

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA /  
CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCO-MAXILO-FACIAIS

FABRÍCIO POLETTI MASSOTTI

AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA  
INFLUÊNCIA DA TERAPIA A LASER DE BAIXA INTENSIDADE  
SOBRE O REPARO TECIDUAL PERIMPLANTAR EM MANDÍBULAS  
DE COELHOS

**Linha de pesquisa**

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

Porto Alegre – RS

2013

FABRÍCIO POLETTI MASSOTTI

AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA  
INFLUÊNCIA DA TERAPIA A LASER DE BAIXA INTENSIDADE  
SOBRE O REPARO TECIDUAL PERIMPLANTAR EM MANDÍBULAS  
DE COELHOS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Clínica Odontológica / Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-faciais, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Deise Ponzoni

**Linha de pesquisa**

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

Porto Alegre – RS

2013

FABRÍCIO POLETTI MASSOTTI

AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA INFLUÊNCIA DA  
TERAPIA A LASER DE BAIXA INTENSIDADE SOBRE O REPARO TECIDUAL  
PERIMPLANTAR EM MANDÍBULAS DE COELHOS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Clínica Odontológica / Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-faciais, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aprovada em: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dra. Edela Puricelli - UFRGS

---

Prof. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira - GHC

---

Prof. Dra. Helena Willhelm de Oliveira - PUCRS

Porto Alegre – RS

2013

Dedico este trabalho a meus pais,  
Milton e Marisa,  
e a Mariana, minha noiva,  
sem os quais não teria conquistado este objetivo.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, **Milton Massotti** e **Marisa Poletto Massotti**, por sempre acreditarem em mim. Serei eternamente grato pela educação, pelo carinho, pelo amor, pela dedicação, pela sinceridade, pelo companheirismo, pelo auxílio e por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Vocês são os melhores.

À minha noiva e futura esposa, a Cirurgiã-dentista **Mariana d'Azevedo Canal**, pelo incentivo, apoio e paciência durante toda a minha formação profissional. Agradeço os últimos sete anos de carinho, companheirismo, felicidade, compreensão e amor sem os quais não teria alcançado os meus objetivos.

À **Profa. Dra. Deise Ponzoni**, minha orientadora, pela confiança depositada em mim, disposição e colaboração durante este trabalho. Agradeço a oportunidade de aprendizado, dedicação, disponibilidade e amizade. Uma pessoa muito correta e com um projeto profissional em âmbito acadêmico exemplar.

À **Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**, responsável pela minha iniciação na vida acadêmica, e principalmente pela preparação ao meu ingresso à pós-graduação. Não existem palavras para expressar minha gratidão e respeito. Muito obrigado pela feliz convivência nestes últimos oito anos. Uma pessoa a ser seguida e respeitada.

## AGRADECIMENTOS

À **Profa. Dra. Edela Puricelli**, pela disponibilidade e auxílio durante a execução desta pesquisa. Sua trajetória profissional é um exemplo a ser seguido, pois pude observar a felicidade das pessoas tratadas com academicismo e respeito. Agradeço a confiança ao favorecer o meu futuro profissional como Cirurgião e Traumatologista Buco-maxilo-facial.

Ao **Prof. Dr. Carlos Eduardo Baraldi** pelo convívio e ensino não somente na área de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-faciais, como também na postura como profissional. Agradeço a confiança ao favorecer o meu futuro profissional como Cirurgião e Traumatologista Buco-maxilo-facial.

À **Profa. Dra. Helena Wilhelm de Oliveira** pela disponibilidade e ajuda durante execução da etapa de aquisição e análise por tomografia computadorizada de feixe cônico e conselhos pertinentes referentes a esta pesquisa.

Ao colega Implantodontista **Dr. Luciano Mayer**, por ter iniciado a pesquisa com os animais utilizados neste trabalho, pelo auxílio nas etapas experimentais do projeto e pelo convívio e amizade nestes últimos dois anos.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, na pessoa do Magnífico Reitor Carlos Alexandre Netto e à **Faculdade de Odontologia**, representada pelo Diretor, Prof. Pantelis Varvaki Rados, aos quais expresso minha admiração e respeito.

Ao **Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE)** do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo financiamento deste trabalho.

À Médica Veterinária **Dra. Fabíola Meyer** e à Enfermeira **Marta Justina Giotti Cioato** pelo auxílio na fase experimental do estudo e durante o projeto de pesquisa. Sempre no interesse em colaborar com a ciência.

À Física Médica **Geisa da Silva Medeiros**, pela colaboração prestada na elaboração desta dissertação. Agradeço o auxílio na etapa de análise tomográfica.

Ao Centro Integrado de Pesquisas (CIP-I) da Faculdade de Odontologia da USP em Baurú/SP, coordenado pelo **Prof. Vinícius Carvalho Porto**. Meus sinceros agradecimentos ao **Sr. Renato Murbach** e à **Dra. Fernanda Stancari** pelo auxílio na fase de processamento das amostras.

Ao colega de Graduação, Especialização e Mestrado **Fernando Vacilotto Gomes** pelo convívio e amizade nos últimos nove anos. As amizades verdadeiras duram para sempre. Agradeço a confiança em compartilhar quase uma década de vida. Receba minha admiração por sua competência e dedicação.

Aos colegas de Mestrado **Jules Renan Dutra Bemfica** e **Viviane Neves Pacheco** pela amizade e excelente convívio nestes últimos dois anos. Sem vocês este curso não teria sido o mesmo.

Aos alunos de Graduação **Alessandra Junges** e **Rafael Braga** pela colaboração prestada na elaboração desta dissertação. Agradeço o auxílio na etapa de análise histomorfométrica.

Aos colegas da primeira turma do Curso de Especialização em Cirurgia e Traumatologia Bucal-maxilo-faciais da UFRGS, **Bernardo Ottoni Braga Barreiro**, **Estevan Marçal Stegues**, **Juliane de Quadros De Bortolli** e **Thales Botomé Cousen**, agradeço pelo convívio e amizade.

Aos professores do Curso de Especialização em Cirurgia e Traumatologia Bucal-maxilo-faciais da UFRGS, **Prof. Dr. Angelo Luis Freddo** e **Prof. Dr. Marcel Fasolo de Paris**, meus agradecimentos por contribuírem com a minha formação.

A todos de **minha Família**, pois vocês sempre prezaram pelos estudos, mostrando o caminho para tornarmos pessoas melhores. Não tenho como citá-los um a um, mas agradeço a todos pelo carinho, incentivo e pela confiança depositada.

Aos **meus amigos**, pois vocês sempre estiveram presentes ao meu lado em todos os momentos. Sem vocês o viver não teria sido tão divertido.

“A nossa miserável espécie é feita de tal maneira, que aqueles que marcham em caminhos batidos atiram sempre pedras aos que ensinam um caminho novo.”

Voltair

(Dictionnaire Philosophique, 1752)

## RESUMO

**Introdução:** A terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) é uma importante ferramenta na biomodulação tecidual quando do processo cicatricial de uma ferida ou dano cirúrgicos. A sua aplicação favorece o reparo ósseo na região de implantes dentários. **Objetivos:** Avaliar as alterações no processo de reparo ósseo perimplantar em alvéolo do incisivo inferior de coelho após exodontia seguido da instalação imediata de um implante osseointegrável, irradiado ou não com laser de baixa intensidade (AsGaAl) em diferentes parâmetros através da análise da densidade de imagem perimplantar por tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) e histomorfométrica da interação entre osso e implante. Verificar a aplicabilidade da TCFC no controle pós-operatório de implantes dentários através de correlação com a microscopia óptica. **Metodologia:** A amostra foi composta por vinte e quatro fragmentos de mandíbulas dissecadas de coelhos contendo um implante dentário colocado após a exodontia. A distribuição das amostras foi realizada de forma que cada grupo conteve seis mandíbulas, sendo um grupo controle (C) e três grupos experimentais (EI, EII, EIII) seguindo o padrão de aplicação da laserterapia, nos animais *in vivo* durante 13 dias. O grupo controle recebeu aplicação de laser placebo. O grupo EI recebeu dose de  $70\text{J}/\text{cm}^2$ , o EII- $35\text{J}/\text{cm}^2$  e o EIII- $140\text{J}/\text{cm}^2$ . Aos 45 dias do experimento todos os animais foram mortos tendo suas mandíbulas dissecadas e submetidas à TCFC para análise da densidade de imagem perimplantar através de dois métodos de avaliação (linear e área retangular). Após, as amostras foram incluídas em resina e preparadas para análise através de microscopia óptica. Na análise histomorfométrica foi mensurada a extensão linear de contato entre osso e implante (ELCOI), a área óssea por espira (AOE), a área óssea retangular (AOR) e a área de fibras colágenas (FC) das três espiras médias do implante. **Resultados:** Os resultados foram analisados através da análise de variância (ANOVA) complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ao nível de significância de 5%. Observou-se um aumento da ELCOI e da FC para o grupo EIII em comparação com os demais grupos. A avaliação linear por TCFC demonstrou médias de nível de cinza mais elevadas para o grupo EIII em comparação com os demais grupos e que os grupos EI e EII apresentaram valores maiores que o grupo C. A avaliação da área retangular por TCFC e avaliações histomorfométricas de área óssea retangular (AOR) e por espira (AOE) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Não foi possível detectar correlação entre as análises dos resultados obtidos por histomorfometria e TCFC através do coeficiente de correlação de Pearson ao nível de significância de 5%. **Conclusão:** A LLLT biomodula positivamente o reparo ósseo perimplantar na dose de  $140\text{J}/\text{cm}^2$ . A densidade de imagem perimplantar avaliada pelos dois métodos propostos obtidos por TCFC não demonstrou correlação significativa com os resultados da histomorfometria, sendo discutível sua aplicação no controle pós-operatório de implantes dentários.

**Palavras Chave:** Terapia a Laser de Baixa Intensidade. Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico. Implantes Dentários. Coelhos.

## ABSTRACT

**Introduction:** The use of low level laser therapy (LLLT) is an important tool in tissue biomodulation during the healing process of a wound or surgical damage. The application promotes bone repair in the area of dental implants. **Objectives:** To evaluate the changes in the peri-implant bone healing in mandibular incisor alveoli of rabbits after extraction followed by immediate installation of an osseointegrated implant, irradiated or not with low intensity laser (GaAlAs) on different parameters by analyzing the image density perimplantar with cone beam computed tomography (CBCT) and histomorphometry of the interaction between bone and implant. Verify the applicability of CBCT in postoperative follow up of dental implants through correlation with optical microscopy. **Methodology:** The sample was composed of twenty-four fragments of dissected rabbits jaws containing a dental implant placed after the extraction. The distribution of samples was performed so that each group contained six jaws. A sample was divided in one control group (C) and three experimental groups (EI, EII, EIII) in which the standard laser therapy was applied in live animals for 13 days. The control group received placebo laser application. The EI group received a dose  $70\text{J}/\text{cm}^2$ , EII- $35\text{J}/\text{cm}^2$  and EIII- $140\text{J}/\text{cm}^2$ . At 45 days of the experiment all animals were killed and their mandibles were dissected and submitted for analysis to the CBCT image density perimplantar through two evaluation methods (linear and rectangular area). After the samples were embedded in resin and prepared for analysis by optical microscopy. In histomorphometry was measured the bone-implant contact (BIC), bone area within the implant threads (BAS), bone area rectangular (BAR) and the area of collagen fibers (CF) of three median spirals of the implant. **Results:** The results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) complemented by the multiple comparison test of Tukey at a significance level of 5%. It was observed an increase in BIC and CF for the group EIII compared to the other groups. The CBCT linear evaluation demonstrated gray level averages higher for the group EIII compared to the other groups and that the groups EI and EII were higher than group C. The evaluation of the rectangular area by CBCT and ratings histomorphometric bone area rectangular (BAR) and within the implant threads (BAT) showed no significant differences between groups. There were no significant relation between the analyzes of the results obtained by histomorphometry and CBCT through the Pearson correlation coefficient at a significance level of 5%. **Conclusion:** LLLT modulates positively bone repair in the peri-implant with dose  $140\text{J}/\text{cm}^2$ . The image density perimplantar evaluated by the two proposed methods obtained by CBCT demonstrated no significant correlation with the results of histomorphometry, being moot its application in controlling postoperative dental implants.

**Keywords:** Low-Level Laser Therapy. Computed Tomographic Cone Beam. Dental Implants. Rabbits.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração da estrutura de um tomógrafo do tipo feixe cônico.....	36
Figura 2 - Aquisição das imagens tomográficas.....	49
Figura 3 - Posicionamento da mandíbula para aquisição tomográfica.....	49
Figura 4 - Imagens no plano axial carregadas no programa <i>ImageJ</i> .....	51
Figura 5 - Conversão das imagens para 8 bits (256 níveis de cinza).....	51
Figura 6 - Reconstrução da imagem em plano sagital.....	52
Figura 7 - Imagem no plano sagital com a escala de 256 níveis de cinza.....	52
Figura 8 - Rotação do longo eixo do implante.....	53
Figura 9 - Média dos níveis de cinza presentes.....	53
Figura 10 - Configuração do implante na imagem tomográfica.....	54
Figura 11 - Configuração do implante Nanotite®.....	54
Figura 12 - Avaliação linear da região vestibular.....	56
Figura 13 - Avaliação linear da região lingual.....	56
Figura 14 - Avaliação retangular da região vestibular.....	58
Figura 15 - Avaliação retangular da região lingual.....	58
Figura 16 - Corte das mandíbulas.....	61
Figura 17 - Inclusão das amostras em resina.....	61
Figura 18 - Preparo dos blocos de resina.....	62
Figura 19 - Preparo das lâminas histológicas.....	62
Figura 20 - Coloração por Hematoxilina-Eosina.....	64

Figura 21 - Coloração por Picrosirius-Red.....	64
Figura 22 - <i>Software Adobe® Photoshop®</i> .....	66
Figura 23 - Imagens agrupadas.....	66
Figura 24 - Definição da escala da imagem no programa <i>ImageJ</i> .....	67
Figura 25 - Delimitação da área de análise retangular vestibular.....	67
Figura 26 - Seleção da área óssea retangular presente na região vestibular.....	68
Figura 27 - Somatório da área óssea retangular presente na região vestibular.....	68
Figura 28 - Aferição da largura da espira seis na região vestibular.....	69
Figura 29 - Demarcação da área total e do perímetro da espira seis da região vestibular.....	69
Figura 30 - Seleção da área óssea presente no interior da espira seis da região vestibular.....	70
Figura 31 - Somatório da área óssea da espira seis da região vestibular.....	70
Figura 32 - Demarcação da ELCOI da espira seis da região vestibular.....	71
Figura 33 - Somatório da ELCOI da espira seis da região vestibular.....	71
Figura 34 - Definição da escala da imagem.....	73
Figura 35 - Delimitação da área de análise retangular vestibular.....	73
Figura 36 - Transformação da imagem para 8 bits.....	74
Figura 37 - Seleção da ferramenta <i>Threshold</i> .....	74
Figura 38 - Determinação da quantidade de fibras colágenas.....	75
Figura 39 - Diagrama e gráfico de concordância da avaliação de %AOE.....	76
Figura 40 - Diagrama e gráfico de concordância da avaliação de %FC.....	77

Figura 41 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo C corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	86
Figura 42 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EI corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	86
Figura 43 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EII corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	87
Figura 44 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EIII corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	87
Figura 45 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo C corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	88
Figura 46 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EI corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	88
Figura 47 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EII corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	89
Figura 48 - Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EIII corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete.....	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos grupos a partir do protocolo de aplicação da LLLT.....	47
Tabela 2 - Comparação entre as médias de avaliação retangular TCFC, avaliação linear TCFC, %AOR, %AOE, %ELCOI, %FC, dentro de cada grupo de estudo e entre grupos.....	78

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Avaliação linear TCFC (média e desvio padrão) nos diferentes grupos.....	79
Gráfico 2 - Avaliação retangular TCFC (média e desvio padrão) nos diferentes grupos.....	80
Gráfico 3 - Porcentagem de área óssea retangular (média e desvio padrão) nos diferentes grupos.....	81
Gráfico 4 - Porcentagem de fibras colágenas (média e desvio padrão) nos diferentes grupos.....	82
Gráfico 5 - Porcentagem de área óssea por espira (média e desvio padrão) nos diferentes grupos.....	83
Gráfico 6 - Porcentagem de extensão linear de contato entre osso e implante (média e desvio padrão) nos diferentes grupos.....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>3D</b>	Tridimensional
<b>ABFM</b>	Associação Brasileira de Física Médica
<b>ADP</b>	Adenosina difosfato
<b>AOE</b>	Área Óssea por Espira
<b>AOR</b>	Área Óssea Retangular
<b>AsGaAl</b>	Arseneto de Gálio-Alumínio
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>Bits</b>	Dígito binário
<b>°C</b>	Grau centesimal, centígrado ou Celsius
<b>CaP</b>	Fosfato de Cálcio
<b>CBCT</b>	Cone Beam Computed Tomography
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>cm</b>	Centímetro
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centímetro quadrado
<b>CRMV</b>	Conselho Regional de Medicina Veterinária
<b>DICOM</b>	<i>Digital Imaging and Communication in Medicine</i>
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>EDS</b>	Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios X
<b>ELCOI</b>	Extensão Linear de Contato entre Osso e Implante
<b>et al.</b>	e colaboradores
<b>FC</b>	Fibra colágena
<b>FDM</b>	<i>Fused Deposition Manufacturing</i>
<b>FOB</b>	Faculdade de Odontologia de Baurú
<b>FOV</b>	<i>Field of View</i> (Campo de visão)

<b>GHC</b>	Grupo Hospitalar Conceição
<b>h</b>	Hora
<b>HCPA</b>	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
<b>HE</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>HeNe</b>	Hélio-Neônio
<b>HU</b>	Unidade Hounsfield
<b>Hz</b>	Hertz
<b>ISQ</b>	Coeficiente de estabilidade do implante
<b>J</b>	Joule
<b>J/cm<sup>2</sup></b>	Joule por centímetro quadrado
<b>KCl</b>	Cloreto de Potássio
<b>kg</b>	Quilograma
<b>kHz</b>	Quilo-Hertz
<b>kV</b>	Quilovolt
<b>LIC</b>	Limite Inferior de Concordância
<b>LLLT</b>	<i>Low Level Laser Therapy</i> (Terapia a Laser de Baixa Intensidade)
<b>LSC</b>	Limite Superior de Concordância
<b>µm</b>	Micrômetro
<b>mA</b>	Miliampére
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>mg</b>	Miligrama
<b>mg/Kg</b>	Miligrama por quilograma de peso
<b>mm</b>	Milímetro
<b>mm<sup>2</sup></b>	Milímetro quadrado
<b>ml</b>	Mililitro
<b>ml/Kg</b>	Mililitro por quilograma de peso
<b>mW</b>	Miliwatt

<b>N</b>	Newton
<b>NaCl</b>	Cloreto de Sódio
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>n.</b>	Número
<b><i>Pixel</i></b>	<i>Picture Element</i> (Elemento de Imagem)
<b>POP</b>	Procedimento Operacional Padrão
<b>PR</b>	Picrosirius-Red
<b>PUCRS</b>	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
<b>®</b>	Marca registrada
<b>RFA</b>	Análise de Frequência de Ressonância
<b>ROI</b>	Região de interesse
<b>rpm</b>	Rotação por minuto
<b>RS</b>	Rio Grande do Sul
<b>s</b>	Segundos
<b>SP</b>	São Paulo
<b>SPSS</b>	<i>Statistical Package for Social Sciences</i> ®
<b>UPE</b>	Unidade de Patologia Experimental
<b>UFRGS</b>	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
<b><i>Voxel</i></b>	<i>Volumetric Picture Element</i> (Elemento de Imagem Volumétrica)
<b>TCFC</b>	Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico
<b>TCFL</b>	Tomografia Computadorizada de Feixe em Leque
<b>USP</b>	Universidade de São Paulo
<b>%</b>	Porcento, porcentagem, percentagem

# SUMÁRIO

---

---

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
2	<b>REVISTA DA LITERATURA</b> .....	22
2.1	IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS.....	22
2.2	TERAPIA A LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LLLT) .....	26
2.3	TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO (TCFC) .....	33
3	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	41
4	<b>OBJETIVOS</b> .....	42
4.1	OBJETIVOS GERAIS .....	42
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
5	<b>METODOLOGIA</b> .....	43
5.1	RESPALDO ÉTICO DA PESQUISA .....	43
5.2	PARADIGMA .....	43
5.3	VARIÁVEIS.....	43
5.3.1	Variáveis dependentes .....	43
5.3.2	Variáveis independentes.....	44
5.4	DEFINIÇÃO CONCEITUAL .....	44
5.4.1	Laser de baixa intensidade (AsGaAl).....	44
5.4.2	Osseointegração.....	44
5.4.3	Tomografia computadorizada de feixe cônico .....	45
5.5	CONFIGURAÇÃO DA AMOSTRA .....	45
5.6	AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA.....	47
5.6.1	Avaliação Linear TCFC.....	55
5.6.2	Avaliação Retangular TCFC .....	57
5.7	AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA .....	59
5.7.1	Análise histomorfométrica das lâminas coradas por HE.....	65
5.7.2	Análise histomorfométrica das lâminas coradas por PR.....	72
5.7.3	Análise estatística.....	76
6	<b>RESULTADOS</b> .....	78
6.1	TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO .....	79
6.1.1	Avaliação Linear TCFC.....	79
6.1.2	Avaliação Retangular TCFC .....	80

6.2	HISTOMORFOMETRIA .....	81
6.2.1	Área Óssea Retangular (%AOR) .....	81
6.2.2	Área de Fibras Colágenas (%FC) .....	82
6.2.3	Área Óssea por Espira (%AOE) .....	83
6.2.4	Extensão Linear de Contato entre Osso e Implante (%ELCOI) .....	84
6.2.5	Correlação entre as análises histomorfométrica e tomográfica .....	85
6.2.6	Imagens Histológicas – coloração HE .....	86
6.2.7	Imagens histológicas – coloração PR .....	88
7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	90
7.1	DO MÉTODO .....	90
7.2	DOS RESULTADOS .....	95
8	<b>CONCLUSÃO</b> .....	98
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	99
	<b>APÊNDICE A – PROTOCOLO DE EXECUÇÃO DA FASE EXPERIMENTAL</b> .....	108
	<b>ANEXO A – APROVAÇÃO NO CEUA/HCPA PROJETO 12-0120</b> .....	114
	<b>ANEXO B – APROVAÇÃO NO CEUA/HCPA PROJETO 11-0449</b> .....	115
	<b>ANEXO C – APROVAÇÃO NO CEUA/PUCRS REGISTRO 11/00235</b> .....	116
	<b>ANEXO D – LEI 11.794 DE 08 DE OUTUBRO DE 2008</b> .....	117
	<b>ANEXO E – JUSTIFICATIVA DO CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA</b> .....	124
	<b>ANEXO F – DECLARAÇÃO E ORÇAMENTO DAS AQUISIÇÕES TOMOGRÁFICAS</b> .....	125
	<b>ANEXO G – SOLICITAÇÃO PARA A UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTAL NA FOB/USP</b> .....	126
	<b>ANEXO H – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLORAÇÃO HE</b> .....	127
	<b>ANEXO I – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLORAÇÃO PR</b> .....	128
	<b>ANEXO J – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA SOLUÇÃO PR</b> .....	129

# 1 INTRODUÇÃO

---

A difusão da técnica de reabilitação através de implantes dentários revela a sua importância no desenvolvimento funcional e estético da Odontologia. Em vistas disso, muitos pesquisadores têm estudado meios que possibilitem prognósticos clínicos e cirúrgicos mais previsíveis e favoráveis. Numa retrospectiva histórica, desde a década de 60, quando se deu início a osseointegração, tem-se observado mudanças no desenho, no tamanho e no tratamento da superfície dos implantes dentários, com a finalidade de acelerar o processo de osseointegração (BRÅNEMARK et al., 1969).

Diversos pesquisadores têm estudado o uso potencial dos lasers terapêuticos na biomodulação do reparo ósseo por meio de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas (BRUGNERA et al., 2003; FREDDO et al., 2009; MILORO; MILLER; STONER, 2007; BLAYA et al., 2008; PINHEIRO; GERBI, 2006; STEIN et al., 2009). Esta terapia proporciona uma maior rapidez no reparo ósseo, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual (TAKEDA, 1988; STEIN et al., 2009). A terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) tornou-se uma alternativa eficaz ou coadjuvante no intuito de melhorar os resultados clínicos (ROSS; ROSS, 2009).

As pesquisas que utilizam como modelo animal o coelho demonstram que o reparo ósseo leva aproximadamente seis semanas e em seres humanos, de quatro a seis meses, portanto em coelhos ocorre três vezes mais rápido em comparação com humanos (CAMPANHA et al., 2010). Tal condição garante resistência para que o osso receba carga sem comprometimento da estabilidade inicial do implante. A maturação óssea perimplantar deve-se ao aumento da deposição de Hidroxiapatita de Cálcio pelos osteoblastos irradiados pela LLLT. Estudos em humanos evidenciam que após a irradiação, é possível reduzir o tempo de colocação de carga sobre os implantes de quatro para dois meses e 24 dias na mandíbula e, de seis meses para quatro meses e seis dias na maxila (LOPES et al., 2007; PINHEIRO; GERBI, 2006; KHADRA et al., 2005; PINHEIRO et al., 2003; GERBI et al., 2005). Logo, a aplicação de LLLT favorece o reparo ósseo na região

perimplantar mesmo em implantes sem um bom travamento inicial (CAMPANHA et al., 2010). A partir disso, buscou-se na literatura uma metodologia para avaliação do efeito desta bioestimulação sobre o tecido ósseo após a instalação de implante dentário.

Existem diferentes métodos para aferição da estabilidade dos implantes. Entre eles a percepção do cirurgião, o torque de inserção, o torque de assentamento, o teste de percussão, a aplicação de torque reverso, avaliação de mobilidade, análise de frequência de ressonância e avaliação imaginológica. Dentre os exames imaginológicos podemos destacar as radiografias convencionais, a tomografia computadorizada e mais recentemente a tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) (SENNERBY; MEREDITH, 2008). A utilização da TCFC é reconhecida na literatura por sua importância no planejamento de implantes dentários; no entanto, não há consenso quanto ao seu uso na avaliação da estabilidade dos implantes e da osteointegração (BENAVIDES et al., 2012; MAH; REEVES; MCDAVID, 2010).

Além dos métodos não destrutivos supracitados, a avaliação óssea perimplantar, pode ser estudada através da análise histomorfométrica por diferentes técnicas de observação (microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura) (LÓPEZ, 2007; SOUZA, 2010). Entretanto, é necessária a retirada do implante com o tecido ósseo circunjacente, ou seja, por se tratar de uma metodologia destrutiva, somente é passível de aplicação em pesquisas com animais. Para a avaliação por microscopia óptica tem sido preconizada a confecção de lâminas histológicas coradas pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE) e Picrosirius-Red (PR) (GUIMARÃES, 2006), permitindo a quantificação de tecido ósseo e de fibras colágenas.

## 2 REVISTA DA LITERATURA

---

### 2.1 IMPLANTES OSSEOINTEGRÁVEIS

Brånemark et al. (1969) descreveram uma nova modalidade de tratamento para reabilitar a perda de elementos dentais. Um implante osseointegrado é caracterizado pela aposição direta de osso sobre a superfície de titânio do implante, sem evidência de uma camada de tecido conjuntivo entre o osso e o implante. Esse tecido ósseo, circunjacente à superfície do implante, apresenta características normais de osso vivo, com osteócitos e canais vasculares (ALBREKTSSON, 1993; ZARB; ALBREKTSSON, 1991).

A instalação dos implantes deve ser realizada de forma atraumática, sem gerar superaquecimento do tecido ósseo, apresentar estabilidade primária e aguardar um período de três a seis meses para carregar o implante a fim da obtenção de um bom prognóstico (BUSER; BELSER, 1996). Esta técnica apresenta uma previsibilidade muito grande quanto ao sucesso do tratamento e está embasada por vários trabalhos de pesquisa (ADELL et al., 1981; BUSER et al., 1991; LAZZARA et al., 1996).

Existem quatro mecanismos básicos pelos quais os implantes podem ser ancorados no osso: travamento macro e micromecânico, material bioativo, vedamento pelo tecido mole e osseointegração (BRUNSKI, 1988). A falha e consequente perda de um implante podem ser causadas pela técnica cirúrgica deficiente, pela morfologia do implante, pela resposta adversa do paciente ou ainda pela carga clínica excessiva (ADELL et al., 1981).

Assim que o implante é instalado no osso, determinadas áreas da superfície do implante permanecem em contato direto com este tecido. Este contato é chamado de estabilidade primária ou mecânica e depende da forma do implante, qualidade óssea e preparo do leito do implante. A estabilidade primária é gradualmente reduzida no processo de remodelação óssea, o qual forma novas áreas de contato com a superfície do implante. Este novo contato ósseo é

chamado de estabilidade secundária ou biológica. Quando o processo de reparo é completado, a estabilidade mecânica inicial é substituída completamente pela estabilidade biológica. A soma da estabilidade primária e da secundária é referida como estabilidade total (BUSER et al., 2004; SCHWARZ et al., 2007a; SCHWARZ et al., 2007b; GANELES et al., 2008; LUONGO; OTERI, 2010; BORNSTEIN et al., 2010).

Existem fatores que influenciam a estabilidade dos implantes como parâmetros clínicos incluindo os intrínsecos ao paciente e ao procedimento cirúrgico, bem como o protocolo de tratamento escolhido para cada caso. O fator mais importante relacionado às condições individuais dos pacientes é a qualidade óssea, sendo de risco os pacientes que apresentarem osso proveniente de enxertia, osso com características medulares ou ainda, osso que foi irradiado. No momento cirúrgico, o que pode alterar a estabilidade dos implantes é o uso de técnicas cirúrgicas traumáticas que ocasionem injúrias ao tecido ósseo. Também podemos verificar alterações na estabilidade implantar dependendo do protocolo a ser utilizado, pois para carga imediata devemos aguardar um período mínimo a fim de obtermos uma estabilidade inicial, diferentemente dos casos em que a cirurgia é dita de duas etapas, onde se aguarda um período cicatricial de alguns meses para que seja então colocada a carga sobre os implantes (SENNERBY; MEREDITH, 2008).

Entretanto, o tempo elevado de osseointegração do implante para a confecção da prótese levou a pesquisas que propuseram alterações na técnica originalmente apresentada por Branemark et al. (1969) quanto a textura de superfície do implante de titânio. O tratamento desta superfície tem por objetivo reduzir o tempo, antecipando a colocação de carga (THOMAS; COOK, 1985; BUSER et al., 1991; MUSTAFA, 2000). Revisando a literatura, observa-se que os implantes com tratamento de superfície apresentam taxa e velocidade de osseointegração maiores quando comparadas com implantes de superfície lisa (THOMAS; COOK, 1985; BUSER et al., 1991; BUSER; BELSER, 1996; ALBREKTSSON et al., 2000; SUL et al., 2001, COCHRAN et al, 2002).

Partindo deste princípio, em 2007, a superfície Nanotite<sup>®</sup> (BIOMET 3i) foi introduzida no mercado apresentando uma nanotopografia criada por uma discreta

deposição cristalina de nanopartículas de fosfato de cálcio (CaP) sobre a face externa do implante Osseotite<sup>®</sup> (BIOMET 3), o qual apresenta a superfície duplamente condicionada por ácido. Este aprimoramento, quando avaliado em escala nanométrica, mostra melhoria nos resultados quanto a velocidade de osseointegração em comparação aos grupos que utilizaram a superfície Osseotite<sup>®</sup>, não só em modelo animal, mas também no estudo em seres humanos (OSTMAN et al., 2010).

Os implantes com superfície Nanotite<sup>®</sup> são indicados para uso nos protocolos de carga imediata, colocação imediata pós-extração, inserção simultânea de implantes e enxertos ósseos, áreas estéticas em que a preservação óssea é crítica e localizações que requerem implantes curtos ou de plataforma larga (LAZZARA, 2007).

As pesquisas recentes em animais têm utilizado cães para estudo após instalação de implantes dentários. Uma delas avaliou e comparou dois tipos de implantes o SLActive<sup>®</sup> e o Nanotite<sup>®</sup>, ambos com tratamentos de superfície por nanotopografia. A avaliação histomorfométrica da extensão linear de contato entre osso e implante foi avaliada em duas, quatro e oito semanas e demonstrou aumento significativo ao longo do tempo. Comparativamente, não houve diferença significativa entre os dois tipos de implantes estudados (AL-HAMDAN et al., 2011).

No entanto, outro trabalho, onde foi avaliada a taxa de contaminação das superfícies em relação à osseointegração, demonstraram que a Nanotite<sup>®</sup> apresentou uma qualidade cicatricial superior a Osseotite<sup>®</sup> por apresentar uma menor contaminação da superfície do implante (MOHAMED et al., 2010). A adesão e colonização bacteriana desempenham uma função importante na patogênese da infecção do tecido perimplantar, que é considerada a principal causa de perda de estabilidade. Esta adesão bacteriana foi avaliada entre as superfícies de três tipos de implantes de titânio: usinado, Osseotite<sup>®</sup> e Nanotite<sup>®</sup>. Sendo a nanomodificada a de menor quantidade de contaminação bacteriana em comparação com as demais superfícies avaliadas por microscopia confocal e contagem de células viáveis (BAENA et al., 2012).

Mensurando a extensão linear de contato e a área óssea neoformada no interior das três espiras mais coronárias de implantes instalados em tibia de coelhos, pesquisadores avaliaram o comportamento biológico do tecido ósseo circunjacente a estes implantes diante de superfícies experimentais modificadas por laser, modificada por laser com depósito de silicato de sódio, e das superfícies disponíveis comercialmente, modificada por condicionamento ácido e superfície usinada. Os resultados demonstraram que a superfície modificada por laser foi estatisticamente superior às superfícies modificadas por condicionamento ácido e usinada em quatro, oito e 12 semanas. A superfície modificada por laser com depósito de silicato de sódio foi estatisticamente superior à superfície usinada em quatro, oito e 12 semanas, enquanto que em comparação à superfície condicionada por ácido, em oito e 12 semanas. Observaram que a extensão linear de contato dos implantes com condicionamento ácido foi significativamente superior a superfície usinada no período de quatro semanas (SOUZA, 2010).

Diante da impossibilidade de retirada de implantes para estudos aplicados em humanos, tem-se utilizado mini-implantes com diferentes tratamentos de superfície. Exemplo disso é o trabalho de Menicucci et al. (2013) onde foi avaliado através de análise histológica e física o comportamento ósseo perimplantar após enxerto xenógeno no seio maxilar e instalação de mini-implantes de superfície Osseotite<sup>®</sup> e Nanotite<sup>®</sup>. Dessa forma, após 12 meses, foi realizada a remoção destes mini-implantes os quais foram processados e analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS), microscopia confocal a laser e microscopia de luz polarizada. A partir dos resultados obtidos os pesquisadores concluíram que a superfície Nanotite<sup>®</sup> é superior a Osseotite<sup>®</sup> em relação à osseointegração, pois a extensão linear de contato entre osso e implante e a presença de fibras colágenas foi maior para os mini-implantes com tratamento de superfície.

Outro estudo avaliou por histomorfometria a associação de osso xenógeno e autógeno de crista ilíaca enxertados no seio maxilar e instalação de mini-implantes com ou sem superfície nanomodificada e submetidos ou não a carga imediata. Os implantes foram removidos após dois e quatro meses com auxílio de broca trefina. A avaliação da área óssea presente entre as espiras e a extensão linear de contato entre osso e implante demonstraram que a área óssea dos implantes que

receberam carga imediata, tanto aos dois, quanto aos quatro meses, foi maior na porção coronal quando comparada a região apical. Entretanto esse padrão não foi repetido para o contato ósseo, no qual se observou que a região média do implante demonstrou-se maior e, somente a região média do implante apresentou contato ósseo aos dois meses. Para os implantes que receberam carga imediata não se observou diferenças significativas entre as superfícies dos implantes instalados ou entre os tempos de remoção dos implantes indicando que a osseointegração ao longo do tempo foi baixa. Os implantes que não sofreram carga não apresentaram diferenças significativas entre as superfícies Osseotite<sup>®</sup> e Nanotite<sup>®</sup> tanto em relação à área óssea quanto em relação ao contato entre osso e implante, mas em relação ao tempo de dois e quatro meses a área e o contato dobraram. A osseointegração no seio enxertado com osso de crista ilíaca misturado com osso xenógeno foi considerada pobre independentemente do tempo de cicatrização ou de modificação da superfície. O ápice dos mini-implantes que receberam carga imediata mostrou contato ósseo mínimo sugerindo que o enxerto não aumenta a capacidade de carga (BROWAEYS et al., 2013).

Implantes com superfície Nanotite<sup>®</sup> foram acompanhados em estudo por quatro anos onde foi avaliado o fracasso dos implantes, as complicações biológicas e biomecânicas, reabsorção óssea marginal e a preferência dos pacientes. Os resultados e conclusões desta pesquisa confirmaram que após quatro anos a superfície Nanotite<sup>®</sup> aceita carga imediata sem diferenças estatisticamente significativas em relação ao carregamento após seis semanas da cirurgia (CANNIZZARO et al., 2012). Ou seja, o tratamento de superfície dos implantes com deposição de nanopartículas de cristais de fosfato de cálcio acelera a colocação de carga imediata.

## 2.2 TERAPIA A LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LLLT)

O laser é uma forma de radiação não-ionizante, altamente concentrada, que, em contato com os diferentes tecidos, resulta em efeitos fototérmicos, fotoquímicos e não-lineares. Ao contrário de outras formas de radiação usadas com finalidades terapêuticas, a radiação laser é não-invasiva e muito bem tolerada pelos tecidos

(BRUGNERA et al., 2003), pois apresenta comportamento de luz, a qual pode ser refletida, absorvida ou transmitida sofrendo ou não espalhamento no processo. Ao ser absorvida pode ocorrer uma transferência de energia para o tecido (PANARELLO, 2003; LIZARELLI, 2007).

A interação do laser no tecido é determinada pela composição de seu meio ativo; comprimento de onda; densidade de energia e de potência; forma de emissão do laser (contínua, pulsada ou desencadeada); taxa e duração da pulsação; utilização ou não de fibras de contato; tipo de raio (focado ou desfocado); quantidade de energia depositada no tecido; do número de sessões e das características ópticas do tecido, como os coeficientes de absorção e espalhamento (BRUGNERA et al., 2003; FREDDO et al., 2009).

As radiações ópticas produzidas pelos diversos tipos de lasers têm basicamente as mesmas características; no entanto, em busca de resultado clínico específico pode-se alterar as propriedades ópticas do sistema como densidade de potência e seu comprimento de onda. O laser de diodo que tem como meio ativo o composto de AsGaAl (Arseneto de Gálio-Alumínio), muito utilizado na biomodulação, apresenta um comprimento de onda variando entre 630 - 690nm (laser vermelho) e 790 - 830nm (emissor infravermelho), com potências que variam de 20 até 250mW (ALMEIDA-LOPES; LOPES, 2005).

A LLLT tem sido empregada nas faixas do espectro de luz visível e infravermelha para melhorar o processo de cicatrização, realizando uma biomodulação progressiva que gera ao tecido um aumento dos efeitos biológicos, como a proliferação epitelial e fibroblástica, estimulação à síntese de colágeno, com formação de fibras pró-colágenas tipo I e tipo III, o aumento da capacidade fagocitária, a liberação de endorfinas, resultando em efeitos analgésicos, antiinflamatórios e terapêuticos no reparo tecidual (PINHEIRO; FRAME, 2002; BRUGNERA et al., 2003; GERBI et al., 2005; KHADRA, 2005; MILORO; MILLER; STONER, 2007; KUSEK, 2009; FREDDO et al., 2009).

Ou seja, influencia mudanças de caráter metabólico, energético e funcional nos corpos submetidos à radiação, favorecendo o aumento da resistência e da vitalidade celular, biomodulando a resposta inflamatória e permitindo a evolução

para a cura em um tempo menor, provocando um incremento no metabolismo celular devido à estimulação seletiva das mitocôndrias (BRUGNERA et al., 2003; WEBER et al., 2006). O número de mitocôndrias de uma célula varia de acordo com a demanda de energia necessária para seu funcionamento. A matriz mitocondrial possui enzimas essenciais para as reações utilizadas na geração de energia e com partículas de síntese de adenosina trifosfato (ATP) (WEBER et al., 2006).

O laser pode liberar a energia armazenada na forma de ATP, aumentar a sua síntese ou convertê-la em adenosina difosfato (ADP) (WEBER et al., 2006). O aumento da energia celular e as alterações no resultado da permeabilidade da membrana celular levam ao alívio da dor, à cicatrização de feridas, ao relaxamento muscular, à modulação do sistema imunológico e à regeneração nervosa (KHADRA, 2005; ROSS; ROSS, 2008; KUSEK, 2009).

