KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO

Avaliação da eficácia da fotobiomodulação na remodelação do osso alveolar humano por meio das análises microtomográfica e histológica

São Paulo

2018

KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO

Avaliação da eficácia da fotobiomodulação na remodelação do osso alveolar humano por meio das análises microtomográfica e histológica

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências odontológica. Para obter o título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais

Orientador: Profa. Dra. Maria Graça Naclério-Homem

São Paulo

2018

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.

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

Vallejo Rosero, Kleber Arturo.

Avaliação da eficácia da fotobiomodulação na remodelação do osso alveolar humano por meio das análises microtomográfica e histológica / Kleber Arturo Vallejo Rosero ; orientador Maria da Graça Naclério-Homem -- São Paulo, 2018.

72p. : fig., tab., 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Faciais. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Remodelação óssea. 2. Microtomografia por Raio-X. 3. Morbidade. I. Naclério-Homem, Maria da Graça. II. Título.

Vallejo Rosero KA. Avaliação da eficácia da fotobiomodulação na remodelação do osso alveolar humano por meio das análises microtomográfica e histológica. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: /   /2018

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho a meus pais, **Luis Vallejo e Rosario Rosero**, sempre os carrego em meu coração, serei eternamente grato por tudo que fizeram por mim.

Ao meu filho, **Kleber Andrés**, que aprendeu a viver com a minha ausência, por estar sempre por trás de um sonho. Eu te admiro e te amo tanto pela compreensão minha ausência.

Para minha esposa **Frecia**, por sua cumplicidade e por estar sempre comigo acompanhando-me para alcançar cada um dos meus sonhos, sempre com sua ternura e amor.

Aos meus irmãos **Patrício, Monica e Pilar**, por ser um estímulo e um exemplo na minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Prof.a. Dra. **Maria Graça Naclério Homem**, por a oportunidade da realização deste trabalho, aceitando ser minha orientadora, também pelo constante apoio e orientação com muita sabedoria e gentileza.

À Prof.a Dra. **Maria Cristina Zindel Deboni**, pessoa fundamental para a concretização desse trabalho e por transmitir sempre algum ensinamento.

À Prof.a Dra. **Emanuela Prado Ferraz**, pelo ímpeto e incansável trabalho para concluir este trabalho

À Prof.a Dra. **Luciana Correa**, por sua ajuda e colaboração na histomorfométrica deste trabalho

À Prof.a Dra. **Márcia Martins Marques**, pela colaboração desse trabalho. Sempre muito atenciosa.

À **Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, como instituição proponente na realização deste trabalho

Ao **Departamento de Cirurgia, Traumatologia Buco-Maxilo-Facial** da FOU SP, que com todos os seus professores e funcionários me deu muitos conhecimentos e oportunidades para fazer este trabalho

À **Universidade Central do Equador**, da qual tenha a honra de fazer parte, onde obtive apoio para fazer ao Doutorado na USP.

A todos os meus amigos e colegas na área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOU SP pelo apoio e colaboração.

A todos os meus amigos e colegas professores da Universidade Central do Equador, por compartilhar momentos inesquecíveis

RESUMO

Vallejo Rosero KA. Avaliação da eficácia da fotobiomodulação na remodelação do osso alveolar humano por meio das análises microtomográfica e histológica [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Original.

A remodelação do processo alveolar após a exodontia é um fenômeno fisiológico que resulta em alterações das dimensões ósseas e que podem interferir na reabilitação protética. Para minimizar a perda óssea, estratégias de preservação do rebordo vêm sendo empregadas e a terapia por fotobiomodulação (TFBM) se destaca como uma opção de baixo custo e morbidade. Estudos prévios evidenciaram o impacto positivo da TFBM no reparo ósseo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito TFBM no reparo alveolar. Vinte pacientes com indicação clínica de exodontia dos primeiros ou segundos molares bilateralmente foram selecionados e os lados direito e esquerdo de cada paciente distribuídos em um dos grupos experimentais: (1) TFBM, tratado com laser de baixa frequência, e (2) Controle, que recebeu o mesmo tratamento com o equipamento desligado; a aplicação foi realizada no pós-operatório imediato, 1, 2, 3, 4, 7 e 15 dias. Aos 45 dias pós-exodontia, espécimes de tecido do interior dos alvéolos foram coletados para análise microtomográfica e histológica. Os dados foram comparados utilizando o Teste-t pareado e o nível de significância foi de 5%. A análise morfométrica evidenciou diferenças estatisticamente significante entre os grupos para os seguintes parâmetros: superfície óssea ($p=0,029$), superfície óssea/volume total ($p=0,028$), número de trabéculas ($p=0,025$) e densidade de conectividade ($p=0,029$), maiores no grupo TFBM em relação ao Controle. O volume ósseo, volume ósseo/total, espessura e separação trabecular não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p=0,054$; $p=0,082$; $p=0,598$ e $p=0,109$, respectivamente). Esses dados foram confirmados na análise histológica, onde foi identificado maior quantidade de tecido trabecular no grupo TFBM, enquanto no Controle fica evidente maior quantidade de tecido conjuntivo. Os resultados evidenciaram que a terapia de fotobiomodulação tem efeito positivo no reparo de alvéolos humanos.

Palavras-Chave: Remodelação óssea. Osso alveolar. Terapia de fotobiomodulação. Microtomografia computadorizada.

ABSTRACT

Vallejo Rosero KA. The effect of photobiomodulation therapy on human alveolar bone repair using microtomography and histologic evaluations [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Original.

The process of bone repair after tooth extraction is a physiological phenomenon which results in alterations of the bone dimensions and could interfere in prosthetic rehabilitation. To minimize bone loss, strategies for border preservation have been used and photobiomodulation therapy (TFBM) stands out as a low cost option and morbidity. Previous studies have shown the positive impact of TFBM on bone repair. The aim of this study was to evaluate the effect of TFBM on alveolar repair. Twenty patients with exodontia indication of the first or second molar bilaterally were chosen, right and left sides were distributed in one of the following experimental groups: (1) TFBM, treated with low frequency laser, and (2) Control group, who received the same treatment with the equipment off; besides, laser application was applied right after the post-operative, after 1, 2, 3, 4, 7 and 15 days. After 45 days from the extraction, tissue samples from the alveoli were collected for micro-tomographic and histological analysis. Data were compared using the paired t-test and the accuracy level was 5%. A morphometric analysis showed statistically significant differences between the groups regarding the following parameters: bone surface ($p = 0.029$), bone surface / total volume ($p = 0.028$), trabeculae number ($p = 0.025$) and connectivity density ($p = 0.029$), higher in the TFBM group than in Control. The bone volume, bone / total volume, trabecular thickness and separation did not present statistically significant differences ($p = 0.054$, $p = 0.082$, $p = 0.598$ and $p = 0.109$, respectively). These data were confirmed in the histological analysis, where a greater amount of trabecular tissue was identified in the TFBM group, while in control group, a high amount of connective tissue was evident. The results showed that photobiomodulation therapy has a positive effect on the repair of human alveoli.

Keywords: Bone remodeling. Alveolar bone. Photobiomodulation therapy. Computed microtomography.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 - Aspecto clínico intraoral (A) e radiografia panorâmica (B), selecionados de um dos voluntários do estudo. Dentes 36 e 46 comprometidos por lesão cariosa e com exodontia indicada 34
- Figura 4.2 - Sequência clínica do procedimento cirúrgico de exodontia. A: Aspecto clínico pré-operatório; B: Anestesia; C. Sindesmotomia; D. Luxação inicial com elevador apical reto; E. Posicionamento e luxação com fórceps 17; F: aspecto clínico do elemento extraído; G. Inspeção da cavidade; H. Sutura da ferida 36
- Figura 4.3 - Sequência clínica da aplicação do laser nos cinco pontos selecionados. A-B: Aplicação de dois pontos na vestibular; C: Aplicação de um ponto na oclusal; D-E: Aplicação de dois pontos na lingual 37
- Figura 4.4 - A: Radiografia panorâmica após 40 dias da exodontia dos primeiros molares, bilateral. B: Corte tomográfico axial, utilizadas para o para planejamento dos implantes. C-D: Corte tomográfico axial, dos lados direito e esquerdo, evidenciando os alvéolos em reparação, utilizadas para o para planejamento dos implantes 38
- Figura 4.5 - Sequência da obtenção das amostras. A: Aspecto clínico do rebordo alveolar remanescente. B: Exposição do rebordo alveolar remanescente após descolamento de retalho mucoperiosteal. C: Broca trefina, medindo 3 mm e 4 mm de diâmetro interno e externo, respectivamente. D. Amostra de tecido sendo removida do interior da broca trefina. E. Aspecto clínico das amostras obtidas dos rebordos alveolares, bilateral. F Acondicionamento do tecido em solução de formalina tamponada 10% 39

- Figura 5.1 - Reconstrução microtomográfica obtidos por microtomografia computadorizada das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente de 3 diferentes pacientes, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com terapia de fotobiomodulação (TFBM) e sem tratamento (Controle). Barra de escala: 1 mm.....44
- Figura 5.2 - Parâmetros morfométricos obtidos por microtomografia computadorizada, das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente de 17 pacientes, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com terapia de fotobiomodulação (TFBM) e sem tratamento (Controle). Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significante entre os grupos avaliados (Teste T pareado, $p \leq 0,05$) 48
- Figura 5.3 - Fotomicrografias das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com TFBM (B, D e F) e Controle (A, C e E). Os asteriscos (*) indicam células osteoblásticas. E as letras “v” indicam vaso sanguíneo (A-B: 25x; B-C: 100x; D-E: 400)x. Barras de escala indicadas nas figuras ...50
- Figura 5.4 - A: Fotomicrografias das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente do paciente nº 13, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com TFBM e Controle. Aumento de 10x. (Barra 100 μm). No detalhe, a reconstrução microtomográfica correspondente. B: Parâmetros morfométricos obtidos por microtomografia computadorizada das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente do paciente nº 13, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com terapia de fotobiomodulação (TFBM) e sem tratamento (Controle) 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Parâmetros selecionados para aplicação da TFBM	36
Tabela 4.2- Parâmetros de escaneamento.....	40
Tabela 5.1- Distribuição dos pacientes de acordo com os parâmetros selecionados.	43
Tabela 5.2- Análises morfométricas individuais do tecido formado	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BV	Volume ósseo
BV/TV	Volume ósseo/volume total
BS	Superfície óssea
BS/TV	Superfície óssea/volume total
CTan	CT Analyser
CPE	Comitê de Ética em Pesquisa
Conn.Dn	Densidade de conectividade
CTMs	Células-tronco mesenquimais
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
FUNDECTO	Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico Faculdade de Odontologia
GaAIs	Arseneto de Gálio e Alumínio
HE	Hematoxilina-Eosina
h	Horas
μCT	Microtomografia
min	Minutos
ROI	Região de interesse
RTG	Regeneração tecidual guiada
Runx2	do inglês, <i>Runt-related transcription fator 2</i>
slgA	Imunoglobulina A secretora
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFBM	Terapia por fotobiomodulação
Tb.Th	Espessura trabecular
Tb.N	Número trabecular
Tb.Sp	Separação trabecular
VOI	Volume de interesse

