gradativo até o fim do terceiro mês. O valor da densidade no terceiro mês não foi significativamente maior quando comparado com o período pré-expansão.

Embora muitos estudos tenham sido realizados para investigar as alterações que ocorrem na região da sutura palatina mediana após a expansão rápida da maxila, poucas investigações foram realizadas visando determinar, com segurança, se o novo osso está maduro o suficiente para garantir a estabilidade do tratamento (MOSS, 1968; EKSTRÖM; HERINKSON; JENSEN, 1977; TEN CATE; FREEMAN; DICKINSON, 1977; COBO; VIJANDE; SUAREZ-QUITANILLA, 1992). Além disso, seria um benefício acelerar a neoformação óssea na sutura palatina após a expansão com o objetivo de reduzir o tempo do período de contenção (SAITO; SHIMIZU, 1997). A resposta aos estímulos nem sempre ocorre como desejada, tornando necessária a adoção de métodos coadjuvantes para que o resultado ocorra de maneira mais previsível (CARVALHO et al., 2002).

A reparação de feridas foi estudada pela primeira vez por Euler em meados de 1923, utilizando cães. A partir deste estudo, surgiram vários outros, com

critérios de avaliação radiográfica, histológica ou histoquímica. Com o advento do raio laser, em 1960, os benefícios foram bem salientados na literatura. Estes efeitos de processam de várias formas, tais como: induzindo a atividade mitótica das células epiteliais (KANA; HUTSCHENREITER, 1981; TUNER; HODE, 2004), modificando a densidade capilar, estimulando a micro-circulação local. Mas poucos são os trabalhos que avaliaram a ação do Raio Laser sobre o processo de reparo de feridas de extração dentária em condições normais (TAKEDA, 1988; YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996). Observou-se a aceleração na cronologia do reparo alveolar, embora haja dados conflitantes segundo o tipo de aparelho utilizado, o comprimento de onda, o tempo de exposição e a forma de aplicação da radiação.

A aceleração da formação óssea através da irradiação de laser de baixa potência tem sido foco de pesquisas contemporâneas. Apesar dos mecanismos de ação ainda não estarem totalmente esclarecidos, a literatura mostra bons resultados “in vitro” e “in vivo”, sugerindo a proliferação celular de osteoblastos, osteogênese e aceleração na regeneração óssea (SAITO; SHIMIZU, 1997; FREITAS; BARANAUSKAS; CRUZ-HOFLING, 2000, NICOLAU et al., 2003; PAIXÃO, 2006).

Com relação à influência do número de aplicações do Raio Laser sobre os eventos biológicos, a literatura é escassa (GARCIA et al., 2000). A terapia com laser é usada na estimulação da cicatrização nos tecidos moles, como antiinflamatório, no alívio da dor e para estimular o sistema imune a fim de atenuar os efeitos infecciosos (FRANKS, 1999).

O uso de diferentes lasers não ablativos em diferentes especialidades da Odontologia tem sido demonstrado como uma forma de auxiliar o profissional em conseguir resultados mais satisfatórios e pode ser utilizado repetidamente e sem riscos para o paciente e para o profissional e a um custo baixo.

O laser diodo infravermelho de $\lambda 830\text{nm}$ é utilizado por apresentar propriedade de penetração tecidual maior nos tecidos subcutâneos devido a sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele (2-6mm ou mais) enquanto o laser de HeNe (luz vermelha), trabalha com comprimento de onda na faixa de $\lambda 632,8\text{nm}$ e tem um poder de penetração superficial (0,5-1mm), antes de perder 37% de sua intensidade, sendo mais utilizado na cicatrização dos tecidos moles (BASFORD, 1995).

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo verificar o efeito do laser de baixa intensidade na regeneração óssea da sutura palatina mediana em ratos após a ruptura da referida sutura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Antes do início do experimento, o protocolo de pesquisa do presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) e aprovado, conforme Parecer nº 06/2005 (ANEXO A). Esta mesma pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Animais da Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências (FBDC), conforme o Parecer nº 004/2007 (ANEXO B), para realização de parte do experimento.

O presente estudo foi desenvolvido em duas etapas: a primeira realizada no biotério do Curso de Odontologia da Fundação Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências e consistiu da instalação dos aparelhos e aplicação do laser em ratos; a segunda, no laboratório de patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo Disciplina de Patologia Oral para confecção das lâminas e avaliação histológica.

4.1 Material

4.1.1 População amostral

Para este estudo foram utilizados 20 (vinte) ratos (*rattus norvegicus albibus Wistar*), provenientes do Biotério do Curso de Odontologia da Fundação

Bahiana para o Desenvolvimento das Ciências, com 45 (quarenta e cinco) dias de idade, com peso médio de $190 \pm 20\text{g}$. O monitoramento do peso foi feito diariamente para avaliação da saúde (SAITO; SHIMIZU, 1997), com o auxílio de balança (Toledo) (Tabela 4.1).

Os ratos foram mantidos em gaiolas individuais apropriadas com recipientes para ração e água, garantindo alimento e água suficientes para a sobrevivência e controle de ambiente de 12 horas claro e 12 horas escuro (LD 12:12) (SAITO; SHIMIZU, 1997; TAKEDA, 1988), com temperatura constante de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ e controle de umidade relativa do ar em $50 \pm 5\%$, a fim de garantir o correto ciclo do metabolismo dos animais (BITTENCOURT; BOLOGNESE, 2000).

Tabela 4.1 - Peso inicial e final dos animais para controle da saúde

Grupo	Dias	Peso inicial (g)	Peso final (g)
01	01	190	190
	03	200	206
	07	190	218
	15	200	220
02	01	190	190
	03	189	190
	07	212	220
	15	203	224
03	01	200	187
	03	202	218
	07	200	204
	15	201	222
04	01	191	190
	03	195	198
	07	191	232
	15	204	214

4.1.2 Material

- Dispositivo expensor confeccionado com fio de aço (nº 0,20) para manter a ruptura da sutura palatina mediana provocada por uma espátula contra os incisivos centrais superiores
- Ácido fosfórico a 37%;
- Sistema adesivo Single & Bond 2.1 (Dentsply);
- Compósito Filtek Z100 (3M ESPE);
- Solução aquosa de hidrato de cloral a 10%;
- Soluções de álcool (40, 60, 80 e 95%) e álcool absoluto (Reagen);
- Xilol (Merck);
- Parafina;
- Lâminas de vidro lapidada modelo 4-0521 com largura de 26X76mm de espessura 1,0 a 1,2 mm (marca Glass Técnica);
- Navalha (Easy Path);
- Solução de ácido clorídrico a 1% diluído em álcool a 70%;
- Hematoxilina (Merck);
- Eosina (Merck).