O processo de reparo das feridas pode ser dividido em três fases: celular, proliferativa e remodeladora. A maior parte dos relatos sobre bioestimulação a laser sugere que os efeitos mais importantes ocorrem na fase de proliferação, pois se acredita que o processo de metabolismo celular acentua-se devido à fotorrecepção mitocondrial pela luz monocromática, sugerindo que o laser aumenta o metabolismo respiratório de certas células e, assim, modifica as propriedades eletrofisiológicas da célula (PINHEIRO; GERBI, 2006; WEBER et al., 2006).

Na fase proliferativa do reparo ósseo, que ocorre nos primeiros dias, o osteoblasto está em intensa atividade de síntese, apresentando formato cubóide com prolongamentos celulares, citoplasma basófilo, núcleo excêntrico e nucléolo proeminente. A ultraestrutura de um osteoblasto é compatível com a de uma célula que sintetiza proteínas, apresentando abundante retículo endoplasmático rugoso e muitas lamelas do Complexo de Golgi, relacionadas com a síntese e o processamento dos componentes da matriz óssea. Também estão presentes numerosas mitocôndrias, vesículas do sistema endossômico-lisossômico e grande quantidade de vesículas de secreção contendo, sobretudo colágeno tipo I (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A laserterapia com comprimento de onda no espectro infravermelho mostrou-se como um estimulante na proliferação osteoblástica, na deposição de colágeno e na neoformação óssea, desde que, aplicados nos momentos iniciais da reparação óssea, com predominância da fase proliferativa celular. Os efeitos da laserterapia são dose dependente. A dose de irradiação ou densidade de energia é um dos mais importantes parâmetros em laserterapia. A dose correta da irradiação influencia os resultados encontrados. Se a dose for muito baixa pode não ser efetiva, assim como, uma dose extremamente alta pode, até mesmo, ter efeitos inibitórios (DÖRTBUDAK; HASS; MALLATH-POKORNY, 2000; BRUGNERA, 2009). É provável que a regeneração óssea seja dependente não apenas da dose de energia total da radiação laser, mas também do tempo e da forma de radiação (PINHEIRO; GERBI, 2006).

As células osteoblásticas ao serem irradiadas pela LLLT aumentam inclusive a taxa de deposição de hidroxapatita de cálcio. Isto provavelmente ocorre devido a correta escolha do comprimento de onda com maior penetração nos tecidos (830nm) e, portanto, aumento de alterações em níveis celular, tais como favorecimento da síntese de ATP (PINHEIRO; BRUGNERA JR; LIMEIRA JR, 2002; PINHEIRO; GERBI, 2006), diferenciação osteoblástica precoce (FREITAS; BARANAUSKAS, CRUZ-HÖFLING, 2000; KHADRA et al., 2005), liberação de fatores de crescimento, aumento dos níveis de cálcio, fósforo, proteínas, angiogênese pronunciada e formação de tecido conjuntivo (KHADRA et al., 2005; PINHEIRO; GERBI, 2006).

A LLLT apresenta efeitos fotoquímicos, fotofísicos e fotobiológicos gerados pela luz laser os quais afetam, além da área desejada, regiões mais profundas (ALMEIDA-LOPES, 2003). Logo, ao realizar a aplicação da LLLT, pode-se atingir órgãos distantes do local de irradiação. Sugerindo, portanto, que o laser apresenta efeitos sistêmicos por meio de mediadores metabólicos liberados na circulação sanguínea levando a alterações hormonais (MAYER, 2013).

Ao realizar aplicação da terapia a laser de baixa intensidade em tíbias de ratos, os quais foram separados por grupos controle e experimental para avaliar o processo de osseointegração, pesquisadores observaram que, aos 14 dias, os valores do torque de remoção dos implantes foram mais elevados em comparação

ao grupo controle, mostrando maior dificuldade para romper a interface do implante com o osso. Concluíram, portanto, que a laserterapia demonstra capacidade de aumentar o imbricamento entre osso e implante (MALUF et al., 2010). Em estudo semelhante, onde também foi avaliado o torque de remoção dos implantes em tíbias de ratos aos sete, 15, 30 e 45 dias, os resultados contradizem a pesquisa anterior. Observa-se que a laserterapia não influenciou a tensão no estágio inicial da osseointegração, ou seja, aos sete e 15 dias. No entanto, conferiram que com o transcorrer dos dias o torque de remoção aumentou significativamente. Aos 30 e 45 dias, os valores do torque de remoção dos implantes foram maiores para o grupo irradiado em comparação ao grupo controle, sugerindo então, que a LLLT é favorável para aumentar a tensão na interface osso-implante (BOLDRINI et al., 2013).

Pesquisas referem que é importante analisar os efeitos da LLLT no reparo ósseo quando este for de baixa qualidade e quando os implantes não apresentarem um bom travamento no osso (CAMPANHA et al., 2010). Portanto, os estudos em animais também têm avaliado a estabilidade inicial de implantes inseridos em tíbias de coelhos após terapia a laser de baixa intensidade através da mensuração do torque de remoção (KHADRA et al., 2004; CAMPANHA et al., 2010), da Espectrometria Raman (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007), da microscopia eletrônica de varredura (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2007), da microscopia óptica (PEREIRA et al., 2009) e da microanálise por espectroscopia de energia dispersiva de raios-x (KHADRA et al., 2004).

A avaliação da estabilidade inicial através da mensuração do torque de remoção resultou em valores maiores para os animais que sofreram irradiação laser em comparação ao grupo controle quando analisado aos 15 e 30 dias da morte dos coelhos. Entretanto, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos aos 45 dias da morte dos animais. Concluindo, assim, que a LLLT promoveu a osseointegração de implantes com baixa estabilidade inicial, especialmente nos estágios primários do reparo ósseo (CAMPANHA et al., 2010).

Em outro estudo, ao realizar esta comparação entre grupo irradiado e não irradiado com laser, observaram que em oito semanas de cicatrização as forças de

tração média dos implantes que receberam LLLT apresentaram um ganho funcional em comparação ao grupo controle. Neste mesma pesquisa, avaliaram os percentuais de peso de Cálcio e Fósforo através de EDS, obtendo como resultado que no grupo irradiado foram significativamente maiores quando comparado ao grupo controle, sugerindo que a maturação óssea foi processada mais rapidamente no osso irradiado (KHADRA et al., 2004).

Avaliando a concentração de hidroxiapatita de cálcio através da Espectrometria Raman e a qualidade do reparo ósseo ao redor de implantes dentários através de MEV após LLLT, pesquisadores observaram que aos 15 dias não há diferenças significantivas entre os grupos irradiado e não irradiado pelo fato de que no estado inicial da osseointegração a atividade osteoblástica é principalmente proliferativa e a deposição óssea inicia somente após este período. Entretanto, aos 30 e 45 dias após a cirurgia perceberam diferenças significantivas e que a LLLT proporciona uma melhora no reparo óssea. Assim, concluíram que a matriz óssea se torna o principal componente do tecido de cicatrização e que a frequência de aplicação do laser é importante, pois quando aplicado na fase de cicatrização celular leva ao aumento do número de osteoblastos. Esta elevação resulta em maior deposição de matriz óssea que, ao incorporar a hidroxiapatita de cálcio, caracteriza a maturação óssea ao redor do implante (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007).

A influência da terapia a laser de baixa intensidade sobre o reparo ósseo ao redor de implantes inseridos na tíbia de coelhos também pode ser avaliada através da microscopia óptica pela análise histomorfométrica. Pesquisadores avaliaram extensão linear de contato entre osso e implante e a área óssea presente entre as espiras na superfície externa dos implantes. Observaram que a área de contato entre osso e implante não aumentou significantivamente entre três, seis e oito semanas, entretanto os resultados demonstraram que os animais que receberam laser apresentaram maior contato entre osso e implante em comparação ao grupo controle. Ao avaliar a área óssea presente entre as espiras, não observaram diferenças significantivas, seja nos grupos ou no tempo. Apesar desta área óssea não ter sido alterada pela LLLT, a osseointegração pode ser melhorada com a sua aplicação (KHADRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2009).

Estes estudos em animais deram suporte para iniciar as pesquisas em humanos, pois o processo de maturação do osso é importante para o sucesso dos implantes dentários, já que favorece a fixação do implante ao osso, permitindo a reabilitação protética precoce (LOPES et al., 2007).

Sabe-se que, após a instalação de implantes de titânio, enxertos ósseos e movimentos dentários, a função celular é afetada devido à pressão e trauma exercidos, ocasionando apoptose celular. A partir desta observação, pesquisadores avaliaram o uso da LLLT na recuperação de osteoblastos danificados por pressão aplicada intencionalmente verificando a morfologia e a taxa de sobrevivência destas células. Os resultados demonstraram uma taxa de recuperação mais elevada de osteoblastos danificados no grupo irradiado em comparação ao grupo não irradiado. Este estudo demonstrou a capacidade da LLLT para auxiliar a recuperação celular e afetar a viabilidade celular em osteoblastos sob pressão. Estes resultados podem contribuir para uma melhor compreensão do efeito da LLLT na recuperação de células após o trauma. Além disso, os resultados demonstraram que a LLLT pode ser utilizada no campo da engenharia de tecido ósseo em condições de trauma ósseo e reparo de defeitos ósseos grandes, tais como o enxerto ósseo e instalação de implante (PYO et al., 2013).

A utilização da terapia a laser de baixa intensidade em área de reparo ósseo tem sido demonstrada como eficaz na modulação do processo inflamatório (ROSS; ROSS, 2009; HUSSEIN et al., 2011). A aplicação do laser favorece a cicatrização de feridas, alivia a dor, e parece ser uma modalidade de tratamento promissora para pacientes com necrose óssea (DA GUARDA et al., 2012). A utilização do laser de AsGaAl estimula a formação óssea em defeitos cicatriciais comprovada por meio de estudos histomorfométricos e histológicos (GARCIA et al., 2012).

A análise histológica realizada por meio de coloração com HE e PR tem fundamental relevância para verificar os efeitos do uso da LLLT. As avaliações do reparo ósseo e da resposta inflamatória são passíveis de serem evidenciadas pela técnica de coloração histológica HE. A análise da presença de fibras colágenas, bem como o padrão de distribuição destas nas regiões de periósteo, endósteo, medula e nas zonas de transição periósteo-medular e endósteo-medular pode ser

realizada pela técnica de coloração histológica Picrosirius-Red (GUIMARÃES, 2006).

## 2.3 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO (TCFC)

A TCFC, também conhecida como tomografia *cone beam* (CBCT), foi desenvolvida na década de 90 e atualmente está sendo amplamente usada na prática clínica. Pode fornecer imagens de alta resolução dos dentes e da região bucomaxilofacial, com aplicações em todas as especialidades da Odontologia (HORNER; JACOBS; SCHULZE, 2013). O primeiro estudo publicado na literatura foi em 1998, onde os pesquisadores apresentaram os resultados preliminares de um novo aparelho de tomografia computadorizada volumétrica para imagens odontológicas baseado na técnica do feixe em forma de cone, batizado como NewTom-9000. Reportaram alta acurácia das imagens assim como uma dose de radiação equivalente a 1/6 da liberada pela tomografia computadorizada tradicional (MOZZO et al., 1998).

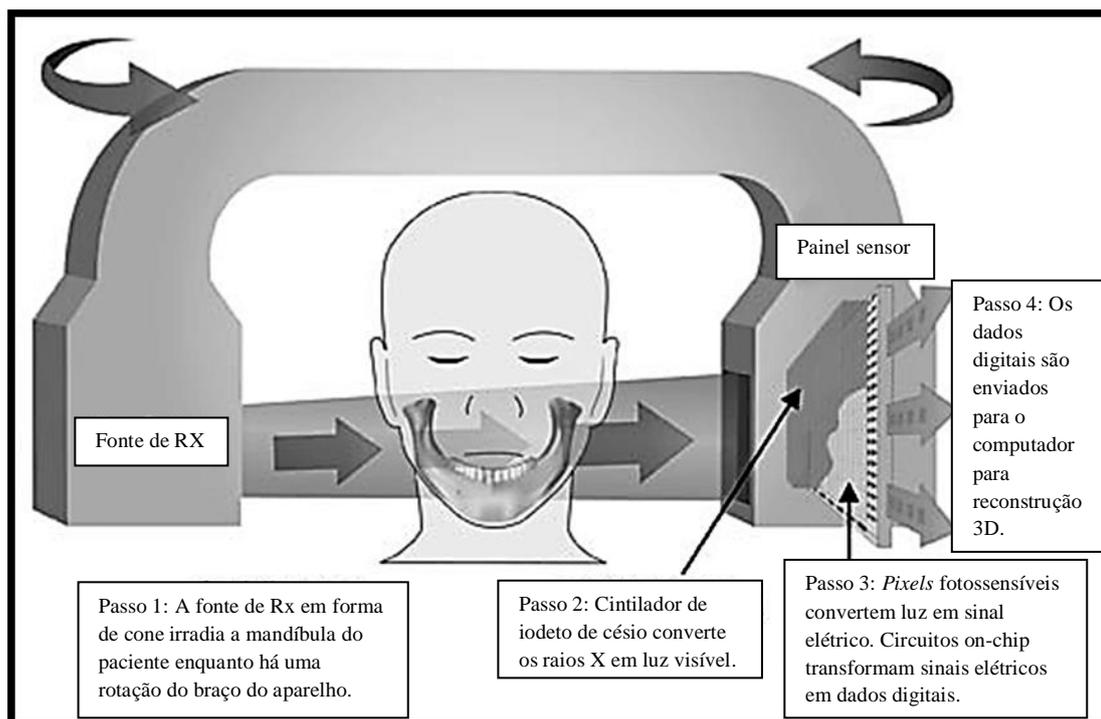
No ano seguinte, pesquisadores japoneses e finlandeses vinculados à radiologia odontológica apresentaram outro aparelho, com tecnologia e recursos muito semelhantes ao tomógrafo precursor, o qual foi denominado Ortho-CT. Este tomógrafo consistia no aparelho convencional de radiografia panorâmica finlandês, Scanora, mas com a diferença de que a película radiográfica foi substituída por um intensificador de imagens (ARAI et al., 1999).

Esta tecnologia cresceu rapidamente e agora está facilmente disponível no mercado (KAU et al., 2009), especialmente por seu baixo custo, fácil acessibilidade e baixa radiação em comparação com tomografia computadorizada de feixe em leque (TCFL), também chamada de tomografia *fan beam* ou de tomografia *multislice* (DE VOS; CASSELMAN; SWENNEN, 2009). Por estes motivos e, devido à possibilidade de reconstruções tridimensionais (3D) e ausência de sobreposições, a TCFC vem substituindo as radiografias convencionais em muitas indicações (KAEPPLER, 2010).

Na TCFC a imagem é formada como um todo pelo tomógrafo no momento da aquisição, sendo que os cortes e as projeções são realizados posteriormente pelo sistema computacional do equipamento. Desta forma, obtém-se primeiramente o volume de uma região e, a partir deste, são realizados computacionalmente os cortes axiais e reconstruções em outras projeções de interesse – coronal e sagital (CAVALCANTI, 2008).

O aparelho de TCFC é muito compacto e assemelha-se ao de radiografia panorâmica. Geralmente, no momento da aquisição do exame, o paciente é posicionado sentado, mas em alguns aparelhos pode ser posicionado em decúbito dorsal. O equipamento apresenta dois componentes principais, posicionados em extremos opostos da cabeça do paciente: a fonte ou tubo de raios X, que emite um feixe em forma de cone, e um detector de raios X. O sistema tubo-detector realiza somente um giro de 360° em torno da cabeça do paciente e a cada determinado grau de giro (geralmente a cada 1 grau), o aparelho adquire uma imagem base da cabeça do paciente, muito semelhante a uma telerradiografia, sob diferentes ângulos ou perspectivas (Figura 1). Ao término do exame, a sequência de imagens base é reconstruída para gerar a imagem volumétrica tridimensional, por meio de um *hardware* e *software* específico com um sofisticado conjunto de algoritmos, instalado em um computador convencional acoplado ao tomógrafo. O tempo de exame pode variar de 10 a 70 segundos (uma volta completa do sistema), porém o tempo de exposição efetiva aos raios X é bem menor, variando de três a seis segundos (SCARFE; FARMAN; SUKOVIC, 2006; GARIB et al., 2007; VIEGAS, 2008; KAEPPLER, 2010).

**Figura 1** – Ilustração da estrutura de um tomógrafo do tipo feixe cônico



**Fonte:** Adaptado de Gilmore; Weldon; Lares, 2010.

Durante uma exposição ao feixe de raios X, em um determinado material, ocorrem diversas interações e processos físicos relacionados aos parâmetros de exposição e composição do material em análise. Em decorrência do choque dos fótons de raios X com a matéria, ocorrerão processos de absorção e atenuação do feixe, estando estes relacionados com a densidade e espessura do material exposto (PASLER, 1999; KATSUMA et al., 2006).

Na técnica de exposição radiográfica, a quantidade de raios X recebidos na unidade de tempo depende da intensidade da corrente elétrica. Aumentando a miliamperagem, ocorre aumento na produção de elétrons e, por conseguinte, na produção de raios X (PASLER, 1999; CAVALCANTI, 2008). O produto da miliamperagem e do tempo regula o escurecimento da imagem sem alterar o contraste. Alterando a tensão (kV), ocorre, também, alteração na penetração dos raios X. Ou seja, aumentando o kV, diminuirá a diferença de absorção nas diversas estruturas, diminuindo o contraste do objeto na imagem (PASLER, 1999; LANGLAND, LANGLAIS, 2002). A tensão relaciona-se com a velocidade (fluxo) dos elétrons. Quanto maior o kV, maior será a velocidade e, conseqüentemente, o fluxo destes elétrons (PASLER, 1999; CAVALCANTI, 2008).

A absorção ocorre quando o fóton de raio X transfere integralmente sua energia para um elétron do átomo, sendo que, dependendo da energia do fóton incidente, este elétron pode ser ejetado, gerando processos de ionização do material. Enquanto que na dispersão, o fóton de raio X, ao atingir um elétron do átomo, muda sua trajetória inicial, liberando parte de sua energia ao material (PASLER, 1999).

A capacidade de penetração dos feixes de raios X depende do comprimento de onda, e este da tensão aplicada ao tubo no momento do acionamento do equipamento. Quando se pretende radiografar objetos de maior espessura ou densidade, tem-se de levar em conta a capacidade de penetração dos raios X pelos diversos tecidos da região a ser exposta (PASLER, 1999; KATSUMA et al., 2006).

Quanto maior a quantidade de raios X atingindo o receptor, maior será grau de enegrecimento da área sensibilizada. Um alto grau de densidade radiográfica produz uma imagem escura; enquanto que a imagem clara é decorrente de baixa ou pouca densidade. Portanto, a densidade radiográfica está associada ao grau de enegrecimento da imagem e relacionada com a quantidade de radiação que atinge o receptor de imagem após os processos de exposição (LANGLAND; LANGLAIS, 2002).

Os valores dos tons de cinza, nas técnicas radiográficas, são representados pelos *pixels*. Um conjunto de *pixels* forma elementos tridimensionais que correspondem aos *voxels* (PASLER, 1999). O *voxel*, na tomografia computadorizada de feixe cônico, é chamado de isométrico, ou seja, apresenta altura, largura e profundidade de iguais dimensões (FARMAN; SCARFE, 2006). Cada lado do *voxel* apresenta dimensão submilimétrica (menor que 1mm, geralmente de 0,119 a 0,4mm) e, portanto, a imagem tomografada apresenta boa resolução. Por esta razão, os estudos na área de validação da TCFC para análises qualitativas e quantitativas mostraram uma alta acurácia da imagem (MOZZO et al., 1998; KOBAYASHI et al., 2004; CEVIDANES et al., 2005; HILGERS et al., 2005; MARMULLA et al., 2005; MISCH; YI; SARMENT, 2006), além de boa nitidez.

A partir destes conceitos, verifica-se que a qualidade óssea pode ser avaliada com o auxílio de imagens tomográficas, as quais, por meio dos níveis de cinza da imagem, evidenciam a densidade dos tecidos que os raios X atravessam pela mudança nos tons de cinza (PARKS, 2000; XAVES et al., 2005; SCARFE; FARMAN; SUKOVIC, 2006).

Os estudos relacionados ao uso da TCFC são na sua maioria aplicados ao planejamento em Odontologia tendo fundamental importância na avaliação da qualidade óssea, da altura óssea e da presença de estruturas anatômicas (CAVALCANTI, 2008). As imagens tomográficas fornecem uma avaliação precisa da dimensão e quantitativa da densidade de imagem favorecendo o planejamento de implantes (TURKYILMAZ et al., 2008; RUGANI et al., 2009; CHAN; MISCH; WANG, 2010), o diagnóstico de patologias ósseas (RUGANI et al., 2009; CHAN; MISCH; WANG, 2010), a avaliação de retenções dentárias e de lesões císticas (RUGANI et al., 2009).

Recentemente, pesquisadores têm investido na avaliação pós-operatória de implantes através da tomografia computadorizada de feixe cônico. Entretanto, referem que valor do *pixel* em TCFC pode ser afetado por condições, tais como as de materiais ao seu redor tornando-o não confiável. É essencial ter cuidado quando os valores de *pixel* são utilizados para estimar densidade óssea em locais de implantes dentários (ARAKI; OKANO, 2011).

Apesar disso, as tomografias de feixe cônico oferecem vantagens sobre as tomografias computadorizadas de feixe em leque para planejamento e tratamento odontológicos (MAH; REEVES; MCDAVID, 2010) proporcionando uma medida de densidade mineral óssea da mandíbula potencialmente útil como um método não invasivo para avaliar a qualidade óssea mandibular (LINDH et al., 1996).

Entre essas vantagens pode-se citar a menor dose de radiação, menor custo e menor tempo nas aquisições das imagens, quando comparada com os processos realizados na TCFL. Esses tomógrafos também fornecem boa resolução, com boa visualização de detalhes (SIEWERDSEN; JAFFRAY, 1999; NING et al., 2000; NORTON; GAMBLE, 2001; MAH; REEVES; MCDAVID, 2010). A qualidade das

imagens obtidas por TCFC pode ser considerada equivalente ou superior às obtidas por TCFL (HASHIMOTO, et al., 2003).

Entretanto, podem ser citadas algumas desvantagens associada à TCFC como não possuir calibração adequada, diferentemente da TCFL, a qual utiliza escala de Unidade Hounsfield (HU) que representa a densidade dos tecidos de acordo com uma escala de nível de cinza calibrada com base nos valores para o ar (-1.000 HU), água (0 HU) e densidade óssea (1000 HU) (NACKAERTS et al., 2011), apresentar considerável radiação de espalhamento, área limitada de exposição aos raios X e presença de artefatos produzidos por materiais metálicos (SIEWERDSEN; JAFFRAY, 1999; NING et al., 2000; NORTON; GAMBLE, 2001; MAH; REEVES; MCDAVID, 2010).

Estes artefatos metálicos tem um nível significativamente mais baixo na TCFC em comparação a TCFL (ROE et al., 2012). Assim, com o intuito de avaliar a intensidade destes artefatos ao redor de implantes de titânio, pesquisadores observaram, pela alteração dos valores de cinza, que a reflexão de artefatos metálicos está sempre presente na proximidade dos implantes de titânio, independentemente da posição do implante e que uma diminuição significativa na intensidade dos artefatos metálicos foi percebida com o aumento da distância a partir da superfície do implante. Concluíram, portanto, que os artefatos ao redor dos implantes de titânio em imagens obtidas por TCFC são distribuídos de acordo com o padrão geométrico do implante (BENIC et al., 2013).

A avaliação da precisão da tomografia computadorizada de feixe cônico na aferição da quantidade óssea ao redor de implantes dentários em comparação com a avaliação clínica não apresentou diferenças significativas das medidas do volume ósseo vestibular ao longo da extensão do implante dentário, demonstrando que a TCFC é uma ferramenta útil na avaliação do volume ósseo após a instalação de implantes dentários (SHIRATORI et al., 2012).

Esta análise imaginológica permite observação da remodelação óssea adjacente aos implantes e pode ser usada para avaliação longitudinal, tendo como vantagem, portanto, a aferição das dimensões do osso perimplantar ao longo do tempo (MIYAMOTO; OBAMA, 2011).

Exemplo disso foi estudo longitudinal de 12 meses após instalação de implante dentário onde os pesquisadores consideraram que a manutenção da tábua óssea vestibular é determinante para o sucesso estético. A fim de confirmar esta relação entre osso alveolar vestibular e implante dentário foi utilizada a técnica de TCFC no planejamento cirúrgico, no pós-operatório imediato e no pós-operatório tardio. Foi demonstrado que é possível identificar a presença ou não da tábua óssea vestibular antes e após a cirurgia na maioria dos indivíduos e que o osso vestibular e as alterações após a colocação do implante podem ser visualizados por TCFC (VERA et al., 2012).

A fim de avaliar as alterações ósseas nas dimensões horizontal e vertical após a inserção de um implante na maxila e colocação de carga imediata, foram realizadas duas aquisições tomográficas, uma no pós-operatório imediato e outra após 12 meses da cirurgia. Foram utilizadas as imagens do corte sagital mediano como referência para análise. Os resultados obtidos permitem afirmar que alterações nas dimensões ósseas são esperadas após 12 meses da cirurgia. Confirmando o emprego da TCFC como viável para avaliação pós-operatória da cirurgia de implantes dentários (ROE et al., 2012).

Na mesma linha de pesquisa, avaliou-se através do uso da TCFC pelo período de sete anos as dimensões ósseas vestibulares e de tecido mole associadas a instalação de implantes dentários no alvéolo após exodontia e enxerto ósseo xenógeno com aplicação de membrana de colágeno em 24 pacientes. Destes, somente 14 foram passíveis de acompanhamento ao final da pesquisa, onde se observou que para cinco implantes instalados não foi detectado osso na superfície vestibular do implante e que os demais nove implantes foram encontrados recobertos por osso. Estes resultados vão de encontro com nossa pesquisa, pois comprovam que a avaliação por TCFC tem seu emprego viável ao redor de sítios de implante dentário (BENIC et al., 2012).

Em outra avaliação de implantes instalados na maxila, foi mensurada a perda óssea alveolar perimplantar no sentido horizontal e vertical. A aquisição tomográfica foi realizada no pós-operatório imediato e após um ano da cirurgia. Os resultados do estudo demonstraram que avaliação perimplantar por TCFC pode ser aplicada (MIYAMOTO; OBAMA, 2011).

Após estudos longitudinais demonstrarem a viabilidade da utilização da tomografia computadorizada de feixe cônico na análise da qualidade óssea de região perimplantar, foi avaliada a confiabilidade do valor da densidade óssea de sítios passíveis de instalação de implantes dentários através da TCFC e da TCFL. A densidade óssea trabecular obtida pela TCFC demonstrou ser pouco confiável devido à diferença significativa dos resultados, uma vez que os valores obtidos foram mais elevados em comparação a TCFL. Porém, neste estudo, foi utilizado como referência os valores em HU para ambos os sistemas de tomografia e concluíram que para TCFC não existe uma escala definida para determinar o nível de cinza da imagem (SILVA et al., 2012).

### 3 JUSTIFICATIVA

---

---

É descrito na literatura o uso da terapia a laser de baixa intensidade no reparo ósseo perimplantar em tíbias de coelhos (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; CAMPANHA et al., 2010); no entanto, o osso da tíbia é morfologicamente diferente do osso mandibular alveolar. Sendo assim, a instalação de implantes em alvéolo de mandíbulas de coelhos possibilita maior confiabilidade por ser compatível com uma situação clínica funcional (DE JONG; KORFAGE; LANGENBACH, 2010).

Estudos revelam que o emprego de implantes com superfície nanomodificada favorece a osseointegração permitindo a colocação de carga (LAZZARA, 2007; CANNIZZARO et al., 2012; MENICUCCI et al., 2013). Assim, presume-se que a associação de implantes nanomodificados e aplicação de LLLT, por este favorecer o reparo tecidual, promoverá a aceleração da osseointegração e, conseqüentemente, permitirá a colocação de carga em um período mais curto.

Para realizar a avaliação da osseointegração pesquisas referem o uso da histomorfometria (LÓPEZ, 2007; SOUZA, 2010), entretanto, apesar de ser confiável é um método destrutivo, pois requer a remoção do tecido ósseo, ou seja, necessita que seja realizada biópsia para posterior análise, não sendo passível de ser aplicado em humanos. Existem formas clínicas e imaginológicas de avaliação da osseointegração. Dentre os exames imaginológicos utilizam-se radiografias convencionais, tomografia computadorizada e mais recentemente tomografia computadorizada de feixe cônico (SENNERBY; MEREDITH, 2008).

## 4 OBJETIVOS

---

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as alterações no processo de reparo ósseo perimplantar em alvéolo do incisivo inferior de coelhos após exodontia seguida da inserção imediata de um implante osseointegrável, irradiadas ou não com laser de baixa intensidade (AsGaAl), em diferentes parâmetros.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar por histomorfometria a área óssea, a área de fibras colágenas e a extensão linear de contato entre osso e implante.
- b) Avaliar através de tomografia computadorizada de feixe cônico a densidade de imagem perimplantar.
- c) Correlacionar os resultados da avaliação histomorfométrica com a densidade de imagem.

## 5 METODOLOGIA

---

### 5.1 RESPALDO ÉTICO DA PESQUISA

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/HCPA sob o número de projeto 12-0120, de 24 de maio de 2012 (ANEXO A). Foi realizado aproveitamento de material biológico proveniente da pesquisa aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/HCPA, sob o número de projeto 11-0449, de 21 de dezembro 2011 (ANEXO B), este projeto também foi apresentado à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da PUCRS, conforme protocolo 11/00235, de 21 de julho de 2011 (ANEXO C).

Foram cumpridos os princípios éticos para experimentação em animais, que constam na Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca – ANEXO D) que regulamenta e estabelece procedimentos para o uso científico de animais, revogando a Lei 6.638, de 8 de maio de 1979; respeitaram-se também os Princípios Éticos na Pesquisa Experimental, determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

### 5.2 PARADIGMA

Este trabalho foi desenvolvido dentro do paradigma tradicional, quantitativo, no *design* de estudo do tipo experimental verdadeiro, com as amostras selecionadas de forma aleatória, com um grupo de controle com pré e pós-teste (CAMPBELL; STANLEY, 1979).

### 5.3 VARIÁVEIS

#### 5.3.1 *Variáveis dependentes*

- a. Reparo tecidual perimplantar;

- b. Processo de osseointegração do implante;
- c. Densidade de Imagens.

### 5.3.2 *Variáveis independentes*

- a. Laser de baixa intensidade Arseneto de Gálio-Alumínio (AsGaAl);
- b. Dosagem do laser.

## 5.4 DEFINIÇÃO CONCEITUAL

### 5.4.1 *Laser de baixa intensidade (AsGaAl)*

A palavra laser é um acrônimo com origem na língua inglesa com o significado de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, cuja tradução para a língua portuguesa seria amplificação de luz por emissão estimulada de radiação. Esta radiação é descrita como uma onda eletromagnética do tipo não ionizante. Esta onda tem uma característica importante chamada de comprimento de onda, que nada mais é do que a distância medida entre dois picos consecutivos de sua trajetória. A cor desta luz é definida pelo comprimento de onda. A unidade utilizada para a medição deste comprimento é uma fração do metro, o nanômetro (nm), que é equivalente a  $10^{-9}$  metro. Essa característica, juntamente com a frequência e a amplitude, define a luz dentro do espectro completo de ondas eletromagnéticas. Tais características conferem propriedades terapêuticas importantes.

### 5.4.2 *Osseointegração*

A definição conceitual de osseointegração é a união estrutural e funcional entre o osso vivo e organizado e a superfície de um implante. A qualidade dessa

união depende de fatores físicos relacionados ao implante, bem como fatores sistêmicos e biológicos responsáveis pela formação e manutenção do tecido ósseo perimplantar.

#### 5.4.3 Tomografia computadorizada de feixe cônico

É uma técnica de obtenção de imagem que utiliza um feixe cônico de radiação associado a um receptor de imagens bidimensional. Nesta técnica, o conjunto fonte de raios X e receptor de imagens gira 360° uma única vez em torno da região de interesse. Durante este giro, múltiplas projeções bidimensionais em ângulos diferentes são obtidas e enviadas ao computador. Desta maneira, é possível reduzir a dose de exposição do paciente à radiação (em até 98% em relação à tomografia computadorizada de feixe em leque) e a presença de artefatos na imagem obtida, permitindo assim a melhora da imagem 3D. Essas projeções contêm todas as informações necessárias para compor a matriz da imagem tridimensional. Cortes nos três planos do espaço, reconstruções panorâmicas e cefalométricas podem então ser obtidas a partir desta imagem 3D.

### 5.5 CONFIGURAÇÃO DA AMOSTRA

A amostra desta pesquisa é constituída por 24 mandíbulas de coelhos, com implante dentário instalado, dissecadas, provenientes do projeto de pesquisa aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/HCPA, sob o número 11-0449 do dia 21 de dezembro 2011 (ANEXO B), no qual foram utilizados 40 coelhos da ordem *Lagomorpha*, gênero *Oryctolagus*, espécie *Oryctolagus cuniculus*, raça Nova Zelândia, variedade branco, machos, pesando entre 3 e 4 kg, com 3 meses de idade, clinicamente sadios, selecionados aleatoriamente.

Para determinar o tamanho da amostra deste estudo com modelo experimental com coelho, foi determinado o “n” em seis para cada grupo, baseando-se nos estudos de Khadra et al. (2004), Lopes et al. (2005), Lopes et al. (2007), Cho et al. (2004) e Pereira et al. (2009), nos quais o “n” dos grupos, seja

teste ou controle, ficou sempre entre cinco e oito. Estas pesquisas foram realizadas para estudar o reparo do tecido ósseo em coelhos com associação da LLLT (em sua maioria na região perimplantar) apresentando resultados estatisticamente significativos (ANEXO E).

## 5.6 ORGANIZAÇÃO DOS GRUPOS

As 24 mandíbulas dissecadas foram identificadas e distribuídas em quatro grupos distintos, sendo um grupo designado como controle (C) e três grupos designados experimentais (EI, EII, EIII) seguindo o padrão de aplicação da laserterapia que foi aplicada nos animais *in vivo* (Tabela 1) (APÊNDICE A).

**Tabela 1** – Distribuição dos grupos a partir do protocolo de aplicação da LLLT

GRUPO	PROCEDIMENTO	DOSE TOTAL	TEMPO DE CADA APLICAÇÃO	NÚMERO DE ANIMAIS
C (Grupo Controle)	Exodontia + implante	0J/cm <sup>2</sup>	00:00:00	6
EI (Grupo Experimental)	Exodontia + implante + laser	70J/cm <sup>2</sup>	00:01:41	6
EII (Grupo Experimental)	Exodontia + implante + laser	35J/cm <sup>2</sup>	00:00:51	6
EIII (Grupo Experimental)	Exodontia + implante + laser	140J/cm <sup>2</sup>	00:03:21	6

Fonte: Massotti (2013).

Para padronizar os experimentos, todos os animais do grupo C, EI, EII e EIII foram submetidos ao procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo inferior esquerdo e colocação imediata de um implante osseointegrado no respectivo alvéolo, criando uma condição clínica inicial de igualdade entre os quatro grupos (APÊNDICE A).

## 5.7 AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA

Neste estudo foi avaliada a variação da densidade óssea através da avaliação dos níveis de cinza em imagens de tomografia computadorizada de feixe cônico de 24 mandíbulas de coelhos após a dissecação dos tecidos moles.

Aos 45 dias do experimento, ou seja, 30 dias após a última sessão de laserterapia, os animais do grupo controle C, e dos grupos experimentais EI, EII e EIII foram mortos após a injeção intramuscular de Cloridrato de Ketamina<sup>1</sup>, na dose de 40mg/kg de peso e de Cloridrato de Xilasina<sup>2</sup>, 3mg/kg de peso, o mesmo protocolo utilizado na etapa cirúrgica, com administração de uma sobredose anestésica de Propofol<sup>3</sup> 1ml/kg e posterior parada cardíaca provocada por KCl<sup>4</sup> 10% (Cloroeto de Potássio) na dose de 1ml/kg.

Após a morte dos animais, a mandíbula foi dissecada para fins de processamento e preparo das amostras para análise tomográfica e histomorfométrica. As amostras teciduais provenientes da mandíbula dos coelhos, contendo o implante foram removidas e colocadas em formalina neutra tamponada a 10%.

As mandíbulas dissecadas, e sem tecido mole, dos 24 coelhos, foram submetidas ao exame de TCFC para análise dos valores dos níveis de cinza em relação à área perimplantar. As aquisições das imagens foram realizadas na Clínica de Radiologia Odontológica Faciem 3D Diagnóstico por Imagem em Porto Alegre/RS (ANEXO F). O equipamento utilizado para aquisição das imagens foi o K9000c 3D *Cone Beam CT Scanner* da marca Carestream<sup>®</sup> (Figura 2).

As amostras foram posicionadas sobre um guia prototipado e apoiadas na área de aquisição do equipamento (Figura 2). Utilizaram-se como protocolo de aquisição os seguintes parâmetros: *voxel* de 100µm, resolução de 10 *pixels* por milímetro, tensão de pico de 60kV, corrente de 10mA, tempo de exposição de 10,8s e campo de visão (FOV) de 50 x 38 mm.

---

<sup>1</sup> Dopalen<sup>®</sup>, fabricado por Divisão Vetbrands Saúde Animal. São Paulo/SP.

<sup>2</sup> Anasedan<sup>®</sup>, fabricado por Divisão Vetbrands Saúde Animal. São Paulo/SP.

<sup>3</sup> Lipuro 1% (10mg/ml) Laboratórios B. Braun SA. Av. Eugênio Borges, 1092 - Bairro Arsenal - São Gonçalo/RJ, Brasil.

<sup>4</sup> Isofarma Industrial Farmacêutica Ltda. Rua Manoel Mavignier, 5000 – Precabura Eusébio/CE, Brasil.

Para auxílio durante as tomadas, utilizou-se como suporte das mandíbulas o guia tomográfico prototipado, confeccionado especialmente para este fim (Figura 2). O programa utilizado no planejamento do guia prototipado foi o *software Rhinoceros 3D*<sup>5</sup>, a confecção na máquina *Insight*<sup>6</sup>, e produzido pela tecnologia *Fused Deposition Manufacturing - FDM*. O guia tomográfico foi produzido pela empresa Protótipos 3D<sup>7</sup>. O guia possui escala milimetrada no sentido coronal, com indicador para linha média das mandíbulas dos coelhos no sentido longitudinal, para que o feixe luminoso localizador do tomógrafo possuísse sempre a mesma inclinação sobre todas as peças.

Acoplado ao guia, foi esculpido um posicionador (Figura 3 - seta) para os dentes incisivos centrais inferiores dos coelhos, onde o feixe luminoso localizador do tomógrafo foi direcionado entre o incisivo direito e o implante dentário instalado, proporcionando assim maior uniformidade no posicionamento das mandíbulas na aquisição das imagens (Figura 3).

As imagens foram adquiridas e armazenadas no protocolo *Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM)* e, posteriormente, reconstruídas e analisadas no *software* livre *Image J*<sup>8</sup> (Figura 4), com o qual foi possível analisar a densidade de imagem, relacionando os limites de atenuação dos feixes de raios X com os valores de níveis de cinza na área perimplantar dos coelhos operados na aquisição tomográfica.

