**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU**

ELIZIANE COSSETIN VASCONCELOS

**Estudo histomorfométrico da ação do laser de baixa potência na
reabsorção radicular ortodonticamente induzida em ratos**

**BAURU
2013**

ELIZIANE COSSETIN VASCONCELOS

**Estudo histomorfométrico da ação do laser de baixa potência na
reabsorção radicular ortodonticamente induzida em ratos**

Tese apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, área de concentração Ortodontia.

Orientador: Prof. Dr. José Fernando Castanha
Henriques

Versão Corrigida

BAURU
2013

C822e Cossetin Vasconcelos, Eliziane
Estudo histomorfométrico da ação do laser de baixa
potência na reabsorção radicular ortodonticamente
induzida em ratos / Eliziane Cossetin Vasconcelos. –
Bauru, 2013.

113 p. : il. ; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de
Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Prof. Dr. José Fernando Castanha
Henriques

Nota: A versão original desta tese encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores
e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº: 010/2012

FOLHA DE APROVAÇÃO

DADOS CURRICULARES

Eliziane Cossetin Vasconcelos

01 de agosto de 1976	Nascimento Cruz Alta - RS
Filiação	Antonio Cossetin Loana Maria Pedrozo Bronfman
1994 – 1999	Curso de graduação em Odontologia pela Universidade Federal de Santa Maria
2001 – 2003	Curso de Especialização em Ortodontia e Ortopedia Facial, na Universidade Camilo Castelo Branco
2005 – 2007	Curso de Pós-graduação em Odontologia com concentração em Clínicas Odontológicas, em nível de Mestrado, na Universidade Potiguar
2009 – 2013	Curso de Pós-graduação em Ciências odontológicas Aplicadas, em nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo

*“Não se mede o valor de um homem pelas
suas roupas ou pelos bens que possui,
o verdadeiro valor do homem é o seu caráter,
suas idéias e a nobreza dos seus ideais.”*

(Charles Chaplin)

Dedicatória

Dedico este trabalho à...

...minha querida *Mãe Loana* que é o pilar para todas as minhas conquistas
pessoais e profissionais

Ao meu *Marido Sávio* que superou comigo a dor da distância e das ausências,
sempre me apoiando e compreendendo o quanto a minha profissão é importante
para mim

À minha *Filha Emília* amada...

para que ela reconheça no estudo um meio prazeroso de alcançar sua
independência financeira e intelectual.

Outra vitória que é nossa!

Agradecimentos

E mais uma vez...

Obrigada Senhor!

*Muito obrigada hó Pai, tão Grandioso e Misericordioso, por esta
conquista!*

*Em todos os momentos que pensei em desistir lembrei-me de que se
me permitistes iniciá-lo era porque tinha capacidade de finalizá-
lo.*

*Obrigada por ter conhecido pessoas generosas que contribuíram
para o meu crescimento profissional e pessoal.*

*Obrigada por minha saúde, capacidade de aprendizagem e o
conhecimento científico adquirido até este momento.*

*Ajuda-me a multiplicar este conhecimento e a partilhá-lo com
outras pessoas. Dá-me ética para conduzir minhas pesquisas,
delicadeza para tratar com as pessoas envolvidas e honestidade
ao divulgá-las.*

Amém!

Agradeço também...

ao meu marido maravilhoso, *Sávio*, pelo carinho, amizade e amor que teve por mim, não apenas durante o doutorado, mas nos 10 anos de matrimônio. *Obrigada Sávio, eu te amo!*

A minha filhinha, *Emília*, que já me conheceu estudando e teve que conviver com minha ausência com poucos meses de vida. Compartilhou sua mãe com livros, computador, periódicos e experimentos. Muitas vezes sentiu ciúmes, sem entender porque eu preferia ficar isolada do que brincando com ela. Espero que isto lhe sirva como inspiração. *Beijos, eu te amo muito!*

A minha mãe querida, *Loana*, mulher forte, determinada, com energia inesgotável. Nestes quase quatro anos, pensei que esta energia fosse terminar. Mãe dedicada, filha cuidadosa e avó zelosa, se não fosse por sua ajuda certamente não teria conseguido. *A senhora é D+. Lhe amo incondicionalmente!*

Aos *meus avós queridos* eu devo tudo o que sou, se hoje concluí este doutorado foi apenas consequência de uma infância maravilhosa, uma vida toda de ensinamentos e um amor inesgotável. Nestes anos de doutorado, não pude estar com vocês como gostaríamos, mas foram sempre compreensíveis. Nas horas difíceis de doença, estava ausente também. Mas não houve cobranças. Nem mesmo na partida pude estar junto. Agora vamos recuperar o tempo que passou! *Vó Landi, vô Ramão, vó Emília (in memorian) e vô Alfredo (in memorian) muito obrigada por tanto amor!*

Ao meu irmão e meu melhor amigo, *Antonio*, pelo apoio e solidariedade com meu compromisso. Gostaria de ser um incentivo para que tu nunca desistas de teus objetivos e acredites na tua capacidade. Obrigada pelo carinho e amor que tu tens pela minha família, especialmente pela Emília. Isto faz com que a vida se torne mais leve, doce e agradável. *Eu te amo também!*

Ao meu pai querido, *Antonio*, apesar da distância, está sempre no meu coração. Eu lhe agradeço por ter me ensinado os valores morais, que tenho hoje, os quais são essenciais para que eu seja uma pesquisadora com ética e com respeito à ciência. *Lhe amo!*

Ao *Rosalvo*, não é pai e nem padrasto, mas um super-amigo com quem pude contar todas as muitas vezes que precisei. Obrigada também, por ter suportado a ausência da minha mãe, enquanto ela se dedicava à mim e às minhas necessidades. Obrigada por cuidar da minha filhinha, do meu consultório, da minha casa, dos meus avós e de tantas coisas que precisei. Seu coração generoso é admirável, *o senhor é um homem de Deus*.

Ao meu sobrinho e quase filho, *Marco Antonio*, inteligente, educado e generoso. Obrigada pela companhia e a alegria que transmites a todos. As tuas perguntas como: quantas páginas tu escreveste hoje, tia? Falta muito? O que é uma tese? Me serviram de estímulo. Espero ter saúde para ir em todas as tuas formaturas e defesas de títulos que certamente virão.

Aos irmãos de coração, *Paula, Caroline, Saulo e Ricardo*. Sei que torceram por mim e espero que este título sirva de estímulo para que vocês também sigam buscando novos ideais.

Ainda à *Caroline*, minha colega, amiga e comadre, por ter me ajudado no consultório e na faculdade, principalmente quando eu estava grávida e após o nascimento da Emília. Foram momentos difíceis, por requererem adaptações e tua ajuda foi muito importante.

Aos *amigos e familiares*, por compreenderem meu afastamento, a falta de resposta e os esquecimentos.

À *Bia, Marco Ruiz (in memoriam) e filhos*, que acompanharam desde minha chegada à Bauru até o último momento, vivenciando comigo minhas emoções e expectativas. Pessoas como vocês são únicas, a bondade para vocês, não é um sacrifício ou uma busca e, sim um DOM. Muito obrigada por tanta generosidade, amizade, alegria, é impossível expressar minha gratidão com palavras.

Agradeço aos professores da disciplina de Ortodontia da FOB - USP...

pela oportunidade que me deram em ingressar nesta “casa”, mesmo sem me conhecerem, apostando na minha capacidade e acreditando que eu poderia contribuir para o desenvolvimento do Curso. Obrigada pelo convívio agradável e pelos conhecimentos que adquiri aqui. Cheguei como uma estranha, mas agora me sinto da família!

Ao *Prof. Dr. José Fernando Castanha Henriques*, meu querido orientador, que além de excelente ortodontista, pesquisador e professor, também foi um sábio orientador. Obrigada por ter me deixado agir com liberdade, dentro do meu tempo e limitações, por ter confiado em mim e me ajudado nos momentos que precisei.

Ao *Prof. Dr. Guilherme Janson*, por ser um professor dedicado e se empenhar ao máximo para manter o alto nível do curso. Sempre disposto a ensinar e passar seu conhecimento a quem estiver interessado. Eu lhe agradeço por ser insistente nos detalhes e me tornar mais minuciosa.

Ao *Prof. Dr. Arnaldo Pinzan*, por termos tido excelente convivência nas clínicas de especialização e por estar sempre disposto a ensinar. Obrigada por incentivar novas idéias e pesquisas.

Ao *Prof. Dr. Marcos Roberto de Freitas*, obrigada pelos ensinamentos passados e o carinho como trata a todos.

Ao *Prof. Dr. Renato Rodrigues de Almeida*, embora não tenha tido o privilégio de ser sua aluna, o convívio e a leitura dos seus trabalhos demonstraram a sua simplicidade e sua competência.

À *Profa. Dra. Daniela Gamba Garib*, por ser um exemplo a ser seguido como mulher, mãe, esposa e sobretudo, uma profissional altamente competente. Obrigada pelo convívio e pelo ensinamento.

Agradeço em especial...

Ao *Prof. Dr. Rodrigo Cardoso*, educado e gentil, sempre disposto a responder a todas as perguntas com conhecimento e tranquilidade. Muito obrigada pela atenção, desprendimento e competência, sua ajuda foi imprescindível para a realização desta tese.

Ao *Prof. Dr. Alberto Consolaro*., obrigado pelo interesse em ajudar em cada detalhe da metodologia e execução desta pesquisa. Contar com seu conhecimento e experiência foi formidável, muito obrigada de coração!

Ao *Prof. Dr. Heitor Marques Honório*, agradeço pela compreensão e tolerância com a minha ignorância em estatística. Sua excelente didática e raciocínio lógico me fizeram entender como calcular e interpretar os resultados obtidos nesta pesquisa. Não tenho palavras para agradecer a gentileza e serenidade como trabalha.

À equipe de colegas que trabalharam nesta pesquisa, *Marinês Sousa, Caroline Bronfman e Fernanda Henriques*, gostaria de expressar como é maravilhoso pesquisar em equipe. A solidão não combina com pesquisa e sim com exatidão; dividir tarefas, somar conhecimentos e criar ideais, acontecem naturalmente quando trabalhamos com pessoas dedicadas e inteligentes como vocês. Muito obrigada!!

Agradeço aos queridos colegas do Doutorado, Mestrado e especializações pelo convívio, troca de conhecimentos e de experiências. O nosso meio é restrito e certamente ainda nos encontraremos; com a internet as distâncias ficaram curtas e as notícias são instantâneas, portanto não existe um adeus e sim até breve.

À *Marinês* agradeço pela insistência em pesquisarmos laser, à companhia nos jantares e caminhadas, à amizade e companheirismo.

Ao *Eduardo*, pelos momentos de desabafo e parceria na clínica.

Ao *Luiz Eduardo*, pela amizade e por sempre fazer questão em auxiliar e ensinar.

À *Thaís*, pela generosidade, simplicidade e amizade. Tem o Dom de ensinar e compartilhar o conhecimento.

À *Renata* por ser uma colega prestativa e envolvida no bem estar de todos. Obrigada por ter me inspirado a engravidar antes de terminar o doutorado, o que embora tenha tornado tudo mais difícil, foi maravilhoso!

À *Núria*, pela troca e diplomacia, pelo convívio na clínica e muitas caronas.

À *Juliana*, pela alegria e descontração, pela troca e desprendimento.

À *Michele*, pelo jeito delicado de ser e por gostar de ajudar.

Agradeço...

Aos meus colegas *Jairo Cassol, Kalline Thumé Antunes*, por atenderem meus pacientes nos momentos que estava ausente, sendo atenciosos e prestando um serviço de qualidade. Ter colegas com ética como vocês me faz acreditar ainda mais na nossa profissão.

Meu muito obrigada...

Aos *funcionários da Ortodontia*, Vera, Neide, Cris, Sérgio e Wagner, pela amizade e excelente trabalho que praticam organizando para que tudo funcione perfeitamente no departamento.

À *Vera*, por cuidadosamente verificar a ficha de cada aluno, alertando sobre matrículas e prazos, informando sobre aspectos burocráticos e sendo uma amiga querida.

À *Neide* pela receptividade acolhedora no departamento.

À *Cris* por deixar a clínica sempre impecável, controlando a biossegurança e os materiais utilizados para os atendimentos.

Aos protéticos *Sérgio e Wagner*, pelas boas conversas e dicas práticas.

Ao *Daniel Bonné*, técnico em Informática e grande amigo. Obrigada por estar sempre disposto a me ajudar quando estava no sufoco com o computador.

Aos *funcionários em geral da FCB- USP* responsável pelo perfeito andamento desta Faculdade maravilhosa, desde a administração até a limpeza e cuidado com a manutenção geral. Seu trabalho torna o nosso estudo prazeroso, é muito agradável caminhar nestes jardins e sentar-se nesta biblioteca.

Ao *Renato Murbach*, do Centro Integrado de Pesquisas, pessoa amável, sempre disposto a ajudar e cheio de idéias eficientes.

À *Meg, Leila, Letícia e Fátima*, da pós-graduação, por sempre me atenderem com educação, sorridentes e dispostas quando precisei.

Ao *Kazuo Kato* por me tirar da ignorância na informática e me ajudar a realizar alguns trabalhos.

Às funcionárias da patologia,

Cris, por sempre me receber com respeito e educação e, *Fátima*, por me ensinar o processo de cortes das peças e preparo histoquímico das lâminas.

Ao *biotério e seus excelentes funcionários*, por terem disponibilizado os animais e os mantido saudáveis e em condições de higiene durante o experimento.

Aos *funcionários da limpeza* por fazerem a higienização das áreas de estudo, clínicas e laboratórios utilizados para seminários, atendimentos e pesquisa diariamente.

Aos meus *pacientes* da FOB por terem contribuído para a minha formação e do meu consultório particular por terem compreendido minha ausência neste período.

À *CAPES* e ao *Governo Federal* pela concessão da bolsa de estudos.

À *Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo*, representada pelo diretor Prof. Dr. José Carlos Pereira e pela vice-diretora Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, pela excelente estrutura física e pessoal disponibilizada para prover as necessidades de pesquisa e desenvolvimento na área de Odontologia.

Enfim,

aos *animais* que servindo de cobaias, ajudaram a realizar minha pesquisa, contribuindo assim, para o desenvolvimento da ciência.

RESUMO

RESUMO

A reabsorção radicular inflamatória induzida pela movimentação dentária é uma consequência da lesão dos cementoblastos devido à aplicação da força sobre o dente deixando a raiz exposta à ação dos osteoclastos. Estudos vêm sendo feitos a fim de se desenvolver um meio de evitar, controlar ou reduzir este tipo de reabsorção. A fototerapia com laser tem demonstrado efetividade como agente anti-inflamatório e, considerando a origem inflamatória desta patologia este estudo se propôs a avaliar a ação do laser sobre as reabsorções radiculares. Para isto realizou-se uma análise histomorfométrica da raiz disto-vestibular dos primeiros molares superiores de ratos após a indução da sua movimentação mecânica, sendo irradiados ou não com laser de baixa potência. Para a fototerapia foi utilizado um laser diodo, calibrado com comprimento de onda de 808 nm, potência de saída de 100mW, energia total de 2,1J ou 96J e área de 0,0028cm². A aplicação foi contínua, pontual e com contato. Foram utilizados 54 ratos *Wistar*, machos, com aproximadamente 80 dias, pesando entre 280±40g. Para a movimentação utilizou-se uma mola fechada super-elástica, com força constante, pré-calibrada em 25g. Os espécimes foram irradiados a cada 48 horas conforme o grupo a que pertenciam. O sacrifício se procedeu no sétimo ou décimo dia após o início da movimentação. O exame histológico foi realizado com cortes de 6 µm corados em HE. Os resultados revelaram que, com as dosimetrias estudadas, o laser de baixa potência, não teve efeito estatisticamente significativo sobre as reabsorções radiculares. Concluindo-se que não há diferença na área reabsorvida, espessura ou extensão da reabsorção radicular entre os grupos controle e experimental.

Palavras-chave: Fototerapia. Terapia a Laser de Baixa Potência. Reabsorção da Raiz.