4.1.3 Equipamentos

- Laser infravermelho de baixa intensidade com as seguintes características:
 - Aparelho emissor Laser Ecco Fibras Ópticas e Dispositivos Ltda (Modelo ACPT04C N/S: 054801);
 - Meio Ativo: Arseneto de Gálio Alumínio (Ga-Al-As);
 - Comprimento de onda (λ)= 830nm (infravermelho);
 - Potência = variável de 100-700mW;
- Aparelho fotopolimerizador Optilight 600 (marca Dabi Atlante);
- Balança (marca Toledo);
- Máquina para inclusão de parafina Tissue Tek® TEC™ (marca Sakura);
- Estufa de cultura Modelo 002CB (marca Fanem Ltda);
- Tissue Tek® SCA com fita de polietileno (marca Sakura);
- Tissue Tek® DRS™ para coloração (marca Sakura);
- Micrótomo modelo RM 2045 (marca Leica);
- Equipamento para diluição (marca Leica);
- Microscópio de luz Olympus CH-2.

4.2 Método

4.2.1 Grupos amostrais

Os 20 (vinte) espécimes foram divididos em 5 (cinco) grupos, de 4 (quatro) ratos cada um, assim descritos: Grupos controle: Grupo 1 – Não irradiados nem submetidos a expansão e Grupo 2 – Não irradiados, mas submetidos a expansão. Os Grupos experimentais serão assim distribuídos: Grupo 3 – submetidos a expansão e irradiados com dose única de 4J/cm^2 ; Grupo 4 – submetidos a expansão e irradiados com dose única de 8 J/cm^2 e Grupo 5 - submetidos a expansão e a irradiação com 2 doses de 4 J/cm^2 . Os grupos irradiados receberam as doses no momento 0 (zero – início do estudo) e no grupo 5, a segunda irradiação ocorreu dois dias após a primeira dose. A aplicação foi feita na sutura palatina mediana. Os ratos sofreram eutanásia nos seguintes tempos: 1^0 , 3^0 , 7^0 e 15^0 dia, o primeiro dia será considerado o 1^0 dia após a primeira dose ou 2^a dose quando indicado.

4.2.2 Expansão

Para a confecção do dispositivo expensor, um rato foi usado como modelo para confecção do expensor, para isso foi seguido o mesmo protocolo de sedação a

que os ratos do experimento foram submetidos. O protocolo anestésico adotado, tanto para a instalação do aparelho como para a aplicação do laser, consistiu em administrar solução aquosa de hidrato de cloral a 10%, na dosagem de 0,4ml para cada 100g, injetada por via intraperitoneal (OLIVEIRA et al., 2006). Previamente à fixação do dispositivo na referida região por meio de sistema adesivo e compósito fotopolimerizável foi realizada disjunção cirúrgica por meio do afastamento com auxílio de uma espátula (Figura 4.1). Para a elaboração do dispositivo foi utilizado fio ortodôntico nº 0,20, com o auxílio de alicate ortodôntico nº 329, foram confeccionados dois helicóides e ganchos lateralmente (Figura 4.2). Todos os dispositivos foram cuidadosamente manufaturados com o mesmo tamanho para padronização. Esta conduta foi estabelecida para que não ocorresse diferença entre as distâncias inter-incisivos. Os ganchos tinham finalidade de facilitar a adaptação do dispositivo nos incisivos, além de servir de apoio ao compósito para a fixação do referido dispositivo à estrutura dentária do rato.

Figura 4.1 - Afastamento com espátula de inserção para promover a disjunção cirúrgica

Figura 4.2 - Adaptação do dispositivo expansor

Primeiramente foi realizada uma fricção com cotonete e pasta de pedra pomes e água para remover qualquer impureza na superfície dos dentes. Em seguida, lavagem com água com auxílio de seringa Luer e secagem com algodão, logo após, utilizou-se sistema adesivo de 4ª geração (Prime & Bond 2.1 - Dentsply) e fotopolimerização com o auxílio do aparelho Optilight 600 da Dabi Atlante por 40 segundos. Realizou-se separação dos incisivos com o auxílio de espátula de inserção promovendo afastamento mecânico das maxilas para adaptação do dispositivo disjuntor. O dispositivo promoveu uma separação de 1 mm entre os incisivos, medido com régua milimetrada (FIGURA 4.3). Este foi fixado ao dente com compósito Z100 da 3M ESPE e foto-polimerizado por 40 segundos (FIGURA 4.4).

Figura 4.3 - Dispositivo disjuntor

Figura 4.4 - Inserção do compósito com único incremento

4.2.3 Irradiação com laser

Foi utilizado um aparelho Emissor Laser de arseneto de gálio-alumínio (Ga-Al-As) (Ecco Fibras – Modelo ACPT04C N/S: 054801), com comprimento de onda de 830nm (infravermelho) e potência de - 40 mW, a qual foi aferida sempre antes do uso. Para a aplicação foi utilizada uma fibra ótica com diâmetro de 1,5mm 0,4N/A e o comprimento da ponteira de 6cm de “core” (miolo) em quartzo e “clade” (revestimento) em nylon. A polarização dos feixes foi de forma aleatória e o modo de operação contínuo. O tempo de irradiação foi de 100 segundos, para $D= 4\text{J/cm}^2$ e 200 segundos para $D= 8\text{ J/cm}^2$. A ponta da fibra foi posicionada o mais próxima possível tocando o tecido levemente e a aplicação foi de maneira pontual diretamente sobre a região da sutura palatina mediana (FIGURA 4.5).

Figura 4.5 - Aplicação do laser de infravermelho

4.2.4 Eutanásia

O protocolo para obtenção da colheita do material de estudo exigiu a eutanásia (FONTES, 1955; OLIVEIRA, ALVES, REZENDE, 2002). O método escolhido para esta pesquisa foi promover anestesia com superdosagem. A eutanásia foi realizada conforme o protocolo estabelecido para o estudo, assim definido: 1, 3, 7 e 15 dias após a irradiação do laser. Este tempo é suficiente para ser observada alguma alteração na região expandida (LILJA; LINDSKOG; HAMMARSTRÖM, 1981).

Para a obtenção das peças, a dissecação foi realizada inicialmente com o auxílio de bisturi e lâmina nº 12 para o descolamento da mucosa jugal das maxilas, posteriormente utilizou-se uma tesoura de ponta romba, executando um corte tangencialmente a face distal do terceiro molar, outro na porção anterior e dois, bilateralmente as maxilas direita e esquerda, possibilitando desta forma a remoção da peça.

4.2.5 Exame histológico

Os ratos foram avaliados através de microscopia de luz (LM). Para tanto, as peças obtidas foram fixadas em paraformaldeído a 4% tamponado com fosfato de sódio a 0,1M (pH 7,4) e a seguir encaminhadas ao Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia para o preparo inicial.