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
nm	Nanômetros
J	Joules
cm ²	Centímetro quadrado
J/cm ²	Joules/ Centímetro quadrado
mW	Miliwatts
mW/ cm ²	Miliwatts/ Centímetro quadrado
W/cm ²	Watts/ Centímetro quadrado
mm	Milímetros
®	Marca registrada
mg	Miligramas
s	Segundos
W	Watts
pH	Grau de acidez
KV	Quilowatts
µm	Micrômetros
°C	Graus centígrados
mm ³	Milímetros cúbicos
mm ²	Milímetros quadrado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1	Reparação óssea alveolar	25
2.2	Preservação do rebordo alveolar	26
2.3	Fotobiomodulação	28
3	PROPOSIÇÃO	31
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	Seleção dos pacientes	33
4.2	Desenho experimental	34
4.3	Procedimento cirúrgico para exodontia	35
4.4	Terapia de Fotobiomodulação	36
4.5	Coleta do material	37
4.6	Avaliação do reparo alveolar	39
4.6.1	Análise microtomográfica e morfométrica	40
4.6.2	Análise histológica	41
4.7	Análise estatística	41
5	RESULTADOS	43
5.1	Análise microtomográfica e morfométrica	44
5.2	Análise Histológica	49
6	DISCUSSÃO	53
7	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	59
	ANEXOS	67

1 INTRODUÇÃO

A exodontia é um dos procedimentos cirúrgicos mais comumente executados por cirurgiões-dentistas. Imediatamente após a exodontia, o alvéolo remanescente é preenchido por sangue e é iniciado o complexo processo de reparo alveolar, marcado por eventos celulares e moleculares, tais como a síntese e liberação de citocinas e de fatores de crescimento, proliferação de vasos e a proliferação e diferenciação celulares (Park et al., 2015). Assim, o reparo ósseo alveolar inicia-se com a formação do coágulo sanguíneo que gradualmente é substituído por tecido ósseo (Cardaropoli et al., 2003).

O tecido ósseo formado no interior do alvéolo e o remanescente das cristas vestibular e lingual/palatina irão sofrer remodelação. A remodelação do processo alveolar após a exodontia é um fenômeno fisiológico, que resulta em alterações na altura e espessura ósseas (Schropp et al., 2003). Dependendo de uma série de fatores (pacientes portadores de doenças que afetem o metabolismo ósseo, idade, tabagismo, trauma local) essas alterações poderão comprometer a posterior reabilitação estético-funcional.

Para minimizar a perda óssea em altura e espessura, pesquisadores têm investigado estratégias de preservação do rebordo alveolar pós-exodontia. Dentre os métodos destacam-se o preenchimento dos alvéolos com enxertos autógenos, alógenos ou biomateriais (sintéticos ou naturais), o fechamento do alvéolo com membranas absorvíveis ou não absorvíveis, a injeção de células associadas ou não à fatores de crescimento e, atualmente, a terapia de fotobiomodulação (TFBM) utilizando o laser de baixa intensidade (Kowalczewski; Saul, 2018).

A TFBM tem sido estudada com o objetivo de acelerar o reparo e a regeneração óssea. Estudos *in vitro* evidenciaram que a TFBM aumenta a proliferação de osteoblastos, a síntese de colágeno e a produção de matriz mineralizada (Kesler et al., 2006, Petri et al., 2010) e de células epiteliais e estimulam a angiogênese (Shirazi et al., 2015). Resultados de estudos *in vivo* indicaram que a TFBM aumenta e acelera a formação de tecido ósseo (Kim et al.,

2014) em alvéolos pós-exodontia acelera a reparação por meio da proliferação de vasos sanguíneos e de osteoblastos (Korany et al., 2012).

No entanto, estudos em humanos têm sido limitados a avaliações da qualidade óssea por observações clínicas e imagens histológicas ou radiográficas. Romão et al. (2015) foram os pioneiros ao estudar a formação óssea pós-exodontia utilizando análises microtomográfica e histológica, concluindo que a ação da TFBM acelera a reparação alveolar e aumenta a formação do trabeculado ósseo.

O papel da TFBM no reparo alveolar ainda não é claro e os parâmetros ótimos para serem empregados são controversos. Não há um consenso na literatura quanto aos parâmetros de comprimento de onda, dose, frequência e intensidade da luz ideais para minimizar a perda óssea pós-exodontia. A utilização de tais parâmetros acima ou abaixo das faixas ótimas pode não produzir os efeitos bioestimuladores.

Considerando que investigações do efeito da TFBM no processo de reparo alveolar em humanos são recentes, para entender como a TFBM atua no tecido ósseo e com o objetivo de melhorar a qualidade de vida do paciente o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da TFBM na reparação óssea alveolar pós-exodontia de molares inferiores em humanos, utilizando análises de microtomografia computadorizada e histológicas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Reparação óssea alveolar

O processo de reparação dos alvéolos dentais é mediado por eventos relacionados à angiogênese e osteogênese. Os fenômenos celulares e moleculares que ocorrem durante o processo de reparo, seguidos pela remodelação óssea, têm sido estudados e descritos há muitos anos e por diversos autores (Amler, 1969; Kučerová et al., 2000; Scala et al., 2014).

O reparo ósseo tem início com formação e a maturação de coágulo sanguíneo que é gradualmente substituído por tecido ósseo (Martin, 1997; Cardaropoli et al., 2003; Tomlin et al., 2014). Didaticamente, o reparo alveolar é dividido em 4 fases: (1) Fase inflamatória, caracterizada pela formação do coágulo sanguíneo e pela presença de infiltrado inflamatório. O coágulo será substituído por tecido de granulação rico em células inflamatórias e fibroblastos. (2) Fase proliferativa, caracterizada pela proliferação de fibroblastos e de vasos sanguíneos originados de células-tronco mesenquimais (CTMs) advindas de remanescentes do ligamento periodontal. (3) Fase de maturação, caracterizada pela produção intensa de matriz colágena pelos fibroblastos, de maneira centrípeta. O tecido conjuntivo vascularizado será gradualmente substituído por tecido mineralizado. (4) Fase de mineralização, caracterizada pela proliferação de células osteoprogenitoras e produção matriz osteóide. Nessa fase, o tecido ósseo formado é imaturo e apresenta estrutura trabecular irregular, fibras colágenas desorganizadas, população celular rica em osteoblastos e osteócitos. A partir do 20º dia, o osso imaturo vai sendo reorganizado para suportar cargas e passa a ser caracterizado como osso lamelar. Após 40 dias, o trabeculado ósseo já preenche cerca de dois terços do alvéolo com osso esponjoso primário, que começa a ser substituído por osso esponjoso secundário à sexta semana. Entre 30 e 60 dias a formação óssea no interior do alvéolo é finalizada (Carvalho; Okamoto, 1987; Araújo; Amler, 1969; Tomlin et al., 2014).

O reparo alveolar é seguido pela redução da altura e espessura da crista alveolar após a exodontia. Estudos em animais e em humanos apresentam resultados histológicos e imaginológicos que indicam perda de até 60% da largura do rebordo alveolar e é mais acentuada nos primeiros três meses pós-exodontia (Johnson, 1969 ; Carvalho; Okamoto, 1987; Pietrorovski; Massler, 1967; Lekovic et al., 1997; Schropp et al., 2003; Ashman, 2000).

A perda óssea pode ser mais ou menos acentuada dependendo de alguns fatores, tais como a idade do paciente, a presença de doenças metabólicas do tecido ósseo, a região desdentada (maxila x mandíbula) e, principalmente, a ausência de carga (Chamay; Tschantz, 1972; Carrere; Dobao Álvarez, 2010). Considerando que a crista alveolar sofre reabsorção pós-exodontia e que há diminuição de espessura, largura e altura, é importante a preservação do alvéolo para antecipar a colocação do implante (Darby et al., 2009). Assim, para minimizar a perda óssea e otimizar a reabilitação estético-funcional com próteses fixas, removíveis ou implantossuportadas, pesquisadores têm buscado alternativas para favorecer o reparo alveolar em termos de qualidade e quantidade óssea, e estratégias de preservação do rebordo têm sido investigadas (Schropp et al., 2003; Atieh et al., 2015; Perrotti et al., 2018).

2.2 Preservação do rebordo alveolar

Diferentes estratégias que variam desde a instalação de implantes imediatamente após a exodontia até técnicas avançadas de terapia celular têm sido investigadas para serem utilizadas como alternativas para minimizar a perda óssea alveolar pós-exodontia (Troiano et al., 2017; Baumer et al., 2017; Chappuis et al., 2017). A prática de preservação óssea para manter a altura e espessura do tecido foi descrita inicialmente como “Manutenção Óssea” e, desde então diferentes denominações se seguiram. Em 2005, convencionou-se denominar a técnica como “Preservação do Rebordo Alveolar” (Atieh et al., 2015).