---

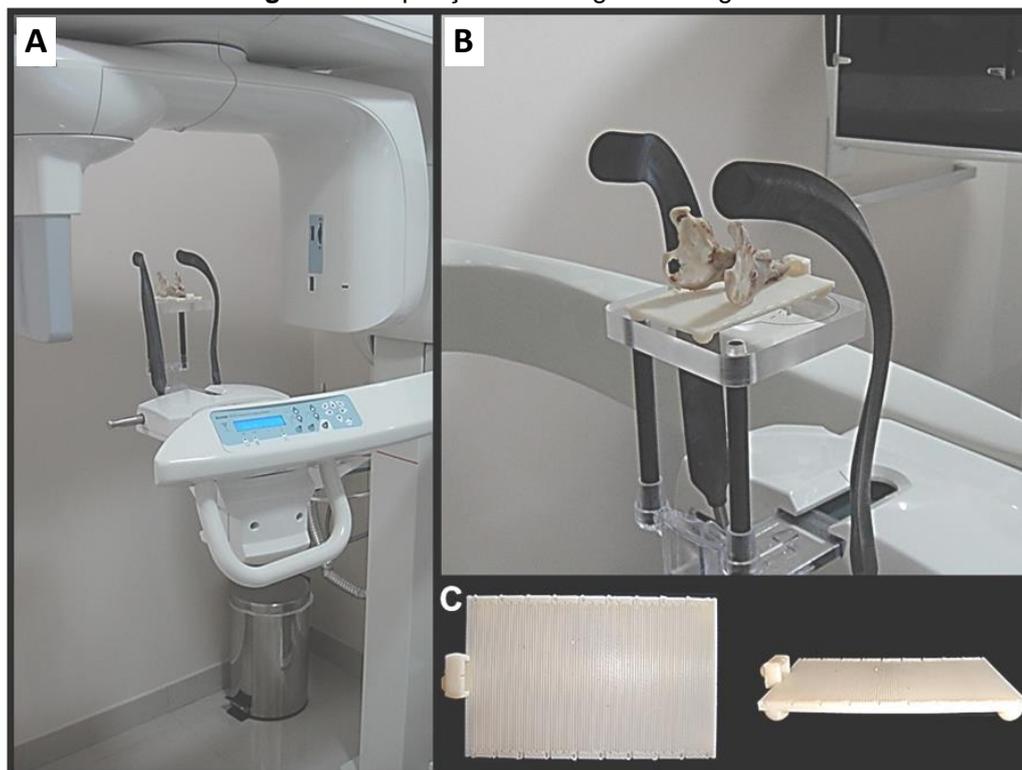
<sup>5</sup> Robert McNeel & Associates

<sup>6</sup> *Stratasys – FDM 300*

<sup>7</sup> Tecnopuc - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

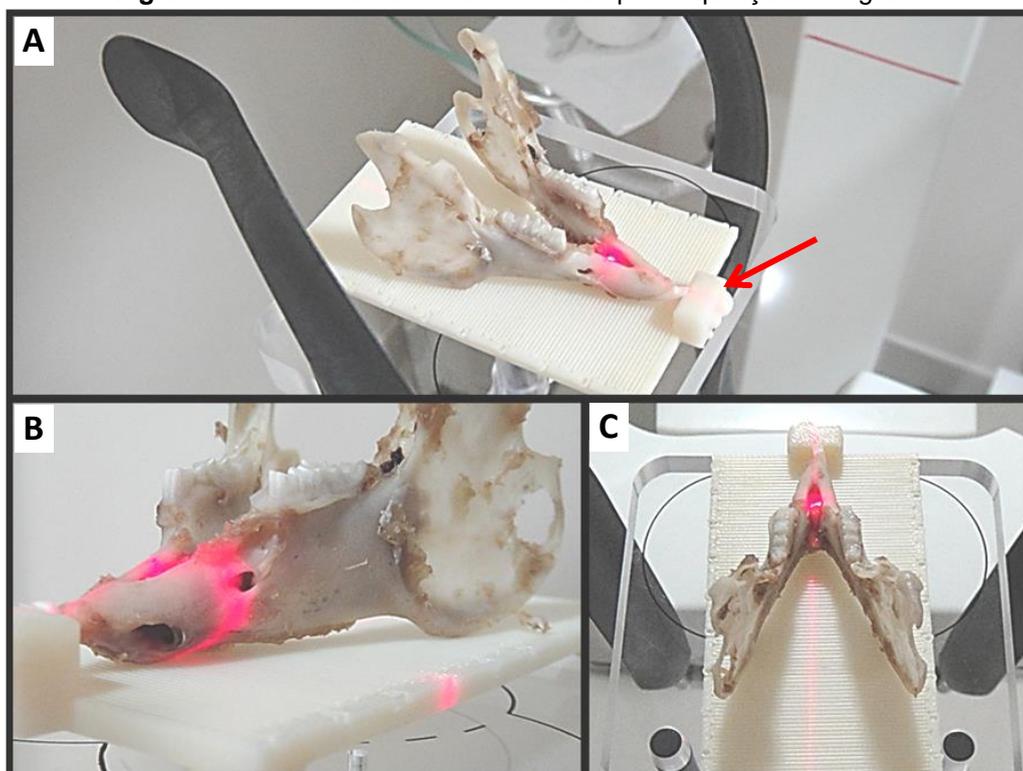
<sup>8</sup> *Software* de domínio público (*freeware*) desenvolvido pelo *National Institute of Health*

**Figura 2 – Aquisição das imagens tomográficas**



A) tomógrafo utilizado para aquisição das imagens; B) posicionamento da mandíbula no local de aquisição da imagem; C) guia tomográfico confeccionado pela empresa Protótipos 3D®. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 3 – Posicionamento da mandíbula para aquisição tomográfica**



A) posicionador (seta) para os dentes incisivos centrais inferiores dos coelhos no guia prototipado. B) ilustração do posicionamento da mandíbula sob o guia prototipado; C) alinhamento do feixe laser do equipamento na linha média. **Fonte:** Massotti (2013).

Para a reconstrução e processamento no *software ImageJ*, as imagens foram convertidas para 8 bits (256 níveis de cinza) (Figura 5). Definindo uma escala de 0 a 255 em cada imagem, onde 0 representa valores escuros dentre os níveis de cinza da imagem (correspondente a menor atenuação dos feixes de raios X no momento da exposição), e 255 representa valores claros e brancos dentre os níveis de cinza (maior atenuação dos feixes de raios X), dependendo do tipo do tecido irradiado (Figuras 7 e 9).

Como as imagens foram adquiridas em um processo volumétrico, para fins de determinação e limitação das regiões para análise, todas as sequências foram reconstruídas no *software ImageJ* em plano sagital (Figuras 6).

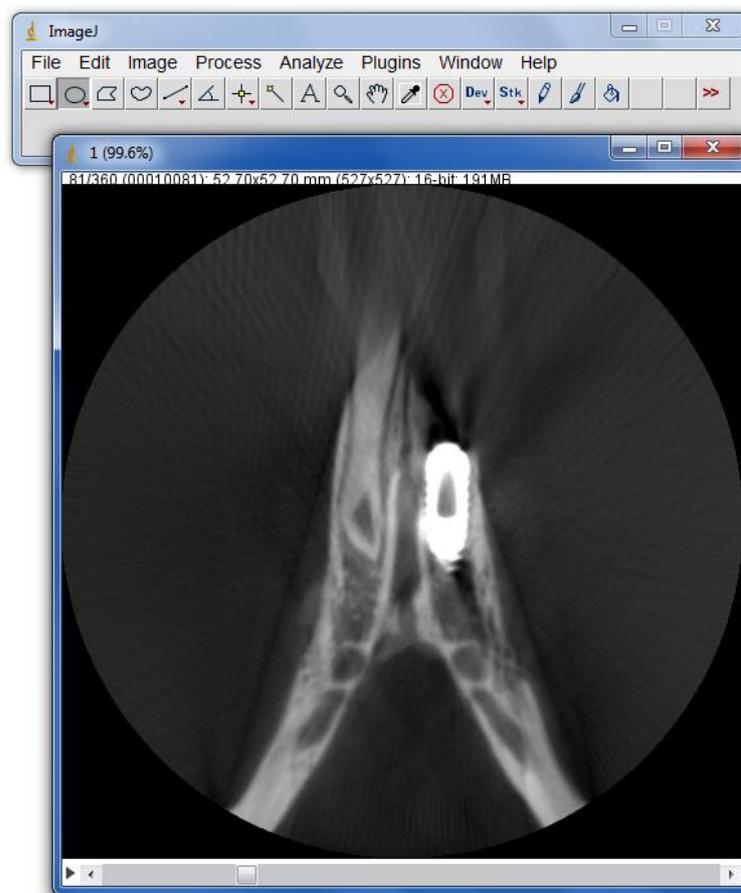
Após a reconstrução das imagens, fez-se a correção da angulação do longo eixo do implante em relação ao plano horizontal da imagem através do uso da ferramenta *Rotate* para cada imagem (Figuras 8).

Na análise dos níveis de cinza, correlacionados com o processo de atenuação e absorção dos raios X nas aquisições (densidade de imagem), foram selecionadas regiões de interesse (ROIs) entre as espiras cinco, seis e sete. Onde a espira de número um foi considerada aquela próxima a cervical do implante e a de número 12 a última espira, ou seja, a mais apical. Tal análise foi realizada para determinar a densidade de imagem associada à região perimplantar.

A análise limitou-se as espiras centrais devido a superfície externa do implante apresentar cavidades em formato helicoidal, na região apical do seu corpo, para auto-rosqueamento, o que na imagem tomográfica ocasiona o desaparecimento das espiras (Figuras 10 - seta e 11).

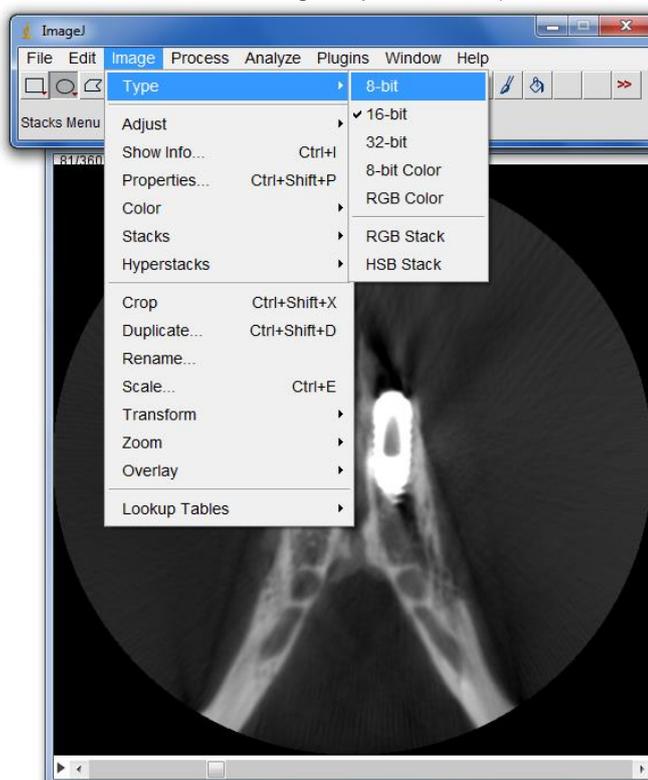
Os implantes utilizados apresentam espaço entre as espiras de 0,8mm, permitindo a utilização de duas metodologias para avaliação da densidade de imagem ao redor dos implantes: método de avaliação linear e método de avaliação retangular da área perimplantar. Ambas as metodologias foram aplicadas ao corte no plano sagital, correspondente ao centro do implante, o qual foi determinado quando se observava a maior área do parafuso interno do implante.

**Figura 4** – Imagens no plano axial carregadas no programa *ImageJ*

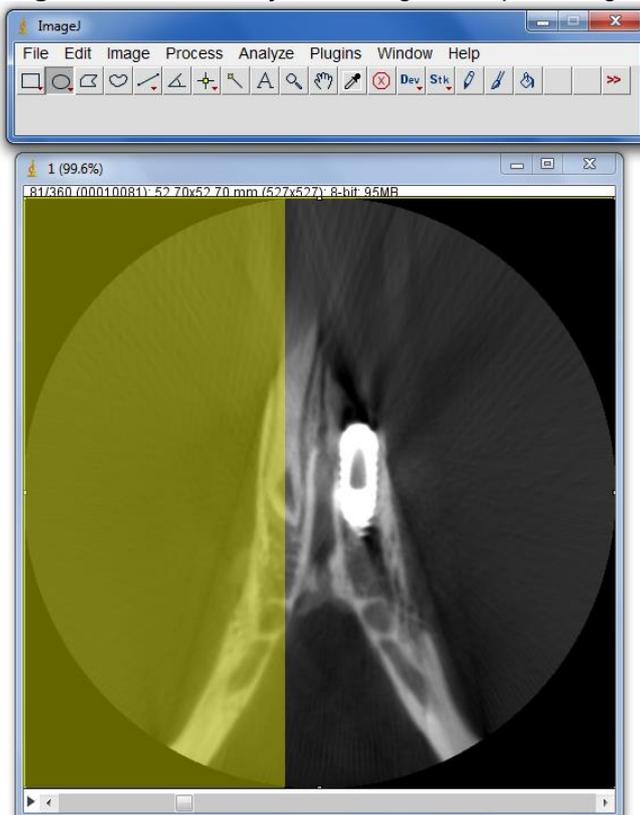


Fonte: Massotti (2013).

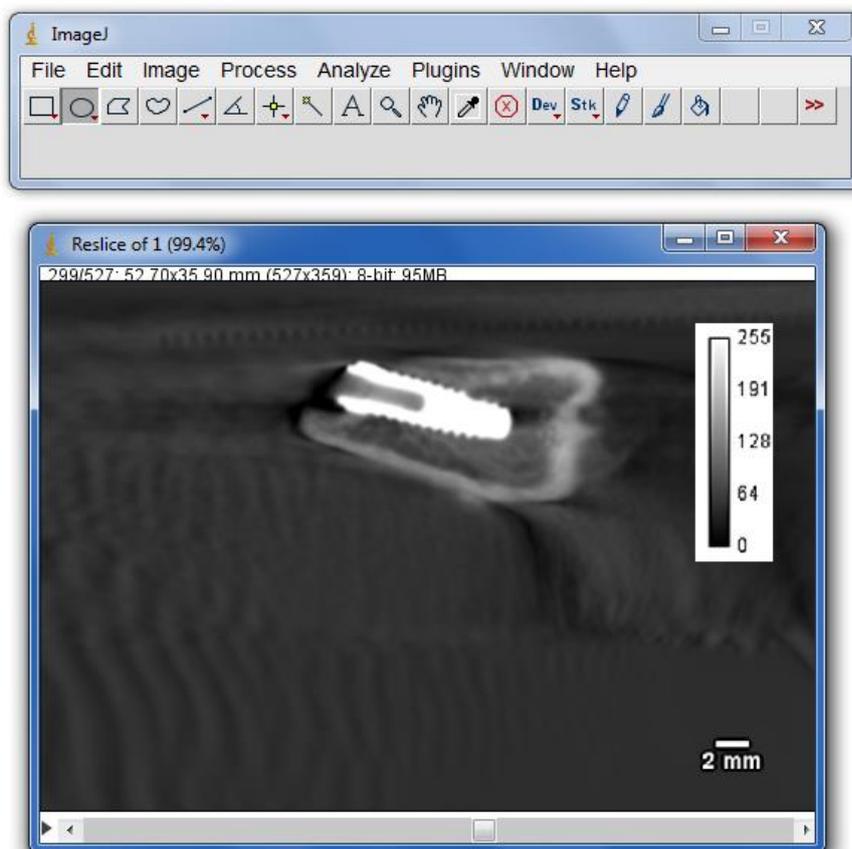
**Figura 5** – Conversão das imagens para 8 bits (256 níveis de cinza)



Fonte: Massotti (2013).

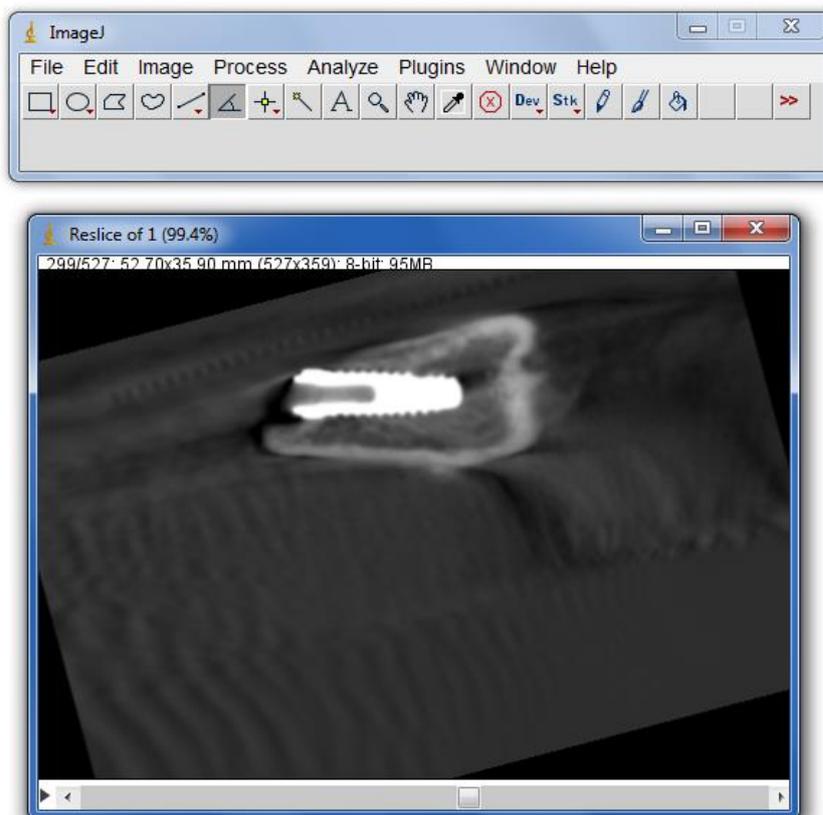
**Figura 6** – Reconstrução da imagem em plano sagital

Fonte: Massotti (2013).

**Figura 7** – Imagem no plano sagital com a escala de 256 níveis de cinza

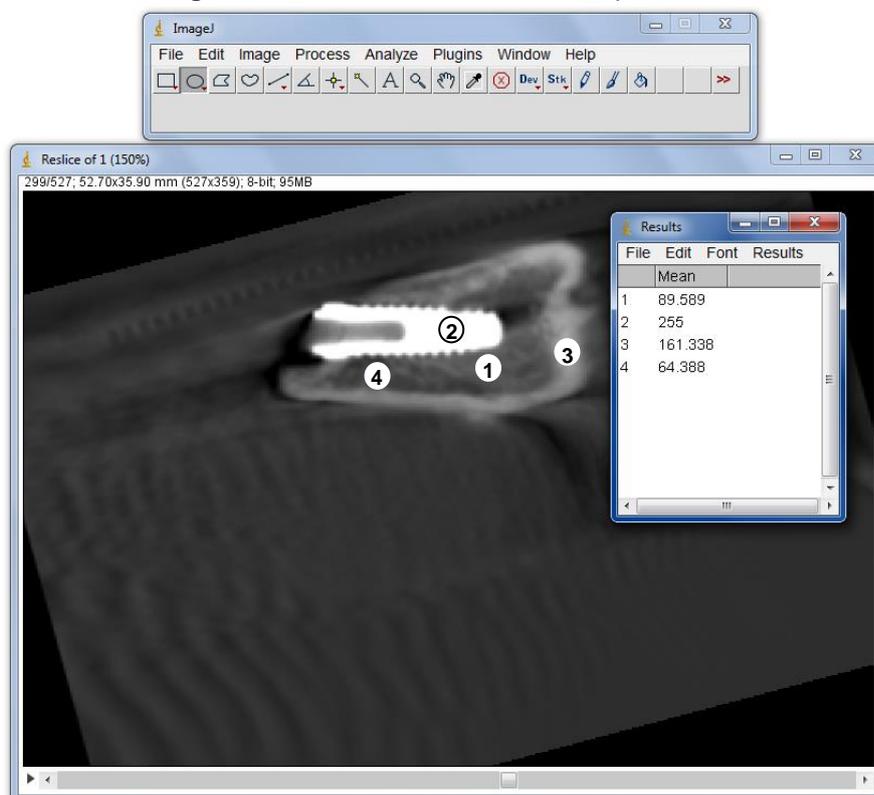
Demonstração da escala com os níveis de cinza. Fonte: Massotti (2013).

**Figura 8 – Rotação do longo eixo do implante**



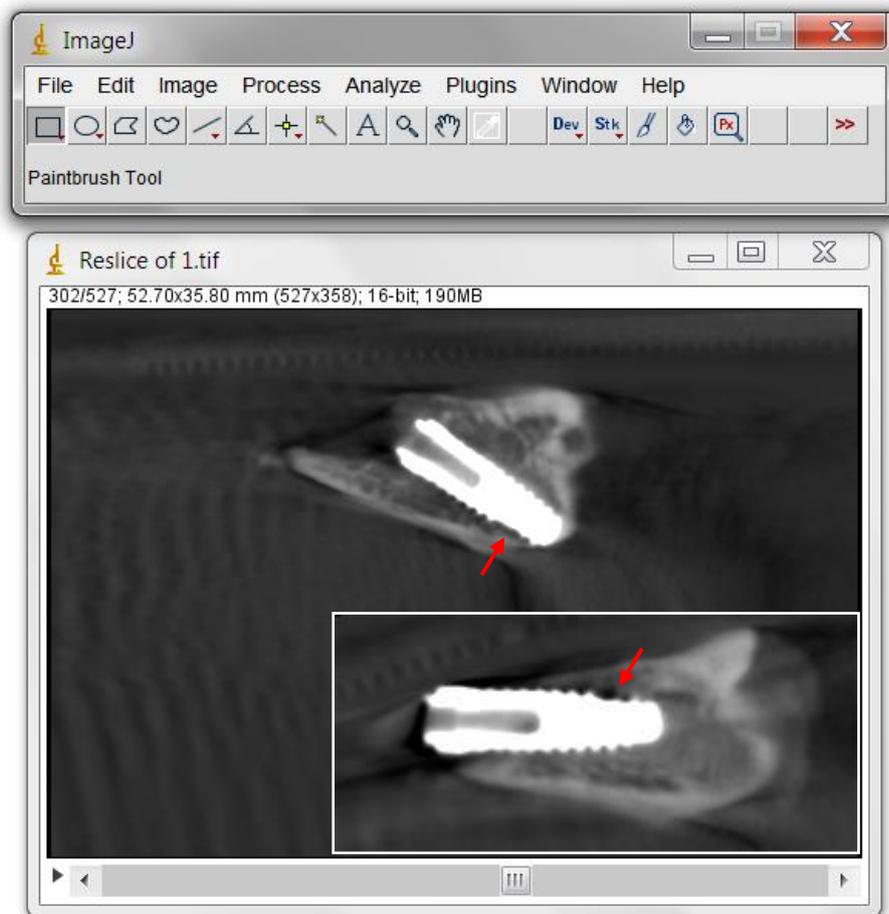
Longo eixo do implante paralelo ao plano horizontal da imagem. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 9 – Média dos níveis de cinza presentes**



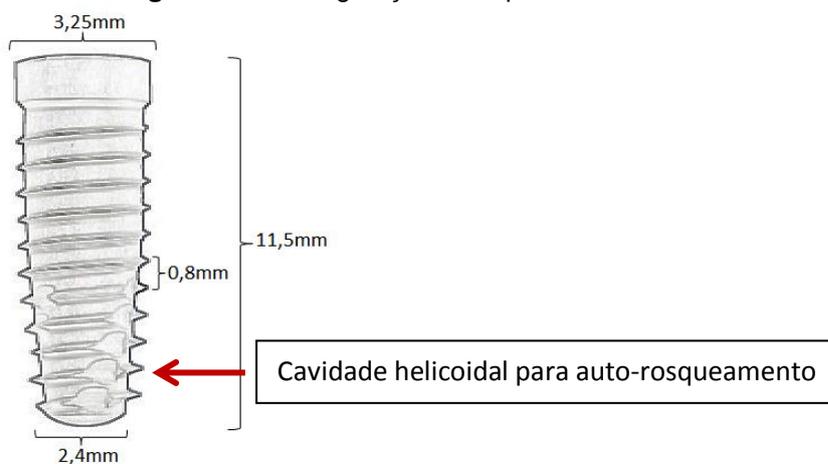
Média dos níveis de cinza: 1) osso medular = 89,58; 2) implante = 255; 3) osso cortical = 161,33; 4) osso medular = 64,38. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 10** – Configuração do implante na imagem tomográfica



Desaparecimento das espiras na região apical do corpo do implante devido as cavidades em formato helicoidal (seta). **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 11** – Configuração do implante Nanotite®



**Fonte:** modificado de BIOMET 3i.

### 5.7.1 Avaliação Linear TCFC

Com o corte tomográfico central do implante posicionado, duas ROIs foram selecionadas para avaliação linear em 2,4mm na face vestibular e lingual de cada implante.

Uma linha foi desenhada unindo o topo das espiras cinco, seis e sete. Então os níveis de cinza dos *pixels* posicionados sobre a linha foram avaliados, gerando um perfil de superfície perimplantar (Figuras 12 e 13). Os dados referentes à média desses níveis geram um gráfico o qual mostra valores maiores relacionados ao implante e valores menores correspondendo a quantidade óssea entre as espiras.

Os valores dos níveis de cinza obtidos nas porções centrais de cada espira, ou seja, que estavam nas distâncias 0,4mm, 1,6mm e 2mm para cada face do implante, referente a lingual e a vestibular, geraram uma média que representou somente um valor final médio de nível de cinza por implante.

Todos os dados obtidos foram exportados, em forma de tabela, para o programa *Windows Excel*<sup>9</sup> a fim de se obter os dados gráficos das variações de densidade das unidades experimentais, em níveis de escala de cinza. As análises foram realizadas sob supervisão da Física Médica Geisa da Silva Medeiros (ABFM 1541) a partir dos valores adquiridos para avaliar a densidade de imagem proveniente das imagens tomográficas de feixe cônico.

---

<sup>9</sup> *Microsoft Corporation*

**Figura 12 – Avaliação linear da região vestibular**

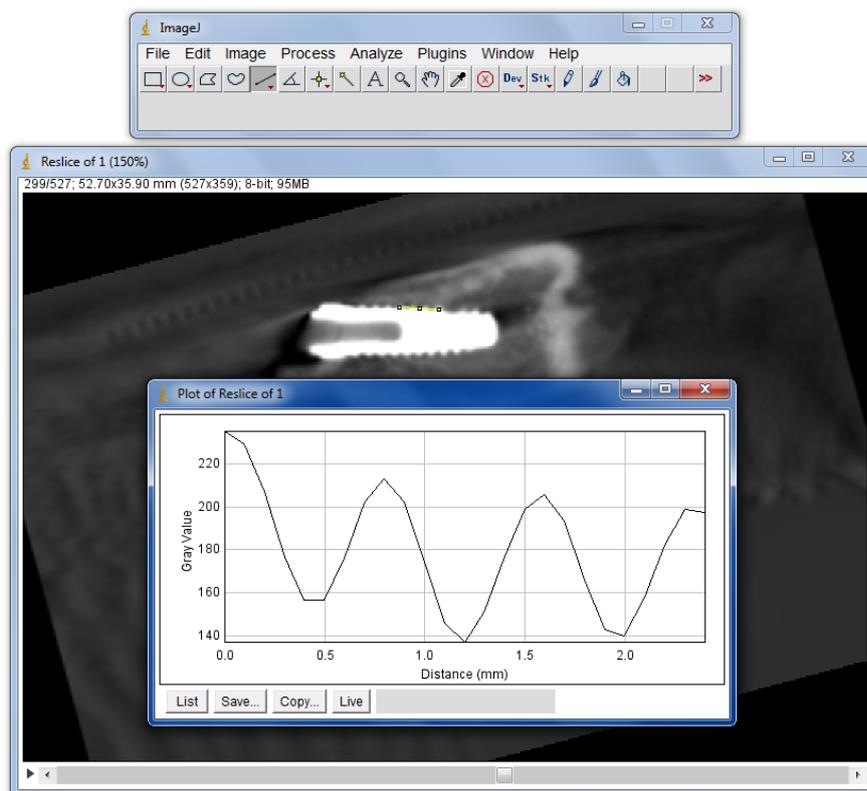


Gráfico dos níveis de cinza presentes entre as espiras 5, 6 e 7. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 13 – Avaliação linear da região lingual**

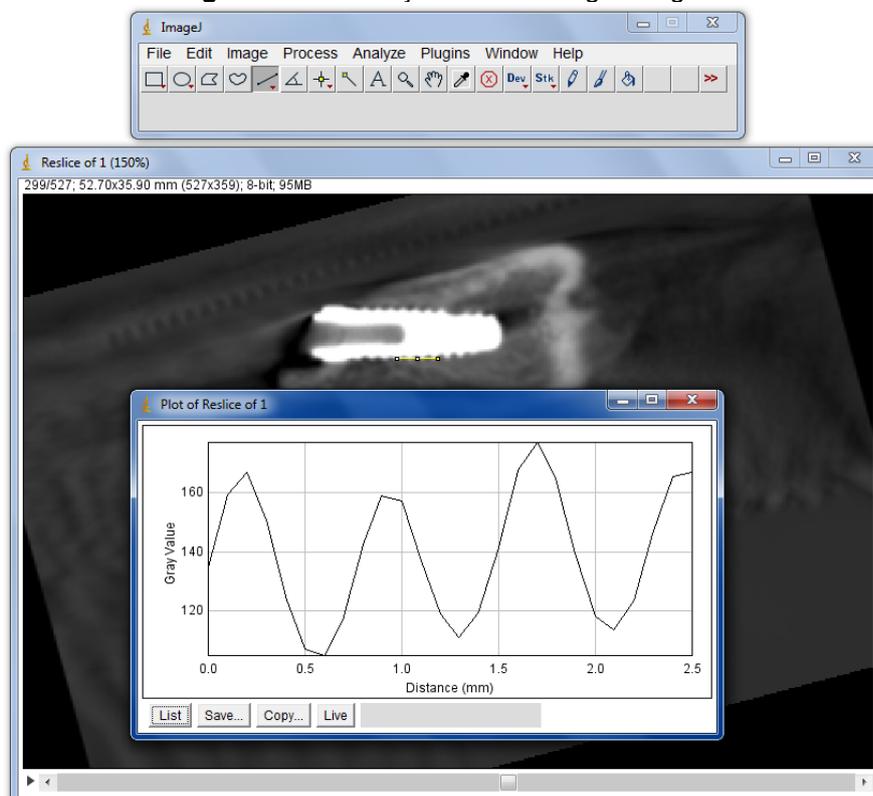


Gráfico dos níveis de cinza presentes entre as espiras 5, 6 e 7. **Fonte:** Massotti (2013).

### 5.7.2 Avaliação Retangular TCFC

Com a imagem posicionada no corte tomográfico central foi delimitado um retângulo de 1,2mm de altura e 2,5mm de base, o qual corresponde há uma área de 3mm<sup>2</sup>. A limitação da área baseou-se na distância entre as espiras do implante dentário utilizado a qual é de 0,8mm; a distância entre três espiras ficou limitada a 2,5mm.

O retângulo foi posicionado sobre as espiras cinco, seis e sete, de forma que os limites da base correspondiam ao centro do pico das espiras cinco e sete, padronizando a posição da área avaliada (Figuras 14 e 15). Desta forma, além da área óssea perimplantar também foram capturados dados referentes à imagem do implante, o qual apresenta valores compatíveis ao branco gerando alteração da média de níveis de cinza.

Para evitar tal interferência dos *pixels* brancos, somente as zonas ósseas de interesse foram selecionadas através de métodos matemáticos que realizaram a segmentação da imagem, removendo-se tais *pixels*. Portanto, a área de avaliação foi reduzida para uma área média de 2,05mm<sup>2</sup>.

Como foram avaliadas duas áreas, referentes a vestibular e a lingual, em cada implante, as médias e os desvios-padrões iniciais foram somados e nova média e desvio gerados para que cada implante apresentasse somente um valor final médio de nível de cinza.

Todos os dados obtidos foram exportados, em forma de tabela, para o programa *Windows Excel*<sup>®10</sup> a fim de se obter os dados gráficos das variações de densidade das unidades experimentais, em níveis de escala de cinza. As análises foram realizadas sob supervisão da Física Médica Geisa da Silva Medeiros (ABFM 1541) a partir dos valores adquiridos para avaliar a densidade de imagem proveniente das imagens tomográficas de feixe cônico.

---

<sup>10</sup> Microsoft Corporation

**Figura 14 – Avaliação retangular da região vestibular**

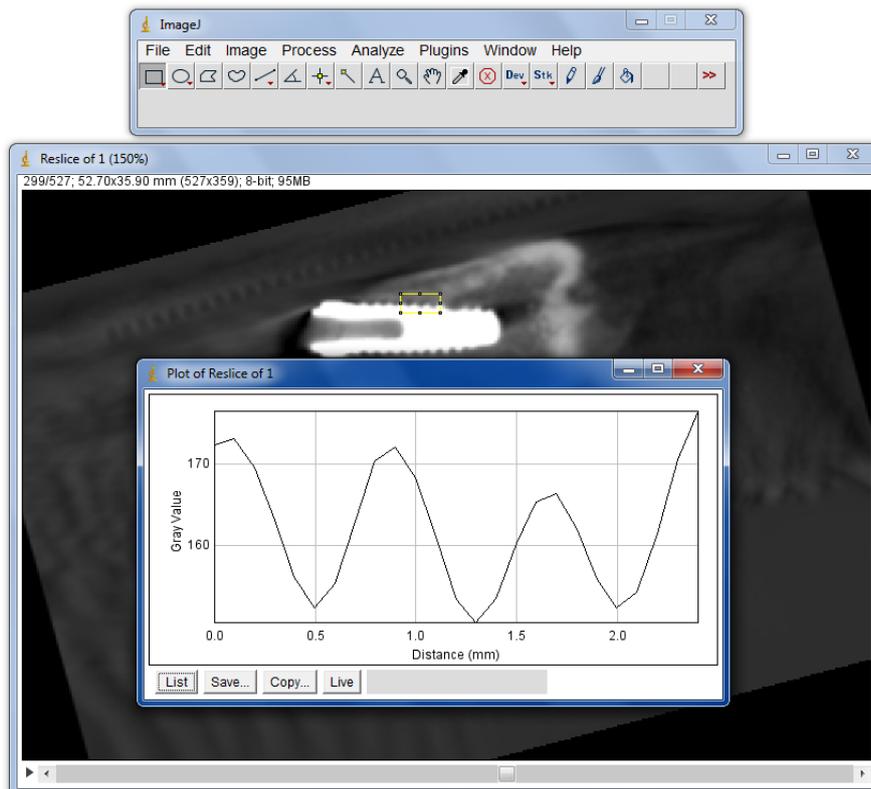


Gráfico dos níveis de cinza presentes entre as espiras 5, 6 e 7. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 15 – Avaliação retangular da região lingual**

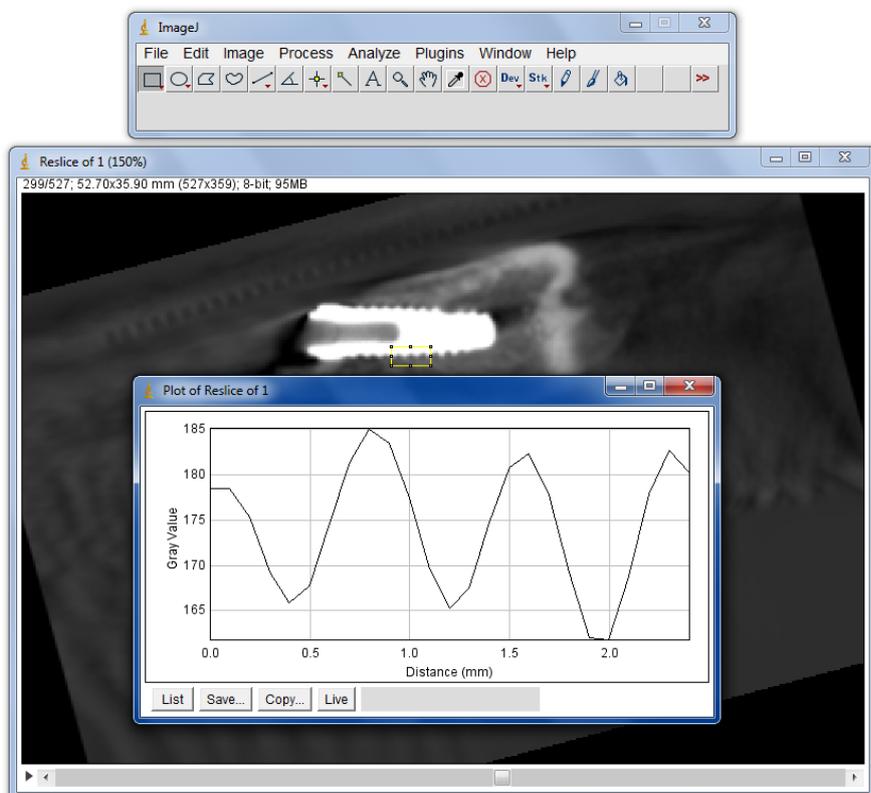


Gráfico dos níveis de cinza presentes entre as espiras 5, 6 e 7. **Fonte:** Massotti (2013).

## 5.8 AVALIAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA

A técnica de seccionar implantes metálicos juntamente com o tecido ósseo surgiu na década de 70 do século passado e permitiu a realização de estudos com cortes histológicos com espessura de até 10µm. Com esta técnica de preparação foi possível preservar intacta a interface entre o implante e o osso para análise.

Após a aquisição das imagens tomográficas as 24 peças operatórias foram cortadas na linha média, separando o lado contendo implante dentário, em seguida foi realizada a secção da mandíbula na região distal do 1º molar inferior com disco de aço diamantado montado em motor de baixa rotação sob irrigação com solução fisiológica 0,9% para não aquecer a margem óssea e danificar estruturas tendo uma margem segura do ápice do implante (Figura 16).

Após esta etapa, 24 peças foram submetidas ao processo de desidratação em uma série de banhos: 1º banho – álcool 70%, durante 7 dias; 2º banho – álcool 80%, durante 7 dias; 3º banho – álcool 90%, durante 7 dias; 4º banho – álcool 100%, durante 7 dias. Na sequência, realizou-se o processo de inclusão em resina LR White – médium<sup>11</sup> em misturas de álcool 100% conforme concentrações a seguir: 1º banho – 50% de resina + 50% de álcool 100%, durante 7 dias; 2º banho – 70% de resina + 30% de álcool 100%, durante 7 dias; 3º banho – 90% de resina + 10% de álcool 100%, durante 7 dias; 4º banho – 100% de resina, durante 7 dias. Adição do catalizador previamente ao processo de polimerização (Figura 17).

Após a sequência de banhos a polimerização da resina foi realizada de forma que as 24 peças foram mantidas em forno a temperatura de 60°C durante 24 horas (Figura 18).

Após o processo de polimerização, os blocos foram desgastados em politriz com lixa de granulação 600 a fim obter um paralelismo entre o implante e a superfície da resina (Figura 18). Em seguida os blocos foram aderidos a lâminas de acrílico apresentando dimensões 50x100mm utilizando-se adesivo instantâneo<sup>12</sup>.

---

<sup>11</sup> LR White Embedding Resin Kit: Medium grade. EMSscience, Hatfield, PA, Estados Unidos.

<sup>12</sup> Scotch® Bond, 3M do Brasil Ltda. Via Anhanguera, km 110, Sumaré – SP, Brasil.

Após a fixação às lâminas, as peças foram cortadas em micrótomo para tecido duro EXACT *Diamond Band Saw* com fitas impregnadas por partículas de diamante<sup>13</sup>, em velocidade calibrada, até chegar à região de interesse para análise. Em seguida, as peças passaram por um processo de polimento em equipamento próprio EXACT *Grinding System*, com lixas de granulação em ordem crescente, 1000<sup>14</sup>, 1500<sup>15</sup>, 2000<sup>16</sup>. Para cada lixa utilizou-se um tempo específico. Para tal iniciou-se o processo mantendo a peça durante cinco minutos sobre a lixa 1000, em seguida três minutos sobre a lixa 1500 e, por fim, três minutos sobre a lixa 2000 (Figura 19).

A superfície polida dos cortes foi, então, aderida a lâminas de acrílico de dimensões 25x75mm novamente com adesivo instantâneo. Após esta polimerização, as peças foram cortadas no micrótomo, em velocidade calibrada, até chegar à região de interesse para análise (Figura 19).

Removeram-se as lâminas de acrílico maiores, e as superfícies ainda não polidas passaram, então, pelo processo de polimento em uma politriz até a espessura aproximada de 30µm (Figura 19).

Esta etapa do projeto foi realizada no Laboratório de Anatomia da Faculdade de Odontologia de Bauru/SP (ANEXO G).

---

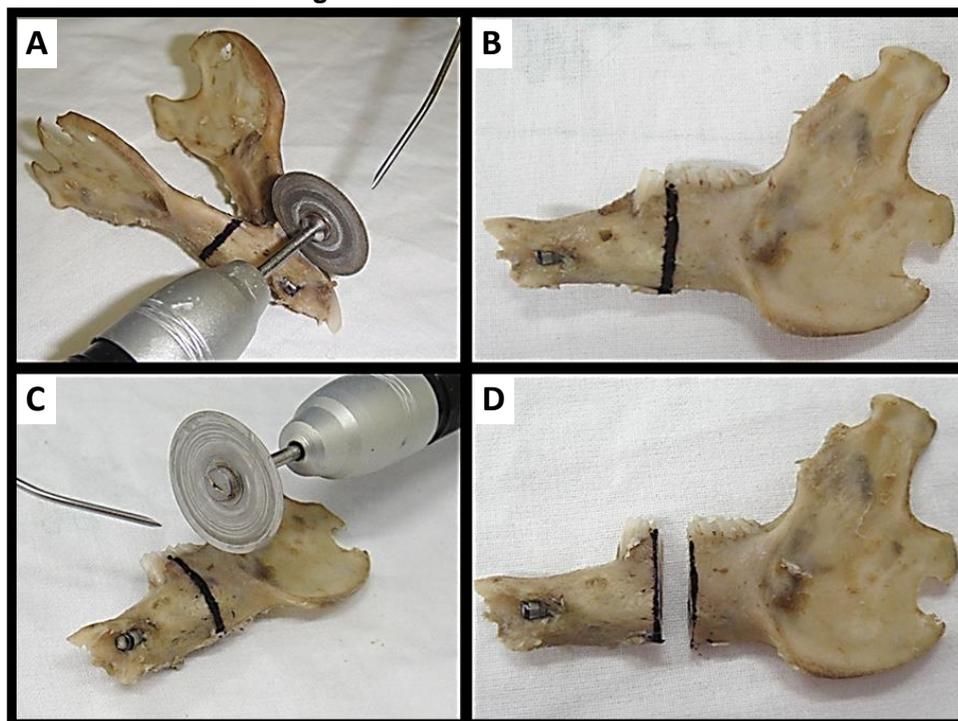
<sup>13</sup> Diamond Cutting Band, 0,2mm, D64, EXACT, Nordestedt, Schleswing-Holstein, Alemanha.