Primeiramente as peças foram descalcificadas em ácido fórmico a 20%, por cinco dias, seguida de desidratação através de porcentagens crescentes de soluções de álcool (40, 60, 80 e 95%) até o álcool absoluto (Reagen). A descalcificação prévia foi necessária para a remoção das apatitas, pois estas impossibilitam a microtomia por métodos convencionais. Posteriormente, foram submetidas a duas passagens de xilol (Merck) para a remoção total do álcool e diafanização para remoção de gordura, artefatos que impedem a impregnação da parafina, tendo como resultado um material translúcido. Em seguida foi impregnado com parafina, seguindo os procedimentos usuais de laboratório. Após isto, as peças foram levadas para o Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para proceder a inclusão de parafina em cassete para a preparação dos cortes e conseqüentemente das lâminas. Este procedimento foi realizado por meio da máquina de inclusão Tissue-Tek® TEC™ (SAKURA). As peças foram posicionadas com o palato voltado para cima, para possibilitar o corte no sentido transversal. Após obtenção dos cassetes, procederam-se os cortes de 7 micra, com o auxílio da navalha (Easy Path) em micrótomo da marca LEICA, modelo RM 2045, estendidos em lâminas de vidro fosca lapidada modelo 4-0521 para microscopia com largura de 26X76mm de espessura 1,0 a 1,2 mm da marca Glass Técnica.

As lâminas foram posicionadas verticalmente para escorrer e, posteriormente levadas a uma estufa de cultura modelo 002 CB (Fanem Ltda) por 24 horas. Após este período, os cortes passaram por dois banhos: xilol I e xilol II para remover toda a parafina restante e iniciar a fase de hidratação e conseqüente impregnação dos corantes hematoxilina e eosina (HE). Este processo se deu por meio de porcentagens decrescentes de soluções de álcool, até a água passando primeiro pela solução de hematoxilina de Harris por 5 (cinco) minutos, e posterior

lavagem em água corrente por mais 5 (cinco) minutos para diferenciação. Posteriormente mergulhou-se rapidamente em solução de álcool a 70%, pois a eosina é uma solução alcoólica que permaneceu por 1 (um) minuto. Para a remoção do excesso foi realizada a desidratação em cadeia crescente de álcool iniciada pelo álcool 70%; 80%; 90% e dois banhos de álcool absoluto; 1 banho de álcool e xilol na proporção de 1:1 e dois banhos de xilol I e xilol II para dar início à montagem das lâminas. Este processo foi realizado com o auxílio do equipamento Tissue-Tek® DRS™ da marca Sakura.

Para a montagem das lâminas em HE foi utilizado o equipamento que possui fita de polietileno, Tissue-Tek® SCA e xilol que faz a aderência dessa fita na lâmina.

Para avaliação das lâminas foi utilizado o microscópio de luz Olympus CH-2, com aumento de 40X. O microscópio de luz permite aumento de imagens com alta resolução, possibilitando avaliação com detalhes. Para registro das imagens, os cortes foram capturados através de sistema de câmera acoplada ao microscópio ligado ao microcomputador.

As lâminas foram avaliadas por três examinadores que utilizaram uma ficha elaborada para este fim, contendo os seguintes itens: presença de processo inflamatório agudo, processo inflamatório crônico, macrófagos e osteoblastos (ANEXO C). As lâminas foram codificadas para que as avaliadoras não pudessem identificar o momento nem o grupo a que pertenciam. Com a avaliação concluída, foram realizados os testes estatísticos.

4.2.6 Análise estatística

Foi utilizado o teste Kappa para avaliar a concordância intra-avaliadores. O resultado foi de 97% (0,89), que exprime uma concordância excelente e garantindo a adoção de uma única avaliação (Tabela 4.2).

Para a análise dos resultados da avaliação da diferença entre os grupos foi utilizado o teste Exato de Fisher (Tabelas 5.5).

Tabela 4.2 - Avaliação final das lâminas

Condição		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Processo inflamatório crônico	Ausente	4	-	1	2	-
	Presente	-	4	3	2	4
Processo inflamatório agudo	Ausente	4	2	1	1	2
	Presente	-	2	3	3	2
Macrófago	Ausente	4	4	4	4	4
	Presente	-	-	-	-	-
Osteoblastos	Ausente	-	2	1	3	2
	Presente	4	2	3	1	2

5 RESULTADOS

Os animais permaneceram em ambiente com controle de temperatura e luminosidade, apresentando aspecto saudável, acompanhados por meio de peso corpóreo e sem evidências clínicas de infecção.

Esse trabalho foi realizado utilizando as maxilas de ratos, e tendo como objetivo a reparação óssea na sutura palatina mediana. Os estudos mostram que o comportamento da regeneração óssea da referida região é similar ao do ser humano (GERBI, 2004).

Após todo o processo de confecção das lâminas, estas foram avaliadas no laboratório da Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, com o auxílio de microscópio de luz Olympus CH-2.

De maneira geral., os resultados podem ser observados nas Tabelas 5.1 à 5.4 e nas figuras apresentadas nos anexos D, E, F, G e H.

Tabela 5.1 - Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 1 dia após a expansão

1 DIA	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
Processo inflamatório crônico	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
Processo inflamatório agudo	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Macrófagos	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Osteoblastos	Presente	Presente	Presente	Ausente	Poucos

Tabela 5.2 - Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 3 dias após a expansão

3 DIAS	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
Processo inflamatório crônico	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente
Processo inflamatório agudo	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente
Macrófagos	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Osteoblastos	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente

Tabela 5.3 - Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 7 dias após a expansão

7 DIAS	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
Processo inflamatório crônico	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Processo inflamatório agudo	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
Macrófagos	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Osteoblastos	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente

Tabela 5.4 - Resumo da leitura histológica da região da sutura palatina mediana de ratos 15 dias após a expansão

15 DIAS	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
Processo inflamatório crônico	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente
Processo inflamatório agudo	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
Macrófagos	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Osteoblastos	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente

Avaliando-se o grupo 1, que não sofreu o tratamento de disjunção e nem aplicação de terapia com laser, as lâminas referentes aos espécimes com 1 e 3 dias, mostraram o desenvolvimento normal do osso na região da sutura palatina mediana, ou seja, sem evidência de reabsorção nem células inflamatórias. Nas lâminas de 7 e 15 dias evidencia-se alguns macrófagos determinando poucos pontos de reabsorção (ANEXO D).

No grupo 2, referente aos ratos submetidos a disjunção e sem processo de laserterapia, pode-se observar alguma alteração como mostram as lâminas (ANEXO E). Os espécimes que sofreram eutanásia após 1 e 3 dias da disjunção observa-se intenso aglomerado de células inflamatórias e pontos de reabsorção. Para o espécime com 3 dias, observa-se pequena área de neo-formação óssea. Percebe-se que, a partir do terceiro dia já tem início a regeneração óssea independente da aplicação do laser.

Ainda em relação ao segundo grupo, o espécime de 7 dias, a área de neo-formação óssea é mais evidente, com a presença de vários osteoblastos. No espécime de 15 dias pode-se observar maior número de osteoblastos determinado a neo-formação óssea na região.

Os grupos submetidos a disjunção e laserterapia, Grupo 3, 4 e 5, apresentaram comportamento similar entre si, mas com algumas particularidades.

No grupo 3, com a disjunção e aplicação de laser de 4 J/cm^2 , os espécimes com 1 e 3 dias apresentaram algum infiltrado inflamatório. Com 7 dias a área da sutura apresentou extensa área de células inflamatórias. O espécime com 15 dias apresentou redução de células inflamatórias e nítida região com reparação óssea (ANEXO F).