Dentre as opções de tratamento, destacam-se os enxertos autógenos que seria a melhor opção de escolha por suas propriedades de osseoindução, osseocondução e osteogênese. O emprego dos ossos autógenos envolve uma cirurgia adicional e a necessidade de uma área doadora, aumentando o tempo, custos e morbidade; ainda, a reabsorção do enxerto não é totalmente previsível (Rodin et al., 2010; Kim et al., 2014; Ferraz et al., 2015b). Os enxertos autógenos são uma excelente alternativa em casos de reconstrução do rebordo, contudo, considerando suas desvantagens, não é frequentemente empregado de maneira preventiva para preservação alveolar. Enxertos alógenos estão disponíveis em maior quantidade e são osseocondutores, mas relatos de transmissão de doenças e infecções bacterianas, além da incidência de respostas imunes e de não união são as principais desvantagens (Delloye et al., 2007; Ferraz et al., 2015a). Uma alternativa são os enxertos xenógenos por suas propriedades osseocondutoras; contudo, a baixa resistência mecânica pode comprometer o resultado do tratamento (Avila-Ortiz et al., 2014; Parashis et al., 2014). Materiais aloplásticos sintéticos ou naturais, tais como a hidroxiapatita, vidros bioativos, vitrocerâmicas entre outros também têm sido empregados com os mais diversos resultados, desde aumento do volume do rebordo até processos de reabsorção por reação de corpo estranho (Kowalczewski et al., 2018).

Uma alternativa interessante aos enxertos para preservação de rebordo alveolar é a utilização de barreiras, denominada regeneração tecidual guiada (RTG). O princípio da RTG envolve a utilização de uma barreira física que irá proteger o coágulo sanguíneo e impedir a migração de células epiteliais originadas da mucosa para o interior do alvéolo (Cheon et al., 2017; Arbad et al., 2016). Diferentes tipos de materiais, absorvíveis ou não, têm sido empregados com resultados experimentais e clínicos promissores. Contudo, o custo do procedimento é aumentado. Plasma rico em plaquetas, Fibrina Rica em Plaquetas e Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos, são concentrados obtidos do sangue do paciente e que contém células e fatores de crescimento, o que confere à técnica a capacidade de osseoindução (Moraschini; Barboza, 2015; Annunziata et al., 2018). Em obediência à Lei de Wolf, que determina que o osso precisa de estimulação para manter sua forma e densidade a instalação de implante imediatamente após a exodontia também é uma alternativa

para preservação do rebordo. Contudo, sua indicação é limitada às condições do osso remanescente e estabilidade inicial (Bäumer et al., 2017; Chappuis et al., 2017).

Cada técnica apresenta suas vantagens e desvantagens e as aplicações têm se baseado mais em experiências pessoais do que em resultados científicos, e, por isso, não há evidências de que uma técnica seja mais eficiente que a outra (Atieh et al., 2015; Ten Heggeler et al., 2011; Vignoletti et al., 2012). Contudo, a reabsorção não é eliminada pelas técnicas de preservação alveolar e todas essas opções representam aumento do custo de tratamento e /ou aumento da morbidade (Horvath et al., 2013).

Em resumo, o conhecimento dos eventos biológicos que determinam as alterações teciduais dimensionais pós-exodontia deve ser integrado ao plano de tratamento abrangente, a fim de limitar a perda de tecido e maximizar os resultados estéticos-funcionais (Chappuis et al., 2017). Tão importante quanto à preservação do rebordo, é a qualidade do tecido ósseo formado. Nesse contexto, a terapia de fotobiomodulação parece ser uma alternativa interessante.

2.3 Fotobiomodulação

O laser é uma fonte de radiação não ionizante altamente concentrada que, em contato com diferentes tecidos produz efeitos térmicos, fotoquímicos e não lineares, dependendo do tipo de radiação (Moskvin, 2017). O termo terapia por fotobiomodulação (TFBM) a laser indica os efeitos moleculares de lasers de baixa potência em processos biológicos (Arany et al., 2007). As principais características são a ausência de efeitos térmicos e deletérios ao organismo humano e a bioestimulação celular, o que confere sua capacidade regenerativa (Angeletti et al., 2010).

Os efeitos biológicos da TFBM decorrem da absorção dos fótons do laser pelos cromóforos, especialmente o Citocromo-C Oxidase, enzima presente na mitocôndria das células. A energia absorvida estimula a cadeia respiratória na mitocôndria, resultando em aumento da produção de adenosina trifosfato que, por

sua vez, acelera o metabolismo das células dos tecidos lesionados, isquêmicos, intoxicados ou que apresentem perfusão vascular prejudicada (Woodruff et al., 2004; Kathuria et al., 2015). Ainda, a TFBM estimula a liberação de substâncias como histamina, serotonina e bradicinina e ativa a produção de ácido araquidônico, convertendo prostaglandinas em prostaciclina, acelera a mitose e estimula a reparação dos tecidos, incluindo o tecido ósseo (Kawasaki; Shimizu, 2000; Saito; Shimizu, 1997; Shirazi et al., 2015).

Os efeitos da terapia a laser de baixa potência no reparo do osso alveolar ainda são pouco estudados e investigações vêm sendo conduzidas para compreender seus mecanismos de ação. Resultados de estudos *in vitro* identificaram que a TFBM estimula proliferação de fibroblastos, osteoblastos e de vasos sanguíneos, resultando em aumento da síntese de colágeno e da produção de matriz óssea mineralizada (Kawasaki; Shimizu, 2000; Stein et al., 2005; Petri et al., 2010; Jawad et al., 2013; Shirazi et al., 2015; Zhang et al., 2018). Ainda, o efeito da TFBM parece ser mais evidente quando aplicado em períodos iniciais do reparo (Ozawa et al., 1998; Stein et al., 2005) e dependente da dose aplicada (Soleimani et al., 2012).

Estudos *in vivo* evidenciaram aumento da quantidade de células osteoblásticas em períodos iniciais do reparo ósseo, aumento significativo na densidade e no volume do osso trabecular nos alvéolos tratados com TFBM (Fukuoka et al., 2011; Korany et al., 2012; Batista et al., 2015; Taha et al., 2018). Ainda é evidente o aumento da expressão de genes marcadores ósseos tais como o Runx2 (do inglês *runt-related transcription factor 2*), colágeno tipo I, osteocalcina, fator de crescimento derivado de plaquetas e do fator de crescimento endotelial vascular no tecido ósseo irradiado, dependendo do tempo de irradiação (Park et al., 2015).

O sucesso da terapia a laser de baixa intensidade depende de parâmetros como potência, densidade de potência, comprimento de onda, perfil do feixe, energia, densidade de energia, número e frequência e duração do tratamento (Woodruff et al., 2004). A luz é tipicamente de largura espectral estreita, entre 600nm e 1000nm. A densidade de energia utilizada oscila entre 1 e 20 J/cm², enquanto a densidade de potência varia de acordo com a fonte de luz real e o tamanho do ponto

- valores de 5 a 50 mW/cm² comuns para estimulação e cura dos tecidos biológicos (Huang et al., 2011).

Diferentes frequências de radiação aparentemente não interferem no processo de reparo, contudo os parâmetros empregados e os métodos de análise devem ser considerados (Pogue et al., 1997; Kučerová et al., 2000; Oliveira et al., 2011). Outros autores sugerem que o laser superpulsado pode ser o tratamento de escolha para controle de sintomatologia inflamatória pós-exodontia, pois proporciona eficácia clínica, é seguro bem tolerada e capaz de prevenir a inflamação (Mozzati et al., 2011).

Poucos trabalhos na literatura investigaram o efeito da TFBM no reparo alveolar em humanos, especialmente em termos de qualidade e quantidade óssea, e os resultados são limitados e sugerem efeito positivo do laser na formação óssea (Romão et al., 2015).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da terapia por fotobiomodulação no reparo ósseo alveolar após a exodontia de molares inferiores em humanos utilizando microtomografia computadorizada e a análise histológica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos pacientes

O projeto foi submetido para apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) (Anexo A). Todos os pacientes envolvidos na pesquisa receberam um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo B), e atendiam aos critérios de inclusão do estudo. Os pacientes foram atendidos na Clínica de Pós-Graduação em Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da FOUSP e no curso de Especialização em Implantodontia da Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico Faculdade de Odontologia (FUNDECTO).

Os pacientes participantes foram inicialmente submetidos ao exame clínico e de imagem por radiografias panorâmicas e periapicais (Figura 4.1 A-B). Para inclusão dos pacientes no estudo foram considerados indivíduos de ambos os gêneros, com idade compreendida entre 18 e 70 anos e com indicação clínica de exodontia dos primeiros ou dos segundos molares inferiores bilateralmente para posterior instalação de implantes (dente 36 e 46 ou 37 e 47). Ainda como critério de inclusão, os molares deveriam apresentar inserção óssea igual ou maior a 10 mm. Como critérios de exclusão, pacientes tabagistas e/ou etilistas, pacientes que apresentavam hipersensibilidade aos medicamentos que deveriam ser prescritos, portadores de doenças metabólicas como diabetes e osteoporose, mulheres grávidas ou lactantes, e pacientes com dentes com infecção periapical ou periodontal ativa. Ainda, procedimentos cirúrgicos de exodontia com duração superior a 60 min, cuja técnica de escolha de exodontia fosse por via não alveolar, que apresentaram qualquer intercorrência transoperatória ou que não comparecessem nas consultas pós-operatórias, foram excluídos do estudo.

Figura 4.1 - Aspecto clínico intraoral (A) e radiografia panorâmica (B), selecionados de um dos voluntários do estudo. Dentes 36 e 46 comprometidos por lesão cariosa e com exodontia indicada

Fonte: O autor

4.2 Desenho experimental

O estudo foi desenhado para que o paciente fosse seu próprio controle, denominado boca dividida. Assim, de forma randômica, os lados direito e esquerdo de cada paciente foram distribuídos em dois grupos experimentais, como descritos a seguir:

a. Grupo Laser: 20 pacientes foram submetidos à TFBM utilizando um equipamento de laser de diodo semiconductor de Arseneto de Gálio e Alumínio (GaAIAs) (Photon III, DMC, Brasil) em modo contínuo, pós-operatório imediato e após 1, 2, 3, 4, 7 e 15 dias. Os parâmetros estão descritos adiante.

b. Grupo Controle: os mesmos 20 pacientes foram submetidos ao mesmo procedimento descrito acima, porém com o aparelho desligado.