ABSTRACT

ABSTRACT

Histomorphometric study of low-level laser action on orthodontic induced root resorption

Inflammatory root resorption induced by tooth movement is a consequence of the cementoblasts injury due to application of force on the tooth leaving the root exposed to the action of osteoclasts. Studies have been made to develop a means of preventing, controlling or reducing this kind of resorption. Phototherapy by laser has demonstrated effectiveness as an antiinflammatory and considering the inflammatory origin of this pathology this study evaluated the effects of laser on root resorption. For this we carried out a histomorphometric analysis of maxillary first molars distobuccal root of rats after being moved, irradiated or not with low-level laser. Order to phototherapy it was used a diode laser, calibrated with a wavelength of 808 nm, output power of 100mW, 2.1J or 96J of energy and area of 0.0028 cm². The application was continuous, punctual and with contact. It was used 54 male Wistar rats, approximately 80 days, weighing 280 ± 40g. For tooth movement, it was used a super elastic closed spring, with pre-calibrated and constant force of 25g. The specimens were irradiated every 48 hours depending on the group they belonged to. The sacrifice was made in the seventh or tenth day after the onset of movement. Histological examination was performed with sections of 6 µm stained with HE. The results revealed that, considering the dosimetry studied, low-level laser, has no effect statistically significant on the root resorption. Concluding it does not have difference in the root reabsorption area, thickness or extension, between the control and the experimental groups.

Keywords: Phototherapy. Laser Therapy, Low-level. Root Resorption.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

Figura 1	- A) Pesagem dos animais. B) Identificação. C) Imobilização	50
Figura 2	- A) Incisivos inferiores cortados. B) Canaletas de retenção	51
Figura 3	- A) inserção do fio de amarrilho através do ponto de contato. B) Fixação da mola no primeiro molar	52
Figura 4	- A) Aparelho de laser utilizado. B) Irradiação na face vestibular	53
Figura 5	- A) Irradiação na face palatina. B) Irradiação na face mesial	53
Figura 6	- Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando a área da raiz. 200X. HE	56
Figura 7	- Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando a área da câmara pulpar. 200X. HE	56
Figura 8	- Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando o contorno da área radicular reabsorvida. 200X. HE	57
Figura 9	- Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando as medidas da espessura da raiz (A) e da reabsorção (B), sobre uma linha guia imaginária que inicia no centro da câmara pulpar até um ponto da linha virtual, no contorno externo da raiz, passando pela região de reabsorção mais espessa. 200X. HE	58
Figura 10	- Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando a extensão da reabsorção. 200X. HE	59
Figura 11	- Fotomicrografias de um espécime de cada subgrupo do período experimental de sete dias.	71
Figura 12	- Fotomicrografias de um espécime de cada subgrupo do período experimental de dez dias..	73

LISTA DE TABELAS

- TABELAS

Tabela 1 - Cálculo do erro do método.	66
Tabela 2 - Diferença do peso final e inicial entre os subgrupos.	67
Tabela 3 - Número de espécimes que perderam peso na fase experimental em cada subgrupo.	67
Tabela 4 - Número de espécimes que sofreram reabsorção proporcionalmente ao o número de animais estudados em cada subgrupo.....	68
Tabela 5 - Extensão da área reabsorvida.	75
Tabela 6 - Porcentagem da extensão reabsorvida em relação ao perímetro da raiz.	76
Tabela 7 - Porcentagem da área total da raiz reabsorvida.	76
Tabela 8 - Número de clastos próximos à área reabsorvida.	77
Tabela 9 - Espessura da área reabsorvida.	77
Tabela 10 - Porcentagem da espessura da raiz reabsorvida.	78
Tabela 11 - Área total reabsorvida.	78
Tabela 12 - Fase evolutiva.	79
Tabela 13 - Extensão da reabsorção por escore.....	80
Tabela 14 - Espessura da área reabsorvida por escore.	80

- QUADROS

Quadro 1 - Distribuição dos animais conforme subgrupos, movimentação dentária, doses de laser (baixa = $25\text{J}/\text{cm}^2$ e alta= $580\text{J}/\text{cm}^2$), tempo experimental e número de espécimes por subgrupo.	49
Quadro 2 - Protocolo de irradiação	54

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	25
2.1	INFLAMAÇÃO	27
2.2	MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA.....	29
2.3	REABSORÇÃO RADICULAR INFLAMATÓRIA	32
2.4	FOTOTERAPIA COM LASER	35
3	PROPOSIÇÃO	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	47
4.2	DESENHO DO ESTUDO	47
4.3	IMPLICAÇÕES ÉTICAS	47
4.4	MATERIAL	47
4.4.1	AMOSTRA.....	47
4.4.1.1	Critérios de exclusão da amostra	48
4.4.1.2	Modelo experimental	48
4.5	MÉTODOS	49
4.5.1	MANUSEIO DOS ANIMAIS.....	49
4.5.1.1	Anestesia.....	49
4.5.1.2	Preparação prévia	50
4.5.2	MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA	51
4.5.3	FOTOTERAPIA COM LASER	52
4.5.4	EUTANÁSIA	54
4.5.5	PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES	54
4.5.6	ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA QUANTITATIVA.....	55
4.5.6.1	MENSURAÇÕES ATRAVÉS DO SOFTWARE IMAGEJ 1.45s.....	55

4.5.6.2	ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA	59
4.5.6.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
4.5.6.4	ERRO DO MÉTODO	61
5	RESULTADOS.....	63
5.1	ANÁLISE DESCRITIVA.....	68
5.2	ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA QUANTITATIVA.....	75
5.3	ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA	79
6	DISCUSSÃO	81
7	CONCLUSÃO	89
	REFERÊNCIAS.....	93
	GLOSSÁRIO.....	107
	ANEXO.....	111

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O processo inflamatório, desenvolve-se em resposta à agressão (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010), promovendo a remodelação tecidual e é o princípio fundamental para a movimentação ortodôntica, mas quando a força é exacerbada, pode causar danos irreversíveis aos tecidos envolvidos (YAGIELA et al., 2011), como por exemplo, a reabsorção radicular inflamatória.

A movimentação dentária, é um processo que depende da remodelação óssea, a qual é induzida pela aplicação de uma força sobre o dente (SCHWARZ, 1932; STOREY, 1973). Quando as forças exercidas sobre o periodonto, extrapolam o limite de adaptabilidade celular, por anoxia e/ou deformação do citoesqueleto, causam morte das células (CONSOLARO, 2012). Com a lesão dos cementoblastos, a superfície dentinária fica exposta à ação dos mediadores químicos da inflamação e das células inflamatórias, que podem iniciar uma reabsorção radicular de origem inflamatória (LINDSKOG; BLOMLOF; HAMMARSTROM, 1987; CONSOLARO, 2012).

Após a remoção do estímulo, a reabsorção radicular inflamatória, cessa e sofre reparação total ou parcial, dependendo do tempo do estímulo e intensidade da lesão gerada (CONSOLARO, 2012).

Muitas pesquisas têm investigado uma maneira de evitar a reabsorção radicular durante o tratamento ortodôntico (MAVRAGANI; BRUDVIK; SELVIG, 2005; (VERNA et al., 2006; GONZALES et al., 2009; GONZALES et al., 2011; LIU et al., 2012; YOSHIMATSU et al., 2012; FONSECA et al., 2013).

O efeito da fototerapia sobre a inflamação, tem sido estudado e demonstra sucesso na redução da intensidade do edema e, do número de células inflamatórias no tecido conjuntivo (ALBERTINI et al., 2007; PIRES et al., 2011; CASALECHI et al., 2012). Apesar disto, poucos estudos investigaram o efeito do laser de baixa potência na reabsorção radicular. O efeito da fototerapia sobre a reabsorção, foi avaliado no tratamento da superfície radicular após avulsão dentária, antes da sua reimplantação, demonstrando contradição nos resultados (SAITO et al., 2011; CARVALHO et al., 2012). O LED (*Light Emitting Diode* –Diodo Emissor de Luz), foi

testado para reduzir a reabsorção radicular inflamatória induzida pela movimentação dentária e obteve sucesso (FONSECA et al., 2013).

Considerando que a reabsorção radicular relacionada com a movimentação dentária tem origem inflamatória e, existem resultados satisfatórios da laserterapia na redução da inflamação, esta pesquisa, se propõe a investigar o efeito do laser diodo, com duas densidades de energia diferentes, sobre a reabsorção radicular induzida pela movimentação dentária, em ratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

Esta revisão foi dividida, didaticamente, nos elementos envolvidos no processo da reabsorção radicular inflamatória e possíveis tratamentos.

2.1 INFLAMAÇÃO

A inflamação, é uma resposta à lesão tecidual, que desencadeia uma complexa série de eventos humorais e celulares, os quais, permitem a localização da lesão, remoção dos agentes nocivos, reparo da lesão física e restituição da função do tecido lesado (YAGIELA et al., 2011). No entanto, a resposta inflamatória nem sempre é benéfica ao hospedeiro. Se o agente causador, não for identificado ou não for removido, pode levar à perda progressiva dos elementos estruturais e da capacidade funcional dos tecidos acometidos (YAGIELA et al., 2011).

Após a agressão dos tecidos, mediadores químicos, iniciam o processo inflamatório e ocorre um aumento do fluxo sanguíneo (vasodilatação), aumento da permeabilidade vascular e extravasamento de leucócitos no local da lesão para eliminar o agente agressor (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010). A permeabilidade vascular, é mediada principalmente pela histamina e pelo óxido nítrico (NO) (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010). O extravasamento dos leucócitos e proteínas, ocorre com a contração das células endoteliais, a qual é mediada pela histamina, bradicinina, leucotrienos, neuropeptídeo substância P e outros mediadores (MEHTA; MALIK, 2006). Macrófagos e mastócitos residentes no tecido injuriado, também liberam histaminas, leucotrieno, enzimas e muitas citocinas (incluindo Fator de Necrose Tumoral (TNF), Interleucina-1 (IL-1) e quimiocinas) que estimulam o processo de migração leucocitária (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010).

Os leucócitos mais importantes envolvidos na inflamação são os neutrófilos e os macrófagos, encarregados por fagocitar os restos de tecido necrótico, bactérias e substâncias estranhas (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010). Os leucócitos também produzem fatores de crescimento, que ajudam no reparo tecidual (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010). O inconveniente da ação dos leucócitos, é que, quando fortemente

ativados, podem induzir dano tecidual e prolongar a inflamação (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010). O extravasamento dos leucócitos, é mediado por selectinas (rolamento) e citocinas (adesão) (MULLER, 2002). Os macrófagos, mastócitos e células endoteliais que encontram micróbios e restos necróticos respondem secretando várias citocinas, incluindo o TNF (HEHLGANS; PFEFFER, 2005), IL-1 (DINARELLO, 2005) e quimiocinas (JOHNSTON; BUTCHER, 2002). Outros mediadores como a histamina, trombina e fator ativador de plaquetas (PAF), estimulam a redistribuição da P-selectina de seus estoques intracelulares normais nos grânulos das células endoteliais para a superfície celular (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010). A firme adesão dos leucócitos à parede do endotélio ocorre graças às integrinas, induzidas por TNF- α e IL-1 (HYNES, 2002). Quando os leucócitos fazem diapedese são atraídos ao local da injúria por produtos bacterianos e substâncias endógenas como as quimiocinas (ex. IL-8), componentes do sistema complemento (C5a), metabólitos do ácido araquidônico (AA), principalmente o leucotrieno B₄ (LTB₄) (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010).

Os anti-inflamatórios agem inibindo os metabólitos do ácido araquidônico à ciclo-oxigenase (COX-1 e COX-2), apenas a COX-2 ou, no caso dos corticosteroides, reduzem a transcrição de genes que codificam a COX-2, fosfolipase A₂, citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF) e enzima óxido nítrico sintetase induzida (iNOS) (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010; YAGIELA et al., 2011).

Algumas drogas afetam o mecanismo de recrutamento e migração leucocitária. Agentes que bloqueiam o TNF, uma das principais citocinas no recrutamento dos leucócitos, estão entre os medicamentos mais bem sucedidos para o controle da inflamação crônica, e os antagonistas das integrinas dos leucócitos (p. ex. VLA-4), selectinas e quimiocinas, são aprovados para doenças inflamatórias (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010).

Para garantir o término da resposta inflamatória, existem mecanismos de terminação ativa, que incluem uma mudança no tipo de metabólito do ácido araquidônico produzido, de leucotrienos pró-inflamatórios às lipoxinas anti-inflamatórias; a liberação das citocinas anti-inflamatórias como o fator de crescimento transformador- β (TGF- β) e a IL-10 de macrófagos e outras células; a produção de mediadores lipídicos anti-inflamatórios, chamados resolvins e protectinas, derivados de ácidos graxos poli-insaturados (SERHAN; SAVILL, 2005; (SERHAN; CHIANG; VAN DYKE, 2008), e impulsos neurais que inibem a produção

de TNF em macrófagos (TRACEY, 2002). O óxido nitroso (NO) tem ações duplas na inflamação: relaxa o músculo liso e, promove vasodilatação, mas também pode ser um inibidor do componente celular das respostas inflamatórias (LAROUX et al., 2001). O NO reduz a agregação plaquetária, inibe várias características da inflamação induzida pelos mastócitos e inibe o recrutamento de leucócitos, comportando-se como um mecanismo endógeno de limitação da inflamação (CUMAR; ABAS; FAUSTO, 2010).

2.2 MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA

Muitas teorias tentam explicar a origem da movimentação dentária após a aplicação de força sobre o dente (KRISHNAN; DAVIDOVITCH, 2006; MEIKLE, 2006). Entre elas, as mais importantes são a teoria da pressão-tensão (SCHWARZ, 1932), a teoria da bioeletricidade (BASSETT; BECKER, 1962) e a interação de ambas (MOSTAFA; WEAKS-DYBVIG; OSDOBY, 1983; PROFFIT, 2001).

Mostafa (1983), propôs um modelo hipotético, com explicações integrando as duas teorias para a movimentação dentária. Na primeira opção, a força ortodôntica cria um vetor de pressão-tensão, fazendo com que o osso se deflexione, gerando uma polarização tecidual bioelétrica, e subsequente remodelação óssea. Com a evidência da síntese de prostaglandinas (PGL) e com a estimulação de sinais elétricos, este fenômeno, juntamente com a polarização elétrica da membrana, age na superfície celular via nucleotídeo cíclico, gerando alterações nos níveis intracelulares dos segundos mensageiros. Este efeito, por sua vez, leva a modificações na proliferação, diferenciação e ativação celular (MOSTAFA; WEAKS-DYBVIG; OSDOBY, 1983). Esta via também descreve a direção e controle do movimento dentário com a ajuda de cargas diferentes formadas nos lados côncavo e convexo do osso deflexionado. A matriz com carga polarizada – em áreas eletricamente neutras ou positivas – promove atividade osteoclástica, enquanto que a eletronegatividade sustentada pela atividade osteoblástica pode trocar a polarização da membrana celular, levando a alterações nos níveis de adenosina 3',5' monofosfato cíclico (cAMP) (MOSTAFA; WEAKS-DYBVIG; OSDOBY, 1983).

A segunda via proposta por Mostafa (1983), supõe que após a força ser aplicada, ocorre um aumento da permeabilidade vascular e infiltração celular,

desencadeando um processo inflamatório envolvendo os tecidos periodontais. Linfócitos, monócitos, e macrófagos invadem estes tecidos, aumentando a liberação de prostaglandinas e a secreção de enzimas hidrolíticas. A elevação local das prostaglandinas e o subsequente aumento nas concentrações de cAMP aumentam a atividade osteoclástica. As enzimas hidrolíticas secretadas, como as collagenases, dissolvem a matriz extracelular mecanicamente pressionada (MOSTAFA; WEAKS-DYBVIG; OSDOBY, 1983).

Desta forma, fica proposto que independente da teoria seguida, o resultado final é uma resposta inflamatória, que gera a movimentação dentária e, quando desprotegida a camada de cemento da raiz, a reabsorção óssea.

Em relação à força que deve ser aplicada sobre o dente, estudos experimentais trabalham sobre a hipótese de existir uma força ótima a qual induz um padrão de movimentação dentária máximo quando o aparelho ortodôntico é instalado (SCHWARZ, 1932). Na verdade esta força difere entre as espécies, e é afetada pela idade, sexo, alterações hormonais, e fatores dietéticos; além disto, um padrão de força ótimo pode variar conforme a área da superfície radicular fazendo com que a pressão na interface dente/osso seja de uma importância clínica primordial (STOREY, 1973).