O rato do quarto grupo, submetido a laserterapia de 8 J/cm^2 com 1 dia após disjunção, não foi diferente dos outros com mesmo tempo pós laserterapia, apresentando células inflamatórias. Observa-se aspecto inflamatório mais evidente, com o espécime de 3 dias. Este comportamento também é visualizado na lâmina aos 7 dias. Área mais evidente de neo-formação óssea é observada na lâmina de 15 dias (ANEXO G).

No grupo 5 os ratos foram submetidos a disjunção e aplicação de duas doses de 4 J/cm^2 , sendo o grupo que apresentou menor área inflamatória. Neste grupo, a área de neo-formação pode ser observada a partir do 7º dia após a laserterapia sendo mais acentuada no espécime de 15 dias (ANEXO H).

Ao comparar os resultados das lâminas dos ratos com mesmo tempo de acompanhamento, pode-se observar que os ratos com 1 dia dos grupos 2, 3, 4 e 5, apresentaram células inflamatórias. Todos submetidos a disjunção, diferente do espécime do grupo 1, o qual não foi submetido a disjunção.

As lâminas dos ratos de 3 dias dos grupos 2, 3, 4 e 5, apresentaram células inflamatórias em algumas regiões e macrófagos. Comparando-se os espécimes de 7 dias observamos que os do grupo 5, com duas aplicações de 4 J/cm^2 , apresenta regeneração óssea evidente em relação aos espécimes com mesmo tempo, dos grupos 2, 3 e 4.

Com 15 dias pós terapia, observa-se zona de regeneração óssea visível, em todos os 4 grupos que sofreram disjunção, com camadas de osteoblastos na região da sutura.

Os resultados da diferença entre os grupos foram avaliados de acordo com o teste Exato de Fisher (Tabelas 5.5).

Tabela 5.5 - P valor do teste Exato de Fisher da diferença entre os grupos

	Processo inflamatório agudo	Processo inflamatório crônico	Macrófago	Osteoblastos
Grupo 1 X 2	0,42	0,014	1,0	0,42
Grupo 1 X 3	0,07	0,07	1,0	1,0
Grupo 1 X 4	0,07	0,42	1,0	0,07
Grupo 1 X 5	0,42	0,14	1,0	0,42
Grupo 2 X 3	0,29	0,50	1,0	0,50
Grupo 2 X 4	0,50	0,21	1,0	1,0
Grupo 2 X 5	1,0	1,0	1,0	1,0
Grupo 3 X 4	0,50	0,50	1,0	0,24
Grupo 3 X 5	0,50	0,50	1,0	0,50
Grupo 4 X 5	0,50	0,21	1,0	0,50

6 DISCUSSÃO

A expansão ortopédica da maxila consiste no procedimento transversal de alargar a base maxilar mediante a aplicação de um aparelho expensor fixo. Um desses aparelhos, o expensor dento-muco-suportado, denominado na literatura como expensor tipo “Haas”, é tão discutido que é quase um ícone da Ortodontia ocidental contemporânea. O aparelho expensor tipo Haas aumenta as dimensões transversais do arco dentário superior separando as metades maxilares, num procedimento semelhante à distração osteogênica que recebe o nome de disjunção maxilar. A disjunção maxilar tem efeito marcante na sutura palatina mediana, por estar mais próxima do aparelho, muito embora há menção na literatura de reflexo histológico nas suturas circun-maxilares mais distantes. Estudos com radiografias pósterio-anteriores demonstram que a expansão rápida da maxila induz rotação dos segmentos maxilares na vista frontal., com maior abertura localizada na superfície oclusal dos dentes de ancoragem e o centro de rotação dos segmentos maxilares próximo da sutura fronto-nasal (HAAS, 1961; HAAS 1965, SILVA FILHO, et al., 1995). No aspecto transversal., a disjunção maxilar também se mostra de forma triangular, com maior abertura na região da espinha nasal anterior (SILVA FILHO et al., 2005).

O reflexo clínico mais evidente da ruptura da sutura palatina mediana consiste no diastema entre os incisivos centrais superiores e é confirmado mediante radiografia oclusal de maxila ou tomografia computadorizada (SILVA FILHO et al., 2006). Esse procedimento de disjunção maxilar se dá num intervalo de tempo

relativamente curto, de dias, e por isso recebe o nome de “Expansão rápida da maxila”.

A pergunta, hoje esclarecida, mas nem sempre foi assim, refere-se a: o que acontece com a sutura palatina mediana depois da expansão ortopédica? A regeneração óssea na região da sutura palatina mediana após a disjunção maxilar tem sido estudada histológica e radiograficamente desde o estudo clássico preliminar de Haas (1961). Estudo com tomografia computadorizada recente demonstrou a completa ossificação da sutura palatina mediana em intervalo médio de 6 meses (SILVA FILHO et al., 2005).

Muito embora esses estudos tenham mostrado a regeneração completa da sutura palatina mediana no intervalo de alguns meses nos procedimentos ortopédicos puros, a questão ainda tem preocupado os ortodontistas no que tange à velocidade do processo de neoformação. A implicação dessa resposta está no período de tempo necessário para a contenção pós-expansão, visto que o período de contenção imediato, com o aparelho expensor na boca, é determinado pelo tempo de ossificação dessa sutura. Em trabalho recente com imagens radiográficas da sutura palatina mediana verificou-se que a sutura readquire suas características morfológicas normais, mas 3 meses de contenção pós-expansão ortopédica não são suficientes para a completa ossificação da sutura palatina mediana em todos os pacientes (SIMÕES, 2001). Sem dúvida, há uma variabilidade individual. Resultado, esse, coincidente com estudo semelhante desenvolvido no HRAC-USP. Nesse contexto, o tempo de contenção com o próprio disjuntor deve ser individualizado e ainda não está bem definido. Na prática, esse tempo tem sido definido individualmente por meio da avaliação das imagens das radiografias oclusais da maxila. A grande variabilidade depende de vários fatores, incluindo o biológico. A

neo-formação óssea na região da sutura palatina mediana desperta interesse por parte dos profissionais e pesquisadores.

O tecido ósseo apresenta grande potencial de regeneração, o que resulta no restabelecimento da estrutura original e de suas propriedades mecânicas diante de condições adversas, como fratura, por exemplo. Porém, esta capacidade de regeneração tem seus limites e também pode falhar. Os fatores que impedem ou previnem o reparo ósseo são entre outros: falhas de vascularização; instabilidade mecânica e tecidos competidores com alta atividade de proliferação. As células dos tecidos moles podem proliferar mais rapidamente e ocupar o local do defeito antes que as células do tecido ósseo ocupem o seu espaço (GERBI, 2004). Essas falhas podem ocorrer também na ossificação da sutura palatina mediana após a sua ruptura terapêutica, já que esse processo tem características de distração osteogênica. Diante do exposto, vale a pena lançar mão de meios que favoreçam a formação do novo osso na região da sutura palatina mediana.