4.3 Procedimento cirúrgico para exodontia

Todos os procedimentos cirúrgicos foram executados pelo mesmo cirurgião e auxiliar. As exodontias do lado direito e esquerdo foram realizadas no mesmo tempo cirúrgico. Os pacientes foram submetidos à antissepsia extraoral e intraoral com clorexidina (0,12% e 2%, respectivamente; Riofarma, Brasil). Após a paramentação e aposição de campos estéreis, os pacientes tiveram os nervos alveolar inferior, lingual e bucal anestesiados pela técnica de bloqueio e utilizando mepivacaína 2% com adrenalina 1:100.000 (DFL, Brasil), não excedendo a quantidade máxima de três tubetes por paciente.

Para a exodontia dos molares inferiores, foi realizado a sindesmotomia vestibular e lingual seguido da luxação e avulsão dos primeiros ou segundos molares, bilaterais. Após a remoção do dente do alvéolo, foi realizada a inspeção da cavidade utilizando curetas de Lucas nº 85 e irrigação com solução salina fisiológica estéril. Por fim, os alvéolos foram suturados com fio de seda 4.0 de seda (Ethicon, Brasil) com aproximação das bordas da ferida (Figura 4.2 A-I). Todos os pacientes foram medicados com 500mg de Amoxicilina (Amoxil®) em intervalos de oito horas durante sete dias, 100 mg de Nimesulida (Nisulid®) em intervalos de doze horas durante três dias e 500 mg Dipirona sódica em intervalos de seis horas e em caso de dor. A sutura foi removida após quinze dias.

Figura 4.2 - Sequência clínica do procedimento cirúrgico de exodontia. A: Aspecto clínico pré-operatório; B: Anestesia; C. Sindesmotomia; D. Luxação inicial com elevador apical reto; E. Posicionamento e luxação com fórceps 17; F: aspecto clínico do elemento extraído; G. Inspeção da cavidade; H. Sutura da ferida

Fonte: O autor

4.4 Terapia de Fotobiomodulação

A TFBM foi realizada com laser de diodo de GaAIAS (DMC) e em modo contínuo. Os parâmetros utilizados estão representados na tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Parâmetros selecionados para aplicação da TFBM

Parâmetros	Densidade de Energia (J/cm ²)	Tempo de irradiação por ponto(s)	Densidade de potência (W/cm ²)	Comprimento de onda (nm)	Potência de energia (mW)	Energia por ponto (J)	Área do spot (cm ²)	Energia Total (J)
	89	25	3,6	808	100	2,5	0,028	12,5

Fonte: O autor

As irradiações foram pontuais e em contato com a mucosa. Cada alvéolo foi irradiado em cinco pontos sendo dois por vestibular, um por oclusal e dois por lingual, 25 s por ponto, nos períodos pós-operatório imediato, 1, 2, 3, 4, 7 e 15 dias (Figura 4.3).

Figura 4.3 - Sequência clínica da aplicação do laser nos cinco pontos selecionados. A-B: Aplicação de dois pontos na vestibular; C: Aplicação de um ponto na oclusal; D-E: Aplicação de dois pontos na lingual

Fonte: O autor

4.5 Coleta do material

Após 40 dias da exodontia, os pacientes foram submetidos à novo exame radiográfico para obtenção de radiografia panorâmica e ao exame tomográfico, para o planejamento da instalação dos implantes. A tomografia computadorizada do tipo Cone-Beam (Carestream CS 9300, Atlanta, EUA) o aparelho do Indor locado na FFO (Fundação Faculdade Odontologia da USP) e

as imagens analisadas utilizando o software Carestream Dental Imagin (Atlanta, EUA) (Figura 4.4).

Figura 4.4 - A: Radiografia panorâmica após 40 dias da exodontia dos primeiros molares, bilateral. B: Corte tomográfico axial, utilizadas para o para planejamento dos implantes. C-D: Corte tomográfico axial, dos lados direito e esquerdo, evidenciando os alvéolos em reparação, utilizadas para o para planejamento dos implantes

Fonte: O autor

Após 45 dias da exodontia, os pacientes foram submetidos a novo procedimento cirúrgico para coleta das amostras de tecido formado no interior dos alvéolos, seguido da instalação dos implantes (Figura 4.5 A). Para tanto, após paramentação do operador, antisepsia e e aposição de campos estéreis, os pacientes foram anestesiados como descrito no item 2. Posteriormente, foi realizada uma incisão linear sobre o rebordo com lâmina de bisturi nº 15C, seguido de divulsionamento de retalho mucoperiosteal para exposição do campo operatório (Figura 4.5 B). Com o auxílio de broca cirúrgica de aço do tipo trefina medindo 3mm de diâmetro interno e 4mm externo (Figura 5 C; Neodent, Brasil) apoiada exatamente no ponto médio da região edêntula e paralela aos dentes adjacentes, foi iniciada a perfuração do tecido ósseo. As amostras coletadas dos lados direito e esquerdo foram removidas do interior da

broca trefina e imediatamente fixadas em solução de formalina 10% tamponada com fosfato (pH=7) (Merck, Alemanha) (Figura 4.5 D-E). Em seguida, os pacientes foram submetidos à instalação dos implantes dentários de acordo com o planejamento.

Figura 4.5 - Sequência da obtenção das amostras. A: Aspecto clínico do rebordo alveolar remanescente. B: Exposição do rebordo alveolar remanescente após descolamento de retalho mucoperiosteal. C: Broca trefina, medindo 3 mm e 4 mm de diâmetro interno e externo, respectivamente. D: Amostra de tecido sendo removida do interior da broca trefina. E: Aspecto clínico das amostras obtidas dos rebordos alveolares, bilateral. F: Acondicionamento do tecido em solução de formalina tamponada 10%

Fonte: O autor

As amostras foram submetidas às análises microtomográfica e, em seguida, processadas para análise histológica como descrita a seguir.

4.6 Avaliação do reparo alveolar

4.6.1 Análise microtomográfica e morfométrica

As amostras foram submetidas ao escaneamento em microtomógrafo ZEISS Xradia Versa XRM-510 (Kontich, Bélgica) operando com fonte de raios-X de 50 KV, disponível no Laboratório de Caracterização Tecnológica do Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo da Escola Politécnica da USP, para obtenção das projeções tomográficas bidimensionais. Os parâmetros utilizados para o escaneamento estão descritos na tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Parâmetros de escaneamento

Parâmetros de escaneamento	ZEISS Xradia Versa XRM -510
Tamanho dos pixels (resolução)	21,93 μm
Voltagem	50 KV
Objetiva	0,39 X
Campo de visão	93 mm
Voxel mínimo alcançável	0,5 μm
Ângulo de rotação	360 °
Passo de rotação	0,3

Fonte: O autor

A partir das projeções obtidas foi realizada a reconstrução tridimensional. Para tanto, foi selecionada uma região de interesse (ROI, do inglês, *Region Of Interest*) para posterior seleção de um volume de interesse (VOI, do inglês *Volume Of Interest*), medindo 3 mm de diâmetro e 5,126 mm de comprimento, totalizando 234 projeções (cortes). A segmentação/binarização para determinação do osso neoformado foi definida na escala de histograma de cinza (0-255), e selecionada entre 90 a 140. Definido o VOI e a segmentação das imagens, a análise morfométrica foi automaticamente utilizando o software CT Analyser (CTAn, Bruker, Bélgica), de acordo com o que é preconizado pela Sociedade Americana de Pesquisa de Tecidos Mineralizados e Ósseo (ASBMR, do inglês *American Society of Bone and Mineral Research*, (Parfitt *et al.*, 1987; Dempster *et al.*, 2013): volume ósseo (BV, mm^3), volume ósseo/volume total (BV/TV, %), superfície óssea (BS, mm^2), espessura trabecular (Tb.Th, mm), número trabecular (Tb.N, 1/mm), separação trabecular (Tb.Sp, mm) e densidade de conectividade (Conn.Dn, 1/ mm^3).

4.6.2 Análise histológica

Após a análise microtomográfica, as amostras foram submetidas a processamento para análise histológica por cortes descalcificados. Para o processo de descalcificação as amostras foram identificadas e mantidas suspensas em um Becker contendo EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético, Merck) 4%, pH 7,4, em volume 10x maior que a peça, sobre um agitador magnético. A solução foi trocada a cada 2 dias por aproximadamente 20 dias. Posteriormente foi realizada a desidratação em concentrações crescentes de etanol (Merck) até 95%, finalizando em etanol absoluto. Ao término de 48 h, as peças ficaram overnight em uma mistura (1:1) de etanol absoluto e xileno (Merck). Em seguida, as peças foram incubadas em três banhos sucessivos de 90 min em xileno, seguido por dois banhos de parafina. Por fim, as peças foram incluídas em parafina aquecida a 60°C e cortes seriados de 5 µm, a partir do centro, foram obtidos e montados sobre lâminas de vidro silanizadas e coradas para hematoxilina e eosina (HE), para análise histológica.

De cada espécime foram obtidas duas lâminas para coloração e observação em microscopia de luz, utilizando um microscópio modelo Leica DM 2500 (Leica Biosystems Wetzlar, Alemanha) e as imagens capturadas por meio de uma câmera de alta resolução modelo Leica DFC 295 Leica Biosystems (Wetzlar) utilizando objetiva de 10x.