Em geral, após a aplicação da força o movimento dental ocorre em três fases: a primeira, onde em um rápido movimento o dente invade o espaço do ligamento periodontal; a segunda, quando o movimento ocorre relativamente lento, ou não ocorre, como no caso de forças pesadas; e finalmente, uma fase em que os dentes começam a se mover rapidamente através da lâmina dura alveolar, e ocorre reabsorção óssea frontal (STOREY, 1973). O movimento inicial está diretamente relacionado com a espessura do ligamento periodontal (STOREY, 1973). Durante a segunda fase, também conhecida por fase ativa ou intermediária, ocorre um aumento na quantidade de citocinas, fatores de crescimento e produtos do ácido araquidônico na região de pressão (CONSOLARO, 2012). Em decorrência da liberação de mediadores químicos, associados à lesão tecidual induzida, pode haver aumento da permeabilidade vascular e, formação de exsudato e infiltrado inflamatório (CONSOLARO, 2012). Dependendo da intensidade e da distribuição da força, ocorre a formação de áreas de hialinização, proporcional ao grau de hipóxia causado pela compressão do ligamento periodontal (CONSOLARO, 2012). Na fase final, o movimento resulta da dissipação da força aplicada e, nesta etapa, o estresse

celular e a inflamação, não têm mais estímulos, ocorrendo a redução dos mediadores celulares inflamatórios locais (CONSOLARO, 2012). Estas fases são importantes para a interpretação das pesquisas experimentais, pois a quantificação adequada da movimentação deverá analisar a natureza das alterações teciduais que estão ocorrendo, considerando a anatomia do dente e dos tecidos co-relacionados e, a força aplicada (CONSOLARO, 2012). Portanto, se a medida da distância total que um dente movimentou no final do experimento, for expressa como um padrão semanal, levará a uma falsa interpretação da natureza do processo tissular envolvido (STOREY, 1973).

A influência de alguns fatores na movimentação dentária induzida, vem sendo estudada com a intenção de auxiliar clinicamente na interpretação de resultados e, na tentativa de estimular o movimento dentário. Entre estes fatores, apresentam-se como estimulantes da movimentação dentária: as prostaglandinas (YAMASAKI; MIURA; SUDA, 1980; (YAMASAKI; SHIBATA; FUKUHARA, 1982), a vitamina D (COLLINS; SINCLAIR, 1988; (TAKANO-YAMAMOTO; KAWAKAMI; YAMASHIRO, 1992), a prostaciclina e o tromboxano A₂ (GURTON et al., 2004), a osteocalcina (KOBAYASHI et al., 1998; (HASHIMOTO et al., 2001), o fator nuclear ligante kappa B (KANZAKI et al., 2006), NO (AKIN; GURTON; OLMEZ, 2004), estímulos elétricos externos (DAVIDOVITCH et al., 1980b, 1980a), hormônios como a tiroxina (SHIRAZI; DEHPOUR; JAFARI, 1999) e a laserterapia (KAWASAKI; SHIMIZU, 2000; (DOSHI-MEHTA; BHAD-PATIL, 2012; GENC et al., 2012).

Intervenções para acelerar o movimento dentário ortodôntico, foram estudadas em uma revisão sistemática. Entre elas, a fototerapia com laser de baixa potência, a corticotomia, a corrente elétrica, o campo eletromagnético pulsado e a distração periodontal ou dentoalveolar. Após a avaliação dos trabalhos publicados, os autores concluíram que a fototerapia é segura, mas incapaz de acelerar o movimento dentário ortodôntico; a corticotomia é segura e acelera a movimentação; as evidências atuais não mostram se a corrente elétrica ou os campos eletromagnéticos pulsados são efetivos e; a distração não apresenta resultados convincentes (LONG et al., 2012).

2.3 REABSORÇÃO RADICULAR INFLAMATÓRIA

Entende-se por reabsorção radicular, a destruição de material tecidual da raiz dentária dando lugar à circulação sanguínea e linfática (BECKS; MARSHALL, 1932). Quando relacionada à movimentação dentária induzida (ortodonticamente ou não), possui natureza inflamatória e, portanto, na literatura encontram-se duas nomenclaturas para descrever este mesmo processo reabsortivo: “reabsorção radicular inflamatória” e mais especificamente “reabsorção radicular induzida ortodonticamente”. As duas nomenclaturas serão utilizadas nesta revisão, mantendo-se a forma como foram referenciadas nos trabalhos pesquisados e descritos.

A reabsorção radicular, pode envolver um elemento dentário (simples) ou vários dentes (múltipla) (ANDREASEN, 1985). Se o agente agressor é removido em pouco tempo e a reabsorção envolve apenas cimento, é chamada transitória e, se a agressão persiste, a reabsorção é chamada progressiva (TRONSTAD, 1988).

A movimentação dentária induzida ocorre a partir de um processo inflamatório e, esta inflamação é um componente fundamental para o desenvolvimento da reabsorção radicular (ANDREASEN, 1985, 1988).

Com a inflamação, são liberados mediadores (IL-1, IL-2 e IL-6, TNF- α , PGL), os quais ativam os osteoblastos para que reduzam seu tamanho expondo o osso e facilitando aos clastos iniciarem a sua reabsorção (TAKAHASHI et al., 2008; CONSOLARO, 2012). O pH ácido, a collagenase presente no exudato inflamatório ou liberada pelos osteoblastos e, o osso exposto, funcionam como elementos quimiotáticos para os clastos (TAKAHASHI et al., 2008; CONSOLARO, 2012). A superfície óssea desnuda, é reconhecida e aderida pelos clastos, que juntamente com os osteoblastos e macrófagos, formam as unidades osteorremodeladoras (BMUs), responsáveis pela reabsorção do tecido mineralizado (RODAN; MARTIN, 1981, 1982; CONSOLARO, 2012). Pesquisas sugerem que, a prostaglandina E2 estimula a reabsorção óssea através de um mecanismo que aumenta a produção de cAMP nos osteoblastos (SUZAWA et al., 2000; TAKAHASHI et al., 2008).

O processo de reabsorção radicular se diferencia da reabsorção óssea por haver uma proteção da raiz contra a reabsorção (HAMMARSTROM; LINDSKOG, 1985; (LINDSKOG; BLOMLOF; HAMMARSTROM, 1987; CONSOLARO, 2012). A raiz dentária apresenta uma camada de cementoblastos em toda a sua extensão e

estas células não apresentam receptores para os mediadores estimuladores da reabsorção (LINDSKOG; BLOMLOF; HAMMARSTROM, 1987). Portanto para que a raiz seja reabsorvida ela deve perder a proteção dos cementoblastos, devido a uma ação mecânica, por morte ou migração destas células devido à hipóxia, e ficar exposta à ação dos macrófagos e clastos (CONSOLARO, 2012).

Pesquisando em ratos, Brudvik e Rygh encontraram íntima relação de áreas hialinas com a reabsorção radicular e demonstram um padrão bem definido (BRUDVIK; RYGH, 1993a, 1994, 1995b).

A reabsorção radicular inicia das margens para o centro do tecido necrótico e depois atinge a região central. As primeiras células a migrarem para a área necrótica são os macrófagos, os quais invadem o cimento e pré-cimento pela periferia da zona hialina e são TRAP-negativas. (BRUDVIK; RYGH, 1993a). Os macrófagos, nas primeiras 24h, fagocitam as células mortas e a área hialina, próximas à superfície radicular. Os fibroblastos sofrem degradação pela atividade fagocitária e colagenolítica do pré-cimento perto da zona hialina. Após três dias as camadas de cimento mineralizadas são reabsorvidas pelas células mononucleares (BRUDVIK; RYGH, 1993b).

Em estágios mais tardios, os clastos participam da remoção do tecido radicular (BRUDVIK; RYGH, 1993a), aparecendo com bordas em escova, em pequeno número a partir do quinto dia de aplicação de força (BRUDVIK; RYGH, 1993b, 1994). Para os autores desta pesquisa, enquanto houver tecido necrótico a reabsorção continua, mesmo após a remoção da força (BRUDVIK; RYGH, 1995b).

Ao atingir a superfície da raiz danificada sob a área hialina, depois de ter removido o tecido necrótico, os clastos continuam a retirar a superfície do cimento (BRUDVIK; RYGH, 1994). No entanto, a transição da reabsorção radicular ativa para a reparação, inicia mesmo quando forças leves ainda estão presentes, e se dá pela invasão de células fibroblastos (semelhantes) na periferia do sítio reabsorvido, enquanto os clastos se concentram no centro da lacuna (BRUDVIK; RYGH, 1995a). Após 21 dias, quando a força já foi anulada, ocorre depósito de novo cimento e reinserção de fibras colágenas (BRUDVIK; RYGH, 1995a).

Pesquisas vêm sendo feitas para tentar controlar ou reduzir a reabsorção radicular inflamatória por meio de agentes farmacológicos anti-inflamatórios ou que reduzam a atividade dos clastos.

A doxiciclina, uma tetraciclina, é um antibiótico que tem demonstrado, em pesquisas em animais, reduzir o número de osteoclastos e reabsorções radiculares (MAVRAGANI; BRUDVIK; SELVIG, 2005).

Verna et al (2006), estudaram o efeito dos corticoides nas reabsorções radiculares em ratos, testando uma dose de 8mg/kg/dia durante três e sete dias, representando uso agudo e crônico, respectivamente. O grupo agudo teve maior número de lacunas reabsorvidas do que o grupo crônico e o controle (sem medicação). Os autores atribuem o resultado a uma diferença na atividade osteoblástica (inibida pela droga) e osteoclástica (estimulada ou sem alteração pela droga) no início do tratamento (VERNA et al., 2006).

O efeito dos anti-inflamatórios, não esteroides (aspirina, acetaminofeno, meloxicam e celecoxib) e esteroides (prednisolona), em doses altas e baixas, foi testado em ratos com a intenção de reduzir a reabsorção radicular inflamatória. Nos resultados encontrados, a prednisolona (doses alta e baixa) e o celecoxib (dose alta) demonstraram uma redução da área, volume e profundidade das reabsorções. Os grupos prednisolona (dose alta e baixa) e celecoxib (dose alta e baixa) tiveram a movimentação dentária diminuída. Baseando-se nestes resultados, os autores sugerem que o mecanismo de supressão da reabsorção radicular seja diferente do mecanismo de supressão da movimentação dentária (GONZALES et al., 2009). O uso do ácido acetilsalicílico e do acetaminofeno, foi estudado a curto e longo prazo, para avaliar a sua possível interferência na movimentação dentária induzida e nas reabsorções radiculares associadas, não sendo demonstrado qualquer influência. (MALDONADO, 2009)

Utilizando a administração de flúor sistêmico em ratos, do nascimento até duas, quatro e doze semanas, e induzindo a movimentação dentária na décima semana de vida, pode-se observar uma redução no volume, profundidade e rugosidade das reabsorções radiculares. Apesar disto, não houve diferença entre o grupo controle e os experimentais em relação à área afetada, e ainda houve uma redução da movimentação dentária (GONZALES et al., 2011)

Os bisfosfonatos, são utilizados no período pós-menopausa como auxiliar no tratamento da osteoporose e, sua ação em relação ao movimento dentário e à reabsorção radicular inflamatória, tem sido estudada. Agem inibindo a reabsorção óssea e induzindo os clastos à apoptose (FLANAGAN; CHAMBERS, 1991; ROGERS et al., 2000). Martins-Ortiz et. al. (2004), estudando o uso sistêmico e

contínuo dos bisfosfonatos, encontraram redução da reabsorção radicular sem que a movimentação dentária fosse afetada (MARTINS-ORTIZ, 2004). A reabsorção radicular ortodonticamente induzida apareceu exacerbada nas pesquisas com ratos ovariectomizados simulando pós-menopausa (SIRISOONTORN et al., 2011). Os resultados deste e de outro estudo, mostraram que os bisfosfonatos reduziram o movimento dentário e a reabsorção radicular induzida ortodonticamente (SATO et al., 1991; SIRISOONTORN et al., 2012).

O sistema imune, parece ser capaz de afetar os osteoclastos e consequentemente, regular a reabsorção óssea através de diferentes caminhos, alguns muito importantes, mas indiretos. Um exemplo disto, são a IL-12 e a IL-18, que na resposta inflamatória podem causar uma reabsorção óssea altamente destrutiva. No entanto, estas citocinas bloqueiam potentemente a formação de osteoclastos através da mediação das células T (QUINN; SALEH, 2009). Yoshimatsu et. al. (2012), investigando a ação da IL-12 na movimentação dentária, observaram que injeções locais de IL-12 reduziram esta movimentação bem como a reabsorção radicular e as células TRAP-positivas. Além disto, um maior número de células em apoptose foi registrado no lado de pressão (YOSHIMATSU et al., 2012).

O uso do Ultrassom, foi testado em ratos, nas doses 100 MW/cm² e 150 MW/cm², diariamente, durante 10 dias. Os resultados demonstraram efetividade para a redução de áreas reabsorvidas, redução no número de osteoclastos e de sua atividade (LIU et al., 2012).

2.4 FOTOTERAPIA COM LASER

LASER, é uma abreviatura que significa em Inglês, “Light Amplification of Stimulated Emission of Radiation” e traduzido para o Português, Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação. O laser é uma radiação, que se encontra no espectro de luz que varia do infravermelho ao ultravioleta, passando pelo espectro visível (BRUNERA JUNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991; GENOVESE, 2000).

O laser difere das outras formas de luz devido principalmente a três características: a monocromaticidade, a coerência e a unidirecionalidade. A monocromaticidade, significa que a luz laser é composta de fótons, todos da mesma cor e com o mesmo comprimento de onda sendo, portanto, uma luz pura. Essa

característica é importante devido à absorção seletiva do tecido humano. Coerência, quer dizer que as ondas viajam ordenadamente em relação ao tempo e suas amplitudes são iguais. A coerência mantém-se ao longo do tempo e espaço. Unidirecionalidade ou colimação refere-se ao paralelismo existente entre o feixe e o eixo do tubo que produz este tipo de energia; a luz laser possui divergência angular muito pequena e toda a energia do laser concentra-se precisamente em um ponto focal (BRUNERA JUNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991; GENOVESE, 2000).

Os aparelhos de laser que podem ser utilizados na Ortodontia, para estimulação da movimentação dentária ou redução da sensibilidade pós-ativação, são classificados conforme a sua potência, em baixa potência (LBP), o seu meio ativo, em gasoso e, seu espectro eletromagnético, na faixa do vermelho e infravermelho próximo (MELLO; MELLO, 2001).

Os LBP, também denominados laser mole, laser frio, laser terapêutico ou *soft-laser*, emitem radiações de baixa potência, sem potencial destrutivo, e possuem uma ação fotoquímica de analgesia, anti-inflamatória e de bioestimulação tecidual. Entre os LBP encontram-se: He-Ne e diodo (AsGa e AsGaAl) (BRUNERA JUNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991; GENOVESE, 2000; MELLO; MELLO, 2001).

De acordo com o espectro eletromagnético, os comprimentos de onda dos LBP mais empregados para realizar a fototerapia estão na faixa do vermelho, chamada também de luz visível (de 630 a 700 nanômetros (nm)) e infravermelho próximo (de 700nm a 904nm), que determinará a sua capacidade de penetração nos tecidos. O laser vermelho, por penetrar menos nos tecidos biológicos, é indicado para lesões superficiais, enquanto que o infravermelho, mais penetrante, é o de eleição para atingir os tecidos profundos, como o ósseo e nervoso (BRUNERA JUNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991; GENOVESE, 2000; MELLO; MELLO, 2001).

O mecanismo da ação bioestimuladora do laser, está relacionado com a capacidade da célula em absorver a luz através dos foto-receptores e, transformar esta energia em reação fotoquímica. Portanto, o efeito físico inicial do laser é a absorção da luz por moléculas específicas nos tecidos. Para a molécula foto-receptora de luz participar da foto modulação, ela precisa fazer parte de uma estrutura chave que regula uma via metabólica (KARU, 1999). As enzimas da cadeia respiratória (citocromos), nas mitocôndrias, têm sido identificadas como os primeiros “cromóforos da bioestimulação” (HARRIS, 1991). O citocromo c oxidase é a enzima que catalisa a etapa final da cadeia respiratória da mitocôndria, que é, a

transferência dos elétrons do citocromo c para o oxigênio molecular (KARU et al., 2008). Estes foto-receptores, são estimulados por comprimentos de onda específicos e pesquisas mostram que a mitocôndria estimulada, resulta em energia livre derivada de uma química de oxi-redução, aumentando a síntese de ATP e o consumo de oxigênio (HARRIS, 1991; KARU, 1999). Quando o estado redox da célula é trocado para um estado mais oxidado os efeitos da irradiação são positivos aumentando a viabilidade e o metabolismo celular, se a tendência é para um estado de redução, os efeitos são depressores (KARU, 1999).