A implicação clínica direta da ossificação plena da sutura palatina mediana refere-se à estabilidade da nova morfologia do arco dentário superior e da maxila. A recidiva decorrente da falta da maturação óssea na região da sutura é um fator que alerta os profissionais a prestar maior atenção quando se trata de disjunção maxilar. O tempo de contenção com o próprio disjuntor ainda não está bem definido, tendo uma variabilidade grande que depende de vários fatores, incluindo o biológico. A neo-formação óssea na região da sutura palatina mediana desperta interesse por parte dos profissionais e pesquisadores, mas os estudos não relatam com precisão a época ideal para remoção da contenção fixa.

Os ratos vêm sendo utilizados em inúmeras pesquisas como modelo experimental para avaliar a cicatrização e neo-formação óssea, devido a sua

estrutura, desenvolvimento e eventos fisiológicos ocorridos durante o reparo ósseo serem similares ao do ser humano (LILJA; LINDSKOG; HAMMARSTROM, 1981; TAKEDA, 1988; KAWASSAKI; SHIMIZU, 2000; KABASAWA et al., 1996; SAITO; SHIMIZU, 1997). Desta forma, a resposta cicatricial sob uma variedade de condições tem sido bem documentada, justificando a nossa escolha pelo referido modelo animal da raça Wistar Albinus, todos machos jovens (quarenta e cinco dias), para melhor padronização e evitar interferências de fatores hormonais.

Os animais foram submetidos à separação ortopédica da maxila através da instalação de dispositivo na região inter-incisivos. A variável testada foi a laserterapia com o laser diodo infravermelho de $\lambda 830\text{nm}$ com diferentes intensidades: 4 j/cm^2 e 8 j/cm^2 e número de aplicações diferentes, uma e duas aplicações de 4 j/cm^2 .

Neste estudo foi avaliado o efeito do Laser de Ga-Al-As ($\lambda 830\text{nm}$, 40mW , CW, $\varnothing \sim 0,6\text{mm}$, 4 ou 8J/cm^2 por ponto resultando em 16 ou 32 por sessão respectivamente) na neo-formação óssea após disjunção palatina em ratos, através da instalação de dispositivo na região inter-incisivos. A justificativa pela escolha do Laser diodo infravermelho de $\lambda 830\text{nm}$ se deve a propriedade de penetração tecidual maior nos tecidos subcutâneos devido a sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele ($2\text{-}6\text{mm}$ ou mais) que o HeNe (luz vermelha), este trabalha com comprimento de onda na faixa de $\lambda 632,8\text{nm}$ com poder de penetração superficial ($0,5\text{-}1\text{mm}$), antes de perder 37% de sua intensidade, tendo sua melhor indicação na cicatrização dos tecidos moles (BASFORD, 1995).

Antes do sacrifício dos animais, os mesmos foram analisados clinicamente, com o objetivo de verificar se o dispositivo disjuntor estava corretamente posicionado e que não teria interferência nos resultados, ou a

ocorrência de reações inflamatórias clínicas. No presente estudo os animais apresentaram bom estado de saúde, sendo que todos foram utilizados na pesquisa.

O número de pesquisas com Laser tem aumentado, mas ainda são poucas àquelas voltadas para a sutura palatina mediana. Este estudo avaliou a influencia do laser no processo inflamatório desencadeado na referida região após a disjunção maxilar. Saito e Shimizu (1997) desenvolveram estudo semelhante à presente pesquisa, submetendo ratos à irradiação a laser após a expansão da sutura palatina mediana. Os resultados basearam em exames histomorfométrico e histológico. Eles concluíram que a irradiação a laser pode acelerar a regeneração e que esse efeito depende da dose, época e frequência de irradiação.

No presente estudo, a Laserterapia parece ter aumentado a reação inflamatória nos tecidos moles, mas com o passar do tempo, observou-se diminuição deste quadro.

Uma avaliação preliminar sobre a presença de osteoblastos na área da sutura palatina mediana aponta para a presença constante de osteoblastos na área da sutura normal., não expandida. Provavelmente a presença dos osteoblastos sugira a remodelação constante nas margens do tecido ósseo da sutura. Com a disjunção maxilar a mudança constatada foi para redução dos osteoblastos. No grupo de expansão sem laseterapia os osteoblastos estiveram ausentes no terceiro dia após a disjunção. No grupo com aplicação de laser com intensidade 4, os osteoblastos também estiveram ausentes no terceiro dia após disjunção. Nos grupos com aplicação de $8\text{J}/\text{cm}^2$ de uma única vez ou duas aplicações de $4\text{ J}/\text{cm}^2$, a ausência de osteoblastos foi mais constante. Pelo menos no que tange à presença de osteoblastos, a leitura histológica não dá vantagem para a aplicação do laser durante o reparo da sutura palatina mediana. Provavelmente, não haverá uma

aceleração no processo de ossificação da sutura como um todo. Esse comportamento dos osteoblastos fica muito claro nas tabelas representativas do resumo da leitura das lâminas histológicas.

No primeiro dia após a disjunção maxilar não se pode afirmar que a terapia com laser tenha causado qualquer interferência no quadro histológico. Veja na tabela dos resultados histológicos que no primeiro dia após a disjunção maxilar não se pode concluir que a laserterapia tenha induzido algum comportamento específico no processo histológico. A diferença entre o grupo sem laser e os grupos com laser é que nos grupos com laser e potência de 4 J/cm² e de 8 J/cm² mostraram processo inflamatório crônico e o grupo com potência 8 mostrou ausência de osteoblastos.

Saito e Shimizu (1997) observaram que a terapia com laser em estágios iniciais é mais efetiva na regeneração óssea, mas que a aplicação em estágios mais posteriores pode ter importância na maturação celular e na manutenção da atividade da regeneração óssea, tendo como resultado, um processo de reparo mais rápido. No nosso estudo, observamos que os espécimes do grupo 5 (com duas aplicações de 4j/cm²) apresentaram menor área inflamatória e neo-formação a partir do 7º dia após a segunda dose.

Com 3 dias pós-expansão os processos inflamatórios crônico e agudo estavam presentes indiferentemente nos grupos com expansão, independentemente da irradiação com laser. O processo inflamatório crônico estava ausente somente no grupo com expansão e uma aplicação de laser com intensidade 4. Os osteoblastos estavam presentes nos dois grupos com maior intensidade (intensidade 8) e número de aplicação do laser (e doses de 4).

Com 7 dias pós-expansão as diferenças entre os diferentes grupos não caracterizou um comportamento uniforme, a despeito de pequenas diferenças entre eles. A diferença em relação ao grupo controle, sem laserterapia, está na presença de inflamação aguda nos grupos com laser, independentemente da dosagem e da frequência, e a presença de processo inflamatório nos grupos com laser. A tabela sugere que a laserterapia prolongou o processo inflamatório agudo com 7 dias de acompanhamento. Quanto aos osteoblastos, nos dois grupos com maior laserterapia, ou por dosagem (grupo 4) ou por frequência (grupo 5) os osteoblastos estavam ausentes. Essa ausência de osteoblastos nos grupos com laserterapia levanta o questionamento da aplicação do laser, visto que um dos objetivos é exatamente o contrário: povoar a sutura palatina mediana com osteoblastos.