<sup>14</sup> Grinding Paper K1000, EXACT, Nordestedt, Schleswing-Holstein, Alemanha.

<sup>15</sup> Grinding Paper K1500, EXACT, Nordestedt, Schleswing-Holstein, Alemanha.

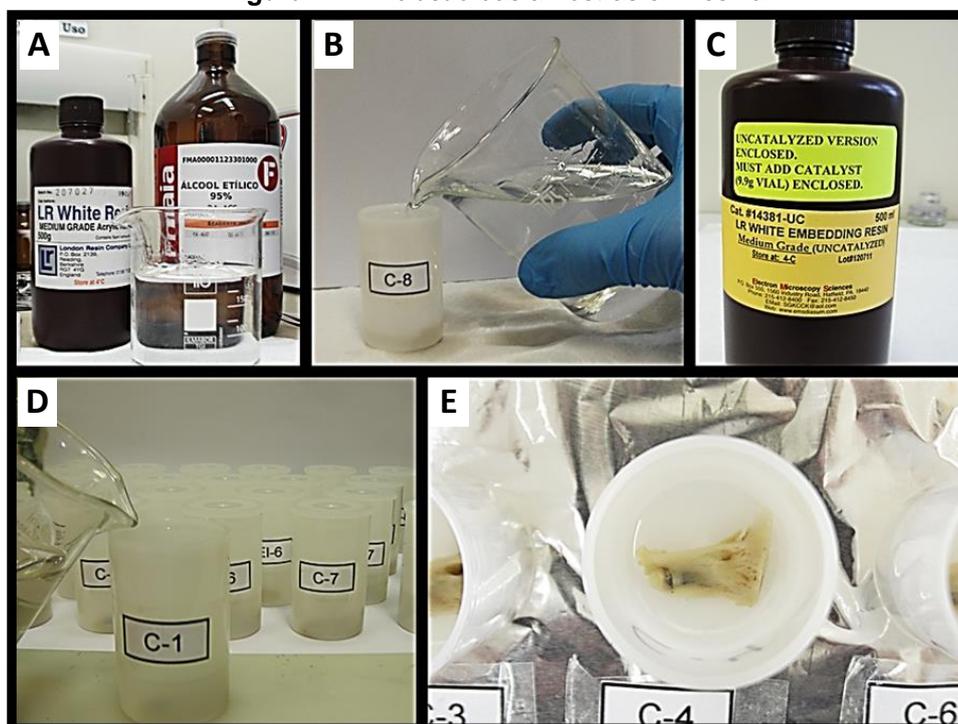
<sup>16</sup> Polishing Paper K2000, EXACT, Nordestedt, Schleswing-Holstein, Alemanha.

Figura 16 – Corte das mandíbulas



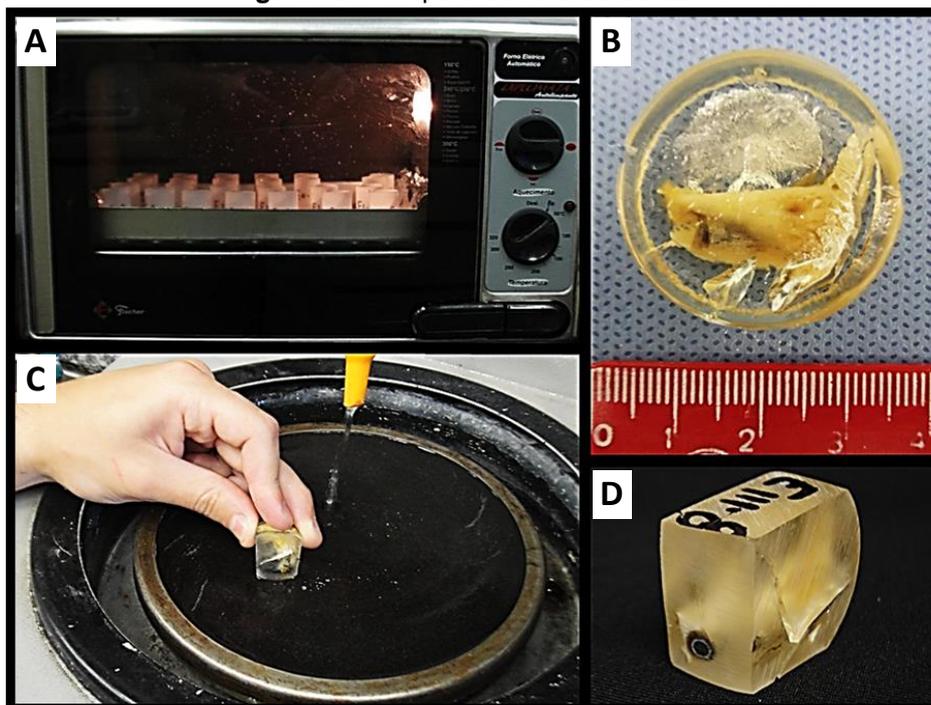
A) corte com disco de aço diamantado na linha média separando o lado que recebeu implante dentário; B) hemimandíbula do lado esquerdo; C) corte na região distal ao primeiro molar inferior com disco diamantado; D) separação do fragmento anterior da mandíbula contendo o implante dentário. **Fonte:** Massotti (2013).

Figura 17 – Inclusão das amostras em resina



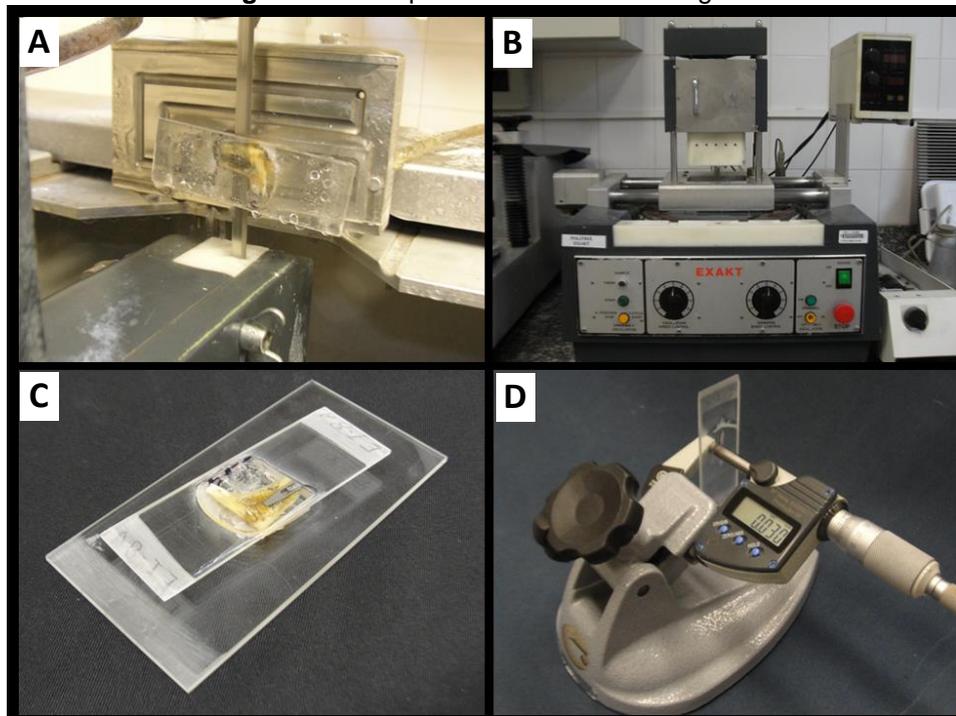
A) resina LR White diluída em álcool etílico 95%; B) imersão das amostras em diferentes concentrações da resina; C) catalizador; D) colocação do catalizador após manutenção das amostras em resina 100% durante 7 dias; E) amostras prontas para serem submetidas ao processo de polimerização. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 18 – Preparo dos blocos de resina**



A) termopolimerização da resina à 60°C por 24 horas; B) bloco contendo o segmento anterior da mandíbula após polimerização da resina C) desgaste dos blocos em politriz com lixa de granulação 600; D) bloco após o desgaste demonstrando o paralelismo entre o implante e a superfície da resina. Fonte: **Massotti** (2013).

**Figura 19 – Preparo das lâminas histológicas**



A) corte da amostra em micrótomo para tecido duro EXACT *Diamond Band Saw* com fitas impregnadas por partículas de diamante; B) polimento em equipamento EXACT *Grinding System*; C) superfície polida do corte aderida à lâmina de acrílico de dimensão 25x75mm; D) obtenção de 30µm de espessura da lâmina após a sequência de polimento. Fonte: **Massotti** (2013).

As lâminas obtidas foram coradas por Hematoxilina-Eosina (HE) e Picrosirius-Red (PR) na Unidade de Patologia Experimental (UPE), do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) conforme o procedimento operacional padrão (POP) estabelecido na Instituição (ANEXO H, ANEXO I e ANEXO J), sob orientação da Profa. Dra. Luise Meurer (Figuras 20 e 21).

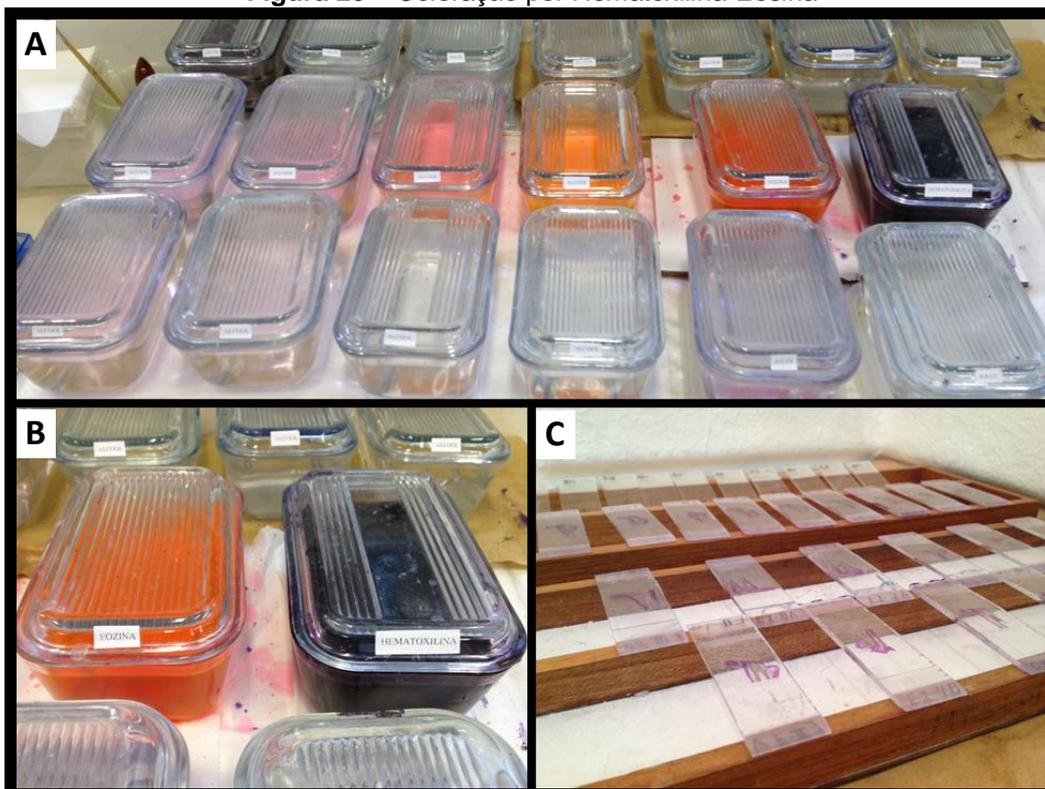
A análise microscópica das secções das áreas perimplantares dos coelhos foram realizadas na Unidade de Patologia Experimental (UPE), do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A avaliação foi realizada por meio da análise quantitativa e comparativa das lâminas, coradas com a técnica HE e PR.

As imagens foram analisadas em microscópio óptico em aumento de 100x (Olympus BX51, Olympus Corporation, Japão), capturadas por meio de uma câmera fotográfica digital (Olympus U-TV0.5XC-3), acoplada ao microscópio de luz e armazenadas em arquivo TIFF (.tif) utilizando o *software Qcapture Pro* com resolução de imagem de 2560x1920 (*full frame*) para as lâminas HE e de 1280x960 para as lâminas de PR e 36 bits de cor por *pixel*.

A análise histomorfométrica é uma análise quantitativa, sendo mais objetiva e precisa. Atualmente existem programas de processamento digital da imagem, que vêm proporcionando inúmeras vantagens como uma melhor qualidade da imagem, maior velocidade, maior precisão, reprodutibilidade e durabilidade de trabalhos que envolvem alguma manipulação de imagens. Dessa forma foi utilizado o *software* de análise de imagens *ImageJ*, versão 1.46r, o mesmo aplicado na análise tomográfica.

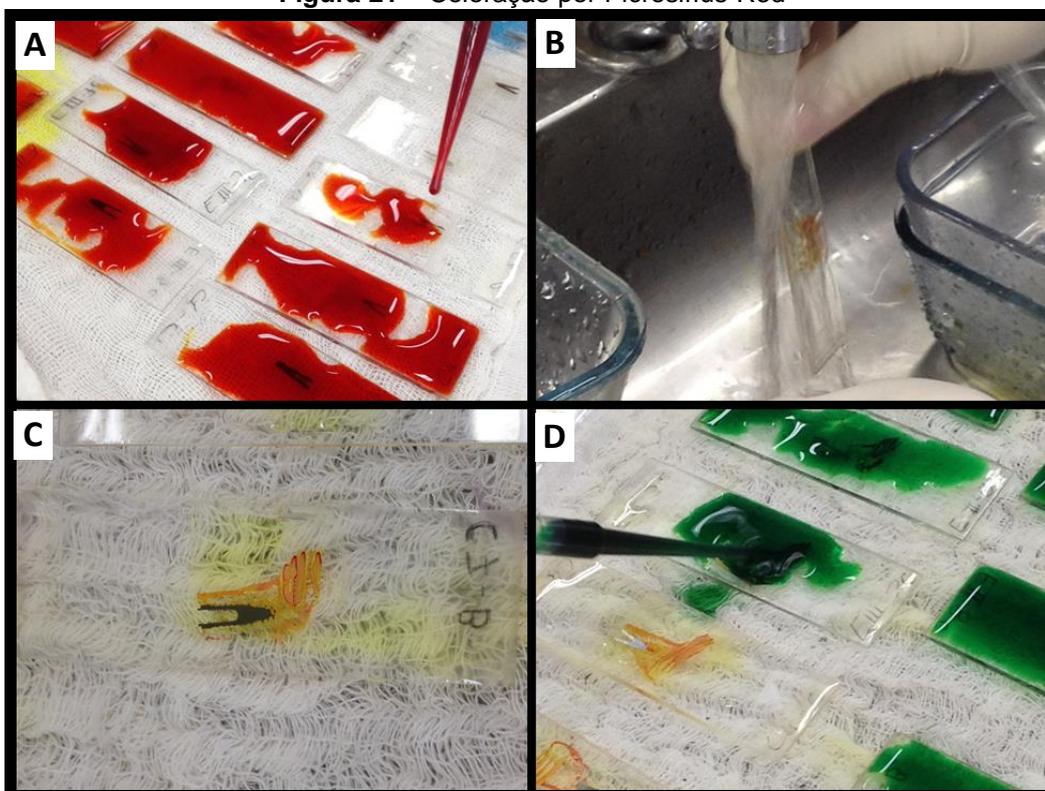
Foram calculados os valores em porcentagem da área óssea retangular (%AOR), da área de tecido ósseo presente no interior da espira (%AOE), da extensão linear de contato entre osso e implante (%ELCOI) e da área de fibras colágenas (%FC) entre as 3 espiras centrais (espiras 5, 6 e 7) na face vestibular e na face lingual de cada implante.

**Figura 20 – Coloração por Hematoxilina-Eosina**



A) sequência de banhos; B) eosina e hematoxilina; C) lâminas coradas. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 21 – Coloração por Picrosirius-Red**



A) aplicação da solução de Sirius Red durante 30 minutos; B) lavagem em água corrente; C) lâmina após aplicação da solução de Sirius Red; D) aplicação da solução de Fast Green durante 3 minutos. **Fonte:** Massotti (2013).

### 5.8.1 Análise histomorfométrica das lâminas coradas por HE

Para realizar estas análises foi utilizado o programa Adobe<sup>®17</sup> *Photoshop*<sup>®</sup> CS6 13.0.1 *Extended* a fim de agrupar as imagens capturadas de cada espira em apenas uma imagem referente a cada região vestibular e lingual (Figuras 22 e 23). As imagens foram avaliadas histomorfometricamente no *software ImageJ*. Com a imagem aberta, determinou-se a escala utilizada (1500 *pixels*/mm de acordo com resolução de imagem de 2560x1920) conforme instruções da Unidade de Patologia Experimental (Figura 24).

A avaliação da área óssea retangular (AOR) iniciou pela delimitação da área, onde a largura sempre foi de 2,5mm e a altura teve variações a fim de padronizar a mesma área retangular obtida previamente pela análise tomográfica (Figura 25).

Com a área retangular delimitada, seguiu-se a demarcação e o cálculo do tecido ósseo presente (Figuras 26 e 27). Assim, calculou-se o valor em porcentagem da área óssea retangular ( $\%AOR = \text{osso presente} \times 100 / \text{área retangular}$ ) para cada região do implante (vestibular e lingual). Os valores em porcentagem obtidos da área óssea retangular foram exportados em forma de média por implante para tabelas no programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

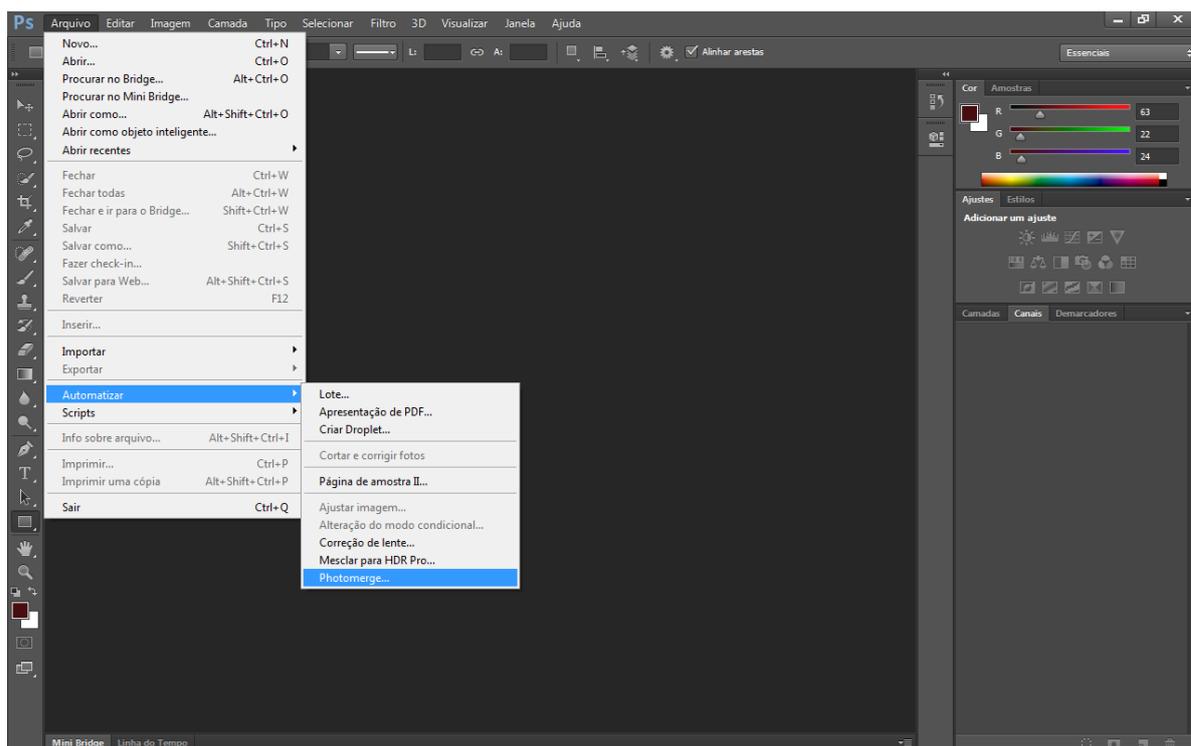
Em seguida, realizou-se a aferição da largura da espira (Figura 28) e a mensuração da área e do perímetro de cada espira (Figura 29). Procedeu-se a demarcação e o somatório da área óssea presente no interior da espira (AOE) (Figuras 30 e 31) e da extensão linear de contato entre osso e implante de cada espira (ELCOI) (Figuras 32 e 33). A análise da AOE foi realizada por dois avaliadores previamente calibrados para posterior correlação dos dados.

Os valores em porcentagem da ELCOI ( $\%ELCOI = ELCOI \times 100 / \text{Perímetro}$ ) e da AOE para os dois avaliadores ( $\%AOE = \text{osso presente no interior da espira} \times 100 / \text{área total da espira}$ ) foram transferidos em forma de média por implante para tabelas no programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

---

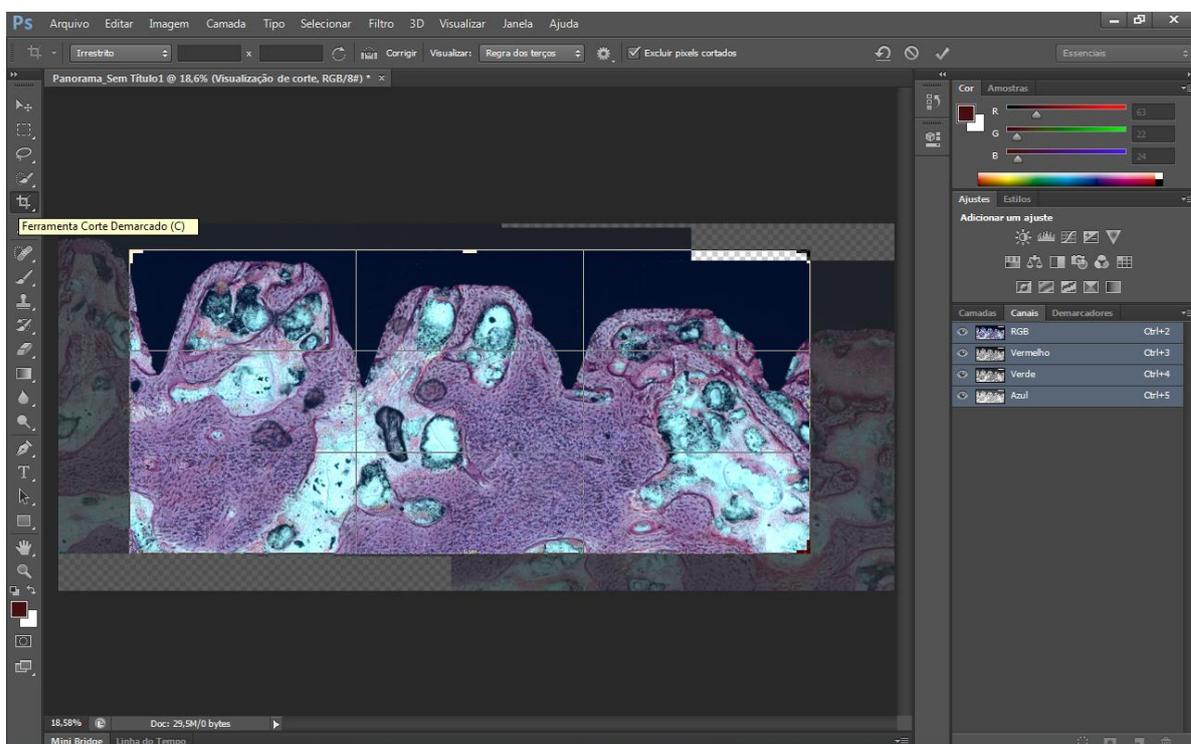
<sup>17</sup> Adobe Systems Brasil. Rua James Joule, 65 / conj.141, São Paulo – Brasil.

Figura 22 – Software Adobe® Photoshop®



Utilização da ferramenta *photomerge* para agrupamento por reposição das três imagens. **Fonte:** Massotti (2013).

Figura 23 – Imagens agrupadas



Corte demarcado da imagem para delimitar apenas as espiras 5, 6 e 7 das lâminas histológicas coradas por HE do Grupo EIII-1 em aumento de 100x. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 24** – Definição da escala da imagem no programa *ImageJ*

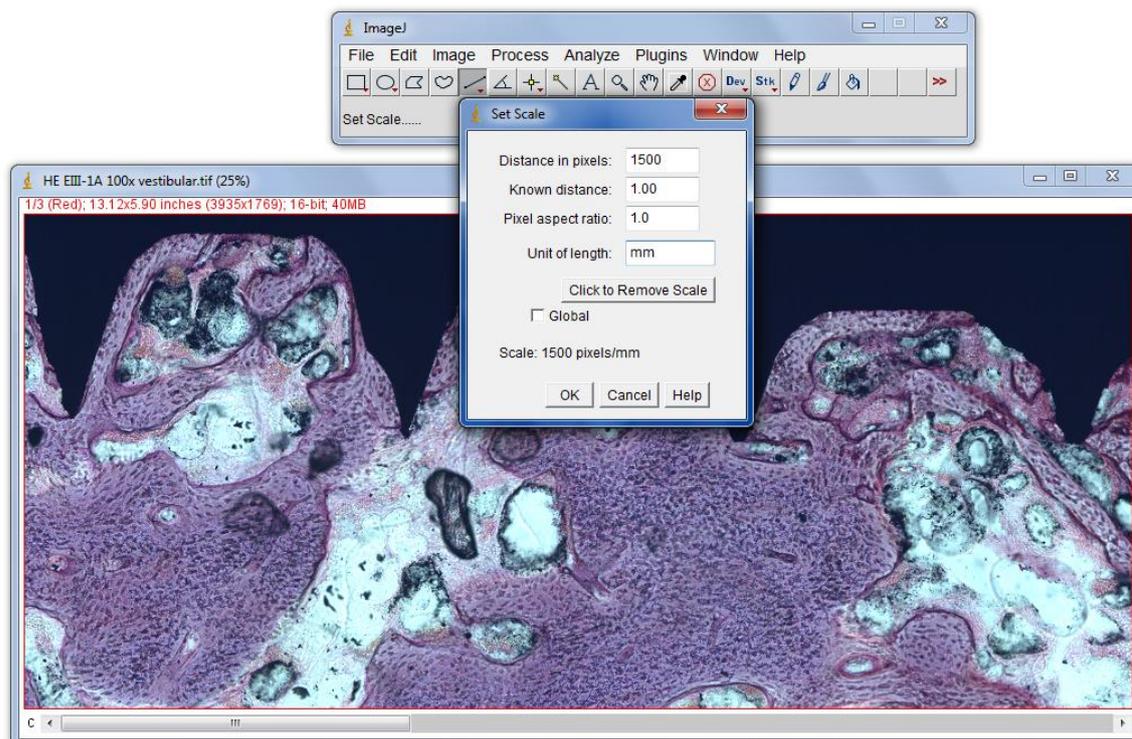


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Escala da imagem em 1500 *pixels* por milímetro. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 25** – Delimitação da área de análise retangular vestibular

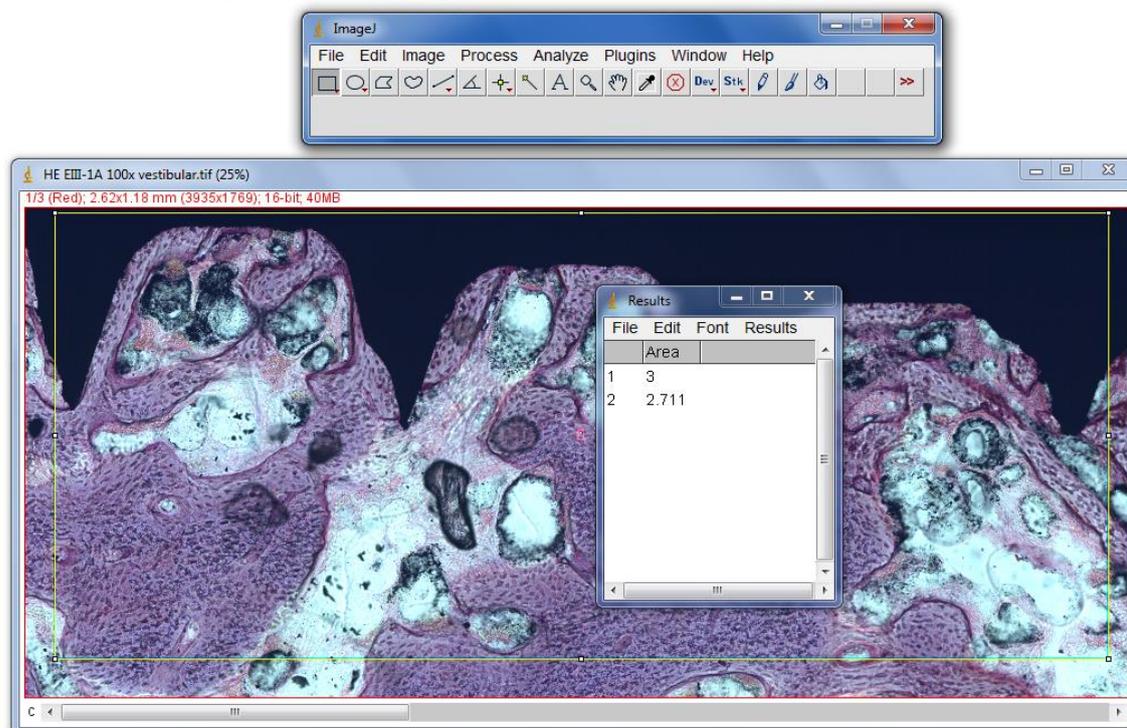


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Valor da área total: 3mm<sup>2</sup>. Valor da área equiparada a TCFC: 2,71mm<sup>2</sup>. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 26** – Seleção da área óssea retangular presente na região vestibular

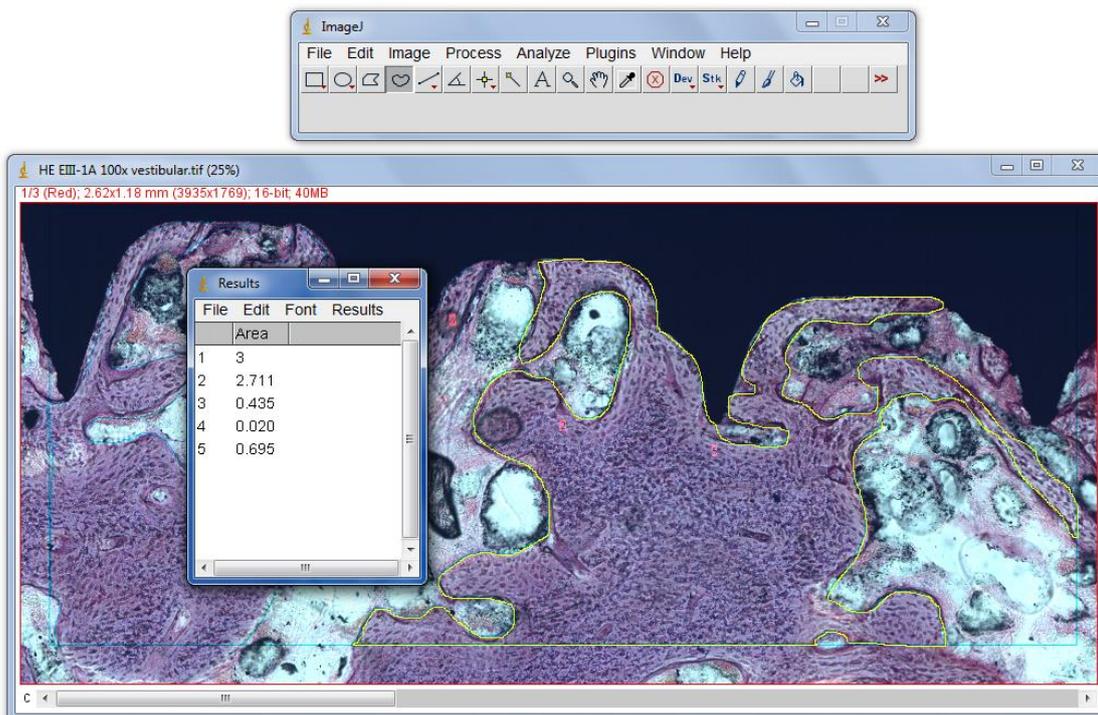


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Área óssea presente:  $0,435\text{mm}^2 + 0,695\text{mm}^2$ . **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 27** – Somatório da área óssea retangular presente na região vestibular

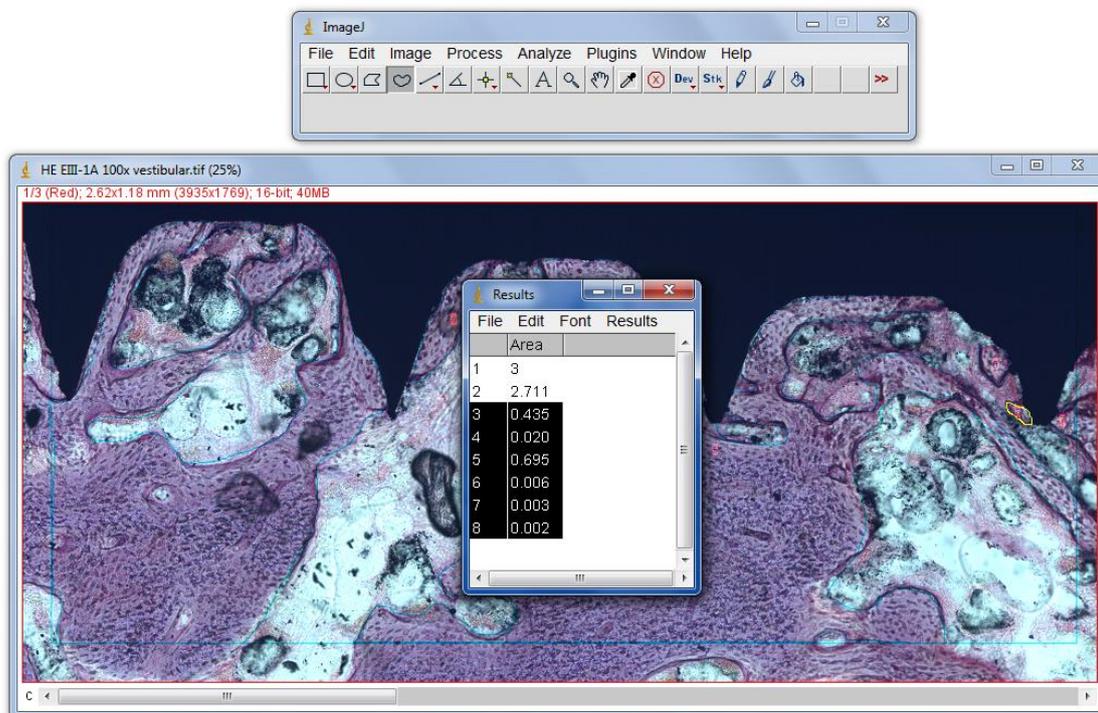


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Área óssea presente:  $0,434\text{mm}^2 + 0,02\text{mm}^2 + 0,695\text{mm}^2 + 0,006\text{mm}^2 + 0,003\text{mm}^2 + 0,002\text{mm}^2 = 1,16\text{mm}^2$ . **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 28** – Aferição da largura da espira seis na região vestibular

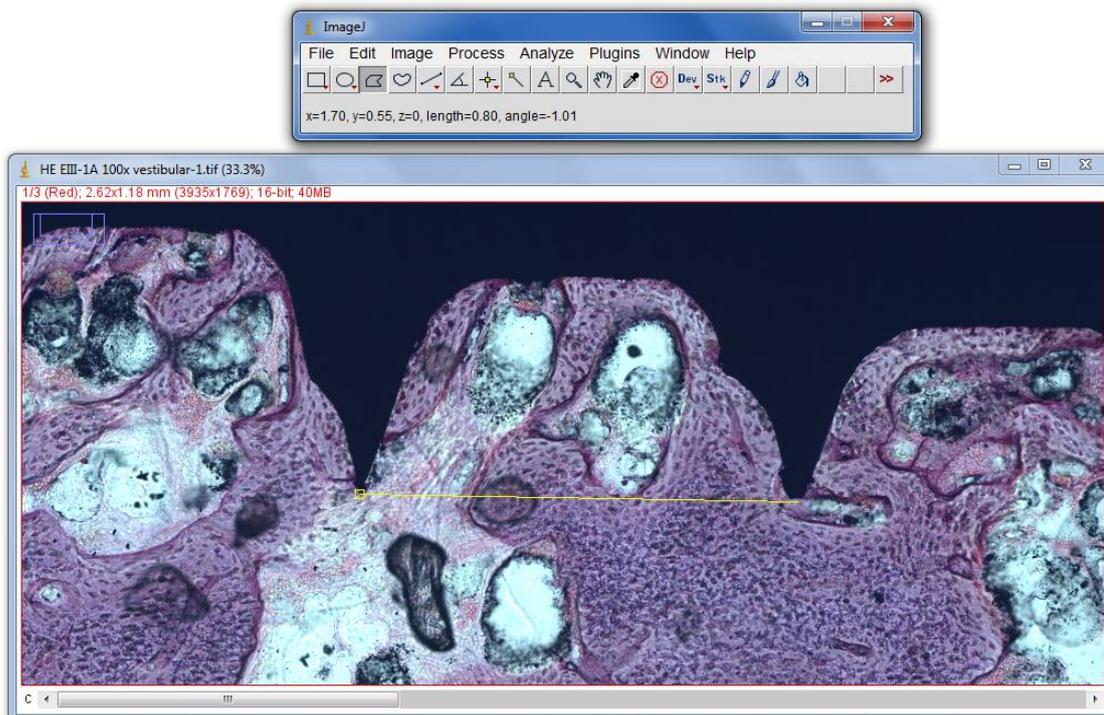


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Largura da espira: 0,8mm. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 29** – Demarcação da área total e do perímetro da espira seis da região vestibular

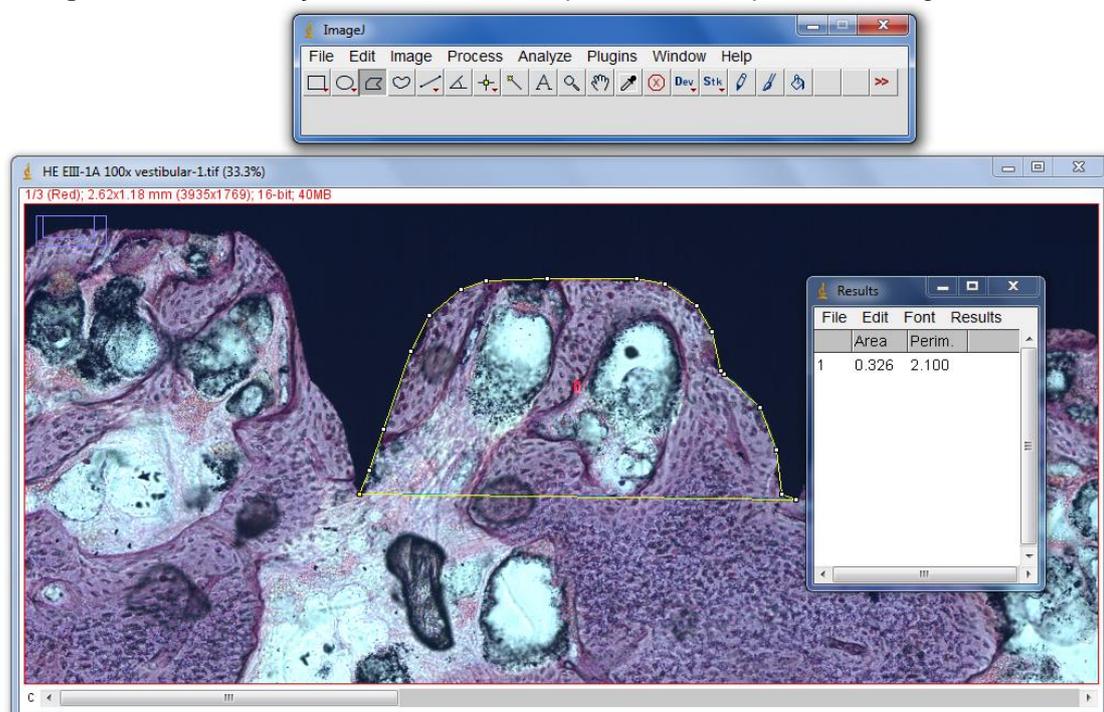


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Área total da espira: 0,326mm<sup>2</sup>. Perímetro: 2,1mm. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 30** – Seleção da área óssea presente no interior da espira seis da região vestibular