4.7 Análise estatística

Os dados obtidos na análise morfométrica foram comparados utilizando o Teste-t pareado e nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS

No presente estudo, 20 pacientes foram incluídos e tiveram os primeiros ou segundo molares extraídos, totalizando 40 alvéolos e, posteriormente, 40 amostras. As principais indicações de exodontia dos elementos dentários foram fraturas radiculares, lesões de cárie, doença periodontal e indicações protéticas. Os pacientes apresentavam idade entre 18 e 70 anos (40 ± 16), 15 do gênero feminino e 05 do gênero masculino. Os procedimentos cirúrgicos de exodontia bilateral tiveram duração entre 20 e 40 min ($30 \pm 5,566$). Após a exodontia, o fechamento da ferida foi primário em 28 alvéolos e secundário em 12 alvéolos. Os resultados estão descritos na tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Distribuição dos pacientes de acordo com os parâmetros selecionados

Paciente nº	Idade (anos)	Gênero	Lado Direito			Lado Esquerdo			Tempo Total de Cirurgia (h)
			Dente	Fechamento	Tratamento	Dente	Fechamento	Tratamento	
1	46	F	47	1	TFBM	37	1	Controle	30
2	44	F	47	1	TFBM	37	1	Controle	32
3	38	F	46	1	Controle	36	2	TFBM	20
4	69	M	47	1	Controle	37	1	TFBM	30
5	38	F	46	2	TFBM	37	2	Controle	32
6	25	F	47	1	Controle	37	1	TFBM	35
7	28	F	47	1	TFBM	36	1	Controle	40
8	59	F	47	1	TFBM	37	1	Controle	25
9	55	F	47	1	TFBM	37	1	Controle	32
10	19	F	46	1	TFBM	37	1	Controle	32
11	43	M	46	1	Controle	36	2	TFBM	25
12	70	M	47	1	TFBM	37	1	Controle	25
13	60	M	47	1	TFBM	37	1	Controle	20
14	35	F	47	1	Controle	36	1	TFBM	30
15	38	F	47	1	TFBM	36	2	Controle	40
16	34	F	46	2	Controle	36	2	TFBM	25
17	21	F	46	2	TFBM	37	2	Controle	30
18	22	M	46	2	TFBM	36	2	Controle	30
19	22	F	47	1	Controle	36	2	TFBM	35
20	32	F	47	1	Controle	37	1	TFBM	25
Média	40								30
DP ($\pm$)	16								5,566

1. Fechamento primário da mucosa alveolar; 2. Fechamento secundário da mucosa alveolar

Fonte: O autor

5.1 Análise microtomográfica e morfométrica

Das 40 amostras, três (uma de cada paciente) foram excluídas da análise microtomográfica por problemas inerentes à aquisição e reconstrução das imagens. Desse modo, foram excluídos os pacientes de números 6, 17 e 19, totalizando 17 pacientes incluídos na análise.

De uma maneira geral, as reconstruções microtomográficas evidenciaram tecido ósseo formado após 45 dias da exodontia na região correspondente ao interior do alvéolo, em ambos os grupos (Figura 5.1). Nas amostras selecionadas, é evidente a maior quantidade de osso no grupo TFBM comparado ao controle.

Figura 5.1 - Reconstrução microtomográfica obtidos por microtomografia computadorizada das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente de 3 diferentes pacientes, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com terapia de fotobiomodulação (TFBM) e sem tratamento (Controle). Barra de escala: 1 mm.

Fonte: O autor

As análises morfométricas individuais do tecido formado indicam as diferenças dos parâmetros avaliados no lado tratado com TFBM em comparação ao Controle (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Análises morfométricas individuais do tecido formado

Paciente nº	BV (mm ³)		BV/TV (%)		BS (mm ²)		BS/TV (1/mm)		Tb.Th (mm)		Tb.N (1/mm)		Tb.Sp (1/mm)		Conn.Dn (1/mm ³)	
	TFBM	Controle	TFBM	Controle	TFBM	Controle	TFBM	Controle	TFBM	Controle	TFBM	Controle	TFBM	Controle	TFBM	Controle
1	5.54	2.32	15.44	6.46	263.76	140.73	7.35	3.92	0.08	0.07	1.91	0.96	0.67	0.98	74.81	28.75
2	3.13	3.23	8.72	9.19	123.14	145.78	3.43	4.06	0.11	0.08	0.79	1.13	1.02	0.86	31.65	49.01
3	4.56	8.07	12.71	22.48	234.55	228.42	6.53	6.36	0.09	0.20	1.35	1.15	0.64	0.50	23.18	18.22
4	0.42	3.96	1.18	11.04	22.86	192.57	0.64	5.36	0.09	0.11	0.13	0.98	1.81	0.83	4.74	26.10
5	5.35	4.42	14.91	12.31	239.40	210.64	6.67	5.87	0.08	0.08	1.75	1.58	0.57	0.64	62.07	59.98
7	5.40	2.06	15.05	5.73	242.11	104.17	6.74	2.90	0.09	0.07	1.74	0.80	0.46	1.15	41.73	26.66
8	0.68	0.29	2.12	0.92	39.63	17.80	1.24	0.56	0.07	0.06	0.31	0.14	1.33	1.21	5.92	3.67
9	6.03	0.44	20.05	1.47	323.26	29.92	10.75	0.99	0.09	0.06	2.32	0.24	0.32	1.63	56.81	10.31
10	5.57	0.39	15.49	1.10	247.55	16.69	6.90	0.46	0.07	0.08	2.05	0.13	0.76	1.72	59.87	2.03
11	2.28	1.87	6.35	5.21	100.62	85.73	2.80	2.39	0.08	0.08	0.77	0.68	1.15	1.23	23.57	13.07
12	3.28	1.64	9.12	4.56	181.23	71.74	5.05	1.20	0.07	0.08	1.35	0.57	1.14	1.32	46.28	11.84
13	5.78	1.97	16.08	5.48	302.43	108.38	8.43	3.02	0.07	0.07	2.14	0.82	0.52	1.47	54.89	10.89
14	7.40	4.26	20.62	11.86	207.56	189.00	5.78	5.29	0.13	0.07	1.52	1.58	0.60	0.88	35.05	41.43
15	2.10	4.68	5.86	13.05	65.41	150.81	1.82	4.20	0.11	0.10	0.53	1.35	1.28	1.22	4.99	27.47
16	4.72	0.14	13.14	0.39	165.03	11.68	4.60	0.32	0.10	0.05	1.30	0.07	1.48	1.68	54.80	1.62
18	4.43	2.95	16.22	10.81	248.66	128.17	9.11	4.69	0.06	0.08	2.53	1.35	0.56	0.73	81.49	49.59
20	3.77	3.46	3.77	9.63	234.01	246.97	6.52	6.88	0.07	0.06	1.55	1.64	0.59	0.54	24.38	33.54
Média	4.14	2.72	11.58	7.75	190.66	122.36	5.55	3.49	0.08	0.08	1.42	0.89	0.88	1.10	40.37	24.42
Desvio Padrão	1.93	2.03	6.05	5.70	90.55	76.29	2.82	2.13	0.02	0.03	0.70	0.53	0.42	0.39	23.85	17.81

* Os valores foram arredondados para duas casas decimais para fins demonstrativos. As análises foram feitas com os dados originais.

BV: Volume ósseo; BV/TV: volume ósseo/volume total; BS: superfície óssea; BS/TV: superfície óssea/volume total; Tb.TH: espessura de trabecular; Tb.N: número de trabéculas; Tb.SP: separação trabecular; Conn.Dn: densidade de conectividade.

Fonte: O autor

As análises morfométricas do tecido formado indicaram diferenças estatisticamente significante entre os grupos para os seguintes parâmetros: superfície óssea (BS, $p=0,029$), superfície óssea/volume total (BS/TV, $p=0,028$), número de trabéculas (Tb.N, $p=0,025$) e densidade de conectividade (Conn.Dn, $p=0,029$), todos maiores no grupo TFBM em relação ao Controle (Figura 7, C, D, F e H). Os parâmetros de volume ósseo (BV, $p=0,054$), volume ósseo/volume total (BV/TV, $p=0,082$), espessura trabecular (Tb.Th, $p=0,598$) e separação trabecular (Tb.Sp, $p=0,109$) não apresentaram diferenças estatisticamente significantes; contudo, nota-se uma tendência ao aumento dos parâmetros volume ósseo (BV) e porcentagem de volume ósseo (BV/TV) no grupo TFBM em relação ao controle (Figura 5.2 A e B), assim como uma diminuição da separação trabecular (Tb.Sp) no TFBM em relação ao controle (Figura 5.2 G).

Figura 5.2 - Parâmetros morfométricos obtidos por microtomografia computadorizada, das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente de 17 pacientes, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com terapia de fotobiomodulação (TFBM) e sem tratamento (Controle). Os asteriscos (*) indicam diferenças estatisticamente significante entre os grupos avaliados (Teste T pareado, $p \leq 0,05$)

Fonte: O autor

5.2 Análise Histológica

Os achados histológicos indicaram maior quantidade de osso formado no grupo TFBM, evidenciado pelo maior número de trabéculas e espacialmente organizadas e conectadas, aliado à menor quantidade de tecido conjuntivo, corroborando com os resultados da morfometria obtidos após a reconstrução microtomográfica (Comparar Figura 5.3 A e C com B e D). Ainda, nas imagens em maior aumento das amostras do grupo TFBM identifica-se maior quantidade de vasos sanguíneos (Comparar Figura 5.3 C e E com D e F).

No grupo Controle, observa-se tecido conjuntivo denso e altamente celular, ocupando a área central do espécime. Na porção lateral, notam-se trabéculas compostas por osso imaturo, contendo inúmeras lacunas contendo osteócitos em seu interior (Figura 5.3 A). Por entre as trabéculas ósseas, nota-se tecido conjuntivo mais frouxo com menor quantidade de células e fibras colágenas mais delicadas, expostas paralelamente às trabéculas ósseas (Figura 5.3 C). Na região do tecido conjuntivo denso, ainda sem trabéculas evidentes, é possível verificar ninhos de osteoblastos secretando matriz óssea, indicando aposição óssea (Figura 5.3 E). No grupo TFBM observou-se grande quantidade de trabéculas ósseas ocupando quase a totalidade da área do espécime (Figura 5.3 B). É possível verificar a presença de dois padrões distintos de tecido conjuntivo, um mais denso e pouco remodelado, e outro mais frouxo, localizados entre as trabéculas ósseas tal qual se observou no grupo Controle. Contudo, uma diferença marcante foi a alta densidade de vasos sanguíneos no tecido conjuntivo ainda pouco remodelado, exibindo intensa hiperemia (Figura 5.3 D), em comparação ao grupo Controle. Adjacente aos vasos sanguíneos, destacam-se ninhos de osteoblastos secretando matriz óssea (Figura 5.3 F).

Figura 5.3 - Fotomicrografias das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com TFBM (B, D e F) e Controle (A, C e E). Os asteriscos (*) indicam células osteoblásticas. E as letras "v" indicam vaso sanguíneo (A-B: 25x; B-C: 100x; D-E: 400)x. Barras de escala indicadas nas figuras

Fonte: O autor

Ao considerarmos os parâmetros de volume e densidade óssea, notamos que 13 dos 17 pacientes indicam uma tendência do efeito positivo da TFBM. Desse modo, decidimos selecionar 1 paciente para posterior análise individual. Ao compararmos as imagens histológicas, reconstruções microtomográficas e os dados da morfometria do paciente no 13, fica evidente o efeito da TFBM na qualidade (Figura 5.4 A) e na quantidade óssea (Figura 5.4 B).