Com 15 dias após a expansão, as diferenças, embora sutis, não favorecem os grupos com laserterapia. Os osteoblastos continuam ausentes com 15 dias nos grupos com mais dosagem de laser.

Por ser uma abordagem recente, a laserterapia, requer exaustivas pesquisas com objetivo de estabelecer parâmetros de utilização, já que as variações são muitas: densidade de potência (DP), densidade de energia (DE), comprimento de onda (λ), tempo de exposição (TE), interação com o tecido, números de irradiações, entre outras (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GERBI, 2004).

Doses muito baixas $1\text{J}/\text{cm}^2$, não afetaram culturas de células, enquanto que, doses muito elevadas produziram efeitos inibitórios. Biomodulação é a terminologia mais moderna que representa o efeito resultante da irradiação Laser devido aos efeitos produzidos tanto para estimular como para inibir, substituindo o antigo termo bioestimulação (MESTER, 1971).

As dosimetrias utilizadas neste estudo, $4\text{J}/\text{cm}^2$ e $8\text{J}/\text{cm}^2$ aplicadas na área da sutura palatina foram embasadas na literatura conforme protocolo utilizado por Pinheiro e Gerbi (2004). Pinheiro e Gerbi (2004) relatam que, o tecido procura reparar a injúria do tecido através dos mediadores químicos da inflamação da proliferação celular que seriam biomoduladores pela radiação Laser, efeito este que é acumulativo. Estes parâmetros utilizados são semelhantes aos preconizados pela literatura para acelerar o processo de cicatrização óssea (OSAWA et al., 1998; PINHEIRO, 1998; BRUGNERA JUNIOR; GERBI et al., 2005; PINHEIRO; GERBI, 2004).

Doses muito baixas ($1\text{J}/\text{cm}^2$) ou elevadas não resultam em resposta positiva, no primeiro caso, não ocasiona nenhuma resposta enquanto no último ocorreria um efeito inibitório (MESTER, 1971).

Os resultados da pesquisa realizada por Gerbi (2004) com ratos promovendo cavidades ósseas confeccionadas no terço superior da face lateral do fêmur direito, com um diâmetro de 2mm^2 , mostraram que em todos os grupos experimentais a neo-formação óssea foi maior e qualitativamente superior, quando comparadas com o grupo controle. Estes resultados foram observados na presente pesquisa.

Os resultados obtidos no presente experimento mostraram que os grupos experimentais submetidos a laserterapia, demonstraram neo-formação óssea mais evidente quando comparados com os grupos 1 e 2. Estes resultados são concordantes com de outros autores: (SAITO; SHIMIZU, 1997), que relataram resultados positivos na modulação do reparo ósseo com trabeculado mais denso e compacto após expansão da sutura palatina; Kawasaki e Shimizu (2000) com uso de molas com objetivo de movimentação dentária e Gerbi et al. (2005) na neoformação

óssea em cavidades preparadas em fêmur, todos os experimentos realizados em ratos Wistar.

O uso da laserterapia em tecido ósseo tem sido estudado por diversos pesquisadores com o objetivo de acelerar o processo de cicatrização óssea, diminuir o desconforto pós-operatório e edema pós-cirúrgico e melhorar a cicatrização tecidual. Os resultados do presente estudo sugerem que a laserterapia incrementou o processo de reparação óssea diminuindo o processo inflamatório.

Como modelo experimental., foram utilizados ratos da raça Wistar Albinus, todos machos jovens (quarenta e cinco dias), para melhor padronização e evitar interferências de fatores hormonais.

Sendo esta pesquisa inédita no que se refere à utilização da laserterapia no reparo ósseo após disjunção palatina mediana, houve dificuldade de avaliar comparativamente os resultados obtidos com estudos anteriores.

O processo inflamatório foi menor nas lâminas correspondentes aos espécimes do grupo 4 quando comparados com os outros grupos. Entre os ratos do grupo 4, o de 15 dias apresentou menor processo inflamatório.

Freitas, Baranauskas e Cruz-Hofling (2000) relataram diminuição do tempo de reparo para as doses de $31,5 \text{ J/cm}^2$ e $94,7 \text{ J/cm}^2$ durante 8 a 15 dias, e os ratos tratados com $31,5 \text{ J/cm}^2$ não apresentaram diferenças quando comparadas com os grupos sem laserterapia. Esses autores observaram ainda que a laserterapia auxiliou no aumento na quantidade de tecido ósseo na região. O presente estudo observou pouca alteração entre os grupos experimentais e controles. Podemos dizer que houve finalidades similares entre os estudos em questão, mas com diferenças entre as doses.

Saito e Shimizu (1997) demonstraram histologicamente que a aplicação de laser de baixa potência de Ga-Al-As, na sutura palatina mediana de ratos foi suficiente para estimular a regeneração óssea após separação das maxilas. Achado concordante foi encontrado no presente estudo com os espécimes de 7 dias pós laserterapia.

Com estes resultados pode-se sugerir a realização de outros estudos com o objetivo de precisar intensidades e frequências mais precisas para definir um protocolo de utilização do laser na regeneração na região de sutura em ratos.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

- A laserterapia, de acordo com o protocolo utilizado, tem discreto efeito na remodelação óssea da sutura palatina em ratos
- Os grupos experimentais apresentaram menor grau de inflamação da região estudada.

REFERÊNCIAS¹

- Angell EH. Treatment of irregularity of the permanent or adult teeth. *Dental Cosmos* 1860;1:540-4.
- Årtun J, Garol JD, Little RM. Long-term stability of mandibular incisors following successful treatment of class II, division 1, malocclusions. *Angle Orthod* 1996;66(3):229-38.
- Atac ATA, Karasu HA, Aytac D. Surgically Assisted rapid maxillary expansion compared with orthopedic rapid maxillary expansion. *Angle Ortodont* 2006;76(3):353-9.
- Attia Y. Midline diastemas: closure and stability. *Angle Orthod* 1993;63(3):209-12.
- Basford JR. Low intensity Laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers in Surg Med* 1995;16(4):331-42.
- Bell RA. A review of maxillary expansion in relation to rate of expansion and patient's age. *Am J Orthod* 1982;81(1):32-7.
- Binder RE. Retention and post-treatment stability in the adult dentition. *Dent Clin North Am* 1988;32(3):621-41.
- Bittencourt MAV. Palatogênese normal e teratogenicamente alterada pela dexametasona, em ratos *Wistar* [Dissertação de Mestrado] Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia da UFRJ;1995.
- Bittencourt MAV, Bolognese AM. Epithelial alterations of secondary palate formation. *Braz Dent J* 2000;11(2):117-26.
- Brosh T, Vardimon AD, Ergatudes C, Spiegler A, Lieberman M. Rapid palatal expansion. Part 3: strains developed during active and retention phases. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1998;114(2):123-33.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Brugnera Junior A, Pinheiro ALB. Laser na Odontologia Moderna. São Paulo: Pancast, 1998.

Capelozza Filho L, Silva Filho OG. Expansão rápida da maxila: considerações gerais e aplicação clínica. Parte I. Rev Dent Press Ortod Ortop Maxilofac 1997;2(3):88-102.