A luz é somente um gatilho para algumas alterações no metabolismo celular. A fotoestimulação induz mudanças no citocromo c oxidase e/ou nos componentes flavínicos da cadeia respiratória, na mitocôndria. Este evento, pode por sua vez, causar outra alteração de oxi-redução e, modulações nas reações bioquímicas, através de um sinal de transdução e amplificação do estímulo. Estes sinais levam a um macro efeito fotobiológico, como mudanças nos parâmetros de homeostasia celular (marcados pela síntese de DNA) os quais são usados pelas células eucarióticas para regular a sua proliferação. Este mecanismo de gatilho explica porque são necessárias doses baixas de estimulação (KARU, 1989; KARU, 1999).

A absorção da luz tem o potencial de aumentar o metabolismo celular de um estado deprimido para um nível normal. Um mecanismo limitante provavelmente previne que os níveis metabólicos sejam aumentados muito além do normal. Baseando-se nisto, conclui-se que o tratamento bioestimulador, tem um efeito seletivo sobre as células deficientes e, os tecidos com funcionamento normal não são afetados na mesma intensidade (HARRIS, 1991).

A magnitude do efeito da irradiação é determinada pelo potencial de oxi-redução da célula no momento da irradiação, ou seja, do estado fisiológico da célula (KARU, 1989), independente do espectro eletromagnético utilizado (KARU; ANDREICHUK; RYABYKH, 1993; KARU et al., 2008), mas dependente da absorção de um comprimento de onda específico (KARU, 1999).

O efeito biomodulador, demonstra ser dose-dependente e as células são capazes de serem estimuladas com diferentes densidades de energia, formando o mesmo gráfico em forma de sino, com um pico e curva descendente, em um intervalo amplo de densidades de energia. As células podem ser estimuladas ou não, várias vezes, à medida que a dose vai sendo aumentada, gerando um ciclo (KARU; PYATIBRAT; RYABYKH, 1997). Curiosamente, tem sido bem documentado

que mais de uma função celular (ex. replicação, motilidade e funções secretoras) pode ser influenciada de maneira diferente pela irradiação com o mesmo comprimento de onda, podendo ser alterada ou permanecer igual (KARU, 1999).

Tem sido mostrado um forte componente sistêmico do efeito bioestimulador do laser. A maior parte dos pesquisadores, suspeita que estes efeitos sistêmicos sejam resultados diretos da energia do laser sobre a função do sistema imunológico, assumindo um papel imunodepressor. Esta suspeita, está baseada em trabalhos com cultura celular que mostram o efeito do laser sobre a função linfocitária (MEYERS; JOYCE; COHEN, 1987; OHTA; ABERGEL; UITTO, 1987). Quando o laser ativa o sistema imune ajuda a reduzir a resposta inflamatória (liberação de histamina, prostaglandinas, cininas etc) (HARRIS, 1991).

O efeito biomodulador celular do laser, sobre a resposta inflamatória, interessa para as diversas áreas da Odontologia, inclusive para a Ortodontia, e vem sendo estudado amplamente. Shimizu et. al. (1995), pesquisando in vitro o efeito da fototerapia com laser sobre a PGL E2 e a IL-1 β , provenientes de células do ligamento periodontal distendidas, concluíram que as doses utilizadas (de 10.8 a 36.0 J), causaram inibição da produção da PGL E2 de forma dose-dependente e, inibiram parcialmente a IL-1 β (SHIMIZU et al., 1995). Albertini et. al. (2007), estudaram em ratos a fototerapia à laser, para reduzir a inflamação induzida na região sub-plantar. Concluíram que, o laser com os comprimentos de onda de 660nm e 684nm, aplicado na pata em dose única de 7,5J/cm², após a estimulação da inflamação, inibiu o edema e a migração das células inflamatórias nos tecidos muscular e conjuntivo sub-plantares (ALBERTINI et al., 2007). Estudos observando a ação do laser na redução do mRNA dos mediadores químicos pró-inflamação (TNF- α , IL-1 β , IL-6, citocina TGF- β , e enzima COX-2, demonstraram que o laser de baixa intensidade, com a dose de 7,7J/cm², reduziu nas fases agudas e crônicas os mediadores IL-6, COX-2, e TGF- β . O laser não alterou a IL-1 β e reduziu apenas na fase crônica a expressão do TNF- α (PIRES et al., 2011; (CASALECHI et al., 2012). Pesquisas com fototerapia com diodo emissor de luz (LED) também obtiveram um efeito anti-inflamatório, por inibição da PGL E2 e da COX. (LIM et al., 2007; XAVIER et al., 2010).

A fototerapia com laser na movimentação dentária, vem sendo estudada e apresenta resultados contraditórios. Resultados positivos com um incremento de 20 a 40% na velocidade da movimentação dentária foram encontrados em humanos

(CRUZ et al., 2004; YOUSSEF et al., 2008; SOUSA et al., 2011; DOSHI-MEHTA; BHAD-PATIL, 2012; GENC et al., 2012). Enquanto Limpanichkul et. al. (2006), não demonstraram diferença significativa entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados, concluindo que a dose de 25J/cm², utilizada no trabalho, tenha sido muito baixa para que o laser expressasse qualquer efeito, seja estimulante ou inibitório da movimentação ortodôntica (LIMPANICHKUL et al., 2006). Goulart et. al. (2006) testou duas doses de irradiação a laser e demonstrou um resultado favorável com aumento da movimentação dentária utilizando 5,25J/cm² e desfavorável com atraso na movimentação quando aplicada a dose de 35J/cm² (GOULART et al., 2006).

Em animais, o laser foi capaz de estimular a movimentação dentária, promovendo a proliferação celular e o aumento da matriz colágena com a dose de 642J/cm²/ponto (KAWASAKI; SHIMIZU, 2000; ALTAN et al., 2012). Cossetin (2007) estudando o efeito do laser de baixa intensidade na movimentação dentária em ratos, utilizando a mesma dose, encontrou aumento significativo no número de osteoclastos aos sete dias, mas não em osteoblastos (COSSETIN, 2007). Outros autores não encontraram diferença na movimentação dentária entre o grupo irradiado e o controle (GAMA et al., 2010; MARQUEZAN; BOLOGNESE; ARAUJO, 2010). Seifi et. al. (2007) relataram uma redução na velocidade da movimentação dentária nos grupos irradiados em relação ao controle (SEIFI et al., 2007).

Kim et al. (2010), pesquisaram em cachorros o efeito do laser de baixa potência, com doses de 4.63 - 6.47J/cm², na recidiva de dentes após um movimento de rotação e, observaram que no grupo irradiado a recidiva foi significativamente maior do que nos demais grupos (KIM et al., 2010). Em 2012 os mesmos autores, avaliaram em ratos, o efeito do laser na contenção e recidiva logo após a remoção do aparelho ortodôntico. De acordo com os seus resultados, concluíram que o laser atua de maneira diferente na presença ou ausência da contenção. Quando combinado com a contenção, pode reduzir o período de uso da mesma, enquanto que, quando aplicado sem o uso concomitante da contenção aumentou a taxa de recidiva (KIM et al., 2013).

Estudando o efeito da laserterapia na prevenção da reabsorção radicular após avulsão dentária em ratos, Carvalho et al. (2012), puderam concluir que este tratamento reduziu a ocorrência da reabsorção radicular externa quando comparado aos grupos controles (CARVALHO et al., 2012). Outros autores não encontraram

diferença entre o grupo irradiado e o grupo controle em experimento semelhante (SAITO et al., 2011).

Estudando o efeito do laser na formação de áreas hialinas após a indução do movimento dentário em ratos, concluiu-se que a fototerapia aumentou formação de áreas hialinas no início de experimento, e houve uma redução tardia destas áreas em comparação ao grupo controle não irradiado (HABIB et al., 2012).

Fonseca et al. (2012), estudaram a ação da fototerapia com LED nas reabsorções radiculares inflamatórias em ratos e, concluíram que a fototerapia melhorou a reparação do tecido periodontal, reduziu a inflamação e reduziu as reabsorções radiculares após a aplicação de força ortodôntica (FONSECA et al., 2013).

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Investigar o efeito do laser de baixa potência, com duas densidades de energia diferentes, sobre a reabsorção radicular induzida pela movimentação dentária, em ratos. Considerou-se a seguinte hipótese nula: não há diferença na área reabsorvida, espessura ou extensão da reabsorção radicular entre os grupos controle e experimental.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Esta pesquisa representa um estudo histomorfométrico, para quantificar a reabsorção radicular, decorrente da movimentação dentária, sob a ação da fototerapia com laser, em ratos.

4.2 DESENHO DO ESTUDO

Estudo experimental histomorfométrico com análises descritiva, quantitativa e semi-quantitativa.

4.3 IMPLICAÇÕES ÉTICAS

O projeto de pesquisa recebeu apreciação favorável pelo Comitê de Ética em Pesquisa – Experimentação animal da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo, CEEPA-Proc nº 010/2012. (ANEXO I)

4.4 MATERIAL

4.4.1 AMOSTRA

Foram utilizados 54 ratos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus, albinus*), machos, pesando entre 280g±40g, com 80 dias de vida, procedentes do biotério central da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo. Os animais mostravam-se sadios e em condições satisfatórias para terem seus dentes movimentados. Não houve necessidade do período de aclimação, uma vez que a obtenção dos animais e todo o experimento foram realizados no mesmo ambiente.

Durante o período experimental, os espécimes permaneceram em gaiolas plásticas apropriadas, específicas para esse fim, com locais definidos para a colocação de água e ração, forradas com raspas de madeira (maravalha de pinus), contendo em cada uma até 5 animais. A limpeza das gaiolas foi feita diariamente. As gaiolas foram mantidas em uma sala climatizada com temperatura entre 20° C a 24°C, e com ciclo de luz alternado, 12 horas no claro e 12 horas no escuro.

A alimentação foi fornecida aos animais através de uma dieta padrão constituída por ração moída (Labina, Presence, Brasil) e umedecida com água, e água *ad libitum*.

4.4.1.1 Critérios de exclusão da amostra

Animais mortos que não tiveram condições de superar o efeito do anestésico, animais dos quais a mola ortodôntica caiu e material inadequado devido a problemas no processamento histológico.

4.4.1.2 Modelo experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, grupo experimental, no qual houve irradiação com uma das doses estudadas, com ou sem movimentação e, grupo controle, o qual não foi irradiado, subdividido em subgrupos com e sem movimentação. No total os dois grupos foram distribuídos em doze subgrupos, com quatro espécimes nos subgrupos que não tiveram o dente movimentado e cinco nos demais. Os subgrupos foram identificados pelo grupo a que pertenciam com as seguintes siglas: grupo controle(**C**), grupo experimental (**E**), com movimentação dentária induzida (**MDI**), com a dose da irradiação de laser (**DB** – dose baixa ou **DA** - dose alta) recebida e com o tempo de experimento (**7d** - 7 dias ou **10d** - 10 dias). O quadro 1 define a distribuição dos subgrupos.

Subgrupos	Movimentação	Dose	Tempo	Quantidade
C_7d	sem	sem	7 dias	4
C_10d	sem	sem	10 dias	4
C_MDI_7d	com	sem	7 dias	5
C_MDI_10d	com	sem	10 dias	5
E_DB_7d	sem	baixa	7 dias	4
E_DB_10d	sem	baixa	7 dias	4
E_DA_7d	sem	alta	10 dias	4
E_DA_10d	sem	alta	10 dias	4
E_MDI_DB_7d	com	baixa	7 dias	5
E_MDI_DB_10d	com	baixa	10 dias	5
E_MDI_DA_7d	com	alta	7 dias	5
E_MDI_DA_10d	com	alta	10 dias	5

Quadro 1 – Distribuição dos animais conforme subgrupos, movimentação dentária, doses de laser (baixa = 25J/cm² e alta=580J/cm²), tempo experimental e número de espécimes por subgrupo

4.5 MÉTODOS

4.5.1 MANUSEIO DOS ANIMAIS

4.5.1.1 Anestesia

Todos os procedimentos foram realizados sob anestesia geral e relaxante muscular. Os animais foram anestesiados com a mistura de partes iguais do anestésico cloridrato de quetamina 100mg/ml (Dopalen, Vetbrands, Jacareí, Brasil) e o relaxante muscular cloridrato de xilazina 20mg/ml (Anasedan, Vetbrands, Jacareí, Brasil), aplicados via intramuscular na parte superior da pata traseira (músculo quadríceps), com seringa de insulina descartável de 1cc, na dosagem de 0,1ml/100gramas de peso do animal. Após a anestesia, os animais foram posicionados em uma mesa operatória apropriada para sua estabilização.

4.5.1.2 Preparação prévia

Os ratos foram pesados em uma balança digital (Toledo), contidos em um recipiente plástico (Figura 1-A).

Em seguida, foram identificados dentro de seu grupo com um número desenhado na sua cauda com caneta própria para retroprojeto. Cada grupo foi representado por uma cor diferente. Esta marcação foi inspecionada diariamente e revitalizada sempre que necessário (Figura 1-B).

Após a anestesia, os espécimes foram imobilizados com a boca aberta em uma maca especialmente confeccionada para este fim e, em seguida inspecionado o estado de saúde gengival da região a ser trabalhada (Figura 1-C).

Figura 1 – A) Pesagem dos animais. B) Identificação. C) Imobilização

Após a imobilização, cortaram-se os dentes incisivos inferiores, para que o animal não roesse o dispositivo da movimentação dentária. Nos incisivos superiores foi feita uma canaleta horizontal de retenção, no terço cervical, o mais próximo possível da margem gengival, com o objetivo de proporcionar uma melhor fixação do fio ortodôntico. Para confeccioná-la foi utilizada uma broca diamantada esférica número 1012 (KG – Sorensen, Brasil) em alta rotação e com irrigação abundante (Figura 2). Para que a água não escorresse para a garganta do animal, foi feito um isolamento com gaze na face palatina dos incisivos e foi utilizada constante aspiração com cânula endodôntica.

Figura 2 - A) Incisivos inferiores cortados. B) Canaletas de retenção

4.5.2 MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA

Para a movimentação dentária induzida utilizou-se um modelo idealizado por Heller e Nanda (1979) (HELLER; NANDA, 1979) com as seguintes modificações: o material utilizado na confecção da mola, o comprimento da mola e um acréscimo de resina fotopolimerizável sobre o fio de amarelo. Foi movimentado o primeiro molar superior esquerdo com ancoragem nos dois incisivos do mesmo arco.

Uma mola super-elástica para tração (Sentalloy®, GAC, Nova Iorque, EUA) pré-fabricada, com força pré-programada constante (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004) de 25g, foi instalada entre o primeiro molar superior esquerdo e os incisivos. Para sua fixação utilizou-se fio de amarelo 0,20 mm, o qual foi primeiro inserido entre o primeiro e o segundo molar, abaixo do ponto de contato. A inserção foi realizada da face palatina para a face vestibular, no sentido méso-distal, acompanhando a anatomia da coroa destes dentes, com o auxílio de um porta-agulhas Mathieu, de uma pinça clínica e de afastadores adaptados para a boca do rato (Figura 3). Após a inserção do fio no espaço interproximal, ele foi adaptado ao contorno da coroa do primeiro molar e, a argola da mola presa a ele, torcendo-o até a completa fixação. Depois, o fio em excesso foi cortado e sua ponta dobrada para que não ferisse a mucosa. Tendo sido fixado este lado da mola, um fio de amarelo do mesmo calibre foi passado na argola da outra extremidade e posicionado em

torno de ambos os incisivos, tensionando a mola por 5 mm. Considerou-se que a força se mantém constante de 3 a 8mm de abertura (DREVENSEK et al., 2006).