Figura 5.4 - A: Fotomicrografias das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente do paciente nº 13, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com TFBM e Controle. Aumento de 10x. (Barra 100 μm). No detalhe, a reconstrução microtomográfica correspondente. B: Parâmetros morfométricos obtidos por microtomografia computadorizada das amostras removidas do rebordo alveolar remanescente do paciente nº 13, 45 dias após a exodontia dos molares bilaterais, tratado com terapia de fotobiomodulação (TFBM) e sem tratamento (Controle)

Fonte: O autor

6 DISCUSSÃO

Nosso estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da terapia por fotobiomodulação (TFBM), utilizando laser de baixa frequência, no reparo ósseo de alvéolos humanos. Para tanto, 20 pacientes com indicação clínica de exodontia dos primeiros ou segundos molares bilateralmente foram selecionados. Imediatamente após a exodontia e em períodos pós-operatórios pré-determinados, um dos lados, selecionado de maneira randômica, foi submetido à aplicação da TFBM e o lado contralateral foi utilizado como Controle. Quarenta e cinco dias após a exodontia, amostras de tecido ósseo dos alvéolos dos dois grupos foram removidas e submetidas às análises microtomográfica e histológica. Os resultados obtidos evidenciaram o efeito positivo da TFBM no osso formado, em relação ao Controle, considerando o modelo experimental e as análises propostas.

A TFBM vem sendo estudada por diversos grupos de pesquisa como terapia coadjuvante com o objetivo de acelerar o reparo ósseo e minimizar a perda óssea alveolar, em estudos *in vivo* utilizando animais e ensaios clínicos em humanos. Dentre as principais vantagens dessa modalidade de tratamento estão a menor morbidade, menor tempo de tratamento e custos reduzidos, quando comparado aos enxertos autógenos ou a biomateriais. Embora os mecanismos da TFBM ainda não tenham sido elucidados, os resultados tendem para o efeito positivo da terapia no reparo ósseo, corroborando os nossos resultados (Angeletti et al., 2010; Mozzati et al., 2011; Fukuoka et al., 2011; Korany et al., 2012; Paschoal; Santos-Pinto, 2012; Park et al., 2015; Abd-Elaal et al., 2015; Romão et al., 2015; Pinheiro; Gerbi, 2006). Contudo, ainda não existe um protocolo quanto à determinação dos modelos e grupos experimentais, aos parâmetros de aplicação do laser e aos períodos experimentais (tempo de aplicação do laser e seleção dos períodos de análise).

No presente estudo, a região posterior da mandíbula foi selecionada por ser considerada uma área adequada para avaliações quanto ao processo de reparo. A reabsorção da crista alveolar é um processo fisiológico inevitável e a perda óssea pode variar de acordo com a região anatômica. A reabsorção geralmente é mais acentuada na região posterior comparada à região anterior e na parede vestibular, comparado à parede lingual/palatina (Pietrokovski; Massler, 1967). Quando a técnica

cirúrgica é adequadamente empregada, a exodontia de molares inferiores permite a manutenção da integridade das paredes alveolares vestibular e lingual e o processo de remodelação pode ser acompanhado. Baseado nisso, selecionamos a região de alvéolos de molares como a área anatômica mais apropriada e como método experimental para avaliação do efeito da TFBM do reparo alveolar (Trombelli et al., 2008; Mozzati et al., 2011; Romão et al., 2015).

Resultados de estudos *in vivo* evidenciaram que a TFBM (como terapia única ou associada a biomateriais) apresenta efeitos mais expressivos nas fases iniciais do período de reparação (Ozawa et al., 1998; Saito; Shimizu, 1997; Matsumoto et al., 2009; AboElsaad et al., 2009; Park et al., 2015). Desse modo, a aplicação da terapia é iniciada imediatamente após a exodontia e mantidas em intervalos que podem variar de 15 a 21 dias pós-operatórios. Por razões éticas o estudo foi desenhado de maneira transversal, e cada paciente contribuiu com uma amostra obtida a partir de um intervalo de reparo e o período selecionado foi o de 45 dias, quando 2/3 do alvéolo estaria preenchido com osso maduro; há autores que afirmam que a formação óssea mais evidente seria após 6 semanas (Amler, 1969; Evian et al., 1982; Trombelli et al., 2008). Ainda, considerando que esse período é o indicado para a instalação de implantes osseointegráveis (Chappuis et al., 2017) e que a TFBM pode ser uma alternativa para incrementar a qualidade óssea e acelerar o reparo, esse período experimental foi selecionado.

Apesar dos efeitos positivos da TFBM descritos, ainda não há um consenso quanto aos parâmetros do laser a serem empregados com vistas ao reparo ósseo: comprimento de onda, potência, área, densidade de energia, número de frequência e duração do tratamento (Lomke, 2009; Park et al., 2015). O laser de GaAIs pode ser empregado utilizando comprimentos de onda infravermelho, por apresentar maior poder de penetração nos tecidos profundos, incluindo o tecido ósseo; contudo, diferentes comprimentos de onda que vão de 800 a 980 nm têm sido empregados em terapias de regeneração óssea (Park et al., 2015; Coluzzi, 2000; 830 nm: Saito; Shimizu, 1997; 904 nm Takeda, 1988; 980 nm: Park et al., 2015). No presente estudo, o comprimento de onda de 808 nm foi selecionado baseado em resultados prévios obtidos em um modelo experimental semelhante (Romão et al., 2015).

O efeito da TFBM no reparo ósseo tem sido avaliado por diferentes métodos: quantificação de imunoglobulina secretora (slgA) (Kučerová et al., 2000); avaliação da densidade óssea por radiografia digital (Kučerová et al., 2000; Paschoal; Santos-Pinto, 2012); expressão de genes marcadores ósseos do osso formado utilizando a reação em cadeia da polimerase em tempo real (Mozzati et al., 2011); análise histológica e histométrica e, recentemente, a microtomografia computadorizada (μ CT) (Romão et al., 2015). O uso da μ CT em alta resolução é considerada o método padrão ouro para avaliação da microarquitetura e morfologia óssea por ser um método não destrutivo de mensuração tridimensional de toda estrutura trabecular, com resolução espacial em escala micrométrica ou nanométrica (Bouxsein et al., 2010). No presente estudo, a microestrutura do tecido ósseo formado foi avaliada por morfometria após reconstrução microtomográfica e os resultados confirmados por avaliações qualitativas a partir dos cortes histológicos. Os resultados da morfometria indicaram o aumento dos parâmetros superfície óssea, superfície óssea/volume total, número trabecular e conectividade entre estas. Esses dados evidenciam que há mais trabéculas no osso formado no grupo da TFBM, corroborado pelo aumento da área de superfície óssea e em relação ao volume total; ainda, há o aumento do número de pontes entre as trabéculas, sugerindo que o processo de reparo está em estágio mais avançado, quando comparado ao tecido ósseo do grupo Controle. Nossos resultados corroboram outros estudos que sugerem que a terapia acelera o processo de reparação óssea, incluindo do osso nos alvéolos frescos melhorando a qualidade do tecido ósseo e diminuindo o tempo de espera entre a exodontia e a instalação dos implantes (Korany et al., 2012; Kim et al., 2014; Shirazi et al., 2015).

Por outro lado, não foi detectado diferença estatística nos parâmetros de volume e densidade óssea, diferentemente dos resultados numéricos apresentados por Romão e colaboradores (2015), que avaliaram o mesmo modelo experimental utilizando a metade da quantidade de pacientes. Ainda assim, podemos indicar que houve uma tendência ao aumento desses parâmetros no grupo TFBM em relação ao controle, assim como uma tendência a diminuição da separação trabecular do grupo TFBM em relação ao controle, outro indicativo de maior formação óssea. A grande variação individual encontrada no presente estudo e evidenciada pelos valores discriminados na tabela 5.2 sugerem essa reflexão. De fato, as análises qualitativas

das lâminas histológicas indicam maior quantidade de tecido conjuntivo no grupo Controle e maior quantidade de trabéculas distribuídas de maneira homogênea no grupo TFBM e de acordo com resultados prévios (Tim et al., 2014; Romão et al., 2015).

Mesmo quando empregado modelos de animais portadores de doenças metabólicas que afetam o reparo, a TFBM incrementa a quantidade de tecido ósseo evidenciado pelo aumento da quantidade de trabéculas e da densidade mineral óssea (Pires-Oliveira et al., 2010; de Vasconcellos et al., 2014) e das propriedades mecânicas do osso formado (Park; Kang, 2012). No entanto, os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na TFBM ainda não estão totalmente elucidados e estudos futuros são necessários para investigar o efeito da fotobiomodulação e das propriedades mecânicas do tecido formado (Kesler et al., 2006; Petri et al., 2010).

Os resultados obtidos neste estudo indicam que a TFBM é uma alternativa de tratamento para ser empregada como estratégia de preservação alveolar, e que apresenta vantagens tais como custo e tempo de tratamento reduzidos além da ausência de morbidade, quando comparados a utilização de enxertos ou biomateriais. Contudo, estudos futuros são necessários para avaliar os efeitos a longo prazo da TFBM na reparação alveolar com vistas à estabilidade primária seguida da osseointegração de implantes osseointegráveis que eventualmente sejam instalados nos alvéolos irradiados.

7 CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram que a terapia de fotobiomodulação estimulou a formação de novas trabéculas ósseas e a conectividade entre elas resultando no aumento de superfície óssea, o que indica o efeito positivo do laser no reparo de alvéolos humanos, quarenta e cinco dias após a exodontia.