Carvalho DCL, Rosim GC, Gama LOR, Tavares MR, Tribioli RA, Santos IR, Cliquet Jr A. Non-pharmacological treatment in the stimulation of osteogenesis. Rev Saúde Pública 2002;36(5):647-54.

Case CS. Principles of retention in orthodontia. Int J Orthod 1920;6(11):627-58.

Cobo JM, Vijande M, Suarez-Quintanilla D. Evaluation of maxillary disjunction with bone densitometry. J Clin Orthod 1992;26(2):107-10.

Debbane EF. A cephalometric and histologic study of the effect of orthodontic expansion of midpalatal suture of the cat. Am J Orthod 1958;44(3):187-219.

Dugoni SA, Lee JS, Varela J, Dugoni AA. Early mixed dentition treatment: postretention evaluation of stability and relapse. Angle Orthod 1995;65(5):311-20.

Ekström C, Henrinksen CO, Jensen R. Mineralization in the midpalatal suture after orthodontic expansion. Am J Orthod 1977;71(4):449-55.

Fontes EM. Métodos de eutanásia. Rev Port Cien Vet 1955;40:104-9.

Franks Y. Low level Laser therapy. J Community Nursing 1999;13(4):14-22.

Freitas IGF, Baranauskas V, Cruz-Hofling MA. Laser effects on osteogenesis. Appl Surf Sci 2000;154-155:548-54.

Garcia VG, Theodoro LH, Colman LS, Okamoto T. Influência do número de aplicações de raio laser de bioestimulação sobre a reparação de feridas de extração dentária. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odontol Lins 2000;12(1-2):29-37.

Gardner GE, Kronman JH. Cranioskeletal displacements caused by rapid palatal expansion in the Rhesus monkey. Am J Orthod 1971;59(2):146-55.

Gerbi MEMM. Avaliação histológica da eficácia do laser de $\lambda 830\text{nm}$ no reparo ósseo de feridas cirúrgicas com implante de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) e membrana biológica [Tese de Doutorado]. Salvador/Recife: Faculdade de Odontologia UFBA/UFPB; 2004.

Gerbi ME et al. Assessment of Bone Repair associated to the use of Organic Bone Graft and Membrane with 830nm. Photomed Laser Surg 2005;23(4):382-8.

Haas AJ. Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. Angle Orthod 1961;31(2):73-90.

Haas AJ. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. Angle Orthod 1965;35(3):200-17.

Hicks EP. Slow maxillary expansion: a clinical study of the skeletal versus dental response to low-magnitude force. Am J Orthod 1978;73(2):121-41.

Josell SD. Tooth stabilization for orthodontic retention. Dent Clin North Am 1999;43(1):151-65.

Kabasawa H, Ejiri S, Hanada K, Ozawa H. Effect of age on physiologic and mechanically stressed rat alveolar bone: a citologic and histochemical study. Int J Adult Orthodon Orthognath Surg 1996;11(4):313-27.

Kana JS, Hutschenreiter, JW. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. Arch Surg 1981;116:293-6.

Kawasaki K, Shimizu N. Effects of Low-Energy Laser Irradiation on Bone Remodeling During Experimental Tooth Movement in Rats. Lasers Surg. Med 2000;26:282-9.

Kahl-Nieke B, Fischbach H, Schwarze CW. Treatment and postretention changes in dental arch width dimensions – a long-term evaluation of influencing cofactors. Am J Orthod Dentofac Orthop 1996;109(4):368-78.

Kraut RA. Surgically assisted rapid maxillary expansion by opening the midpalatal suture. J Oral Maxillofac Surg 1984;42(10):651-5.

Lagravère MO, Heo G, Major PW, Flores-Mir C. Meta-analysis of immediate changes with rapid maxillary expansion treatment. JADA 2006;137:44-53.

Lilja E, Lindskog S, Hammarström L. Orthodontic forces and periodontal compression. A new method and its application. Acta Odontol Scand 1981;39(6):367-78.

Linder-Aronson S, Lindgren J. The skeletal and dental effects of rapid maxillary expansion. Br J Orthod 1979;6:25-9.

Mester E. Effect of laser rays on wound healing. Am J Surg 1971;122:532-5.

Mew J. Relapse following maxillary expansion. Am J Orthod 1983;83(1):56-61.

Moss JP. Rapid expansion of the maxillary arch. Part I. J Clin Orthod 1968;2(4):165-71.

Moussa R, O'Reilly MT, Close JM. Long-term stability of rapid palatal expander treatment and edgewise mechanotherapy. Am J Orthod Dentofac Orthod 1995;108(5):478-88.

Murray JM, Cleall JF. Early tissue response to rapid maxillary expansion in the midpalatal suture of the rhesus monkey. J Dent Res 1971;50(6):1654-60.

Nascimento LEAG. Maturação da sutura palatina mediana em primatas *Cebus apella* [Dissertação de Mestrado] Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia da UFRJ; 1995.

Nicolau RA, Jorgetti V, Rigau J, Pacheco MTT, Reis LM, Zângaro RA. Effect of low power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. Lasers Med Sci 2003;18:89-94

Oliveira HP, Alves GES, Rezende AMF. Eutanásia em medicina veterinária. Resumo Comitê de ética em Experimentação animal da UFMG-CETEA;2002.

Oliveira MTM, Macedo LD, Del Bel EA, Watanabe P, Albuquerque Jr RF. Avaliação da densitometria óssea de tecido ósseo neoformado após distração osteogênica mandibular. R Dental Press Ortodon Ortop Facial 2006;11(1):37-43.

Osawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-Power Laser Irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Boné* 1998;22(4):347-54.

Paixão D de A. Avaliação do efeito da laserterapia em baixa intensidade na reparação óssea após radioterapia externa – estudo experimental em ratos [Tese de Doutorado] Salvador: Faculdade de Odontologia da UFPb/UFBa; 2006.

Pinheiro ALB, Gerbi MEM. Laserterapia: uma visão atual sobre as aplicações clínicas na prática implantodôntica. In: Querido, MRM; Fan, YL. *Implantes Osseointegrados – inovando soluções*. São Paulo: Artes Médicas; 2004. p.283-303.

Pritchard JJ, Scott JH, Girgis FG. The structure and development of cranial and facial sutures. *J Anat* 1957;90(1):73-86.

Pogrel MA, Kaban LB, Vargervik K, Baumrind S. Surgically Assisted rapid maxillary expansion in adults. *Int J Adult Orthod Orthognath Surg* 1992;7(1):37-41.

Poling R. A method of finishing the occlusion. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1999;115(5):476-87.

Robiony M, Polini F, Costa F, Zerman N, Politi M. Ultrasound bone cutting for surgically assisted rapid maxillary expansion under local anesthesia. *Minerva Stomatol* 2007;56(6):359-68.

Sadowsky C, Sakols EI. Long-term assessment of orthodontic relapse. *Am J Orthod* 1982;82(6):456-63.

Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in rat. *Am J Orthod Dentofac* 1997;111(5):525-32.