Em seguida, foi aplicada resina ortodôntica fotopolimerizável sobre os fios amarrados nos dentes incisivos e molares para aumentar a retenção do dispositivo. A aplicação da resina foi feita seguindo os passos normais da técnica adesiva, conforme indicação do fabricante. As camadas de resina foram aplicadas até que todo o fio estivesse recoberto, nas faces vestibular, palatina e incisal dos incisivos, sem atingir a oclusal dos molares para evitar trauma por contato.

Figura 3 - A) inserção do fio de amarelo através do ponto de contato. B) Fixação da mola no primeiro molar

Estando pronta a montagem do dispositivo para a movimentação dentária, o grupo experimental recebeu a aplicação de laser.

4.5.3 FOTOTERAPIA COM LASER

Para a aplicação do laser semiconductor AsGaAl (Whitening Lase II – DMC, São Carlos - SP) (Figura 4), houve calibragem para o comprimento de onda de 808nm (laser infravermelho), regime de emissão contínuo, com potência de saída de 100mW, diâmetro da fibra óptica de 0,6mm. As densidades de energia testadas foram, para dose baixa 25J/cm² e, para dose alta 580J/cm². A irradiação foi realizada pelo método puntual, com contato, em três pontos de aplicação, sendo que na dose

alta cada ponto foi irradiado duas vezes (Quadro 2). A frequência adotada foi de três irradiações, repetidas com intervalo de 48 horas, iniciando no dia da instalação da mola ortodôntica (COSSETIN, 2007).

Para a irradiação, os espécimes foram anestesiados com a mesma prescrição usada na instalação do dispositivo para a movimentação dentária. Os pontos selecionados foram a gengiva das faces vestibular, palatina e mesial do primeiro molar superior esquerdo. Devido ao posicionamento da mola ser na face mesial do dente, a aplicação de laser neste ponto teve que ser no lado palatino da mola, pressionando-a levemente para a face vestibular (Figuras 4B, 5A e 5B).

Figura 4 - A) Aparelho de laser utilizado. B) Irradiação na face vestibular

Figura 5 – A) Irradiação na face palatina. B) Irradiação na face mesial

Parâmetros de irradiação	Valores
Frequência	Três irradiações com intervalo de 48h entre elas, iniciando no dia de instalação da mola
Densidade de Energia (DE) - fluência	Dose alta = 580J/cm ² Dose baixa = 25J/cm ²
Energia total	Dose alta = 96J Dose baixa = 2,1J
Potência	100mW
Comprimento de Onda	808nm
Cor	Invisível (Infra Vermelho - IV)
Regime de emissão	Contínuo
Diâmetro da fibra óptica	0,6mm
Distância da mucosa	Em contato / método puntual
Tempo	Dose alta = 2'43" por ponto (x6) Dose baixa = 7" por ponto (x3)

Quadro 2 - Protocolo de irradiação

4.5.4 EUTANÁSIA

Os animais foram eutanasiados aos sete ou dez dias após a instalação da mola ortodôntica, conforme o grupo ao qual pertenciam, com uma sobre dose de anestésico.

No dia do sacrifício, todos os espécimes foram pesados para verificar se não houve perda excessiva de peso devido ao dispositivo de movimentação.

4.5.5 PROCESSAMENTO DOS ESPÉCIMES

Em seguida, os animais foram decapitados e suas cabeças dissecadas, removendo-se os tecidos moles circunjacentes à maxila. As maxilas foram fixadas em formol a 10% tamponado durante 48 horas. Após fixação, as peças foram descalcificadas com EDTA (0,05M; pH7,4) por aproximadamente 60 dias. A descalcificação foi considerada satisfatória, quando a inserção de uma agulha de insulina penetrava nos tecidos duros, sem resistência, e um som surdo era obtido após as peças caírem sobre a mesa de inox.

As hemiarcadas maxilares esquerdas foram clivadas, as amostras incluídas em parafina e seccionadas em micrótomo rotativo na espessura de 6 micrometros

(μm) no sentido transversal até o ponto cervical em que as raízes começavam a se separar (FRACALOSSI et al., 2009). A partir deste ponto, foram feitos 8 cortes. Depois foram coradas pela técnica de Hematoxilina-eosina de Harris e Lison (HE).

4.5.6 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA QUANTITATIVA

As imagens microscópicas foram obtidas em microscópio binocular Olympus BX50, com objetiva de 20 vezes de aumento. As lâminas foram fotografadas com câmera digital Nikon acoplada ao computador. A análise das imagens foi cega e realizada por uma examinadora calibrada e experiente, utilizando o software ImageJ 1.45s para a histomorfometria (FRACALOSSI et al., 2009). A raiz analisada foi a distovestibular (DV), por ser a raiz que apresenta reabsorções radiculares com maior frequência (MARTINS-ORTIZ, 2004; (FRACALOSSI et al., 2009; SANTAMARIA JR, 2009). Foi analisado o corte que apresentou o fenômeno tecidual mais representativo e melhor qualidade do material. A unidade utilizada nas mensurações foi o micrometro.

4.5.6.1 MENSURAÇÕES ATRAVÉS DO SOFTWARE IMAGEJ 1.45s

As medidas aferidas no software ImageJ 1.45s foram registradas em uma tabela do programa Excel (Microsoft) e os cálculos necessários para se obter os valores analisados foram feitos pelo mesmo programa.

DIMENSÃO RADICULAR

Através do emprego do programa ImageJ, determinou-se o maior perímetro radicular, desenhando-se uma linha coincidente ao **limite mais externo do cimento**. Nas áreas onde existia reabsorção radicular, o contorno foi feito subjetivamente por uma **linha imaginária que dava continuidade à forma da raiz** (Figura 6). Após a delimitação da raiz, o programa gerou a área total da raiz, incluindo a câmara pulpar, e o perímetro da raiz. Para utilizarmos a real área da raiz, a área da câmara pulpar foi subtraída da área da raiz radicular.

Figura 6 – Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando a área da raiz. 200X. HE

ÁREA DA CÂMARA PULPAR

A área da câmara pulpar foi quantificada para subtraí-la da área total da raiz, obtendo a real área radicular, sem câmara pulpar, e posteriormente quantificar a proporção da raiz reabsorvida. Para isto foi realizado o contorno da câmara pulpar passando pelo **limite interno da dentina** (Figura 7).

Figura 7- Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando a área da câmara pulpar. 200X. HE

ÁREA RADICULAR REABSORVIDA

Para quantificarmos a reabsorção, foi desenhada uma linha delimitando a raiz no limite cementário, incluindo no contorno **o limite interno da área reabsorvida** (Figura 8). A área da câmara pulpar foi subtraída da área da raiz com reabsorção e o valor resultante foi subtraído da área real da raiz para obtermos a área reabsorvida total. A **porcentagem de raiz reabsorvida** também foi obtida em relação à área real da raiz.

Figura 8 –Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando o contorno da área radicular reabsorvida. 200X. HE

ESPESSURA DA RAIZ

A espessura da raiz foi medida na região onde a reabsorção se apresentava mais espessa. Para isto, foi traçada uma linha reta a partir de um **ponto no contorno radicular imaginário** até o **contorno interno da dentina**, passando pelo centro da câmara pulpar (Figura 9-A).

ESPESSURA DA REABSORÇÃO

Para medir a espessura da reabsorção, utilizou-se a mesma linha que se mediu a espessura da raiz, **deslocando-a até o ponto mais profundo da reabsorção**. O valor obtido deste ponto ao ponto no contorno imaginário da raiz radicular foi registrado como a espessura da reabsorção e a **proporcionalidade foi calculada em relação à espessura da raiz** (Fig. 9-B).

Figura 9 – Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando as medidas da espessura da raiz (A) e da reabsorção (B), sobre uma linha guia imaginária que inicia no centro da câmara pulpar até um ponto da linha virtual, no contorno externo da raiz, passando pela região de reabsorção mais espessa. 200X. HE

EXTENSÃO DA REABSORÇÃO

Foi medida a extensão sobre o contorno radicular de todos os sítios reabsorvidos e somados, obtendo um valor único para a extensão da reabsorção. A extensão foi marcada com uma linha **reta**, unindo dois pontos situados **nos extremos** do sítio reabsorvido, podendo estar no contorno externo ou interno da reabsorção (Figura 10). Foi realizado um cálculo de **proporcionalidade deste valor em relação ao perímetro total da raiz**.

Figura 10 – Fotomicrografia de um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D. Representando a extensão da reabsorção. 200X. HE

PRESENÇA DE CLASTOS

O número de clastos em contato ou próximo à reabsorção foi registrado.

4.5.6.2 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA

FASE EVOLUTIVA

A reabsorção foi classificada com os seguintes escores:

- **0** raiz preservada;
- **1** raiz reparada, quando uma camada de cemento estava recobrindo a área reabsorvida;
- **2** reabsorção paralisada, quando não haviam clastos presentes;
- **3** reabsorção ativa, quando haviam clastos em contato com a raiz.

ESPESSURA DA REABSORÇÃO

A espessura da raiz foi dividida em quatro partes e a espessura da reabsorção foi classificada com o seguinte escore:

- **0** quando não havia reabsorção
- **1** quando atingia até $\frac{1}{4}$ da espessura radicular;
- **2** de $\frac{1}{4}$ a $\frac{2}{4}$ da espessura radicular;
- **3** de $\frac{2}{4}$ a $\frac{3}{4}$ da espessura radicular e;
- **4** atingia $\frac{3}{4}$ ou mais da espessura radicular.

EXTENSÃO DA REABSORÇÃO

O perímetro da raiz foi dividido em quatro partes e a extensão foi classificada com o seguinte escore:

- **0** quando não havia reabsorção;
- **1** quando atingia até $\frac{1}{4}$ do perímetro;
- **2** de $\frac{1}{4}$ a $\frac{2}{4}$ do perímetro;
- **3** de $\frac{2}{4}$ a $\frac{3}{4}$ do perímetro e;
- **4** atingia $\frac{3}{4}$ ou mais do perímetro.

4.5.6.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do teste Análise de Variância a Três Critérios (ANOVA a Três Critérios), comparando-se todos os subgrupos em relação a cada critério avaliado separadamente. Para a detecção da variável que gerou a diferença estatística, foi aplicado o teste de Tukey. Adotou-se um nível de significância de 5%.

4.5.6.4 ERRO DO MÉTODO

O índice Kappa foi utilizado para avaliar a acurácia do avaliador nos dados semi-quantitativos.

Para o cálculo do erro casual e sistemático foi aplicada a fórmula de Dahlberg e o teste *t* pareado respectivamente (HOUSTON, 1983).

Os testes foram realizados em 30% da amostra escolhida aleatoriamente, em duas medições feitas com um intervalo de 30 dias entre elas.

RESUMINDO TODOS OS CRITÉRIOS ANALISADOS

- 1- Total da área radicular reabsorvida
 - 2- Porcentagem da raiz reabsorvida
 - 3- Extensão total reabsorvida
 - 4- Porcentagem da extensão reabsorvida em relação ao perímetro da raiz
 - 5- Espessura da área reabsorção
 - 6- Porcentagem da espessura da raiz reabsorvida
 - 7- Número de clastos relacionados com a área reabsorvida (próximos ou em contato direto com a raiz)
 - 8- Fase evolutiva da reabsorção
 - 9- Espessura da reabsorção por escore
 - 10- Extensão da reabsorção por escore
-

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Conforme os critérios de exclusão desta pesquisa, devido a falhas no processamento, foram afastados da amostra seis espécimes, divididos da seguinte forma: um espécime do subgrupo E_DA_7D, um espécime do subgrupo E_DB_10D, um espécime do subgrupo E_MDI_DA_10D, um espécime do subgrupo E_MDI_DB_7D, dois espécimes do subgrupo E_MDI_DB_10D.

O índice Kappa foi utilizado para avaliar a acurácia do avaliador nos dados semi-quantitativos obtendo índice “1” com 100% de concordância, revelando alta confiabilidade.

Os testes realizados para o cálculo do erro mostraram confiabilidade da técnica utilizada e calibração do examinador. Na Tabela 1 estão os resultados dos erros causal e sistemático, intraexaminador, para a porcentagem da área da raiz reabsorvida, a porcentagem da espessura da raiz reabsorvida, a porcentagem da extensão da raiz reabsorvida, número de clastos, fase evolutiva da reabsorção, extensão reabsorvida por escore e espessura reabsorvida por escore.

Tabela 1 – Cálculo do erro do método. Média, Desvio-padrão (DP) das duas medições, teste *t* pareado (P) e erro de Dahlberg (Erro)

Critérios analisados	Medição 1		Medição 2		*p	Erro
	Média	DP	Média	DP		
Porcentagem da área da raiz reabsorvida (%)	0,97	1,93	0,93	1,70	0,715	0,31
Porcentagem da espessura da raiz reabsorvida (%)	13,85	22,73	13,18	22,36	0,250	1,96
Porcentagem da extensão da raiz reabsorvida (%)	2,85	4,97	2,95	5,01	0,387	0,42
Número de clastos	1,0	2,86	0,96	2,68	0,328	0,14
Fase evolutiva por escore	1,08	1,35	1,08	1,35	1	0,0
Espessura da reabsorção por escore	0,67	1,0	0,67	1,0	1	0,0
Extensão da reabsorção por escore	0,41	0,50	0,41	0,50	1	0,0

*Estatisticamente significativa para $P < 0,05$.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos quando comparada a relação final e inicial do peso dos animais durante o período experimental (Tabela 2). Apesar disto, alguns espécimes sofreram redução aceitável do peso (Tabela 3).

Tabela 2 – Diferença do peso final e inicial entre os subgrupos. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP (g)	N
controle	sem	7 dias	14,8 ± 7,6 ^a	4
controle	sem	10 dias	10,5 ± 12,0 ^a	4
controle	com	7 dias	10,6 ± 25,0 ^a	5
controle	com	10 dias	6,6 ± 10,0 ^a	5
baixa	sem	7 dias	12,3 ± 6,2 ^a	4
baixa	sem	10 dias	19,0 ± 3,6 ^a	3
baixa	com	7 dias	12,5 ± 28,3 ^a	4
baixa	com	10 dias	-3,0 ± 8,9 ^a	3
alta	sem	7 dias	5,7 ± 9,6 ^a	3
alta	sem	10 dias	7,5 ± 10,9 ^a	4
alta	com	7 dias	-17,8 ± 36,9 ^a	5
alta	com	10 dias	-4,0 ± 8,7 ^a	4

*Estatisticamente significante para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante.

Tabela 3 - Número de espécimes que perderam peso na fase experimental em cada subgrupo

Grupos	7 DIAS						10 DIAS					
	SEM MDI			COM MDI			SEM MDI			COM MDI		
	S/L	DA	DB	S/L	DA	DB	S/L	DA	DB	S/L	DA	DB
Controle	0:4			1:5			1:4			1:5		
Experimental	1:3 0:4			3:5 3:4			0:4 0:3			3:4 2:3		

MDI – movimentação dentária induzida, S/L – sem laser, DA – irradiado com dose alta, DB – irradiado com dose baixa.

A reabsorção radicular esteve presente no grupo controle nos subgrupos C_10D em um espécime, C_MDI_7D e C_MDI_10D em três espécimes de cada. Nos demais subgrupos deste grupo não houve ocorrência de reabsorção radicular.

No grupo experimental, houve processo reabsortivo nos subgrupos E_DB_7D em um espécime, E_MDI_DA_7D em dois espécimes, E_MDI_DA_10D em quatro espécimes, em três espécimes do subgrupo E_MDI_DB_7D e em dois espécimes do subgrupo E_MDI_DB_10D. Nos demais subgrupos não houve reabsorção radicular (Tabela 4).

Tabela 4 - Número de espécimes que sofreram reabsorção proporcionalmente ao o número de animais estudados em cada subgrupo

	7 DIAS						10 DIAS					
	SEM MDI			COM MDI			SEM MDI			COM MDI		
	S/L	DA	DB	S/L	DA	DB	S/L	DA	DB	S/L	DA	DB
Controle	0:4			3:5			1:4			3:5		
Experimental		0:3	1:4		2:5	3:4		0:4	0:3		4:4	2:3

MDI – movimentação dentária induzida, S/L – sem laser, DA – irradiado com dose alta, DB – irradiado com dose baixa.

Para melhor compreensão os resultados foram divididos em análise descritiva, análise histomorfométrica quantitativa e análise semi-quantitativa.