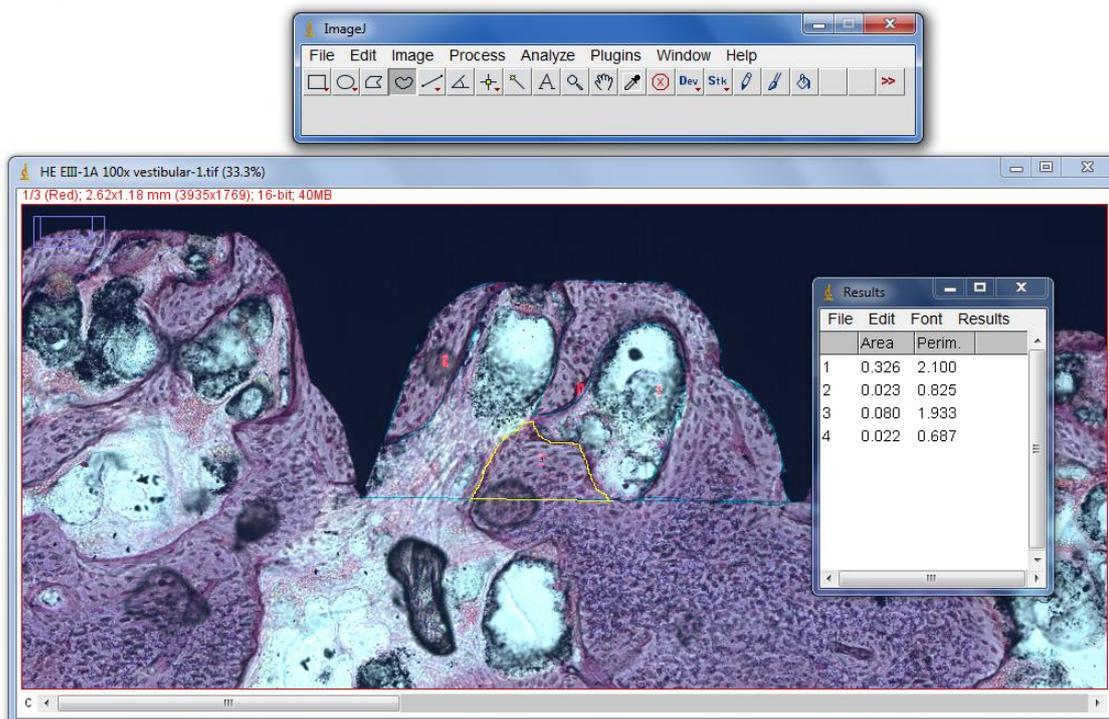


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Área óssea:  $0,023\text{mm}^2 + 0,08\text{mm}^2 + 0,022\text{mm}^2$ . **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 31** – Somatório da área óssea da espira seis da região vestibular

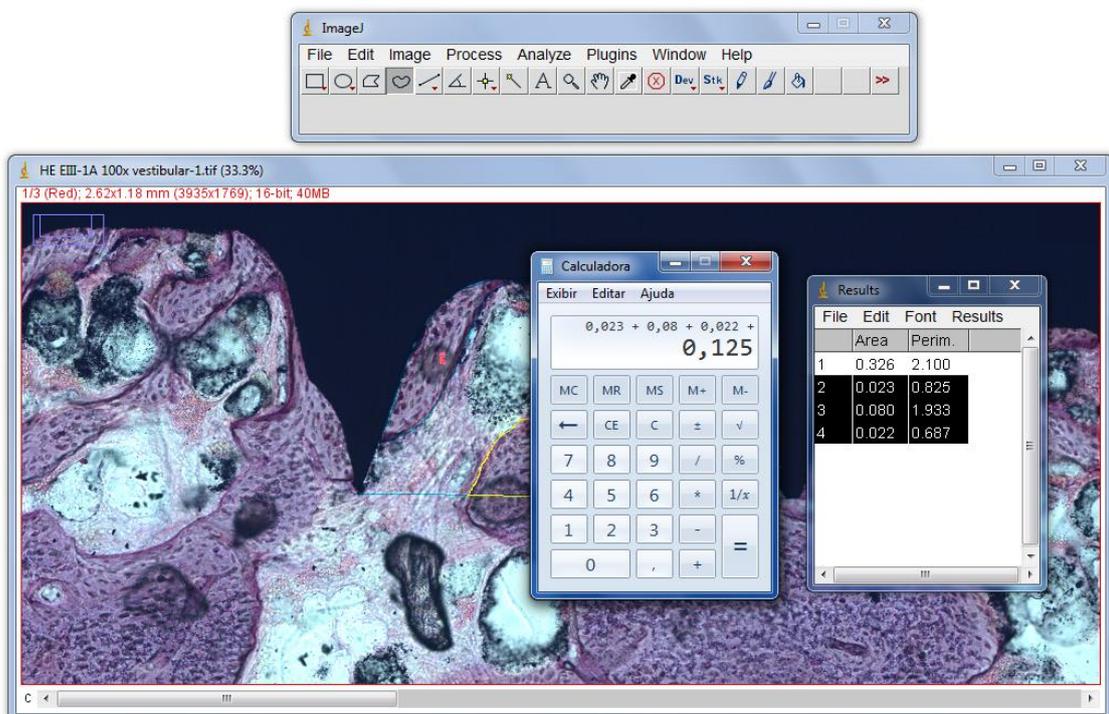


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Valor de osso presente no interior da espira =  $0,125\text{mm}^2$ . **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 32** – Demarcação da ELCOI da espira seis da região vestibular

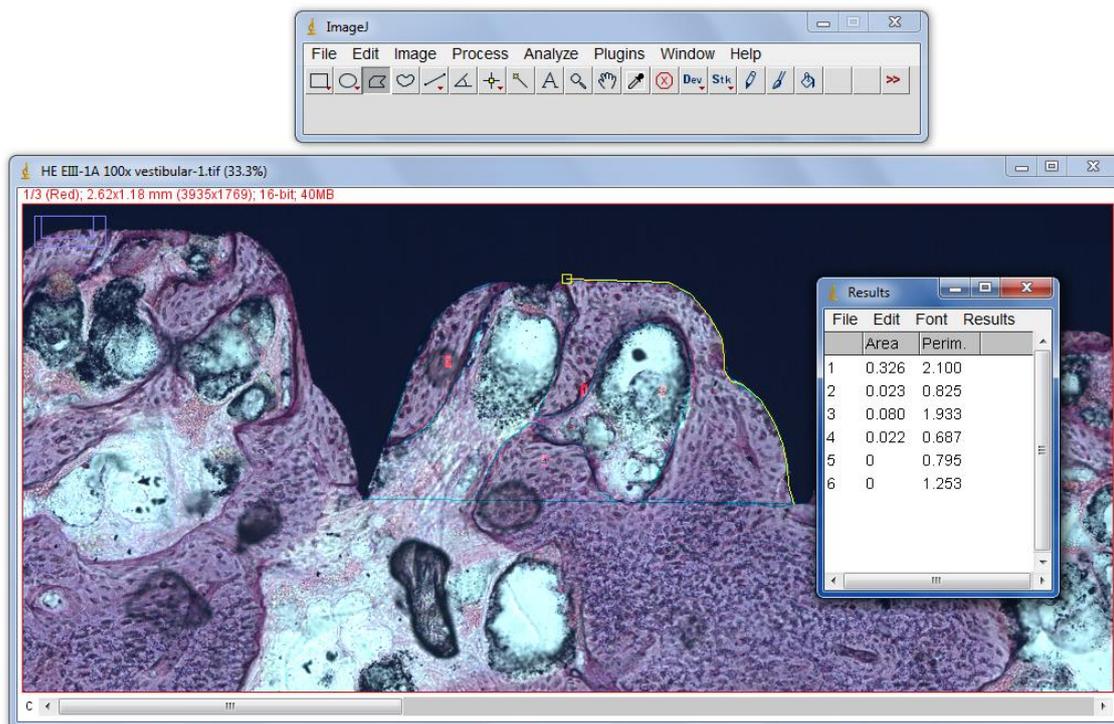


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 33** – Somatório da ELCOI da espira seis da região vestibular

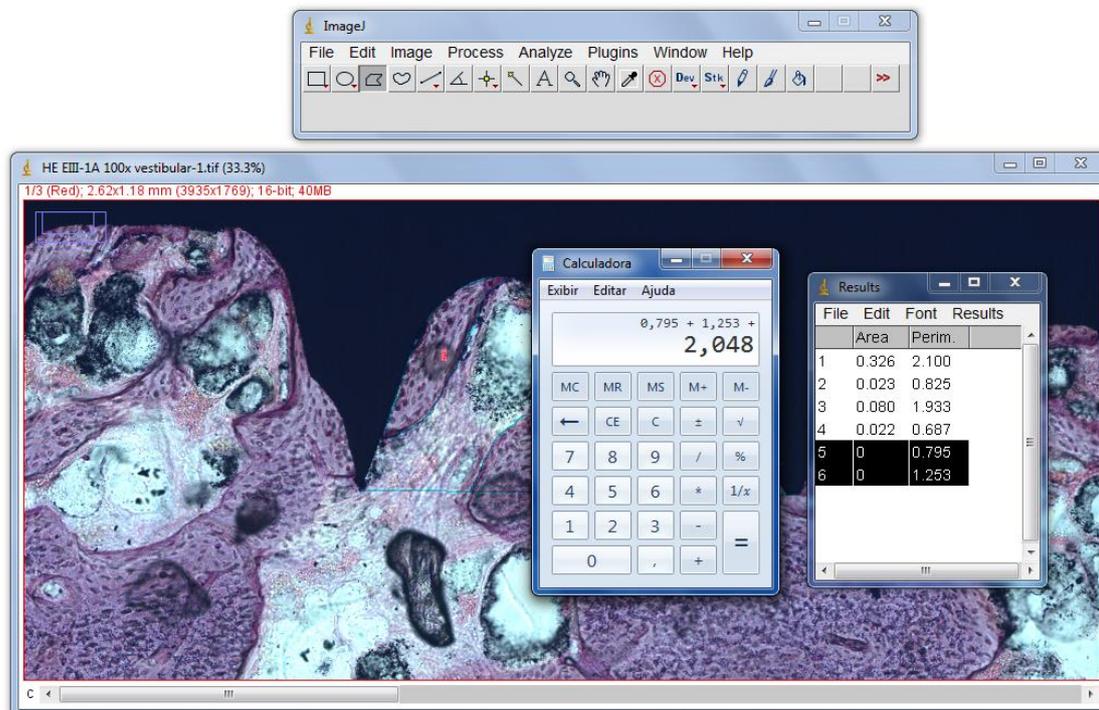


Imagem da lâmina corada por HE em aumento de 100x do grupo EIII-1 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. ELCOI da espira:  $0,795\text{mm} + 1,253\text{mm} = 2,048\text{mm}$ . **Fonte:** Massotti (2013).

### 5.8.2 Análise histomorfométrica das lâminas coradas por PR

Esta análise foi realizada por dois avaliadores previamente calibrados para posterior correlação dos dados. Inicialmente foi necessário agrupar as imagens de cada espira em apenas uma imagem referente a cada região vestibular e lingual. O *software* utilizado para tal agrupamento foi o Adobe® *Photoshop*® da mesma forma como foi realizado com as imagens das lâminas coradas por HE para então serem avaliadas histomorfometricamente no *software ImageJ*.

Aberta a imagem determinou-se a escala utilizada (750 *pixels* por milímetro de acordo com resolução de imagem de 1280x960, conforme instruções da Unidade de Patologia Experimental) (Figura 34).

A seguir, delimitou-se a área retangular a ser avaliada, onde a largura sempre foi de 2,5mm e a altura teve variações a fim de padronizar a mesma área retangular obtida previamente pela análise tomográfica. Com a área delimitada, utilizou-se a ferramenta *Crop* para recortar a imagem (Figura 35).

Transformação da imagem de 32 bits para 8 bits (Figura 36) a fim de habilitar o uso da ferramenta *Threshold* (Figura 37) e permitir a demarcação do valor em porcentagem de fibras colágenas presente na área retangular total (Figura 38). Os valores obtidos foram transferidos para tabelas no programa Microsoft Excel®, dos quais foi realizada a média entre as regiões vestibular e lingual, dando um valor médio por implante para cada avaliador.

**Figura 34 – Definição da escala da imagem**

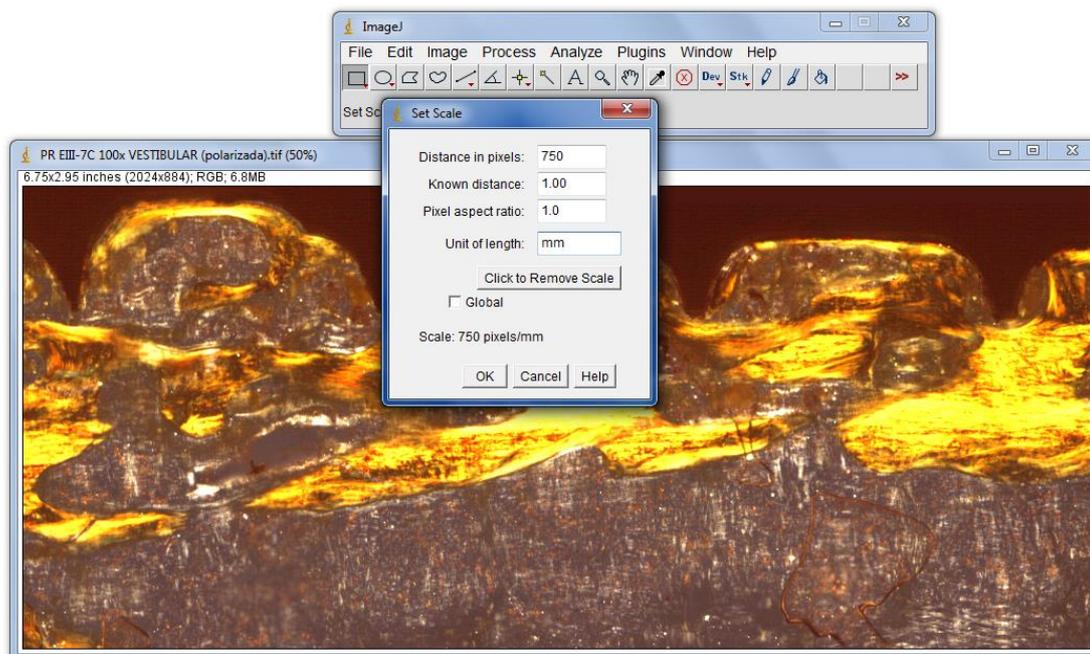


Imagem da lâmina corada por PR em aumento de 100x do grupo EIII-7 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. A escala da imagem foi definida em 750 pixels por milímetro. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 35 – Delimitação da área de análise retangular vestibular**

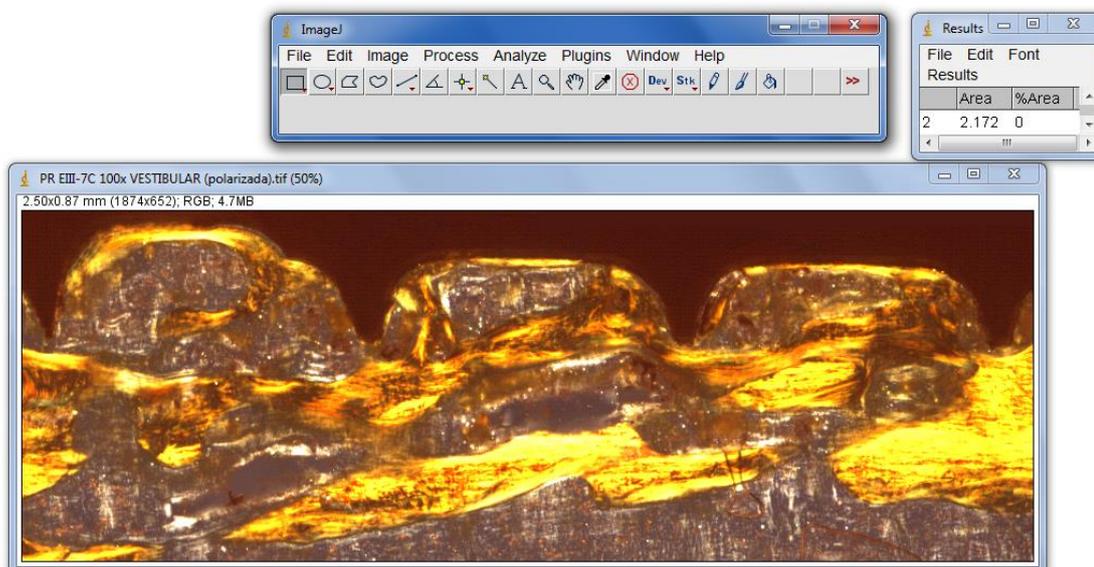


Imagem da lâmina corada por PR em aumento de 100x do grupo EIII-7 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Seleção da imagem através da ferramenta *crop* para recorte apenas da área de interesse. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 36 –** Transformação da imagem para 8 bits

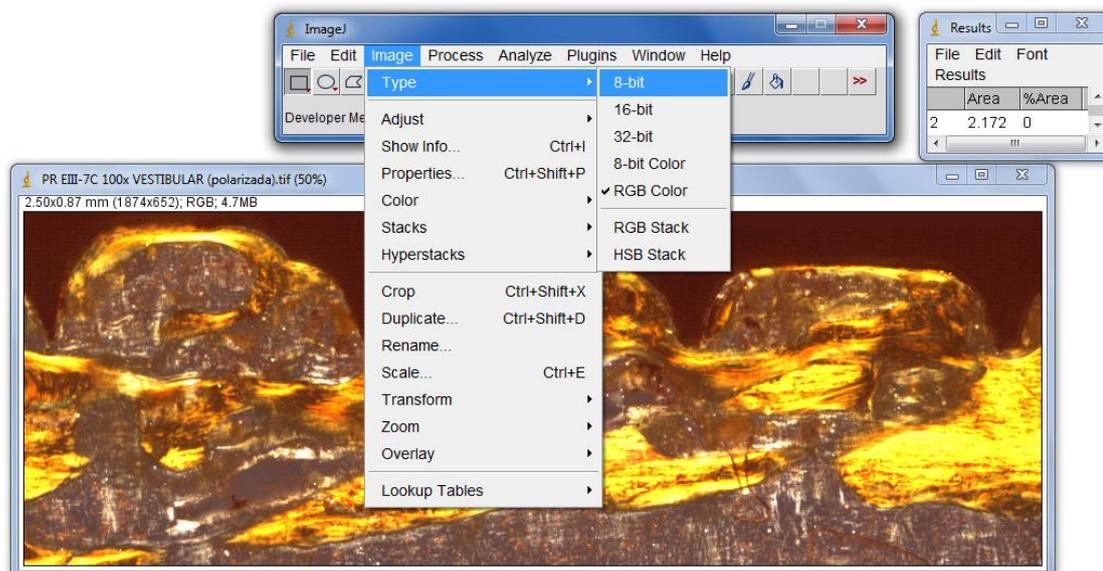


Imagem da lâmina corada por PR em aumento de 100x do grupo EIII-7 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 37 –** Seleção da ferramenta *Threshold*

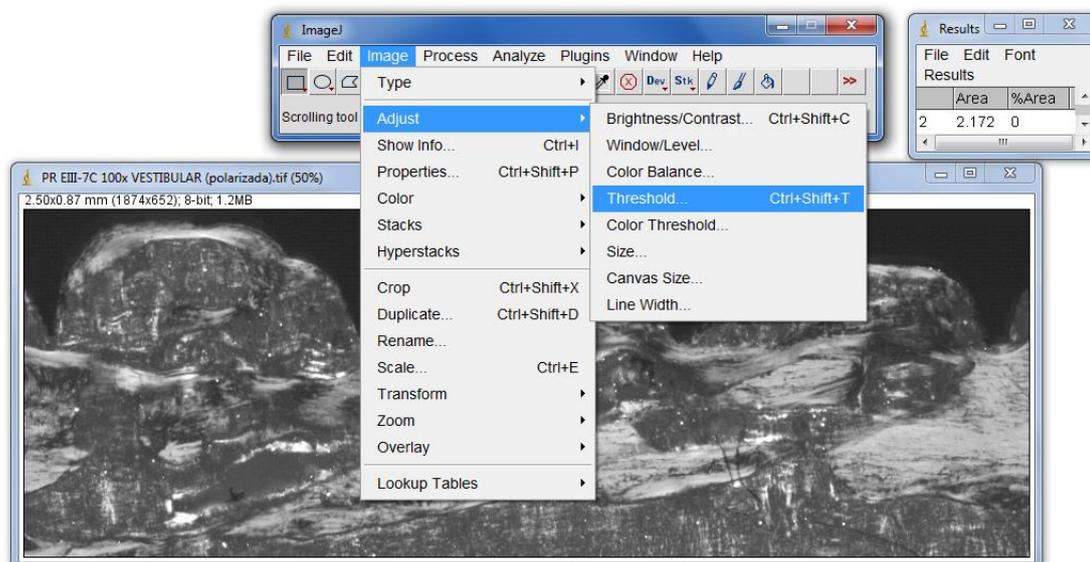


Imagem da lâmina corada por PR em aumento de 100x do grupo EIII-7 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. **Fonte:** Massotti (2013).

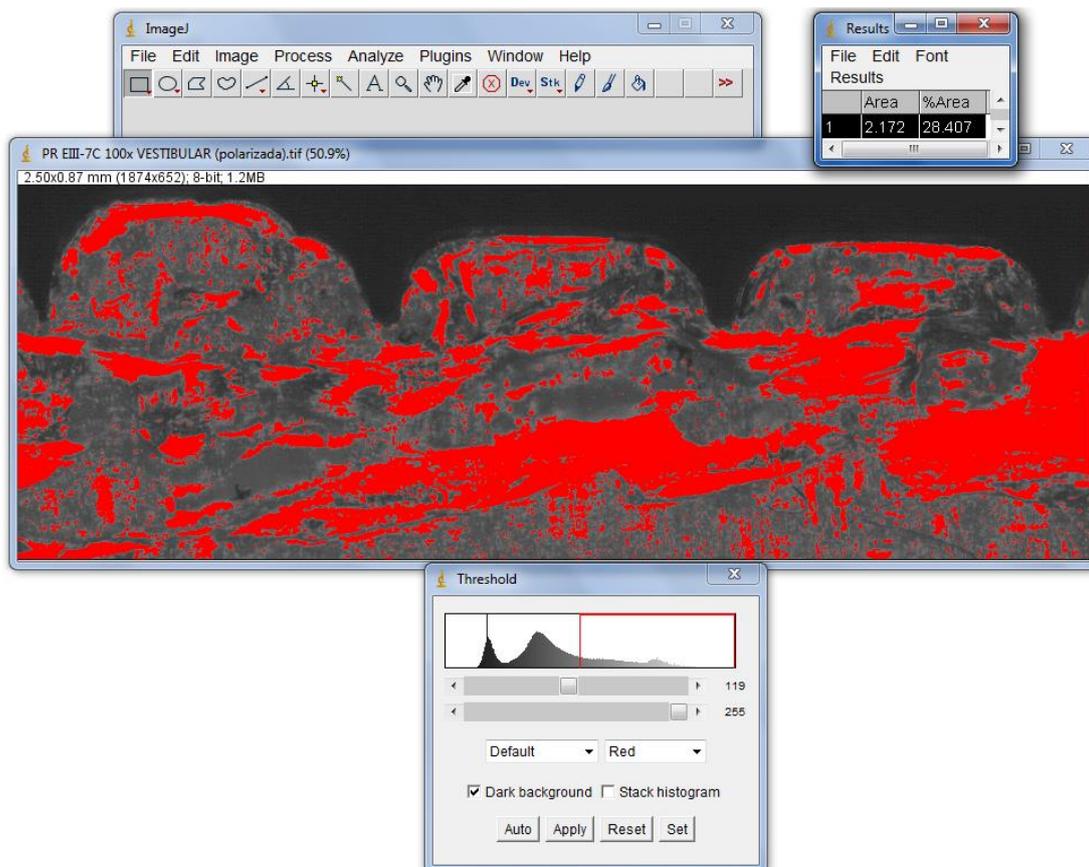
**Figura 38** – Determinação da quantidade de fibras colágenas

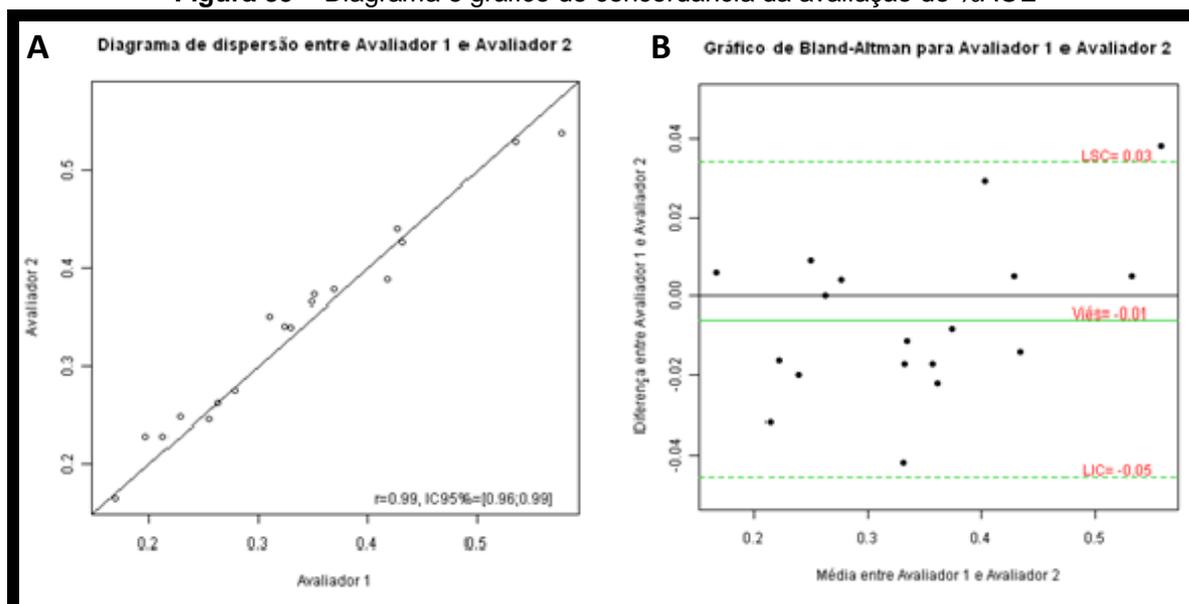
Imagem da lâmina corada por PR em aumento de 100x do grupo EIII-7 da região vestibular entre as espiras cinco, seis e sete. Percentual de fibras colágenas: 28,4%. **Fonte:** Massotti (2013).

### 5.8.3 Análise estatística

Foi calculada a concordância, pelo método Bland-Altman, entre os escores dos dois avaliadores para os valores em porcentagem obtidos pelas análises da área óssea de cada espira e de fibras colágenas.

Para o %AOE, o coeficiente de correlação entre as variáveis demonstrou uma forte correlação entre as medidas com um valor de 0,99. Na análise estatística gráfica realizada pelo teste de Bland-Altman entre as medidas do avaliador 1 e do avaliador 2 (Figura 39), encontrou-se um viés igual 0,01 e um intervalo de confiança de 0,03 até -0,05. Dessa forma, foi realizada a média dos valores obtidos pelos dois avaliadores para serem submetidos à análise estatística.

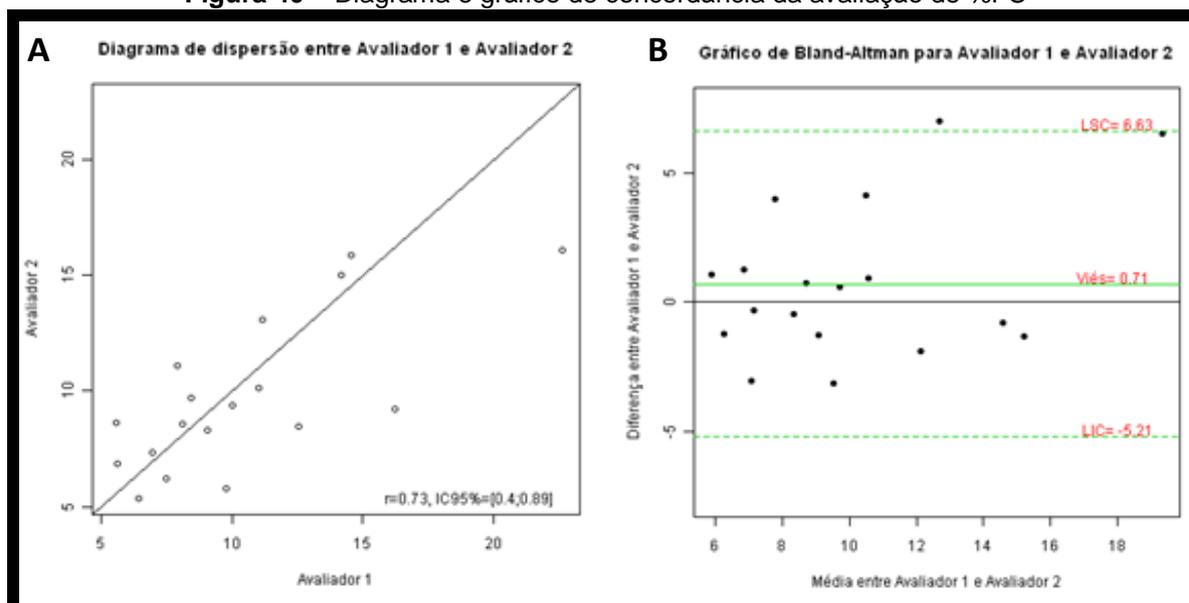
**Figura 39** – Diagrama e gráfico de concordância da avaliação de %AOE



A) diagrama da dispersão para as variáveis Avaliador 1 e Avaliador 2; B) gráfico para a diferença e média entre Avaliador 1 e Avaliador 2. LSC: limite superior de concordância; LIC: limite inferior de concordância. **Fonte:** Massotti (2013).

Para o %FC, o coeficiente de correlação entre as variáveis demonstrou uma forte correlação entre as medidas com um valor de 0,73. Na análise estatística gráfica realizada pelo teste de Bland-Altman entre as medidas do avaliador 1 e do avaliador 2 (Figura 40), encontrou-se um viés igual 0,71 e um intervalo de confiança de 6,63 até -5,21. Dessa forma, foi realizada a média dos valores obtidos pelos dois avaliadores para serem submetidos à análise estatística.

**Figura 40** – Diagrama e gráfico de concordância da avaliação de %FC



A) diagrama da dispersão para as variáveis Avaliador 1 e Avaliador 2; B) gráfico para a diferença e média entre Avaliador 1 e Avaliador 2. LSC: limite superior de concordância; LIC: limite inferior de concordância. **Fonte:** Massotti (2013).

Os programas utilizados para as análises dos resultados foram o *software* estatístico *Statistical Package for Social Sciences*<sup>®</sup> (SPSS) versão 18.0 e a planilha eletrônica do *Microsoft Excel*<sup>®</sup>, ambos para o sistema operacional Windows<sup>®</sup>.

A análise estatística deste trabalho foi realizada por meio de tabelas, gráficos e testes estatísticos com o intuito de verificar se as diferenças de densidade óssea pré e pós-aplicação da LLLT seriam significativamente diferentes entre os grupos, ou seja, se um grupo apresentaria melhor estabilidade inicial do implante a outro. Os resultados das análises histomorfométrica e tomográfica foram correlacionados através do coeficiente de correlação de Pearson. Os dados obtidos apresentaram distribuição normal conforme teste de Shapiro-Wilk.

Para avaliar os resultados obtidos pela histomorfometria, bem como a diferença na densidade óssea de imagem obtida pela avaliação tomográfica de cada tecido foi aplicado o teste ANOVA com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) baseando-se nos estudos de Khadra *et al.* (2004), Lopes *et al.* (2005), Lopes *et al.* (2007), Bae *et al.* (2004) e Pereira *et al.* (2009).

## 6 RESULTADOS

Os resultados das análises por grupo são apresentados por tabela e gráficos através da média e do desvio padrão e por imagens das lâminas histológicas representativas de cada grupo submetidas à análise histomorfométrica (Figuras 58 a 65). Na tabela 2, as médias seguidas de letras distintas diferem significativamente através da análise de variância complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey ao nível de significância de 5%.

**Tabela 2** – Comparação entre as médias de avaliação retangular TCFC, avaliação linear TCFC, %AOR, %AOE, %ELCOI, %FC, dentro de cada grupo de estudo e entre grupos.

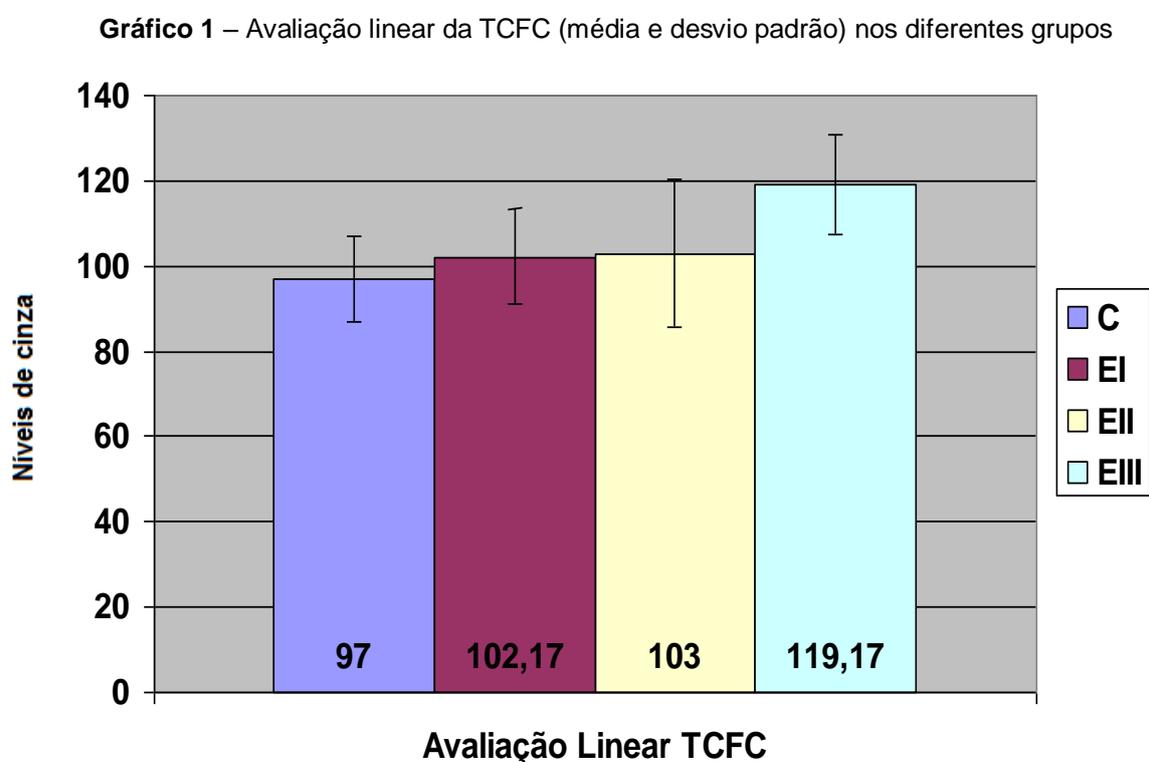
GRUPO	C	EI	EII	EIII	P valor
	Média ± Desvio Padrão				
<b>Avaliação Retangular TCFC</b>	81,43 ± 12,34 A	89,90 ± 11,18 A	79,28 ± 17,11 A	96,22 ± 8,36 A	0,109
<b>Avaliação Linear TCFC</b>	97,00 ± 10,17 B	102,17 ± 11,03 AB	103,00 ± 17,32 AB	119,17 ± 11,56 A	0,039
<b>%AOR</b>	17,25 ± 5,73 A	19,21 ± 7,65 A	21,23 ± 5,09 A	23,22 ± 9,5 A	0,528
<b>%AOE</b>	28,93 ± 1,58 A	31,92 ± 13,48 A	32,45 ± 8,03 A	33,85 ± 12,32 A	0,892
<b>%ELCOI</b>	54,5 ± 9,79 B	50,19 ± 17,5 B	52,2 ± 12,31 B	81,19 ± 6,52 A	0,001
<b>%FC</b>	8,36 ± 1,58 B	10,01 ± 2,32 B	8,39 ± 2,25 B	16,38 ± 2,57 A	0,001

Variáveis descritas pela média ± desvio padrão e comparadas dentro de cada grupo pela análise de variância (ANOVA). Letras diferentes representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). **Fonte:** Massotti (2013).

## 6.1 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO

### 6.1.1 Avaliação Linear TCFC

A média dos níveis de cinza na avaliação linear para o grupo C é  $97 \pm 10,17$ , para o grupo EI é  $102,17 \pm 11,03$ , para o grupo EII é  $103 \pm 17,32$  e para o grupo EIII é  $119,17 \pm 11,56$ . Os resultados demonstram que há diferença significativa nos níveis de cinza entre os grupos C e EIII (Gráfico 1).

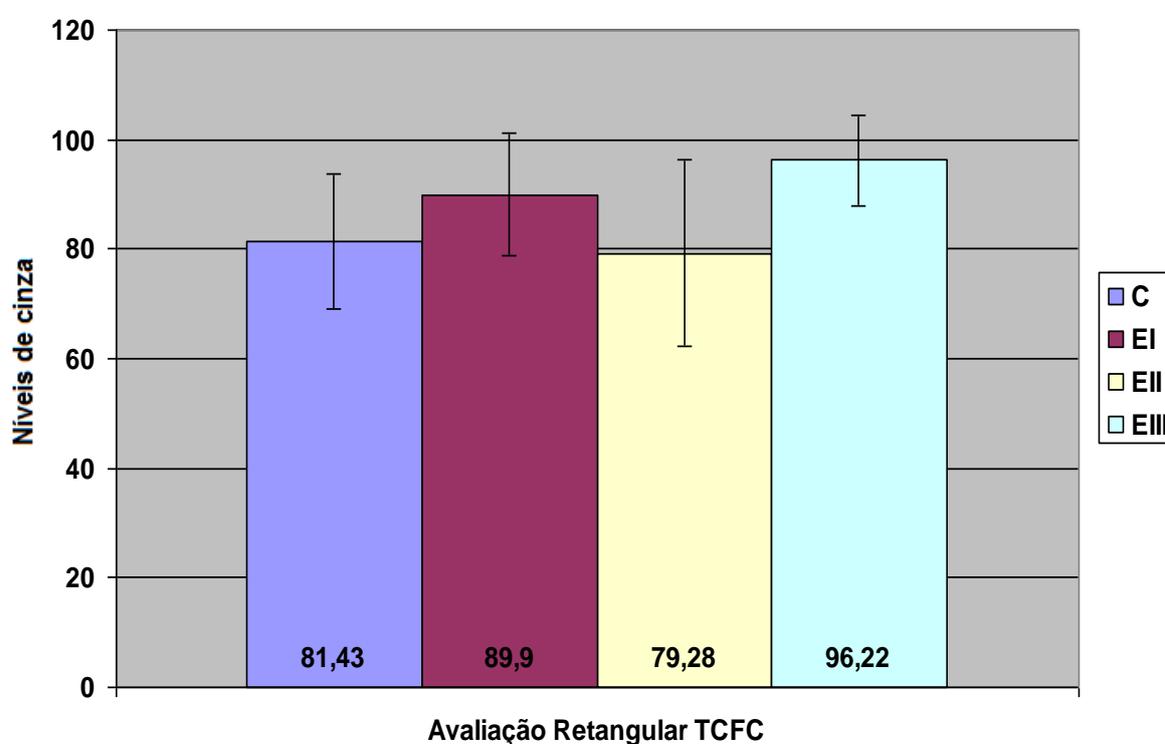


As barras representam as médias dos níveis de cinza de acordo com o grupo obtidas pela avaliação linear TCFC. **Fonte:** Massotti (2013).

### 6.1.2 Avaliação Retangular TCFC

A média dos níveis de cinza na avaliação retangular para o grupo C é  $81,43 \pm 12,34$ , para o grupo EI é  $89,9 \pm 11,18$ , para o grupo EII é  $79,28 \pm 17,11$  e para o grupo EIII é  $96,22 \pm 8,36$ . Os resultados demonstram que não há diferença significativa entre os níveis de cinza nos grupos (Gráfico 2).