Silva Filho OG, Bittencourt C, Capelozza Filho L, Cavassan AO. Expansão rápida da maxila: comportamento transversal do arco dentário superior durante e 5 anos após o tratamento ortodôntico. *Rev Ortodontia* 2004;37:58-69.

Silva Filho OG, Capelozza L. Expansão rápida da maxila: preceitos clínicos. *Ortodontia* 1988;21:49-69.

Silva Filho OG, Ferrari Junior FM, Aiello CA, Zopone N. Correction of posterior crossbite in the primary dentition. *J Clin Ped Dent* 2000;24(3):165-80.

Silva Filho OG, Freitas SF, Cavassan AO. Prevalência de oclusão normal maloclusão em escolares da cidade de Bauru. *Rev Odont USP* 1990;4(2):130-7.

Silva Filho OG, Gimaiel M, Okada T. Comportamiento de los incisivos centrales superiores, ante la expansión maxilar rápida em la dentición permanente estudio radiográfico. *Rev Esp Ortod* 1995;25:55-64.

Silva Filho OG, Herandes R, Ferrari Junior FM. Influencia de la expansión rápida del maxilar em la rizogénesis de los incisivos centrales permanentes. *Rev. Esp. Ortod* 1995;25:373-80.

Silva Filho OG, Kina JF, Almeida AM, Okada T. Expansão ortopédica da maxila em estágios precoces do desenvolvimento oclusal: confecção laboratorial e apresentação de caso clínico. *RBO* 1989;46(6):25–34.

Silva Filho OG, Lara TS, Almeida AM, Silva HC. Evaluation of the midpalatal suture during rapid palatal expansion in children: a CT study. *J Clin Pediatr Dent* 2005;29(3):231-8.

Silva Filho OG, Lara TS, Silva HC, Bertoz FA. Post expansion evaluation of the midpalatal suture in children submitted to rapid palatal expansion: a CT study. *J Clin Ped Dent* 2006;31:142-8.

Simões FXPC. Avaliação da maturação óssea na região da sutura palatina mediana, após expansão rápida maxila, por meio de imagem digitalizada [Dissertação de Mestrado] Salvador: Faculdade de Odontologia da UFBA; 2001.

Starnbach H, Bayne D, Cleall J, Subtelny JD. Facioskaletal and dental changes resulting from rapid maxillary expansion. *Angle Orthod* 1966;36(2):152-64.
Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1988;17(6):388-91.

Ten Cate AR, Freeman E, Dickinson JB. Sutural development: structure and its response to rapid expansion. *Am J Orthod* 1977;71(6):622-36.

Tuner J, Hode L. The Laser therapy handbook. Prima Books; 2004.

Vardimon AD, Brosh T, Spiegler A, Lieberman M, Pitaru S. Rapid palatal expansion. Part 1: mineralization pattern of the midpalatal suture in cats. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1998;113(4):371-8.

Wagemans PAHM, Velde J-P van de, Kuijpers-Jagtman AM. Sutures and forces: a review. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1988;94(2):129-41.

Wright GH. A study of the maxillary sutures. *Dental Cosmos* 1911;53(6):633-42.

Yaakobi T, Maltz L, Oron U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. *Calcify tissue Int* 1996;59:297-300.

Zimring JF, Isaacson RJ. Forces produced by rapid maxillary expansion. *Angle Orthod* 1965;35(3):178-86.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****PARECER DE APROVAÇÃO
PROTOCOLO nº 05/06**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa – Subcomissão de Bioética de Animais da FOU SP, **APROVOU** o protocolo de pesquisa **“Avaliação da regeneração óssea na região da sutura palatina em ratos após expansão das maxilas”**, de responsabilidade do pesquisador **Francisco Xavier Paranhos Coêlho Simões**, sob orientação da Professora Doutora **Ana Lídia Ciamponi**.

Cabe ao responsável enviar relatórios referentes ao andamento da pesquisa após 06 (seis) meses e 01(um) ano desta data, bem como cópia do trabalho em “cd” ou “disquete” ao finalizá-lo, conforme legislação vigente.

São Paulo, 07 de agosto de 2006

Prof. Dr. **CELSO LUIZ CALDEIRA**
PRESIDENTE DA SUBCOMISSÃO DE BIOÉTICA DE ANIMAIS DA FOU SP

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da FBDC

FUNDAÇÃO BAHIANA PARA DESENVOLVIMENTO DAS CIÊNCIAS
ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Salvador, 15de Junho de 2007

O protocolo de ensino protocolado nesta comissão sob o nº 004/2007, intitulado como ***Avaliação da Regeneração Óssea na Região da Sutura Platina em Ratos Após Expansão das Maxilas***, foi aprovado pela ***Comissão de Ética no Uso de Animais*** da Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências.

A handwritten signature in blue ink, which appears to read 'Abrahão Fontes Baptista', is positioned above a horizontal line.

Abrahão Fontes Baptista
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da
Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências

ANEXO C – Ficha de avaliação das lâminas

Avaliadora:

LÂMINA 01 G ____ N ____	
Processo inflamatório crônico	
Processo inflamatório agudo	
Macrófagos	
Osteoblastos	

LÂMINA 02 G ____ N ____	
Processo inflamatório crônico	
Processo inflamatório agudo	
Macrófagos	
Osteoblastos	

LÂMINA 03 G ____ N ____	
Processo inflamatório crônico	
Processo inflamatório agudo	
Macrófagos	
Osteoblastos	

LÂMINA 04 G ____ N ____	
Processo inflamatório crônico	
Processo inflamatório agudo	
Macrófagos	
Osteoblastos	

ANEXO D – Fotografia das lâminas do grupo 1

A

B

C

D

Grupo 01 controle negativo. Sem disjunção e sem laserterapia. A) 01 dia após início do experimento. B) 03 dias após início do experimento. C) 07 dias após início do experimento. D) 15 dias após início do experimento

ANEXO E - Fotografia das lâminas do grupo 2

A

B

C

D

Grupo 02 controle positivo com disjunção e sem laserterapia. A) 01 dia após início do experimento. B) 03 dias após início do experimento. C) 07 dias após início do experimento. D) 15 dias após início do experimento.

ANEXO F - Fotografia das lâminas do grupo 3

A

B

C

D

Grupo 03 experimental com disjunção e uma dose de laserterapia com 4 J/cm^2 . A) 01 dia após aplicação do laser. B) 03 dias após aplicação do laser. C) 07 dias após aplicação do laser. D) 15 dias após aplicação do laser.

ANEXO G - Fotografia das lâminas do grupo 4

A

B

C

D

Grupo 04 experimental com disjunção e uma dose de laserterapia com 8 J/cm^2 . A) 01 dia após aplicação do laser. B) 03 dias após aplicação do laser. C) 07 dias após aplicação do laser. D) 15 dias após aplicação do laser.

ANEXO H - Fotografia das lâminas do grupo 5

A

B

C

D

Grupo 05 experimental com disjunção e duas doses de laserterapia com 4 J/cm^2 . A) 01 dia após última aplicação do laser. B) 03 dias após última aplicação do laser. C) 07 dias após última aplicação do laser. D) 15 dias após última aplicação do laser.