5.1 ANÁLISE DESCRITIVA

As figuras 11 e 12 representam um espécime de cada subgrupo estudado.

Comparando-se os subgrupos sem movimentação, com sete ou dez dias, dose alta, dose baixa e sem irradiação, a laserterapia foi inócua às raízes, não causando dano; não houve diferença estatística ou mesmo descritiva entre os grupos em relação à todos os critérios estudados.

Entre os subgrupos com movimentação, a presença da área hialina pareceu ser menos extensa aos sete dias e maior aos dez dias no grupo controle do que no experimental. No lado tracionado, os feixes de fibras colágenas, apareceram

distendidos nos subgrupos dos dois períodos experimentais e sem distinção, entre o grupo controle e o experimental.

GRUPO CONTROLE

Nos subgrupos sem movimentação dentária induzida as raízes apresentaram-se preservadas com duas exceções. No subgrupo controle de sete dias, um animal apresentou comunicação pulpar com o tecido ligamentar, em região com provável canal acessório. No subgrupo controle de dez dias, um animal apresentou duas áreas reabsorvidas, uma envolvendo apenas cimento e preenchida por células mononucleares semelhantes à fibroblastos e outra em dentina preenchida por fibras colágenas.

Nos subgrupos com movimentação dentária induzida, foi observada zona de compressão ligamentar, áreas hialinas discretas aos sete dias e mais extensas aos 10 dias, reabsorção cementária superficial com fibroblastos preenchendo os espaços. Quatro espécimes, dois de cada subgrupo não apresentaram sinais de reabsorção, apenas áreas extensas de hialinização. Em alguns espécimes, foi observada a presença de lacunas de Howship, sítios de reabsorção mais profundos, se estendendo à dentina, com a presença de clastos associados à lesão. Congestão pulpar e elementos vasculares circundantes estiveram presentes em todas as amostras destes subgrupos.

GRUPO EXPERIMENTAL

Nos subgrupos sem movimentação, as raízes apresentaram-se preservadas. Houve ocorrência de calcificação pulpar em um espécime.

Nos subgrupos com movimentação dentária induzida, foi observada compressão ligamentar, áreas hialinas, reabsorção superficial, reabsorção profunda envolvendo dentina, presença de clastos em contato com a raiz, células mononucleadas preenchendo os espaços e nenhuma área de reparação por cementoblastos. No subgrupo que recebeu dose alta e foi movimentado por sete dias formaram grandes áreas hialinas e lesões de reabsorção superficiais, enquanto que no subgrupo movimentado por 10 dias com a mesma dosimetria as lesões de reabsorções eram espessas, extensas e com a presença de elevado número de

clastos, tendo uma resolução adiantada da região hialina. Com a dosimetria mais baixa aos sete dias as áreas hialinas apareceram discretamente menores do que com dose alta e as reabsorções se mantiveram superficiais. Quando comparada com a mesma dosimetria aos dez dias de experimento, este aparentou ter uma área reabsorvida discretamente mais extensa do que aquele, mas também superficial. Congestão pulpar e elementos vasculares circundantes estiveram presentes em todos os espécimes destes subgrupos.

Figura 11 – Fotomicrografias de um espécime de cada subgrupo do período experimental de sete dias. A - Grupo controle sem movimentação. B – Grupo controle com movimentação. C - Grupo experimental, sem movimentação, dose alta. D – Grupo experimental, sem movimentação, dose baixa. E – Grupo experimental, com movimentação, dose alta. F – Grupo experimental, com movimentação, dose baixa. 200X. HE

Figura 12 – Fotomicrografias de um espécime de cada subgrupo do período experimental de dez dias. A - Grupo controle sem movimentação. B – Grupo controle com movimentação. C - Grupo experimental, sem movimentação, dose alta. D – Grupo experimental, sem movimentação, dose baixa. E – Grupo experimental, com movimentação, dose alta. F – Grupo experimental, com movimentação, dose baixa. 200X. HE

5.2 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA QUANTITATIVA

O subgrupo E_MDI_DA_10D demonstrou ter valores mais elevados estatisticamente significante nos critérios: extensão da área reabsorvida, porcentagem da extensão e da área total da raiz reabsorvida e, número de clastos conforme Tabelas 5, 6, 7 e 8.

Nos demais critérios analisados não houve diferença estatística significante (Tabelas 9, 10 e 11).

Tabela 5 - Extensão da área reabsorvida. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios seguida de Tukey

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP (µm)	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	13,5 ± 27,0 ^a	4
controle	com	7 dias	78,1 ± 73,8 ^{ab}	5
controle	com	10 dias	108,5 ± 145,6 ^{ab}	5
baixa	sem	7 dias	12,9 ± 25,8 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	104,9 ± 108,3 ^{ab}	4
baixa	com	10 dias	139,7 ± 155,0 ^{ab}	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	15,9 ± 29,7 ^a	5
alta	com	10 dias	243,6 ± 122,4 ^b	4

*Estatisticamente significante para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante.

Tabela 6 - Porcentagem da extensão reabsorvida em relação ao perímetro da raiz. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios seguida de Tukey

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP (%)	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	0,7 ± 1,4 ^a	4
controle	com	7 dias	4,1 ± 3,9 ^{ab}	5
controle	com	10 dias	5,6 ± 7,4 ^{ab}	5
baixa	sem	7 dias	0,7 ± 1,4 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	5,6 ± 6,2 ^{ab}	4
baixa	com	10 dias	7,8 ± 9,0 ^{ab}	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	0,8 ± 1,5 ^a	5
alta	com	10 dias	14,3 ± 6,9 ^b	4

*Estatisticamente significativa para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa.

Tabela 7 - Porcentagem da área total da raiz reabsorvida. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios seguida de Tukey

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP (%)	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	0,1 ± 0,2 ^a	4
controle	com	7 dias	0,6 ± 0,7 ^{ab}	5
controle	com	10 dias	2,9 ± 3,5 ^{ab}	5
baixa	sem	7 dias	0,02 ± 0,05 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^{ab}	3
baixa	com	7 dias	1,6 ± 1,6 ^{ab}	4
baixa	com	10 dias	2,1 ± 1,9 ^{ab}	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^{ab}	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	0,2 ± 0,4 ^a	5
alta	com	10 dias	3,9 ± 1,8 ^b	4

*Estatisticamente significativa para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa.

Tabela 8 - Número de clastos próximos à área reabsorvida. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios seguida de Tukey

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	com	7 dias	0,6 ± 0,9 ^a	5
controle	com	10 dias	2,0 ± 2,5 ^{ab}	5
baixa	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	1,0 ± 0,8 ^{ab}	4
baixa	com	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	0,4 ± 0,5 ^a	5
alta	com	10 dias	5,3 ± 5,3 ^b	4

*Estatisticamente significativa para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa.

Tabela 9 - Espessura da área reabsorvida. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP (µm)	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	5,3 ± 10,6 ^a	4
controle	com	7 dias	30,3 ± 28,3 ^a	5
controle	com	10 dias	35,8 ± 42,3 ^a	5
baixa	sem	7 dias	5,0 ± 10,0 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	25,4 ± 17,8 ^a	4
baixa	com	10 dias	36 ± 41,7 ^a	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	5,3 ± 7,8 ^a	5
alta	com	10 dias	43,8 ± 8,5 ^a	4

*Estatisticamente significativa para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa.

Tabela 10 - Porcentagem da espessura da raiz reabsorvida. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± Desvio padrão (%)	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	6,1 ± 12,2 ^a	4
controle	com	7 dias	26,3 ± 30,5 ^a	5
controle	com	10 dias	30,8 ± 37,9 ^a	5
baixa	sem	7 dias	3,3 ± 6,6 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	17,4 ± 12,3 ^a	4
baixa	com	10 dias	25,3 ± 28,1 ^a	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	3,6 ± 5,1 ^a	5
alta	com	10 dias	39,7 ± 9,5 ^a	4

*Estatisticamente significante para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante.

Tabela 11 - Área total reabsorvida. Média, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± Desvio padrão (µm²)	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	172,1 ± 344,2 ^a	4
controle	com	7 dias	1618,4 ± 1876,1 ^a	5
controle	com	10 dias	6349,3 ± 8196,2 ^a	5
baixa	sem	7 dias	49,9 ± 99,7 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	3490,1 ± 3174,6 ^a	4
baixa	com	10 dias	4629,0 ± 4461,1 ^a	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	469,7 ± 1012,9 ^a	5
alta	com	10 dias	7212,6 ± 3800,3 ^a	4

*Estatisticamente significante para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante.

5.3 ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA

Quanto à sua fase evolutiva, as raízes foram consideradas preservadas em todos os espécimes dos subgrupos C_7D, E_DA_7D, E_DA_10D, E_DB_10D. O subgrupo C_10D, o qual não foi movimentado e também não recebeu laserterapia apresentou em um espécime reabsorção radicular reparada (escore 1). Igualmente sem movimentação E_DB_7D, recebeu irradiação com dose baixa de laserterapia e apresentou em um espécime reabsorção radicular paralisada (escore 2).

O subgrupo E_MDI_DA_10D demonstrou ter a fase evolutiva das reabsorções mais agressiva do que os subgrupos E_DA_10D e C_7D (Tabela 12).

Avaliando a extensão da reabsorção não houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 13).

Em relação à espessura, o subgrupo E_MDI_DA_10D teve índices mais elevados do que os subgrupos sem movimentação e com movimentação por sete dias e mesma doseimetria (Tabela 14).

Tabela 12 – Fase evolutiva. Média dos escores, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios seguida de Tukey

Dose	Movimentação	Tempo	Média ± DP	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	0,5 ± 1,0 ^{ab}	4
controle	com	7 dias	1,6 ± 1,5 ^{ab}	5
controle	com	10 dias	1,8 ± 1,6 ^{ab}	5
baixa	sem	7 dias	0,5 ± 1,0 ^{ab}	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^{ab}	3
baixa	com	7 dias	2,3 ± 1,5 ^{ab}	4
baixa	com	10 dias	1,3 ± 1,2 ^{ab}	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^{ab}	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	1,2 ± 1,6 ^{ab}	5
alta	com	10 dias	3,0 ± 0,0 ^b	4

*Estatisticamente significante para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significante.

Tabela 13 – Extensão da reabsorção por escore. Média dos escores, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios

Dose	Movimentação	Tempo	Média dos escores ± DP	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	0,3 ± 0,5 ^a	4
controle	com	7 dias	0,6 ± 0,5 ^a	5
controle	com	10 dias	0,6 ± 0,5 ^a	5
baixa	sem	7 dias	0,3 ± 0,5 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	0,8 ± 0,5 ^a	4
baixa	com	10 dias	0,7 ± 0,6 ^a	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	0,4 ± 0,5 ^a	5
alta	com	10 dias	1,0 ± 0,0 ^a	4

*Estatisticamente significativa para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa.

Tabela 14 – Espessura da área reabsorvida por escore. Média dos escores, Desvio-padrão (DP) e Número de espécimes (N). ANOVA a três critérios seguida de Tukey

Dose	Movimentação	Tempo	Média dos escores± Desvio padrão	N
controle	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	4
controle	sem	10 dias	0,3 ± 0,5 ^a	4
controle	com	7 dias	1,0 ± 1,0 ^{ab}	5
controle	com	10 dias	1,4 ± 1,7 ^{ab}	5
baixa	sem	7 dias	0,3 ± 0,5 ^a	4
baixa	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	3
baixa	com	7 dias	1,0 ± 0,6 ^{ab}	4
baixa	com	10 dias	0,7 ± 0,8 ^{ab}	3
alta	sem	7 dias	0,0±0,0 ^a	3
alta	sem	10 dias	0,0±0,0 ^a	4
alta	com	7 dias	0,4 ± 0,5 ^a	5
alta	com	10 dias	2,3 ± 0,5 ^b	4

*Estatisticamente significativa para P<0,05.

Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa.

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

Embora a fototerapia venha sendo utilizada em diversas áreas da Medicina (CATORZE, 2009), na Odontologia (BRUNERA JUNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991; (GENOVESE, 2000; SAITO et al., 2011) e, mais especificamente na área de Ortodontia, sua utilização é recente e restrita (NEVES et al., 2005; GENOVESE; OLIVI, 2010).

As pesquisas envolvendo movimentação dentária induzida, deixam dúvidas quanto à melhor dose, comprimento de onda e frequência a serem utilizadas. Nenhum trabalho avaliando o efeito do laser nas reabsorções radiculares inflamatórias, com origem na movimentação dentária, foi encontrado nesta revisão de literatura. Consequentemente, a escolha da dosimetria utilizada neste estudo foi aleatória, baseada em resultados obtidos em pesquisas sobre movimentação dentária em animais e humanos. Optou-se por testar uma dose mais baixa e uma dose mais alta do que as aplicadas, em ratos, em pesquisas anteriores (KAWASAKI; SHIMIZU, 2000; COSSETIN, 2007; ALTAN et al., 2012), a fim de conhecer a implicação que teria, se estimulante ou inibitório. Já a frequência de 48 horas de intervalo entre as irradiações foi adotada por permitir um período para o efeito em cadeia do laser cessar, as células voltarem a se estressarem, e ficarem passíveis de uma nova estimulação, além disto, este intervalo já foi utilizado anteriormente por outros autores (COSSETIN, 2007; YOUSSEF et al., 2008; GAMA et al., 2010; GENC et al., 2012).

Segundo Ren (2004), a força aplicada de 25 gramas, ultrapassa a força ideal para a movimentação do molar do rato (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004), o que a torna ideal para o estudo de reabsorção radicular, e ainda mantém-se fisiologicamente aceitável, como demonstrado na literatura (DREVENSEK et al., 2006; COSSETIN, 2007). A mola de secção fechada, super-elástica, pré-calibrada em 25g, utilizada nesta pesquisa foi capaz de liberar uma força constante e, portanto, não permitiu o período de repouso para as células envolvidas, deixando-as supostamente susceptíveis à ação do laser no decorrer de todo o período experimental. Este tipo de mola já é popularmente empregado na clínica ortodôntica, demonstrando ser uma alternativa mais atual para a movimentação dentária do que

as molas de aço ou de níquel-titânio sem força pré-ativada e constante. Além disto, facilitou a padronização da força frente à dificuldade de se manter a calibração em um campo operatório pequeno e de difícil acesso como a cavidade oral do rato. Outros trabalhos publicados anteriormente utilizaram este tipo de mola para a movimentação dentária induzida (REN; MALTHA; KUIJPERS-JAGTMAN, 2004; DREVENSEK et al., 2006; VERNA et al., 2006).

A escolha da raiz disto-vestibular para a análise das reabsorções radiculares, fundamenta-se em pesquisas que demonstraram que neste modelo experimental, esta é a raiz que apresenta maior exuberância nos fenômenos reabsortivos, sobretudo na região cervical, por receber uma carga maior na distribuição da força (MARTINS-ORTIZ, 2004; FRACALOSSI et al., 2009; SANTAMARIA JR, 2009). O corte transversal, de acordo com a literatura, é mais vantajoso do que o longitudinal porque possibilita uma visão de todo o contorno da raiz e, é mais facilmente padronizado durante o preparo histotécnico (FRACALOSSI et al., 2009).

Conforme estudos anteriores, os períodos de sete e dez dias correspondem ao momento de grande atividade das BMUs, com o aparecimento de áreas mais extensas de reabsorções radiculares no sétimo dia e, após o nono dia há uma redução progressiva destes fenômenos, onde as áreas hialinas estão em fase final de fagocitose e desaparecimento e, as áreas de reabsorção óssea e cementárias estão se reorganizando, devido à perda da força da mola (FRACALOSSI et al., 2009; SANTAMARIA, 2009; CONSOLARO, 2012). Basendo-se nestes relatos, foram escolhidos estes dois períodos para a avaliação das reabsorções. Os resultados encontrados foram compatíveis com a literatura em relação à descrição das alterações no periodonto do grupo controle no primeiro período, mas divergente no décimo dia. Nesta pesquisa as áreas hialinas persistiram com grande extensão e os clastos ainda estavam presentes dentro das cavidades reabsorvidas ou próximos a elas. Explica-se esta diferença devido ao fato de ter sido utilizada uma mola com força constante, não havendo o período de repouso necessário para a reestruturação do ligamento periodontal, mantendo a pressão sobre o dente e os eventos correlacionados a ela.