**Gráfico 2** – Avaliação retangular da TCFC (média e desvio padrão) nos diferentes grupos



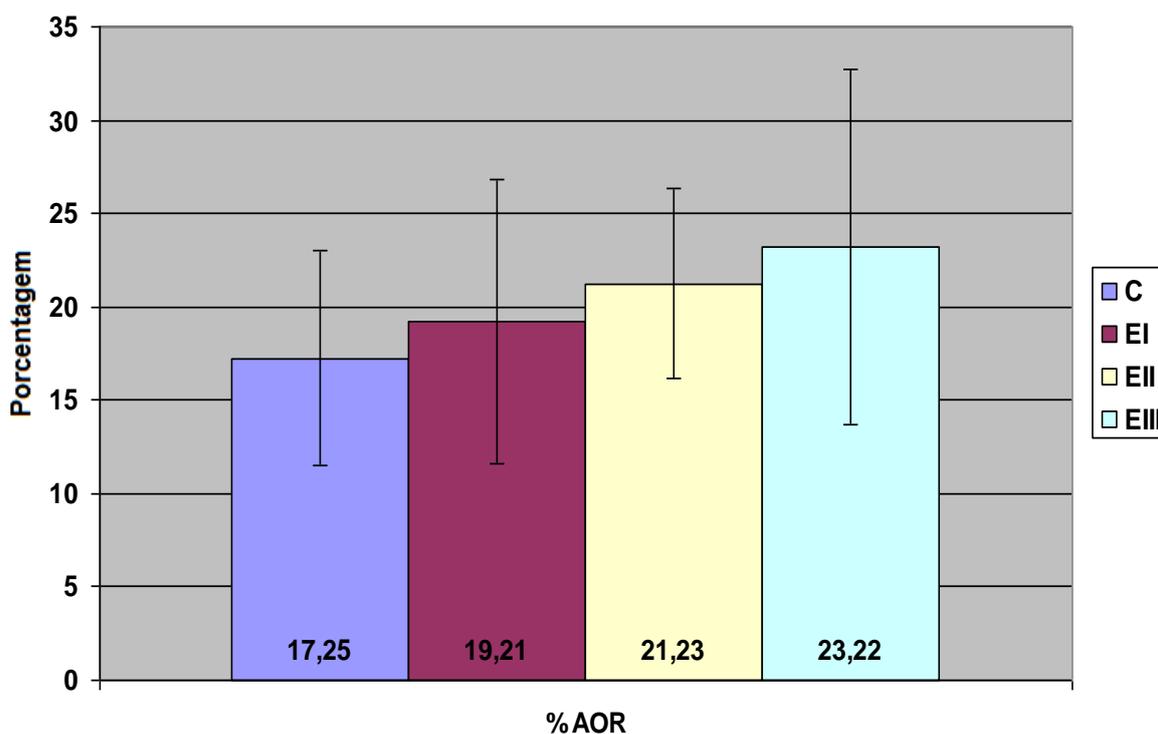
As barras representam as médias dos níveis de cinza de acordo com o grupo obtidos pela avaliação retangular TCFC. **Fonte:** Massotti (2013).

## 6.2 HISTOMORFOMETRIA

### 6.2.1 Área Óssea Retangular (%AOR)

A média dos valores em porcentagem da área óssea presente no retângulo de análise para o grupo C é 17,25%  $\pm$  5,73%, para o grupo EI é 19,21%  $\pm$  7,65%, para o grupo EII é 21,23%  $\pm$  5,09% e para o grupo EIII é 23,22%  $\pm$  9,5%. Os resultados demonstram que não há diferença significativa entre as médias de %AOR nos grupos (Gráfico 3).

**Gráfico 3** – Porcentagem de área óssea retangular (média e desvio padrão) nos diferentes grupos

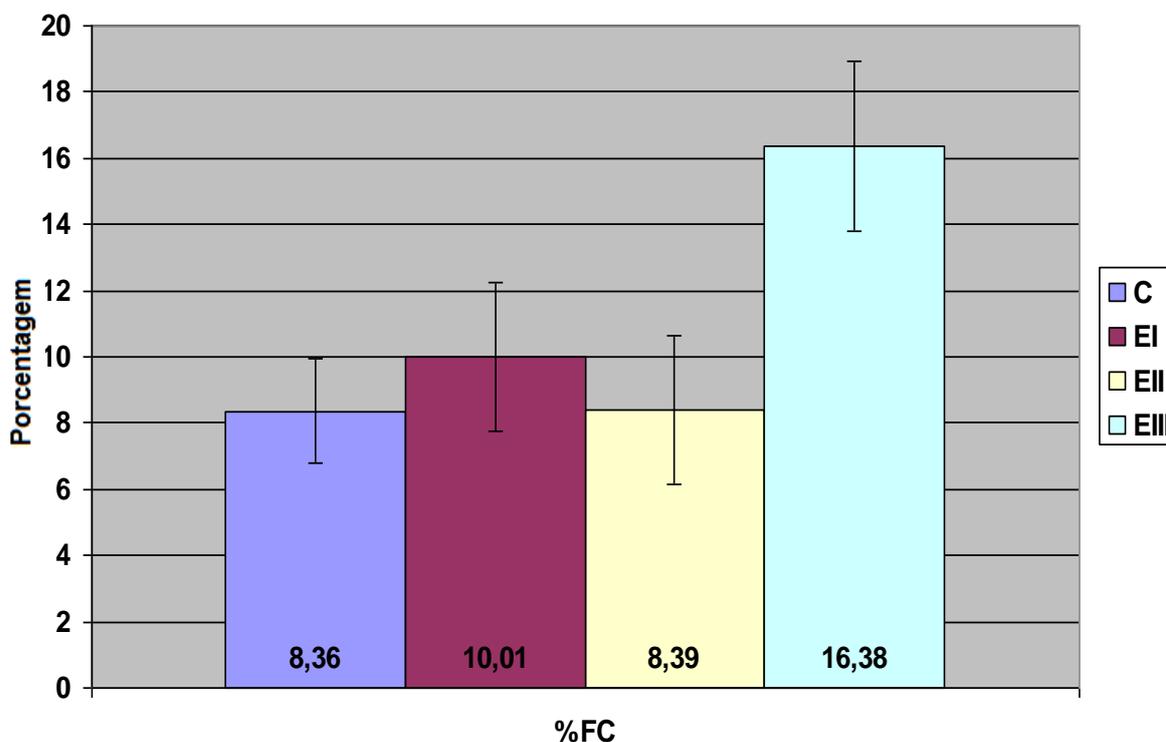


As barras representam os valores em porcentagem por grupo obtidos pela avaliação da área óssea retangular. **Fonte:** Massotti (2013).

### 6.2.2 Área de Fibras Colágenas (%FC)

A média dos valores em porcentagem de fibras colágenas na avaliação retangular das lâminas coradas pela técnica de Picrosirius-Red dos dois avaliadores para o grupo C é  $8,36\% \pm 1,58\%$ , para o grupo EI é  $10,1\% \pm 2,32\%$ , para o grupo EII é  $8,39\% \pm 2,25\%$  e para o grupo EIII é  $16,38 \pm 2,57\%$ . Os resultados demonstraram que há diferença significativa entre a área de fibras colágenas do grupo EIII em relação aos demais (Gráfico 4).

**Gráfico 4** – Porcentagem de fibras colágenas (média e desvio padrão) nos diferentes grupos

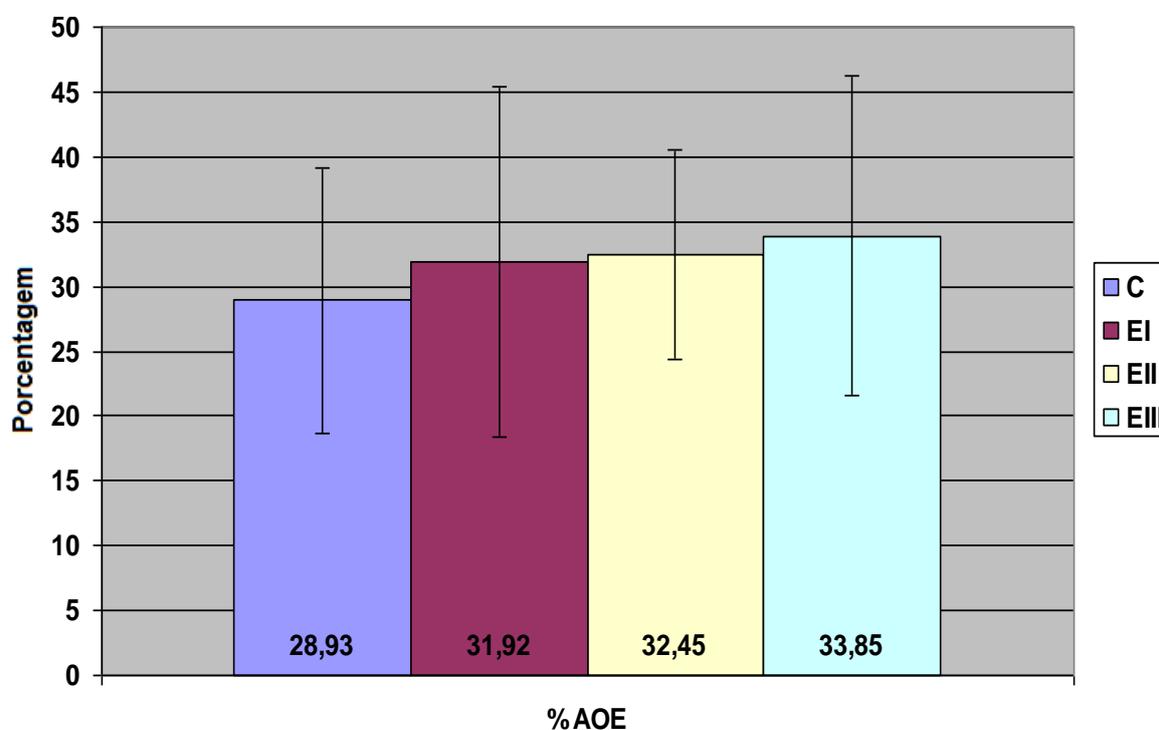


As barras representam os valores em porcentagem por grupo obtidos pela avaliação da área de fibras colágenas. **Fonte:** Massotti (2013).

### 6.2.3 Área Óssea por Espira (%AOE)

A média dos valores em porcentagem da área óssea por espira dos dois avaliadores para o grupo C é 28,93%  $\pm$  10,26%, para o grupo EI é 31,92%  $\pm$  13,48%, para o grupo EII é 32,45%  $\pm$  8,03% e para o grupo EIII é 33,85%  $\pm$  12,32%. Os resultados demonstram que não há diferença significativa entre a %AOE nos grupos (Gráfico 5).

**Gráfico 5** – Porcentagem de área óssea por espira (média e desvio padrão) nos diferentes grupos

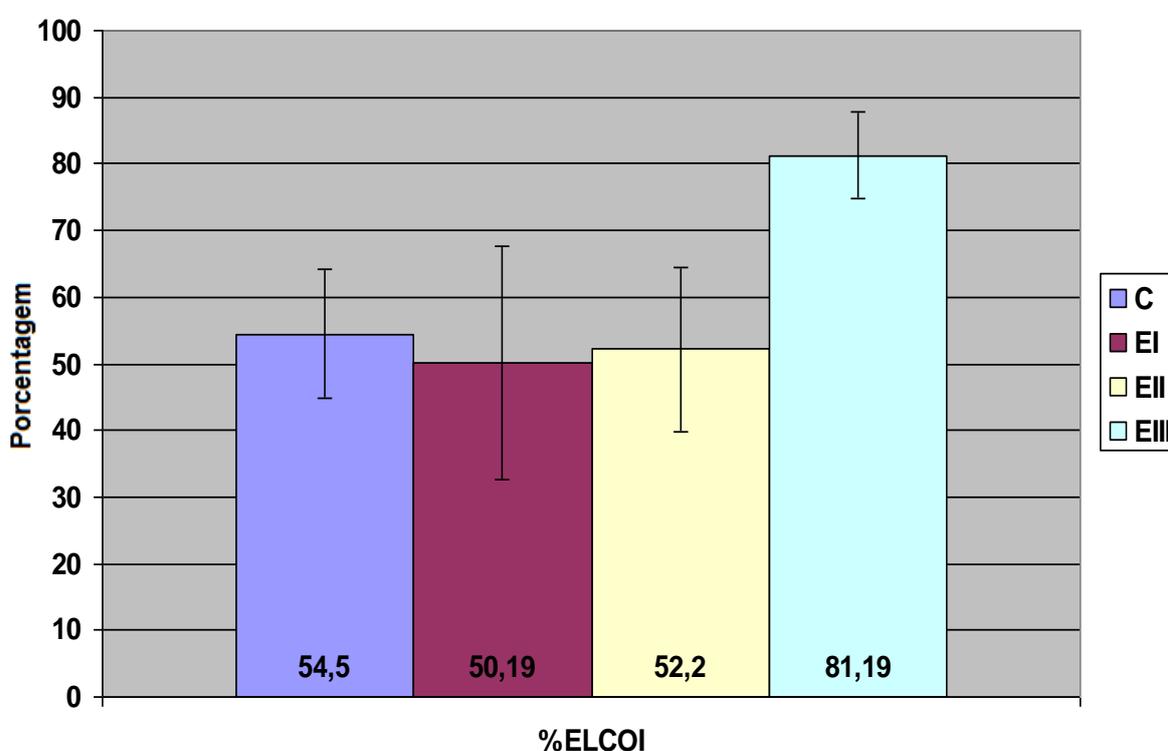


As barras representam os valores em porcentagem por grupo obtidos pela avaliação da área óssea por espira. **Fonte:** Massotti (2013).

#### 6.2.4 Extensão Linear de Contato entre Osso e Implante (%ELCOI)

A média dos valores em porcentagem da extensão linear de contato entre osso e implante para o grupo C é 54,5%  $\pm$  9,79%, para o grupo EI é 50,19%  $\pm$  17,5%, para o grupo EII é 52,2%  $\pm$  12,31% e para o grupo EIII é 81,19%  $\pm$  6,52%. Os resultados demonstram que há diferença significativa entre a %ELCOI do grupo EIII em relação aos demais (Gráfico 6).

**Gráfico 6** – Porcentagem de extensão linear de contato entre osso e implante (média e desvio padrão) nos diferentes grupos



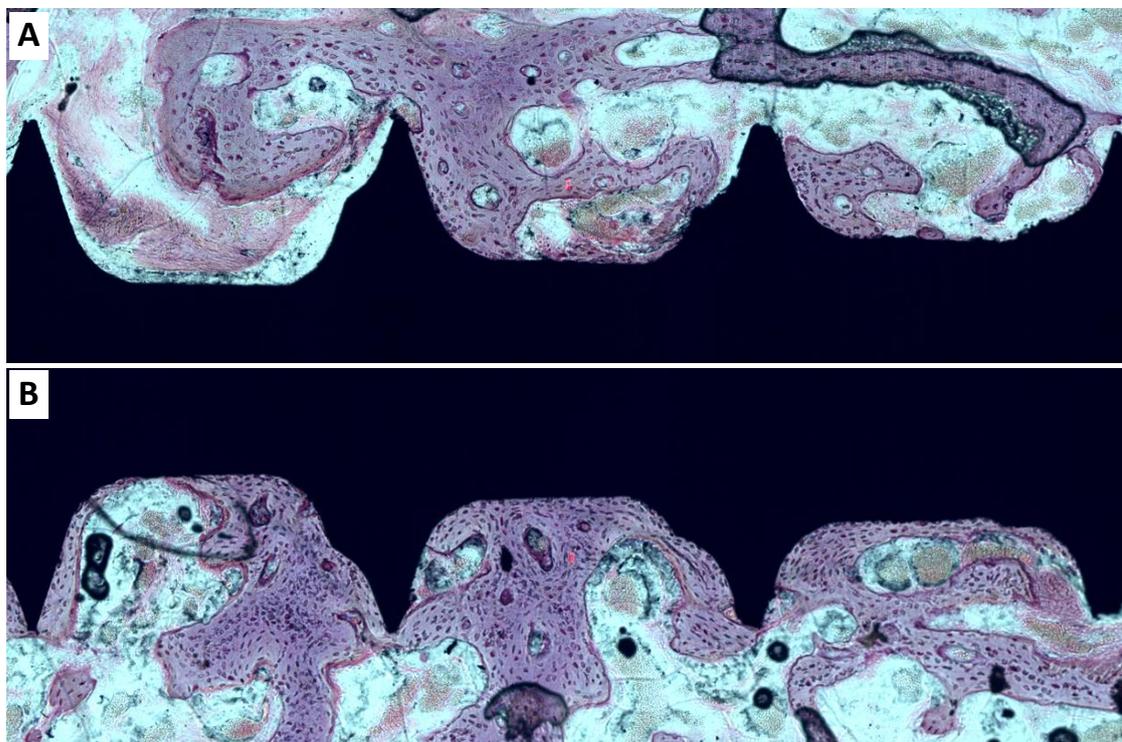
As barras representam os valores em porcentagem por grupo obtidos pela avaliação da extensão linear de contato entre osso e implante. **Fonte:** Massotti (2013).

### *6.2.5 Correlação entre as análises histomorfométrica e tomográfica*

Para esta análise utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson, o qual mede o grau de correlação entre duas variáveis, assim, cada método empregado de avaliação foi submetido a este teste. O coeficiente pode assumir valores de -1 a 1. A correlação positiva perfeita é 1, ou seja, quando o valor de uma aumenta o da outra também. A correlação negativa perfeita é -1, ou seja, quando o valor de uma aumenta o da outra diminui. Se o coeficiente for zero, significa que as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra. Os resultados desta pesquisa demonstram que não é possível detectar correlação entre as análises dos resultados obtidos por histomorfometria e tomografia computadorizada de feixe cônico através do coeficiente de correlação de Pearson ao nível de significância de 5%.

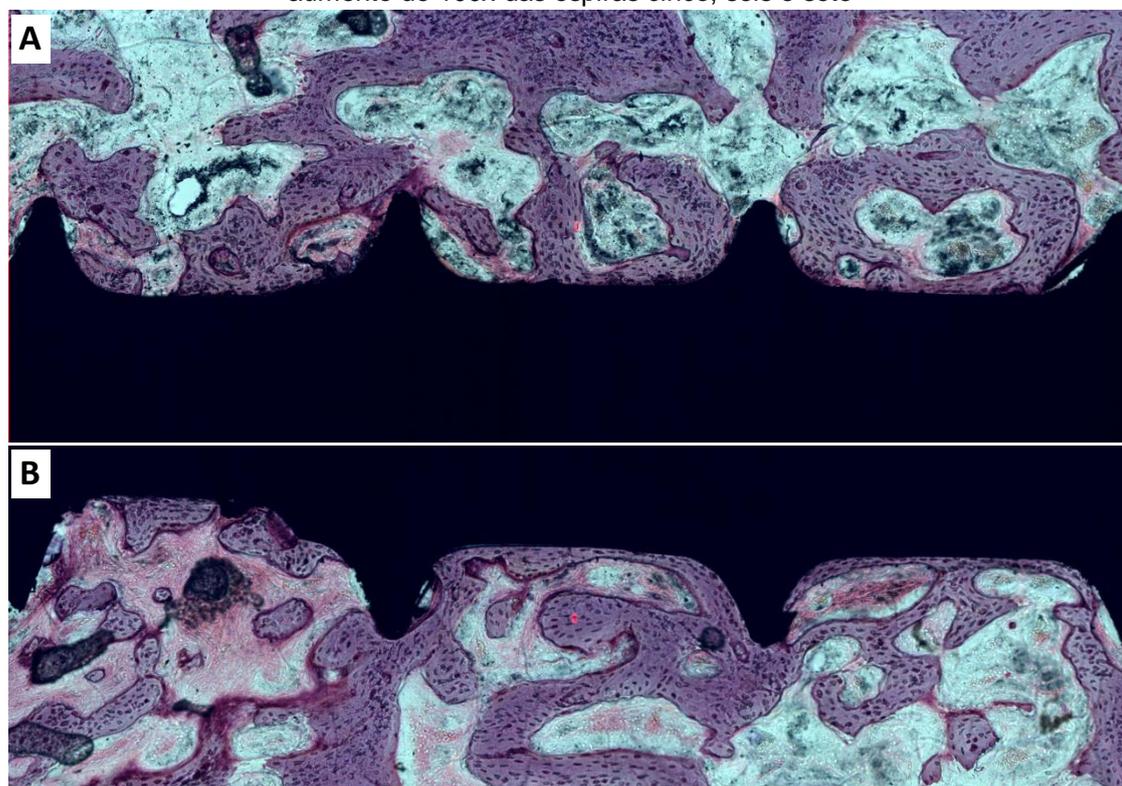
### 6.2.6 Imagens Histológicas – coloração HE

**Figura 41** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo C corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



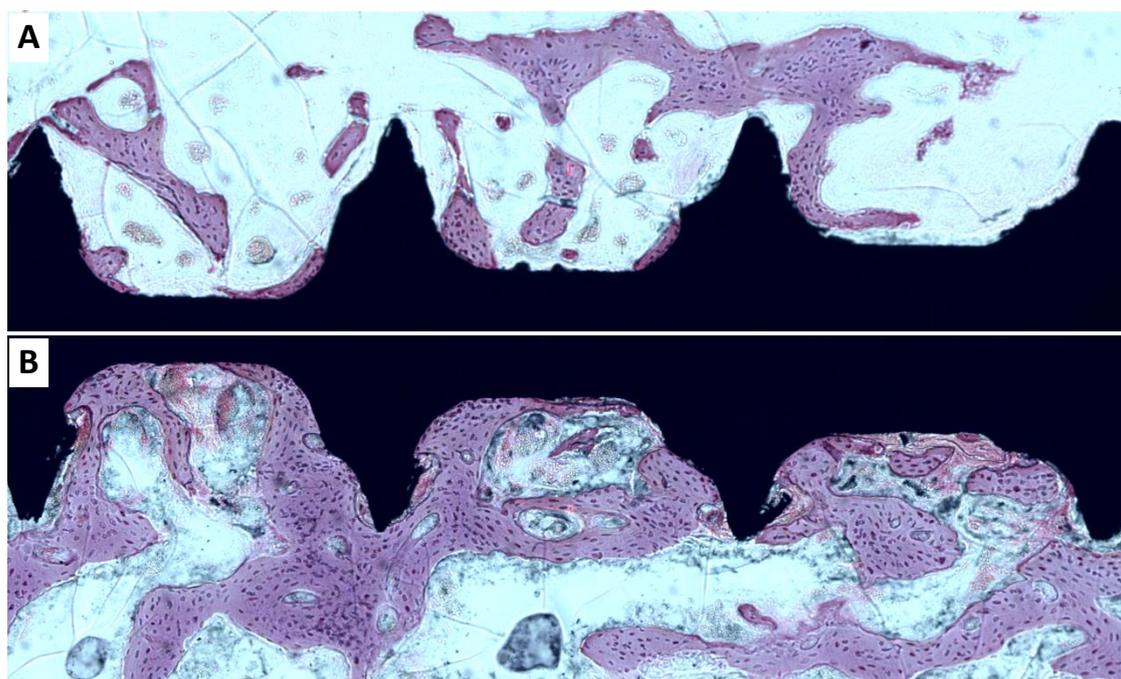
A: lingual; B: vestibular. AOR: 26,08%, AOE: 40,32%, ELCOI: 63,12%. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 42** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo E1 corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



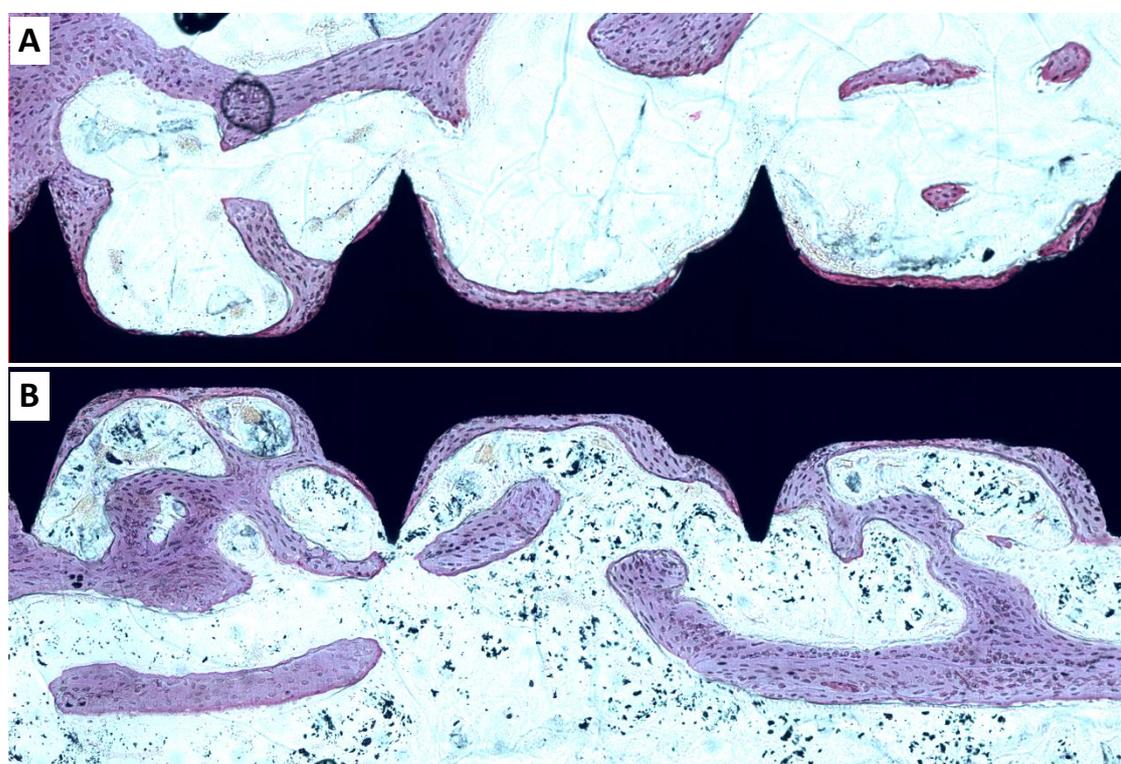
A: lingual; B: vestibular. AOR: 28,85%, AOE: 54,86%, ELCOI: 64,52. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 43** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EII corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



A: lingual; B: vestibular. AOR: 20,17%, AOE: 32,57%, ELCOI: 41,05%. Fonte: Massotti (2013).

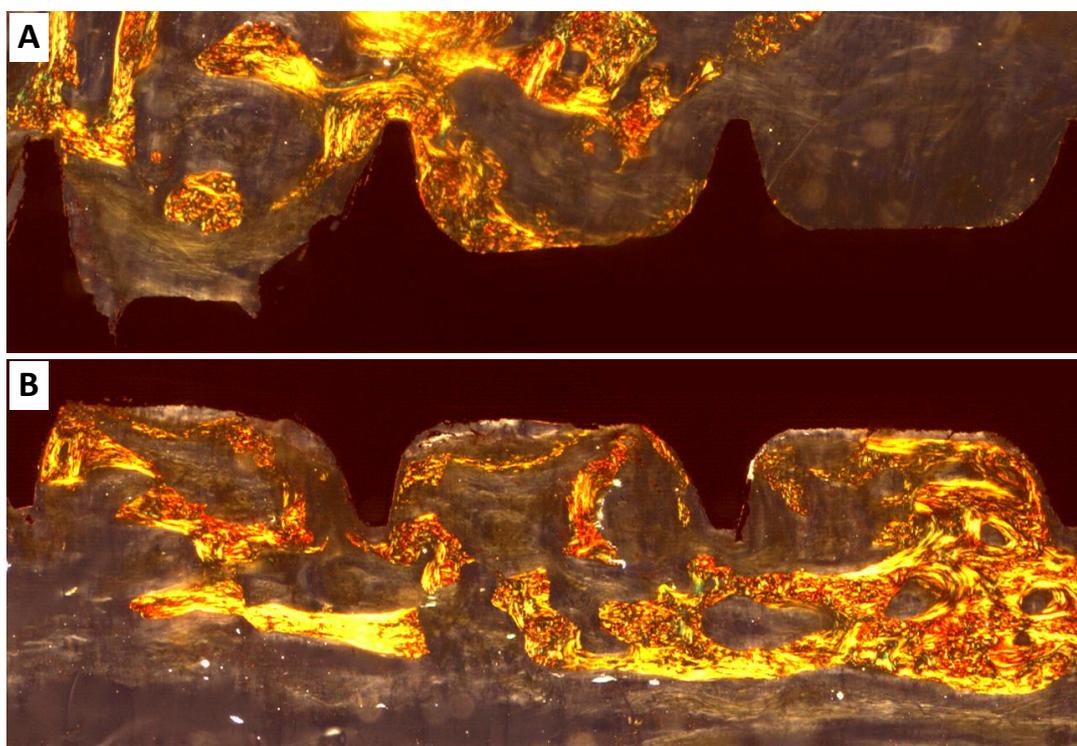
**Figura 44** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EIII corada por HE em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



A: lingual; B: vestibular. AOR: 22,04%, AOE: 27,36%, ELCOI: 86,09%. Fonte: Massotti (2013).

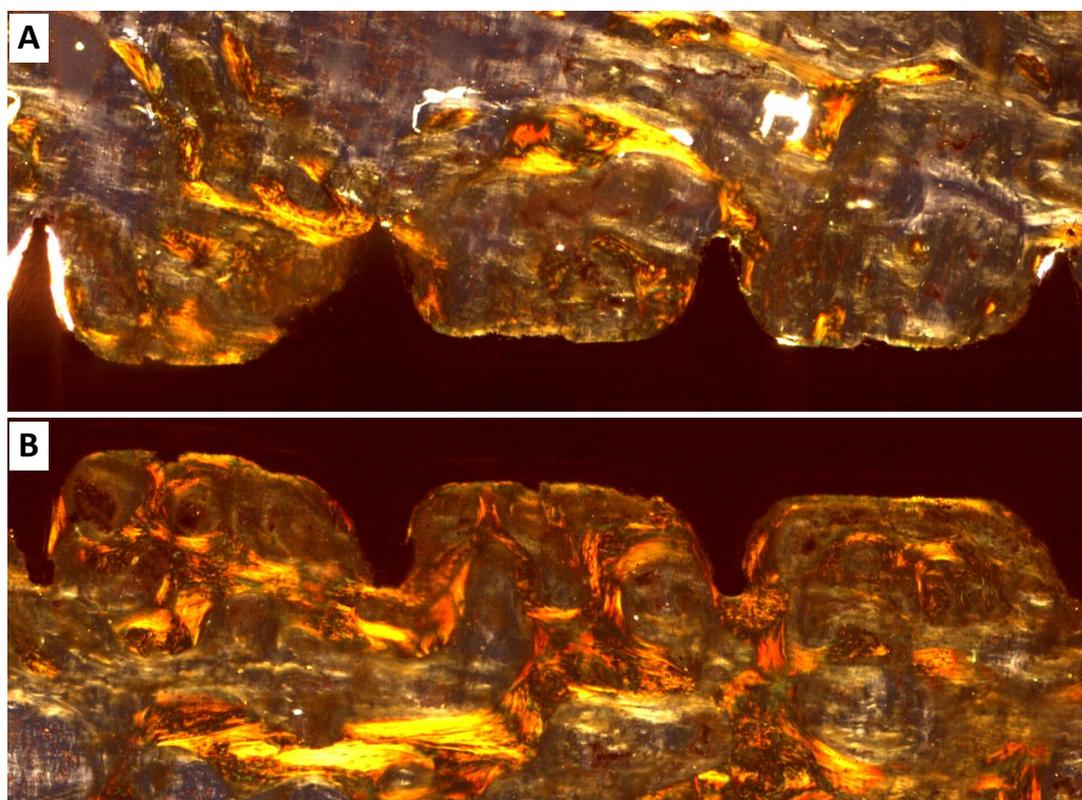
### 6.2.7 Imagens histológicas – coloração PR

**Figura 45** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo C corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



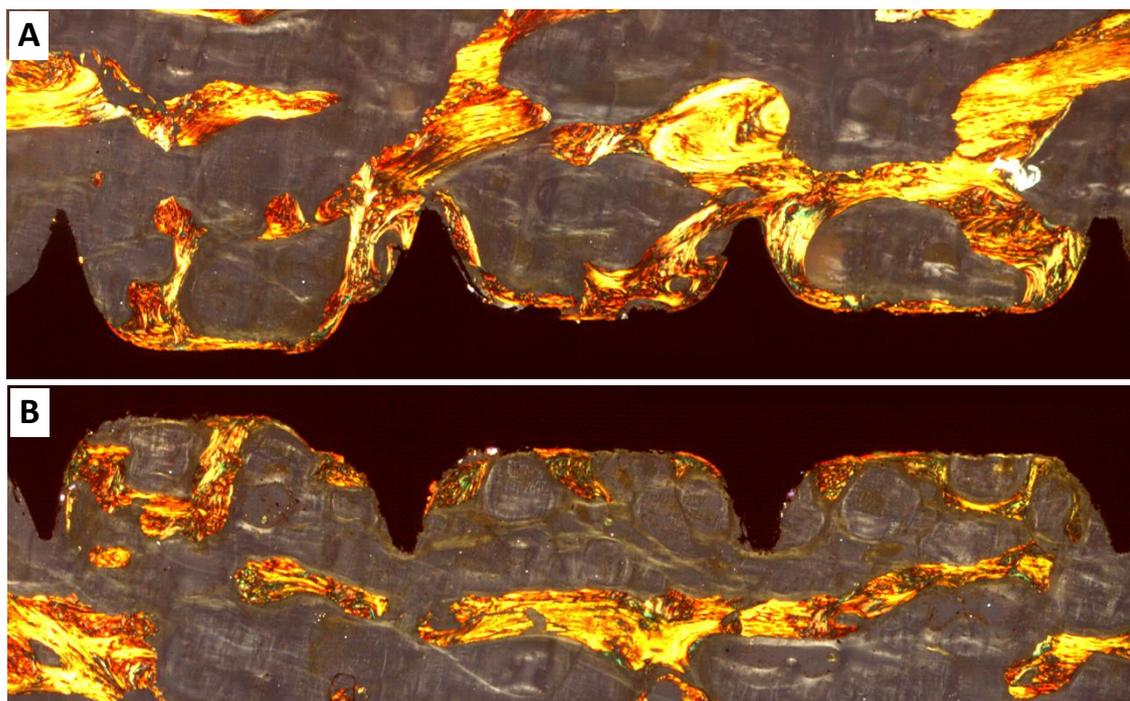
A: lingual; B: vestibular. Fibras colágenas: 9,51%. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 46** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo E1 corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



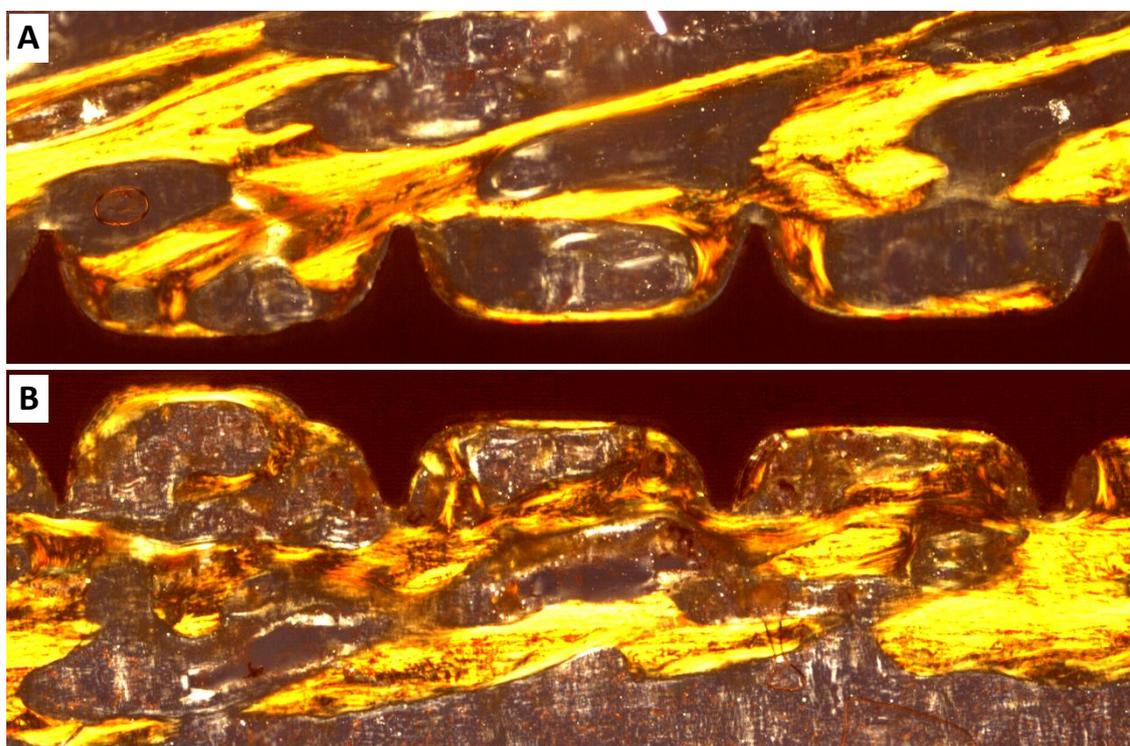
A: lingual; B: vestibular. Fibras colágenas: 12,7%. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 47** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EII corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



A: lingual; B: vestibular. Fibras colágenas: 9,07%. **Fonte:** Massotti (2013).

**Figura 48** – Mosaico da imagem da lâmina histológica representativa do grupo EIII corada por PR em aumento de 100x das espiras cinco, seis e sete



A: lingual; B: vestibular. Fibras colágenas: 19,34%. **Fonte:** Massotti (2013).

## 7 DISCUSSÃO

---

### 7.1 DO MÉTODO

A reabilitação da perda dentária apresentou grande avanço a partir do tratamento com implantes osseointegrados (Brånemark et al., 1969). Entretanto, não significa dizer que a instalação do implante resultará em osseointegração e sucesso do procedimento. Existem fatores que podem influenciar a estabilidade inicial do implante, ocasionando um prognóstico desfavorável para reparo ósseo perimplantar. Entre eles, a técnica cirúrgica deficiente, a morfologia do implante, a resposta do paciente e a colocação de prótese com carga excessiva (ADELL et al., 1981). Portanto, pesquisadores propõem modificações no método originalmente proposto no final da década de 60 relacionadas ao tratamento da superfície do implante (TOMAS; COOK, 1985; BUSER et al., 1991; MUSTAFA, 2000).

No entanto, esta modificação de superfície por si só não é capaz de favorecer a osseointegração, caso, os outros fatores que influenciam esta estabilidade não forem observados. Assim, a colocação da prótese dentária deve ser aguardada por um período de três a seis meses a fim de obtermos uma estabilidade inicial. Além disso, a técnica cirúrgica deve ser atraumática evitando o superaquecimento do tecido ósseo (BUSER; BELSER, 1996). E dispor de boa qualidade óssea do paciente (SENNERBY; MEREDITH, 2008).

Este período de três a seis meses, no qual o paciente utiliza prótese provisória sem carga não é bem aceito devido ao anseio em restabelecimento da estética e da função. Diante do fato utilizam-se protocolos de aplicação de LLLT com a intenção de favorecer o reparo ósseo da região perimplantar, promover rapidez e melhora na qualidade óssea, o que resulta em um osso com dureza e módulo de elasticidade mais próximo possível do normal (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; WEBER et al., 2006; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; STEIN et al., 2009; HÜBLER et al., 2010).

A LLLT é uma importante ferramenta na bioestimulação tecidual quando do processo cicatricial de uma ferida ou dano cirúrgicos. Os resultados apresentados neste estudo são indicativos das propriedades fotofísicas e fotoquímicas do comprimento de onda, da potência empregada, do modo de emissão e número de sessões responsáveis pela resposta dos tecidos. O uso correto e apropriado desses parâmetros mostra a efetividade da laserterapia na promoção da bioestimulação sobre o reparo ósseo. Para tal, é necessário um protocolo bem definido que garanta o resultado esperado para cada terapia proposta. (BRUGNERA et al., 2003; PINHEIRO; GERBI, 2006; MILORO et al., 2007; BLAYA et al., 2008; FREDDO et al., 2009).

Considerando o efeito sistêmico do laser foram empregados grupos de animais irradiados e não irradiados (controle), como na maioria dos estudos. Pesquisas demonstram que os efeitos sistêmicos da laserterapia não podem ser descartados; logo, alguns trabalhos falham ao revelar efeitos da irradiação quando comparados com controles contralaterais no mesmo animal (KHADRA et al., 2004; WEBER et al., 2006). O estudo de Dörtbudak, Haas e Mallath-Pokorny (2002) apresenta um possível viés devido a ação sistêmica do laser, pois no mesmo animal foram definidos sítios irradiados e não irradiados, sendo, portanto, considerado um estudo com resultados discutíveis.

Quanto ao comprimento de onda e o tipo de laser empregado, a literatura pesquisada é bem diversificada. Alguns pesquisadores utilizam laser com comprimento de onda de 680-690nm, sem relatar o tipo de laser (DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2002). Outros utilizam laser de Arseneto de Gálio-Alumínio (AsGaAl) com comprimento de onda de 830nm (PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004; GERBI et al., 2005; LOPES et al., 2005; GUIMARÃES, 2006; WEBER et al., 2006; LOPES et al., 2007; CAMPANHA et al., 2010), o mesmo comprimento aplicado nesta pesquisa.

Os períodos de reparo ósseo nos estudos com laserterapia apresentam variações. Em ratos, esse período varia de sete a 45 dias (GERBI et al., 2005, GUIMARÃES, 2006; WEBER et al., 2006) e em coelhos de 15 a 56 dias (KHADRA et al., 2004; CAMPANHA et al., 2010). No presente estudo, realizado em coelhos, foi avaliada a osseointegração aos 45 dias, ou seja, 30 dias após a última dose de

laserterapia. Campanha et al. (2010) afirmam que o reparo ósseo em coelhos ocorre três vezes mais rápida da que ocorre em humanos. Esse período de 45 dias, extrapolando para humanos, equivale ao reparo ósseo de aproximadamente quatro a cinco meses (135 dias).

Em relação às doses totais utilizadas observa-se variação nas pesquisas em animais revisadas na literatura científica. Na presente pesquisa foram utilizados coelhos, que receberam dose total de  $70\text{J}/\text{cm}^2$  (EI),  $35\text{J}/\text{cm}^2$  (EII) e  $140\text{J}/\text{cm}^2$  (EIII). Em coelhos, as doses observadas na literatura variam de  $86\text{J}/\text{cm}^2$  a  $602\text{J}/\text{cm}^2$  e, apesar dessa amplitude, os efeitos da LLLT são semelhantes (LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007). Diferentemente do observado por Dörtbudak, Haas, Mallath-Pokorny (2000) e Brugnera Jr. (2009) que referem o uso de baixa dose podendo não ser efetivo, bem como, dose elevada apresentar até efeitos inibitórios. No entanto, este trabalho não leva em consideração a relação com os efeitos sistêmicos da LLLT.

Considerando o número de aplicações, as publicações sobre o tema relatam de uma a 14 irradiações com laser. Nesta pesquisa foram realizadas sete aplicações, sendo uma no pós-operatório imediato e mais seis a cada 48 horas, semelhante aos trabalhos de Pinheiro et al. (2003), Gerbi et al. (2005), Guimarães (2006), Weber et al. (2006). O protocolo de sete aplicações de laserterapia demonstra efeitos positivos da biomodulação sobre o reparo ósseo perimplantar (LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; CAMPANHA et al., 2010).

A irradiação com laser tem efeito positivo nos estágios iniciais da osseointegração (DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2002; PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004; KHADRA et al., 2005; GERBI et al., 2005; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; PINHEIRO; GERBI, 2006; CAMPANHA et al., 2010). Portanto, as amostras avaliadas na presente pesquisa receberam o protocolo de aplicação da LLLT por 13 dias o que pode ser considerado estágio inicial da osseointegração. O efeito esperado é a melhoria da estabilidade do implante. Além deste fator para o favorecimento do reparo ósseo, foi utilizado um modelo de implante com a superfície nanotesturizada, o Nanotite<sup>®</sup>, dessa forma a associação da terapia a laser de baixa intensidade com este tipo de implante pressupõe que haverá uma elevação nos valores de osseointegração.

Estudos apresentam diversas metodologias para avaliar esta osseointegração a fim de proporcionar a instalação da prótese definitiva com segurança e sem riscos de perda da estabilidade do implante (SENNERBY; MEREDITH, 2008). Pesquisas envolvendo animais definem como metodologia eficiente para aferição da osseointegração a análise por histomorfometria, a qual faz uma mensuração quantitativa do contato entre osso e implante, da área de osso presente e da presença de fibras colágenas da região perimplantar (SOUZA, 2010, AL-HAMDAN et al., 2011, GARCIA et al., 2012, MENICUCCI et al., 2013). Entretanto, apesar deste tipo de avaliação ser considerada muito confiável não é passível de aplicação em humanos, por se tratar de uma avaliação destrutiva, ou seja, faz-se necessária a retirada do implante de seu sítio para análise (ALBREKTSSON et al., 2000).

Por este motivo, em se tratando de uma pesquisa com caráter de correlação de metodologias, a amostra analisada foi de mandíbulas de coelhos dissecadas contendo um implante dentário instalado. O uso de modelo animal coelho é utilizado para avaliação da aplicação LLLT sobre implantes dentários colocados em tíbias (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; CAMPANHA et al., 2010), no entanto, a morfologia do osso da tíbia de coelhos é diferente do osso mandibular alveolar, assim o método empregado neste estudo possibilitou maior confiabilidade por mimetizar uma situação clínica funcional (DE JONG; KORFAGE; LANGENBACH, 2010).

No entanto, uma limitação característica deste método na avaliação da neoformação óssea ao redor de implantes dentários consiste na necessidade de preparo das amostras que demanda tempo, pois o tecido ósseo e o implante precisam ser incluídos em resina para posterior corte em micrótomo com sistema de corte e desgaste até alcançar uma espessura adequada (SOUZA, 2010). Além disso, esse processo pode ocasionar o desgarramento do tecido ósseo adjacente ao implante e, conseqüentemente, inviabilizar o processamento das amostras e a análise histomorfométrica. Assim, o uso de imagem para avaliação pós-operatória tal qual a tomografia computadorizada do tipo feixe cônico poderia ser utilizada por ser um método não invasivo.

A análise por histomorfometria foi utilizada como padrão para correlação com a metodologia proposta de avaliação por tomografia computadorizada de feixe cônico da região perimplantar. A fim de avaliar a interação entre osso e implante e comparar com a aplicação de LLLT em três doses distintas realizou-se avaliação da densidade de imagem. A TCFC proporciona uma medida de densidade mineral óssea da mandíbula potencialmente útil como um método não invasivo para avaliar a qualidade óssea mandibular (LINDH et al., 1996). Entretanto esta tecnologia não utiliza um sistema padrão para o dimensionamento dos níveis de cinza que representam os valores das reconstruções. Isto torna difícil interpretar os níveis de cinza para comparar os valores resultantes em equipamentos diferentes (MAH; REEVES; MCDAVID, 2010). Portanto, a avaliação da densidade óssea e do controle pós-operatório da colocação de implantes dentários por meio da TCFC requer maiores pesquisas (BENAVIDES et al., 2012).

Em contraponto, tomografias computadorizadas de feixe em leque fornecem uma relação padronizada de avaliação do coeficiente de atenuação dos feixes dos raios X, estando relacionada com a escala de Unidades Hounsfield. Até o presente momento, os tomógrafos do tipo feixe cônico não possuem estas operações matemáticas de conversão da atenuação em HU. Na ausência de tal método, torna-se difícil comparar os valores densidade radiográfica entre diferentes fabricantes dos equipamentos de feixe cônico, a não ser pela análise dos níveis de cinza e avaliação do contraste nas imagens tomográficas (MAH; REEVES; MCDAVID, 2010). Atualmente, a literatura fornece poucos estudos para corrigir esta deficiência dos tomógrafos do tipo feixe cônico, visto que as escalas de cinza não apresentam uma conversão para a escala HU (MAH; REEVES; MCDAVID, 2010).

O método de análise utilizado para avaliação por TCFC e histomorfometria proposto nesta pesquisa foi da avaliação do terço médio do implante, diferentemente de algumas pesquisas nas quais examinam o terço cervical por estar em contato com osso cortical de tíbias de coelhos (SOUZA, 2010). Não avaliam o restante do implante por estar em contato com osso medular o qual é formado por um único espaço, ou seja, não é observada a presença de trabéculas ósseas. No entanto, deve-se levar em conta que o osso medular destes animais é estruturalmente diferente da maxila ou da mandíbula, em humanos. Portanto, em coelhos, existe

uma tendência em se analisar somente a região do implante localizada em nível da camada cortical, o que normalmente corresponde, em largura, à espessura de três roscas do implante (LÓPEZ, 2007).

Diferentemente de nosso trabalho, onde os implantes foram instalados em alvéolos de mandíbulas de coelhos após exodontia, não foi possível avaliar a região cervical do implante devido ao fato de algumas roscas cervicais do implante ficarem expostas e impossibilitarem avaliação. A análise da região apical também não foi possível de ser executada devido ao fato da superfície externa do implante apresentar cavidades em formato helicoidal ao longo do seu corpo para autorosqueamento. Estas cavidades atuam como repositórios de fragmentos de ossos, contendo sangue como fator de crescimento, potencializando o início da osseointegração (BIOMET 3i). Esta topografia do implante causou certa restrição na avaliação do contato entre osso e implante e da área óssea presente, pois limitou a avaliação apenas às espiras mais centralizadas do implante, as quais não sofrem interferência desta conformação helicoidal.

## 7.2 DOS RESULTADOS

Seja histomorfometricamente, seja por análise tomográfica de feixe cônico, os resultados revelam que, em valores absolutos, os animais dos grupos experimentais (EI, EII e EIII) apresentam uma melhoria na osseointegração para avaliação linear TCFC, %AOR, %AOE, %FC. O único grupo que apresentou os melhores resultados para todas as análises foi o EIII. No entanto, após análise estatística estes valores não foram significativos para todas as avaliações propostas, possivelmente devido a dois fatores, o primeiro relacionado à superfície dos implantes, pois sua modificação favorece a osseointegração (THOMAS; COOK, 1985; BUSER et al., 1991; BUSER; BELSER, 1996; ALBREKTSSON et al., 2000; SUL et al., 2001; COCHRAN et al., 2002) e o segundo devido ao número de animais por grupo ser limitado a seis. Entretanto, pesquisadores referem que o efeito do laser pode ser observado em amostras contendo cinco a oito animais (KHADRA et al., 2004; BAE et al., 2004; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009).

A modificação da superfície do implante, provavelmente, contribuiu com os valores elevados dos resultados observados para o grupo controle, o qual não recebeu LLLT, em comparação aos grupos que receberam dose de laser. Pois as análises da área de osso presente e de níveis de cinza revelaram resultados que não apresentam diferença estatística entre os grupos ao nível de significância de 5%. A área óssea avaliada por histomorfometria, após o emprego da LLLT sobre o reparo ósseo, demonstra que não há diferença significativa entre os grupos que receberam laser placebo e os que foram submetidos à laserterapia (KHADRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2009).

A extensão linear de contato entre osso e implante apresentou melhores resultados para o grupo EIII, o qual recebeu a dose de laser de  $140\text{J}/\text{cm}^2$  em comparação aos demais grupos. Este resultado corrobora com os encontrados em pesquisas que avaliam a osseointegração, as quais concluem que a aplicação da terapia a laser de baixa intensidade aumenta o contato entre osso e implante (KHADRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2009).

Nesta pesquisa foi observado um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da deposição de fibras colágenas no grupo irradiado com  $140\text{J}/\text{cm}^2$  quando comparados com os demais grupos. O aumento da atividade e da proliferação fibroblástica ocasionadas pelo efeito biomodulatório da laserterapia são responsáveis pela maior concentração de fibras colágenas, estando de acordo com os trabalhos de Pinheiro et al. (2003), Lopes et al. (2005), Gerbi et al. (2005) e Lopes et al. (2007). A literatura revisada refere que no período de 15 dias pode ser observado aumento da quantidade de colágeno (PINHEIRO et al., 2003; GERBI et al., 2005) e em 30 dias maior neoformação óssea (GERBI et al., 2005). Nossos resultados, possivelmente estão relacionados ao fato da formação do colágeno preceder a formação óssea, demonstrando, assim, que no tempo de 45 dias não é possível observar área óssea na região avaliada do terço médio do implante, mas sim grande aumento de fibras colágenas.

Em se tratando de uma nova metodologia para avaliação da osseointegração, os dados obtidos através das avaliações linear e de área pela tomografia computadorizada de feixe cônico não podem ser correlacionados com as avaliações histomorfométricas possivelmente devido ao mesmo fato da área

óssea não ter apresentado resultados significativamente diferentes entre os grupos. Assim o nível de cinza da imagem que está relacionado com a presença óssea não demonstrou coerência com os resultados obtidos pela avaliação da área óssea por histomorfometria.

Os níveis de cinza da região perimplantar ao serem correlacionados a histomorfometria demonstram que a TCFC não é uma ferramenta útil na avaliação óssea após a instalação de implantes dentários, diferentemente do trabalho de Shiratori et al. (2012) onde compara-se o valor tomográfico a avaliação clínica e demonstra-se como viável a sua aplicação.

## 8 CONCLUSÃO

---

A partir da metodologia empregada neste estudo para avaliar as alterações no processo de reparo ósseo perimplantar em alvéolo do incisivo inferior de coelhos após exodontia seguida da inserção imediata de um implante osseointegrável, irradiadas ou não com laser de baixa intensidade (AsGaAl), em diferentes parâmetros, pode-se concluir que:

- a) A aplicação de LLLT no parâmetro de  $140\text{J}/\text{cm}^2$  aumentou o percentual da extensão linear de contato entre osso e implante e da área de fibras colágenas.
- b) A aplicação de LLLT no parâmetro de  $140\text{J}/\text{cm}^2$  aumentou a média de densidade perimplantar avaliada por tomografia computadorizada de feixe cônico pelo método linear.
- c) Não há correlação significativa entre os resultados histomorfométricos e de avaliação da densidade de imagem perimplantar nos diferentes parâmetros estudados ( $35\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $70\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $140\text{J}/\text{cm}^2$ ).

## REFERÊNCIAS

---

ADELL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. **Int. J. Oral Surg.**, Copenhagen, v. 10, no. 6, p. 387-416, Dec. 1981.

ALBREKTSSON, T. et al. Experimental studies on oxidized implant. A histomorphometrical and biomechanical analysis. **Applied Osseoint. Res.**, v. 1, no. 1, p. 21-24, 2000.

ALBREKTSSON, T. On long-term maintenance of the osseointegrated response. **Aust. Prosthodont. J.**, Westmead, v. 7, suppl, p. 15-24, 1993.

AL-HAMDAN K. et al. Effect of implant surface properties on peri-implant bone healing: a histological and histomorphometric study in dogs. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 22, no. 4, p. 399-405, Apr. 2011.

ALMEIDA-LOPES, L.; LOPES, A. Técnica da drenagem linfática ativada por laserterapia. **Livro Virtual 25º CIOSP**, São Paulo, 2005. Disponível: <[http://www.nupen.com.br/port/odontologia/od\\_bibli/LASER-Lopes.CIOSP.2005.pdf](http://www.nupen.com.br/port/odontologia/od_bibli/LASER-Lopes.CIOSP.2005.pdf)>. Acesso em: 17 nov. 2012.

ARAI, Y. Development of a compact computed tomographic apparatus for dental use. **Dentomaxillofac. Radiol.**, London, v. 28, no. 4, p. 245-248, Jul. 1999.

ARAKI, K.; OKANO, T. The effect of surrounding conditions on pixel value of cone beam computed tomography. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 17, Nov. 2011.

BAENA, R. et al. Evaluation of bacterial adhesion on machined titanium, Osseotite<sup>®</sup> and Nanotite<sup>®</sup> discs. **Int. J. Artif. Organs.**, Milano, v. 35, no. 10, p. 754-761, Oct. 2012.

BENAVIDES, E. et al. Use of cone beam computed tomography in implant dentistry: the International Congress of Oral Implantologists consensus report. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 21, no. 2, p. 78-86, Apr. 2012.

BENIC, GI. et al. Dimensions of buccal bone and mucosa at immediately placed implants after 7 years: a clinical and cone beam computed tomography study. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 23, no. 5, p. 560-566, 2012.

BENIC, GI. et al. In vitro assessment of artifacts induced by titanium dental implants in cone beam computed tomography. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 24, no. 4, p. 378-383, 2013.

BIOMET 3i<sup>®</sup>. **Surgical & sites preparation**: product catalog. Palm Beach Gardens, FL, 2008.

- BLAYA, DS. et al. Histologic study of the effect of laser therapy on bone repair. **J Contemp. Dent. Pract.**, New Delhi, v. 9, no. 6, p. 41-48, Sep. 2008.
- BOLDRINI, C. et al. Biomechanical effect of one session of low-level laser on the bone–titanium implant interface. **Lasers Med. Sci.**, London, v. 28, no. 1, p. 349-352, Jan. 2013.
- BORNSTEIN, MM. et al. Early loading at 21 days of non-submerged titanium implants with a chemically modified sandblasted and acid-etched surface: 3-year results of a prospective study in the posterior mandible. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 81, no. 6, p. 809-818, Jun. 2010.
- BRÅNEMARK, PI. et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, Stockholm, v. 3, no. 2, p. 81-100, 1969.
- BROWAEYS, H. et al. The histological evaluation of osseointegration of surface enhanced microimplants immediately loaded in conjunction with sinuslifting in humans. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 24, no. 1, p. 36-44, Jan. 2013.
- BRUGNERA, A. Jr., et al. **Atlas de laserterapia aplicada à clínica odontológica**. São Paulo: Santos, 2003. 119p.
- BRUGNERA A Jr. Laser phototherapy in dentistry. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 27, no. 4, p. 533-534, Aug. 2009.
- BRUNSKI, J. The Influence of force, motion and related quantities on the response of bone to implants. In: **Non-cemented total hip arthroplasty**. New York: Raven, 1988.
- BUSER, D.; BELSER U.C. In: **Regeneração óssea guiada na implantodontia**. BUSER, D.; DAHLIN, C.; SCHENK, R.K. São Paulo: Quintessence Books, 1996.
- BUSER, D. et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. **J. Dent. Res.**, v. 83, no. 7, p. 529-533, Jul. 2004.
- BUSER, D. et al. Tissue integration of one-stage ITI implants: 3 year results of a longitudinal study with Hollow-Cylinder and Hollow-Screw implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, Lombard, v. 6, no. 4, p. 405-412, 1991.
- CAMPANHA, B.P. et al. Low-level laser therapy for implants without initial stability. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 28, no. 3, p. 365-369, Jun. 2010.
- CAMPBELL, D.T.; STANLEY, J.C. **Delineamentos experimentais e quase-experimentais de pesquisa**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1979. 138p.
- CANNIZZARO, G. et al. Immediate versus early loading of 6.5 mm-long flapless-placed single implants: a 4-year after loading report of a split-mouth randomised controlled trial. **Eur. J. Oral Implantol.**, Surrey, v. 5, no. 2, p. 111-121, 2012.
- CAVALCANTI, M. **Diagnóstico por imagem da face**. São Paulo: Santos; 2008. 528p.

CEVIDANES, L.H. et al. Superimposition of 3D cone-beam CT models of orthognathic surgery patients. **Dentomaxillofac. Radiol.**, London, v. 34, no. 6, p. 369-375, Nov. 2005.

CHAN, H.L.; MISCH, K.; WANG, H.L. Dental imaging in implant treatment planning. **Implant Dent.**, Baltimore, v. 19, no. 4, p. 288-298, Aug. 2010.

CHO, H.J. et. al. Effect of low-level laser therapy on osteoarthropathy in rabbit. **In Vivo.**, Athens, v. 18, no. 5, p. 585-591, Sep./Oct. 2004.

COCHRAN, D.L. et al. The use of reduced healing times on ITI implants with sandblasted and acid-etched (SLA) surface: early results from clinical trials on ITI SLA implants. **Clin. Oral Impl. Res.**, Copenhagen, v. 13, no. 2, p. 144-153, Apr. 2002.

DA GUARDA, M. G. et al. Laser GaAIs ( $\lambda 860$  nm) photobiomodulation for the treatment of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 30, no. 5, p. 293-297, May 2012.

DE JONG, W.C.; KORFAGE, J.A.; LANGENBACH, G.E. Variations in habitual bone strains in vivo: long bone versus mandible. **J. Struct. Biol.**, San Diego, v. 172, no. 3, p. 311-318, Dec. 2010.

DE VOS, W.; CASSELMAN, J.; SWENNEN, G.R. Cone-beam computerized tomography (CBCT) imaging of the oral and maxillofacial region: a systematic review of the literature. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 38, no. 6, p. 609-625, Jun. 2009.

DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; MALLATH-POKORNY, G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 11, no. 6, p. 540-545, Dec. 2000.

DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; MAILATH-POKORNY, G. Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 13, no. 3, p. 288-292, Jun. 2002.

FARMAN, A.G.; SCARFE, W.C. Development of imaging selection criteria and procedures should precede cephalometric assessment with cone-beam computed tomography. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v. 130, no. 2, p. 257-265, Aug. 2006.

FREDDO, A.L. et al. Effect of low-level therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. **Laseres Med. Sci.**, London, v. 24, no. 5, p. 721-728, Sep. 2009.

FREITAS, I.G.F.; BARANAUSKAS, V.; CRUZ-HÖFLING, M.A. Laser effects on osteogenesis. **Appl. Surf. Sci.**, Amsterdam, v. 154, p. 548-554, Feb. 2000.

GANELES, J. et al. Immediate and early loading of Straumann implants with a chemically modified surface (SLActive) in the posterior mandible and maxilla : 1-year results from a prospective multicenter study. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 19, no. 11, p. 1119-1128, Nov. 2008.

- GARCIA, V.G. et al. Effects of LLLT in combination with bisphosphonate on bone healing in critical size defects: a histological and histometric study in rat calvaria. **Lasers Med. Sci.**, London, v. 28, no. 2, p. 407-414, Feb. 2013.
- GARIB, D.G. et al. Tomografia computadorizada de feixe cônico (Cone beam): entendendo este novo método de diagnóstico por imagem com promissora aplicabilidade na Ortodontia. **R. Dent. Press Ortodon. Ortopedi. Facial.**, v. 12, n. 2, p. 139-156, mar./abr. 2007.
- GERBI, M.E. et al. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 23, no. 4, p. 382-388, Aug. 2005.
- GILMORE, J.; WELDON, J.; LARES, M. CMOS technology for digital dental imaging. **Biophotonics.**, Apr. 2010. Disponível em: <<http://www.photonics.com/Article.aspx?AID=42008>>. Acesso em: 28 fev. 2012.
- GUIMARÃES, K.B. **Fotoengenharia do processo de reparo ósseo induzido pela laserterapia de baixa potência (GaAlAs): estudo em fêmures de ratos**. 2006. Dissertação - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2006.
- HASHIMOTO, K. et al. A comparison of a new limited cone beam computed tomography machine for dental use with a multidetector row helical CT machine. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 95, no. 3, p. 371-377, Mar. 2003.
- HILGERS, M.L. et al. Accuracy of linear temporomandibular joint measurements with cone beam computed tomography and digital cephalometric radiography. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v. 128, no. 6, p. 803-811, Dec. 2005.
- HORNER, K.; JACOBS, R.; SCHULZE, R. Dental CBCT equipment and performance issues. **Radiat. Prot. Dosimetry.**, Oxford, v. 153, no. 2, p. 212-218, Feb. 2013.
- HÜBLER, R. et al. Effects of low-level laser therapy on bone formed after distraction osteogenesis. **Lasers Med. Sci.**, London, v. 25, no. 2, p. 213-219, Mar. 2010.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.
- HUSSEIN, A.J. et al. Effects of a low level laser on the acceleration of wound healing in rabbits. **N. Am. J. Med. Sci.**, Mumbai, v. 3, no. 4, p. 193-197, Apr. 2011.
- KAEPPLER, G. Applications of cone beam computed tomography in dental and oral medicine. **Int. J. Comput. Dent.**, New Malden, v. 13, no. 3, p. 203-219, 2010.
- KATSUMATA, A. et al. Image artifact in dental cone-beam CT. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 101, no. 5, p. 652-657, May 2006.

KAU, C.H. et al. Cone-beam computed tomography of the maxillofacial region-an update. **Int. J. Med. Robot.**, West Sussex, v. 5, no. 4, p. 366-380, Dec. 2009.

KHADRA, M. et al. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation on human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. **Biomaterials.**, Amsterdam, v. 26, no. 17, p. 3503-3509, Jun. 2005.

KHADRA, M. et al. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 15, no. 3, p. 325-332, Jun. 2004.

KHADRA, M. The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. **Dent. Implantol. Update.**, Atlanta, v. 16, p. 55, Jul. 2005.

KOBAYASHI, K. et al. Accuracy in measurement of distance using limited cone-beam computerized tomography. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, Lombard, v. 19, no. 2, p. 228-231, Mar./Apr. 2004.

KUSEK, E.R. The use of laser technology (Er;Cr:YSGG) and stereolithography to aid in the placement of a subperiosteal implant: case study. **J. Oral Implantol.**, Lawrence, v. 35, no. 1, p. 5-11, 2009.

LANGLAND, O.E.; LANGLAIS, R.P. Aparelho de raio X: atenuação e registro das imagens radiográficas. In: Langland OE, Langlais RP. **Princípios do diagnóstico por imagem em odontologia**. São Paulo: Santos; 2002. p. 31-50.

LAZZARA, R.J. NanoTite™ Implants: The next generation of dental implants. **Clinical Perspectives.**, v. 6, no. 1, 2007. Disponível em: <[http://br.biomet3i.com/Pdf/Art995B\\_Nano\\_CP.pdf](http://br.biomet3i.com/Pdf/Art995B_Nano_CP.pdf)>. Acesso em: 13 set. 2012.

LAZZARA, R. et al. Retrospective multicenter analysis of 3i endosseous dental implants placed over a five-year period. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 7, no. 1, p. 73-83, Mar. 1996.

LINDH, C. et al. Quantitative computed tomography of trabecular bone in the mandible. **Dentomaxillofac. Radiol.**, London, v. 25, no. 3, p. 146-150, Jun. 1996.

LIZARELLI, R.F.Z. **Protocolos clínicos odontológicos: uso do laser de baixa intensidade**. 3ªed. São Paulo: Gorham Deisgn, 2007.

LOPES, C.B. et al. Infrared laser photobiomodulation (lambda 830 nm) on bone tissue around dental implants: a Raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 25, no. 2, p. 96-101, Apr. 2007.

LOPES, C.B. et al. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a Raman spectroscopic study. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 23, no. 1, p. 27-31, Feb. 2005.

LÓPEZ, J.C.R.R. **Avaliação histomorfométrica do percentual de osseointegração ao redor de implantes recobertos por hidroxiapatita por**

**meio de dois métodos de secção histológica.** 2007. Dissertação - Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, 2007.

LUONGO, G.; OTERI, G. A noninterventional study documenting use and success of implants with a new chemically modified titanium surface in daily dental practice. **J. Oral Implantol.**, Lawrence, v. 36, no. 4, p. 305-314, 2010.

MAH, P.; REEVES, T.E.; MCDAVID, D.W. Deriving Hounsfield units using grey levels in cone beam computed tomography. **Dentomaxillofac. Radiol.**, London, v. 39, no. 6, p. 323-335, Sep. 2010.

MALUF, A.P. et al. Mechanical evaluation of the influence of low-level laser therapy in secondary stability of implants in mice shinbones. **Lasers Med. Sci.**, London, v. 25, no. 5, p. 693-698, Sep. 2010.

MANGINI, R.S.; SCHIOCHETT, C. Histórico dos implantes: do sonho à realidade. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 56, no. 5, p. 245-251, Set./Out. 1999.

MARMULLA, R. et al. Geometric accuracy of the NewTom 9000 Cone Beam CT. **Dentomaxillofac. Radiol.**, London, v. 34, no. 1, p. 28-31, Jan. 2005.

MAYER, L. **Análise do efeito sistêmico da LLLT em reparo tecidual perimplantar: estudo em coelhos.** 2013. Tese - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013.

MENICUCCI, G. et al. Healing properties of implants inserted concomitantly with anorganic bovine bone. A histomorphometric human study. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 58, no. 1, p. 57-66, Mar. 2013.

MILORO, M.; MILLER, J.J.; STONER, J.A. Low-level laser effect on mandibular distraction osteogenesis. **J. Oral. Maxillofac. Surg.**, Philadelphia, v. 65, no. 2, p. 168-176, Feb. 2007.

MIYAMOTO, Y.; OBAMA, T. Dental cone beam computed tomography analyses of postoperative labial bone thickness in maxillary anterior implants: comparing immediate and delayed implant placement. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v. 31, no. 3, p. 215-225, Jun. 2011.

MOHAMED, S. et al. Effect of surface contamination on osseointegration of dental implants surrounded by circumferential bone defects. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 21, no. 5, p. 513-519, May 2010.

MOZZO, P. et al. A new volumetric CT machine for dental imaging based on the cone-beam technique: preliminary results. **Eur. Radiol.**, Berlin, v. 8, no. 9, p. 1558-1564, 1998.

MUSTAFA, K. et al. Effects of titanium surfaces blasted with TiO<sub>2</sub> particles on the initial attachment of cells derived from human mandibular bone. A scanning electron microscopic and histomorphometric analysis. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 11, no. 2, p. 116-128, Apr. 2000.

NACKAERTS, O. et al. Analysis of intensity variability in multislice and cone beam computed tomography. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 22, no. 8, p. 873-879, Aug. 2011.

NING, R. et al. Flat panel detector-based cone-beam volume CT angiography imaging: system evaluation. **IEEE Trans. Med. Imaging.**, New York, v. 19, no. 9, p. 949-963, Sep. 2000.

NORTON, M.R.; GAMBLE, C. Bone classification: an objective scale of bone density using the computerized tomography scan. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 12, no. 1, p. 79-84, Feb. 2001.

OSTMAN, P.O. et al. Immediate provisionalization of NanoTite implants in support of single-tooth and unilateral restorations: one-year interim report of a prospective, multicenter study. **Clin. Implant Dent. Relat. Res.**, Hamilton, v. 12, suppl. 1, p. 47-55, May 2010.

PANARELLO, A.F. **Avaliação da potência e intensidade do laser não-ablativo no processo de infiltração e reparo de tecidos moles.** 2003. Dissertação - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2003.

PARKS, E.T. Computed tomography applications for dentistry. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 44, no. 2, p. 371-394, Apr. 2000.

PASLER, F.A. **Radiologia odontológica.** Rio de Janeiro: Medsi; 1999.

PEREIRA, C.L. et al. The effect of low-intensity laser therapy on bone healing around titanium implants: a histometric study in rabbits. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, Lombard, v. 24, no. 1, p. 47-51, Jan./Feb. 2009.

PINHEIRO, A.L.B.; BRUGNERA JUNIOR, A.; LIMEIRA JÚNIOR, F.A. A laserterapia não cirúrgica em implantodontia. In: GOMES, L.A. **Implantes Osseointegrados – Técnica e Arte.** São Paulo: Santos; 2002. p.223-235.

PINHEIRO, A.L.B.; FRAME, J.W. Laser em odontologia: seu uso atual e perspectivas futuras. **Rev. Gaúcha de Odontol.**, Porto Alegre, v. 40, n. 5, p. 327-332, 2002.

PINHEIRO, A.L.B. et al. Effect of 830nm laser light on repair of bone defects grafted with organic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v. 21, no. 6, p. 383-388, Dec. 2003.

PINHEIRO, A.L.; GERBI, M.E. Photoengineering of bone repair processes. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 24, no. 2, p. 169-178, Apr. 2006.

PYO, S. et al. Low-level laser therapy induces the expressions of BMP-2, osteocalcin, and TGF- $\beta$ 1 in hypoxic-cultured human osteoblasts. **Lasers Med. Sci.** London, v. 28, no. 2, p. 543-550, Feb. 2013.

ROE, P. et al. Horizontal and vertical dimensional changes of peri-implant facial bone following immediate placement and provisionalization of maxillary anterior

single implants: a 1-year cone beam computed tomography study. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants.**, Lombard, v. 27, no.2, p. 393-400, Mar./Apr. 2012.

ROSS, G.; ROSS, A. Low level lasers in dentistry. **Gen. Dent.**, Chicago, v. 56, no. 7, p. 629-634, Nov./Dec. 2008.

ROSS, G.; ROSS, A. Low Level Laser Therapy: An Untapped Resource in the Dental Industry. **Oral Health.**, v. 99, no. 12, p. 27-28, 31-31, Dec. 2009.

RUGANI, P. et al. Cone beam computerized tomography: basics for digital planning in oral surgery and implantology. **Int. J. Comput. Dent.**, New Malden, v. 12, no. 2, p. 131-145, 2009.

SCARFE, W.C.; FARMAN, A.; SUKOVIC, P. Clinical applications of Cone-Beam Computed Tomography in dental practice. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v. 72, no. 1, p. 75-80, Feb. 2006.

SCHWARZ, F. et al. Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 78, no. 11, p. 2171-2184, Nov. 2007a.

SCHWARZ, F. et al. Histological and immunohistochemical analysis of initial and early subepithelial connective tissue attachment at chemically modified and conventional SLA<sup>®</sup> titanium implants. A pilot study in dogs. **Clin. Oral Investig.**, Berlin, v. 11, no. 3, p. 245-455, 2007b.

SENNERBY, L.; MEREDITH, N. Implant stability measurements using resonance frequency analysis: biological and biomechanical aspects and clinical implications. **Periodontol. 2000.**, Copenhagen, v. 47, p. 51-66, 2008.

SHIRATORI, L.N. et al. Measurement of buccal bone volume of dental implants by means of cone-beam computed tomography. **Clin. Oral Implants Res.**, Copenhagen, v. 23, no. 7, p. 797-804, Jul. 2012.

SIEWERDSEN, J.H.; JAFFRAY, D.A. A ghost story: spatio-temporal response characteristics of an indirect-detection flat-panel imager. **Med. Phys.**, Lancaster, v. 26, no. 8, p. 1624-1641, Aug. 1999.

SILVA, I.M.C.C. et al. Bone density: comparative evaluation of Hounsfield units in multislice and cone-beam computed tomography. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 26, n. 6, p. 550-556, nov./dec. 2012.

SOUZA, F.A. **Estudo comparativo *in vivo* de implantes *Ti-cp* com superfícies comerciais e modificadas por laser sem e com depósito de sílica: Análises biomecânica, topográfica e histométrica.** 2010. Tese - Universidade Estadual de São Paulo. Araçatuba, São Paulo. 2010.

STEIN, E. et al. Phenothiazine chloride and soft laser light have a biostimulatory effect on human osteoblastic cells. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 27, no. 1, p. 71-77, Feb. 2009.

SUL, Y.T. et al. Oxidized Implants and their influence on the bone response. **J. Mater Sci. Mater Med.**, Norwell, v. 12, p. 10-12, Oct./Dec. 2001.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Copenhagen, v. 17, no. 6, p. 388-391, Dec. 1988.

THOMAS, K.A.; COOK, S.D. An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. **J. Biom. Mater Res.**, Hoboken, v. 19, no. 8, p. 875-901, Oct, 1985.

TIMLIN, J.A.; CARDEN, A.; MORRIS, M.D. Chemical microstructure of cortical bone probed by Raman transects. **Appl. Spectr.**, no. 53, p. 1429-1435, 1999.

TURKYILMAZ, I. et al. Determination of bone quality of 372 implant recipient sites using Hounsfield unit from computerized tomography: a clinical study. **Clin. Implant. Dent. Relat. Res.**, Hamilton, v. 10, no.4, p. 238-244, Dec. 2008.

VERA, C. et al. Evaluation of post-implant buccal bone resorption using cone beam computed tomography: a clinical pilot study. **Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.**, Lombard, v. 27, no. 5, p. 1249-1257, Sep./Oct. 2012.

VIEGAS, V.N. **Avaliação das variações da transferência do planejamento virtual e sobre protótipos biomédicos para a instalação de implantes dentários pela técnica da cirurgia guiada.** 2008. Tese - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.

XAVES, A.C.C. et al. Aplicações da tomografia computadorizada de feixe cônico na odontologia. **Int. Dent. J.**, Chichester, v. 4, no. 3, p. 111, 2005.

WEBER, J.B. et al. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. **Photomed. Laser Surg.**, Larchmont, v. 24, no. 1, p. 38-44, Feb. 2006.

ZARB, G.A.; ALBREKTSSON, T. Osseointegration: a requiem for the periodontal ligament? **Int. J. Periodont. Res. Dent.**, Chicago, v. 11, p. 88-91, 1991.

## APÊNDICE A – Protocolo de execução da fase experimental

### INSTALAÇÕES

A manutenção dos animais, os procedimentos cirúrgicos, as aplicações do laser de baixa intensidade, bem como todos os procedimentos que envolveram os animais foram realizados na Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob supervisão direta da Médica Veterinária responsável pela UEA, Dra. Fabíola Meyer CRMV/RS 9721.

Todos os animais passaram, previamente à cirurgia, por um período de cinco dias para ambientação na UEA. Os coelhos permaneceram em gaiolas individuais suspensas, evitando o contato direto com fezes e urina, durante todo o período do experimento. Os animais foram alimentados com dieta sólida<sup>18</sup> e a água fornecida *ad libitum*. As instalações eram climatizadas, mantendo-os sob condições normais de iluminação, umidade e temperatura. Todas as gaiolas foram devidamente etiquetadas, durante todo o período do experimento, conforme o grupo a que pertenciam os animais. Além disso, todos os animais receberam uma identificação na forma de brinco colocado na orelha esquerda, identificados por cor de acordo com o grupo a que pertenciam e numerados de um a oito conforme estabelecido no projeto 11-0449, o qual era composto por cinco grupos com oito coelhos em cada. Dessa forma a descrição a seguir contará com o número de 40 animais; entretanto, somente foram utilizadas 24 mandíbulas na presente pesquisa de aproveitamento de material biológico.

### PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

A intervenção cirúrgica foi sempre realizada pelo mesmo pesquisador, calibrado antecipadamente, com o objetivo de padronizar o procedimento cirúrgico. A calibração foi realizada previamente em um estudo-piloto com quatro coelhos.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no bloco cirúrgico da Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sendo este ambiente separado do ambiente de criação. Assim sendo, os animais não ficaram

---

<sup>18</sup> Linha Natural, Purina®

expostos ou sob tensão de ruídos, odores e até mesmo a visão dos procedimentos que foram realizados.

Todas as etapas dos procedimentos clínicos foram supervisionadas por uma Médica Veterinária, que acompanhou o pré, trans e pós-operatório dos animais.

Após a aferição do peso, na sala de pré-anestesia, os animais foram anestesiados por meio de injeção intramuscular de Cloridrato de Ketamina<sup>19</sup>, na dose de 40mg/kg de peso e de Cloridrato de Xilasina<sup>20</sup>, 3mg/kg de peso. Após dez minutos foi realizada a tricotomia da região submentoniana e a antissepsia da região do incisivo inferior esquerdo com Digluconato de Clorexidina a 2%<sup>21</sup>. A seguir foi realizada, na região perialveolar, uma infiltração de 0,5ml de Lidocaína a 2%<sup>22</sup> com Epinefrina na proporção de 1:100.000 visando a vasoconstrição local.

Procedeu-se, então, a sindesmotomia e a exodontia do incisivo inferior esquerdo com o auxílio de um fórceps infantil nº5<sup>23</sup>.

Após a exodontia, o alvéolo foi irrigado abundantemente com solução salina de soro fisiológico 0,9%<sup>24</sup> e a seguir preparado para colocação de um implante osseointegrado de 3,25mm de diâmetro por 11,5mm de comprimento, cônicos, auto-rosqueáveis, com superfície Nanotite<sup>®25</sup>, comercialmente disponíveis e adquiridos especialmente para esta pesquisa junto à empresa Odontodis<sup>®26</sup>.

Toda sequência de fresagem (perfuração óssea com broca) foi realizada de forma gradativa, intermitente e precisa, seguindo a sequência de fresas preconizada pelo fabricante - BIOMET 3i<sup>®27</sup>, na velocidade de 1200rpm e torque de 30N/cm, usando um contra-ângulo redutor de 20:1, modelo Konzept da marca Kavo<sup>®28</sup>, conectado ao motor elétrico digital Driller<sup>®29</sup>, modelo BLM 600, com uma

---

<sup>19</sup> Dopalen<sup>®</sup>, fabricado por Divisão Vetbrands Saúde Animal. São Paulo/SP.

<sup>20</sup> Anasedan<sup>®</sup>, fabricado por Divisão Vetbrands Saúde Animal. São Paulo/SP.

<sup>21</sup> FGM Produtos Odontológicos. Joinville/SC.

<sup>22</sup> Probem Laboratório de Produtos Farmacêuticos e Odontológicos Ltda.

<sup>23</sup> Fórceps Odontológico Infantil nº5. EDLO S/A. Canoas/RS.

<sup>24</sup> Baxter<sup>®</sup> - Av. Alfredo Egídio de Souza Aranha, 100 Bloco C, São Paulo/SP.

<sup>25</sup> Implante Nanotite<sup>®</sup> - BIOMET3i - 4555, Riverside Drive - Palm Beach Gardens, FL.

<sup>26</sup> Odontodis<sup>®</sup> - Representante oficial de Biomet 3i para o Rio Grande do Sul.

<sup>27</sup> BIOMET 3i - 4555, Riverside Drive - Palm Beach Gardens, FL.

<sup>28</sup> Fábrica KaVo do Brasil Ind. Com. Ltda. Rua Chapecó, 86, Joinville/SC.

<sup>29</sup> Driller<sup>®</sup> Rua São Fidélis, 339 - Jaguaré - SP

constante e intensa irrigação externa usando solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9%, evitando o superaquecimento ósseo.

A perfuração óssea foi realizada na região mais profunda do alvéolo utilizando a sequência de brocas do kit cirúrgico Biomet 3i<sup>®</sup>. Assim, todos os alvéolos foram preparados obedecendo-se à seguinte sequência:

1. Fresa com ponta em forma de lança para marcação inicial da perfuração (ACT<sup>®</sup> Pointed Starter Drill - ACTPSD);
2. Fresa com formato helicoidal de 2,0mm de diâmetro (2mm Twist Drill) com penetração de 11,5mm (comprimento dos implantes);
3. Fresa com formato cônico de 3,25mm de diâmetro (3,25mm Quad Shaping Drill - QSD3211) com penetração de 11,5mm (comprimento dos implantes);
4. Inserção do implante Nanotite<sup>®30</sup> com 3,25mm de diâmetro por 11,5mm de comprimento utilizando montador específico (*Handpiece Connector* - MDR10) para inserção com o contra-ângulo, na velocidade de 20rpm e com o torque de inserção de 30N.

O travamento inicial dos implantes foi padronizado de acordo com a programação do torque de inserção no motor elétrico digital Driller<sup>®31</sup> em 30N e a colocação dos mesmos com o contra-ângulo garantiu que todos tivessem o mesmo travamento no momento inicial.

Foi utilizado um conjunto de fresas para cada grupo, objetivando evitar o aquecimento ósseo, devido ao desgaste das fresas, seguindo as recomendações do fabricante.

Após a inserção dos implantes foi instalado o transdutor (*Smartpeg*) para aferição da Frequência de Ressonância (RFA) e foram obtidas as medidas de ISQ (*Implant Stability Quotient*) com utilização do aparelho Osstell<sup>®32</sup>.

A análise de frequência por ressonância é um teste que fornece medidas objetivas e confiáveis de micromobilidade lateral em várias fases do tratamento

---

<sup>30</sup> BIOMET 3i – 4555, Riverside Drive - Palm Beach Gardens, FL.

<sup>31</sup> Driller<sup>®</sup> Rua São Fidélis, 339 - Jaguaré - SP

<sup>32</sup> Osstell AB, Gamlestadsvägen 3B, SE 415 02 Göteborg, Sweden.

com implantes. O método analisa primeiramente a frequência de ressonância de um pequeno transdutor (*Smartpeg*) aparafusado ao implante ou ao pilar. A unidade de medida usada atualmente é dada em ISQ (*Implant Stability Quocient*), ou em português, cociente de estabilidade do implante, no entanto, nos primórdios da sua utilização era aferida em Hertz (Hz). O cociente de estabilidade do implante é um mapeamento quase linear de frequência de ressonância medido em kHz, mas para tornar-se clinicamente útil foi transformado em escala de 1-100 ISQ. Quanto maior for o ISQ, mais estável será o implante. Estudos proporcionam boas indicações de que a estabilidade aceitável se situa entre 55 e 85 ISQ, com um nível médio de 70 ISQ. Os resultados desta etapa constarão na Tese de Doutorado de Luciano Mayer.

Uma vez obtidas as medidas de estabilidade, o *Smartpeg* foi removido, foi instalado o parafuso de cobertura dos implantes e o leito cirúrgico foi suturado com um fio agulhado mononylon Ethicon 4-0<sup>33</sup>. A sutura foi removida após sete dias em todos os animais.

O procedimento foi repetido de forma idêntica para todos os coelhos: a região do alvéolo do incisivo inferior esquerdo recém extraído recebeu um implante osseointegrado nanotexturizado medindo 3,25x11,5mm. O tempo médio para a realização dos procedimentos, excluindo-se o tempo de indução anestésica foi de, aproximadamente, 20 minutos.

Todos os animais receberam imediatamente após o término dos procedimentos cirúrgicos a terapia medicamentosa composta de analgésico com Cloridrato de Tramadol<sup>34</sup> (aplicado via intramuscular, 5mg/kg, no pós-operatório imediato e uma segunda dose 24 horas após) e para o controle de possíveis infecções pós-operatórias foi utilizado Zelotril 10%<sup>35</sup> (aplicado via intramuscular, 5mg/kg, uma vez ao dia, durante três dias).

---

<sup>33</sup> Fiomonofilamentado 4.0 (45cm), agulha Ethiplast E-16 com curvatura de 3/8 e comprimento de 1,65cm, fabricado pela Ethicon® - Johnson & Johnson.

<sup>34</sup> Tramadol® 50mg Inj. União Química. Rua Cel. Luis Tenório de Brito, 90. Embu-Guaçu/SP, Brasil.

<sup>35</sup> Enrofloxaciná®, Agener União. Rua Cel. Luis Tenório de Brito, 90. Embu-Guaçu/SP, Brasil.

## IRRADIAÇÃO COM LASER

O aparelho utilizado foi o Thera Lase<sup>®36</sup>, laser de diodo infravermelho com meio ativo AsGaAl (Arseneto de Gálio-Alumínio), com comprimento de onda de 830nm, de forma pontual, com potência de 50mW, no modo de emissão contínua, a cada 48 horas, num total de sete sessões de aplicação, durante o período de 13 dias.

Os animais não irradiados (grupo controle - C) foram submetidos a uma simulação da irradiação com o aparelho desligado, passando pela mesma rotina dos animais irradiados.

De acordo com as regulamentações brasileiras, o laser foi aplicado em local isolado, com caracteres e simbologia internacionais para área em uso ou presença de irradiação, observando-se os procedimentos de segurança recomendados para tratamento com luz laser.

### *Grupo Experimental E1*

Ao final do procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo inferior esquerdo e colocação de implante osseointegrado no respectivo alvéolo, os animais foram submetidos à primeira sessão de laser (AsGaAl), 830nm, de forma pontual, com potência de 50mW, no modo de emissão contínua, com um tempo de aplicação de 00:01:41 (1 minuto e 41 segundos: o ajuste do tempo é feito pelo próprio aparelho após a determinação dos demais parâmetros). Os animais pertencentes ao grupo E1 receberam doses pontuais de 5J/cm<sup>2</sup> de irradiação na região perimplantar dos implantes osseointegrados colocados no alvéolo do incisivo inferior esquerdo. A aplicação foi conduzida com a ponteira posicionada paralelamente ao longo eixo dos implantes em dois pontos (mesial e distal), totalizando 10J/cm<sup>2</sup> por sessão. A irradiação foi realizada a cada 48 horas, num total de sete sessões de aplicação, durante o período de 15 dias, totalizando 70J/cm<sup>2</sup>.

---

<sup>36</sup> DMC Equipamentos. São Carlos. São Paulo

### *Grupo Experimental EII*

Ao final do procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo inferior esquerdo e colocação de implante osseointegrado no respectivo alvéolo, os animais foram submetidos à primeira sessão de laser (AsGaAl), 830nm, de forma pontual, com potência de 50mW, no modo de emissão contínua, com um tempo de aplicação de 00:00:51 (51 segundos: o ajuste do tempo é feito pelo próprio aparelho após a determinação dos demais parâmetros). Os animais pertencentes ao grupo EII receberam doses pontuais de 2,5J/cm<sup>2</sup> de irradiação na região perimplantar dos implantes osseointegrados colocados no alvéolo do incisivo inferior esquerdo. A aplicação foi conduzida com a ponteira posicionada paralelamente ao longo eixo dos implantes em dois pontos (mesial e distal), totalizando 5J/cm<sup>2</sup> por sessão. A irradiação foi realizada a cada 48 horas, num total de sete sessões de aplicação, durante o período de 15 dias, totalizando 35J/cm<sup>2</sup>.

### *Grupo Experimental EIII*

Ao final do procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo inferior esquerdo e colocação de implante osseointegrado no respectivo alvéolo, os animais foram submetidos à primeira sessão de laser (AsGaAl), 830nm, de forma pontual, com potência de 50mW, no modo de emissão contínua, com um tempo de aplicação de 00:03:21 (3 minutos e 21 segundos: o ajuste do tempo é feito pelo próprio aparelho após a determinação dos demais parâmetros). Os animais pertencentes ao grupo EIII receberam doses pontuais de 10J/cm<sup>2</sup> de irradiação na região perimplantar dos implantes osseointegrados colocados no alvéolo do incisivo inferior esquerdo. A aplicação foi conduzida com a ponteira posicionada paralelamente ao longo eixo dos implantes em dois pontos (mesial e distal), totalizando 20J/cm<sup>2</sup> por sessão. A irradiação foi realizada a cada 48 horas, num total de sete sessões de aplicação, durante o período de 15 dias, totalizando 140J/cm<sup>2</sup>.

# ANEXO A – APROVAÇÃO NO CEUA/HCPA PROJETO 12-0120



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisou o projeto:

**Projeto:** 120120

**Data da Versão do Projeto:** 15/05/2012

**Pesquisadoras:**

DEISE PONZONI  
EDELA PURICELU  
CARLOS EDUARDO E BARAL DI  
LUCIANO MAYER  
MARIÁIA GERHARDT DE OLIVEIRA  
FERNANDO VACILOTTO GOMES  
JOÃO BATISTA BLESSMANN WEBER  
FABRÍCIO POLETTI MASSOTTI

**Título:** INFLUÊNCIA DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE SOBRE O REPARO TECIDUAL PERIPLANTAR: ESTUDO EM COELHOS - Análise Histológica e Tomografia Computadorizada

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais.

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEUA/HCPA.

Porto Alegre, 24 de maio de 2012.

Dr. Alessandra Cavélet  
Coordenador CEUA/HCPA

**ANEXO B – APROVAÇÃO NO CEUA/HCPA PROJETO 11-0449**

**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

A Comissão Científica e a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisaram o projeto:

**Projeto:** 110449

**Data da Versão do Projeto:** 14/10/2011

**Pesquisadores:**

EDELA PURICELLI

LUCIANO MAYER

MARÍLIA GERHARDT DE OLIVEIRA

JOÃO BATISTA BLESSMANN WEBER

FABRÍCIO POLETTI MASSOTTI

FERNANDO VACILOTTO GOMES

DEISE PONZONI

**Título:** ANÁLISE DO EFEITO LOCAL E SISTÊMICO DA LLLT EM REPARO TECIDUAL PERIMPLANTAR: ESTUDO EM COELHOS

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais.

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.

Porto Alegre, 21 de dezembro de 2011.

Dr. Alessandro Bersch Osvaldt  
Coordenador da CEUA/HCPA

**ANEXO C – APROVAÇÃO NO CEUA/PUCRS REGISTRO 11/00235**

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Ofício 092/11 – CEUA

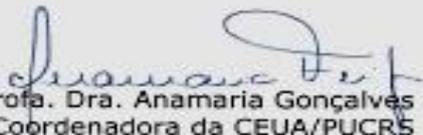
Porto Alegre, 21 de julho de 2011.

Senhor Pesquisador:

A Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 11/00235 intitulado: **“Análise do efeito local e sistêmico da LLT em reparo tecidual perimplantar: estudo em coelhos”**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Atenciosamente,



Profa. Dra. Anamaria Gonçalves Feijó  
Coordenadora da CEUA/PUCRS

Ilmo. Sr.  
Prof. Dr. João Batista Weber  
Nesta Universidade

PUCRS

Campus Central  
Av. Ipiranga, 6690 – Prédio 60, sala 314  
CEP: 90610-000  
Fone/Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [ceua@pucrs.br](mailto:ceua@pucrs.br)

**ANEXO D – LEI 11.794 DE 08 DE OUTUBRO DE 2008**<sup>37</sup>**Presidência da República**  
**Casa Civil**  
**Subchefia para Assuntos Jurídicos****LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008.**

Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.

**O PRESIDENTE DA REPÚBLICA** Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

**CAPÍTULO I****DAS DISPOSIÇÕES PRELIMINARES**

Art. 1º A criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional, obedece aos critérios estabelecidos nesta Lei.

§ 1º A utilização de animais em atividades educacionais fica restrita a:

I – estabelecimentos de ensino superior;

II – estabelecimentos de educação profissional técnica de nível médio da área biomédica.

§ 2º São consideradas como atividades de pesquisa científica todas aquelas relacionadas com ciência básica, ciência aplicada, desenvolvimento tecnológico, produção e controle da qualidade de drogas, medicamentos, alimentos, imunobiológicos, instrumentos, ou quaisquer outros testados em animais, conforme definido em regulamento próprio.

§ 3º Não são consideradas como atividades de pesquisa as práticas zootécnicas relacionadas à agropecuária.

Art. 2º O disposto nesta Lei aplica-se aos animais das espécies classificadas como filo **Chordata**, subfilo **Vertebrata**, observada a legislação ambiental.

Art. 3º Para as finalidades desta Lei entende-se por:

I – filo **Chordata**: animais que possuem, como características exclusivas, ao menos na fase embrionária, a presença de notocorda, fendas branquiais na faringe e tubo nervoso dorsal único;

II – subfilo **Vertebrata**: animais cordados que têm, como características exclusivas, um encéfalo grande encerrado numa caixa craniana e uma coluna vertebral;

<sup>37</sup> BRASIL. Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 08 de maio de 1979; e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm). Acesso em: 30 de agosto de 2011.

III – experimentos: procedimentos efetuados em animais vivos, visando à elucidação de fenômenos fisiológicos ou patológicos, mediante técnicas específicas e preestabelecidas;

IV – morte por meios humanitários: a morte de um animal em condições que envolvam, segundo as espécies, um mínimo de sofrimento físico ou mental.

Parágrafo único. Não se considera experimento:

I – a profilaxia e o tratamento veterinário do animal que deles necessite;

II – o anilhamento, a tatuagem, a marcação ou a aplicação de outro método com finalidade de identificação do animal, desde que cause apenas dor ou aflição momentânea ou dano passageiro;

III – as intervenções não-experimentais relacionadas às práticas agropecuárias.

## CAPÍTULO II

### DO CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE

### EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA

Art. 4º Fica criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

Art. 5º Compete ao CONCEA:

I – formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais com finalidade de ensino e pesquisa científica;

II – credenciar instituições para criação ou utilização de animais em ensino e pesquisa científica;

III – monitorar e avaliar a introdução de técnicas alternativas que substituam a utilização de animais em ensino e pesquisa;

IV – estabelecer e rever, periodicamente, as normas para uso e cuidados com animais para ensino e pesquisa, em consonância com as convenções internacionais das quais o Brasil seja signatário;

V – estabelecer e rever, periodicamente, normas técnicas para instalação e funcionamento de centros de criação, de biotérios e de laboratórios de experimentação animal, bem como sobre as condições de trabalho em tais instalações;

VI – estabelecer e rever, periodicamente, normas para credenciamento de instituições que criem ou utilizem animais para ensino e pesquisa;

VII – manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados ou em andamento no País, assim como dos pesquisadores, a partir de informações remetidas pelas Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUAs, de que trata o art. 8º desta Lei;

VIII – apreciar e decidir recursos interpostos contra decisões das CEUAs;

IX – elaborar e submeter ao Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, para aprovação, o seu regimento interno;

X – assessorar o Poder Executivo a respeito das atividades de ensino e pesquisa tratadas nesta Lei.

Art. 6º O CONCEA é constituído por:

- I – Plenário;
- II – Câmaras Permanentes e Temporárias;
- III – Secretaria-Executiva.

§ 1º As Câmaras Permanentes e Temporárias do CONCEA serão definidas no regimento interno.

§ 2º A Secretaria-Executiva é responsável pelo expediente do CONCEA e terá o apoio administrativo do Ministério da Ciência e Tecnologia.

§ 3º O CONCEA poderá valer-se de consultores **ad hoc** de reconhecida competência técnica e científica, para instruir quaisquer processos de sua pauta de trabalhos.

Art. 7º O CONCEA será presidido pelo Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia e integrado por:

I – 1 (um) representante de cada órgão e entidade a seguir indicados:

- a) Ministério da Ciência e Tecnologia;
- b) Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq;
- c) Ministério da Educação;
- d) Ministério do Meio Ambiente;
- e) Ministério da Saúde;
- f) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
- g) Conselho de Reitores das Universidades do Brasil – CRUB;
- h) Academia Brasileira de Ciências;
- i) Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência;
- j) Federação das Sociedades de Biologia Experimental;
- l) Colégio Brasileiro de Experimentação Animal;
- m) Federação Nacional da Indústria Farmacêutica;

II – 2 (dois) representantes das sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País.

§ 1º Nos seus impedimentos, o Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia será substituído, na Presidência do CONCEA, pelo Secretário-Executivo do respectivo Ministério.

§ 2º O Presidente do CONCEA terá o voto de qualidade.

§ 3º Os membros do CONCEA não serão remunerados, sendo os serviços por eles prestados considerados, para todos os efeitos, de relevante serviço público.

### CAPÍTULO III

#### DAS COMISSÕES DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUAs

Art. 8º É condição indispensável para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs.

Art. 9º As CEUAs são integradas por:

I – médicos veterinários e biólogos;

II – docentes e pesquisadores na área específica;

III – 1 (um) representante de sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País, na forma do Regulamento.

Art. 10. Compete às CEUAs:

I – cumprir e fazer cumprir, no âmbito de suas atribuições, o disposto nesta Lei e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais para ensino e pesquisa, especialmente nas resoluções do CONCEA;

II – examinar previamente os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados na instituição à qual esteja vinculada, para determinar sua compatibilidade com a legislação aplicável;

III – manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados, ou em andamento, na instituição, enviando cópia ao CONCEA;

IV – manter cadastro dos pesquisadores que realizem procedimentos de ensino e pesquisa, enviando cópia ao CONCEA;

V – expedir, no âmbito de suas atribuições, certificados que se fizerem necessários perante órgãos de financiamento de pesquisa, periódicos científicos ou outros;

VI – notificar imediatamente ao CONCEA e às autoridades sanitárias a ocorrência de qualquer acidente com os animais nas instituições credenciadas, fornecendo informações que permitam ações saneadoras.

§ 1º Constatado qualquer procedimento em descumprimento às disposições desta Lei na execução de atividade de ensino e pesquisa, a respectiva CEUA determinará a paralisação de sua execução, até que a irregularidade seja sanada, sem prejuízo da aplicação de outras sanções cabíveis.

§ 2º Quando se configurar a hipótese prevista no § 1º deste artigo, a omissão da CEUA acarretará sanções à instituição, nos termos dos arts. 17 e 20 desta Lei.

§ 3º Das decisões proferidas pelas CEUAs cabe recurso, sem efeito suspensivo, ao CONCEA.

§ 4º Os membros das CEUAs responderão pelos prejuízos que, por dolo, causarem às pesquisas em andamento.

§ 5º Os membros das CEUAs estão obrigados a resguardar o segredo industrial, sob pena de responsabilidade.

#### CAPÍTULO IV

#### DAS CONDIÇÕES DE CRIAÇÃO E USO DE ANIMAIS PARA ENSINO E

#### PESQUISA CIENTÍFICA

Art. 11. Compete ao Ministério da Ciência e Tecnologia licenciar as atividades destinadas à criação de animais, ao ensino e à pesquisa científica de que trata esta Lei.

§ 1º (VETADO)

§ 2º (VETADO)

§ 3º (VETADO)

Art. 12. A criação ou a utilização de animais para pesquisa ficam restritas, exclusivamente, às instituições credenciadas no CONCEA.

Art. 13. Qualquer instituição legalmente estabelecida em território nacional que crie ou utilize animais para ensino e pesquisa deverá requerer credenciamento no CONCEA, para uso de animais, desde que, previamente, crie a CEUA.

§ 1º A critério da instituição e mediante autorização do CONCEA, é admitida a criação de mais de uma CEUA por instituição.

§ 2º Na hipótese prevista no § 1º deste artigo, cada CEUA definirá os laboratórios de experimentação animal, biotérios e centros de criação sob seu controle.

Art. 14. O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos dos experimentos que constituem a pesquisa ou programa de aprendizado quando, antes, durante e após o experimento, receber cuidados especiais, conforme estabelecido pelo CONCEA.

§ 1º O animal será submetido a eutanásia, sob estrita obediência às prescrições pertinentes a cada espécie, conforme as diretrizes do Ministério da Ciência e Tecnologia, sempre que, encerrado o experimento ou em qualquer de suas fases, for tecnicamente recomendado aquele procedimento ou quando ocorrer intenso sofrimento.

§ 2º Excepcionalmente, quando os animais utilizados em experiências ou demonstrações não forem submetidos a eutanásia, poderão sair do biotério após a intervenção, ouvida a respectiva CEUA quanto aos critérios vigentes de segurança, desde que destinados a pessoas idôneas ou entidades protetoras de animais devidamente legalizadas, que por eles queiram responsabilizar-se.

§ 3º Sempre que possível, as práticas de ensino deverão ser fotografadas, filmadas ou gravadas, de forma a permitir sua reprodução para ilustração de práticas futuras, evitando-se a repetição desnecessária de procedimentos didáticos com animais.

§ 4º O número de animais a serem utilizados para a execução de um projeto e o tempo de duração de cada experimento será o mínimo indispensável para produzir o resultado conclusivo, poupando-se, ao máximo, o animal de sofrimento.

§ 5º Experimentos que possam causar dor ou angústia desenvolver-se-ão sob sedação, analgesia ou anestesia adequadas.

§ 6º Experimentos cujo objetivo seja o estudo dos processos relacionados à dor e à angústia exigem autorização específica da CEUA, em obediência a normas estabelecidas pelo CONCEA.

§ 7º É vedado o uso de bloqueadores neuromusculares ou de relaxantes musculares em substituição a substâncias sedativas, analgésicas ou anestésicas.

§ 8º É vedada a reutilização do mesmo animal depois de alcançado o objetivo principal do projeto de pesquisa.

§ 9º Em programa de ensino, sempre que forem empregados procedimentos traumáticos, vários procedimentos poderão ser realizados num mesmo animal, desde que todos sejam executados durante a vigência de um único anestésico e que o animal seja sacrificado antes de recobrar a consciência.

§ 10. Para a realização de trabalhos de criação e experimentação de animais em sistemas fechados, serão consideradas as condições e normas de segurança recomendadas pelos organismos internacionais aos quais o Brasil se vincula.

Art. 15. O CONCEA, levando em conta a relação entre o nível de sofrimento para o animal e os resultados práticos que se esperam obter, poderá restringir ou proibir experimentos que importem em elevado grau de agressão.

Art. 16. Todo projeto de pesquisa científica ou atividade de ensino será supervisionado por profissional de nível superior, graduado ou pós-graduado na área biomédica, vinculado a entidade de ensino ou pesquisa credenciada pelo CONCEA.

## CAPÍTULO V

### DAS PENALIDADES

Art. 17. As instituições que executem atividades reguladas por esta Lei estão sujeitas, em caso de transgressão às suas disposições e ao seu regulamento, às penalidades administrativas de:

I – advertência;

II – multa de R\$ 5.000,00 (cinco mil reais) a R\$ 20.000,00 (vinte mil reais);

III – interdição temporária;

IV – suspensão de financiamentos provenientes de fontes oficiais de crédito e fomento científico;

V – interdição definitiva.

Parágrafo único. A interdição por prazo superior a 30 (trinta) dias somente poderá ser determinada em ato do Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, ouvido o CONCEA.

Art. 18. Qualquer pessoa que execute de forma indevida atividades reguladas por esta Lei ou participe de procedimentos não autorizados pelo CONCEA será passível das seguintes penalidades administrativas:

I – advertência;

II – multa de R\$ 1.000,00 (mil reais) a R\$ 5.000,00 (cinco mil reais);

III – suspensão temporária;

IV – interdição definitiva para o exercício da atividade regulada nesta Lei.

Art. 19. As penalidades previstas nos arts. 17 e 18 desta Lei serão aplicadas de acordo com a gravidade da infração, os danos que dela provierem, as circunstâncias agravantes ou atenuantes e os antecedentes do infrator.

Art. 20. As sanções previstas nos arts. 17 e 18 desta Lei serão aplicadas pelo CONCEA, sem prejuízo de correspondente responsabilidade penal.

Art. 21. A fiscalização das atividades reguladas por esta Lei fica a cargo dos órgãos dos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, da Saúde, da Educação, da Ciência e Tecnologia e do Meio Ambiente, nas respectivas áreas de competência.

## CAPÍTULO VI

### DISPOSIÇÕES GERAIS E TRANSITÓRIAS

Art. 22. As instituições que criem ou utilizem animais para ensino ou pesquisa existentes no País antes da data de vigência desta Lei deverão:

I – criar a CEUA, no prazo máximo de 90 (noventa) dias, após a regulamentação referida no art. 25 desta Lei;

II – compatibilizar suas instalações físicas, no prazo máximo de 5 (cinco) anos, a partir da entrada em vigor das normas estabelecidas pelo CONCEA, com base no inciso V do **caput** do art. 5º desta Lei.

Art. 23. O CONCEA, mediante resolução, recomendará às agências de amparo e fomento à pesquisa científica o indeferimento de projetos por qualquer dos seguintes motivos:

I – que estejam sendo realizados sem a aprovação da CEUA;

II – cuja realização tenha sido suspensa pela CEUA.

Art. 24. Os recursos orçamentários necessários ao funcionamento do CONCEA serão previstos nas dotações do Ministério da Ciência e Tecnologia.

Art. 25. Esta Lei será regulamentada no prazo de 180 (cento e oitenta) dias.

Art. 26. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 27. Revoga-se a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979.

Brasília, 8 de outubro de 2008; 187ª da Independência e 120ª da República.

LUIZ INÁCIO LULA DA SILVA

*Tarso Genro*

*Reinhold Stephanes*

*José Gomes Temporão*

*Miguel Jorge*

*Luiz Antonio Rodrigues Elias*

*Carlos Minc*

## ANEXO E – JUSTIFICATIVA DO CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

### Cálculo amostral

Durante o planejamento e a elaboração do projeto de pesquisa, uma das principais dúvidas é saber o valor do "n" (tamanho da amostra) necessário para o estudo. Apesar desta pergunta ser muito freqüente, as dificuldades em se obter um cálculo adequado são muitas e raramente encontra-se uma resposta precisa.

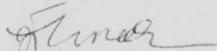
É preciso fornecer informações que dependam de estudos anteriores, dados de literatura e do conhecimento sobre o fenômeno que será estudado. Um bom pesquisador deve saber que um cálculo de amostra não depende apenas de "parâmetros estatísticos", tais como o nível de significância  $\alpha$  e o poder do teste  $(1 - \beta)$ . Mais importantes do que estes parâmetros são as informações que devem ser fornecidas com base no conhecimento clínico, como por exemplo, estimativas sobre a variabilidade da medida de interesse e a diferença considerada clinicamente relevante que se deseja detectar (muitas vezes chamada de "tamanho do efeito").

Convém refletir sobre a real necessidade de um cálculo que utiliza apenas teoria estatística sem levar em conta outras questões importantes, tais como dificuldades logísticas na obtenção dos dados. Nem sempre o cálculo baseado em alfas, betas, etc. é possível ou imprescindível.

O tamanho da amostra deve ser justificado com base em outros estudos, pois o cálculo por meio de fórmulas exige informações referentes à variabilidade da variável de interesse e sobre qual a diferença entre os parâmetros com relevância clínica.

Quando se utiliza testes não paramétricos, há uma dificuldade na determinação do tamanho das amostras, pois os mesmos são aplicados para distribuições livres (não normais), podendo ter alta variabilidade e amostras pequenas.

Portanto, para determinação do tamanho da amostra deste estudo com modelo experimental com coelho, optou-se por determinar o "n" em 06 para cada grupo, baseando-se nos estudos de Khadra et al. (2004), Lopes et al. (2005), Lopes et al. (2007), Li et al. (2009), Bae et al. (2009) e Pereira et al. (2009), nos quais o "n" dos grupos, seja teste ou controle, ficou sempre entre 05 e 08. Estas pesquisas foram realizadas para estudar a cicatrização do tecido ósseo em coelhos com a associação da LLLT (em sua maioria na região perimplantar) apresentando resultados estatisticamente significativos.



Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes  
Coordenador do Deptº de Estatística  
de Faculdade de Matemática de PUCRS

Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes  
Coordenador do Departamento de Estatística  
Faculdade de Matemática - PUCRS  
Av. Ipiranga, 6681 - Predio 30 - Bloco C - sala 104  
Tel.:(051)3320-3531 Ramal 4214 ou 33534214  
E-mail: jfmoraes@pucrs.br

## ANEXO F – DECLARAÇÃO E ORÇAMENTO DAS AQUISIÇÕES TOMOGRÁFICAS

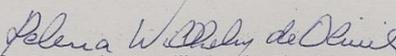


### DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que a Faciem 3D Diagnóstico por Imagem LTDA se responsabiliza em seguir rigorosamente o protocolo da metodologia proposta no projeto de pesquisa intitulado INFLUÊNCIA DA TERAPIA LASER DE BAIXA INTENSIDADE SOBRE O REPARO TECIDUAL PERIMPLANTAR: ESTUDO EM COELHOS – Análise Histológica e Tomografia Computadorizada – desenvolvido pelo pesquisador C.D. Fabrício Poletto Massotti com orientação da Profa. Dra. Deise Ponzoni, e que é parte dos requisitos para o Curso de Mestrado em Clínica Odontológica / Cirurgia e Traumatologia Bucamaxilo-faciais do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFRGS.

A Faciem 3D Diagnóstico por Imagem LTDA autoriza que sejam realizados os exames para tanto solicitados pelo pesquisador, se comprometendo a resguardar a confidencialidade, o sigilo, a privacidade, a proteção das imagens, garantindo a utilização e/ou veiculação apenas aos envolvidos diretamente na pesquisa.

O orçamento dos serviços a serem prestados para fins da referida pesquisa é de R\$ 300,00 (trezentos reais).

  
Prof. Dra. Helena Willhelm de Oliveira

Sócia Gerente da Faciem 3D Diagnóstico por Imagem LTDA

Av. Plínio Brasil Milano, 425 | Auxiliadora  
CEP - 90520-002 | Porto Alegre - RS  
+55 51 3339.4999 | 51 3013.3529  
contato@faciem3d.com.br  
www.faciem3d.com.br

## ANEXO G – SOLICITAÇÃO PARA A UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTAL NA FOB/USP

De: VINÍCIUS CARVALHO PORTO <vcporto@fob.usp.br>  
Assunto: Re: apoio  
Data: 12 de março de 2012 16:45:19 BRT  
Para: Carlos Eduardo Espindola Baraldi <cbaraldi@uol.com.br>

1 Anexo, 26 KB

Prezado Prof Carlos,

A Prf(a) Martia Aparecida já havia comentado sobre o seu interesse em utilizar a maquina de corte EXACT. Nós temos tanto a máquina de corte quanto para polimento de espécimes EXACT. Em anexo envio a autorização para uso e o custo para uso por espécime utilizado no valor de 20,00 por espécime. Após a autorização é preciso que ocorra um agendamento com o funcionário responsável pelo setor. Solicito que logo enviada a autorização, entrar em contato com o funcionário responsável pelo setor. Ele se chama Renato e é uma ótima pessoa para lidar.

Qualquer dúvida adicional fique a vontade de entrar em contato comigo.

Prof Vinicius

----- Mensagem original -----

De: "Carlos Eduardo Espindola Baraldi" <cbaraldi@uol.com.br>  
Para: vcporto@fob.usp.br  
Cc: mmachado@fob.usp.br  
Enviadas: Segunda-feira, 12 de Março de 2012 10:05:35  
Assunto: Re: apoio

Em 07/03/2012, às 16:32, Carlos Eduardo Espindola Baraldi escreveu:

Boa tarde Professor Vinicius Carvalho Porto,  
Inicialmente apresento-me: sou Carlos Baraldi, ex-aluno da FOB e atualmente Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Oriento um aluno de mestrado em Odontologia (CTBMF), Fernando Gomes, cujo projeto envolve análise da interface osso-implante, em coelhos Nova Zelândia.  
Estamos buscando instituições onde possamos realizar o corte das peças com micrótomo Exakt, de espessura próxima de 10 micrômetros. Não há disponibilidade deste recurso em nosso estado, até o momento.  
Desta forma buscamos contato com a FOB, por meio dos Professores Carlos Ferreira dos Santos e Maria Aparecida Moreira Machado, buscando desenvolver parte do experimento. Há convênio firmado entre as instituições, que possibilitaria formalizar a visita e as atividades deste aluno. Temos ainda possibilidade (limitada) de contribuir com eventuais custos, também, através do setor de apoio à pesquisa do Hospital de Clínicas, que sedia a unidade de experimentação onde as cirurgias serão realizadas, desde que este custo seja orçado e previsto no projeto. Em caso desta possibilidade se confirmar, deixe-me saber quais são os passos para torná-la realidade.  
Agradeço a atenção,  
Prof Baraldi  
Departamento de Cirurgia e Ortopedia  
Faculdade de Odontologia da UFRGS

Em 07/03/2012, às 15:17, MARIA AP A MOREIRA MACHADO escreveu:

Prezado Prof. Carlos,  
Hj consegui falar com o Prof Vinicius Porto que é o nosso Coordenador do Centro Integrado de Pesquisa (CIP) e ele confirmou que temos sim este equipamento alocado no CIP.  
Sendo assim, ele segue copiado neste e-mail para que vc possa fazer o contato diretamente com ele para as tratativas do uso do equipamento. Os contatos dele são: CIP 14/3235-8321 ou 3235-8378 e e-mail: vcporto@fob.usp.br  
No mais, no que eu puder ajudar pode contar.  
Abs e lembranças para o Prof Manuel.  
Cidinha

Profa Dra Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado

Em 13/01/2012, às 10:13, Dr. Carlos F. Santos - Journal of Applied Oral Science escreveu:

Prezado Prof. Carlos Baraldi,  
Estarei de volta a Bauru no dia 01/02. Tendo em vista nossas relações com a UFRGS, estabelecidas por meio de convênio, será um prazer recebê-los na FOB. Preciso apenas verificar se o equipamento está lotado no Departamento de Ciências Biológicas ou no Centro Integrado de Pesquisa (CIP) e se está em perfeitas condições de uso e disponível para agendamento.  
Grato pela compreensão,  
Prof. Carlos  
Citando Carlos Eduardo Espindola Baraldi <cbaraldi@uol.com.br>:

## ANEXO H – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLORAÇÃO HE

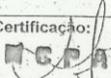
		PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	
Serviço: PATOLOGIA		Código/Versão: ATEC-004/00	
Local: ÁREA TÉCNICA		Periodicidade: DIÁRIA	
Nome da Tarefa: COLORAÇÃO HEMATOXILINA EOSINA (HE)		Responsável: TÉCNICO / CHEFIA	
Pessoal Envolvido: ATEC			
Material Necessário:			
<p><b>Descrição das Atividades Críticas:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1-Colocar as lâminas com os cortes histológicos em cestos de inox na estufa a 80 °C durante 20min.</li> <li>2-Retirar o cesto de lâminas com os cortes histológicos da estufa e colocar no primeiro xilol dentro de uma cuba de vidro durante 5min.</li> <li>3-Desprezar o excesso do primeiro xilol na sua própria cuba e passar as lâminas para o segundo xilol, dentro de uma cuba de vidro durante 5min.</li> <li>4-Desprezar o excesso do segundo xilol na sua própria cuba e passar as lâminas para o primeiro álcool dentro de uma cuba de vidro.</li> <li>5-Mergulhar as lâminas em mais quatro cubas com álcool 99°C</li> <li>6-No último álcool desprezar o excesso de álcool na própria cuba, colocar as lâminas em uma cuba com água destilada.</li> <li>7-Lavar bem até retirar o álcool das lâminas por 2min.</li> <li>8-Imergir o cesto com lâminas em uma cuba de vidro contendo Hematoxilina por 5min.</li> <li>9-Retirar o cesto do corante e imergir em cuba de vidro com água da torneira, lavar várias vezes até a água ficar incolor.</li> <li>10-Diferenciar em álcool-ácido, lavar bem em água corrente.</li> <li>11-Mergulhar em solução de carbonato de lítio para azulejamento, lavar em água corrente.</li> <li>12-Imergir o cesto em cuba de vidro contendo eosina por 3min.</li> <li>13-Mergulhar o cesto em nove cubas de vidro com álcool absoluto/ dois mergulhos em cada cuba.</li> <li>14-No último álcool desprezar o excesso de álcool na própria cuba, colocar as lâminas em uma cuba com xilol.</li> <li>15-Deve-se montar e dar saída nas lâminas antes de encaminhar aos residentes.</li> </ol>			
<p><b>Resultados Esperados:</b></p> <p>Realizar a coloração HE nos cortes. HE é a coloração combinada mais simples, usada universalmente. Utiliza uma coloração nuclear pela hematoxilina seguida pelo corante ácido Eosina.</p>			
<p><b>Ações Corretivas:</b></p> <p>Consultar POP 035 (HEMATOXILINA) E POP 036 (EOSINA)</p>			
Data Criação:	Data Revisão:	Elaboração:	Certificação:
27/10/2008	/ /	Mara R. B. Gomes/Elhane Gomes	<b>HCPA</b>

ADM291FE – gráfica hcpa

SERVIÇO DE PATOLOGIA

Certifico que esta cópia é idêntica  
à original.  
Ass.: *[assinatura]* Data: 21/11/08  
Cópia nº: *[número]*

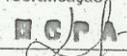
# ANEXO I – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLORAÇÃO PR

 <b>HOSPITAL DE CLÍNICAS</b> PORTO ALEGRE - RS		PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	
Serviço: PATOLOGIA		Código/Versão: ATEC 018/00	
Local: ÁREA TÉCNICA		Periodicidade: DIÁRIA	
Nome da Tarefa: COLORAÇÃO PICROSIRIUS		Responsável: TÉCNICO / CHEFIA	
Pessoal Envolvido: ATEC			
Material Necessário:			
<b>Descrição das Atividades Críticas:</b> 1-Colocar as lâminas com os cortes histológicos em cestos de inox na estufa a 80°C durante 30min. 2-Retirar o cesto de lâminas com os cortes histológicos da estufa e colocar no primeiro xilol dentro de uma cuba de vidro durante 5min. 3-Desprezar o excesso do primeiro xilol na sua própria cuba e passar as lâminas para o segundo xilol, dentro de uma cuba de vidro durante 5min. 4-Desprezar o excesso do segundo xilol na sua própria cuba e passar as lâminas para o primeiro álcool dentro de uma cuba de vidro durante 1min. 5-Mergulhar as lâminas em mais quatro cubas com álcool 99°C. 6-No último álcool desprezar o excesso de álcool na própria cuba, colocar as lâminas em uma cuba com água da torneira. 7-Lavar bem até retirar o álcool das lâminas (2 vezes). 8-Imergir as lâminas em cuba com solução 2 por 30min. 9-Lavar rapidamente em água destilada. 10-Pingar sobre as lâminas a solução 1 por 3min. 11-Lavar rapidamente em água destilada. 12-Mergulhar em álcool etílico, 100°C, duas vezes. 13-Clarificar com xilol, três vezes. 14-Deve-se montar e identificar as lâminas e antes de encaminhar aos residentes.			
<b>Resultados Esperados:</b> Realizar a coloração pelo método Picrosirius.			
<b>Ações Corretivas:</b> Consultar POP 019/00 / (TERMINOLOGIA, DEFINIÇÃO E SÍMBOLO: PS, SIRIUS RED)			
Data Criação:	Data Revisão:	Elaboração:	Certificação:
27/10/2008	/ /	Noeli Tavares	
ADM281FE – gráfica hepca			

**SERVIÇO DE PATOLOGIA**

Certifico que esta cópia é idêntica  
 a original.  
 Ass.:  Data: 04/11/12  
 Cópia n.º 01

## ANEXO J – PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA SOLUÇÃO PR

		PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO - POP	
Serviço: PATOLOGIA		Código/Versão: ATEC 019/00	
Local: ÁREA TÉCNICA		Periodicidade: DIÁRIA	
Nome da Tarefa: SOLUÇÕES PARA PICROSIRIUS		Responsável: TÉCNICO / CHEFIA	
Pessoal Envolvido: ATEC			
Material Necessário:			
<b>Descrição das Atividades Críticas:</b> Solução 1 Água destilada    100ml Ácido picrico até saturar Fast Green        0,1g  Solução 2 Água destilada    100ml Ácido picrico até saturar Sirius red         0,1g			
<b>Resultados Esperados:</b> Preparar soluções para realizar a coloração Picrosirius.			
<b>Ações Corretivas:</b>			
Data Criação: 27/10/2008	Data Revisão: / /	Elaboração: Noeli Tavares	Certificação:  

ADM261FE – gráfica hepca

SERVIÇO DE PATOLOGIA

Certifico que esta cópia é idêntica  
a original.

Ass.:  Data: 09/11/11

Cópia nº 01