REFERÊNCIAS¹

- Abd-Elaal AZ, El-Mekawii HA, Saafan AM, El Gawad LA, El-Hawary YM, Abdelrazik MA. Evaluation of the effect of low-level diode laser therapy applied during the bone consolidation period following mandibular distraction osteogenesis in the human. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015 Aug;44(8):989-97.
- AboElsaad NS, Soory M, Gadalla LM, Ragab LI, Dunne S, Zalata KR, et al. Effect of soft laser and bioactive glass on bone regeneration in the treatment of bone defects (an experimental study). *Lasers Med Sci*. 2009 Jul;24(4):527-33.
- Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1969 Mar;27(3):309-18.
- Angeletti P, Pereira MD, Gomes HC, Hino CT, Ferreira LM. Effect of low-level laser therapy (GaAlAs) on bone regeneration in midpalatal anterior suture after surgically assisted rapid maxillary expansion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Mar;109(3):e38-46.
- Annunziata M, Guida L, Nastri L, Piccirillo A, Sommese L, Napoli C. The role of autologous platelet concentrates in alveolar socket preservation: a systematic review. *Transfus Med Hemother*. 2018 May;45(3):195-203.
- Arany PR, Nayak RS, Hallikerimath S, Limaye AM, Kale AD, Kondaiah P. Activation of latent TGF- β 1 by low-power laser in vitro correlates with increased TGF- β 1 levels in laser-enhanced oral wound healing. *Wound Repair Regen*. 2007 Nov-Dec;15(6):866-74.
- Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005 Feb;32(2):212-8.
- Arbab H, Greenwell H, Hill M, Morton D, Vidal R, Shumway B, et al. Ridge preservation comparing a nonresorbable ptfе membrane to a resorbable collagen membrane: a clinical and histologic study in humans. *Implant Dent*. 2016 Feb;25(1):128-34.

---

¹ De acordo com estilo Vancouver.

Ashman A. Ridge preservation: important buzzwords in dentistry. *Gen Dent*. 2000 May-Jun;48(3):304-12.

Atieh MA, Alsabeeha NH, Payne AG, Duncan W, Faggion CM, Esposito M. Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 May(5):CD010176.

Avila-Ortiz G, Elangovan S, Kramer KW, Blanchette D, Dawson DV. Effect of alveolar ridge preservation after tooth extraction: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014 Oct;93(10):950-8.

Batista JD, Sargenti-Neto S, Dechichi P, Rocha FS, Pagnoncelli RM. Low-level laser therapy on bone repair: is there any effect outside the irradiated field? *Lasers Med Sci*. 2015 Jul;30(5):1569-74.

Bäumer D, Zuhr O, Rebele S, Hürzeler M. Socket Shield Technique for immediate implant placement - clinical, radiographic and volumetric data after 5 years. *Clin Oral Implants Res*. 2017 Nov;28(11):1450-8.

Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res*. 2010 Jul;25(7):1468-86.

Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2003 Sep;30(9):809-18.

Carrere MTA, Dobao Álvarez C. Biomecánica clínica. Biomecánica del hueso. Reduca (Enfermería, Fisioterapia y Podología). Serie Biomecánica Clínica. 2010;2(3):32-48.

Carvalho PAC, Okamoto T. Cirugía bucal. São Paulo: Pan-Americana; 1987.

Chamay A, Tschantz P. Mechanical influences in bone remodeling. Experimental research on Wolff's law. *J Biomech*. 1972 Mar;5(2):173-80.

Chappuis V, Araujo MG, Buser D. Clinical relevance of dimensional bone and soft tissue alterations post-extraction in esthetic sites. *Periodontol* 2000. 2017 Feb;73(1):73-83.

Cheon GB, Kang KL, Yoo MK, Yu JA, Lee DW. Alveolar ridge preservation using allografts and dense polytetrafluoroethylene membranes with open membrane technique in unhealthy extraction socket. *J Oral Implantol*. 2017 Aug;43(4):267-73.

Coluzzi DJ. An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dent Clin North Am*. 2000 Oct;44(4):753-65.

Darby I, Chen ST, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:260-71.

de Vasconcellos LM, Barbara MA, Deco CP, Junqueira JC, do Prado RF, Anbinder AL, et al. Healing of normal and osteopenic bone with titanium implant and low-level laser therapy (GaAlAs): a histomorphometric study in rats. *Lasers Med Sci*. 2014 Mar;29(2):575-80.

Delloye C, Cornu O, Druez V, Barbier O. Bone allografts: what they can offer and what they cannot. *J Bone Joint Surg Br*. 2007 May;89(5):574-80.

Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, et al. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2013;28(1):2-17.

Evian CI, Rosenberg ES, Coslet JG, Corn H. The osteogenic activity of bone removed from healing extraction sockets in humans. *J Periodontol*. 1982 Feb;53(2):81-5.

Ferraz EP, Rosa AL, de Oliveira PT, Santos TS, Reino DM, Pontes CB, et al. Clinical, histological and cellular evaluation of vertico-lateral maxillary reconstruction associating alveolar osteogenic distraction and fresh-frozen bone allograft. *J Oral Implantol*. 2015a Jun;41(3):326-31.

Ferraz EP, Xavier SP, Azevedo FG, de Oliveira FS, Beloti MM, Rosa AL. Effect of autogenous and fresh-frozen bone grafts on osteoblast differentiation. *J Dent*. 2015b Jan;43(1):110-6.

Fukuoka H, Daigo Y, Enoki N, Taniguchi K, Sato H. Influence of carbon dioxide laser irradiation on the healing process of extraction sockets. *Acta Odontol Scand*. 2011 Jan;69(1):33-40.

Horvath A, Mardas N, Mezzomo LA, Needleman IG, Donos N. Alveolar ridge preservation. A systematic review. Clin Oral Investig. 2013 Mar;17(2):341-63.

Huang YY, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy - an update. Dose Response. 2011;9(4):602-18.

Jawad MM, Husein A, Azlina A, Alam MK, Hassan R, Shaari R. Effect of 940 nm low-level laser therapy on osteogenesis in vitro. J Biomed Opt. 2013 Dec;18(12):128001.

Johnson K. A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following tooth extraction. Aust Dent J. 1969 Aug;14(4):241-4.

Kathuria V, Dhillon JK, Kalra G. Low level laser therapy: a panacea for oral maladies. Laser Ther. 2015 Oct;24(3):215-23.

Kawasaki K, Shimizu N. Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. Lasers Surg Med. 2000;26(3):282-91.

Kesler G, Romanos G, Koren R. Use of Er:YAG laser to improve osseointegration of titanium alloy implants--a comparison of bone healing. Int J Oral Maxillofac Implants. 2006 May-Jun;21(3):375-9.

Kim YK, Yun PY, Um IW, Lee HJ, Yi YJ, Bae JH, et al. Alveolar ridge preservation of an extraction socket using autogenous tooth bone graft material for implant site development: prospective case series. J Adv Prosthodont. 2014 Dec;6(6):521-7.

Korany NS, Mehanni SS, Hakam HM, El-Maghraby EM. Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (histological and morphometric studies). Arch Oral Biol. 2012 Jul;57(7):884-91.

Kowalczewski CJ, Saul JM. Biomaterials for the delivery of growth factors and other therapeutic agents in tissue engineering approaches to bone regeneration. Front Pharmacol. 2018 May;9:513.

Kučerová H, Dostálová T, Himmlová L, Bártová J, Mazánek J. Low-level laser therapy after molar extraction. J Clin Laser Med Surg. 2000 Dec;18(6):309-15.

Lekovic V, Kenney EB, Weinlaender M, Han T, Klokkevold P, Nedic M, et al. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *J Periodontol*. 1997 Jun;68(6):563-70.

Lomke MA. Clinical applications of dental lasers. *Gen Dent*. 2009 Jan-Feb;57(1):47-59.

Martin P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997 Apr;276(5309):75-81.

Matsumoto MA, Ferino RV, Monteleone GF, Ribeiro DA. Low-level laser therapy modulates cyclo-oxygenase-2 expression during bone repair in rats. *Lasers Med Sci*. 2009 Mar;24(2):195-201.

Moraschini V, Barboza ES. Effect of autologous platelet concentrates for alveolar socket preservation: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2015 May;44(5):632-41.

Moskvin SV. Low-level laser therapy in Russia: history, science and practice. *J Lasers Med Sci*. 2017 Spring;8(2):56-65.

Mozzati M, Martinasso G, Cocero N, Pol R, Maggiora M, Muzio G, et al. Influence of superpulsed laser therapy on healing processes following tooth extraction. *Photomed Laser Surg*. 2011 Aug;29(8):565-71.

Oliveira P, Sperandio E, Fernandes KR, Pastor FA, Nonaka KO, Renno A. Comparison of the effects of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound on the process of bone repair in the rat tibia. *Rev Bras Fisioter*. 2011 Mau-Jun;15(3):200-5.

Ozawa Y, Shimizu N, Kariya G, Abiko Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. *Bone*. 1998 Apr;22(4):347-54.

Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, et al. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units: report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of bone and mineral research*. 1987;2(6):595-610.

Parashis AO, Kalaitzakis CJ, Tatakis DN, Tosios K. Alveolar ridge preservation using xenogeneic collagen matrix and bone allograft. *Int J Dent*. 2014;2014:172854.

Park JB, Ahn SJ, Kang YG, Kim EC, Heo JS, Kang KL. Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats. *Lasers Med Sci*. 2015 Feb;30(2):719-26.

Park JJ, Kang KL. Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. *Lasers Med Sci*. 2012 Jan;27(1):223-30.

Paschoal MA, Santos-Pinto L. Therapeutic effects of low-level laser therapy after premolar extraction in adolescents: a randomized double-blind clinical trial. *Photomed Laser Surg*. 2012 Sep;30(9):559-64.

Perrotti V, Voza I, Tumedei M, Pompa G, Iaculli F, Quaranta A. Rehabilitation of postextractive socket in the premaxilla: a 12-year study on 27 titanium plasma spray resorbable calcium phosphate coated single implants. *Implant Dent*. 2018 Aug;27(4):452-60.

Petri AD, Teixeira LN, Crippa GE, Beloti MM, de Oliveira PT, Rosa AL. Effects of low-level laser therapy on human osteoblastic cells grown on titanium. *Braz Dent J*. 2010;21(6):491-8.

Pietrokovski J, Massler M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *J Prosthet Dent*. 1967 Jan;17(1):21-7.

Pinheiro AL, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg*. 2006 Apr;24(2):169-78.

Pires-Oliveira DA, Oliveira RF, Amadei SU, Pacheco-Soares C, Rocha RF. Laser 904 nm action on bone repair in rats with osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2010 Dec;21(12):2109-14.

Pogue BW, Lilge L, Patterson MS, Wilson BC, Hasan T. Absorbed photodynamic dose from pulsed versus continuous wave light examined with tissue-simulating dosimeters. *Appl Opt*. 1997 Oct;36(28):7257-69.

Rodin S, Domogatskaya A, Ström S, Hansson EM, Chien KR, Inzunza J, et al. Long-term self-renewal of human pluripotent stem cells on human recombinant laminin-511. *Nat Biotechnol.* 2010 Jun;28(6):611-5.

Romão MMA, Marques MM, Cortes ARG, Horliana ACRT, Moreira MS, Lascale CA. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of human alveolar bone repair induced by laser phototherapy: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015 Dec;44(12):1521-8.

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

Soleimani M, Abbasnia E, Fathi M, Sahraei H, Fathi Y, Kaka G. The effects of low-level laser irradiation on differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells into neurons and osteoblasts--an in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2012 Mar;27(2):423-30.

Scala A, Lang NP, Schweikert MT, Oliveira JA, Rangel-Garcia I, Botticelli D. Sequential healing of open extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res.* 2014 Mar;25(3):288-95

Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003 Aug;23(4):313-23.

Shirazi M, Akhoundi MSA, Javadi E, Kamali A, Motahhari P, Rashidpour M, et al. The effects of diode laser (660 nm) on the rate of tooth movements: an animal study. *Lasers Med Sci.* 2015 Feb;30(2):713-8.

Stein A, Benayahu D, Maltz L, Oron U. Low-level laser irradiation promotes proliferation and differentiation of human osteoblasts in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2005 Apr;23(2):161-6.

Taha SK, El Fattah SA, Said E, Abdel-Hamid MA, Nemat AH, El Shenawy H. Effect of laser bio-stimulation on mandibular distraction osteogenesis: an experimental study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2018 May 7. pii: S0278-2391(18)30395-1. doi: 10.1016/j.joms.2018.04.030. [Epub ahead of print]

Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988 Dec;17(6):388-91.

Ten Heggeler JM, Slot DE, Van der Weijden GA. Effect of socket preservation therapies following tooth extraction in non-molar regions in humans: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2011 Aug;22(8):779-88.

Tim CR, Pinto KN, Rossi BR, Fernandes K, Matsumoto MA, Parizotto NA et al. Low-level laser therapy enhances the expression of osteogenic factors during bone repair in rats. *Lasers Med Sci.* 2014 Jan;29(1):147-56.

Tomlin EM, Nelson SJ, Rossmann JA. Ridge preservation for implant therapy: a review of the literature. *Open Dent J.* 2014 May;8:66-76.

Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. *J Clin Periodontol.* 2008 Jul;35(7):630-9.

Troiano G, Zhurakivska K, Lo Muzio L, Laino L, Cicciù M, Russo L. Combination of bone graft and resorbable membrane for alveolar ridge preservation: a systematic review, meta-analysis and trial sequential analysis. *J Periodontol.* 2017 Sep. 12:1-17.

Vignoletti F, Matesanz P, Rodrigo D, Figuero E, Martin C, Sanz M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2012 Feb;23 Suppl 5:22-38.

Woodruff LD, Bounkeo JM, Brannon WM, Dawes KS, Barham CD, Waddell DL, et al. The efficacy of laser therapy in wound repair: a meta-analysis of the literature. *Photomed Laser Surg.* 2004 Jun;22(3):241-7.

Zhang RF, Wang Q, Zhang AA, Xu JG, Zhai LD, Yang XM, et al. Low-level laser irradiation promotes the differentiation of bone marrow stromal cells into osteoblasts through the APN/Wnt/beta-catenin pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018 May;22(9):2860-8.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Eficácia da laserfototerapia na remodelação do osso alveolar humano por meio da microtomografia, da histomorfometria e imunoistoquímica.

Pesquisador: KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 68617217.8.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.135.169

Apresentação do Projeto:

O presente estudo analisará a eficácia da terapia com laser de baixa potência na remodelação do osso alveolar humano, após extração dental; através de microtomografia, histomorfometria e imuno-histoquímica.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito da terapia com laser de baixa potência na reparação óssea alveolar, pós exodontia de molares inferiores, em humanos, por meio da microtomografia computadorizada histomorfometria e imunoistoquímica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os autores os riscos são inerentes ao procedimento de extração dental e colocação dos implantes. E, com relação à fototerapia, os riscos são relacionados aos danos oculares, os quais serão prevenidos com o uso do óculos de proteção.

Quanto aos benefícios, os autores citam que os pacientes que participarão da pesquisa receberão a terapia com laser de baixa potência e, que após terminado o estudo, será possível determinar a eficácia do laser na remodelação óssea humana.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todas as pendências foram respondidas.

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

Continuação do Parecer: 2.135.169

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados TCLE, projeto (formulário e completo), carta de autorização da FUNDECTO e da clínica da FOU SP, assim como a folha de rosto.

Recomendações:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site www.saude.gov.br/plataformabrasil).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_906948.pdf	07/06/2017 14:51:43		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_kleber.docx	07/06/2017 14:50:57	KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEKLEBER11.docx	07/06/2017 14:46:35	KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO	Aceito
Outros	AUTO_FFO.pdf	08/05/2017 15:50:32	KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO	Aceito
Outros	auto_clinica.pdf	08/05/2017 15:49:56	KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO	Aceito
Folha de Rosto	arquivo_1817_0001.pdf	08/05/2017 15:49:26	KLEBER ARTURO VALLEJO ROSERO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA USP - SÃO
PAULO

Continuação do Parecer: 2.135.169

SAO PAULO, 23 de Junho de 2017

Assinado por:
Maria Gabriela Haye Biazevic
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: cepfo@usp.br

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1/2

Termo de consentimento livre e esclarecido

Caro(a) Senhor(a):

Vimos através desta convidar o Sr. (a) para participar da pesquisa que será realizada nesta Universidade.

Título da pesquisa: Eficácia da laser fototerapia na remodelação do osso alveolar humano por meio da micro tomografia, da histomorfometria e imunohistoquímica.

A pesquisa será realizada na UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – USP SP, na clínica Odontológica da mesma, com endereço na Avenida Lineu Prestes, 2222. Cidade Universitária. Telefone: (11)-30917887.

O objetivo desta pesquisa é comparar a formação de osso com a aplicação de laser terapia ou não (Serão dois lados, um submetido à laser terapia e outro não). A cirurgia para remoção de dentes posteriores (molares) é um dos procedimentos mais comuns realizado pelos cirurgiões dentistas. Os dados obtidos serão comparados por exames de imagem, laboratoriais e os resultados publicados em forma de artigo científico em revistas nacionais e internacionais.

Os participantes da pesquisa serão voluntários, com idade compreendida entre 25 a 70 anos, com necessidade de remoção de dentes (molares) inferiores bilateralmente (dentes 36 ou 37 e 46 ou 47) para posterior colocação de implantes. As aplicações de laser serão no local da remoção do dente (gengiva). Cada local será irradiado no pós operatório imediato, 24h, 48h, 72h, 96h, 7 dias e 15 dias. Após 45 dias utilizaremos o tecido ósseo retirado no local da remoção do dente para a colocação dos implantes e fazer análise de imagem e laboratório.

Os procedimentos cirúrgicos serão realizados sempre pelo mesmo cirurgião dentista e na mesma sessão. Será realizada a antisepsia extra oral com clorexidina 2% e intra-oral (bochecho) com clorexidina 0,12%. Serão submetidos a anestesia dos nervos alveolares inferiores por técnica de anestesia pteriogomandibular com complementação no nervo bucal utilizando-se mepivacaina (2%) com vaso constritor, adrenalina 1:100.000. No pós operatório das cirurgias todos os participantes receberão 500mg de amoxicilina a cada 8 horas por 7 dias, 100mg de nimesulida a cada 12 horas por 3 dias e dipirona sódica 500mg em cada 6 horas se houver dor.

Os participantes da pesquisa podem se retirar da pesquisa a qualquer momento e terá liberdade de recusar e retirar o consentimento sem qualquer tipo de prejuízo à sua pessoa.

Os participantes da pesquisa serão submetidos a tratamento cirúrgico e aplicação do laser para melhorar a cicatrização óssea. **De forma gratuita.**

Os participantes da pesquisa podem ter acesso ao resultado de exames realizados durante o estudo. Os dados do participante da pesquisa serão confidenciais.

Rubrica participante da pesquisa responsável

Rubrica pesquisador

Os riscos são inerentes ao procedimento cirúrgico (remoção de dentes e colocação de implantes), sangramento, dor e infecção. Para evitar os riscos, ou diminuí-los será uma cirurgia atraumática respeitando os princípios de biossegurança e medicações para controlar infecção e dor. Os participantes receberão 500mg amoxicilina de 8 em 8 horas por 7 dias e 100mg nimesulida de 12 em 12 horas por 3 dias. Serão utilizados exclusivamente fragmentos ósseos removidos pela broca trefina para a colocação de implantes. Os riscos da laserterapia são inerentes a proteção ocular o que respeitando-se os princípios de biossegurança, oferece-se a proteção adequada para o participante da pesquisa.

O participante da pesquisa receberá indenização em casos de danos decorrentes da pesquisa e receberá assistência integral e imediata, de forma gratuita pelo tempo que for necessário.

Caso o participante tenha que se deslocar para a faculdade somente para as aplicações de laser, o mesmo será ressarcido dos valores do deslocamento.

Em caso de interrupção do estudo o participante da pesquisa receberá assistência adequada e de forma gratuita pelo tempo que for necessário.

Se houver dúvidas sobre a ética da pesquisa o participante pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (Av. Prof. Lineu Prestes, 2227, 05508-000 São Paulo).

Telefone (11) 3091.7960 email:cepo@ucp.br.

O horário de atendimento ao público e pesquisadores é de segunda a sexta-feira das 9 as 12h e de 14 as 18 (exceto em feriados e recesso universitário). O comitê é um colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de carácter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. (Resolução CNS NO 466^{DE} 2012).

Este documento é emitido em duas vias, sendo uma do pesquisador responsável e outra do participante da pesquisa.

Nome do pesquisador: Kleber Arturo Vallejo Rosero Telefone: 30917887

Endereço: Avenida Lineu Prestes, 2222. Cidade Universitária.

Horário de funcionamento: 08:00 – 12:00 e das 14:00 - 18:00. Não funciona aos sábados e domingos.

Tendo lido o termo de consentimento acima, concordo em participar deste estudo.

São Paulo de de 2017.

Nome e assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do pesquisador responsável