Os grupos experimentais, demonstraram através da análise descritiva, uma área hialina mais extensa aos sete dias do que no grupo controle e, aos dez dias aparentemente tiveram uma melhor resolução da área hialina do que no controle. Mesmo assim, persistindo a presença de clastos e ausência de reorganização

tecidual, com novas camadas odontoblásticas e cementoblásticas. Este resultado concorda com a pesquisa realizada por Habib et. al. (2012) em relação ao período de sete dias (HABIB et al., 2012), vale ressaltar que na mesma pesquisa, a mola utilizada não liberou força constante, a força utilizada foi de 40g e o segundo período analisado foi com 13 dias.

Dentre os resultados encontrados nas análises quantitativas e semi-quantitativas, não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados subgrupos movimentados com o mesmo tempo de experimento e, com irradiação diferente. As diferenças que ocorreram entre os subgrupos movimentados com não movimentados, era esperada por serem conhecidas as alterações microscópicas causadas pela indução da movimentação (SCHWARZ, 1932; STOREY, 1973). Já as diferenças que ocorreram entre os subgrupos movimentados, mas com tempos de experimento diferentes, são justificadas por estudos anteriores, que mostram a evolução das alterações teciduais e sua resolução, após a aplicação da força sobre o dente, com o decorrer do tempo de experimento (SCHWARZ, 1932; STOREY, 1973; (FRACALOSSI et al., 2009; SANTAMARIA JR, 2009; CONSOLARO, 2012).

Apenas um estudo foi encontrado nesta revisão avaliando a fototerapia sobre a reabsorção radicular inflamatória, mas não com Laser e sim com LED (FONSECA et al., 2013). Como a fototerapia com LED e com Laser, apresentam efeitos similares (SMITH, 2005) e, a coerência da luz é uma propriedade que pode gerar benefício apenas tratando-se das camadas de tecido mais profundas (KARU, 2011), estas pesquisas puderam ser comparadas. Fonseca et. al. (2012), estudaram o efeito da fototerapia com LED em ratos Wistar sobre as reabsorções radiculares inflamatórias. Em seu trabalho foi utilizada uma densidade de energia de 4J/cm², nos dias dois, três e quatro, com o sacrifício no sétimo dia da movimentação dentária. A movimentação foi feita com mola de níquel-titânio e força de 50g sobre o primeiro molar superior. Os resultados demonstraram que a fototerapia aumentou o reparo do tecido periodontal e, reduziu a inflamação e a reabsorção radicular, contrariando os resultados do presente estudo. Apesar da metodologia de avaliação das reabsorções radiculares ser distinta e a porcentagem da área total da raiz não ter sido considerada por Fonseca et. al., a diferença encontrada entre estes dois estudos foi devido às diferentes doses e comprimentos de onda utilizados em ambos.

Atualmente é indiscutível que a fototerapia cause modificações no metabolismo celular, mas a forma como atua, ainda está sendo investigada (KARU, 1999). A dificuldade de se encontrar a dose correta para cada terapia está relacionada ao mecanismo de ação do laser. Fazendo-se uma analogia com a farmacologia, deve-se pensar que cada comprimento de onda corresponde a uma droga diferente, e depois de escolhida a droga, é necessário estabelecer a sua dose ótima e, o melhor esquema de tratamento (SMITH, 2005).

Mesmo com o comprimento de onda e a dose apropriados, a fototerapia pode ainda não ser efetiva em todos os sistemas e/ou situações, porque a sua magnitude depende do estado fisiológico da célula no momento da irradiação (KARU, 1989). Também se sabe que dentro de um mesmo comprimento de onda, existe um ciclo onde várias doses diferentes, podem ser estimulantes e outras inibitórias (KARU; PYATIBRAT; RYABYKH, 1997), portanto variações na densidade de potência e no tempo de exposição, condicionam diferentes efeitos nos mesmos tecidos (CATORZE, 2009). Além disto, mais de uma função celular pode ser influenciada de maneira diferente pela irradiação com o mesmo comprimento de onda, isto é, quando uma destas funções celulares, é alterada pela irradiação, as outras permanecem inalteradas (KARU, 1999). Coombe pode comprovar a diferente modulação que a mesma dose do laser causou em diferentes funções dos osteoblastos, *in vitro* (COOMBE et al., 2001).

O efeito do laser sobre a resposta inflamatória no controle de doenças crônicas e na inflamação aguda, tem sido positivo (CASALECHI et al., 2012), controlando o número de células envolvidas neste processo e, reduzindo os mediadores pró-inflamação (ALBERTINI et al., 2007), principalmente a prostaglandina (SHIMIZU et al., 1995). Considerando que, a movimentação dentária necessita do processo inflamatório local para ocorrer e, esta inflamação pode causar a perda de tegumento radicular (ANDREASEN, 1985, 1988) pela ação das células envolvidas na remoção de tecido necrótico e tecido ósseo (BRUDVIK; RYGH, 1994), supõe-se que o mesmo mecanismo que causa aceleração da movimentação dentária induzida, gere uma reabsorção radicular mais intensa e o contrário também seria verdadeiro. Apesar disto, algumas pesquisas confirmam esta premissa (SATO et al., 1991; SIRISOONTORN et al., 2012) e outras mostram que o mecanismo que regula a movimentação dentária pode ser diferente do mecanismo da reabsorção

radicular (MARTINS-ORTIZ, 2004; GONZALES et al., 2009), podendo-se evitar a reabsorção radicular sem retardar a movimentação dos dentes.

Deve-se considerar também, que existe uma proteção natural da raiz contra a ação das BMUs através da camada externa de cementoblastos, a qual se não for danificada, a superfície radicular se mantém livre de lesões reabsortivas durante a movimentação dentária (HAMMARSTROM; LINDSKOG, 1985; LINDSKOG; BLOMLOF; HAMMARSTROM, 1987; CONSOLARO, 2012). Sendo assim, sugere-se que se encontrando um meio de manter os cementoblastos viáveis em seus devidos lugares, ou seja, sem deslocá-los ou danificá-los pela ação da força aplicada sobre o dente, o êxito na prevenção da reabsorção inflamatória durante o tratamento ortodôntico seria atingido. Infelizmente, apenas o controle da força não consegue evitar o dano aos tecidos periodontais, sobretudo o cemento, pois a força aplicada sobre a coroa não se distribui ao longo da raiz uniformemente. Se houvesse um fator externo, químico ou físico, que viabilizasse esta proteção dos cementoblastos ou da raiz desnuda poderia ser a alternativa para este objetivo. Com esta intensão, o uso dos bisfosfonatos durante a odontogênese, foi testado por Martins-Ortiz (2004) obtendo êxito na redução da reabsorção radicular. A ação do flúor incorporado à raiz, também foi estudada, mas os autores não encontraram resultado satisfatório (GONZALES et al., 2011).

A ação estimuladora do laser sobre os osteoclastos (KAWASAKI; SHIMIZU, 2000; ALTAN et al., 2012) parece ser contraditória em relação ao processo de reabsorção radicular, pois poderia intensificá-lo, se as células ao removerem a área hialina, com maior velocidade, também retirassem o tecido radicular; mas também teoricamente, poderia reduzi-lo, se a área hialina, associada à manutenção do processo reabsortivo após a remoção da força (BRUDVIK; RYGH, 1995b), fosse eliminada mais rapidamente, favorecendo a movimentação. Também seu efeito sobre os fibroblastos (VINCK et al., 2003), a matriz colágena (HABIB et al., 2010) e a capilarização (ALTAN et al., 2012) no periodonto, supostamente pode ser reparador e acelerar a reinserção de fibras na raiz, reduzindo a área exposta sujeita à ação dos clastos e macrófagos (BRUDVIK; RYGH, 1995a). No entanto, as doses estudadas nesta pesquisa não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos irradiados e controle. A dose baixa, apresenta-se intermediária a outras estudadas anteriormente, as quais obtiveram resultados significantes em relação à estimulação celular e à movimentação dentária em ratos (KAWASAKI;

SHIMIZU, 2000; COSSETIN, 2007; ALTAN et al., 2012; FONSECA et al., 2013). Possivelmente as doses aplicadas no presente estudo foram ineficazes por estarem em um patamar neutro ou pouco modulador para as células em questão.

Para que a fototerapia possa ser utilizada com eficiência na Ortodontia, prevenindo as reabsorções radiculares inflamatórias, o mecanismo de ação do laser sobre esta patologia e, a dosimetria adequada para humanos, ainda precisam ser bem definidos. Portanto, seu uso clínico para este fim ainda não pode ser recomendado, conforme os resultados obtidos nesta pesquisa. Apesar disto, é interessante ressaltar que, o comprimento de onda utilizado demonstrou ser seguro para a movimentação dentária por não causar ou estimular a reabsorção radicular.

Sugere-se que as futuras pesquisas sobre reabsorção, sejam acompanhadas da quantificação da movimentação dentária, pois o ideal seria que dose utilizada para prevenir a reabsorção, não causasse um atraso na movimentação ou, este pudesse ser previsto. Além disto, sugere-se pesquisar um tempo maior de experimento para que seja conhecida a ação da fototerapia no processo de reparação das raízes reabsorvidas, após a remoção da força e, com persistência de regiões hialinas. Recomenda-se também, que se houver interesse em investigar a reparação da reabsorção radicular, seja mais apropriado o emprego de uma mola de aço em substituição à mola super-elástica utilizada na presente pesquisa, por permitir o tempo de repouso necessário para o processo reparador iniciar.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, é válido concluir que, o laser de baixa potência não tem efeito sobre a reabsorção radicular ortodonticamente induzida, nas doses testadas. Sendo assim, foi aceita a hipótese nula de que, não há diferença na área reabsorvida, espessura ou extensão da reabsorção radicular entre os grupos controle e experimental.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- Akin E, Gurton AU, Olmez H. Effects of nitric oxide in orthodontic tooth movement in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2004 Nov;126(5):608-14.
- Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP, et al. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B*. 2007 Nov 12;89(1):50-5.
- Altan BA, Sokucu O, Ozkut MM, Inan S. Metrical and histological investigation of the effects of low-level laser therapy on orthodontic tooth movement. *Lasers Med Sci*. 2012 Jan;27(1):131-40.
- Andreasen JO. External root resorption: its implication in dental traumatology, paedodontics, periodontics, orthodontics and endodontics. *Int Endod J*. 1985 Apr;18(2):109-18.
- Andreasen JO. Review of root resorption systems and models. Etiology of root resorption and the homeostatic mechanisms of the periodontal ligament. In: *Biological mechanisms of tooth eruption and root resorption*: Davidovitch Z.; 1988. p. 293-302.
- Bassett CA, Becker RO. Generation of electric potentials by bone in response to mechanical stress. *Science*. 1962 Sep 28;137(3535):1063-4.
- Becks H, Marshall JA. Resorption or absorption? *J Am Dent Assoc*. 1932 1528-37.
- Brudvik P, Rygh P. The initial phase of orthodontic root resorption incident to local compression of the periodontal ligament. *Eur J Orthod*. 1993a Aug;15(4):249-63.
- Brudvik P, Rygh P. Non-clast cells start orthodontic root resorption in the periphery of hyalinized zones. *Eur J Orthod*. 1993b Dec;15(6):467-80.
- Brudvik P, Rygh P. Root resorption beneath the main hyalinized zone. *Eur J Orthod*. 1994 Aug;16(4):249-63.
-

Brudvik P, Rygh P. The repair of orthodontic root resorption: an ultrastructural study. *Eur J Orthod.* 1995a Jun;17(3):189-98.

Brudvik P, Rygh P. Transition and determinants of orthodontic root resorption-repair sequence. *Eur J Orthod.* 1995b Jun;17(3):177-88.

Brunera Junior A, Villa RG, Genovese WJ. *Laser na Odontologia.* 1 ed. São Paulo: Pancast; 1991.

Carvalho ED, Costa FT, Campos MS, Anbinder AL, Neves AC, Habitante SM, et al. Root surface treatment using diode laser in delayed tooth replantation: radiographic and histomorphometric analyses in rats. *Dent Traumatol.* 2012 Jan 12;28(6):429-36.

Casalechi HL, Leal-Junior EC, Xavier M, Silva JA, Jr., de Carvalho PD, Aimbire F, et al. Low-level laser therapy in experimental model of collagenase-induced tendinitis in rats: effects in acute and chronic inflammatory phases. *Lasers Med Sci.* 2012 Aug 28;

Catorze MG. Laser: fundamentos e indicações em dermatologia. *Med Cutan Iber Lat Am.* 2009 37(1):5-27.

Collins MK, Sinclair PM. The local use of vitamin D to increase the rate of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1988 Oct;94(4):278-84.

Consolaro A. *Reabsorções Dentárias nas Especialidades Clínicas.* 3ed ed. Maringá: Dental Press; 2012. 816 p.

Coombe AR, Ho CT, Darendeliler MA, Hunter N, Philips JR, Chapple CC, et al. The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells. *Clin Orthod Res.* 2001 Feb;4(1):3-14.

Cossetin E. Efeito do laser de baixa potência no padrão da movimentação dentária induzida e nos tecidos co-relacionados em animais [Dissertação]. Natal: Universidade Potiguar; 2007.

Cruz DR, Kohara EK, Ribeiro MS, Wetter NU. Effects of low-intensity laser therapy on the orthodontic movement velocity of human teeth: a preliminary study. *Lasers Surg Med.* 2004 35(2):117-20.

Cumar V, Abas A, Fausto N. Robbins & Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças. 8 ed ed: Elsevier; 2010.

Davidovitch Z, Finkelson MD, Steigman S, Shanfeld JL, Montgomery PC, Korostoff E. Electric currents, bone remodeling, and orthodontic tooth movement. I. The effect of electric currents on periodontal cyclic nucleotides. American journal of orthodontics. 1980a Jan;77(1):14-32.

Davidovitch Z, Finkelson MD, Steigman S, Shanfeld JL, Montgomery PC, Korostoff E. Electric currents, bone remodeling, and orthodontic tooth movement. II. Increase in rate of tooth movement and periodontal cyclic nucleotide levels by combined force and electric current. American journal of orthodontics. 1980b Jan;77(1):33-47.

Dinarello CA. Interleukin-1beta. Crit Care Med. 2005 Dec;33(12 Suppl):S460-2.

Doshi-Mehta G, Bhad-Patil WA. Efficacy of low-intensity laser therapy in reducing treatment time and orthodontic pain: a clinical investigation. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2012 Mar;141(3):289-97.

Drevensek M, Sprogar S, Boras I, Drevensek G. Effects of endothelin antagonist tezosentan on orthodontic tooth movement in rats. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2006 Apr;129(4):555-8.

Flanagan AM, Chambers TJ. Inhibition of bone resorption by bisphosphonates: interactions between bisphosphonates, osteoclasts, and bone. Calcif Tissue Int. 1991 Dec;49(6):407-15.

Fonseca PD, de Lima FM, Higashi DT, Koyama DF, de Oliveira Toginho Filho D, Dias IF, et al. Effects of light emitting diode (LED) therapy at 940 nm on inflammatory root resorption in rats. Lasers Med Sci. 2013 Jan;28(1):49-55.

Fracalossi ACC, Santamaria MJ, Consolaro MFM-O, Consolaro A. Movimentação dentária experimental em murinos: período de observação e plano dos cortes microscópicos. R Dental Press Ortodon Ortop Facial. 2009 14(1):143 - 57.

Gama SK, Habib FA, Monteiro JS, Paraguassu GM, Araujo TM, Cangussu MC, et al. Tooth movement after infrared laser phototherapy: clinical study in rodents. Photomed Laser Surg. 2010 Oct;28 Suppl 2(S79-83).

Genc G, Kocadereli I, Tasar F, Kilinc K, El S, Sarkarati B. Effect of low-level laser therapy (LLLT) on orthodontic tooth movement. *Lasers Med Sci.* Feb 18 2012. ISSN 1435-604X (Electronic) 0268-8921 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22350425> >.

Genovese MD, Olivi G. Use of laser technology in orthodontics: hard and soft tissue laser treatments. *Eur J Paediatr Dent.* 2010 Mar;11(1):44-8.

Genovese WJ. Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em Odontologia. 1 ed. São Paulo: Lovise; 2000.

Gonzales C, Hotokezaka H, Karadeniz EI, Miyazaki T, Kobayashi E, Darendeliler MA, et al. Effects of fluoride intake on orthodontic tooth movement and orthodontically induced root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Feb;139(2):196-205.

Gonzales C, Hotokezaka H, Matsuo K, Shibazaki T, Yozgatian JH, Darendeliler MA, et al. Effects of steroidal and nonsteroidal drugs on tooth movement and root resorption in the rat molar. *Angle Orthod.* 2009 Jul;79(4):715-26.

Goulart CS, Nouer PR, Mouramartins L, Garbin IU, de Fatima Zanirato Lizarelli R. Photoradiation and orthodontic movement: experimental study with canines. *Photomed Laser Surg.* 2006 Apr;24(2):192-6.

Gurton AU, Akin E, Sagdic D, Olmez H. Effects of PGI2 and TxA2 analogs and inhibitors in orthodontic tooth movement. *Angle Orthod.* 2004 Aug;74(4):526-32.

Habib FA, Gama SK, Ramalho LM, Cangussu MC, dos Santos Neto FP, Lacerda JA, et al. Effect of laser phototherapy on the hyalinization following orthodontic tooth movement in rats. *Photomed Laser Surg.* 2012 Mar;30(3):179-85.

Habib FA, Gama SK, Ramalho LM, Cangussu MC, Santos Neto FP, Lacerda JA, et al. Laser-induced alveolar bone changes during orthodontic movement: a histological study on rodents. *Photomed Laser Surg.* 2010 Dec;28(6):823-30.

Hammarstrom L, Lindskog S. General morphological aspects of resorption of teeth and alveolar bone. *Int Endod J.* 1985 Apr;18(2):93-108.

Harris DM. Biomolecular Mechanisms of Laser Biostimulation *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 1991 9 (4):277-80.

Hashimoto F, Kobayashi Y, Matakai S, Kobayashi K, Kato Y, Sakai H. Administration of osteocalcin accelerates orthodontic tooth movement induced by a closed coil spring in rats. *Eur J Orthod*. 2001 Oct;23(5):535-45.

Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology*. 2005 May;115(1):1-20.

Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. *American journal of orthodontics*. 1979 Mar;75(3):239-58.

Houston WJB. The analysis of errors in orthodontic measurements. *American journal of orthodontics*. 1983 83(5):382-90.

Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*. 2002 Sep 20;110(6):673-87.

Johnston B, Butcher EC. Chemokines in rapid leukocyte adhesion triggering and migration. *Semin Immunol*. 2002 Apr;14(2):83-92.

Kanzaki H, Chiba M, Arai K, Takahashi I, Haruyama N, Nishimura M, et al. Local RANKL gene transfer to the periodontal tissue accelerates orthodontic tooth movement. *Gene Ther*. 2006 Apr;13(8):678-85.

Karu T. Laser biostimulation: a photobiological phenomenon. *J Photochem Photobiol B*. 1989 Aug;3(4):638-40.

Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1999 49(1):1-17.

Karu T, Andreichuk T, Ryabykh T. Changes in oxidative metabolism of murine spleen following laser and superluminous diode (660-950 nm) irradiation: effects of cellular composition and radiation parameters. *Lasers Surg Med*. 1993 13(4):453-62.

Karu TI. Light Coherence. Is this Property Important for Photomedicine? 2011 [cited 2012 11/01/2012]. Disponível em: <http://www.photobiology.info/Coherence.html>.

Karu TI, Pyatibrat LV, Kolyakov SF, Afanasyeva NI. Absorption measurements of cell monolayers relevant to mechanisms of laser phototherapy: reduction or oxidation of cytochrome c oxidase under laser radiation at 632.8 nm. *Photomed Laser Surg*. 2008 Dec;26(6):593-9.

Karu TI, Pyatibrat LV, Ryabykh TP. Nonmonotonic behavior of the dose dependence of the radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed laser radiation at $\lambda = 820$ nm. *Lasers Surg Med*. 1997 21(5):485-92.

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.

Kim SJ, Kang YG, Park JH, Kim EC, Park YG. Effects of low-intensity laser therapy on periodontal tissue remodeling during relapse and retention of orthodontically moved teeth. *Lasers Med Sci*. 2013 Jan;28(1):325-33.

Kim SJ, Paek JH, Park KH, Kang SG, Park YG. Laser-aided circumferential supracrestal fiberotomy and low-level laser therapy effects on relapse of rotated teeth in beagles. *Angle Orthod*. 2010 Mar;80(2):385-90.

Kobayashi Y, Takagi H, Sakai H, Hashimoto F, Matakai S, Kobayashi K, et al. Effects of local administration of osteocalcin on experimental tooth movement. *Angle Orthod*. 1998 Jun;68(3):259-66.

Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006; 129(4):469.e1-469.e32. DOI: 10.1016/j.ajodo.2005.10.007.

Laroux FS, Pavlick KP, Hines IN, Kawachi S, Harada H, Bharwani S, et al. Role of nitric oxide in inflammation. *Acta Physiol Scand*. 2001 Sep;173(1):113-8.

Lim W, Lee S, Kim I, Chung M, Kim M, Lim H, et al. The anti-inflammatory mechanism of 635 nm light-emitting-diode irradiation compared with existing COX inhibitors. *Lasers Surg Med*. 2007 Aug;39(7):614-21.

Limpanichkul W, Godfrey K, Srisuk N, Rattanayatikul C. Effects of low-level laser therapy on the rate of orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofac Res*. 2006 Feb;9(1):38-43.

Lindskog S, Blomlof L, Hammarstrom L. Comparative effects of parathyroid hormone on osteoblasts and cementoblasts. *J Clin Periodontol*. 1987 Aug;14(7):386-9.

Liu Z, Xu J, E L, Wang D. Ultrasound enhances the healing of orthodontically induced root resorption in rats. *Angle Orthod.* 2012 Jan;82(1):48-55.

Long H, Pyakurel U, Wang Y, Liao L, Zhou Y, Lai W. Interventions for accelerating orthodontic tooth movement. *Angle Orthod.* 2012 Jun 21; ISSN 1945-7103 (Electronic)0003-3219 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22720793>>.

Maldonado VB. Efeitos microscópicos do ácido acetil salicílico (Aspirina) e do acetaminofeno (Tylenol) na movimentação dentária induzida e nas reabsorções radiculares associadas. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2009.

Marquezan M, Bolognese AM, Araujo MT. Effects of two low-intensity laser therapy protocols on experimental tooth movement. *Photomed Laser Surg.* 2010 Dec;28(6):757-62.

Martins-Ortiz MF. Influência dos bisfosfonatos na movimentação dentária induzida, na frequência e nas dimensões das reabsorções radiculares associadas [tese]. Bauru: Universidade de São Paulo; 2004.

Mavragani M, Brudvik P, Selvig KA. Orthodontically induced root and alveolar bone resorption: inhibitory effect of systemic doxycycline administration in rats. *Eur J Orthod.* 2005 Jun;27(3):215-25.

Mehta D, Malik AB. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev.* 2006 Jan;86(1):279-367.

Meikle MC. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Eur J Orthod.* 2006 Jun;28(3):221-40.

Mello JB, Mello GPS. *Laser em Odontologia.* 1 ed. São Paulo: Santos; 2001.

Meyers AD, Joyce J, Cohen JJ. Effects of low-watt helium neon laser radiation on human lymphocyte cultures. *Lasers Surg Med.* 1987 6(6):540-2.

Mostafa YA, Weeks-Dybvig M, Osdoby P. Orchestration of tooth movement. *American journal of orthodontics.* 1983 Mar;83(3):245-50.

Muller WA. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Lab Invest.* 2002 May;82(5):521-33.

Neves LS, Silva CMdSe, Henriques JFC, Cançado RH, Henriques RP, Janson G. A utilização do laser em Ortodontia. *Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial.* 2005; 10:149-56.

Ohta A, Abergel RP, Uitto J. Laser modulation of human immune system: inhibition of lymphocyte proliferation by a gallium-arsenide laser at low energy. *Lasers Surg Med.* 1987 7(2):199-201.

Pires D, Xavier M, Araujo T, Silva JA, Jr., Aimbire F, Albertini R. Low-level laser therapy (LLLT; 780 nm) acts differently on mRNA expression of anti- and pro-inflammatory mediators in an experimental model of collagenase-induced tendinitis in rat. *Lasers Med Sci.* 2011 Jan;26(1):85-94.

Proffit WR. *Ortodontia Contemporânea.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Quinn JM, Saleh H. Modulation of osteoclast function in bone by the immune system. *Mol Cell Endocrinol.* 2009 Oct 30;310(1-2):40-51.

Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement--a critical review and a proposed solution. *Eur J Orthod.* 2004 Oct;26(5):483-90.

Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption--a hypothesis. *Calcif Tissue Int.* 1981 33(4):349-51.

Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption - a hypothesis. *Calcif Tissue Int.* 1982 May;34(3):311.

Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer.* 2000 Jun 15;88(12 Suppl):2961-78.

Saito CT, Gulinelli JL, Panzarini SR, Garcia VG, Okamoto R, Okamoto T, et al. Effect of low-level laser therapy on the healing process after tooth replantation: a histomorphometrical and immunohistochemical analysis. *Dent Traumatol.* 2011 Feb;27(1):30-9.

Santamaria M. Biologia da movimentação dentária induzida e das reabsorções radiculares associadas: influência do gênero e dos bisfosfonatos. Bauru: Universidade de São Paulo; 2009.

Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, et al. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest*. 1991 Dec;88(6):2095-105.

Schwarz AM. Tissue changes incident to orthodontic tooth movement. *Int J Orthod*. 1932 18:331-52.

Seifi M, Shafeei HA, Daneshdoost S, Mir M. Effects of two types of low-level laser wave lengths (850 and 630 nm) on the orthodontic tooth movements in rabbits. *Lasers Med Sci*. 2007 Nov;22(4):261-4.

Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immunol*. 2008 May;8(5):349-61.

Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol*. 2005 Dec;6(12):1191-7.

Shimizu N, Yamaguchi M, Goseki T, Shibata Y, Takiguchi H, Iwasawa T, et al. Inhibition of prostaglandin E2 and interleukin 1-beta production by low-power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells. *J Dent Res*. 1995 Jul;74(7):1382-8.

Shirazi M, Dehpour AR, Jafari F. The effect of thyroid hormone on orthodontic tooth movement in rats. *J Clin Pediatr Dent*. 1999 Spring;23(3):259-64.

Sirisoontorn I, Hotokezaka H, Hashimoto M, Gonzales C, Luppanapornlarp S, Darendeliler MA, et al. Tooth movement and root resorption; the effect of ovariectomy on orthodontic force application in rats. *Angle Orthod*. 2011 Jul;81(4):570-7.

Sirisoontorn I, Hotokezaka H, Hashimoto M, Gonzales C, Luppanapornlarp S, Darendeliler MA, et al. Orthodontic tooth movement and root resorption in ovariectomized rats treated by systemic administration of zoledronic acid. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012 May;141(5):563-73.

Smith KC. Laser (and LED) therapy is phototherapy. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb;23(1):78-80.

Sousa MV, Scanavini MA, Sannomiya EK, Velasco LG, Angelieri F. Influence of low-level laser on the speed of orthodontic movement. *Photomed Laser Surg.* 2011 Mar;29(3):191-6.

Storey E. The nature of tooth movement. *American journal of orthodontics.* 1973 Mar;63(3):292-314.

Suzawa T, Miyaura C, Inada M, Maruyama T, Sugimoto Y, Ushikubi F, et al. The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP1, EP2, EP3, and EP4) in bone resorption: an analysis using specific agonists for the respective EPs. *Endocrinology.* 2000 Apr;141(4):1554-9.

Takahashi N, Udagawa N, Kobayashi Y, Takami M, Martin TJ, Suda T. Chapter 9 - Osteoclast Generation. In: *Principles of Bone Biology (Third Edition)* John PB, Lawrence GR, T. John Martin A2 - John P. Bilezikian LGR, Martin TJ, editors. San Diego: Academic Press; 2008. p. 175-92.

Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Yamashiro T. Effect of age on the rate of tooth movement in combination with local use of 1,25(OH)₂D₃ and mechanical force in the rat. *J Dent Res.* 1992 Aug;71(8):1487-92.

Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature.* 2002 Dec 19-26;420(6917):853-9.

Tronstad L. Root resorption--etiology, terminology and clinical manifestations. *Endod Dent Traumatol.* 1988 Dec;4(6):241-52.

Verna C, Hartig LE, Kalia S, Melsen B. Influence of steroid drugs on orthodontically induced root resorption. *Orthod Craniofac Res.* 2006 Feb;9(1):57-62.

Vinck EM, Cagnie BJ, Cornelissen MJ, Declercq HA, Cambier DC. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2003 18(2):95-9.

Xavier M, David DR, de Souza RA, Arrieiro AN, Miranda H, Santana ET, et al. Anti-inflammatory effects of low-level light emitting diode therapy on Achilles tendinitis in rats. *Lasers Surg Med.* 2010 Aug;42(6):553-8.

Yagiela JA, Dowd FJ, Johnson BS, Mariotti AJ, Neidle EA. Farmacologia e terapêutica para dentistas. 6 ed ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011. 960p.

Yamasaki K, Miura F, Suda T. Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. J Dent Res. 1980 Oct;59(10):1635-42.

Yamasaki K, Shibata Y, Fukuhara T. The effect of prostaglandins on experimental tooth movement in monkeys (*Macaca fuscata*). J Dent Res. 1982 Dec;61(12):1444-6.

Yoshimatsu M, Kitaura H, Fujimura Y, Kohara H, Morita Y, Eguchi T, et al. Inhibitory effects of IL-12 on experimental tooth movement and root resorption in mice. Arch Oral Biol. 2012 Jan;57(1):36-43.

Youssef M, Ashkar S, Hamade E, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. The effect of low-level laser therapy during orthodontic movement: a preliminary study. Lasers Med Sci. 2008 Jan;23(1):27-33.

GLOSSÁRIO

GLOSSÁRIO

- ❖ Comprimento de onda – é a distância entre duas cristas consecutivas da onda.
 - ❖ Densidade de energia ou fluência – é a energia fornecida por unidade de área num determinado período de tempo.
$$\text{Fluência} = \frac{\text{Potência de saída do laser (W)} \times \text{duração de pulso (s)}}{\text{Tamanho do spot (cm}^2\text{)}}$$
 - ❖ Densidade de potência ou Irradiância (W/cm²) – mede a potência da radiação eletromagnética por unidade de área. Corresponde à intensidade da luz.
$$\text{Irradiância} = \frac{\text{Potência de saída do laser (W)}}{\text{Tamanho do spot (cm}^2\text{)}}$$
 - ❖ Energia (J) = potência(W) x tempo(s) – quantidade de fótons.
 - ❖ Espectro eletromagnético – constituído por radiação de vários comprimentos de onda.
 - ❖ Frequência ou taxa de repetição (Hertz) – números de ciclos por segundo. É o número de ondas por unidade de tempo ou contidas na unidade de comprimento.
 - ❖ Light Emitting Diode (LED) – diodo emissor de luz.
 - ❖ Potência P (W) – fluxo de fótons, é a quantidade de energia fornecida por uma fonte por unidade de tempo.
 - ❖ Potencial de oxi-redução (redox) – tendência de uma espécie química adquirir elétrons e, desse modo, ser reduzido.
 - ❖ Tamanho do spot ou área (cm²) – área atingida pela irradiação referente à ponta do aplicador (spot).
 - ❖ Tempo de exposição (t) – duração do pulso (em segundos).
 - ❖ Unidades ósseo-remodeladoras (BMUs) – conjunto de células envolvidas na reabsorção do tecido mineralizado.
-

ANEXO

Anexo

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 010/2012

Bauru, 23 de janeiro de 2013.

Senhor Professor,

Em atenção à solicitação de alteração no título do projeto de pesquisa **“Estudo histomorfométrico da ação do laser de baixa intensidade nas reabsorções radiculares consequentes da movimentação dentária induzida em ratos”, para ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DA AÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA REABSORÇÃO RADICULAR ORTODONTICAMENTE INDUZIDA EM RATOS**, desenvolvido por Eliziane Cossetin Vasconcelos, sob sua orientação, informamos a aprovação *ad referendum* desta Comissão, considerando não haver impedimentos éticos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luís Antônio de Assis Taveira

Vice-Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. José Fernando Castanha Henriques

Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva