



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Andréa Sasso Stuani

**Influência do laser de baixa potência (GaAIs) na remodelação óssea, após
a disjunção da sutura palatina mediana em ratos Wistar**

Rio de Janeiro

2008

Andréa Sasso Stuani

Influência do laser de baixa potência (GaAlAs) na remodelação óssea, após a disjunção da sutura palatina mediana em ratos Wistar



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ortodontia.

Orientadoras: Prof^a. Dr^a. Cátia Cardoso Abdo Quintão

Prof^a. Dr^a. Maria Bernadete Sasso Stuani

Rio de Janeiro

2008

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBB

S929

Stuani, Andréa Sasso.

Influência do laser de baixa potência (GaAlAs) na remodelação óssea, após a disjunção da sutura palatina mediana em ratos Wistar / Andréa Sasso Stuani. – 2008.

166 f.

Orientadores: Cátia Cardoso Abdo Quintão, Maria Bernadete Sasso Stuani.

Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Lasers em Odontologia. 2. Suturas (Odontologia). 3. Remodelação óssea. 4. Processo alveolar 5. Rato como animal de laboratório. I. Quintão, Cátia Cardoso Abdo. II. Stuani, Maria Bernadete Sasso. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

CDU
616.314

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

Assinatura

Data

Andréa Sasso Stuani

Influência do laser de baixa potência (GaAlAs) na remodelação óssea, após a disjunção da sutura palatina mediana em ratos Wistar

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ortodontia.

Aprovada em 18 de julho de 2008.

Prof^ª. Dr^ª. Cátia Cardoso Abdo Quintão
Faculdade de Odontologia da UERJ

Prof^ª. Dr^ª. Maria Bernadete Sasso Stuani
Faculdade de Odontologia da USP (Ribeirão Preto)

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Álvaro de Moraes Mendes
Faculdade de Odontologia da UERJ

Prof^ª. Dr^ª. Ione Helena Vieira Portella Brunharo
Faculdade de Odontologia da UERJ

Prof^ª. Dr^ª. Luciane Macedo de Menezes
Faculdade de Odontologia da PUC-RS

Prof^ª. Dr^ª. Mamie Misusaki Iyomasa
Faculdade de Odontologia da USP (Ribeirão Preto)

Prof. Dr. José de Albuquerque Calasans Maia
Faculdade de Odontologia da UFF (Nova Friburgo)

Rio de Janeiro
2008

DEDICATÓRIA

Ao meu pai ELIZEU (*in memoriam*) que apesar da pouca convivência, certamente compartilha da minha felicidade.

À minha querida mãe MARGARIDA, meu “porto seguro”, que não mediu esforços na minha educação, exemplo de dignidade, perseverança, humildade e amor incondicional. Por tudo que sou, a minha homenagem carinhosa.

Aos meus irmãos LUIS, ELIANA, LÚCIA, BERNADETE, CRISTINA e ADRIANA pelo amor e incentivos freqüentes.

Aos meus sobrinhos FÁBIO, MARCELO, TATIANE, VITOR, BRUNO e MARIANA pelos laços afetivos que compartilhamos.

AGRADECIMENTOS

Ao chefe Antonio Carlos Peixoto da Silva por dedicado de forma exemplar a transmissão de conhecimento ajudando a formar profissionais excelentes que enobrecem o nome da Ortodontia da UERJ.

Ao Professor Doutor Marco Antonio de Oliveira Almeida, pelo exemplo de seriedade, apoio, incentivo e incansável dedicação em transmitir conhecimentos científicos.

À professora Doutora Cátia Cardoso Abdo Quintão, coordenadora do curso de doutorado, minha orientadora, a qual não mediu esforços para acompanhar o desenvolvimento da minha tese. Exemplo de empenho, determinação, dedicação e incansável contribuição ao ensino, sempre preocupada em divulgar a qualidade dos profissionais e trabalhos científicos realizados na UERJ em congressos, encontros, simpósios e reuniões que participa em vários locais do nosso país e no exterior. Pela orientação firme e convivência agradabilíssima, obrigada!

A professora doutora Maria Bernadete Sasso Stuani, professora da Disciplina de Ortodontia Preventiva da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, minha orientadora e querida irmã, pela contribuição inestimável na minha formação pessoal e profissional, exemplo de determinação, experiência, habilidade, disciplina, espírito investigativo.

Aos Professores Doutores Álvaro de Moraes Mendes, Álvaro Francisco Carriello Fernandes, Flávia Raposo Gebara Artese, Jonas Capelli Júnior, José Augusto Mendes Miguel e Maria Teresa de Andrade Goldner pelo carinho que sempre me dispensaram. À Professora Doutora Ione Helena Vieira Portella Brunharo, pela amizade e incentivos dispensados.

Às minhas colegas de Doutorado Mariana de Pinho Noronha e Clarice Nishio, pela amizade que certamente será por longa data. Em especial, à Mariana pelos momentos compartilhados, cumplicidades e conquistas. Conto contigo!

À turma de Doutorado (2006 e 2007) Alexandre, Marco Gravina, Thais, Mirella e Julio pelos conselhos e amizade.

À turma de Mestrado (2006) Andressa Otranto, Cristiane Canavarro Rodrigues Martins, Lisiane Palagi, Maria Fernanda Nova, Mariana Martins e Vera Lúcia Cosendey pela convivência, troca de experiência e pelos momentos de descontração.

Aos alunos de especialização (2006-2007) pela receptividade, amizade e disponibilidade: Ana Heloíza Fernandes, Francisco Paranhos, Lílian Bousquet, Priscila Esperão, Roberta Buzzoni e Vinícius Schau; Daniel Fernandes, Daniela Feu Rosa, Felipe Carvalho, Gisele Abrahão, Luciana Abi-Ramia, Rhita Almeida, Clarissa Kantz, Eveline Gava, Juliana Ferreira, Lívia Saladini, Marcos Hiroce, Renato Rédua e Stephanie Drummond.

À professora Dra. Cristina Ioshie Mizusaki (*in memoriam*), professora da Disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pela amizade, pelas relevantes informações prestadas e pelo seu exemplo de luta constante pela pesquisa que deixou.

À professora doutora Mamie Ioshie Mizusaki professora da Disciplina de Anatomia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pela amizade, colaboração constante, espírito de pesquisa científica contagiante e pela ajuda durante a leitura das lâminas histológicas.

À Mônica Christina de Souza Marques, secretária da Associação de Ex-alunos da UERJ, pela recepção e amizade dispensada.

Aos funcionários técnicos administrativos da Pós-Graduação da FO-UERJ, Antonio Dias da Silva, Denise Cruz e José Carlos Barbosa de Medeiros pela assistência prestada.

À minha querida amiga e irmã gêmea Adriana, um grande tesouro de valor inestimável, meus agradecimentos pela ajuda constante e incansável, pelo apoio incondicional, amizade e sugestões apresentadas. Espero um dia retribuir toda a sua dedicação a mim dispensada.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pela bolsa de estudo concedida.

Existem pessoas que pesquisam, meditam, refletem e sonham com um ideal a realizar, um trabalho a ser elaborado, uma obra a ser executada. Este espírito investigativo gera o desejo, o entusiasmo, a criatividade, a vontade de vencer obstáculos, gerando realidades futuras.

Anônimo

RESUMO

STUANI, Andréa Sasso. *Influência do laser de baixa potência (GaAlAs) na remodelação óssea, após a disjunção da sutura palatina mediana em ratos Wistar*. 2008. 166 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

O propósito deste estudo foi analisar o comportamento do osso alveolar na remodelação óssea sob carga fisiológica e ortopédica após a disjunção rápida da sutura palatina mediana durante 14 dias, com e sem aplicação de laser de baixa potência e comparar imagens obtidas por técnica radiográfica convencional com microtomografias computadorizadas. O aparelho de laser utilizado foi de diodo de arsenieto de gálio-alumínio (AlGaAs) (830nm; 100mW, onda contínua, 126J/cm², 29 segundos) aplicado à sutura palatina mediana de ratos Wistar, machos, de 6 semanas de vida. Foram utilizados 65 ratos divididos em um grupo controle (GC) contendo 5 ratos e dois experimentais I e II (GE I e GE II), com 30 ratos cada, ambos GE submetidos à disjunção imediata, sendo que o GE II foi irradiado imediatamente após a disjunção. Os GE I e II foram subdivididos em períodos de disjunção imediata, 6, 24, 48 horas, 7 e 14 dias. Dois amostras de cada período dos GC e GE foram radiografadas (convencional) e processadas para captura de imagens em scanner micro-CT (Scanco Medical, Zurik, Suíça), com 24KV de energia e 3,8µm de resolução espacial e o restante foram processadas para serem analisadas histologicamente coradas com hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson. Os resultados foram avaliados histológica e radiograficamente. O trabeculado ósseo recém-formado a partir dos bordos ósseos da sutura foi observado nos períodos de 2, 7 e 14 dias do GE II, 7 e 14 dias do GE I. O presente experimento demonstrou que a atividade osteoblástica aumenta a atividade da osteosíntese de modo mais expressivo após aplicação do laser de baixa potência, porém é necessários mais estudos em biologia molecular para desvendar os seus efeitos ao nível celular. As microtomografias computadorizadas mostraram maior riqueza de detalhes para analisar o rompimento da sutura palatina mediana e seu reparo com o depósito de tecido ósseo do que as radiografias convencionais.

Palavras-chave: Laserterapia. Sutura palatina mediana. Remodelação óssea. Disjunção maxilar. Rato Wistar.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the behavior of the alveolar bone on bone remodeling under physiological load and on after rapid midpalatal suture expansion during a 14-day period, with and without low-level laser irradiation and to compare images obtained by conventional radiographic technique with microtomografias computed. The laser device was a gallium-aluminum-arsenide (GaAlAs) diode laser (830 nm; 100 mW, continuous wave, 126 J/cm², 29 seconds) applied to the midpalatal suture of 6-week-old male Wistar rats. Sixty-five rats were assigned in a control group (CG) containing 5 rats and two experimental I and II (EG I and EG II), with 30 rats each, both EG submitted to expansion immediately, while the EG II was irradiated pos expansion immediately. The EG I and II were divided into periods of immediate midpalatal suture expansion, 6 hours, 1, 2, 7 and 14 days). . Two samples of each period of CG and EG were radiographed (conventional) and processed to capture images in micro-CT scanner (Scancem Medical, Zurik, Switzerland) with 24kV of energy and 3.8 mm in spatial resolution and the rest were processed for are analyzed histologically stained with hematoxylin and eosin and Masson's trichrome. The results were evaluated histologically and radiographically. Bone trabeculae recently formed from the bone borders of the suture were observed in the periods of 2, 7 and 14 days of EG II, and 7 and 14 days of EG I. The present experiment demonstrated that the osteoblastic activity increases the osteosynthesis activity in a more manner after low-level laser irradiation. However, more studies in the field of molecular biology are necessary to determine its effects at cellular level. The computed microtomographs provided a more detailed analysis of midpalatal suture opening and its repair by bone tissue deposition than conventional radiographs.

Keywords: Laser therapy. Midpalatal suture. Bone remodeling. Maxillary expansion. Wistar rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Representação de um corte frontal das estruturas que compõem a região palatina mediana, destacando-se o periósteo (P); cavidade nasal (N); processo palatino (PP); cortical óssea (CO); tecido conjuntivo fibroso (TC); fibroblastos (FB).	19
Quadro 1 –	Protocolo de irradiação laser utilizado	87
Figura 2 –	A) espaço ocupado por rica rede de fibrina (RF) do exsudato e do coágulo sangüíneo; B) restabelecimento da morfologia óssea normal e a sutura readquire sua organização habitual. O ganho de estrutura óssea está demarcado pelas linhas pontilhadas.	20
Quadro 2 –	Distribuição dos animais da amostra em um grupo controle e nos grupos experimentais.....	93
Figura 3 –	A) na lactância, linha reta; B) infância inicia-se uma sinuosidade da sutura; C) adolescência interdigitação das espículas ósseas.....	22
Figura 4 –	Excitação dos átomos com liberação de um fóton.....	50
Figura 5 –	Espectro eletromagnético.....	53
Figura 6 –	A) Propriedades de monocromaticidade e coerência de uma radiação Laser. B) Luz colimada e não colimada.....	54
Figura 7 –	Modelo animal, no interior da gaiola-viveiro, que foi utilizado na pesquisa.....	85
Figura 8 –	Animal anestesiado, posicionado e preso na mesa operatória.....	88
Figura 9 –	Medição da largura da mola.	89
Figura 10 –	A) confecção da canaleta nos incisivos, e B) condicionamento do esmalte com ácido ortofosfórico a 37%. C) Pós-fixação do aparelho com resina fotopolimerizável após a expansão numa vista oclusal	90
Figura 11 –	Vista mostrando a irradiação de laser na sutura palatina mediana em rato. A irradiação foi executada colocando a ponta de fibra óptica de (seta preta) em contato com o tecido para prevenir reflexão da ponta de laser na superfície de tecido.	92

Figura 12 – Fotografias das radiografias oclusais e microtomografias dos grupos controle e experimental I (sem aplicação de laser), mostrando a imagem da sutura palatina mediana.	103
Figura 13 – Fotografias das radiografias oclusais e microtomografias do grupo experimental II (com aplicação de laser), mostrando a imagem da sutura palatina mediana.	104
Figura 14 – Fotomicrografias dos campos histológicos dos Grupos Controle e Experimental I. OA) Osso alveolar; TS) Tecido sutural; cm) cavidades medulares; vv) vasos sanguíneos; áreas de formação óssea (setas pretas cheias); linhas reversas (setas pretas vazadas); processo inflamatório (arterisco); osteócitos (setas brancas cheias); fibras colágenas (setas brancas vazadas); fibroblastos (setas pretas vazadas curtas); fibras de Sharpey (cabeça de seta branca) e osteoblastos (cabeça de seta preta).	111
Figura 15 – Fotomicrografias dos campos histológicos do Grupo Experimental II (disjunção-laser DLS). OA) Osso alveolar; TS) Tecido sutural; cm) cavidades medulares; vv) vasos sanguíneos; áreas de formação óssea (setas pretas cheias); linhas reversas (setas pretas vazadas); processo inflamatório (arterisco); osteócitos (setas brancas cheias); fibras colágenas (setas brancas vazadas); fibroblastos (setas pretas vazadas curtas); fibras de Sharpey (cabeça de seta branca); osteoblastos (cabeça de seta preta) e osteoclastos (setas brancas vazadas curtas)	115

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GaAlAs	Arsenieto de Gálio e Alumínio
ATP	Adenosina Trifosfato
BMP	<i>Bone Morphogenetic protein</i> = Proteína Morfogenética do osso
cm	Centímetros
cm ²	Centímetro quadrado
CO ₂	Dióxido de carbono
DE	Densidade de Energia
DP	Densidade de Potência
ERM	Expansão rápida da maxila
f	Frequência
BDGF	<i>Bone Differentiation Growth Factor</i> = fator de crescimento de diferenciação do osso
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i> = fator de crescimento de fibroblasto
GF	<i>Growth Factor</i> = Fator de crescimento
g	Gramas
H/E	Hematoxilina e Eosina
He-Ne	Hélio Neônio
hs	Horas
Hz	Hertz
HILT	<i>High Intensity Laser Treatment</i> = Tratamento Laser com alta intensidade
IgA	Imunoglobulina A
IR	<i>Infrared</i> = Infra-Vermelho
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor</i> = Fator de crescimento semelhante à insulina
IL-1	<i>Interleukin-1</i> = Interleucina-1
J	Joule
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
J/point	Joules por pontos
Kg	quilograma

LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> = Amplificação da luz pela emissão estimulada de radiação
LILT	<i>Low Intensity Laser Treatment</i> = Tratamento Laser com baixa intensidade
LLLT	<i>Low Level Laser Therapy</i> = Laserterapia de baixa potência ou não-cirúrgica
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mJ	Milijoule
mHz	Milihertz
ml	Militros
mRNA	<i>messenger Ribonucleic Acid</i> = Ácido Ribonucleico mensageiro
mW	Miliwatts
mW/cm ²	Miliwatts por centímetro quadrado
mW/mm ²	Miliwatts por milímetro quadrado
mm	Milímetros
mm ²	Milímetro quadrado
min	Minutos
nm	Nanômetro
NADH	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo hidrogênio
PG E2	Prostaglandina E2
s	Segundos
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor beta</i> = Fator de crescimento de transformação beta
.TIFF	Formato - Arquivo do Microsoft Office Document Imaging
TM	Tricrômico de Masson
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor alfa</i> = Fator de necrose tumoral
UV	Ultra-violeta
W	Watts
°C	Graus Celsius
X 10	10 vezes

LISTA DE SÍMBOLOS

Å	Angström
λ	Comprimento de onda
CO ₂	Dióxido de carbono
µm	Micrômetro
®	Marca registrada

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	REVISÃO DE LITERATURA	19
1.1	Características gerais da sutura palatina mediana	19
1.2	Efeitos da expansão maxilar no complexo dento-crânio-facial	23
1.3	Tecido ósseo	42
1.3.1	<u>Bases biológicas do reparo ósseo</u>	46
1.4	Laser: Conceitos gerais	49
1.4.1	<u>Histórico</u>	49
1.4.2	<u>Fundamentos do laser</u>	52
1.4.3	<u>Aspectos técnicos</u>	59
1.4.4	<u>Biomodulação da luz laser sobre o reparo ósseo</u>	64
2	PROPOSIÇÃO	83
3	MATERIAL E MÉTODO	84
3.1	Amostragem (seleção dos animais)	84
3.1.1	<u>Distribuição dos animais nos grupos controle e experimental</u>	86
3.2	Manipulação da amostra	88
3.2.1	<u>Anestesia dos animais</u>	88
3.2.2	<u>Instalação e ativação do dispositivo ortodôntico para a disjunção da sutura palatina mediana</u>	89
3.2.3	<u>Procedimento de Irradiação com laser</u>	92
3.2.4	<u>Sacrifício dos animais e obtenção das peças anatômicas</u>	93
3.2.5	<u>Preparo histotécnico das peças anatômicas</u>	95
3.2.6	<u>Coloração das fitas para microscópio de luz</u>	96
3.2.6.1	Coloração com Hematoxilina e Eosina	96
3.2.6.2	Coloração com tricrômico de Masson	97
3.3	Análises realizadas	98
3.3.1	<u>Controle radiográfico</u>	98

3.3.2	<u>Tomografia computadorizada</u>	98
3.3.3	<u>Descrição histológica</u>	99
4	RESULTADO	99
4.1	Análise clínica	99
4.2	Análises radiográfica e tomográfica	100
4.2.1	<u>Grupo controle</u>	100
4.2.2	<u>Grupos experimentais</u>	101
4.3	Análise histológica	105
4.3.1	<u>Grupo controle (sutura normal)</u>	105
4.3.2	<u>Grupo experimental I (disjunção sem aplicação do laser)</u>	106
4.3.2.1	Disjunção Imediata.....	107
4.3.2.2	Disjunção 6 horas	107
4.3.2.3	Disjunção 24 horas	107
4.3.2.4	Disjunção 48 horas	108
4.3.2.5	Disjunção 7 dias	109
4.3.2.6	Disjunção 14 dias	109
4.3.3	<u>Grupo experimental II (disjunção com aplicação do laser)</u>	112
4.3.3.1	Disjunção-Laser Imediata	112
4.3.3.2	Disjunção-Laser 6 horas	111
4.3.3.3	Disjunção-Laser 24 horas	113
4.3.3.4	Disjunção-Laser 48 horas	113
4.3.3.5	Disjunção-Laser 7 dias	114
4.3.3.6	Disjunção-Laser 14 dias	114
5	DISCUSSÃO	116
6	CONCLUSÃO	136
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	137
	ANEXO A - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)	165
	ANEXO B - Análise dos fenômenos histológicos	166

INTRODUÇÃO

As terapias ortodônticas exigem conhecimento sobre os fundamentos das mudanças do tecido ósseo, tanto sob estresse fisiológico como mecânico. A expansão da maxila é um procedimento bastante comum na Ortodontia (KREBS, 1964; HAAS, 1965; MOSS, 1968; TIMMS, 1980), a qual aplica forças intensas na maxila, a fim de obter a separação da mesma na sutura palatina mediana. Porém, muitos clínicos têm relatado dificuldades em conseguir a disjunção palatina após o período de crescimento puberal (KREBS, 1964; MOSS, 1968; WERTZ, 1970; HICKS, 1978; HAAS, 1980) divergindo das respostas ortopédicas favoráveis que são obtidas antes e/ ou durante o crescimento puberal (KREBS, 1964; LINES, 1975; HICKS, 1978).

Um dos maiores problemas relatados na literatura em relação a expansão rápida da maxila (ERM), além da possibilidade de abertura da sutura, é a recidiva da largura posterior obtida com a expansão (HAAS, 1965; 1970; MOSS, 1968; WERTZ, 1970; LINES, 1975; HAAS, 1980; TIMMS, 1980). A manutenção da largura da arcada obtida após a expansão depende da neo-formação óssea nesta região. Assim, é necessário um período de contenção relativamente longo para prevenir a recidiva após a disjunção maxilar rápida (NICHOLSON, PLINT, 1989; PROFFIT; FIELDS, 1992). Embora a causa da recidiva precoce não esteja completamente clara, a regeneração óssea na sutura palatina mediana após a disjunção pode afetar a estabilidade pós-tratamento. Assim, seria potencialmente benéfico acelerar a formação óssea na sutura palatina mediana após a disjunção para prevenir a recidiva da largura do arco dentário e reduzir o período de contenção.

Com a efetividade da laserterapia na Medicina para acelerar a formação óssea, passou a ser objeto de investigação também na Odontologia. Vários efeitos biomoduladores da irradiação do laser de baixa-potência têm sido relatados desde 1971 (MESTER et al., 1971). A maioria destes estudos se limitava à clínica (ABE, 1990; NAGASAWA; KATO; NEGISHI, 1991) ou então a estudos qualitativos que usam modelo experimental *in vivo* (TANG; CHAI, 1986; TRELLES; MAYAYO, 1987; TAKEDA, 1988). Porém, os efeitos de irradiação de laser em regeneração de osso na sutura não são conhecidos, pois a maioria dos estudos para verificar a formação óssea utiliza campos cirúrgicos fora da cavidade oral que possuem um potencial natural de reparação.

O laser é um raio de luz que possui certas características e propriedades peculiares importantes tais como: ser uma fonte de luz monocromática (composta de fótons de mesmo comprimento de onda), que pode atingir altas intensidades; ser coerente (fótons se propagam na mesma direção) e com brilho intenso, assim como unidirecional (fótons se propagam em uma única direção, sem divergência significativa) (GENOVESE, 2007). A possibilidade de focalização em pequenas áreas e a emissão de altas densidades de energia faz do laser um instrumento de grande interesse e importância para aplicações nas áreas de saúde, tanto no diagnóstico como na terapia (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998). Os equipamentos de raios laser podem levar uma quantidade fabulosa de energia aos tecidos com imensa precisão.

Atualmente, os lasers não-cirúrgicos mais utilizados são o diodo, podendo ter um comprimento de onda variando de 635 a 980nm, com potências mais elevadas, propiciando tratamento mais rápido e eficaz (GENOVESE, 2007). É o comprimento de onda de um laser que vai estabelecer o modo de interação laser-tecido. Os equipamentos mais recentes que emitem radiação laser em baixa intensidade, normalmente têm apresentado dois comprimentos de onda, um na região do visível e outro com emissão situada no infravermelho próximo. Assim, dependendo da estrutura celular que se pretende atingir, é feita a escolha do comprimento de onda mais apropriado. A região do visível está mais indicada para terapia de tecidos mais superficiais, como a pele e mucosas; já a região do infravermelho próximo, devido à maior profundidade de penetração, pode interagir com estruturas mais profundas (GENOVESE, 2007).

O dispositivo de laser de diodo foi freqüentemente usado em estudos experimentais e clínicos em reparo ósseo (TAKEDA, 1988; NAGASAWA; KATO; NEGISHI, 1991; KHADRA et al., 2004a; 2004b; FUKUHARA et al., 2006; KAMALI et al., 2007; MILORO; MILLER; STONER, 2007). Ozawa et al. (1998) em seus estudos “*in vitro*” demonstraram que a irradiação laser causou um aumento no número de células osteoblásticas diferenciadas e formação óssea nodular pela estimulação da proliferação de células osteoprogenitoras. Estes estudos fundamentam outros “*in vivo*” que mostraram maior rapidez na recuperação de fraturas ósseas através do aumento da vascularização, formando um osso mais compacto (TRELLES; MAYAYO, 1987).

Porém, há poucos estudos que mostrem as mudanças relacionando a remodelação do tecido ósseo na sutura palatina mediana durante disjunção rápida da maxila; e a influencia do uso do laser de baixa potência na velocidade de formação óssea após a disjunção.

1 REVISTA DA LITERATURA

1.1 Características gerais da sutura palatina mediana

As suturas são articulações fibrosas entre os ossos, permitindo-lhes somente movimentos muito limitados entre eles. Para entender a estrutura de uma sutura, deve ser lembrado primeiro que o periósteo de um osso consiste de duas camadas de estruturas: uma externa (fibrosa) e uma interna (celular ou osteogênica). As suturas em crescimento apresentam cinco camadas de tecidos: duas camadas celulares osteogênicas do periósteo (associadas com cada osso que compõe a sutura); duas camadas fibrosas do periósteo (associadas a cada osso e unidas à camada celular osteogênica do periósteo) e uma camada intermediária entre as camadas fibrosas do periósteo, contendo fibras e vasos sanguíneos, relativamente inerte, que permite o crescimento ósseo independente nas suas margens (Figura 1, página 19). Essa camada central constitui o local de proliferação celular e de formação e recomposição de fibras. A camada osteogênica da sutura é chamada de câmbio; a interna, de capsular (SICHER; DU BRUL, 1977; TEN CATE; FREEMAN; DICKINSON, 1977; WAGEMANS; VELDE; KUIJPER-JAGTMAN, 1988; TEN CATE, 2001; GARANT, 2003).

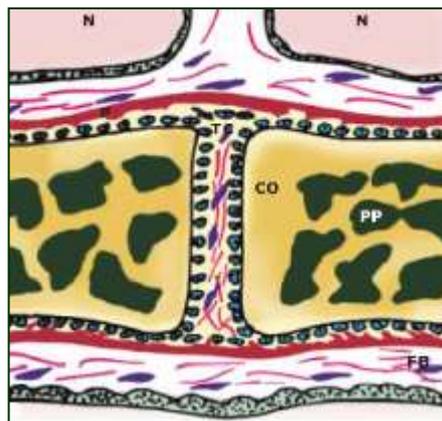


Figura 1 - Representação de um corte frontal das estruturas que compõem a região palatina mediana, destacando-se o periósteo (P); cavidade nasal (N); processo palatino (PP); cortical óssea (CO); tecido conjuntivo fibroso (TC); fibroblastos (FB).

Fonte: CONSOLARO, 2005.

As suturas podem ser consideradas como possuindo o mesmo potencial osteogênico do perióstio (CONSOLARO, 2005). Quando dois ossos são separados (como os ossos do crânio, por exemplo, devido ao crescimento do cérebro), forma-se osso nas bordas das suturas, com ondas sucessivas de diferenciação de novas células ósseas a partir da camada câmbio. Assim, a estrutura histológica da sutura, permite uma forte união entre os ossos, bem como a formação de novo osso (KOSKI, 1968; TEN CATE, 2001; GARANT, 2003). O tecido conjuntivo entre os dois ossos possui o mesmo papel que a cartilagem da base do crânio, das epífises e das superfícies articulares dos ossos longos, ou seja, com uma expansão da sutura inicia-se a proliferação das células da camada central do tecido sutural. Esse conceito parece implicar na existência da força de separação tissular no tecido sutural. A sutura tem sua própria membrana de perióstio, cobrindo, também, as superfícies opostas dos ossos, como se estes ossos estivessem dispostos em pacote. O papel da camada central, entre as duas bordas ósseas, é permitir leves ajustes entre os ossos, durante o crescimento, enquanto o papel de proliferação ativa é executado pelas camadas cambiais do perióstio de cada osso. As suturas absorvem consideravelmente energia gerada pelo impacto de forças mecânicas (JASLOW, 1990).

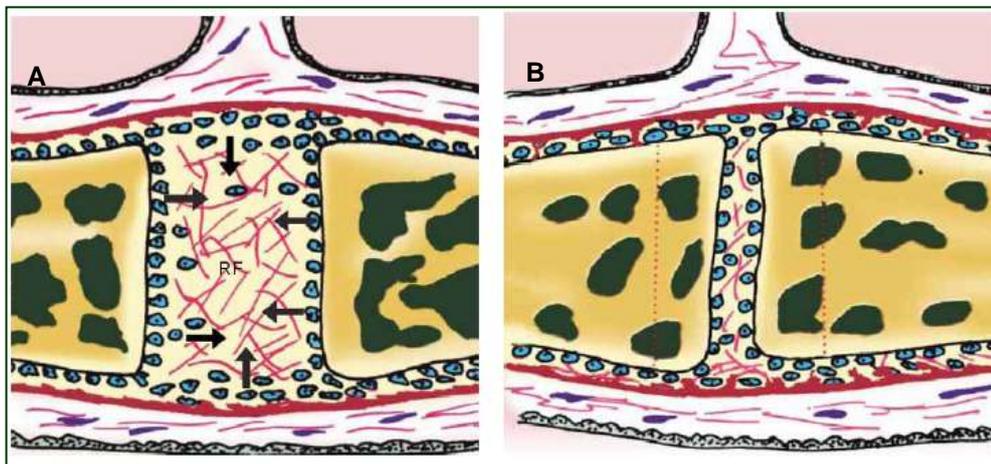


Figura 2 - A) espaço ocupado por rica rede de fibrina (RF) do exsudato e do coágulo sanguíneo; B) restabelecimento da morfologia óssea normal e a sutura readquire sua organização habitual. O ganho de estrutura óssea está demarcado pelas linhas pontilhadas.

Fonte: CONSOLARO, 2005.

O comportamento das suturas na expansão rápida mostra muita semelhança com o desenvolvimento da sutura durante o crescimento fato também mencionado por Ten Cate (2001). É também sugerido que a expansão da sutura envolve injúria, seguida pelo fenômeno proliferativo de reparação e, posteriormente, pela formação de tecido de cicatrização (Figura 2, página 20).

Scott (1956), Moss (1957) e Sicher, Du Brul (1977), ao fazerem uso do termo área sutural, referem-se aos bordos adjacentes de dois ossos opostos, juntamente com a interposição de tecido conjuntivo. Basicamente, dois tipos de morfologia de área sutural foram observados pelos autores, segundo a forma dos bordos ósseos que se contactam: 1. União bordo a bordo (sutura harmônica ou simples); 2. Em bisel ou sobreposição (as bordas se apresentam talhadas em bisel, de modo que um se superpõe ao outro numa área de extensão variável). Os dois tipos podem ser modificados, durante o crescimento, por interdigitações desenvolvidas secundariamente (as bordas dos ossos se apresentam denteadas, sendo que os dentes se interdigitam entre si). É razoável afirmar que essas variedades de padrões de área sutural correspondem, de algum modo, à natureza das forças normalmente impostas sobre as suturas. Para Scott (1956), o crescimento da sutura ocorre na camada de células cambiais, em um dos bordos, ou nos dois.

Normalmente, a sutura palatina mediana possui inicialmente, rebordos planos ou regulares. Com o aumento da idade, a superfície da sutura torna-se irregular por causa do aumento no número e no comprimento das interdigitações ósseas. Algumas vezes ocorre sinostose sutural local; como consequência, cessa o crescimento sutural nessa área. Esta sinostose é um processo progressivo, iniciando-se por pequenas áreas de união óssea que ocorrem inicialmente dentro da porção externa da sutura (MOSS; YOUNG, 1960; KOSKI, 1968; KOKICH et al., 1979). Essas interdigitações das suturas servem para resistir ao "stress" de tensão, aumentando a área superficial de contato, e elas podem ser instrumentos de transmissão de força de um osso para outro (HERRING, 1972). O mecanismo de transferência realiza-se, diretamente, mediante superfícies ósseas, ou via fibras do tecido conjuntivo. Portanto, as funções de uma sutura interdigitada são: resistir à força de compressão e cisalhamento (por compressão das superfícies ósseas) e resistir à força de tensão (pela tração, compressão e cisalhamento) sobre as fibras do tecido conjuntivo, principalmente a sutura tipo bisel mencionada por Scott (1956), Moss (1957) e Sicher, Du Brul (1977).

Proffit, Fields, Sarver (2007) descreveram que a maxila se desenvolve no período pós-natal, inteiramente por ossificação intra-membranosa, e o crescimento ocorre de duas formas,

por aposição do osso nas suturas que articulam a maxila ao crânio e a base craniana, e outra, por remodelação superficial. Segundo os autores a sutura palatina mediana, da mesma forma que outras suturas esqueléticas faciais, se torna mais sinuosa e interdigitada com o aumento da idade. Histologicamente, na lactância a sutura é quase uma linha reta, e no início da dentição mista inicia-se uma sinuosidade da sutura. Na adolescência ocorre a interdigitação das espículas ósseas na sutura, e ao final do crescimento além da interdigitação ocorre também a formação de osso, que impossibilita, segundo os autores, a disjunção maxilar (Figura 3, página 22).

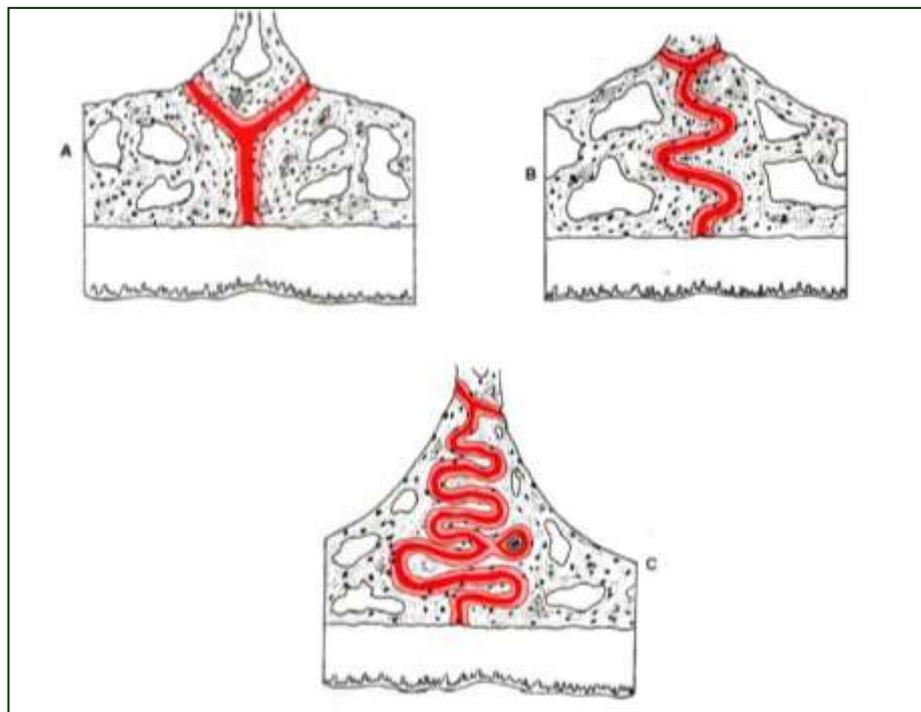


Figura 3 - A) na lactância, linha reta; B) infância inicia-se uma sinuosidade da sutura; C) adolescência interdigitação das espículas ósseas.

Fonte: PROFFIT, FIELDS, SARVER 2007.

Thilander, Righ, Reitan (2002) relataram que as pesquisas sobre o fechamento das suturas em crânios secos mostram que a maioria das suturas da abóbada craniana é obliterada entre 20 e 25 anos de idade, e estudos histológicos das suturas maxilares em seres humanos, têm demonstrado que o fechamento da sutura palatina geralmente se inicia na terceira década da vida. As suturas consistem em um tecido fibroso com camadas osteogênicas em ambas as superfícies e apresentam capacidade de remodelagem. A atividade osteogênica, ao longo de uma sutura, é sujeita à influência da força mecânica externa. Segundo estes autores, a tração produzida pelas forças ortopédicas nas suturas provoca um aumento acentuado dos

osteoblastos e zona de osteóide em ambas as superfícies ósseas indicando, assim, a formação óssea, sendo que as deposições ósseas acompanham a tração, permitindo que a sutura recupere um quadro histológico normal. De acordo com estes autores, a separação experimental das suturas em ratos e macacos mostra alterações que se assemelham ao crescimento normal da sutura do homem. A resposta mecânica à tração realizada em ratos experimentais inclui um alargamento da sutura e alterações dos feixes de fibras.

Persson (1973), com o objetivo de elucidar a morfologia pós-natal nas suturas inter-pré-maxilar de ratos, verificou que: 1. o tecido conjuntivo que contorna a sutura era formado predominantemente por fibras colágenas perpendiculares e paralelas às margens ósseas suturais. Somente quando o crescimento estava cessando, os feixes de fibras cruzavam-se transversalmente através da sutura; 2. a aposição e absorção óssea demonstraram diferenças individuais na forma de crescimento das suturas faciais. Foi observado que estas desempenham um papel importante no crescimento dimensional remodelativo e deslocamento dos ossos; 3. o crescimento sutural é ativo e autônomo, sendo que a proliferação celular é seguida pela expansão do tecido sutural como resultado da separação das junções ósseas; 4. o crescimento sutural é passivo e heterogêneo. De acordo com este conceito, a deposição óssea ao longo das bordas ósseas da sutura é secundária à separação dos componentes ósseos por forças extra-suturais.

1.2 Efeitos da expansão maxilar no complexo dento-crânio-facial

O primeiro caso de expansão maxilar rápida foi relatado na literatura ortodôntica por Angell apud Debbane (1958) que utilizou um parafuso expansor fixado nos primeiro e segundo pré-molares superiores direitos e segundo pré-molar esquerdo de uma paciente jovem, sendo ativado duas vezes ao dia durante duas semanas. O aparecimento de um diastema entre os incisivos centrais, durante o tratamento, foi considerado por Angell como uma comprovação da separação da maxila. Outros autores tais como Goddard e Willis apud Debbane (1958) também reportaram o aparecimento de diastema entre os incisivos e, afirmaram que tal característica era resultado da separação da maxila. Segundo estes pesquisadores, esta separação mensurava a distância em que os ossos maxilares tinham sido deslocados. Wertz (1970) e Viagis (1996) relataram que, durante o processo de abertura da sutura palatina

mediana, os incisivos se separaram, aproximadamente, metade da distância aberta pelo parafuso expansor, porém, a quantidade de separação entre os incisivos centrais, não deveria ser usada como um indicador da quantidade de separação sutural. Afirmaram também que após essa separação, as coroas dos incisivos convergem e estabelecem o contato proximal. De acordo com Wertz (1970), Walters (1975) e Haas (1980), a inclinação mesial das coroas é devido ao retorno das fibras transeptais à sua posição original. Uma vez as coroas contactadas, o estiramento contínuo das fibras faz com que as raízes convirjam para suas inclinações axiais de origem. Wertz, Dreskin (1977) relataram que os incisivos tendem a ficar verticais ou inclinados para lingual e que esse movimento ajuda a fechar o diastema, mas também, diminui o comprimento do arco.

A indicação inicial do procedimento de ERM era feita para casos de respiração bucal. Devido ao fato do teto da cavidade oral ser o assoalho da cavidade nasal, a contração da abóbada palatina causa também uma contração da cavidade nasal, dando como resultado um estreitamento das paredes desta cavidade, das narinas e desvio do septo nasal. Desta forma, a contração pode ser total, quando a cavidade nasal e palato duro estão comprimidos de ambos os lados (da espinha nasal anterior à espinha nasal posterior), ou confinada a um só lado, quando se refere ao estreitamento assimétrico.

Monson apud Haas (1965) afirmou que a malformação dos processos palatinos da maxila resultava numa abóbada palatina constricta, cruzamento do arco maxilar e algum grau de estenose nasal, provocando respiração bucal. Este autor foi, provavelmente, o primeiro profissional a defender o uso de expansão maxilar rápida para a correção simultânea das malformações maxilar e nasal. Ottolengui apud Debbane (1958), após 15 anos de experiências com a expansão maxilar rápida, afirmou que este método era superior aos convencionais porque os dentes não inclinaram e nem apresentaram mobilidade. Ele confirmou que essa técnica melhorava a respiração nasal de seus pacientes, e não acreditava que a expansão maxilar lenta pudesse afetar, substancialmente, a cavidade nasal.

Na Europa, a idéia do tratamento da estenose nasal através da expansão maxilar foi proposta 13 anos antes da publicação de Monson apud Haas (1965) nos Estados Unidos da América. Porém, muitos rinologistas europeus consideraram a eficácia de tal tratamento duvidosa e as pesquisas, nesse campo, foram abandonadas nesta época. Nas pesquisas realizadas por Monson apud Haas (1965) havia vários casos com atresia maxilar, onde os ossos maxilares foram expandidos, e ocorreu um abaixamento ou achatamento do palato, e conseqüentemente houve restauração da respiração nasal nos casos de respiradores bucais.

Observou-se também um alargamento das bases das narinas e a correção de septos nasais desviados.

Para solucionar o problema da contração nasal e melhorar a passagem de ar muitas vezes era necessária a remoção de uma parte do septo nasal. Porém, por meio do procedimento de expansão dos ossos maxilares, seria possível produzir um aumento no espaço respiratório da cavidade nasal, diminuindo a profundidade do palato, eliminando, a pressão do septo, que se encontrava desviado, pela compressão existente, própria da atresia maxilar. Como os ossos nasais estão unidos aos ossos maxilares, quando forças são aplicadas a estes últimos acompanham à expansão, possibilitando a correção do desvio do septo e alargando as bases das narinas os quais contribuem para efetuação da respiração nasal em pacientes respiradores bucais (BROWN e WILLIS apud Debbane (1958)). O aumento na largura nasal após a ERM também foi observado por outros pesquisadores (LANDSBERG; HAWLEY; BROWN) apud Debbane (1958). Assim, a ERM passou a ser indicada para casos que apresentavam estenose nasal, uma vez que a respiração nasal era bastante favorecida por este procedimento.

Porém, Angle apud Haas (1965), um dos melhores pesquisadores na Ortodontia, expressou indiferença quanto à ERM. Ele afirmou que a força intensa e o movimento rápido no ápice dos dentes não eram fisiológicos. Dewey apud Haas (1965) revisou a literatura da época sobre expansão maxilar rápida e afirmou que a evidência da abertura na sutura palatina era questionável. Porém em 1914, Dewey apud Haas (1965) depois de conduzir experimentos de expansão sutural em cães, reconheceu a possibilidade de separação da sutura palatina em humanos. Ao mesmo tempo, reafirmou sua crença de que tal tratamento era indesejável e contrário ao conceito funcional do desenvolvimento dento-facial. Ketcham e Federspiel apud Haas (1965) consideraram que uma arcada dentária estreita prejudicava a respiração; entretanto, eles também não acreditavam que a arcada dentária deveria ser expandida pela abertura da sutura, permanecendo fiéis à filosofia de Angle.

A renúncia quase completa da expansão maxilar rápida nos Estados Unidos parece coincidir com a ascensão da escola de Angle e a aceitação geral pelos ortodontistas do conceito funcional do desenvolvimento dental. Resumidamente, Angle apud Haas (1965) afirmou que a maloclusão estava associada à falta de crescimento ósseo ou a um crescimento anormal. Thorne e Hugo (1960) publicaram uma extensa revista da literatura sobre a expansão maxilar. Apesar da diminuição do interesse pela técnica nos Estados Unidos, Thorne verificou que esse procedimento continuou a ser utilizado na Europa, o que pode ser verificado, através dos trabalhos de Mesnard apud Haas (1965), Derichsweiler apud Haas (1965), Martenson (1956), Thorne e Hugo (1960), Kressner (1966) e Stockfisch (1969).

O procedimento de ERM só voltou a ser utilizado nos Estados Unidos a partir de 1961. Haas após a visita do europeu Korkhaus ao departamento de Ortodontia da Universidade de Illinois, em 1961, re-introduziu o procedimento de expansão maxilar nos Estados Unidos. Haas (1961) usou um aparelho expensor em porcos que foram sacrificados, para verificar as mudanças presentes, provocadas pelas forças de expansão. Ele notou que ocorreu inclinação do processo alveolar e um abaixamento da abóbada palatina. Além disso, os animais sacrificados, logo após a expansão demonstraram considerável espaçamento dos incisivos superiores, confirmando os trabalhos anteriores. Aqueles que foram sacrificados em data mais posterior revelaram o fechamento rápido desse espaço, com a inclinação dos incisivos em direção à linha média. Haas testou, então, um aparelho expensor em humanos. Foram cimentados anéis nos primeiros pré-molares ou primeiros molares decíduos superiores e nos primeiros molares permanentes. A ativação foi de 0,25mm por um quarto de volta do parafuso expensor. Foi verificada, nos casos de expansão, a separação intermaxilar e o alargamento, em média, de 4,5mm na cavidade nasal. Os pacientes relataram pressão no processo alveolar, na área do palato e nas articulações da maxila (frontal, nasal e zigomaticomaxilar) e alguma pressão na sutura zigomático-temporal. O autor constatou uma separação em forma de cunha entre os maxilares com a base voltada em direção à cavidade nasal e o fulcro de rotação (vértice) localizado na região frontomaxilar.

Wertz (1970), Bishara e Staley (1987); e Witzig e Spahl (1995), afirmaram que se ao se considerar a forma anatômica e sustentação esquelética dos ossos maxilares, em uma vista frontal, o procedimento de ERM resulta em uma abertura em forma de pirâmide cuja base se localiza inferiormente, e o ápice, na área da sutura frontomaxilar com fulcro de rotação para cada maxila, localizado aproximadamente nesta sutura, e numa vista oclusal a sutura palatina mediana se abre em forma de cunha, com a maior abertura na região dos incisivos. A resistência do arco zigomático às forças de expansão aplicadas inferiormente, previne a abertura paralela dos segmentos maxilares. Entretanto, os autores consideraram favorável que esta resistência estivesse presente, já que um movimento puramente paralelo poderia deslocar o processo frontal do osso maxilar de corpo, para dentro da cavidade orbitária. Foi demonstrado claramente que esta ocorrência indesejável pode ser prevenida pela arquitetura esquelética. Essa abertura piramidal dá como resultado um aumento em largura no nível do palato e da cavidade nasal. Storey (1973) também mostrou que os efeitos da expansão maxilar é maior na crista alveolar e menor na abóbada palatina e que os ossos maxilares se inclinam, lateralmente, com o centro de rotação próximo da sutura fronto-maxilar.

A separação dos ossos maxilares e, as mudanças que acompanham este deslocamento na linha média, como um abaixamento da abóbada palatina e do assoalho do nariz, a correção do desvio do septo nasal e a restauração da permeabilidade nasal com o uso de aparelho expensor fixo foi verificado por Mesnard apud Haas (1965).

Hershey, Stewart e Warren (1976) utilizaram uma amostra de dezessete pacientes respiradores bucais, que requeriam expansão rápida da sutura palatina mediana para a correção de arcos maxilares constrictos e observaram que um incremento na cavidade nasal de 1 a 3mm podia ser esperado quando os primeiros molares eram expandidos de 8 a 11 mm; e que a expansão rápida dos maxilares para a correção de mordida cruzada em respiradores bucais promove uma diminuição na resistência à respiração nasal.

Porém, Wertz (1968) observou que quando os pacientes com estreitamento da maxila eram submetidos à expansão da sutura palatina mediana, os maxilares eram deslocados lateralmente até que a mordida cruzada fosse excessivamente corrigida. A abertura da sutura palatina mediana não tinha uma configuração paralela, sendo que a porção mais larga se localizava na região anterior. Com os seus resultados o autor verificou que os casos de estenose só seriam beneficiados pela expansão rápida quando esta localizava-se na região ântero-inferior das fossas nasais. Para o autor, a proposta da abertura da sutura palatina mediana com o objetivo de incrementar a permeabilidade nasal não se justifica, a menos que esta obstrução seja acompanhada por uma deficiência transversa do arco maxilar, considerações também relatadas por Neely, Edgin e Gonzales (2007). Estes autores afirmaram que, com a ERM a diminuição da resistência nasal e o crescimento e desenvolvimento dos tecidos são imprevisíveis.

A partir da década de 1970 a função respiratória voltou a ser uma preocupação na Ortodontia, e vários outros trabalhos nesta área continuaram a surgir. Hoffer e Walters (1975), num estudo experimental em dez primatas *Macaca Mulatta* em fase de dentição mista, submetidos à expansão da sutura palatina mediana, comprovaram que esta foi alargada e acompanhada por uma expansão da arcada dentária superior, do espaço internasal e das paredes palatinas, juntamente com o alargamento da face média. Os autores observaram, como consequência do procedimento, um ligeiro aumento na largura bi-zigomática, assim como as distâncias entre as foraminas infraorbitárias e interpalatina. O complexo nasomaxilar adquiriu a forma de um triângulo, com a base localizada ao longo da sutura palatina mediana e o ápice ao nível dos ossos nasais. Memikoglu e Iseri (1999) avaliaram 14 pacientes através de análise cefalométrica pósterio-anterior e observaram aumento significativo das larguras nasal, maxilar e molar, afirmando que as alterações esqueléticas foram devido ao uso do aparelho de acrílico,

resultado este mantido satisfatoriamente até o final do tratamento ortodôntico, fatos também relatados por Timms (1984). Hahn et al. (1999) usando a rinometria acústica nasal afirmaram que a disjunção maxilar foi capaz de promover aumento no volume da cavidade nasal, sendo os efeitos considerados significativos e estáveis no período de tempo avaliado pelos pesquisadores. Compadretti, Tasca, Bonetti (2006) demonstraram que a ERM é um procedimento efetivo no aumento da largura da cavidade nasal melhorando dessa forma a respiração nasal dos pacientes.

Outras indicações para a realização da ERM foram defendidas, como nos casos de falta de espaço para alinhamento dos dentes nos arcos dentários. Barnes apud Debbane (1958) recomendaram a expansão maxilar rápida para prevenir maloclusões em crianças e estimular o desenvolvimento da arcada dentária e das estruturas anatômicas vizinhas. Segundo os autores a falta de espaço no arco maxilar antes dos 3 a 4 anos de idade indicava que o problema de apinhamento na dentição permanente poderia se desenvolver. A expansão maxilar ajudou a atingir o tamanho desejado da arcada. Eles condenavam o movimento distal do molar na obtenção de alinhamento dos dentes anteriores porque entendiam que isso provocava impacção do terceiro molar. Posteriormente, alguns autores como Stockfisch (1969) afirmaram que com a expansão maxilar rápida, em crianças, a distância intermolar podem ser aumentada em torno de 1cm, em menos de 3 semanas. Segundo este autor tal amplitude não pode ser atingida com outras técnicas ortodônticas.

A partir da metade do século passado estudos histológicos e cefalométricos para avaliar mais profundamente os efeitos da ERM no complexo crânio-facial começaram a surgir. Derichsweiler (1953) foi um dos primeiros a examinar microscopicamente, o tecido periodontal após a abertura da sutura palatina mediana, não encontrado alterações degenerativas em seus exames histológicos. Porém Debbane (1958) encontrou absorção radicular no lado de pressão nas raízes dos caninos, após a expansão rápida maxilar em gatos.

West (1964) estudou histologicamente, o efeito da expansão maxilar nos ossos faciais e nos elementos dentários em macacos *Rhesus* jovens. No lado de tração encontrou que o espaço do terço cervical do ligamento periodontal estava mais largo que o normal, as fibras da crista alveolar do ligamento periodontal romperam-se com a presença de áreas hemorrágicas e as outras fibras periodontais estavam estiradas. Estes aspectos também foram encontrados por Starnbach et al. (1966) e Rygh (1974), sendo que estes primeiros autores encontraram, nos animais experimentais, no lado de pressão, zonas livres de células e com pequenas áreas de absorção radicular; com a presença de absorção óssea ao longo de toda a extensão radicular, sugerindo que o movimento dentário foi de translação. Porém, Murray e Cleall (1971)

utilizando, também, macacos *Rhesus*, num estudo para verificar a resposta óssea e do tecido conjuntivo da sutura palatina frente a expansão maxilar verificaram que, após 96 horas do início da expansão, foi observada alguma inclinação vestibular dos dentes e, somente, após 14 dias é que se observou o movimento de translação dos dentes em direção vestibular.

Ao estudar sobre a expansão maxilar, Bishara e Staley (1987) constataram que com a curvatura alveolar inicial e a compressão do ligamento periodontal, resultante da expansão, há uma mudança definitiva no longo eixo dos dentes posteriores. Entretanto, segundo os autores, nem toda essa mudança é causada pela curvatura alveolar, mas, parcialmente, devido à inclinação dos dentes no osso alveolar que é acompanhada, geralmente, por uma extrusão dentária.

Geran et al. (2006) utilizaram o aparelho HYRAX que tem apoio em “splint” de acrílico afirmaram que tal protocolo é mais efetivo e estável para a obtenção da expansão maxilar. Da mesma forma, Scanavini et al. (2006) avaliaram cefalometricamente os efeitos da disjunção rápida da sutura palatina mediana sobre o posicionamento vertical e sagital da maxila, comparando os aparelhos de HAAS e HYRAX. Concluíram que os dois aparelhos disjuntores apresentam resultados semelhantes. Harzer, Schneider e Gedrange (2004) utilizaram o aparelho HYRAX apoiado em implantes ao invés de utilizar os dentes como ancoragem mostraram que este método evita a inclinação dos dentes posteriores e, conseqüentemente, a recidiva durante o período de contenção. Ao realizarem uma meta-análise dos estudos cefalométricos e clínicos relacionados às mudanças dentárias e esqueléticas resultantes da ERM, Lagravère et al. (2006) afirmaram que as maiores mudanças resultantes da disjunção são no sentido transversal, enquanto que nos sentidos horizontal e vertical não são estatisticamente significativas.

Ao realizarem a expansão maxilar também em primatas, Vardimon, Graber, Pitarv (1991) observaram que os locais mais atingidos pela absorção radicular foram os dentes multirradiculados, particularmente na superfície radicular vestibular, a superfície radicular méso-vestibular e o ápice dentário. Dois tipos de cimento celular foram observados nas áreas de absorção: cimento reparativo não funcional, caracterizado pela ausência de fibras de Sharpey e cimento reparativo funcional, caracterizado pela re-inserção das fibras de Sharpey em sua superfície e linhas incrementais no seu interior.

Os resultados, obtidos em animais experimentais, não devem ser adotados e aplicados igualmente aos seres humanos. Desta forma alguns pesquisadores resolveram verificar os efeitos da expansão rápida nos dentes de ancoragem em humanos. Rinderer (1966) realizou expansão maxilar em 12 pacientes e verificou, através de exames histológicos, absorção

radicular os dentes de ancoragem que tinham indicação previa de extração como parte do plano de tratamento ortodôntico. Muito embora essas zonas de absorção tenham sido reparadas com cimento secundário, não houve comprovação se essas áreas seriam totalmente reparadas após o período de contenção. No lado oposto à absorção, constatou-se uma ampla área de neoformação óssea. De acordo com o autor, quanto maior o período de contenção, aumenta a possibilidade de restabelecimento das condições normais do ligamento periodontal. Sims e Weekes (1985) examinaram pré-molares após a expansão maxilar usados como ancoragem e verificaram que o reparo das absorções foi obtido através da deposição de cimento celular, inclusive nas áreas de absorção dentinária. Segundo os autores, tal deposição restabeleceu o contorno radicular.

Com o objetivo de observar se durante a expansão ocorre absorção na superfície vestibular das raízes dentárias, Moss (1968) e Timms (1980) realizaram exames histológicos dos dentes extraídos, juntamente com seus tecidos de suporte, de arcadas que tinham sido expandidas. O exame histológico revelou pequenas áreas de absorção que foram reparadas parcial ou totalmente com osteodentina ou cimento. Pouca atividade celular estava presente, exceto nas áreas de reparação. Essas absorções, decorrentes da expansão maxilar, não se evidenciaram radiograficamente. O ligamento periodontal e o osso alveolar estavam normais. Em 1982, Harry e Sims também relataram a absorção radicular externa em dentes submetidos a expansão maxilar rápida.

Devido aos efeitos deletérios, Watson (1980) publicou uma nota de advertência contra a expansão indiscriminada do arco dental pelo tratamento ortodôntico, incluindo a expansão maxilar. Fenestração, deiscência alveolar e absorção radicular foram relatadas pelo autor como possíveis efeitos deletérios, sendo que os dois últimos aspectos também foram relatados por Vardimon e Graber (1991). Ao comparar efeito da expansão rápida e lenta, nas estruturas de suporte dentário no lado vestibular do primeiro molar permanente, em 61 pacientes, Greenbaume e Zachrisson (1982) verificaram que o grupo de expansão rápida exibiu maior frequência de deiscência óssea.

Várias investigações histológicas sobre os efeitos da ERM em dentes humanos foram feitas por Timms e Moss. Em 1971, eles realizaram a expansão maxilar, sendo que oito dos nove dentes examinados sofreram absorção radicular, devido ao uso de aparelho de expansão, principalmente, no terço cervical e na região de bifurcação das raízes dentárias. Todas as áreas afetadas pela absorção radicular foram reparadas com tecido cementóide. Depois da contenção fixa por aproximadamente três meses, a contenção removível continuou até a extração dos dentes experimentais. O período da expansão até a remoção dos dentes foi de 6 a 23 meses.

Mudanças marcantes foram vistas na polpa dentária, sendo que a dentina secundária foi depositada próximo à bifurcação radicular e calcificações pulparest estavam presentes em vários casos. Além disso, dois anos após a expansão, a absorção radicular e reparo cementário ainda estavam presentes.

Segundo Hellden (1972) a reinserção das fibras implica em uma reorganização do periodonto em seus diferentes componentes teciduais, incluindo cimento, fibras e osso alveolar. De acordo com o autor, o reparo da superfície radicular ocorre pela deposição de tecido cementóide que, geralmente, inicia-se na periferia da cavidade. Depois surgem áreas do cimento celular que formam uma nova camada de cimento. Ao mesmo tempo em que há a regeneração do cimento há o reparo do osso alveolar sendo que esse último, de modo geral, ocorre mais rapidamente do que a formação do cimento.

Ao analisar áreas de pressão formadas a partir da expansão maxilar em 12 indivíduos, Buck e Church (1972) observaram que houve compressão do ligamento periodontal, onde se observou a condensação das fibras colágenas e ausência celular. Em geral, esse fenômeno de perda celular mostrou-se mais evidente próximo à crista alveolar e nas regiões de maior compressão e mais reduzido, na região apical. A absorção solapante foi proeminente, enquanto a absorção frontal foi observada nos cortes mais apicais. Nas áreas de extrema compressão houve hialinização das fibras e obstrução dos vasos sanguíneos. Evidenciou-se a absorção radicular lateral em todos os espécimes. Após 21 dias, um espaço periodontal mais amplo foi encontrado e a atividade osteoclástica, tanto frontal como solapante, foi menor. A atividade osteoblástica e áreas de fibras ósseas imaturas foram observadas. A reorganização do ligamento periodontal caracterizou-se pelo desenvolvimento capilar, fibroblastos com citoplasma basófilo e feixes de fibras menos compactas ou separadas. Após 28 dias, houve uma reorganização das fibras e células, e a atividade de absorção óssea não estava evidente e poucos osteoclastos foram vistos. Langford e Sims (1982) observaram a reparação e reinserção das fibras periodontais, nas áreas de absorção radicular, em 34 pré-molares, após a ERM em humanos. Uma extensa absorção radicular caracterizou a superfície vestibular desses dentes que serviram de ancoragem. A reparação, nas áreas de absorção, ocorreu exclusivamente com cimento celular. Perfurações deixadas pelas fibras de Sharpey, indicativas da reinserção das fibras periodontais principais foram encontradas no cimento em reparação. Entretanto, essas depressões não foram numerosas nem consistentes na sua presença e localização, quando analisadas topograficamente. O período de contenção variou entre 14 e 53 semanas, sendo que no período mais longo evidenciou uma reparação mais acentuada.

Barber e Sims (1981) estudaram os efeitos da expansão maxilar em pré-molares de ancoragem e pré-molares que não foram utilizados como ancoragem durante a expansão. Observaram que todos os dentes de ancoragem exibiram absorção radicular, principalmente na superfície vestibular. A absorção foi mais intensa naqueles dentes extraídos logo após a expansão, apesar da absorção radicular também estar presente 9 meses após a contenção. O reparo desses defeitos radiculares foi feito à custa de cimento celular, porém não se evidenciou a reinsertão das fibras periodontais. Os maiores defeitos foram observados no terço cervical e médio da superfície radicular vestibular. Um envolvimento, porém, limitado às superfícies radiculares mesial e distal também foi observado. Odenrick, Lilja, Lindback (1982) também estudaram os efeitos da expansão maxilar, na superfície radicular de primeiros pré-molares, e observaram que a maioria das áreas de absorção foi encontrada na superfície vestibular das raízes, principalmente na região cervical.

Odenrick et al. (1991) realizaram a expansão maxilar em nove pacientes, porém com o uso de dois tipos de aparelhos fixos: um aparelho com acrílico (desenhado por Haas) e outro todo em estrutura metálica (sem acrílico). A absorção radicular foi encontrada na superfície vestibular de todos os dentes, mas, mostrou-se mais intensa nos casos em que foi utilizado aparelho com estrutura metálica. Eles demonstraram que uma ancoragem máxima, durante a expansão, através do acrílico, é preferível, a fim de diminuir a incidência da absorção radicular. Haas (1980) já defendia o uso do aparelho dento-muco-suportado, pelo fato de agir não somente contra a ancoragem dentária, como também contra as paredes inclinadas da abóbada palatina, da lâmina alveolar palatina e de estruturas alveolares mais profundas, sendo dessa forma a força distribuída pelos tecidos de ancoragem e não apenas aos dentes de ancoragem.

Devido a alguns achados histológicos desfavoráveis na superfície radicular de dentes de ancoragem na expansão maxilar, pesquisas relacionadas a magnitude da força da ERM surgiram. Assim, Cleall et al. (1965) conduziram uma investigação para verificar os efeitos da força utilizada, durante a expansão maxilar na sutura palatina de macacos *Rhesus*, e verificaram que as reações histológicas do ligamento periodontal e osso alveolar são menores do que as geralmente vistas depois de um movimento de inclinação brusco.

Lilja e Odenrich (1982) investigaram a ocorrência e a natureza da absorção radicular em pré-molares de 9 pacientes submetidos à expansão maxilar lenta, através de radiografias e exames histológicos desses dentes. As radiografias não revelaram nenhuma absorção radicular, porém, nos exames histológicos, as lacunas de absorção foram identificadas em todos os

pacientes. Essas cavidades penetravam no cimento e estendiam para o interior da dentina, localizando-se, com maior frequência, na região cervical da superfície vestibular.

Com o desenvolvimento de trabalhos na área da cefalometria, várias pesquisas foram realizadas em humanos, verificando o comportamento das estruturas dento-crânio-faciais, pois as pesquisas indicavam que o procedimento de expansão palatal não só exercia influência sobre as unidades dentárias, como também sobre o esqueleto facial. Timms (1968), avaliando pacientes submetidos à ERM, também observou que os ossos maxilares e palatinos desarticularam-se uns dos outros e inclinaram-se lateralmente com a abertura maior da sutura na região anterior, criando um diastema mediano entre os incisivos centrais superiores. Os dentes posteriores giraram lateralmente, aumentando suas inclinações axiais e ocorrendo aumento na área de secção transversal do espaço aéreo nasal, observações também confirmadas posteriormente por Sato (1985).

A principal resistência à abertura da sutura palatina mediana, segundo Bishara e Staley (1987) não se constitui nela mesma, mas nas estruturas circundantes da maxila, uma vez que a maxila articula-se com outros ossos faciais e da base do crânio, mais especificamente com os ossos esfenóide e zigomático. Essa resistência justifica a separação dos maxilares em forma triangular com a base voltada para a região anterior. A rigidez relativa dos tecidos ósseos resiste de imediato às forças de disjunção, mas a musculatura da mastigação e os músculos faciais são relativamente elásticos e podem acompanhar a abertura que ocorre, quando da aplicação das forças.

Para investigar sobre a recidiva da ERM, Halazonetis, Katsavrias e Spyropoulos (1994) estudaram os efeitos da ERM, na pressão exercida pela musculatura da bochecha sobre o arco maxilar. Essa pressão poderia implicar em recidiva, após a expansão. Eles pesquisaram se existiria aumento dessa pressão durante as fases do tratamento da ERM e se esta retornaria aos níveis de pré-expansão após a estabilização do aparelho. A amostra foi composta de 15 indivíduos, 5 do gênero masculino e 10 do feminino, que utilizaram aparelhos expansores do tipo Haas, para tratamento da atresia maxilar bilateral de mais de 5 mm. A média de idade dos indivíduos foi de 12 anos. A pressão bucal foi medida entre os primeiros molares superiores, antes e após a ativação e após 3-4 meses de contenção com o aparelho, por meio de um medidor de pressão eletrônico. A pressão da bochecha sobre os molares antes da ERM era de 3g/cm^2 e aumentou significativamente, em média, para 9g/cm^2 após a ERM ($0,6\text{g/cm}^2$ a cada milímetro de expansão). No período de contenção, a pressão manteve-se nos mesmos níveis do período de ativação. Por conseguinte, a pressão da bochecha sobre o arco superior implicou em recidiva, após a ERM e, igualmente durante o período de contenção.

Em 1964, Isaacson, Wood e Ingram mensuraram a força provocada pelo aparelho de expansão maxilar rápida da sutura palatina mediana em cinco pacientes que variavam entre 8 e 15 anos de idade. Seus aparelhos foram cimentados nos primeiros molares permanentes e primeiros pré-molares superiores, através de anéis ortodônticos. Ativações de 0,25mm foram produzidas em cada quarto de volta. As forças medidas eram horizontal, vertical e uma combinação das duas, resultando numa força rotacional vestibular nas metades alveolares da maxila. Usando um dinamômetro fixado ao aparelho expensor, os autores verificaram que uma simples ativação produziu entre 1,5 a 5 Kg de força, que decaiu rapidamente em minutos, após a primeira ativação, e continuou a decair suavemente, porém, cargas residuais permaneciam sempre presentes. Esses autores afirmaram que a maior resistência da expansão não era na sutura palatina, mas nas articulações maxilares remanescentes, desde que nenhuma mudança significativa nos valores das forças foi registrada durante o tempo que a sutura abriu. Essa resistência descreve a "força residual", que é a resistência do esqueleto ósseo à expansão produzida pelo aparelho. De modo geral, pareceu existir uma tendência, nos pacientes mais jovens, das ativações produzirem forças residuais menores e os dados sugeriram que, com a maturação esquelética e o aumento da idade, aumenta a resistência à expansão. Cross e McDonald (2000) realizaram estudo transversal das dimensões esqueléticas, dentárias e nasais, em pacientes submetidos à ERM utilizando telerradiografias pósterio-anteriores e afirmaram que os resultados da ERM dependem da idade do paciente, fato também confirmado por Melsen (1972) e por Saadia e Torres (2000).

Em 1965, Zimring e Isaacson também estudaram as forças produzidas por um aparelho similar ao utilizado por Isaacson, Wood e Ingram, em 1964. Cada ativação de um quarto de volta equivalia a 0,25mm. Esse estudo, também indicou que o esqueleto facial foi a principal resistência para a carga máxima de expansão, que variou de 7,6 Kg a 15,9 Kg, durante o tratamento. Logo após o início do tratamento, as forças eram dissipadas normalmente nas 12 horas subsequentes, porém isto deixou de ocorrer após alguns dias, e as forças residuais acumuladas resultavam em uma produção de forças totais maiores e verificaram diferenças com relação à idade, pois quanto mais avançada a idade, maior o tempo requerido para a liberação das forças. Essas forças só se dissiparam durante o período de contenção de 5-7 semanas. Várias sensações de pressão foram reportadas, tais como na cavidade orbital e nasal (dorso do nariz). Os relatos de sensação de pressão em outras áreas indicam que as forças, provavelmente, estavam presentes, mas a magnitude e o tipo (pressão ou tração) permaneceram desconhecidos. O fato é que cada ativação induz à mesma quantidade de força; as estruturas esqueléticas não se movimentam imediatamente, existindo um período de tempo

necessário para que esta movimentação ocorra. Os autores descreveram, também, que o tempo de contenção necessário depende da quantidade de força que o aparelho apresenta no final do tratamento.

Timms (1968) também observou que os ossos maxilo-faciais ficam sujeitos a forças excepcionais por um longo tempo, durante o período de contenção. Ao mesmo tempo em que ocorreu a remodelação, a fim de aliviar toda pressão e tração, houve recidiva parcial que parecia inevitável, caracterizada pela grande inclinação dos dentes que tendiam a retornar a suas inclinações normais. Timms e Moss (1971), utilizando um aparelho rígido para a expansão maxilar, demonstraram a evidência da linha reversa dentro do osso, no lado vestibular, e, também, deposição óssea nesse local, um ano depois da terapia, demonstrando uma certa tendência a recidiva após o final do tratamento.

Enaltecendo as vantagens dos aparelhos de ERM, Haas (1970) apresentou os efeitos ortopédicos resultantes do uso dos mesmos, os métodos de utilização, as indicações, os objetivos e os requisitos do expansor, os mecanismos de contenção e a quantidade de força necessária para realização da disjunção maxilar. Discutiu também as diferenças e vantagens dos aparelhos dento-muco-suportados sobre os dento-suportados, e, segundo o autor, ignorar a ancoragem máxima da mucosa palatina, em razão da higiene dos aparelhos sem o suporte de acrílico, é um erro, pois a primeira lei da Ortopedia consiste em empregar o máximo de ancoragem para a obtenção dos objetivos ortopédicos. Os principais efeitos produzidos pela ERM, relatados pelo autor foram no sentido ântero-posterior, onde a abertura da sutura palatina mediana é paralela. No sentido vertical, a abertura é triangular, com o ápice voltado para a cavidade nasal; os incisivos centrais estão unidos por fibras transeptais e, devido à abertura da sutura, é criado um diastema entre esses dentes. Os processos alveolares movem-se lateralmente em conjunto com os ossos maxilares, enquanto o processo palatal deflete inferiormente; quando a sutura palatina mediana abre, os ossos maxilares movem-se para frente e para baixo. Isto se deve à disposição das suturas crânio-faciais que estão orientadas de maneira a produzir um vetor de movimentação dos ossos maxilares, para frente e para baixo, similar ao do crescimento; a mudança na postura maxilar, invariavelmente, causa uma rotação para baixo e para trás da mandíbula, diminui o comprimento efetivo da mesma e aumenta a altura inferior da face. Biederman e Chem (1973) demonstraram a eficácia dos aparelhos expansores da maxila, no tratamento de pacientes com maloclusão Classe III tratados por esse tipo de terapia. Afirmou que a correção da mordida cruzada anterior é auxiliada pelo deslocamento anterior da maxila e, conseqüente por rotação horária da mandíbula.

Walters (1975) analisou as mudanças dimensionais nas cavidades oral, nasal e orbitária de *Macaca mullata*, após a expansão maxilar rápida. Observou que a separação da sutura palatina mediana induziu a um deslocamento dos ossos maxilares para frente, à rotação para cima de seus bordos, à expansão da arcada dentária superior, o abaixamento e achatamento das paredes palatinas e um alargamento do espaço inter-nasal. O autor constatou que a separação da sutura palatina mediana no macaco induz a um movimento posterior da pré-maxila, ao contrário do que acontece no homem. Esta alteração foi acentuada pela aparente redução na altura maxilar, que provocou um efeito de contração na área das órbitas. Wertz e Dreskin (1977) mostraram, em seus estudos clínicos, que, geralmente, a maxila se move para baixo e para frente durante a abertura da sutura. Isso ratifica a afirmação de Gardner e Kronman (1971), segundo os quais a abertura da sincondrose esfeno-occipital pode ser a razão para o movimento anterior da maxila.

Ohshima (1972) utilizou macacos *Cynomolgus* em fase inicial de dentição mista, correspondendo a indivíduos de 5 a 7 anos. Analisando as estruturas maxilares dos animais controle, constatou que o processo ósseo sutural consistia de osso lamelar, mostrando uma formação óssea sutural ativa, sendo que a atividade óssea celular foi predominantemente osteoblástica. Mas a presença de linhas reversas e muitos osteoclastos ao redor dos processos ósseos parecia revelar uma natureza remodeladora. O osso lamelar maduro na tábua óssea oral mostrou uma ativa formação óssea do lado periosteal e absorção leve no lado endosteal. O inverso foi observado na tábua nasal, atividade osteoblástica do lado endosteal, e atividade osteoclástica do lado periosteal. Esses achados indicam um alargamento da cavidade nasal concomitante com o abaixamento do palato. O fato é que a sutura foi aberta traumáticamente, sendo evidenciada pela presença de hemorragia e fratura óssea. As fibras de tecido conjuntivo na sutura encontravam-se estiradas, a atividade celular era predominantemente osteoblástica e uma considerável quantidade de novas espículas ósseas foram depositadas ao longo dos feixes das fibras estiradas. A sutura palatina mediana foi aberta em maior grau no lado da cavidade bucal do que no lado nasal. Nos animais submetidos à contenção, a sutura encontrava-se com uma morfologia similar à dos animais controle, embora as placas ósseas fossem constituídas de um novo osso imaturo. A atividade celular na sutura foi principalmente osteoblástica, enquanto que, no lado endosteal da placa óssea sutural, uma absorção óssea muito ativa também foi observada. O tecido conjuntivo sutural pareceu ter alcançado sua largura original.

Com o objetivo de avaliar os efeitos das forças ortopédicas sobre o complexo crânio-facial, pelo uso de diferentes aparelhos expansores fixos (Hyrax, quadri-hélice e Haas) e um removível, Chaconas e Caputo (1982) verificaram que as forças produzidas pelos aparelhos

fixos durante as primeiras ativações estavam concentradas, inicialmente, na região anterior do palato, no processo alveolar entre os incisivos centrais, e, irradiadas em direção ao forame incisivo. Com as sucessivas ativações, estas forças distribuíram-se posteriormente ao longo da sutura inter-maxilar em direção à junção dos ossos palatinos. Os aparelhos disjuntores transmitiram forças da área de sutura palatina mediana ao longo da lâmina perpendicular aos ossos palatinos e lâmina pterigóide do osso esfenóide. Dessas regiões anteriormente mencionadas, as forças foram distribuídas em direção ao osso zigomático, especialmente nas regiões das suturas zigomaticomaxilar e zigomaticotemporal, que sofreram modificações devido ao procedimento de expansão. Logo após, as forças foram irradiadas súpero-medialmente em direção às paredes médias das órbitas e, finalmente, concentradas na junção dos ossos nasais e lacrimal.

Brossman, Bennett e Merow (1973) empregaram quatro macacos *Cynomolgus*, com o propósito de avaliar as mudanças ósseas produzidas pela expansão palatal rápida e observá-las através da fluorescência da tetraciclina sob luz ultravioleta. Os autores constataram que, além da separação da sutura palatina mediana, e da nova formação óssea nesta área, uma remodelação óssea no esqueleto facial de todos os animais experimentais tomou lugar na cavidade nasal, no processo alveolar, na superfície inferior do palato, no assoalho, nas paredes laterais e médias das órbitas. Outras mudanças foram também observadas nas suturas frontoetmoidal, frontonasal, assim como um deslocamento da sutura frontozigomática. Os autores verificaram que o procedimento de disjunção rápida não se limita estritamente às estruturas maxilares, já que as forças aplicadas às estruturas rígidas dos ossos maxilares são também transmitidas aos ossos circunvizinhos. Da mesma forma Thompson (1974), com o propósito de avaliar os efeitos produzidos pela disjunção palatal rápida nas suturas zigomaticomaxilar, zigomaticotemporal, zigomaticofrontal, frontomaxilar e sincondrose esfeno-occipital, utilizou macacos *Macaca mulatta* em fase de dentição mista. O autor observou que, no grupo submetido à expansão, houve uma predominante atividade osteoblástica dos processos ósseos das suturas e o tecido conjuntivo encontrava-se organizado. No grupo submetido à expansão, a sincondrose foi alargada mais superior que inferiormente. Tal fato também foi comprovado por Timms (1980), que verificou um aumento da distância entre os ganchos pterigóide do osso esfenóide.

Gardner e Kronmam (1971) realizaram um estudo experimental em seis macacos Rhesus, dos quais três serviram como controle e três foram submetidos à expansão palatal. Após completada à expansão, os animais receberam injeções de oxitetraciclina, para que se observasse, através do padrão de fluorescência da mesma, onde a formação óssea estava

ocorrendo. Nos casos em que não acontecesse retenção de oxitetraciclina, haveria indício de ausência de crescimento, ou presença de fratura. Todas as suturas do palato, da pré-maxila e maxila mostraram áreas de ausência de impregnação, indicando fratura óssea, diretamente envolvida com o procedimento. Além disso, as suturas lambdóide, parietal e médio-sagital do crânio mostraram severa desorientação. A sincondrose esfeno-occipital foi expandida em todos os animais experimentais. Isto mostrou que existe uma correlação entre as mudanças obtidas e o fato do maxilar superior ser inclinado e movido para frente durante o procedimento de expansão. A região infratemporal, a grande asa do esfenóide, arco zigomático, lâminas pterigóides e processo hamular também mostraram um incremento na retenção de oxitetraciclina. As mudanças observadas nos ossos do crânio foram o resultado direto da ERM. A fluorescência da oxitetraciclina mostrou claramente crescimento ou remodelação óssea nas áreas próximas da sutura palatina mediana.

Com esses trabalhos apresentados na literatura uma das preocupações dentro da Ortodontia em relação a ERM começou a se voltar às recidivas, pois as mesmas dependiam da quantidade de osso maduro dentro da sutura. Dessa forma vários trabalhos relacionados a formação óssea na sutura palatina mediana foram realizados. Assim, Debbane (1958) observou mudanças na sutura palatina e nas outras suturas da face mediana sob a influência de forças ortodônticas. Exames histológicos das suturas dos animais controle revelaram que estas são similares em estrutura à sutura palatina mediana, maxilar e pré-maxilar, onde se encontram unidas por tecido conjuntivo frouxo, com feixes de fibras do tecido conjuntivo de união que se estendem em ângulos retos de feixe principal para se unirem nas margens ósseas. Poucos vasos capilares e linfáticos foram vistos nesta região, não havendo evidência de inter-digitações das margens ósseas, quando estas se encontram em aparente repouso de atividade celular. O estudo revelou que os animais submetidos a uma força de expansão contínua e intermitente apresentaram uma abertura da sutura palatina mediana e subsequente deposição de osso novo não simétrica, em ambos os lados da sutura em toda a sua extensão. Foi constatada uma ativa reprodução celular, como também uma injúria traumática, caracterizada pela dilatação de vasos sanguíneos e desorganização das fibras do tecido conjuntivo.

Melsen (1972) realizou biópsias da área da sutura palatina mediana, por 3, 4, 5, 6 e 52 semanas em oito crianças, de idade entre 8 e 13 anos, submetidas à expansão rápida da sutura palatina mediana, de aproximadamente 7mm, num período de uma semana. Constatou que, após à expansão, existe um aumento na atividade celular da sutura palatina mediana nos indivíduos mais jovens quando comparada com a sutura de indivíduos não tratados. Os resultados obtidos na análise da sutura consistiram de um tecido conjuntivo desorganizado,

exibindo hiperemia e inflamação. Marcada atividade celular osteoblástica estava presente, em particular ao redor dos fragmentos ósseos. As fibras colágenas encontravam-se distendidas de uma borda a outra da sutura. Os achados histológicos nas duas crianças mais velhas do grupo (12 e 13 anos) foram caracterizados por numerosas zonas de absorção nas superfícies ósseas e ossificação ativa ao redor dos processos ósseos e fragmentos de osso fraturados na sutura, atribuídos às numerosas interdigitações dos processos ósseos que impediam a separação da sutura, criando uma linha de fratura na parte central da mesma. A análise histológica após completada a cicatrização da sutura palatina mediana, mostrou que, se essa expansão é exercida numa idade em que a morfologia sutural permite uma fratura, a cicatrização é causada pela formação de uma ponte óssea entre as duas metades dos ossos maxilares, e o crescimento da sutura, nesta área, pode não ocorrer. Na última biópsia realizada um ano após, à expansão, em uma menina de 14 anos, observou-se que a sutura palatina mediana se encontrava muito estreita e em certas áreas era difícil distinguir a anatomia da sutura. A aparência histológica foi caracterizada por uma superfície óssea estável, com pouca atividade osteoblástica, se comparada com a sutura de um indivíduo não tratado e da mesma idade. A sutura seguia um curso mais uniforme e a área de tecido conjuntivo fibroso encontrava-se estreita. A formação de uma ponte óssea entre as duas metades dos ossos maxilares na parte oral também foi observada, fenômeno que não foi constatado em suturas não tratadas.

Bell (1982), numa análise histológica dos tecidos suturais durante à expansão rápida, registrou que foram encontrados fragmentos ósseos livres flutuando e numerosas microfraturas, com formação de sequestrados ósseos, alta vascularização, tecido conjuntivo desorganizado de natureza inflamatória e rápida ossificação com tecido ósseo imaturo. Entretanto, os elementos de cicatrização do tecido conjuntivo, próprio da sutura, são a única resposta proliferativa que comanda a regeneração da sutura. A estabilidade do complexo maxilar não é alcançada até que as forças residuais que tendem a colapsar os segmentos expandidos sejam dissipadas. Um período de contenção de 3 a 6 meses é normalmente recomendado pelo autor para uma reorganização total e estabilização da expansão rápida da sutura. Foi observado que, nos períodos de crescimento, existe uma alta atividade celular, com maior potencial de reparação e formação óssea no espaço intersutural. Em conjunto, o aumento da resposta dos maxilares ao procedimento de expansão, o tratamento precoce, aparenta ser menos complexo e requer um emprego de forças menores para à expansão.

Silva Filho e Capelozza Filho (1988) descreveram que a aplicação clínica da disjunção rápida palatina proporciona dois efeitos biológicos: o primeiro é ortodôntico, definido pela compressão do ligamento periodontal, inclinação periodontal, inclinação vestibular do

processo alveolar e dos dentes posteriores, responsáveis pela alteração no longo eixo dos dentes superiores; o segundo efeito é ortopédico, observado pela nítida separação dos processos maxilares e deslocamento para baixo e para frente da maxila. A recidiva, na disjunção rápida da maxila, é uma constante não só para o efeito ortodôntico, mas também o ortopédico, podendo totalizar de um terço a metade da disjunção conseguida, enfatizando a necessidade de sobrecorreção quando é realizado esse procedimento.

Wertz e Dreskin (1977) também afirmaram que a expansão do esqueleto facial em pacientes jovens não mostrou recidivas, enquanto, os pacientes mais idosos, em seus estudos, perderam muito do aumento da largura, conseguido com a expansão. Desta forma Ekström, Henrikson e Jensen (1977) destacaram que alguma sobre-correção dentária, no procedimento de expansão maxilar, é recomendável, devido a uma ligeira contração maxilar no período de contenção. Hicks (1977) constatou que os segmentos maxilares deslocados pela expansão maxilar requerem um período de contenção fixa prolongado, a fim de atingir um reajustamento sutural e dissipação das forças residuais acumuladas nas articulações da maxila.

Vardimon et al. (1998) observaram o padrão de mineralização da sutura palatina mediana após a disjunção rápida da maxila. A amostra foi composta por dez gatos experimentais e dois controles, com enfoque na tendência de recidiva. O experimento constituiu de três etapas: ativa (25 dias); contenção (60 dias) e de recidiva (60 dias). As radiografias oclusais padronizadas foram tomadas periodicamente e analisadas quanto à largura da sutura, densidade ótica da sutura nas regiões anterior e posterior, e mensurações da área da sutura nas zonas radiolúcidas e radiopacas. Nove gatos apresentaram abertura da sutura. Durante a fase ativa, a zona radiolúcida (tecido não mineralizado) aumentou 12 vezes e o aumento na densidade ótica foi 50% maior na região anterior da sutura do que da posterior, demonstrando maior formação de tecido conjuntivo frouxo na região anterior. Durante o período de contenção, a zona radiopaca da sutura (tecido mineralizado) aumentou 62%, a zona radiolúcida sofreu diminuição (64%) e a largura da sutura diminuiu (65%), indicando uma reorganização do tecido mineralizado. O decréscimo na densidade óssea (mineralização aumentada) foi 2.5 vezes maior na região posterior da sutura do que na anterior, indicando que o padrão de remineralização (fechamento) da sutura expandida é semelhante a um "zíper fechado" com uma direção pósterio-anterior. Durante a recidiva, a redução na área total da sutura (41%) e na zona radiopaca (32%) indicaram uma convergência medial do processo horizontal maxilar. Concluíram que a contenção da região anterior da sutura deve ser mais longa do que da posterior para compensar a reconstrução e maturação tardia do tecido duro recentemente depositado.

Com o objetivo de avaliar o grau de mineralização da sutura palatina mediana após expansão, Ekström, Henrikson e Jensen (1977) constataram que a mesma permaneceu estável após três meses de contenção com o uso de um aparelho fixo. Nessa experiência, a maior parte no incremento do conteúdo mineral foi registrada após um mês de contenção. O subsequente incremento prosseguiu lentamente, mas as medições indicaram que a mesma quantidade de mineralização em todas as áreas da sutura foi observada três meses após completada a abertura da mesma. Estes resultados sugerem que, após três meses de contenção, o processo de mineralização na sutura expandida começa a estabilizar-se. Da mesma forma, Simões (2001) realizou um estudo com o propósito de avaliar a maturação óssea na região da sutura palatina mediana, após ERM, por meio da variação de densidade ótica, comparando os valores pré-expansão com aqueles encontrados na fase de contenção. Os achados mostraram que os valores médios da densidade ótica, logo após a expansão, apresentaram-se menores, quando comparados aos valores medidos nas radiografias pré-expansão, e que a partir do primeiro mês de contenção esta densidade tendeu a aumentar com o decorrer do tempo.

Simões et al. (2003) com o objetivo de verificar o grau de densidade ótica na região de neoformação óssea durante os meses de contenção, por meio de imagem digitalizada, avaliaram radiografias oclusais de indivíduos submetidos à disjunção rápida da maxila. Foram marcados 3 pontos na sutura palatina. O ponto A localizado na crista alveolar dos incisivos superiores; o ponto B, 10mm posterior ao ponto A; o ponto C, à direita do ponto B. Concluiu-se que houve maior recuperação da região A com 55,96%, enquanto que na região B foi de 40,74% e na região C de 49,77%. Foi observado que a maturação óssea na região anterior ocorre precocemente em relação à região posterior, mesmo com vários estudos e com uma grande variedade de aparelhos para contenção, essa ainda é uma fase do tratamento que requer criteriosa avaliação, principalmente quanto à determinação do tempo de acompanhamento pós-tratamento ativo. É indispensável uma avaliação criteriosa durante os meses de contenção, e, talvez, seja necessário aguardar um período maior antes da remoção do disjuntor para a colocação de uma contenção removível.

Rizzatto et al. (2004) avaliaram por meio de imagens obtidas em tomógrafo computadorizado helicoidal, as alterações transversais ocorridas durante a disjunção rápida da maxila com o uso do disjuntor tipo HAAS modificado. Compararam estes achados com aqueles obtidos pelos métodos convencionais de tomadas radiográficas. Após a disjunção foram realizadas tomadas radiográficas e tomografia computadorizada. Os autores constataram que as análises das imagens tomográficas apresentavam uma riqueza de detalhes anatômicos muito maior quando comparadas às tomadas radiografias convencionais.

1.3 Tecido ósseo

O tecido ósseo é um dos tecidos mais resistentes e rígidos do corpo humano, especializado em suportar pressões. Constituinte principal do esqueleto serve de suporte para as partes moles e protege órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano. Aloja e protege a medula óssea formadora de células do sangue. Além dessas funções, proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis, e constitui um sistema de alavanca que amplia as forças geradas na contração muscular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). Ao lado do excelente comportamento mecânico, o osso exibe um excelente potencial para regeneração (SCHENK, 1996; GARANT, 2003).

Como outros tecidos conjuntivos de sustentação, o osso é composto de células e uma matriz extracelular que contém substância fundamental orgânica e fibras colágenas. Essa matriz orgânica constitui 33% do tecido ósseo, dos quais 28% são colágeno e os 5% restantes são proteínas não colágenas (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1997), incluindo osteonectina, osteocalcina, proteína morfogênica do osso (BMP), glicoproteína, proteoglicana óssea e sialoproteína óssea que se dispõem formando os ossos, estruturas rígidas e resistentes, que formam o esqueleto (TERMINE, 1989; LIAN; STEIN, 1992; INGRAM et al., 1993; GARANT, 2003).

O colágeno do osso representa cerca de metade do colágeno total do corpo humano e está representado quase que exclusivamente na forma de fibras colágenas do tipo I. Tanto o colágeno quanto os demais constituintes da matriz orgânica são sintetizados pelo retículo endoplasmático dos osteoblastos. Após a fase de maturação, sais amorfos de fosfato de cálcio começam a precipitar na área do colágeno. Tais focos de mineralização expandem-se e se unem em cristais de hidroxiapatita para a futura remodelação. O componente mineral do osso é constituído basicamente por cálcio e fosfato, na forma de cristais de hidroxiapatita o que confere ao osso rigidez e forças consideráveis (FISHER et al., 1989; BURKITT; YOUNG; HEATH, 1997; GARANT, 2003). Portanto, a substância inorgânica da matriz óssea é composta por cristais de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Seu tamanho é de 25 a 50Å de largura e 100Å de comprimento, possuindo uma superfície de contato muito grande, favorecendo as trocas iônicas. Estes cristais mantêm relação direta com o colágeno e

colocam-se paralelamente ao seu eixo longitudinal, devido às forças ou ainda por ligações físicas diretas (MODOLIN; SOUZA, 1993). A associação de hidroxiapatita com as fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência característica do tecido ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; WILLIAMS et al., 1995).

O fato da matriz extracelular ser mineralizada confere a esse tecido as propriedades ideais para a realização das funções de suporte e proteção do organismo vertebrado. Além dessa propriedade mecânica, o osso também apresenta uma função metabólica no equilíbrio da homeostasia mineral (FAWCETT, 1993). A quantidade de tecido ósseo presente durante o crescimento fisiológico e a remodelação do esqueleto é determinada pelo equilíbrio entre a taxa de formação e a reabsorção óssea. O osso tem sido considerado o maior achado na evolução dos tecidos de suporte. O primeiro e decisivo passo nessa evolução foi à elaboração das fibras colágenas nos tecidos conjuntivos (LERNER, 2000). Elas oferecem uma excelente força de tensão, mas não podem manter uma força específica. Entrelaçados no interior da rede de colágeno, a capacidade de expansão osmótica ou eletrostática dos proteoglicanos fornece uma matriz extracelular com elasticidade para suportar forças de compressão e cisalhamento. O último passo, entretanto, para a confecção de um material sólido, é a mineralização. No osso, a formação de ligações intercelulares, via processos citoplasmáticos, permite o transporte de metabólitos desde as células basais presentes na superfície até os osteócitos mais internos, favorecendo o aumento da densidade mineral. Por fim, a associação direta entre os cristais de apatita e as fibrilas de colágeno promove melhoria das propriedades mecânicas (SCHENK, 1996; GARANT, 2003).

O termo "formação óssea" é algumas vezes, empregado para descrever a diferenciação dos osteoblastos durante o desenvolvimento embriogênico, mas o termo, mais precisamente, refere-se com exclusividade à função osteoblástica; em outras palavras, a síntese e a deposição de matriz óssea extracelular. Porém, as funções dos osteoblastos e dos osteoclastos estão intimamente relacionadas. Durante o desenvolvimento do esqueleto e durante toda a vida, células da linhagem dos osteoblastos sintetizam e secretam moléculas que, em troca, controlam a diferenciação dos osteoclastos. Esta é uma interação direta e que já foi bem estabelecida *in vivo*. Uma vez que os osteoblastos e osteoclastos estejam bem diferenciados, há uma menor relação direta entre ambos. O osso é constantemente reabsorvido pelos osteoclastos e posteriormente repostos pelos osteoblastos em um processo fisiológico denominado remodelação óssea, a qual é fortemente regulada por fatores locais (autócrino e/ou parácrino) e endócrinos (DUCY; SCHINKE; KARSENTY, 2000).

Em relação a sua estrutura, o tecido ósseo apresenta tipos distintos. Na visão macroscópica, tem-se o tecido ósseo compacto ou cortical, que está localizado na região mais periférica dos ossos, e o tecido esponjoso ou trabecular, com rede de trabéculas e espaços inter-comunicantes e que abriga a medula óssea (LEMOS et al., 1994). Na visão microscópica, tem-se o tecido ósseo primário que é imaturo, fibroso ou trançado; o tecido ósseo secundário que é maduro, haversiano ou lamelar e que mostra fibras colágenas em lamelas paralelas ou concêntricas em torno dos canais de Havers, formando osso compacto ou esponjoso e o tecido ósseo osteóide, que se caracteriza por matriz não mineralizada, com fibras colágenas especializadas (LEMOS et al., 1994; ROSENBERG, 1994; GARANT, 2003).

As superfícies ósseas são revestidas interna e externamente, pelo endóstio e perióstio, respectivamente, e que têm como funções nutrir o tecido ósseo, e servir como fonte de osteoblastos para o crescimento e reparação dos ossos (ARAÚJO; ARAÚJO, 1984; SCHENK, 1996; ROSENBERG, 1997; GARANT, 2003). A camada mais superficial do perióstio contém, sobretudo, fibras colágenas e fibroblastos. As fibras de Sharpey são feixes de fibras colágenas do perióstio que penetram no tecido ósseo e prendem firmemente o perióstio ao osso. Na sua porção mais profunda, o perióstio é mais celular e apresenta células osteoprogenitoras, morfológicamente parecidas com os fibroblastos. As células osteoprogenitoras multiplicam-se por mitose e se diferenciam em osteoblastos, desempenhando papel importante no crescimento dos ossos e na reparação das fraturas. O endóstio é, em geral, constituído por uma camada de células osteogênicas achatadas revestindo as cavidades do osso esponjoso, o canal medular, os canais de Havers e os de Volkmann. As principais funções do endóstio e do perióstio são a nutrição do tecido ósseo e o fornecimento de novos osteoblastos, para o crescimento e a recuperação do tecido ósseo (BURKITT; YOUNG; HEALTH, 1997; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; TEN CATE, 2001; GARANT, 2003).

O osso é formado pelos osteoblastos (SCHENK, 1996) que derivam-se de células mesenquimais primitivas, chamadas células osteoprogenitoras e que ocupam todos os locais ativos da formação óssea. Tem como funções a síntese e secreção da parte orgânica da matriz óssea (osteóide) e a participação do início do processo de mineralização dessa matriz. São encontradas alinhadas ao longo das superfícies ósseas (ROSENBERG, 1994; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; YOUNG; HEATH, 2000). Os osteócitos também apresentam a mesma origem que os osteoblastos (ROSENBERG, 1994; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; YOUNG; HEATH, 2000; TEN CATE, 2001), sendo encontrados dentro das

lacunas ósseas. São simples osteoblastos inativos, incorporados dentro da matriz óssea, recentemente, depositada por eles, quando ainda eram osteoblastos. São essenciais para a manutenção da matriz óssea auxiliando na nutrição da mesma e contribuindo para a homeostase do cálcio sanguíneo. Os osteoclastos são células móveis, fagocitárias, multinucleadas e encontradas ao longo da superfície endóstea cortical e nas lacunas de Howship (áreas de depressão). Ao contrário dos osteoblastos, se originam das células do sistema macrófago-monócitos (sistema hematopoiético) (ROBEY et al., 1993; BURKITT; YOUNG; HEATH, 1997; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; YOUNG; HEATH, 2000; LERNER, 2000). Apresentam como função, a reabsorção ativa do osso mineralizado. Participam juntamente com os osteoblastos do processo de remodelação constante do osso. Quando em atividade, os osteoclastos repousam sobre a superfície do osso e, através de erosão pela ação enzimática formam uma depressão pouco profunda conhecida como Lacuna de Howship ou lacuna de reabsorção (WILLIAMS et al., 1995; BURKITT; YOUNG; HEATH, 1997; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; KATCHBURIAN; ARANA, 1999; TEN CATE, 2001).

Além dos componentes já descritos, o tecido ósseo também possui determinados polipeptídeos com ação semelhante aos hormônios e as citocinas, que são os Fatores de Crescimento (GF). Eles regulam a função local das células ósseas, estimulando diversos eventos celulares, como a quimiotaxia, proliferação, diferenciação e produção de proteínas da matriz extracelular. Diversos GF estão armazenados no próprio tecido ósseo e atuam por meio de união com receptores específicos presentes nas superfícies celulares. Os principais GF encontrados no tecido ósseo são: fatores de crescimento de fibroblastos (FGF), fatores de crescimento de semelhantes a insulina (IGF), fatores de crescimento de transformação beta (TGF- β), fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF) e BMPs (MARCANTONIO JÚNIOR; MARCANTONIO; CIRELLI, 1999; GARANT, 2003).

O potencial osteogênico das células mesenquimais depende de fatores genéticos e de numerosos fatores indutores, humorais e locais. Seja qual for o fator que induz a ativação das células mesenquimais, estas proliferam e se agrupam na presença de uma intensa rede capilar, constituindo as chamadas "membranas ósseas". Dessa maneira, elas se transformam em células osteogênicas ou pré-osteoblastos. Uma vez diferenciados, os osteoblastos passam a sintetizar e secretar as moléculas da matriz orgânica do futuro osso, principalmente colágeno, e também a funcionar como transmissores de sinais para a remodelação óssea. Estas células possuem fatores para receptores de hormônios como os da paratireóide, estrógenos, insulina dentre outros. Vários fatores locais como prostaglandinas, citocinas e interleucinas também

agem em relação à proliferação, diferenciação e atividade dos osteoblastos através de fatores reguladores, tais como Interleucina-6 e GF descritos anteriormente, como TGF- β TGF- β 1 (KATCHBURIAM; ARANA-CHAVEZ, 1999; GARANT, 2003).

1.3.1 Bases biológicas do reparo ósseo

Apesar do aspecto aparentemente inerte, os ossos crescem, são remodelados e se mantêm ativos durante toda a vida do organismo. Ao lado de seu excelente comportamento mecânico, o osso exibe um potencial inigualável para a regeneração. O osso é capaz de reparar fraturas ou defeitos locais com tecido regenerado ou regenerar, com uma organização estrutural altamente semelhante, sem deixar cicatriz, como nos casos onde forças ortodônticas e/ ou ortopédicas são aplicadas ao tecido ósseo (SCHENK, 1996; KATCHBURIAN; ARANA-CHAVEZ, 1999; TEN CATE, 2001). O mecanismo desse padrão reparador é muitas vezes considerado uma recapitulação da osteogênese embriológica e do crescimento. Em condições instáveis, predomina a cicatrização indireta ou secundária, via formação intermediária de fibrocartilagem por ossificação endocondral. Em condições estáveis, o osso é formado direto ou primariamente, desde que duas condições fundamentais sejam preenchidas: amplo suprimento sanguíneo e uma base sólida para deposição óssea. A reparação óssea pode se dar de duas formas: através da regeneração, onde há a substituição de células lesadas por outras da mesma morfologia e função (SEAL; OTERO; PANITCH, 2001), e da cicatrização; na qual há a substituição por tecido colágeno pelo tecido cicatricial (ROSSI, 1994). Normalmente frente a aplicação de forças ortodônticas e/ ou ortopédicas encontra-se o reparo ósseo direto, devolvendo a forma e a função normal que o tecido apresentava.

Qualquer lesão óssea (fratura, defeito, forças ortodônticas e ortopédicas, fixação de implantes etc), ativa a regeneração óssea local pela liberação de fatores de crescimento e indutores ósseos. O osso é de fato, uma das fontes mais ricas em GF tecidual. Entre os GF detectados no osso, alguns são produzidos por células ósseas (IGF, TGF- β , FGF, PDGF), enquanto outros são sintetizados por tecidos ósseos relacionados (IL-1, Fator de necrose tumoral alfa (TNF α)) (GIORDANO; GIORDANO; KNACKFUSS, 2000; GARANT, 2003). Além disso, alguns fatores de indução óssea são de maior interesse, assim como a osteogenina e a BMP (URIST, 1965; GARANT, 2003; PINHEIRO et al., 2008), que agora foi fracionada, em pelo menos, doze proteínas diferentes chamadas de família BMPs (WOZNEY, 1998). A

diferença entre as BMPs e outros GF como o IGFs, TGF- β e FGFs, é que as primeiras atuam nas células precursoras da região medular e tecidos moles adjacentes ao defeito ósseo. Essas células formarão um infiltrado no defeito ósseo e se diferenciarão em cartilagem ou osso. Já as demais proteínas ou GF atuam nas células já diferenciadas responsáveis pela formação óssea, induzindo a divisão celular ou aumento da secreção de matriz extracelular (SIGURDSON et al., 1995). A ocorrência de uma fratura óssea ou de uma deformação no osso como no caso de aplicação de forças ortodônticas provoca solubilização e liberação dessas proteínas. Uma vez ativadas, elas ligam-se a receptores específicos da membrana celular de osteoblastos e outras células envolvidas no reparo ósseo, estimulando a expressão de genes responsáveis pelo desencadeamento e perpetuação do processo de neoformação óssea (GIORDANO; GIORDANO; KNACKFUSS, 2000; SPECTOR et al., 2001). Portanto, a remodelação óssea depende diretamente da resposta celular local ao estímulo gerado pelos GF do tecido ósseo (WLODARSKI, 1990; GIORDANO; GIORDANO; KNACKFUSS, 2000).

O processo de formação óssea pode ser descrito nas seguintes fases (MODOLIN; SOUZA, 1993; LEMOS et al., 1994; ROBBINS; ANGEL; KUMAR, 1996; BURKITT; YOUNG; HEATH, 1997):

- Formação do hematoma (fase inflamatória ou de granulação): A fase inflamatória é caracterizada pela formação de um coágulo sangüíneo que envolve as superfícies ósseas no local da lesão, estendendo-se pelo periósteo e cavidades medulares próximas, acompanhados de edema mais ou menos intenso. Essa hemorragia local ocorre pela lesão dos vasos sangüíneos do osso e do periósteo. Essa, juntamente com o coágulo são essenciais para a reparação óssea. O coágulo constitui o modelo que irá guiar a formação do tecido conjuntivo do calo provisório. Instala-se, assim, um processo inflamatório agudo com grande mobilização de neutrófilos e macrófagos, provocado pela liberação de substâncias quimiotáticas (histamina e serotonina, por exemplo) iniciando o processo de fagocitose celular no local lesionado. Esta fagocitose tem como objetivo iniciar a remoção do coágulo das regiões necrosadas, bem como dos osteócitos mortos que surgem nas superfícies ósseas da região lesionada. As plaquetas ativadas liberam uma variedade de produtos, incluindo fibronectina, PDGF e TNF, os quais estimulam o influxo de células inflamatórias. A cascata de citocinas subseqüentes, ativa as células (fibroblastos, células endoteliais e osteoblastos) para a região da lesão e/ ou fratura.

- Formação do calo fibroso (fase proliferativa): Imediatamente, inicia-se a fase reparadora com o aparecimento de um grande número de fibroblastos produtores de colágeno e responsáveis pela formação de um calo fibroso, no qual as fibras colágenas envolvem a

região lesionada. Esta fase é caracterizada pela formação de tecidos conjuntivos, incluindo cartilagem, e formação de novos capilares (angiogênese).

- Formação do calo rígido (fase de maturação): À medida que a ação dos macrófagos prossegue, reabsorvendo o coágulo e o tecido ósseo necrosado, surge gradativamente uma nova rede capilar, oriunda das células endoteliais remanescentes dos vasos rompidos e das células mesenquimais indiferenciadas, que invadem a região do coágulo juntamente com fibroblastos e osteoblastos, para formar rapidamente um tecido ósseo no local, por meio de um processo de ossificação intrambranosa, resultando em um osso imaturo. A diferenciação dos fibroblastos e osteoblastos, necessários ao processo de regeneração óssea, tem como principal fonte a camada celular do periósteo e endósteo. Os osteoblastos podem formar osso novo rapidamente, mas este é organizado ao acaso, além de mecanicamente não resistente. O calo ósseo tem uma textura própria, sendo mais celular e menos mineralizado, indicando a rapidez do processo de ossificação e justificando a denominação de osso imaturo.

- Fase remodeladora: Nesta fase o calo ósseo passa por uma série de processos de reabsorção e neoformação até que a região lesionada retorne a textura que possuía antes da lesão. O osso neoformado é remodelado em osso lamelar mais resistente pela ação organizada dos osteoclastos na reabsorção óssea e pela formação óssea pelos osteoblastos, até que a estrutura que o osso apresentava antes da fratura seja totalmente refeita. As células responsáveis por esta adaptação são os osteoclastos que destroem o osso mineral e produzem as colagenases que removem a matriz. As atividades osteoblásticas e osteoclásticas removem os excessos de material do calo ósseo, restabelecendo as cavidades ósseas que existiam e reconstróem os sistemas de Havers e o trabeculado de osso esponjoso na mesma disposição anterior à lesão.

Com a volta gradual do osso às suas atividades, as trações normais a que estava sujeito voltam a atuar e vão determinar a remodelação do tecido ósseo. Como essas forças são as mesmas que atuaram durante o crescimento do osso, condicionando sua estrutura, a remodelação do tecido ósseo, irá reconstituir a estrutura que o osso possuía antes da fratura ou da aplicação de forças sobre ele (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

Porém, para que uma resposta tecidual favorável ocorra, algumas condições são essenciais, dentre elas inclui-se a presença de células adequadas, nutrição e estímulo apropriado para a reparação óssea.

Os exatos mecanismos implicados *In vivo* na gênese do tecido ósseo são controversos, envolvendo uma complexa interação de fatores reguladores locais e sistêmicos. A ação destes mediadores promove um equilíbrio contínuo entre formação (osteoblastos) e reabsorção

(osteoclastos) óssea. A aplicação de uma força ortodôntica e/ ou ortopédica sobre o osso representa uma quebra desta relação, desencadeando uma série de eventos intra e extracelulares que culminam com o reparo do tecido lesado (GIORDANO et al., 2003).

A aplicação de uma força ortodôntica e/ ou ortopédica ao tecido ósseo provoca solubilização e liberação dos GF teciduais e das proteínas. Uma vez ativadas, ligam-se a receptores específicos da membrana celular de osteoblastos e em outras células envolvidas no reparo ósseo, estimulando a expressão de genes responsáveis pelo desencadeamento e perpetuação do processo de neoformação óssea que em termos de interação célula-célula, manifestam-se de duas formas distintas de atuação. Estimulam localmente a proliferação e diferenciação celular e, a síntese de nova matriz protéica (efeito parácrino); além disso, possuem um mecanismo de auto-regulação sobre os osteoblastos, induzindo contínua expressão dos GF do tecido ósseo (efeito autócrino). Durante as fases do processo de remodelação óssea, os genes apresentam variações espaciais e temporais em sua secreção e expressão, diretamente relacionadas com a população celular presente.

1.4 Laser: Conceitos gerais

1.4.1 Histórico

O princípio da emissão estimulada foi proposto inicialmente sob forma teórica, em 1917, por Einstein em seus estudos na área da física quântica quando foram delineados os princípios que tornariam possível o desenvolvimento da tecnologia do laser. Nesta época, ficaram estabelecidos os princípios da emissão estimulada de fótons a partir do "bombeamento" de um meio ativo, elevando o átomo a um nível superior de energia. A emissão de energia ocorre quando o átomo retorna do seu estado orbital de excitação para um nível inferior, liberando o excesso de energia na forma de um fóton (Figura 4, página 50) (RENSON, 1989; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007). Se um fóton ou partícula energética de luz é direcionado em um átomo, ele pode ser absorvido, refletido ou transmitido. Se a partícula é refletida ou transmitida não há mudança na energia luminosa (MICHOLOVITZ, 1996). Quando um fóton de um determinado comprimento de onda (λ) entra no campo eletromagnético de um átomo excitado, esse fóton desencadeia a mudança do

elétron excitado para um nível de menor energia em direção ao núcleo do átomo. A liberação de energia armazenada se dá sob a forma de um segundo fóton e, assim sucessivamente, esses dois fótons desencadeiam a liberação de mais dois fótons, e os quatro desencadeiam oito e assim por diante, de modo que, num espaço pequeno, na velocidade da luz, essa cadeia de fótons produz a emissão de uma luz rápida, intensa, monocromática e coerente (MISERENDINO, PICK, 1995). É sob este princípio de emissão estimulada que a luz laser está apoiada (GENOVESE, 2007).



Figura 4 - Excitação dos átomos com liberação de um fóton.

Fonte: <http://ciencia.hsw.uol.com.br/laser3.htm>

Embora esta teoria seja conhecida há muitas décadas, a história da utilização dos lasers é relativamente recente. As bases para o seu desenvolvimento prático vieram do melhor conhecimento dos níveis de energia dos átomos e das moléculas, nos anos 30 e 40 do século passado, juntamente com os avanços no desenvolvimento de materiais ópticos, especialmente as fibras ópticas (PÖNTINEN, 1992). A primeira fonte a emitir luz laser foi descrita por Maiman em (1960), que, a partir da excitação de um cristal de rubi operando em 694,3nm, por intermédio de um *flash* fotográfico que produziu a emissão estimulada na faixa visível do espectro eletromagnético. Em 1961 foi fundado, na Universidade de Cincinnati por Goldman (1981) o primeiro laboratório de laser para aplicações médicas, onde as primeiras experiências em animais foram realizadas.

O laser de Hélio Neônio (He-Ne) surgiu logo após o lançamento do laser de rubi e consiste da mistura dos gases Hélio e Neônio como fonte de emissão da luz laser. Em 1962, Patel (1964) desenvolveu o primeiro laser com finalidade terapêutica, um laser de He-Ne com λ de 632,8 nm e em 1964 o laser de dióxido de carbono (CO₂) situado na área do infravermelho no espectro eletromagnético. As primeiras aplicações clínicas com o laser

operando em baixa potência foram feitas em 1966 por Mester, que apresentou os primeiros relatos de "Bioestimulação com Laser" em úlceras crônicas de membros inferiores usando lasers de rubi e de Argônio, tendo produzido um grande volume de trabalhos científicos, clínicos e experimentais, sendo o laser de He-Ne o tema central de suas pesquisas (WALSH, 1997a; 1997b).

Os lasers terapêuticos mais utilizados nas décadas de 70 e 80 do último século foram os de He-Ne composto de 90% por hélio e 10% por neônio com emissão na região visível. Nesta região do espectro eletromagnético a radiação laser apresenta pequena penetração nos tecidos biológicos ao comparar com laser GaAlAs o que limita sua utilização para lesões superficiais (GENOVESE, 2007). Para aplicação desse tipo de laser em lesões mais profundas, era necessária uma fibra óptica para guiar a radiação até o interior do corpo do paciente, limitando e contra indicando muitas vezes esse tipo de terapia, por ser uma técnica invasiva. Outra limitação dos lasers de He-Ne era sua grande dimensão e também o fato de seu meio ativo estar contido em ampolas de vidro que poderiam romper-se facilmente, além do gás Hélio permear rapidamente a parede da ampola, reduzindo drasticamente o tempo de vida destes aparelhos.

A partir do final da década de 1970 começaram a ser desenvolvidos diodos lasers semicondutores, dando origem ao primeiro diodo operando na região do infra-vermelho próximo ($\lambda=904 \text{ nm}$), constituído de um cristal de Arsenieto de Gálio (GaAs). As vantagens deste sobre o He-Ne é que, além da menor dimensão, apresenta maior penetração no tecido biológico. Outra vantagem é que este dispositivo pode operar de forma contínua ou pulsada, enquanto que o He-Ne só opera em modo contínuo. O efeito da foto-bioestimulação com laser pulsado foi tema de diferentes trabalhos, sendo que Morrone et al. (1998), demonstraram que para aplicações *in vivo* sobre a injúria na musculatura, a radiação contínua apresenta melhores resultados que a radiação pulsada.

Calderhead (1981) publicou pela primeira vez o relato da aplicação clínica de um diodo laser de GaAlAs, que comparava a atenuação da dor promovida por um diodo laser e o laser de Nd:YAG (Ytrio e Alumínio, dopado com Neodímio), operando em 1064 nm. A partir dos anos 90, diferentes dopantes foram introduzidos na tecnologia para obtenção de diodos lasers gerando uma larga faixa de comprimentos de onda. Com este dispositivo hoje se pode ter aparelhos pequenos, de fácil transporte e manuseio, com baixa frequência de manutenção além do baixo custo.

1.4.2 Fundamentos do laser

A palavra laser é um acrônimo com origem na língua inglesa: *light amplification by stimulated emission of radiation* (amplificação de luz por emissão estimulada de radiação) (FERNANDO; HILL; WALKER, 1993; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; KERT; ROSE, 1998; GENOVESE, 2007). Esta radiação é eletromagnética não ionizante sendo um tipo de fonte luminosa com características bastante distintas daquelas de uma luz fluorescente ou de uma lâmpada comum (GENOVESE, 2007).

A luz ou radiação eletromagnética de um laser representa um fluxo luminoso de alta intensidade de energia, que não existe na natureza e é produzida a partir de algum tipo de fonte de energia, que estimula um grande número de elétrons em repouso, os quais são capazes de produzir fótons de luz e este processo desencadeia uma ação repetida de emissão de energia, gerando uma luz intensa (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007).

O laser é um dispositivo que produz radiação eletromagnética no espectro da luz. Inicialmente, apenas uma pequena parte da radiação eletromagnética era conhecida, isto é, a parte visível. Newton e outros físicos foram os primeiros a demonstrar as características das ondas eletromagnéticas, quando propuseram que as ondas de luz podiam interferir umas com as outras. O passo seguinte foi mostrar que as várias cores correlacionavam-se com diferentes comprimentos de onda. A luz vermelha tem o maior comprimento de onda (λ), enquanto a violeta possui o menor. As outras cores (laranja, amarelo, verde e azul) estão entre estes extremos (Figura 5, página 53). A radiação com comprimento de onda maior que o vermelho foi denominada infravermelha. Esta radiação, entretanto, é completamente invisível, pois não tem energia de fóton suficiente para excitar as células visuais na retina do olho humano. Do mesmo modo, a radiação invisível com comprimento de onda menor que a luz violeta foi denominada de radiação ultravioleta (PÖNTINEN, 1992).

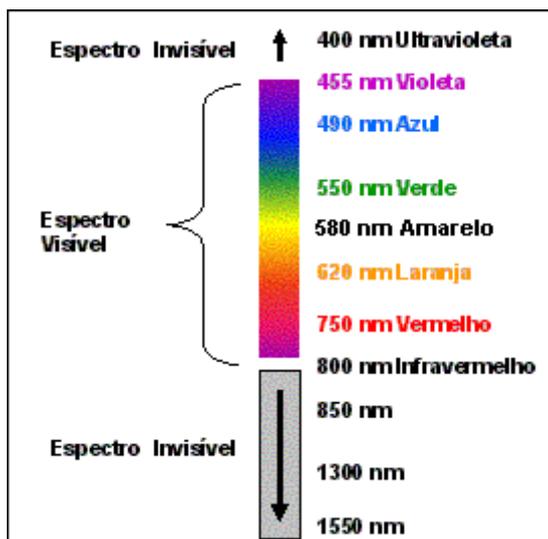


Figura 5 - Espectro eletromagnético.

Fonte: http://www.teleco.com.br/tutoriais/tutorialfoI/pagina_3.asp

O laser diodo é um "*chip*" semicondutor que funciona como um diodo elétrico, lembrando um sanduíche de materiais semicondutores diferentes, com comprimento de onda no espectro vermelho e infravermelho, os quais são determinados pelo tipo de material semicondutor utilizado (TOST et al., 1995; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007). O comprimento de onda varia de 500-1200nm para esses lasers diodos. Na maioria dos semicondutores a energia é liberada na forma de calor. Porém, em materiais como o Gálio, o Alumínio e o Arsenieto, a energia é liberada na forma de fótons (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; PINHEIRO et al., 1998; NICOLA; NICOLA, 2002; GENOVESE, 2007). Os lasers não-cirúrgicos mais utilizados atualmente são o Hélio-Neônio e os diodos de GaAs e GaAlAs (WALSH, 1992; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007). O laser Hélio-Neônio (He-Ne) possui luz vermelha, comprimento de onda de 486,8 a 632,8nm e potência de 1 a 50mW (WALSH, 1997a; 1997b; NICOLA; NICOLA, 2002; GENOVESE, 2007). O laser diodo não-cirúrgico tem empregado largas porções do espectro visível e invisível (infravermelho), com comprimento de onda de 700 a 980nm, de emissão de onda pulsátil ou contínua (PÖNTINEN, 1992; NICOLA; NICOLA, 2002; GENOVESE, 2007), com potência que variam até centenas de mW.

O raio laser é um raio de luz, portanto, caracteriza-se primeiramente por cor e intensidade. O que faz o laser ser diferente da luz comum são algumas características e propriedades importantes, tais quais:

- é uma fonte monocromática, ou seja, emite radiações em um único comprimento de onda, composta de uma única cor, portanto, uma luz pura que tem qualidade e brilho extraordinário e pode atingir alta intensidade (maior concentração) (Figura 6A, página 54).

- é uma radiação com coerência no tempo e no espaço, onde as ondas propagam-se com a mesma fase no espaço (mesma direção e sentido) e no mesmo tempo o que permite que seja focalizada em regiões diminutas, até o limite teórico do comprimento de onda. A coerência tem sua idéia ligada ao sincronismo ordenado das ondas em relação ao tempo (Figura 6A, página 54). Num mesmo instante uma determinada emissão possui várias ondas justapostas, onde suas amplitudes têm valores iguais. Esta característica mantém-se ao longo do tempo e do espaço.

- sua propriedade de direcionalidade ou colimação revela que a luz é unidirecional pois possui divergência angular muito pequena. Trata-se de um sistema de lentes que permite a obtenção de alta densidade de energia concentrada em um ponto focal (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; LOW; RED, 2001; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; GENOVESE, 2007). Paralelismo muito acentuado pode ser observado em comparação à luz normal, por exemplo, de uma lâmpada, que emite em todas as direções (não-colimada), enquanto a luz laser emite em uma única direção com baixa divergência dos raios. Essa característica faz com que o raio se propague no espaço sem perder sua dimensão (Figura 6B, página 54). Cada uma destas propriedades, em separado ou em conjunto, possibilita aplicações específicas e de excelentes resultados na área biológica (PÖNTINEN, 1992; PINHEIRO; FRAME, 1992; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; LOW; RED, 2001; GENOVESE, 2007).

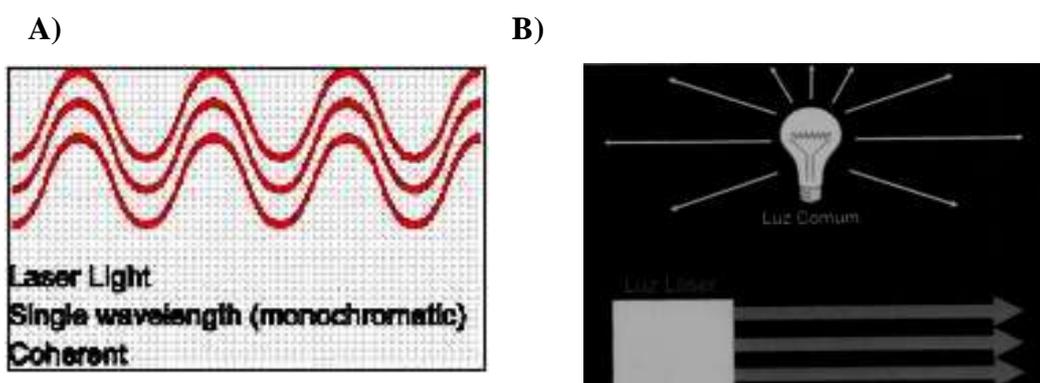


Figura 6 - A) Propriedades de monocromaticidade (cor única) e coerência (ondas na mesma fase) de uma radiação laser.

FONTE: www.electrotherapy.org/Images/laserlight.jpg

Figura 6 - B) Luz colimada (paralela) e não colimada.

FONTE: livro Genovese 2007

Entre essas características da radiação laser, em particular a coerência e a colimação, não parecem ser cruciais, uma vez que elas são rapidamente degradadas pela reflexão enquanto o raio passa pelo tecido. Suportando sua relativa falta de importância está o fato que tanto os lasers diodos quanto uma luz não-coerente podem alterar processos biológicos. Efeitos biológicos dos lasers operando em baixa potência dependem principalmente de sua monocromaticidade (KARU, 1987; BERKI et al., 1988; KUBOTA; OSHIRO, 1989; BIHARI; MESTER, 1989) e da fluência (YU; NAIM; LANZAFAME, 1994; BASFORD, 1995; KARU, et al., 1996), pois a absorção no tecido é específica em relação ao comprimento de onda (FRANKS, 1999; GENOVESE, 2007), ou seja, cada comprimento de onda terá um tipo diferente de interação específica segundo o tecido alvo, e da fase de crescimento celular em que as células receberam a irradiação (KARU; PYATIBRAT; KALENDO, 1995; KARU et al., 2008).

Quando os experimentos são feitos *in vitro*, por exemplo, em cultura de células, cujos cultivos apresentam-se em monocamadas, a luz laser incide e conserva sua polaridade e coerência. Neste caso, estes fatores podem ser determinantes nos resultados biológicos gerados. Sua radiação pode ser ainda polarizada e, um sistema laser pode operar em regime contínuo ou pulsado. A emissão contínua pode ser monitorada através da sua potência e em alguns equipamentos comerciais pode ser interrompida, de forma a alternar sua emissão entre os modos ligado e desligado (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998). Essas características especiais desse tipo de luz que a faz ter propriedades terapêuticas importantes (laser de baixa potência ou terapêutico), e também pode ser utilizada em cirurgias com vantagens muito superiores ao uso do bisturi convencional (laser de alta potência ou cirúrgico). As radiações ópticas produzidas por esses lasers têm basicamente as mesmas características. Quando a luz laser incide em um tecido biológico e como é um tecido pouco homogêneo do ponto de vista óptico, uma parte da luz é refletida, uma parte é espalhada dentro do tecido, uma parte da luz é absorvida e, finalmente, uma parte da luz pode ser transmitida ao longo de toda espessura do tecido (KUTSCH, 1993; GENOVESE, 2007). A difusão será máxima nos tecidos cujas partículas tem as mesmas dimensões que o comprimento de onda. Depende de cromóforos absorvedores como hemoglobina e melanina e de sua distribuição espacial (GENOVESE, 2007).

Nos tecidos, as células têm um limiar de sobrevivência que depende de seu estado fisiológico. Quando se trabalha respeitando o limiar de determinada célula, se oferece uma intensidade de energia que será utilizada por ela de maneira a estimular sua membrana, ou suas mitocôndrias (KARU, 1999). Dessa forma, induz a célula à biomodulação, ou seja, ela

trabalhará buscando um estado de normalização e isso denomina-se laserterapia. Suas principais indicações são os quadros patológicos onde se gostaria de uma melhor qualidade e maior rapidez do processo reparativo (quadros de pós-operatório, reparação de tecido mole, ósseo e nervoso), quadros de edema instalado (onde se busca uma mediação do processo inflamatório), ou nos quadros de dor (crônicas e agudas). Quando, ao contrário, se oferece uma densidade de energia tão alta a ponto, dessa energia transformar-se em dano térmico, por exemplo, e ultrapassar o limiar de sobrevivência de um tecido, se estará utilizando o laser com finalidade cirúrgica, e a isso denomina-se lasercirurgia (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007).

Portanto, os efeitos produzidos pelo laser podem ser divididos em térmicos (laser cirúrgico) e não-térmicos (laser terapêutico). Os lasers que são utilizados principalmente por seus efeitos térmicos, são chamados os lasers de alta-potência ou cirúrgicos e têm propriedades de corte, vaporização e hemostasia. Já a terapia a laser, realizada com lasers de baixa potência, não é baseada em aquecimento, ou seja, a energia dos fótons absorvidos não será transformada em calor, mas sim em efeitos foto-químicos e foto-biológicos nas células e no tecido, permitindo a instalação de processos fisiológicos de naturezas terapêuticas como ações analgésica, anti-inflamatória e a bioestimulação tecidual. Quando a luz encontra as células, se administrada na dose correta, certas funções celulares serão estimuladas e isto é particularmente evidente se a célula em questão apresenta sua função debilitada (ALMEIDA-LOPES et al., 1998; GENOVESE, 2007).

Os lasers não-cirúrgicos, que são empregados com finalidades terapêuticas em Odontologia são divididos em dois tipos: o laser He-Ne que possui luz vermelha, sendo utilizado como raio terapêutico, ou como raio piloto em lasers cirúrgicos invisíveis, e o laser diodo (GaAs ou GaAlAs infravermelho) que pode apresentar os modos de operação pulsátil ou contínuo e possuem maior penetração nos tecidos biológicos. Esses dois tipos de lasers produzem efeitos fotoquímicos que estão ligados à ação seletiva dos tecidos. Esse efeito biológico consiste fundamentalmente em energia luminosa depositada no tecido, que se transforma em energia vital, produzindo efeitos primários (diretos), efeitos secundários (indiretos) e efeitos terapêuticos gerais (DONATO; BORACKS, 1993; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007), descritos a seguir:

A) Efeitos primários ou diretos:

a.1 Efeitos bioquímicos

A energia absorvida pode atuar estimulando a liberação de substâncias pré-formadas nos processos de dor e inflamação como prostaglandinas (PG), histamina, serotonina e

bradicinina e também modificando reações enzimáticas normais, tanto no sentido de excitação ou inibição com a produção de ATP e a síntese de PG (GENOVESE, 2007). O mecanismo de interação do laser em nível molecular foi descrito primeiramente por Karu (1989). Os incrementos de ATP-mitocondrial que se produzem após a radiação com laser favorecem um grande número de reações, que interferem no metabolismo celular com a estimulação seletiva das mitocôndrias, provocando um aumento na produção de ATP intracelular acelerando as mitoses celulares. Conseqüentemente, são facilitados o aumento do consumo de oxigênio, a ativação da respiração celular, suprimindo-se os processos anaeróbicos que se desenvolvem no tecido com a inflamação, criando condições para se evitar o desenvolvimento da acidose e da alteração secundária distrófica da micro-circulação no tecido, que é condicionado ao aumento da concentração de íons hidrogênio (H^+) e de outros componentes tissulares (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007).

a.2 Efeitos bioelétricos

Nas células nervosas periféricas, observa-se no seu meio extra-celular, uma concentração baixa de íons potássio. Em contrapartida, no citoplasma, tem-se alta concentração de potássio e baixa de íons sódio. Em repouso, observa-se uma relativa impermeabilidade da membrana, sendo que, para a transmissão de impulsos nervosos, as fibras dependem essencialmente da troca do estado fisiológico de sua membrana. Quando ocorre um aumento na permeabilidade, ocorre uma transmissão de impulso, com conseqüente entrada de sódio. Para evitar a transmissão desses impulsos aos centros nervosos superiores deve-se manter esse potencial da membrana, e para tal a célula utiliza-se da "bomba de sódio" que necessita de energia para o seu funcionamento. É notório que esse mecanismo não é tão simples assim, mas é interessante salientar que a luz laser atua terapeuticamente de dois modos nestes casos: diretamente sobre a mobilidade iônica ou indiretamente quando aumenta a quantidade de ATP produzida pela célula que será utilizada no mecanismo de reequilíbrio do potencial da membrana. Em condições patológicas a célula não consegue manter seu equilíbrio, por isso com dosagens adequadas de laser, pode-se atuar no sentido de normalizar suas funções (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007).

B) Efeitos secundários ou indiretos

São os efeitos observados após os primários, onde basicamente verifica-se o aumento do fluxo sangüíneo (KUBOTA; OSHIRO, 1989; GARAVELLO; BARANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2004) e da drenagem linfática (LIEVENS, 1991). O laser atua indiretamente no esfíncter pré-capilar, através de mediadores químicos paralisando-o e produzindo portanto,

sua abertura constante com a estimulação da micro-circulação. Observa-se uma melhora e aumento no trofismo celular da região, com aumento da produção de APT, nutrientes e oxigênio, conseqüentemente aumenta os processos de reparo tecidual assim como neoformação de vasos sanguíneos (GENOVESE, 2007), elementos sanguíneos de defesa, e eliminação de catabólitos indesejáveis, tendo assim por essa via uma capacidade anti-inflamatória. Pimenta (1990) relatou que o laser possui efeitos anti-inflamatórios, pois influencia mudanças metabólicas, energéticas e funcionais, que favorecem o aumento da resistência e vitalidade das células, levando-as à sua normalidade funcional com rapidez.

C) Efeitos terapêuticos gerais

Rochkind et al. (1989) utilizaram o laser de baixa potência para obter efeitos analgésicos, aliviando a dor de seus pacientes, e também o contrário, para estimular a volta da sensibilidade em áreas de parestesia ou paralisia. Da mesma forma, os efeitos na cicatrização vêm sendo motivo de estudo na Rússia há mais de 30 anos (MESTER; MESTER; MESTER, 1985), destacando-se a grande capacidade de regeneração celular em células de várias origens.

Devido às suas características de aliviar a dor, estimular a reparação tecidual, reduzir edema e hiperemia nos processos inflamatórios, prevenir infecções, além de atuar em parestesias e paralisias, a LLLT tem sido empregada freqüentemente em múltiplas especialidades médicas e odontológicas.

Em Medicina, essa terapia é utilizada para melhorar a cicatrização no tratamento de queimados e de pacientes que receberam algum tipo de enxerto ou retalho, aumentando a vascularização dessas regiões. Também é utilizada para o tratamento de dores agudas e crônicas de diversos tipos (KERT; ROSE, 1998 TURHANI et al., 2006). Fisioterapeutas e médicos que trabalham na Medicina do Esporte também se utilizam dessa terapia naqueles pacientes que sofreram trauma, devido ao sucesso em quadros de distensões e contraturas musculares.

Na clínica odontológica existe um grande número de aplicações, e o uso de LLLT já se faz rotineira, principalmente, para biomodulação óssea, em casos de implantes e cirurgia oral menor; para diminuir a dor e edema nos casos de pós-operatórios diversos, úlceras aftosas recorrentes, herpes, nevralgias e hipersensibilidade dentinária, além de ativar a recuperação em quadros de paralisias e parestesias (ALMEIDA-LOPES, 1998). A laserterapia, também, está indicada para regiões traumatizadas, pois aumenta a atividade fibroblástica, auxiliando a recomposição tecidual. Também na dessensibilização dentinária no pós-preparo cavitário ou

cervical aumentando o limiar das terminações nervosas livres, produzindo um efeito analgésico (MELLO; MELLO; MELLO, 2001).

É necessário compreender a inexistência de um efeito isolado, pois é possível ocorrer efeitos analgésicos, anti-inflamatórios, anti-edematoso e bioestimulante atuando concomitantemente (GENOVESE, 2007).

1.4.3 Aspectos Técnicos

Os lasers têm sido classificados utilizando-se vários critérios. A mais ampla classificação é aquela que divide os lasers em dois grandes grupos, de acordo com a sua ação terapêutica em lasers ablativos, cirúrgicos, laser de alta potência ou HILT (*High Intensity Laser Treatment*) e os lasers não-ablativos, clínicos ou não-cirúrgicos, laser de baixa potência, LILT (*Low Intensity Laser Treatment*) ou LLLT (*Low Level Laser Therapy*). Os lasers podem ser também classificados de acordo a natureza de seu meio ativo em sólidos, líquidos, gasosos e mistos (HALL et al., 1994; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007).

Existem várias pesquisas que sugerem a efetividade do LLLT, entretanto, persistem aqueles que não obtiveram resultados positivos em seus experimentos. Assim, faz-se necessário, avaliar os parâmetros utilizados na terapia com o laser em baixa intensidade, como o comprimento de onda, potência, densidade de potência, modo de operação (pulsado ou contínuo), densidade de energia ou dosagem, técnica de tratamento e intervalos de tratamento. Portanto, alguns conceitos básicos são necessários para a compreensão da ação da luz laser e dos seus efeitos teciduais.

a) Frequência (f)

É a quantidade total de ondas que passam por um determinado ponto durante o período de um segundo (WASLH, 1992). É inversamente proporcional ao seu comprimento de onda e é expressa em hertz (Hz) ou ciclo por segundos (s) (GENOVESE, 2007).

b) Comprimento de onda (λ)

Corresponde à distância entre dois picos máximos e dois picos mínimos, medida na direção em que a onda está se movimentando. É fator determinante na interação laser-tecido.

A escolha do comprimento de onda de um laser é extremamente importante, pois é através dele que será definida a profundidade de penetração no tecido alvo (GENOVESE, 2007) e as biomoléculas específicas que absorverão a radiação incidente (KARU, 1989). É medido em metros (m), milímetros (mm), micrometros (μm), angstrom (Å) e nanômetro (nm) (GENOVESE, 2007). Diferentes comprimentos de onda apresentam diferentes coeficientes de absorção para um mesmo tecido. As radiações emitidas na região do ultravioleta e na região do infravermelho médio apresentam alto coeficiente de absorção na pele, fazendo com que a radiação seja absorvida na superfície, enquanto que na região do infravermelho próximo constata-se baixo coeficiente de absorção, implicando em máxima penetração no tecido (KARU, 1989; WASLH, 1992).

A compreensão dos fenômenos que envolvem a interação entre os diversos lasers e tecidos baseia-se principalmente no entendimento das reações que podem ser induzidas nesses tecidos pela luz laser. É importante lembrar que cada tipo de meio ativo resulta em luz laser de comprimento de onda específico e que cada comprimento de onda reage de uma maneira diferente com cada tecido. Os comprimentos de onda mais utilizados em laserterapia não-cirúrgica (LLLT), estão entre 600 e 1000nm, que são relativamente pouco absorvidos e conseqüentemente apresentam uma boa transmissão na pele e mucosas (RIGAU; MAS, 1998; PINHEIRO, 1998). Todavia, além de fatores inerentes ao laser, devem ser observadas as características peculiares de cada tecido, principalmente as que controlam as reações moleculares e bioquímicas. Outro aspecto a se considerar é a propriedade óptica de cada tecido, a qual determina a extensão e a natureza da resposta tecidual que ocorre através dos processos de absorção, transmissão, reflexão e difusão da luz laser (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998).

Na maioria dos comprimentos de onda, a propagação do laser nos tecidos é influenciada pela dispersão e pela absorção. A absorção da radiação laser nos tecidos tem sido bastante investigada, particularmente a dependência do comprimento de onda, que é bem documentada para a maioria dos seus cromóforos (receptores presentes na superfície mitocondrial). A dispersão do laser nos tecidos é muito complexa. Várias estruturas como fibras colágenas, células e organelas celulares, vasos e outros componentes teciduais, bem como a forma e a orientação de tais estruturas, influenciam na dispersão do laser no tecido (HILLENKAMP, 1989).

A ação dos diferentes comprimentos de onda no metabolismo celular vem sendo estudada por diferentes autores. Já se sabe que a ação desses lasers varia segundo a posição que ocupam no espectro de radiações eletromagnéticas, e, que sua ação sobre as células é

diferente para os comprimentos de onda infravermelho e para os visíveis (KARU, 1999). Entretanto, a resposta clínica não varia intensamente. A porção do espectro eletromagnético relacionada com lasers é chamada de porção óptica do espectro, que consiste das porções: infravermelho (IR), ultravioleta (UV) e visível (Figura 5, página 52). O comprimento de onda infravermelho que varia de 1400nm à 1mm é considerado longínquo e de 780 à 1400nm, considerado próximo. Da mesma forma ocorre para comprimento de onda ultravioleta que varia de 200 à 315nm (UV-B e UV-C) considerado longínquo e de 315 à 400nm (UV-A), considerado próximo. O comprimento de onda da luz visível pode variar de 400 à 780nm. Este último, por penetrar menos nos tecidos biológicos, é indicado para lesões superficiais, enquanto que o IR, mais penetrante, é indicado para atingir tecidos mais profundos como ósseo e o nervoso (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; MELO; MELO; MELO, 2001; GENOVESE, 2007).

c) Energia (E)

É a capacidade de realizar um trabalho, e sua unidade de medida é o joule (J). Segundo a teoria da relatividade, a matéria e a energia são inter-convertíveis na razão de c^2 unidades de energia para uma massa ($E=mc^2$). Assim, quanto maior a energia, maior é o número de fótons em um determinado espaço de tempo. Tem-se a relação direta entre potência e energia (GENOVESE, 2007).

d) Densidade de energia (DE)

Densidade de energia (DE) ou fluência é a relação entre a energia administrada por um emissor laser e a superfície de radiação do raio de luz laser (Spot) e é expressa em joules por centímetro quadrado (J/cm^2). Geralmente refere-se a ela quando se fala em dose de tratamento (dosimetria) (RIGAU; MAS, 1998). A dosimetria diz respeito a unidade de superfície irradiada e não à totalidade de irradiação do paciente nem da lesão independente. Atualmente a maioria dos equipamentos dispõe de cálculo direto, sendo que o equipamento é programado para a DE e é apresentado automaticamente o tempo de exposição em função da potência de emissão e da área do *spot* (WASLH, 1992; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

A fórmula que expressa o conceito de densidade de energia é:

$$DE = \frac{E}{S} = \frac{P(W) \times t (s)}{S (cm^2)} = \frac{\text{Watts} \times \text{segundo}}{cm^2} = J/cm^2 \quad (1)$$

Sendo que:

E = energia

S = área

P(W) = potência

J = Joule

t(s) = tempo, em segundos

e) Potência (P):

A potência indica a quantidade de energia em watts (W) gerada por unidade de tempo (t) (GENOVESE, 2007).

$$P = E/ t \quad \text{portanto} \quad E = P(\text{watts}) t \quad (2)$$

f) Densidade de Potência (DP)

Também conhecida como ou irradiância é definida como sendo a potência óptica de saída do laser em watts, dividida pela área irradiada em cm^2 , é expressa em W/cm^2 . Regula a quantidade de energia que é entregue aos tecidos (WASLH, 1992; 1997a; 1997b). É através do controle da irradiância que o cirurgião pode cortar, vaporizar, coagular ou "soldar" o tecido, quando da utilização de lasers cirúrgicos. A densidade de potência apropriada pode também gerar foto-ativação com LLLT.

Portanto, a interação do laser com o tecido é determinada pelos fatores que lhe são inerentes, tais como: composição de seu meio ativo, comprimento de onda por ele determinado, densidade de potência, quantidade de energia depositada no tecido, forma de emissão do laser (contínua ou pulsada); taxa e duração da pulsação, utilização ou não de fibras de contato e tipo de raio (focado ou desfocado). Além disso, fatores concernentes aos tecidos e seus componentes citoplasmáticos celulares (70 a 85% de água, 10 a 20% de proteínas, 2% de lipídios, 1% de carboidratos e eletrólitos) irão determinar sua capacidade de absorção específica para cada tipo de tecido. Assim, haverá respostas teciduais distintas de acordo com os coeficientes de absorção e difusão em cada tecido (PINHEIRO et al., 1998; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; GENOVESE, 2007).

Sabendo-se que a densidade de energia é o parâmetro mais importante a ser considerado quando da aplicação do laser, faz-se necessário o conhecimento de outros aspectos teóricos como:

Todos os lasers são compostos de quatro componentes primários: o meio ativo; uma cavidade ressonante que envolve o meio ativo e permite que ocorra a excitação; uma fonte de

energia que funciona como ativadora do mecanismo de excitação e cria uma população inversa; e um sistema de liberação que pode se dar por meio de fibras ópticas ou espelhos articulados (GOLDMAN et al. 1965).

Os lasers não-cirúrgicos mais comumente utilizados são o He-Ne e os diodos de GaAlAs e GaAs. O laser He-Ne foi o primeiro laser gasoso desenvolvido e também o primeiro a emitir em forma contínua com dois comprimentos de onda de 632,8nm (vermelho) e 543,5nm (verde), com potência variável de 1mW a dezenas de miliwatts (BASFOR, 1995); a mistura destes gases é formada por 85% de Hélio e 15% de Neônio, sendo o primeiro o que aumenta a eficiência e o segundo o responsável pela emissão. Não produz efeito térmico e sim fotoquímico. Parece melhorar a cicatrização e diminuir as moléstias pós-operatórias produzindo em efeito analgésico e anti-inflamatório (PONTINEN, 1992; PINHEIRO; FRAME, 1992; TOST et al., 1995; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007). Os aparelhos utilizados atualmente estão disponíveis em ambas as formas de emissão, contínua ou pulsátil, e operam com comprimento de onda no espectro visível ou invisível. Ao contrário do laser cirúrgico que opera com potência de miliwatts a centenas de Watts, provocando ablação tecidual, o laser não-cirúrgico de He-Ne tem sua potência variando entre 1 a 50mW e não induz alteração de temperatura entre os tecidos, em contraste com o laser cirúrgico que provoca vaporização tecidual (FERNANDO; HILL; WALKER, 1993; HALL et al., 1994; BASFOR, 1995; TOST et al., 1995; GENOVESE, 2007). Apesar disso, há uma tendência de se produzir equipamentos com potências mais elevadas como, por exemplo, alguns aparelhos de laser de Arsenieto de Gálio e Alumínio (GaAlAs) cuja potência já alcança 100W (GENOVESE, 2007) o qual vem sendo utilizado com mais frequência (IN DE BREAKT et al., 1991; POGREL; CHEN; ZHANG, 1997; KAWASAKY; SHIMIZU, 2000; WALKER et al., 2000; WHITTAKER; PATTERSON, 2000; LIMEIRA JÚNIOR; PINHEIRO; GERBI, 2002; SILVA JÚNIOR et al., 2002; GERBI; PINHEIRO; LIMEIRA JÚNIOR, 2003; PINHEIRO et al., 2003; ALBERTINI et al., 2004; GENOVESE, 2007).

Os lasers de GaAlAs são muito utilizados na biomodulação. A composição do cristal semicondutor de luz pode variar consideravelmente. Dependendo da porcentagem de cada substância utilizada, o comprimento de onda da luz emitida pode variar de 660 a 940 nm. Os mais utilizados são os lasers com comprimento de onda de 820 a 830 nm (infravermelhos) e 670 nm (vermelho), os quais emitem radiação tanto no modo contínuo quanto no pulsado (GENOVESE, 2007).

1.4.4 Biomodulação da luz laser sobre o reparo ósseo

O laser não-cirúrgico (LLLT) foi considerado por Mester et al. (1971) como um bioestimulador, e por isso, encontra-se na literatura essa terminologia utilizada para designar uma das mais importantes funções desse tipo de laser que é a bioestimulação de processos biológicos. Este termo foi proposto por Endre Mester et al. (1971) porque ele basicamente empregava a terapia laser para acelerar processos de cicatrização. Autores usam o termo "bioestimulador" e "fotoestimulação", no sentido de regular a atividade celular (KANA et al., 1981; BRAVERMAN et al., 1989; VAN BREUGEL; BAR, 1992; ANDERS et al., 1993; DAVID et al., 1996; YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996; SAITO; SHIMIZU, 1997; POGREL; CHEN; ZHANG, 1997; SCHAFFER et al., 1997; MORRONE et al., 1998; KAWASAKI; SHIMIZU 2000; DÓRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; TORRICELLI et al., 2001; SILVA JÚNIOR et al., 2002). A partir de estudos clínicos e laboratoriais pode-se concluir que a LLLT não somente acelerava determinados processos de cicatrização, mas também retardava outros. Os autores começaram então a entender que nesse tipo de terapia o laser desempenhava um papel de normalizador das funções celulares. Desta forma, Oshiro, Calderhead (1991) propuseram a expressão "Balanceador e Normalizador de Funções". Assim, com o passar do tempo, a LLLT passou a ser empregada não somente para estimular ou acelerar processos, mas também para inibi-los. Foi utilizada no alívio da dor miofacial (PINHEIRO et al., 1997; ALMEIDA LOPES; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998); para atenuar a resposta inflamatória no pós-operatório de cirurgias bucais (PRETEL; LIZARELLI; RAMALHO, 2007) e em lesões periodontais para inibição da atividade do Plasminogênio Ativador (OZAWA; SHIMIZU; ABIKO, 1997), da produção IL-1 β (SAKURAI et al., 2000) e de PG E2 (NOMURA; YAMAGUCHI; ABIKO, 2001). Devido a diversidade de ações do laser o termo mais encontrado na literatura é "biomodulação".

Nas últimas décadas várias pesquisas surgiram no intuito de verificar a ação do laser nos tecidos e padronizar a metodologia utilizada pelos profissionais. Vários mecanismos de biomodulação pelo laser têm sido propostos e investigados. A magnitude do efeito biomodulador está diretamente relacionada com o estado fisiológico da célula antes da radiação. Por essa razão, os efeitos biomoduladores nem sempre são possíveis (KARU et al., 2008; WEBER et al., 2006).

Ao estudar a atividade das mitocôndrias celulares sob efeitos do laser, Passarella et al. (1984) afirmaram que a radiação laser gera um potencial eletroquímico extra e um aumento na síntese de ATP a nível mitocondrial. Utilizando o laser de He-Ne (632,8nm, 15mW), constataram um aumento no gradiente de íons da membrana mitocondrial e uma síntese de ATP aumentada em 70%, em células irradiadas, em relação a controles não irradiados. Os autores atribuíram isto a radiação laser, pois quando estes experimentos eram realizados na presença de inibidores dos canais de transporte de elétrons da membrana mitocondrial, a radiação não produzia nenhum efeito, indicando que a bioestimulação com o laser requer o transporte de elétrons nas mitocôndrias para exercer a sua ação.

No entanto, Karu (1987) para explicar a biomodulação com o laser, também propôs a estimulação mitocondrial. Ela sugeriu que fotorreceptores podem ser componentes da cadeia respiratória, mas que a fotossensibilidade não é restrita a radiação laser. É possível que a luz monocromática possa interferir na proliferação celular. A autora observou que a concentração intracelular de cAMP é alterada nas células após radiação com comprimento de onda de 632,8 e 760nm, e com isso propôs que em feridas com retardo na cicatrização, o efeito da luz visível de baixa intensidade pode estimular as células a se proliferarem. A fotorrecepção ocorrendo a nível mitocondrial pode intensificar o metabolismo respiratório e as propriedades eletrofisiológicas da membrana, conduzindo assim a mudanças na fisiologia celular. Os componentes da cadeia respiratória poderiam ser os fotorreceptores que, dependendo da dose de radiação, poderiam modular a função celular resultando em excitação ou inibição do seu metabolismo. A baixa dose de radiação causa regulação do metabolismo celular e em altas doses, o dano foto-dinâmico prevalece, assim a quantidade de luz é um gatilho para a regulação do metabolismo celular. Isto explica as baixas doses e intensidades necessárias.

Para investigar o efeito biomodulador do laser He-Ne, Trelles, Mayayo (1987), realizaram um estudo experimental de fraturas em tíbias de camundongos, monitorando histologicamente sua reparação após exposição ao laser He-Ne (632nm, 2,4J/cm²) num série de 12 sessões, uma a cada 2 dias. Eles observaram através de microscopia de luz, que nos animais tratados um aumento importante na vascularização e formação rápida de tecido ósseo com um denso trabeculado quando comparado ao grupo controle, que apresentou apenas tecido condróide e pouca vascularização, equivalente a um estágio inicial do processo de consolidação óssea. Para os autores, o efeito do laser pode modular a função dos osteócitos, promovendo um maior metabolismo e reparação do calo ósseo.

Takeda (1988) avaliou histologicamente o efeito da laserterapia (GaAs) na cicatrização inicial do alvéolo após a exodontia em ratos Wistar. Durante o período de

observação, que foi de zero, dois, quatro e sete dias, os animais foram irradiados diariamente por um período de cinco minutos. Um laser semiconductor de GaAs ($\lambda=904\text{nm}$) foi utilizado, com densidade de potência de 25mW e densidade de energia equivalente a $20\text{J}/\text{cm}^2$. Animais não-irradiados serviram como grupo controle. Os resultados sugeriram que a LLLT teve efeito benéfico na cicatrização inicial do alvéolo dentário, pois a proliferação de fibroblastos remanescentes do ligamento periodontal foi mais pronunciada nos animais irradiados e a formação de um trabeculado osteóide ou de osso neoformado ocorreu mais precocemente no osso irradiado.

Labbe et al. (1990) na tentativa de explicar como os processos bioquímicos poderiam ser afetados pela radiação laser de baixa potência, relatou que a bioestimulação na indução da formação de hidroxiprolina em cultura de fibroblastos humanos. Em sua pesquisa utilizaram um laser GaAs (904nm , 2mW), e observaram que as células tratadas tinham um aumento triplicado de ácido ascórbico. Condições semelhantes de radiação também produziram níveis altos de Hidroxiprolina. Uma vez que o ácido ascórbico é um co-fator necessário para a hidroxilação da prolina, durante a produção de colágeno, eles notaram que os níveis intracelulares aumentados de ácido ascórbico levavam a um aumento na produção de colágeno. Eles concluíram que o efeito primário da radiação laser de baixa potência é a estimulação da captação pelas células de ácido ascórbico através de uma reação físico-química ainda desconhecida.

In de Braekt et al. (1991), provocaram feridas em palato de cães da raça *beagle* e tatuaram pontos de ambos os lados das feridas para observar seu grau de contração durante a cicatrização. Usaram um diodo laser GaAlAs emitindo no infravermelho próximo com potência de $1\text{J}/\text{cm}^2$. Fizeram a radiação três vezes por semana, durante três semanas, e não observaram alterações significativas em relação ao grupo controle não-irradiado. Os autores concluíram que, macroscopicamente, a laserterapia, sob as condições utilizadas neste estudo, não teve nenhuma influência na cicatrização ou na contração da ferida.

Gordjestani, Dermaut e Thierens (1994), investigaram o efeito da laserterapia no metabolismo ósseo. Um defeito ósseo circular foi realizado nos ossos parietais, em seis ratos. Os animais foram divididos em dois grupos: experimental e controle. O primeiro recebeu tratamento com laser infravermelho (GaAs, $\lambda=904\text{nm}$) no defeito do lado esquerdo, com densidade de potência de $33,3\text{mW}/\text{cm}^2$ e densidade de energia equivalente a $20\text{J}/\text{cm}^2$, administrada diariamente, mas não recebeu radiação no defeito ósseo do lado direito. O laser infravermelho foi escolhido devido à sua maior penetração nos tecidos subcutâneos, em função de sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele. O grupo controle não

recebeu radiação em ambos os lados. A escolha de um grupo experimental e de um grupo controle baseou-se na consideração de que a aplicação do laser em uma área bem definida pode ter um efeito local e sistêmico. Após 28 dias, o metabolismo ósseo foi avaliado por meio de cintilografia. Os resultados não mostraram diferença no metabolismo ósseo entre os lados direito e esquerdo no grupo controle. Os valores encontrados no grupo experimental também não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados ao grupo controle.

Pyczek, Sopala e Dabrowski (1994) avaliaram o efeito do LLLT nas células da medula óssea em ratos. Para o estudo, foram utilizados os lasers He-Ne (632,8nm) e o GaAs (904nm). Superfícies intactas da pele dos ratos foram irradiadas sobre uma região do fêmur. As doses totais recebidas pelo grupo do laser He-Ne foi de 13,5J/cm² e 13,5J/cm², no grupo do GaAs por um período de três dias. A análise sangüínea foi realizada antes do experimento e após a radiação. A medula óssea foi avaliada microscopicamente. Os resultados mostraram que o laser GaAs induziu a um decréscimo nos mastócitos da medula óssea e nos basófilos do sangue periférico e um aumento no número de eosinófilos. Um aumento na atividade mitótica na medula óssea foi observado nos grupos experimentais. Nenhuma alteração significativa foi encontrada no hematócrito ou nos níveis de hemoglobina de eritrócitos e reticulócitos no sangue periférico.

Hall et al. (1994) investigaram, em ratos, o processo de cicatrização em feridas após a laserterapia. Feridas padronizadas foram realizadas na porção caudal de ratos, bilateralmente. Os animais foram divididos em dois grupos, com 19 animais em cada um. O grupo A foi radiado com laser em um lado, sendo que lado oposto foi deixado como controle para possíveis efeitos sistêmicos. O grupo B recebeu uma radiação placebo (luz normal) em um dos lados; o grupo contralateral foi deixado sem tratamento. A frequência utilizada foi de 500Hz e a potência de 1mW. O laser foi utilizado perpendicularmente a uma distância de 2mm. A dose diária foi de 0,2J/cm² e o período de observação total foi de 21 dias. Dois animais de cada grupo foram sacrificados a cada dois dias a partir do terceiro dia do experimento. Os resultados, tanto clínicos quanto histológicos, não mostraram diferenças durante todo o período de observação quando os grupos foram comparados entre si. Os autores concluíram que a LLLT não influenciou o processo de cicatrização das feridas.

Kameya et al. (1995), realizaram um estudo em ratos e irradiaram feridas padronizadas com diodos lasers emitindo diferentes comprimentos de onda (632,8, 680 e 830nm). Observaram diferenças macroscópicas expressivas nos grupos irradiados em relação ao grupo controle, ainda que não fossem estatisticamente significantes entre os grupos irradiados.

Histologicamente, os três grupos irradiados apresentaram maior proliferação de tecido conjuntivo e maior quantidade de vasos sanguíneos, quando comparados ao grupo controle.

Bäruskha, Yaakobi, e Oron (1995) demonstraram que a irradiação com laser He-Ne em injúrias na tíbia de ratos afetou a população de osteoblastos e osteoclastos através de alterações das fosfatases alcalina e ácida, também encontraram que a LLLT propiciou um aumento aproximadamente duas vezes maior na reparação óssea, na injúria da tíbia de ratos, verificado através da histomorfometria.

David et al. (1996) estudaram, radiográfica, biomecânica e histologicamente, os efeitos do laser He-Ne na cicatrização de fraturas ósseas em ratos. Para o estudo, 62 ratos sofreram osteotomia na tíbia, bilateralmente, seguida por fixação interna com fios intramedulares. As pernas direitas receberam radiação com laser He-Ne (632,8nm, 10mW) com uma dose de 2 e 4J/cm², diariamente, durante duas a seis semanas. A perna esquerda serviu como controle, não recebendo radiação. Os resultados radiográficos e histológicos não apresentaram melhora no processo de cicatrização óssea. Biomecanicamente, os ossos irradiados em dois espécimes dos grupos teste foram significativamente mais fracos que o grupo controle. Os autores concluíram, de acordo com os resultados obtidos, que a laserterapia com o laser He-Ne não influenciou a cicatrização óssea.

Skinner et al. (1996) estudaram a ação de um diodo laser de GaAs sobre fibroblasto de embrião humano em cultivo. As densidades de energia variaram entre 0,1 e 1J/cm² durante período entre um e quatro dias. A produção de pró-colágeno foi monitorada pela incorporação de hidroxiprolina-tritíada e a replicação de DNA, por incorporação de timidina-tritíada. Os autores verificaram que o máximo de aumento na produção de colágeno e na bioestimulação celular ocorreu após quatro aplicações com intervalos de 24 horas entre elas, com doses de 0,09 a 0,52J/cm² tiveram efeitos estimulativos mais significativos na função fibroblástica. Os autores concluíram que os efeitos clínicos do laser de GaAs podem ser resultados do aumento do tecido conjuntivo de reparação.

Yaakobi, Maltz e Oron (1996) avaliaram a influência da radiação laser He-Ne (632nm, 5,3mW, 31J/cm²), no reparo ósseo de feridas cirúrgicas em tíbias de ratos, através dos métodos bioquímico (fosfatase alcalina) e radioativo (cálcio sódio-ativado). Os resultados mostraram que a deposição de cálcio foi significativamente mais elevada no grupo irradiado com laser, quando comparada com o grupo controle e da mesma forma foi encontrado uma maior atividade dos osteoblastos provavelmente reflexos da maior atividade da fosfatase alcalina.

Ozawa, Shimizu e Abiko (1997) avaliaram os efeitos do laser diodo GaAlAs (830nm, 3,95 a 7,90 J/cm²) sobre a atividade do Plasminogênio Ativador de células saudáveis do ligamento periodontal submetidas a estiramento mecânico. Após o processo de estiramento, as células mostraram uma elevação expressiva na atividade do Plasminogênio Ativador, que foi significativamente inibida pela radiação laser. Diante dos resultados, os autores sugeriram que a LLLT poderia se constituir num benefício terapêutico contra o agravamento da doença periodontal acompanhada de trauma oclusal. Todavia, consideram que aproximadamente 25% da luz laser diodo penetra a uma profundidade de 2,0mm da cortical mandibular humana, de forma que uma dose maior (4-5 vezes) pode ser necessária para o uso clínico e alcançar energia suficiente para o ligamento periodontal.

Saito e Shimizu (1997), em procedimentos de expansão palatina em ratos, utilizando um laser de GaAlAs (830nm, 100mW, contínuo, 35,3mW/cm², 126 e 420J) aplicado à sutura palatina durante a expansão da seguinte maneira: diariamente, por um período de sete dias, durante 3 ou 10 minutos (dose total de 126J e 420J, respectivamente), durante três dias com aplicações de sete minutos, do primeiro ao terceiro dia ou do quinto ao sétimo dia (dose total de 126J), e somente no primeiro dia, logo após a cirurgia, por 21 minutos ininterruptos (dose total de 126J). Um grupo controle foi utilizado, o qual não recebeu radiação. Os resultados foram avaliados por meio de histomorfometria óssea e exame histológico. Os resultados mostraram que o grupo com sete dias de radiação apresentou uma aceleração significativa na regeneração óssea quando comparada com os espécimes não-radiados e que este aumento era dose-dependente. A radiação durante os períodos iniciais (dias 0 e 2) apresentou-se mais efetiva, enquanto que nem nos períodos mais longos (dias 4 e 6) e nem a radiação em um dia somente apresentaram qualquer efeito na regeneração óssea. Os autores concluíram que a laserterapia pode acelerar a regeneração óssea na sutura palatina durante a cirurgia de ERM e que este efeito, é dependente não apenas da dose total de radiação, mas, também, do tempo e da frequência de radiação. Os autores salientaram ainda que, embora as aplicações com laser nos estágios iniciais sejam mais efetivas na regeneração óssea, o tratamento com laser nos períodos posteriores pode ter um importante papel na manutenção da atividade da regeneração óssea. O laser diodo de GaAlAs é conhecido por apresentar uma grande penetração tecidual porque a hemoglobina e a água possuem um baixo coeficiente de absorção para ele; entretanto, o mecanismo pelo qual a radiação laser promove a formação óssea não está completamente entendido, mas acredita-se que seja em função da diferenciação de osteoblastos e que estes devem possuir uma dose ótima específica de radiação para sofrer estimulação ou diferenciação.

Pogrel, Chen e Zhang (1997) investigaram, *in vitro*, a ação do laser GaAlAs ($\lambda=830\text{nm}$) em cultura de fibroblastos e queratócitos humanos. O tempo de exposição variou entre 10 e 120s, com uma potência entre 5 e 100mW e uma densidade de energia de 0,12 a 4,24J/cm². A proliferação celular foi avaliada por absorção espectrométrica, enquanto a adesão celular ao colágeno bovino foi avaliada por micro-colorimetria. A migração celular foi avaliada por meio de um filtro utilizando campo microscópico de alta potência. Os resultados não apresentaram diferenças na proliferação celular, na adesão e na migração, tanto nas culturas de fibroblastos como na de queratócitos tratadas com o laser de GaAlAs, com qualquer densidade de potência ou tempo, quando comparadas com os grupos controles não-irradiados. Os autores concluíram que o laser GaAlAs, quando utilizado em potências entre 5 e 100mW e tempos entre 10 e 120s, não possui efeito bioestimulador em culturas de fibroblastos e queratócitos quanto a proliferação celular, adesão ou migração.

O efeito do tratamento com laser He-Ne em perdas ósseas horizontais, consequência de problemas periodontais, foi analisado por Delgado et al. (1997), em 60 pacientes, que foram distribuídos em dois grupos de trinta cada. O grupo 1 foi o grupo experimental, recebendo tratamento convencional a uma única aplicação de laser com dose de 3J/cm² após o ato cirúrgico. O grupo 2 foi utilizado como controle, recebendo apenas tratamento convencional. Para a medição inicial e final nos períodos avaliados (3, 6 e 12 meses) foi utilizado um aparelho de mensuração óssea (Pié Del Rey) e radiografia periapical. Para a radiação foi utilizada um aparelho laser He-Ne de 632,8nm com potência de saída de 2mW e 1mm de diâmetro da fibra óptica. Os resultados demonstraram que 83,3% dos pacientes do grupo experimental obtiveram ganho ósseo parcial, enquanto que o grupo controle não obteve nenhum ganho ósseo. Os autores concluíram que o tratamento com laser He-Ne imediatamente após o ato cirúrgico se mostrou eficaz.

Pinheiro et al. (1998) avaliaram o efeito da laserterapia no tratamento de diversas desordens da região bucal e maxilofacial. Para o estudo, 205 mulheres e 36 homens com idades entre 7 e 81 anos, com alterações na região maxilofacial, foram tratados com laser diodo de $\lambda=632,8\text{nm}$, $\lambda=670\text{nm}$ e $\lambda=830\text{nm}$. Os distúrbios incluíam dor na articulação temporomandibular, nevralgia do trigêmeo, dor muscular, inflamação, hipersensibilidade dentinária pós-operatória e pequenos hemangiomas. A maioria dos tratamentos consistia de uma série de 12 aplicações, duas vezes por semana. Em 15 casos, uma segunda série de aplicações foi realizada. Os pacientes foram tratados com uma dose média de 1,8J/cm². Os autores observaram, neste estudo, que a luz visível de $\lambda=632,8\text{nm}$ e $\lambda=670\text{nm}$ apresentou um efeito mais pronunciado em lesões superficiais e a luz de $\lambda=830\text{nm}$, nas lesões profundas. Os

resultados mostraram que dos 241 pacientes avaliados, 154 indivíduos apresentaram-se assintomáticos. Ao final do tratamento, 50 apresentaram uma melhora considerável e 37 pacientes apresentavam sintomatologia ao final do tratamento. Os autores concluíram que os resultados obtidos confirmaram que a laserterapia é um meio efetivo e benéfico para o tratamento de várias doenças da região maxilofacial. Não ficou claro, entretanto, por que alguns pacientes não responderam bem ao tratamento; os pesquisadores ressaltaram a possibilidade de algumas condições da articulação temporomandibular não responderem da mesma maneira que outras.

Ozawa et al. (1998) analisaram os efeitos da LLLT em culturas de células na proliferação celular, formação de nódulos ósseos, atividade da fosfatase alcalina e na expressão do gene da osteocalcina, utilizando células calvárias de ratos. As células foram isoladas do feto e radiadas com o laser de GaAIs (830nm, 500mW, 3,82J/cm²) em diferentes estágios da cultura celular. A energia total correspondente a 10 minutos de exposição foi de 3,82J/cm². Os pesquisadores realizaram a radiação de forma pulsada, iniciada após um dia da cultura e efetivada uma vez por dia até o décimo sexto dia. Como grupo controle, culturas de células sem radiação foram utilizadas. Os autores observaram que a radiação com laser nos estágios iniciais de cultura de células estimulou significativamente a proliferação celular, a atividade da fosfatase alcalina e também a expressão do gene da osteocalcina. Além disso, a radiação nos estágios iniciais estimulou a formação de nódulos ósseos. Entretanto, estes efeitos não puderam ser encontrados após 21 dias.

Os efeitos do laser não-cirúrgico He-Ne (632,8nm, 35mW) sobre o reparo ósseo de fraturas em tíbia de ratos foram investigados por Luger et al. (1998) usando métodos biomecânicos. Para isso, cinquenta ratos Wistar foram divididos em dois grupos de 25 animais, sendo que todos foram submetidos a fratura do osso da tíbia e fixação interna com fio de Kirschner. O primeiro grupo foi tratado com laser não-cirúrgico He-Ne (632,8nm, 35mW, 2,1J/cm²) aplicado trans-cutaneamente por mais de 30 minutos sobre a área da fratura, sendo que 10 minutos diretamente no local da fratura e 10 minutos em uma área acima e mais 10 minutos em uma área abaixo do ponto de fratura, diariamente, durante 14 dias. O segundo grupo serviu como controle. Depois de quatro semanas os animais foram sacrificados e as peças ósseas (tíbia) foram removidas, examinadas e avaliadas quanto às propriedades mecânicas após o reparo da fratura e testada quanto à tração até o rompimento. A carga máxima na fratura, a dureza estrutural da tíbia e a carga de tensão foram medidas. Os calos ósseos foram checados em duas, quatro e seis semanas. Na segunda semana, todos os calos ósseos encontravam-se muito imaturos. Na quarta semana, a dureza do calo estava próxima da

cura da ferida. Na sexta semana, as fraturas estavam totalmente unidas, e exibiam comportamento de um tipo de tecido duro. A tensão máxima no rompimento foi significativamente maior no grupo irradiado quando comparado ao não-irradiado. Por outro lado, a área máxima do calo foi menor no grupo irradiado. Como resultado, o rendimento da alta tensão foi significativamente maior no grupo irradiado. A dureza estrutural da tíbia foi maior no grupo irradiado com laser não-cirúrgico. Outro achado interessante foi, que no exame da quarta semana, a não união bruta da fratura foi encontrada em 4 dos 19 ratos do grupo controle, e em nenhum do grupo irradiado. Esse pode ser outro parâmetro que mostra os efeitos positivos da LLLT, na cura de fraturas ósseas em ratos. A dose total de radiação utilizada sobre a pele neste estudo foi de $892\text{J}/\text{cm}^2$, e a justificam baseado num trabalho citado por eles (NISSAN et al., 1986), no qual ficou constatado que a pele reduz o nível de energia do laser de He-Ne de 3-6% de sua intensidade original. Os autores concluíram que a LLLT desempenha um importante papel na melhora da cicatrização óssea em ratos.

Lizarelli, Lamano-Carvalho e Brentegani (1999) avaliaram o efeito do laser não-cirúrgico GaAlAs (830nm , $1,5\text{ J}/\text{cm}^2$) no nível da dor e inflamação em 45 pacientes implantados. Foram selecionados 45 pacientes e divididos em três grupos: grupo 1 (G1): controle, sem aplicação de laser, mas com medicação analgésica e antiinflamatória; grupo 2 (G2), pacientes foram irradiados no dia da cirurgia após a conclusão da mesma, e nos dois dias subseqüentes ; grupo 3 (G3): os pacientes foram irradiados dois dias antes da cirurgia, no dia da cirurgia, antes de iniciá-la e após o término da mesma, e nos dois dias subseqüentes. As mensurações com relação a dor e ao edema, foram realizadas no pós-operatório imediato e no pós-operatório 24 horas e 72 horas depois, sempre pelo mesmo operador. A análise estatística dos resultados com relação a sensibilidade a dor, quando comparada G1 com G2 e G1 com G3, tanto no pós-operatório imediato quanto no pós-operatório de 72 horas, observou-se que não existiam diferenças significativas. Até mesmo no pós-operatório imediato G3 mostraram uma tendência significativa, sugerindo um comportamento superior ao G2. Com relação à formação edematosa quando comparados G1 com G2 e G3, tanto do pós-operatório imediato quanto o de 72 horas, não foi observada diferença estatística significativa. Concluindo assim que os G2 e G3 tiveram um comportamento similar ao G1, que recebeu medicação sistêmica analgésica e anti-inflamatória, sugerindo a possibilidade de substituição destes medicamentos pelo laser.

Oliveira (1999) realizou um estudo experimental colocando implantes dentais em tíbias de cães com o objetivo de avaliar clínica e histologicamente, através de MEV, a eficácia do uso do laser diodo (830nm , $3\text{J}/\text{cm}^2$) na cicatrização óssea. Dez cães de ambos os sexos,

com peso médio de 14kg foram usados neste estudo e divididos em dois grupos. Os animais foram irradiados três vezes por semana durante duas semanas, e sacrificados após 45 dias de implantados. De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que acima de 45 dias não é possível detectar macroscopicamente diferenças entre tecido ósseo peri-implantar irradiado e não irradiado. Entretanto, a MEV mostrou que existiram diferenças em relação a estrutura e organização óssea e na vascularização na interface implante/ osso, sendo que os tecidos irradiados apresentaram o osso mais desenvolvido nos terços superior e médio e arranjo lamelar mais denso e compacto na interface titânio/ osso e portanto, uma melhor qualidade de cicatrização óssea.

Kucerova et al. (2000) avaliaram o efeito de diferentes frequências da luz laser diodo GaAlAs (670nm, 20mW, 1,5J/cm²) e laser de He-Ne (632,8nm, 5mW, 1,5J/cm²) no processo de reparo alveolar após a extração de molares em humanos. O período de radiação foi de quatro dias para todos os grupos, com exceção do grupo controle que não recebeu tratamento com laser. A monitorização do nível da IgA secretora e da albumina na saliva e as alterações na densidade óssea foram utilizadas como marcadores do efeito da bioestimulação óssea. Para a avaliação do desconforto pós-operatório, prepararam um questionário especial com uma escala da sensação pós-operatória. Os resultados revelaram uma diferença significativa nos níveis dos marcadores salivares (IgA e albumina) entre os grupos irradiados e o grupo controle. Observaram diferenças significativas nos sentimentos subjetivos durante o tratamento. A densidade óssea, após a exodontia e depois de seis meses do tratamento foi examinada por meio de radiografias digitais. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada entre a densidade óssea entre os grupos radiado e controle. Os autores justificaram este resultado levantando a hipótese da influência do protocolo de terapia utilizado. Concluíram que a laserterapia melhora subjetiva e objetivamente a cicatrização após as exodontias, podendo ser recomendada como um método de escolha clínica.

Dörtbudak, Haas, Mailath-Pokorny (2000) pesquisaram o efeito do laser diodo (690nm, 21mW, 1,6J/cm²) de forma pulsátil em culturas de osteoblastos de ratos. Células da epífise femural de ratos jovens foram removidas e marcadas com tetraciclina. Três grupos, com 10 culturas cada um, foram radiados três vezes, por um período de 60s, no terceiro, quinto e sétimo dias, a 1cm acima das culturas. Outros três grupos, com 10 culturas cada um, foram utilizados como grupos controles. O método da fluorescência com tetraciclina foi utilizado para comparar o crescimento ósseo nos espécimes após um período de 8, 12 e 16 dias. Os resultados mostraram um crescimento maior (10-15%) das populações de células irradiadas após 12 dias, comparado com os grupos controles. De modo geral, todas as culturas

irradiadas apresentaram um depósito ósseo significativamente maior que os grupos controle, o que levou os autores a concluir que a LLLT teve efeito bioestimulador nos osteoblastos *in vitro*.

O corte traumático ou cirúrgico de um osso longo é imediatamente seguido por uma seqüência de processos reparadores nos quais as células osteogênicas do perióstio começam a proliferar e a diferenciar-se em osteoblastos. Freitas, Branauskas, Cruz-Höfling (2000) analisaram a influência do laser He-Ne na osteogênese após uma fratura cirúrgica controlada em ratos Wistar, com início de terapia 24 horas após a cirurgia. Os animais foram separados em três grupos, de acordo com as doses de radiação. Após radiações diárias, os espécimes foram sacrificados, no oitavo e no décimo quinto dias pós-operatórios. As tíbias contralaterais não receberam radiação e serviram como controle. Através de microscopia eletrônica e óptica, os autores observaram que a laserterapia, com doses de $94,7\text{J}/\text{cm}^2$, resultou na formação de um trabeculado ósseo mais espesso, indicando uma maior síntese de fibras colágenas. Entretanto, a dose de $31,5\text{J}/\text{cm}^2$ não apresentou diferença aparente entre os grupos experimental e controle. A laserterapia não somente diminuiu o período de cicatrização como também produziu uma maior área de reparo ósseo. O mecanismo biológico relacionado com este processo ainda não está bem definido. A hipótese mais provável é que a energia laser possa excitar as porfirinas e os citocromas (os quais são cromóforos intracelulares), promovendo, desta maneira, uma maior atividade celular, aumentando a concentração de ATP, ALP e liberando cálcio.

Kawasaki e Shimizu (2000) investigaram o efeito da laserterapia na velocidade da movimentação dentária e na remodelação óssea durante movimento ortodôntico experimental em ratos, utilizando o laser GaAlAs contínuo (830nm , 100mW , $35,3\text{J}/\text{cm}^2$). Procederam às radiações diariamente, durante nove minutos, por um período de 13 dias. Os efeitos do laser foram avaliados quantitativamente pela estimativa da quantidade de movimento dentário e pela formação óssea, bem como pelo número de antígenos de proliferação do núcleo celular (PCNA), no lado da tração (imunohistoquímica), e o número de osteoclastos, no lado da compressão (histometria). Os resultados revelaram que, no grupo irradiado com laser, a quantidade de movimentação dentária foi significativamente maior do que no grupo controle (sem radiação) no final do tratamento. A quantidade de osso formada e a taxa de proliferação celular, no lado da tração, assim como o número de osteoclastos, no lado da pressão, foi significativamente maior no grupo experimental, quando comparado com o grupo controle. Os autores concluíram que o laser de GaAlAs estimula o movimento dentário, o qual é acompanhado por uma aceleração na remodelação do osso alveolar, indicado pelo aumento no

número de osteoclastos, pela proliferação celular do ligamento periodontal e pela formação de osso mineralizado.

Torricelli et al. (2001) avaliaram, *in vitro*, o efeito bioestimulador do laser GaAlAs de emissão pulsátil, na cartilagem óssea. Para o estudo, culturas de condrócitos derivadas de cartilagem humana e de coelhos foram expostas ao tratamento com laser, utilizando os seguintes parâmetros: $300\text{J}/\text{cm}^2$, 1mW e 100Hz ou 300Hz . As aplicações foram realizadas por 10 minutos, diariamente, por cinco dias consecutivos. O grupo controle não recebeu tratamento com laser. Os resultados exibiram efeito positivo na bioestimulação da proliferação celular em relação ao grupo controle. Os melhores resultados foram obtidos no final do experimento nos grupos de 300Hz em células da cartilagem de coelhos e 100Hz na cultura de condrócitos derivadas de cartilagem humana. Houve aumento na viabilidade de condrócitos irradiados em até cinco dias após o término das radiações. Para os autores, os resultados obtidos no estudo proporcionaram uma base para a utilização racional do laser, com os parâmetros avaliados, tanto experimental quanto clinicamente.

Pinheiro et al. (2001) avaliaram histologicamente, através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), a eficácia do laser de diodo (830nm , 40mW , $4,8\text{J}/\text{cm}^2$), na biomodulação óssea em peri-implantes em cães. Dez animais foram divididos em dois grupos de cinco, onde três foram irradiados e dois atuaram como controle. As radiações foram realizadas três vezes por semana durante duas semanas e os sacrifícios em 45 e 60 dias após a cirurgia para colocação dos implantes. Os resultados mostraram que nos animais tratados, houve uma melhor cicatrização óssea, maior vascularização e um arranjo lamelar mais compacto, e que estas características foram melhores observadas na região dos terços superior e médio do implante. Para os autores, isto pode ter ocorrido em face do comprimento do implante que era de 9mm e o cone de difusão do laser é da ordem de 6mm .

Ueda e Shimizu (2001) avaliaram o efeito de diferentes frequências de pulso do laser na formação de nódulos ósseos, em osteoblastos de células calvárias de ratos. As células foram radiadas uma única vez com laser GaAlAs (830nm , 500mW), com dois protocolos distintos de radiação: contínuo e pulsado (1Hz). A energia total foi de $3,84\text{J}/\text{cm}^2$, para ambos os grupos. Os autores avaliaram os efeitos na proliferação celular, formação de nódulos ósseos, atividade da fosfatase alcalina e na expressão gênica da fosfatase alcalina. Em ambos os grupos, a proliferação celular, a formação de nódulos ósseos, a atividade da fosfatase alcalina e a expressão gênica da fosfatase alcalina foram estatisticamente representativas, quando comparados com o grupo controle não-irradiado. A radiação na forma pulsada estimulou mais acentuadamente todos estes fatores, quando comparado com o grupo de laser

contínuo. Os autores chegaram à conclusão que a radiação com o laser pulsado de baixa frequência (1Hz) estimulou mais significativamente a formação óssea, *in vitro*, quando comparada com a radiação contínua. Embora a capacidade estimuladora da radiação laser seja influenciada por fatores como dose total de energia, espectro da luz, densidade de potência e fase de radiação, a frequência de pulso da radiação do laser não-ablativo deve ser considerada um fator importante na resposta biológica dos tecidos.

Almeida-Lopes et al. (2001) estudaram o efeito da laserterapia em cultura de fibroblastos humanos, comparando o efeito na proliferação celular de laser de luz visível com lasers infravermelhos, mantendo a dose constante de $2\text{J}/\text{cm}^2$ e usando diferentes radiações. A radiação com laser foi realizada com lasers diodo com os seguintes comprimentos de onda de 670, 780, 692 e 786nm. Os resultados mostraram que, nas culturas de fibroblastos em condições de déficit nutricional, quando radiadas com a mesma dose, o laser infravermelho induziu a uma maior proliferação celular quando comparado ao laser visível, quando as potências eram diferentes. Entretanto, lasers de mesma potência de saída apresentaram efeitos semelhantes no crescimento celular, independentemente do comprimento de onda. Para os autores, a terapia com laser de baixa potência melhora a proliferação de fibroblastos, *in vitro*, além de que um menor tempo de exposição resulta em uma maior proliferação.

Kreisler et al. (2002) analisaram os efeitos da radiação laser na taxa de proliferação de fibroblastos gengivais humanos *in vitro*. Um grupo de 110 culturas de fibroblastos foram radiadas com um laser diodo GaAlAs (809nm, 10mW, 1,96 e $7,84\text{J}/\text{cm}^2$). O tempo de exposição variou entre 75 e 300s. Outras 110 culturas de fibroblastos serviram como grupo controle e não receberam radiação. Foram realizadas três sessões de aplicação de laser, em um intervalo de 24 horas. A taxa de proliferação foi determinada pela atividade de fluorescência por um indicador adicionado a cultura celular. A proliferação foi determinada 24, 48 e 72 horas após a radiação. Os resultados mostraram que as células radiadas revelaram uma atividade proliferativa consideravelmente maior. As diferenças foram muito significativas, 24 horas após a radiação, mas diminuíram de uma maneira energia-dependente 48 e 72 horas após a radiação. Os autores concluíram que o efeito da laserterapia nos fibroblastos ficou evidente. Sua duração, entretanto, parece ser limitada. Os pesquisadores ressaltaram que os resultados encontrados podem ser clinicamente relevantes, indicando que tratamentos repetitivos são necessários para alcançar um efeito positivo do laser nas aplicações clínicas.

Pereira et al. (2002) estudaram o efeito da laserterapia com densidade de energia variando de $3\text{-}5\text{J}/\text{cm}^2$, durante um período de 1-6 dias, no crescimento e na síntese de procolágeno por fibroblastos NIH-3T3 cultivados *In Vitro*. A fonte de energia foi um diodo

laser GaAlAs ($\lambda=904\text{nm}$). Curvas de crescimento e imunoprecipitação de procolágeno foram analisadas neste estudo. As radiações de 3 e $4\text{J}/\text{cm}^2$ aumentaram cerca de três a quatro vezes o número de células quando comparadas aos grupos controles. Entretanto, este efeito foi restrito a uma baixa dose de energia, já que a dose de $5\text{J}/\text{cm}^2$ não produziu efeito sobre o crescimento celular. A densidade de energia de $3\text{J}/\text{cm}^2$ aumentou significativamente o crescimento celular, entretanto, sem nenhum efeito sobre a síntese de procolágeno, conforme demonstrado por imunoprecipitação. Os autores concluíram que a radiação com laser estimula a proliferação fibroblástica sem, contudo, alterar a síntese de procolágeno.

Guzzardella et al. (2002) avaliaram se a estimulação com o diodo laser GaAlAs ($\lambda=780\text{nm}$) poderia acelerar a cicatrização óssea em um estudo *in vitro*. Seis defeitos ósseos foram tratados diariamente por 10 dias consecutivos e outros seis serviram como controle. Os resultados sugeriram que o aumento da atividade da fosfatase alcalina e proteína total poderiam estimular os osteoblastos que, por sua vez, induziriam a osteosíntese. Os autores sugerem que uso do laser de baixa potência pode ser benéfico no reparo ósseo.

Silva Júnior et al. (2002) avaliaram morfológicamente a neoformação óssea após a radiação com laser de 830nm em feridas cirúrgicas criadas em fêmur de ratos. Quarenta ratos Wistar foram divididos em quatro grupos: grupo A (12 sessões de $4,8\text{J}/\text{cm}^2$ por sessão, 28 dias); grupo C (3 sessões de $4,8\text{J}/\text{cm}^2$ por sessão, sete dias). Os grupos B e D serviram como grupos controles não-irradiados. Quarenta e oito horas após a cirurgia, os defeitos dos grupos experimentais foram irradiados transcutaneamente com um laser diodo de 830nm e 40mW , com uma dose total de $4,8\text{J}/\text{cm}^2$. A morfometria computadorizada mostrou uma diferença estatisticamente significativa entre as áreas de mineralização óssea nos grupos C e D. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B (28 dias). Os resultados deste estudo mostraram que a LLLT favorece o processo de reparo ósseo nos períodos iniciais.

Dörtbudak, Haas e Mailath-Pokorny (2002) avaliaram os efeitos da laserterapia (690nm , 1mW , $6\text{J}/\text{cm}^2$, 60s) em osteócitos e também na reabsorção óssea em locais de implantes, em cinco babuínos machos. Quatro lojas foram realizadas em cada crista ilíaca, para acomodar os implantes. Os sítios do lado esquerdo foram irradiados com laser imediatamente após a inserção dos implantes. Após cinco dias, os resultados foram analisados histologicamente. Os resultados mostraram que o número de osteoblastos viáveis era maior nas amostras dos grupos submetidos à radiação laser imediatamente após a colocação dos implantes em comparação com o grupo controle, sugerindo uma maior quantidade de osso vital presente na área irradiada do que nas áreas não-radiadas. A reabsorção óssea, em

contraste, não foi afetada pela laserterapia. Os autores concluíram que a radiação laser pode ter efeitos positivos na integração de implantes e que é possível a cicatrização ser acelerada por meio de tal processo.

Guzzardella et al. (2003) estudaram o efeito do LLLT em implantes dentários em fêmur de coelhos, utilizando um laser diodo GaAlAs (780nm, 1W, 300J/cm², emissão pulsátil por 10 minutos), transcutaneamente. No mesmo animal, o fêmur esquerdo foi irradiado e o direito serviu como controle, não recebendo radiação. Os dados foram analisados histomorfometricamente e quanto à microdureza. Os resultados mostraram uma melhor união entre o tecido ósseo e os implantes após a LLLT, quando comparado com o grupo controle.

Nicola et al. (2003) avaliaram a atividade de células ósseas após a irradiação com laser diodo GaAlAs (660nm, 0,005W, 10,0J) em culturas de osteoblastos de ratos próxima ao sítio da lesão óssea. Para o estudo, fêmures de 48 ratos receberam perfuração. Os animais foram divididos em dois grupos com 24 ratos: um experimental, e um grupo controle, o qual não recebeu radiação. O grupo experimental foi irradiado no segundo, quarto, sexto e oitavo dias após a cirurgia. Os resultados foram avaliados por meio de histomorfometria óssea. Segundo os autores, a atividade celular foi maior no grupo irradiado, quando comparado ao grupo controle, concluindo que a laserterapia aumenta a atividade nas células ósseas, tanto na reabsorção quanto na formação, ao redor do sítio de reparo no período inflamatório do processo de reparo ósseo, sem, entretanto, alterar a estrutura óssea.

Pinheiro et al. (2003) estudaram, histologicamente o efeito da LLLT no reparo de defeitos ósseos em ratos associados com enxertos ósseos e membrana. Utilizaram um laser diodo GaAlAs (830nm, 40mW, e dose de 16J/cm² por sessão totalizando 112 J/cm² no final do tratamento). Os resultados mostraram um reparo mais avançado nos grupos irradiados quando comparados com os não-irradiados.

Garavello, Baranauskas e Cruz-Höfling (2004) avaliaram a influência da LLLT na formação de novos vasos sanguíneos do osso medular neoformado em áreas irradiadas. O laser de He-Ne ($\lambda=633\text{nm}$, 31,5 e 94,5J/cm²) foi usado diariamente, até o dia do sacrifício (7 e 14 dias). Os resultados mostraram que a terapia a laser aumentou o número de vasos sanguíneos depois de 7 dias de irradiação, mas diminuiu significativamente o número de vasos no grupo de 14 dias, sendo esses efeitos atribuídos ao uso do laser uma vez que nenhum aumento significativo do número de vasos sanguíneos foi detectado entre o primeiro e o segundo grupo.

Khadra et al. (2004a) utilizaram a LLLT para verificar a formação óssea em defeitos criados cirurgicamente em ratos. O laser GaAlAs (830nm, 75mW, 23J/cm²) foi usado nesta

feridas. A irradiação foi feita imediatamente após a cirurgia e nos 6 dias consecutivos. O sacrifício se deu nos décimo quarto e vigésimo oitavo dias. Foram realizadas análises histológica e imuno-histoquímica para verificar o grau de deposição de cálcio, fósforo e proteínas nas feridas. Na análise imunohistoquímica foram encontrados maior quantidade de cálcio, fósforo e proteína nos grupos irradiados do que no grupo controle, da mesma forma os achados histológicos mostraram angiogênese pronunciada nos grupos experimentais.

Khadra et al. (2004b) utilizaram laser diodo GaAlAs de emissão contínua (830nm, 150mW) para investigar a cicatrização de implante de titânio e sua inserção no osso da tíbia (4 implantes/ animal) de 12 coelhos. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos irradiado e controle. A irradiação foi iniciada imediatamente após a cirurgia e diariamente durante 10 dias sucessivos, nos quais os animais receberam 9 doses de 3J em cada tíbia por sessão. Foram irradiados 9 pontos ao redor dos implantes, durante 20s/ ponto, com densidade de energia de 23 J/cm². Os resultados sugerem aumento da resistência mecânica na interface entre o implante e osso no grupo irradiado. As porcentagens de peso de cálcio e fósforo foram significativamente mais altas no grupo irradiado quando comparado ao grupo controle, sugerindo que maturação de osso processou mais rapidamente em osso irradiado. Estes resultados sugerem que LLLT pode ter efeito favorável em cicatrização e inserção de implantes de titânio no osso.

A terapia laser de baixa potência (LLLT) é estudada em muitos campos da Odontologia, porém existem poucos trabalhos associados Ortodontia. Cruz et al. (2004) analisaram onze pacientes para este estudo por dois meses. Uma hemi-arcada superior foi considerada grupo controle (CG) e recebeu ativação ortodôntica dos dentes caninos a cada 30 dias. A outra hemi-arcada superior recebeu a mesma ativação ortodôntica e foi irradiada com um laser de diodo (780nm, 20mW, 5J/cm²), durante 10s, em 4 dias de cada mês. Todos os pacientes mostraram aumento da aceleração significativa da retração de caninos no lado tratado com LLLT quando comparado ao controle. Os resultados sugerem que o LLLT acelera o movimento dentário humano e reduz consideravelmente a duração do tratamento.

Gerbi et al. (2005) investigaram o efeito do laser GaAlAs de emissão contínua (830nm, 40mW, 16J/cm²) no reparo de defeitos cirúrgicos criados no fêmur associados a enxertos de osso bovino liofilizado e/ ou membrana em ratos Wistar. Neste estudo afirmaram que a LLLT teve efeito positivo na cicatrização óssea associada com enxerto contendo ou não membrana. Estes efeitos foram notados nos estágios precoces (15 dias) quando houve aumento da quantidade de fibras colágenas. Nos estágios finais ocorreu aumento de atividade osteoblástica com formação de trabeculado ósseo organizado.

Pinheiro e Gerbi (2006) realizaram uma revisão dos trabalhos publicados a respeito da LLLT, e através do relato de 34 artigos de cicatrização óssea *in vivo* e *in vitro*. Encontraram que a LLLT tem efeito positivo. Segundo os autores o laser infra-vermelho pode aumentar a proliferação de osteoblastos, depósito de colágeno e formação óssea.

Pinheiro e Gerbi (2006) descrevendo acerca da fotoengenharia do processo de reparo ósseo confirmaram que a laserterapia com comprimento de onda no espectro infravermelho estimula a proliferação osteoblástica, deposição de colágeno e neoformação óssea, desde que, aplicada nos momentos iniciais da reparação óssea, com predominância da fase proliferativa celular. As respostas vasculares à laserterapia têm sido sugeridas como possíveis mecanismos responsáveis pelos resultados clínicos positivos observados. Afirmaram também, permanecer incerto o mecanismo pelo qual se desenvolve a estimulação óssea, sugerindo ser um efeito sistêmico ou uma estimulação isolada dos osteoblastos. Os autores concluíram que o efeito da laserterapia na regeneração óssea depende não apenas da dose total de radiação, mas também do tempo e do modo da radiação. Afirmaram que a densidade de energia e a dose são fatores biológicos independentes. Essa independência contribui para o sucesso ou fracasso da laserterapia de baixa intensidade.

Fukuhara et al. (2006) investigaram o efeito da LLLT em osteoblastos *in vivo* de ratos Wistar, usando o diodo laser GaAlAs (905nm) com densidade de energia de 1,25J/cm². Os resultados demonstraram que a LLLT induziu a aceleração da formação óssea e melhorou a cicatrização do tecido.

Limpanichkul et al. (2006) testaram a hipótese de que as forças mecânicas combinadas com uma laserterapia de baixa intensidade estimulam o padrão de movimentação dentária ortodôntica. Para isto analisaram *in vivo* utilizando uma amostra de 12 pacientes adultos jovens, os quais necessitavam de retração dos caninos superiores após exodontia prévia dos primeiros pré-molares do mesmo arco. Os pacientes foram irradiados com um aparelho GaAlAs, cujo comprimento de onda era 860nm, potência de saída 100mW e ponteira de aplicação com uma área de 0,09 cm². Foi aplicada uma dose de 25 J/cm² divididos em oito pontos, com 23s de irradiação em cada ponto. A laserterapia foi realizada nos três primeiros dias após a ativação do aparelho, sendo que este procedimento foi repetido durante quatro meses incluindo o mês de instalação do aparelho. Através de uma análise macroscópica para quantificar a movimentação ocorrida, os resultados obtidos não demonstraram diferença significativa entre os grupos em nenhum dos períodos avaliados, concluindo que a dose aplicada no trabalho tenha sido muito baixa para que o laser expressasse qualquer efeito, seja estimulante ou inibitório da movimentação ortodôntica.

Weber et al. (2006) verificaram histologicamente o efeito do LLLT na cicatrização de defeitos ósseos em fêmures de 60 ratos *Wistar* associados a enxertos autógenos. O aparelho utilizado tinha um comprimento de onda de 830 nm; potência de 50mW e a dosagem de 10J/cm², sendo esta fracionado em quatro pontos durante a aplicação. Os animais foram divididos em quatro grupos, com 15 exemplares em cada grupo, de acordo com o protocolo de radiação no transoperatório: G1 (grupo controle); G2 (radiação na loja cirúrgica); G3 (radiação no enxerto ósseo) e G4 (radiação na loja cirúrgica e no enxerto ósseo). Todos os animais, com exceção do grupo controle, foram radiados por 15 dias, a cada 48h, com uma dose de 10 J/cm² (4 x 2,5 J/cm²), em quatro pontos diferentes, com períodos de observação de 15, 21 e 30 dias. Os resultados obtidos demonstraram que nos grupos em que o laser foi aplicado na loja cirúrgica, no transoperatório (G2 e G4), a atividade de remodelação óssea foi qualitativa e quantitativamente mais exuberante quando comparada a dos grupos G1 e G3, resultando assim, em um efeito de biomodulação positiva sobre o processo de cicatrização óssea em enxertos ósseos.

Silva e Camili (2006) avaliaram o efeito da LLLT em defeitos ósseos criados cirurgicamente em calvária de ratos tratados com enxertos autógenos, usando o diodo laser GaAs (735nm), potência 2,4mW e densidade de energia de 5,1 e 10,2J/cm². Os resultados mostraram que os enxertos irradiados estimularam a osteogênese durante as fases iniciais do processo de cicatrização e que este efeito era dose-dependente. Não se observou efeito do laser após 15 dias, provavelmente porque as células já se encontravam em estágios avançados de diferenciação.

Nissan et al. (2006) realizaram um estudo biomecânico para avaliar o transporte de cálcio em cavidades cirúrgicas em mandíbulas de ratos, após a irradiação com laser semiconductor GaAs (904nm, DP de 4 e 22,4mW, DE de 0,72 e 4,32J/cm²), com um período de uma, duas e quatro semanas de tratamento, para cada grupo de animais. No mesmo animal foram usados ambos os lados da mandíbula; um lado como controle, sem irradiação e o outro lado foi irradiado. Verificaram que a densidade de potência baixa é mais efetiva no aumento de cálcio, ou seja, no reparo ósseo de cavidades criadas cirurgicamente. A atividade da fosfatase alcalina foi semelhante para ambos os grupos tratados e não-tratados, indicando atividade osteoblástica similar.

Kamali et al. (2007) analisaram o efeito biomecânico de cartilagem reparada após a irradiação com laser GaAs (890nm, 60mW, 4,8J/cm²). Nenhuma diferença foi encontrada nas propriedades biomecânicas da cartilagem reparada no período de 4 e 16 semanas após a cirurgia, porém após 8 semanas a LLLT aumentou o tecido de reparo na região.

Miloro, Miller e Stoner (2007) utilizaram a LLLT após distração osteogênica em coelhos com o objetivo de verificar a possibilidade de acelerar a regeneração óssea e diminuir a extensão da fase de consolidação óssea. Utilizaram o diodo GaAlAs (820nm, 400mW, 36J/cm²). Os resultados foram analisados radiográfica e histologicamente. Afirmaram que a LLLT acelerou o processo de regeneração óssea após a fase de distração osteogênica.

Lopes et al. (2007) avaliaram através do espectroscópio Raman a incorporação de hidroxiapatita de cálcio e a qualidade da cicatrização óssea ao redor de implantes em coelhos após a LLLT com GaAs (830nm, 10mW, 86J/cm²). Concluíram que a LLLT melhora a cicatrização óssea ao redor de implantes dentários. Além disso, houve redução no tempo de cicatrização óssea.

Liu et al. (2007) avaliaram os efeitos biológicos do LLLT em tíbias fraturadas de coelhos usando um aparelho laser de emissão contínua, com comprimento de onda 830 nm, densidade de energia 40J/cm² e 200mW/cm². A irradiação foi imediatamente após a cirurgia e continuou diariamente por 4 semanas. Este estudo sugeriu que o LLLT pode acelerar o processo de reparo de fraturas, principalmente nos estágios precoces, da absorção do hematoma e remodelação óssea, porém, os autores recomendaram futuras pesquisas para quantificar esses achados.

Kim et al. (2007) investigaram a ação do LLLT no processo de cicatrização de implantes dentários. Num experimento em ratos verificaram a expressão do RANK, RANKL e osteoprotegerina. Verificaram que estas proteínas foram influenciadas pela LLLT resultando num aumento da atividade metabólica do osso e da atividade das células ósseas.

Seifi et al. (2007) investigaram os efeitos quantitativos de um laser de 850nm (*Optodan*) de emissão pulsada e outro de 630 nm de emissão contínua (*KLO3*) no movimento dentário ortodôntico em coelhos. Dezoito coelhos albinos foram divididos em três grupos iguais: controle, *Optodan* e *KLO3*. Em todos os grupos, mola fechada de NiTi foram usadas nos primeiros molares mandibulares. O grupo controle não foi irradiado com laser. Os dentes dos grupos experimentais foram irradiados 9 dias, de acordo com os protocolos terapêuticos periodontais. Os animais foram sacrificados após 16 dias. Foi medida a distância entre a face distal do primeiro molar e à mesial do segundo molar. Os resultados do estudo insinuam que a quantidade de movimento dentário ortodôntico após LLLT foi reduzida. Não pôde ser concluído que qualquer LLLT reduzirá a velocidade de movimento dentário ortodôntico, e estudos adicionais com menos ou mais energias podem mostrar resultados diferentes.

2 PROPOSIÇÃO

O propósito deste estudo foi analisar após a disjunção rápida da sutura palatina mediana em ratos Wistar:

- histologicamente a remodelação óssea no grupo radiado e não irradiado,.
- comparar imagens obtidas por técnica radiográfica convencional e por microtomografia computadorizada.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Amostragem (Seleção dos Animais)

Foram usados para este experimento um total de 65 ratos da raça Wistar (*Rattus norvegicus, albinus*) machos com 6 semanas de vida (jovens em desenvolvimento). Os ratos foram fornecidos pelo Biotério I da Faculdade de Odontologia de São Paulo – Câmpus Ribeirão Preto - FORP-USP. Os procedimentos desta pesquisa obedeceram às recomendações éticas e legais especificadas no Manual aprovado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal COBEA (2006), onde estão incluídas as recomendações legais conforme a Lei nº 6.638, de 08/ 05/ 1979, publicada no Diário Oficial da União. O presente projeto também foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto FORP – USP sob o nº 05.1.1276.53.7 (ANEXO A, página 165).

Antes do início do experimento, os ratos passaram por rigoroso controle genético, e foram submetidos a triagem por parte de médicos veterinários da referida instituição. Foram selecionados apenas animais sadios sem qualquer alteração do metabolismo ósseo e em lotes com idade e peso aproximados. Foram selecionados animais machos para eliminar qualquer variabilidade hormonal devido ao ciclo reprodutivo das fêmeas. O estado de saúde de cada rato foi avaliado por peso corpóreo diariamente monitorado durante uma semana antes do início da pesquisa. A escolha deste modelo animal baseou-se principalmente na disponibilidade, facilidade de manipulação, possibilidade de padronização da amostra e por ter sido utilizado em várias pesquisas (TRELLES; MAYAYO, 1987; SAWADA; SHIMIZU 1996; SAITO; SHIMIZU 1997; LUGER et al., 1998; OZAWA et al., 1998; FREITAS; BRANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2000; SILVA JÚNIOR et al., 2002; GERBI et al., 2005) sobre o mesmo assunto, podendo ser aproveitadas para fins comparativos.

Durante o período experimental os animais permaneceram em gaiolas plásticas específicas para este fim, forradas com raspas de madeira (maravalha de *pinus*), ou seja, material totalmente inofensivo, atóxico, absorvente, isolante térmico, sem pó, não comestível pelos animais e livre de peças pontiagudas, e com locais apropriados para a colocação de água e alimento. Cada gaiola conteve um número máximo de cinco animais. A maravalha tem a finalidade de absorver a urina dos animais e a água derramada no interior da gaiola,

mantendo o fundo da gaiola-viveiro seco e, foi substituída diariamente, fornecendo assim as condições apropriadas de higiene necessária ao bem-estar e saúde dos animais.

Os animais foram mantidos no biotério de experimentação animal da FORP – USP e alimentados com dieta padrão constituído por ração moída (Labina – Purina) a fim de se evitar eventuais danos ao aparelho ortodôntico, durante a mastigação; e água *ad libitum*, e foram assistidos por dois tratadores de animais da referida instituição. Foi efetuada a troca diária da ração prevenindo a proliferação de fungos, provocada pela exposição prolongada do alimento ao meio ambiente. Água mineral foi fornecida através de dispensadores apropriados, adaptados à gaiola-viveiro (Figura 7, página 85), com bico de aço inoxidável, com capacidade de 500ml, para garantir suprimento constante de água aos animais. Vitamina C (20mg/ 500ml) foi adicionada à água para evitar o aparecimento de sinais e sintomas característicos da sua deficiência, como a redução no consumo de ração e perda de peso, seguida de anemia e hemorragia generalizada (OGAWARA, et al., 1997). Da mesma forma que a ração, a água foi trocada diariamente para se evitar a perda de 50% do valor do ácido ascórbico que ocorre em 24 horas (JOHNSTON; HUANG, 1991).



Figura 7 - Modelo animal utilizado na pesquisa, no interior da gaiola-viveiro.

Não foram usadas substâncias desinfetantes durante a limpeza das gaiolas, para não causar quaisquer interferências no experimento. O fotoperíodo foi controlado com intervalos de dia-noite de 12 horas, para evitar alterações no ciclo metabólico e a temperatura da sala do biotério foi mantida entre 21 e 23°C, ideal para o crescimento e desenvolvimento dos animais. O local foi mantido constantemente arejado e limpo.

Durante a fase experimental, cada animal recebeu marcação individual com caneta esferográfica, servindo para diferenciá-los dentro de seu próprio grupo e dos animais de outros grupos facilitando a sua identificação no momento do sacrifício. Cada gaiola-viveiro teve uma identificação com uma ficha-cartão com a especificação do grupo a qual pertenciam os animais, o período (data/ horário) de instalação do aparelho e do sacrifício.

3.1.1 Distribuição dos animais nos grupos controle e experimental

No presente experimento foram utilizados 65 ratos Wistar machos os quais foram divididos aleatoriamente em um grupo controle (GC) contendo 5 ratos e dois experimentais I e II (GE I e GE II), com 30 ratos cada, ambos os GE submetidos à disjunção imediata, sendo que o GE II foi irradiado imediatamente após a disjunção. Os GE I e GE II foram subdivididos em períodos de acordo com o tempo de disjunção maxilar induzida (Quadro 1, página 87).

Grupo Controle (GC): sem disjunção e sem aplicação de laser.

Grupo Experimental I (GE I): com disjunção da sutura palatina mediana, mas não-irradiado, sendo sacrificados nos seguintes períodos:

- disjunção imediata;
- 6 horas pós-disjunção;
- 24 horas pós-disjunção;
- 48 horas pós-disjunção;
- 7 dias pós-disjunção;
- 14 dias pós-disjunção.

Grupo Experimental II (GE II): com disjunção da sutura palatina mediana e com a irradiação com laser, sendo sacrificados nos seguintes períodos:

- Disjunção-Laser imediata;
- Disjunção-Laser 6 horas;

- Disjunção-Laser 24 horas;
- Disjunção-Laser 48 horas;
- Disjunção-Laser 7 dias;
- Disjunção-Laser 14 dias.

GRUPOS	PERÍODOS DE SACRIFÍCIO	Nº DE ANIMAIS	Nº DE ANIMAIS POR GRUPO
CONTROLE (GC)		5 animais	5 animais
EXPERIMENTAL I (GE I)	Imediato	5 animais	30 animais
	6 horas	5 animais	
	24 horas	5 animais	
	48 horas	5 animais	
	7 dias	5 animais	
	14 dias	5 animais	
EXPERIMENTAL II (GE II)	Imediato	5 animais	30 animais
	6 horas	5 animais	
	24 horas	5 animais	
	48 horas	5 animais	
	7 dias	5 animais	
	14 dias	5 animais	
TOTAL			65 animais

Quadro 1 - Distribuição dos animais da amostra em um grupo controle e nos grupos experimentais.

No **Grupo Controle**, os ratos foram anestesiados como descrito em seguida, e não sofreram uma operação simulada porque a não inserção do anel de metal não tem efeito na formação de osso na sutura palatina mediana conforme constatado em estudos prévios (SAITO, SHIMIZU, 1997). Estes animais foram mantidos sob o mesmo tipo de estresse que os animais experimentais, porém mantendo o. O grupo de animais controle foi utilizado para caracterizar a sutura palatina normal, servindo como parâmetro para comparação histológica e radiográfica com os animais experimentais. Assim, todos os ratos, exceto o **Grupo Controle**, foram submetidos a disjunção de sutura palatina mediana. O **Grupo Experimental I** teve uma operação simulada após a realização da disjunção com a utilização da fibra ótica em contato com a mucosa, porém com o aparelho desligado. O **Grupo Experimental II** teve uma única dose de aplicação de laser sendo a fibra ótica posicionada atrás dos incisivos em contato com a mucosa palatina. A duração máxima do experimento foi de 14 dias.

3.2 Manipulação da Amostra

3.2.1 Anestesia dos Animais

Todos os procedimentos nos animais foram realizados sob anestesia a fim de se evitar ansiedade e/ ou dor. A manipulação dos animais foi realizada de maneira firme e moderada para não provocar estresse desnecessário.



Figura 8 - Animal anestesiado, posicionado e preso na mesa operatória.

Para que os dispositivos ortodônticos pudessem ser posicionados corretamente, os animais dos Grupos Experimentais I e II receberam anestesia profunda, utilizando anestésico Ketamina (Ketamina Agener) e relaxante muscular Xylazina (Dopaser) numa proporção 1:2 respectivamente (1ml/ Kg) por via intramuscular. Para a introdução da agulha, o animal foi imobilizado em posição, com o operador auxiliar segurando o dorso do animal e as patas traseiras unidas e distendidas no sentido do longo eixo do corpo do mesmo. Procedeu-se à introdução da agulha hipodérmica descartável calibre 20mmX0,8mm (Ibrasgamma), acoplada a seringa plástica de 5ml (Plastik), no músculo da perna traseira, com angulação de 45°

aproximadamente, em relação ao eixo horizontal do corpo do animal. Após serem anestesiados os animais foram posicionados na mesa operatória (Figura 8, página 88).

3.2.2 Instalação e Ativação do Dispositivo Ortodôntico para a Disjunção da Sutura Palatina Mediana

O mecanismo de força utilizado foi constituído de um dispositivo ortodôntico com uma seqüência de três anéis totalizando 1,5 mm da largura no sentido méso-distal (Figura 9, página 89), confeccionado com fio de aço inoxidável de 0,5mm de diâmetro (Morelli). Este dispositivo foi colocado entre os incisivos superiores, semelhante ao apresentado na literatura (SAWADA; SHIMIZU, 1996; SAITO; SHIMIZU, 1997) com o intuito de possibilitar a correta calibração e padronização da força empregada em todos os animais, e permitir a disjunção da sutura palatina mediana.



Figura 9 - Medição da largura da mola.

Depois de anestesiados e posicionados na mesa operatória os animais dos Grupos Experimental I e II receberam o dispositivo ortodôntico. Na montagem dos dispositivos ortodônticos foram utilizados alicates nº 139 (ETM), alicate para corte de fio grosso (Dentaurum), espelho bucal (Duflex) e sonda exploradora nº 5 (Duflex). Todos os dispositivos ortodônticos foram confeccionados e instalados pelo mesmo operador e assistente, seguindo sempre o mesmo protocolo.

Previamente a montagem do dispositivo para a disjunção maxilar foi preparada a superfície dos incisivos para aumentar a retenção e estabilizar o dispositivo ortodôntico a ser inserido entre os incisivos superiores. Para isso foi utilizada uma broca esférica diamantada nº 1011 (K.G. Sorensen) em motor de alta rotação (Dabi-Atlante) para confeccionar sulcos rasos, apenas no esmalte, no terço gengival das faces vestibular e distal dos incisivos superiores (Figura 10A, página 90). Tendo em mente que é característica, entre os roedores, a rápida e contínua erupção dos incisivos, para evitar que o aparelho sofresse deformação no período de disjunção, as retenções nos dentes foram feitas o mais cervical possível. Para se prevenir interferências oclusais com o dispositivo ortodôntico, reduziu-se a altura das bordas dos incisivos inferiores com brocas diamantadas cilíndricas nº 1090 (K.G. Sorensen).

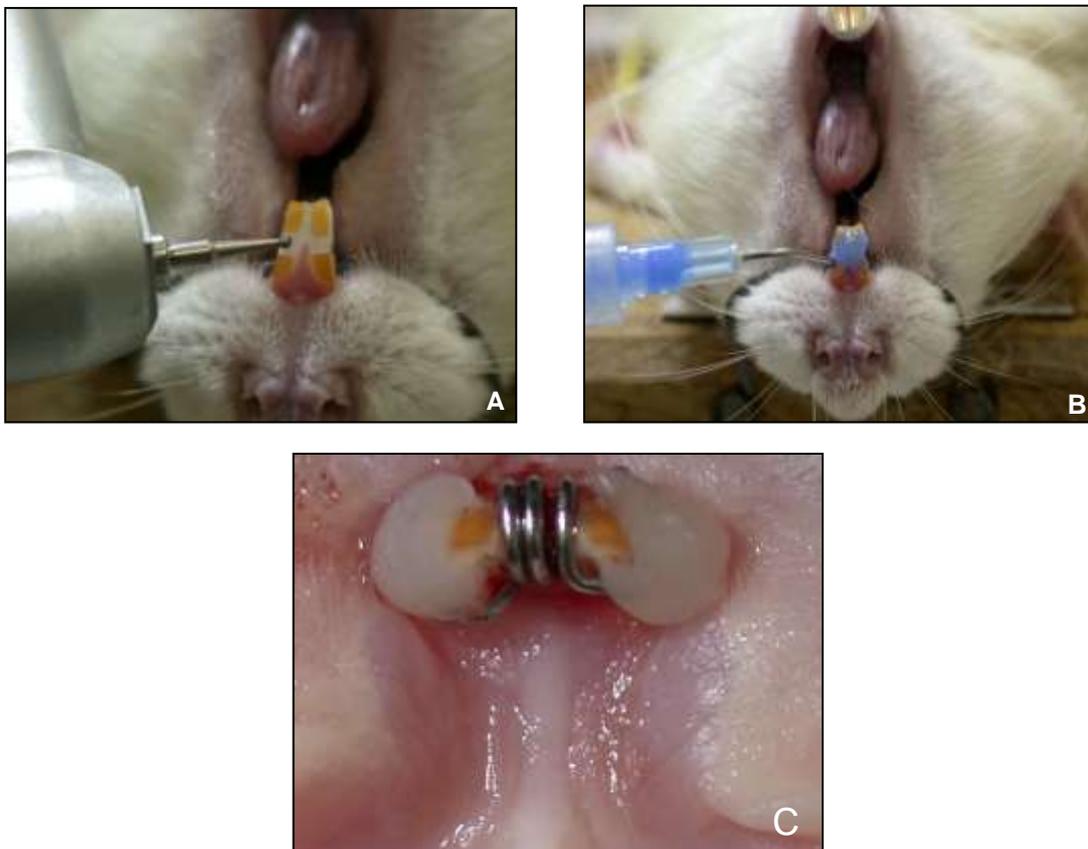


Figura 10 - A) confecção da canaleta nos incisivos, e B) condicionamento do esmalte com ácido ortofosfórico a 37%. C) Pós-fixação do aparelho com resina fotopolimerizável após a expansão numa vista oclusal.

A função das canaletas foi permitir a fixação do grampo adaptado aos incisivos (Figura 10A, página 90). Este grampo foi confeccionado com alicate nº 139 (ETM) e fio ortodôntico de aço inoxidável, de secção transversal redonda de 0,5mm (Morelli), distante da mucosa do palato cerca de 1,0mm. Tal grampo era constituído de um helicóide triplo que

ocupa 1,5mm do espaço em largura méso-distal, localizado na linha mediana, entre os incisivos superiores, sendo que as extremidades desse fio contornavam as faces distais e passavam pela face vestibular até a linha mediana, de forma que pudessem ser inseridas nas canaletas. O tamanho final de cada mola (1,5mm), foi medido com paquímetro digital, permitindo a padronização dessas molas, quando colocadas na cavidade bucal.

Em seguida foi realizada profilaxia dos incisivos com pasta de pedra-pomes misturada com água aplicada em taça de borracha (Viking) em contra-ângulo adaptado ao micromotor (Dabi- Atlante) por 15s. Procedeu-se a lavagem com spray (água-ar) e a secagem com ar proveniente da seringa tríplice e, condicionamento do esmalte nos incisivos utilizando ácido ortofosfórico à 37% em forma de gel (3M), durante 60s, conforme recomendações do fabricante (Figura 10B, página 90).

Na seqüência procedeu-se novamente, a lavagem e secagem das superfícies dentárias, por 15s, com o auxílio da seringa tríplice. O agente de união (Primer e Bond 2.0 – Dentsply) foi aplicado sobre a superfície condicionada do esmalte e fotopolimerizado com luz halógena por 20s com auxílio do aparelho Heliomat II (Vigodent). A resina fotopolimerizável (Transbond-ETM) foi adaptada sobre o segmento de fio nas faces vestibular e distal recobrando-o e, em seguida foi induzida a polimerização por meio de luz halógena, com comprimento de onda de 470nm (Heliomat II, Vigodent), durante 30s, dirigida em orientação oclusal, vestibular, mesial e distal de cada incisivo. Para compensar o desgaste decorrente do contínuo hábito roedor dos animais, várias camadas de resina foram fotopolimerizadas sobre o grampo. A finalidade da resina foi proporcionar retenção adicional; contudo, este aspecto era secundário, uma vez que a adaptação precisa do grampo dentro da canaleta previamente confeccionada foi primordial para sua estabilidade.

A espessura do fio de aço inoxidável foi determinada com base em resultados de um estudo preliminar (SAWADA; SHIMIZU, 1996) que indicou que 1,5mm de separação entre os incisivos induz à taxa máxima de disjunção na sutura palatina mediana sem diminuição contínua do peso corpóreo do animal.

Após a ativação inicial, que foi de 85g, aferida por meio do tensiômetro (ETM Corporation - 1303), devidamente calibrado, o aparelho não recebeu nenhuma outra ativação adicional durante o experimento e seu correto posicionamento foi conferido diariamente, quanto à posição, à estabilidade e à necessidade de correções na eventualidade de estar causando injúrias à mucosa oral do animal. O posicionamento correto do dispositivo

possibilitou que a mola promovesse tração na sutura palatina mediana produzindo pressão no ligamento periodontal do lado distal dos incisivos e tração no lado mesial dos mesmos. De especial interesse, objetivou-se o estudo da sutura palatina mediana, sem, contudo subestimar os efeitos sobre os incisivos.

O peso dos animais foi obtido no início da pesquisa (dia 0) e antes do sacrifício utilizando-se balança de precisão (Marte), com o objetivo de observar quaisquer alterações de peso relacionadas à alimentação e/ ou às condições experimentais. Todos os procedimentos operatórios foram realizados na sala de Cirurgia Experimental do Biotério I da FORP - USP, sob condições de higiene adequadas e pelos mesmos operadores.

3.2.3 Procedimento de Irradiação com Laser

Como fonte de laser de baixa-potência, um dispositivo de laser de diodo de alumínio-gálio-arsenieto (GaAlAs) (DMC – São Carlos – SP) foi utilizado. As especificações técnicas deste dispositivo de laser são como segue: comprimento de onda de 830nm; potência de 100 mW, emissão de onda contínua à 100 mW de potência e densidade de energia de 126J/ cm² emitida por 29s em uma única dose foram usadas com a ponta da fibra óptica em contato com a mucosa. A área do feixe do laser foi de aproximadamente 2,301mm² (Quadro 2, página 93).

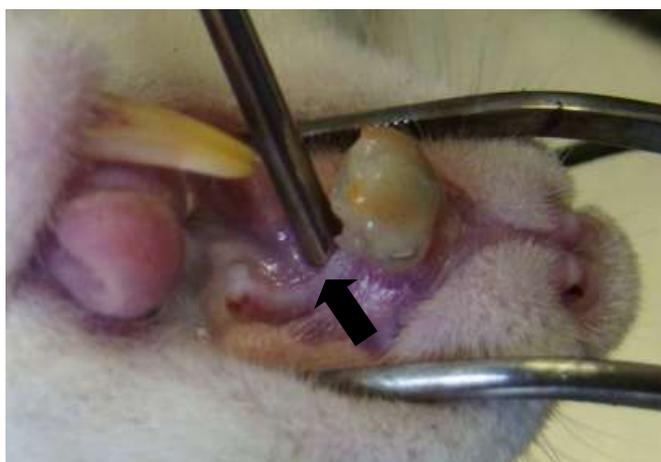


Figura 11 - Vista mostrando a irradiação de laser na sutura palatina mediana em rato. A irradiação foi executada colocando a ponta de fibra óptica (seta preta) em contato com o tecido para prevenir reflexão da ponta de laser na superfície de tecido.

A irradiação foi administrada sob anestesia geral colocando a extremidade da ponta de fibra óptica em contato com a mucosa palatal na linha média no ponto mediano entre a região posterior aos incisivos e a primeira ruga palatina (Figura 11, página 92). O local de aplicação do laser de baixa potência foi determinado a partir de resultados de estudo anterior (SAWADA; SHIMIZU, 1996).

Parâmetros de irradiação	Valores
Densidade de Energia (DE)	126J/ cm ²
Potência	100mW
Comprimento de onda	830nm
Cor	Invisível (IR)
Regime de emissão	Contínuo
Área do feixe	2,301mm ²
Distância da mucosa	Em contato/ método pontual
Momento da aplicação	Imediatamente após a disjunção
Tempo	29s/ 1 ponto de aplicação

Quadro 2 - Protocolo de Irradiação Laser utilizado

3.2.4 Sacrifício dos animais e obtenção das peças anatômicas

Ao término dos períodos experimentais todos os animais foram sacrificados com sobredose do mesmo anestésico usado anteriormente por via intramuscular e perfundidos por via intra-cardíaca. Para isso, foi feito acesso na cavidade torácica, para posicionar na aorta ascendente a cânula de infusão, por via intra-cardíaca, através do ventrículo esquerdo. A perfusão foi iniciada com soro fisiológico (NaCl à 10%) a 38°C, substituindo todo o fluxo sanguíneo, seguida de igual volume de solução fixadora de formol tamponado a 10%, levando em consideração que a quantidade de sangue no organismo representa 7% do peso

corpóreo. Durante esse procedimento, os animais foram mantidos com a boca em abertura máxima, para facilitar a posterior remoção da maxila, objeto de interesse do presente estudo.

Após a perfusão, as cabeças foram dissecadas removendo-se os componentes epiteliais cutâneos e musculares. A dissecação das peças iniciou-se com uma incisão no tecido mucoso oral até o osso, com bisturi cirúrgico nº3 (Duflex), portando lâmina nº11 (Feather). Com o auxílio do perióstomo (1L, Duflex-Inox), foi iniciado o afastamento dos tecidos moles, proporcionando, assim, melhor acesso para a remoção da parte óssea e dentária. Em seguida realizou-se, a dissecação da mandíbula com a desinserção da língua e de toda musculatura sublingual, com o auxílio do bisturi cirúrgico.

A maxila toda, incluindo a sutura palatina mediana foi removida, e em seguida, a peça foi preparada, segundo os procedimentos histotécnicos de rotina, identificada e imersa em solução fixadora de formol tamponado a 10% (Reagen), em volume vinte vezes o tamanho da peça, à temperatura ambiente, por 48 horas.

3.2.5 Preparo histotécnico das peças anatômicas

O preparo das peças para a microscopia ótica foi feito no Departamento de Histologia da FORP – USP. Após o sacrifício, três peças de cada período foram processadas para análise histológica de rotina. Foram fixadas em formol tamponado por 48 horas, mantidas em frascos individuais. Na seqüência, os espécimes foram lavados em água corrente por 24 horas e colocados em solução desmineralizadora à base de EDTA (etileno-diamino-tetraacetatodissódico) 0,5M tamponado em pH básico (7,0 – 7,4) por um período máximo de 4 semanas. Durante a descalcificação, as peças foram armazenadas individualmente, em frascos esterilizados, contendo quantidade de solução descalcificadora equivalente a vinte vezes o seu volume, renovada a cada 72 horas, com o intuito de preservar a matriz orgânica durante o processo de descalcificação.

Para acelerar o processo de descalcificação, as peças foram irradiadas em forno microondas (Continental AW - 42) a 30°C por quatromin, na potência 2. Durante a

irradiação, estas peças foram colocadas em pequenos recipientes de vidro, preenchidos com solução descalcificadora, envolvidos por pedras de gelo para evitar o aumento da temperatura da solução desmineralizadora, durante a irradiação. A solução desmineralizadora era renovada a cada 9 sessões, com lavagem intermediária das peças em solução tampão (cacodilato de sódio 98% tamponado em pH 7.4).

A confirmação da descalcificação das secções anatômicas foi realizada através de radiografias obtidas das peças anatômicas, durante o período de descalcificação, com avaliação do grau de calcificação das peças. Depois de submetidos a desmineralização, todas os espécimes foram imersos em sulfato de sódio a 5% por 24 horas à temperatura ambiente, com a finalidade de neutralizar a ação da solução descalcificadora nas mesmas.

Em seguida, foi realizada desidratação rigorosa, em banhos de álcoois percentualmente aumentados em concentração 70%, 80%, 90% e 100% (Reagen), sucessivamente, por 30min em cada concentração, na temperatura ambiente, com a finalidade de evitar trocas osmóticas bruscas, o que poderia causar alterações nas estruturas. Concluída a desidratação, as peças foram submetidas a três banhos de xilol (Merk), que é miscível com o álcool e com a parafina, removendo todo o álcool e dando ao tecido condição de ser impregnado pela parafina. O tempo de imersão em cada solução de xilol I, II e III dependia da evolução da diafanização. De modo geral, as peças ficavam ao redor de 40min, em cada solução.

Após o xilol ter substituído todo o álcool nas peças, estas foram submetidas a parafinização lenta, promovida por seguidos banhos de xilol-parafina, nas proporções de 2:1, 2:2, e parafina pura (Reagen), sendo que as peças ficaram imersas por uma hora em cada banho. Durante este procedimento as peças foram mantidas numa estufa de temperatura constante regulada para 58°C, até que o xilol fosse completamente substituído pela parafina fundida.

Tão logo a infiltração se completou, as peças foram posicionadas no centro de uma pequena caixa de papel com dimensões aproximadas de 30mm de extensão por 15 mm de largura e profundidade a qual foi preenchida com parafina fundida. Antes da solidificação, cada peça foi posicionada no centro da caixa de papel com parafina, com o auxílio de uma pinça clínica (Duflex), de tal modo que a superfície externa da peça (face vestibular dos molares) ficasse paralela ao sentido dos cortes desejados. Os blocos de parafina solidificados eram identificados e colocados em água gelada e, em seguida, no refrigerador, para evitar sua cristalização.

Os blocos de parafina solidificados foram removidos da caixa de papel, identificados e aparados com navalhas apropriadas, até permanecer 5mm de parafina de cada lado e alcançar paralelismo ideal para serem seccionados no micrótomo rotativo de precisão (Spencer, modelo 820).

Foram obtidos cortes seriados longitudinais com espessura de 6 μ m, no sentido mésio-distal, paralelamente ao longo eixo da sutura palatina mediana. As fitas foram levadas ao cristalizador (Roberts Haw), onde foram distendidas e montadas em lâminas para microscopia (Objektträger – Knittel Gläser). Posteriormente, estas lâminas foram mantidas em estufa, em posição vertical, por 24 horas, a 40^o C, para que a umidade evaporasse e para favorecer a aderência do material à lâmina. Algodão embebido em formol foi colocado na estufa junto com as lâminas para evitar a contaminação dos cortes por bactérias, pois os vapores insolubilizam a gelatina e previnem a poluição microbiana.

3.2.6 Coloração das fitas para microscópio de luz

3.2.6.1 Coloração com Hematoxilina e Eosina (H/E)

Para que o corte pudesse ser submetido à coloração, foi feita a desparafinização das lâminas. Procedeu-se primeiro à eliminação da parafina dos cortes pelo xilol, soluções de xilol I, II e III, com duração de 30min/ solução. Assim que foi constatada a eliminação da parafina dos cortes, iniciou-se o processo de hidratação, quando o xilol foi removido com banhos de álcool absoluto (Reagen) e, em seguida, utilizadas porcentagens decrescentes de soluções de álcool a 90%, 70% e 40%, até chegar à água destilada, com 3min cada. A finalidade deste método foi evitar fenômenos osmóticos bruscos que produziriam retrações e deslocamento do material da lâmina.

Os cortes hidratados foram submetidos à coloração por hematoxilina (Merck) por 10min. Procedeu-se a lavagem das lâminas em água corrente até os tecidos assumirem tom azulado, sendo então, mergulhadas rapidamente em solução de ácido clorídrico a 1% diluído em álcool a 70%. Nova lavagem foi realizada em água corrente por 5 a 10min e rapidamente

no álcool a 95%. A eosina (Merck) foi utilizada de 1 a 3min, dando aos tecidos a cor rosada. A seguir realizou-se nova desidratação com porcentagens crescentes de soluções de álcool (40, 60, 80 e 95%) até chegar ao álcool absoluto (Reagen), quando as lâminas foram submetidas a dois banhos de xilol (Merk). Finalmente, as lâminas foram cobertas com lamínulas montadas com Entelan (Merck).

3.2.6.2 Coloração com tricrômico de Masson

Para que o corte pudesse ser submetido à coloração, foi feita a desparafinização, desidratação e hidratação descritos anteriormente.

Os cortes hidratados foram submetidos ao banho em solução de alúmen de ferro, na estufa por 37°C, por 15min. Procedeu-se lavagem rápida das lâminas em água destilada. Em seguida foram submetidos ao banho no primeiro corante da série, hematoxilina de Regaud por 15min, na estufa a 37°. Foi necessário lavar o suficiente em água destilada para remoção do excesso de corante. Em seguida passou-se rapidamente em álcool 95%. As lâminas permaneceram 30s no ácido pícrico para diferenciação. A seguir foi realizada nova lavagem em água corrente e acompanhamento da diferenciação ao microscópio. Quando completada, lavou-se em água destilada e posteriormente passou ao banho no segundo corante, mistura de Ponceau por 15min. Passou rapidamente em água acetificada a 1% auxiliando na fixação do corante. Para retirar o Ponceau do colágeno procedeu-se banho em ácido fosfomolibdico a 1% por 15min. Para remoção do excesso de ácido mergulhou-se em água destilada. Terceiro corante, fast green foi usado por 7min. Lavagem em água acetificada a 1% para fixar este corante. Em seguida passou-se em ácido fosfomolibdico por 2min. Novamente lavagem rápida em água acetificada a 1%.

Os próximos passos de Desidratação, Diafanização e Montagem, seguem os mesmos procedimentos realizados para H/E, previamente descritos.

Terminada a montagem das lâminas, foi feita a rotulagem, onde os cortes foram identificados e estas lâminas foram acondicionadas em caixas apropriadas e armazenadas em ambiente seco e fresco, estando, finalmente, prontos para exame histológico ao microscópio de luz.

3.3 Análises realizadas

3.3.1 Controle radiográfico

Após o sacrifício foram feitas tomadas radiográficas dos maxilares de 2 amostras de cada período de ambos os **Grupos (Controle e Experimentais)**. O procedimento radiográfico foi realizado com a técnica do paralelismo, sendo que para todas as radiografias, foram usados o mesmo cone longo e o mesmo aparelho de raios-X (FUNK - RX 10) calibrado com o tempo de exposição de 0,5s, 10mA e 60KV. As tomadas radiográficas foram executadas em incidência ortogonal e o posicionamento do filme teve como base as faces oclusais dos molares, de tal forma que a peça ficava centralizada sobre a película radiográfica e o lado referente a rafe palatina ficava em contato com o filme periapical (EP-21P, Ektaspeed plus, tamanho 2 - Kodak).

As soluções de revelador e fixador foram preparadas conforme especificações do fabricante Kodak, sendo que a revelação foi realizada através da técnica temperatura/ tempo (26^oC/ 2,3min), com lavagem intermediária em água, por 30s e a fixação de 15min. Posteriormente, as radiografias foram colocadas em água corrente, por 20min e a secagem foi obtida naturalmente.

3.3.2 Microtomografia computadorizada

Para a realização da tomografia computadorizada, foram utilizadas duas amostras de cada período de ambos os **Grupos (Controle e Experimentais)**. Houve a necessidade de cortar as coroas dos incisivos na região cervical para facilitar a inclusão das peças no metilmetacrilato e posteriormente realizar as microtomografias. Após os procedimentos histológicos de rotina para fixação das peças, a maxila foi embebida em metilmetacrilato

obtendo um bloco (3X3X7 mm²) contendo a maxila e dentes. Este bloco foi escaneado usando um scanner micro-CT (Scanco Medical, Zurik, Suíça), com 24KV de energia e 3,8µm de resolução espacial. As projeções foram feitas de zero a 180° em espaço de 0,25°. As imagens foram escaneadas paralelas ao longo eixo das suturas produzindo cerca de 700 imagens por maxila com 35µm de espessura. Estas imagens foram transformadas em formato .TIFF e analisadas através de um software específico para imagens (Adobe photoshop – Microsoft Corporation®) tornando possível visualizar e acessar as imagens escaneadas.

3.3.3 Descrição histológica

A leitura das estruturas histológicas foi realizada pelo exame histológico de rotina, com o auxílio do microscópio HM-LUX (Leica), da Disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP - USP: 10 NF x 3.2, para visualização panorâmica do preparo histológico; 10 NF x 20, para identificação e visualização das estruturas do periodonto de sustentação e 10 NF x 40, para identificação das células e demais estruturas. Após a análise, as imagens dos cortes foram capturadas pelo microscópio óptico Axioplan (Leica).

4 RESULTADO

4.1 Análise clínica

Os animais desenvolveram-se normalmente e não apresentaram qualquer desvio clínico durante o experimento. Quanto à avaliação de peso apresentada pelos animais, o peso inicial foi, em média, 310 gramas.

Os animais dos **Grupos Experimentais** que foram sacrificados nos períodos iniciais (até 48 horas de instalação do dispositivo ortodôntico), perderam peso durante o transcorrer do experimento (média de peso final de 295g), provavelmente no período de adaptação do animal ao dispositivo ortodôntico instalado. Os animais dos períodos mais longos (7 e 14 dias de instalação do dispositivo ortodôntico) ganharam peso durante o transcorrer do experimento até o momento do sacrifício (média de peso final ao redor de 325g), evidenciando que os procedimentos não resultaram em desconforto contínuo para os animais. Isto confirma que não foi prejudicial a mudança na consistência da ração (moída) destinada aos animais dos **Grupos Experimental e Controle**.

Clinicamente, nos animais do **Grupo Controle** verificou-se que a gengiva marginal livre apresentou-se sadia, sem sinais clínicos de inflamação ou ulceração, a ser analisado nos exames histológicos. Nos animais dos **Grupos Experimentais**, após a remoção do aparelho fixado aos incisivos superiores, foi observada demarcação do grampo sobre a mucosa fina, mas sem a presença de área ulcerada, mostrando leve hiperplasia gengival nos animais dos períodos iniciais.

Não foi observada separação dos pontos de contato na região incisal entre estes dentes em nenhum dos animais do **Grupo Controle**. Porém, na região cervical estes dentes não apresentavam contatos entre si sendo este espaço ocupado pela papila gengival. Em todos os animais dos **Grupos Experimentais**, observou-se, clinicamente, separação do ponto de contato entre os incisivos superiores, a partir da disjunção imediata.

4.2 Análises radiográfica e tomográfica

4.2.1 Grupo controle

Todas as peças anatômicas foram radiografadas imediatamente após o sacrifício e para isso os filmes periapicais foram posicionados paralelos à rafe palatina mediana envolvendo toda a maxila. As microtomografias foram realizadas após estas serem embebidas em metilmetacrilato. As radiografias oclusais das maxilas dos animais mostraram a presença de

três molares e um incisivo em cada hemi-arcada, com pontos de contatos proximais estabelecidos entre incisivos e entre molares, confirmando os achados clínicos.

No exame radiográfico da região da sutura palatina mediana foi visualizado o espaço radiolucente, definido, muito estreito, nítido e bem uniforme, da região anterior (entre os incisivos) em direção posterior (molares). A lâmina dura caracterizou-se por linhas radiopacas definidas, uniformes e equidistantes das bordas da sutura. O osso trabecular apresentou aparência normal caracterizada pela imagem alternada de áreas radiolucentes e finos tabiques radiopacos, porém, essas imagens foram melhores definidas e visualizadas nas microtomografias de todos os animais (Figura 12, página 103).

Na radiografia oclusal não foi possível visualizar por completo o espaço periodontal circundando os incisivos devido a curvatura acentuada das raízes. Entretanto, nas microtomografias da região dos incisivos foi visualizado o espaço periodontal como uma área radiolucente, definida, estreita e bem uniforme, circundando as raízes de conformação normal dos dentes. A lâmina dura caracterizou-se por linhas radiopacas uniformes e equidistantes das raízes dentárias. O osso trabecular se revelou através de uma imagem alternada de áreas radiolucentes e finos tabiques radiopacos, sugerindo uma aparência normal. Numa vista das radiografias oclusais, as coroas dos incisivos superiores estavam em contato e mostravam paralelismo de raiz (Figura 12, página 103). As microtomografias foram feitas após a remoção das coroas dos incisivos, e como esses dentes apresentavam clinicamente contato na região incisal e não na cervical, as microtomografias dos animais controle mostraram a presença de uma camada espessa de tecido ósseo entre os incisivos (região cervical).

4.2.2 Grupos experimentais

Foi observada a separação do ponto de contato entre os incisivos superiores, nas radiografias dos animais sacrificados imediatamente após a realização da disjunção da maxila e colocação do dispositivo ortodôntico, espaço este menor ou da mesma largura méso-distal do dispositivo ortodôntico. Este espaçamento interincisal foi melhor visualizado nas microtomografias e foi mantido até o final do período experimental, confirmando os achados

clínicos e mostravam paralelismo de raízes (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente).

Na região da sutura palatina mediana, no exame radiográfico foi possível visualizar espaço radiolúcido correspondendo ao espaço sutural, porém mais amplo que no grupo controle. A lâmina dura apresentou-se bem nítida, radiopaca e uniforme nos períodos iniciais, porém nas radiografias dos animais do grupo de 48 horas houve perda de nitidez da imagem da lâmina dura do osso alveolar, apresentando-se rarefeita em vários pontos de sua extensão, principalmente na região anterior da sutura palatina mediana. O espaço sutural manteve-se com mesma largura méso-distal já que não houve reativação do dispositivo ortodôntico. Porém, essas imagens foram melhores definidas e visualizadas nas microtomografias do que nas radiografias de todos os grupos (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente).

O espaço do ligamento periodontal dos incisivos apresentou-se bem definido e com largura praticamente constante durante o experimento. A lâmina dura caracterizou-se por uma linha radiopaca. O osso trabecular se revelou por áreas radiolúcidas e radiopacas. Da mesma forma que no grupo controle, as imagens foram melhores visualizadas nas microtomografias do que nas radiografias (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente).

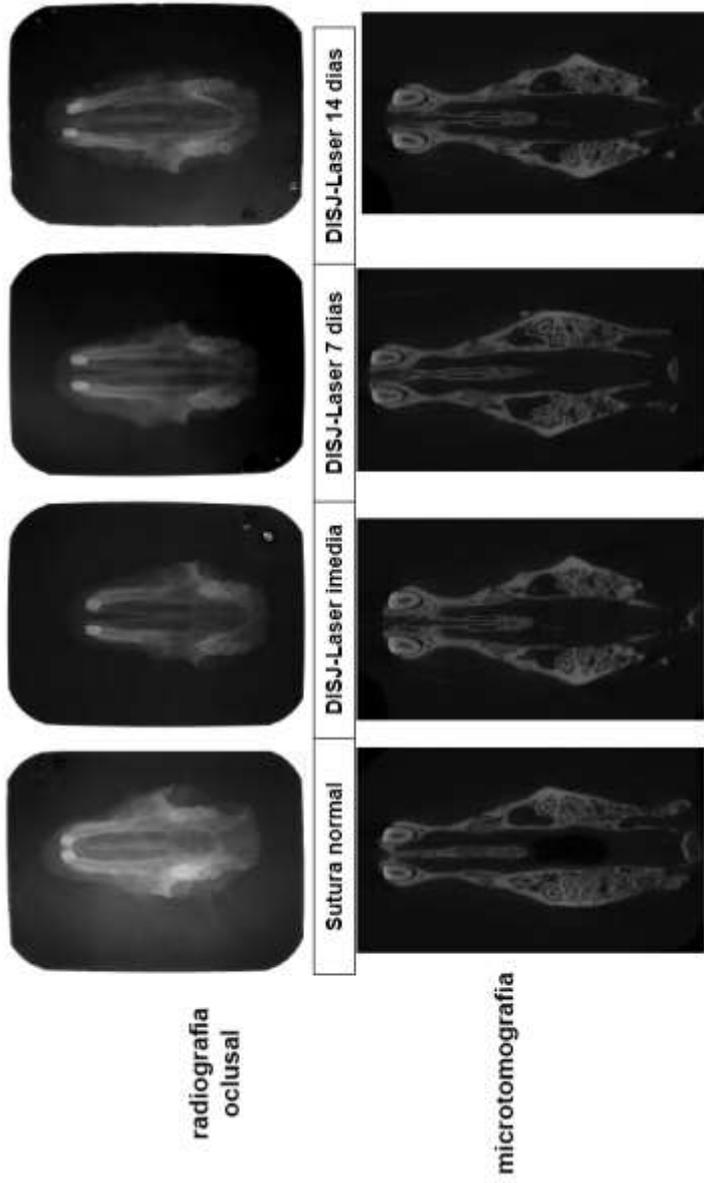


Figura 13 - Fotografias das radiografias oclusais e microtomografias do grupo experimental II (com aplicação de laser), mostrando a imagem da sutura palatina mediana.

4.3 Análise histológica

Foram analisados cortes histológicos seriados, longitudinais da sutura palatina mediana de todos os animais da amostra. Pôde-se observar, em cada lâmina preparada, que a sutura palatina mediana aparecia em toda a sua extensão, desde a região dos incisivos até a região dos molares, porém o modelo de aparelho utilizado abriu a sutura até a porção média da maxila, ao nível das superfícies mesiais dos primeiros molares. Portanto, serão descritos os aspectos relacionados às essas áreas específicas que sofreram tração durante a disjunção. Com o auxílio do registro de cada fenômeno, de forma qualitativa, em quadros constando características tissulares (ANEXO B, página 166), procurou-se descrever os aspectos histológicos.

4.3.1 Grupo controle (sutura normal)

O exame histológico das estruturas da sutura palatina mediana dos animais do **Grupo Controle** mostrou características de normalidade destas estruturas que serviram como termo comparativo com os animais dos **Grupos Experimentais**.

A superfície óssea sutural apresentou-se ligeiramente ondulada e lisa em seu contorno e estava bem regular e organizada, exceto pela presença de perfurações que podiam ser observadas na superfície óssea, devido à irrigação proveniente dos espaços medulares subjacentes, penetrando na região da sutura. Ao longo dessa superfície recoberto-a, verificou-se uma fina camada de tecido osteóide recoberta por osteoblastos em repouso (células achatadas e com núcleos paralelos à superfície óssea e pouco evidentes). Foram notados também alguns osteoblastos ativos (células grandes, arredondadas contendo núcleos cubóides e volumosos e de coloração mais clara) enfileirados na superfície do tecido osteóide, geralmente de maneira organizada, revelando atividade de síntese intensa. O espaço sutural apresentou espessura uniforme em toda sua extensão. O tecido conjuntivo sutural caracterizou-se por ser fibroso, rico em fibroblastos e fibras colágenas e com a presença de capilares em toda extensão do tecido sutural. Os fibroblastos caracterizaram-se por possuírem núcleo ovóide e claro, e nucléolo evidente. Os feixes de fibras colágenas eram espessos e perpendiculares ou oblíquos à superfície da sutura, inseridos no osso (fibras de Sharpey), e

fibras com variadas orientações na porção mediana da sutura. Os vasos sanguíneos, normalmente, seguiam a orientação dos feixes de fibras e apresentaram-se com luz circular ou levemente ovaladas e repletos de células sanguíneas. Na região posterior da sutura, essas fibras colágenas se estenderam de uma superfície à outra do osso, de tal forma que foi possível verificar nítida conexão entre as bordas da sutura, enquanto que na porção anterior, as fibras colágenas da porção mediana eram sagitais. Na região posterior, o tecido sutural revelou numerosos fibrócitos e poucos fibroblastos, e fibras colágenas delgadas sem orientação definida. A maioria das fibras penetrava, perpendicularmente, ao osso e, projetava-se para o centro do espaço da sutura, nas mais diversas direções, onde formava um emaranhado na região central. A camada compacta do osso da sutura apresentou-se rica em perfurações, através das quais os vasos oriundos dos espaços medulares subjacentes penetravam na região da sutura. O osso da pré-maxila revelou cavidades medulares e canais de Havers na metade lateral, sendo que na porção medial as trabéculas estavam paralelas à linha mediana separada por linhas de aposição óssea. Foi notada, também, a presença de numerosos osteócitos, no interior das lacunas. Os sistemas de Havers caracterizaram-se por apresentarem-se organizados e circundados por pequenas cavidades medulares, preenchidas por tecido conjuntivo fibroso. Cada sistema de Havers caracterizou-se por inúmeras lamelas concêntricas, agrupadas ao redor do canal axial estreito, contendo vasos sanguíneos e pequena quantidade de tecido conjuntivo frouxo, observado em grande aumento (Figuras 14A e B, página 111).

4.3.2 Grupo Experimental I (disjunção sem aplicação do laser)

As estruturas da sutura palatina mediana revelaram modificações expressivas de seus componentes, em decorrência da força aplicada. Quando da aplicação da força sobre a coroa dos incisivos superiores, ficou caracterizada a presença de áreas de pressão (faces distais) e de tração (faces mesiais) no ligamento periodontal deste dente, características do movimento de inclinação dentária. Microscopicamente, a gengiva marginal livre entre os incisivos mostrou a instalação de processo inflamatório no seu interior, principalmente nos períodos iniciais de aplicação de força ortodôntica, verificado também ao exame clínico, porém, tal processo não invadiu o periodonto de inserção.

4.3.2.1 Disjunção Imediata

Logo após a realização da disjunção observou-se que houve rompimento do tecido sutural, e alguns fragmentos ficaram aderidos à margem sutural e outros, destacaram-se desta e foram circundados por neutrófilos. A presença de áreas hemorrágicas contendo neutrófilos, linfócitos, hemácias e monócitos foi predominante neste período, em toda a extensão do tecido sutural. Esta hemorragia vinha das cavidades medulares adjacentes a sutura. Foi notada a presença de osteoclastos no interior dessas cavidades medulares. As células do tecido sutural, como os fibroblastos e osteoblastos mostravam-se alteradas com núcleo picnótico (contraídos e achatados). Houve diminuição do número de células e perda de organização dos feixes de fibras colágenas (Figura 14C, página 111).

4.3.2.2 Disjunção 6 horas

Foi observado um afastamento das margens ósseas suturais das hemi-maxilas, mantendo o tecido sutural aderido às suas margens com alguns fragmentos de tecido destacados da margem envoltos por muitos neutrófilos. Ainda havia grande quantidade de hemácias no espaço sutural e neutrófilos, e escassos linfócitos. O tecido sutural remanescente estava alterado, células contraídas com núcleos irregulares e picnóticos e fibras colágenas bastante desorganizadas e poucos vasos sanguíneos íntegros presentes neste período. A superfície óssea caracterizou-se pela presença de osteoclastos (mono ou multinucleados) em lacunas de Howship. Os osteoclastos também foram encontrados no interior das cavidades medulares (Figura 14D, página 111).

4.3.2.3 Disjunção 24 horas

As margens ósseas suturais apresentaram tecido sutural aderido, sendo que em algumas áreas estavam se tornando hialinizadas e outras áreas estavam completamente hialinizadas, onde foi observada a substituição de neutrófilos, células estas que se encontram

em quantidades decrescentes pela autólise. O aspecto do tecido sanguíneo estava muito alterado com a presença de rede de fibrinas. O tecido sutural caracterizou-se por muitas células em degradação, fato também encontrado no interior das cavidades medulares. O fenômeno de lise celular também foi observado. Neste período, apesar de não ser tão evidente, houve início da migração de células mononucleares (linfócitos e macrófagos). Caracterizou-se também pela presença de fibras colágenas em degradação, sendo que algumas apresentavam uma direção sagital. As bordas ósseas da sutura se apresentavam irregular devido a presença de lacunas de Howship contendo osteoclastos em seu interior, caracterizando a reabsorção óssea direta, porém as margens ósseas da cavidade medular também estavam repletas de osteoclastos, caracterizando reabsorção óssea solapante, e esta foi muito mais pronunciada. No interior do tecido ósseo foi constante a presença de osteoplastos contendo osteócitos com núcleos picnóticos ou sem osteócito (osteoplastos vazios) (Figura 14E, página 111).

4.3.2.4 Disjunção 48 horas

Neste período o tecido sutural caracterizou-se por uma ausência de áreas hemorrágicas, porém com escassos fibroblastos preservados e poucos neutrófilos. Ao mesmo tempo que houve redução no número de neutrófilos, foi observada a migração de mononucleares (núcleos grandes e mais claros); com monócitos se diferenciando em macrófagos. Nota-se ainda, muitas áreas “arroxeadas” devido a autólise das células, com os núcleos picnóticos. Nesta região foi observada a presença de áreas semi-hialinizadas, onde o tecido se manteve aderido às margens ósseas suturais, porém em outras regiões, apesar do tecido estar aderido as bordas ósseas, estavam completamente hialinizado, sendo que nesta região há ausência de osteócitos. Parte desse tecido hialinizado caracterizou-se por necrose tecidual e em algumas regiões existiam alguns fibroblastos íntegros, fibras colágenas desorganizadas e presença de estruturas fibrilares (fibras elásticas). A presença de macrófagos também foi evidente (células de núcleo grande e claro; citoplasma grande e avermelhado). No tecido ósseo foi observado osteoplastos vazios (sem osteócitos) ou com osteócitos picnóticos ou monócitos, caracterizando um osso amorfo. As margens ósseas suturais caracterizaram-se pela ausência de osteoblastos. As cavidades medulares do tecido medular mostraram-se alteradas com a presença de muitos osteoclastos, osteoblastos isolados, poucas células do sangue e com a preservação de células reticulares (sustentação). Nessas cavidades medulares

havia a presença abundante de lacunas de Howship com osteoclastos ativos no seu interior, caracterizando a reabsorção óssea solapante. A reabsorção óssea direta (osteoclastos na superfície óssea) só foi observada na porção posterior da sutura onde também se notou osso neoformado (linhas de deposição) próximo a um enfileirado de osteoblastos cubóides (com característica de intensa atividade de síntese), porém tal achado não foi tão evidente e os osteoblastos em atividade de síntese eram escassos neste período (Figura 14F, página 111).

4.3.2.5 Disjunção 7 dias

Nota-se, no tecido sutural, nos dois terços anteriores, grande proliferação vascular, com a presença de neutrófilos (polimorfonucleares) e grande número de mononucleares caracterizando ainda a presença de um infiltrado inflamatório, e, alguns fibroblastos. O terço posterior revela a mesma população celular dos dois terços anteriores, porém em menor quantidade, com exceção dos fibroblastos que são numerosos revelando, inclusive, fibras colágenas em desenvolvimento. Quanto aos vasos sanguíneos estes são numerosos sem a presença de tecido hialinizado, provavelmente, porque já foi fagocitado. Os ossos de sustentação do tecido sutural caracterizaram-se, nos dois terços anteriores, por trabécula óssea remanescente delgada circundada por células inflamatórias. Um pequeno segmento da região anterior revelou um tecido sutural aderido totalmente amorfo (cor roxa por autólise das células), onde a trabécula óssea exibiu lacunas de osteócitos sendo que estas estavam vazias, coradas em roxo mostrando a autólise celular, ou invadidas por neutrófilos. No terço posterior, a trabécula remanescente está um pouco mais espessa com osteócitos preservados. A superfície sutural do osso continha células pouco ativas, e no lado oposto em direção às cavidades medulares havia a presença de numerosos osteoclastos, no interior das lacunas de Howship dentro das cavidades medulares, caracterizando uma intensa reabsorção óssea solapante. Nota-se na região mais posterior algumas trabéculas de osso neoformado desenvolvendo para o lado sutural (Figura 14G, página 111).

4.3.2.6 Disjunção 14 dias

O espaço sutural estava ainda altamente irregular sendo preservado apenas no terço posterior. O tecido sutural, do terço anterior, caracterizou-se por ser mais fibroso, com fibras colágenas desorganizadas, sendo que muitas não eram contínuas em sua extensão, sendo que na região posterior algumas fibras estavam orientadas em sua inserção no osso (fibras de Sharpey). Muitos vasos sanguíneos, fibroblastos abundantes, e células grandes na superfície óssea, revelando atividade dos osteoblastos, e outros que pareciam osteoclastos devido a presença de áreas erosivas, foram evidenciados. Nos ossos de sustentação do tecido sutural deste período, as características eram semelhantes ao grupo anterior. No entanto, a trabécula remanescente voltada para a sutura desapareceu em sua maioria na metade anterior. Os fragmentos pequenos que persistiram caracterizavam-se por lacunas vazias ou invadidas por neutrófilos e osteoclastos. Notou-se na região anterior uma trabécula óssea se desenvolvendo no interior do tecido (linha mediana). As células em contato com a superfície óssea sutural irregular eram volumosas, representadas por osteoblastos e principalmente por osteoclastos. Portanto, pode-se observar locais com franco processo de absorção óssea, onde se evidenciou a presença de alguns osteoclastos multinucleados ativos realizando absorção do tipo frontal, justapostos às superfícies. O tecido ósseo absorvido apresentou contorno irregular e poucos osteoplastos, reduzidos em volume e envoltos de tecido ósseo bem compactado (Figuras 14H e I, página 111).

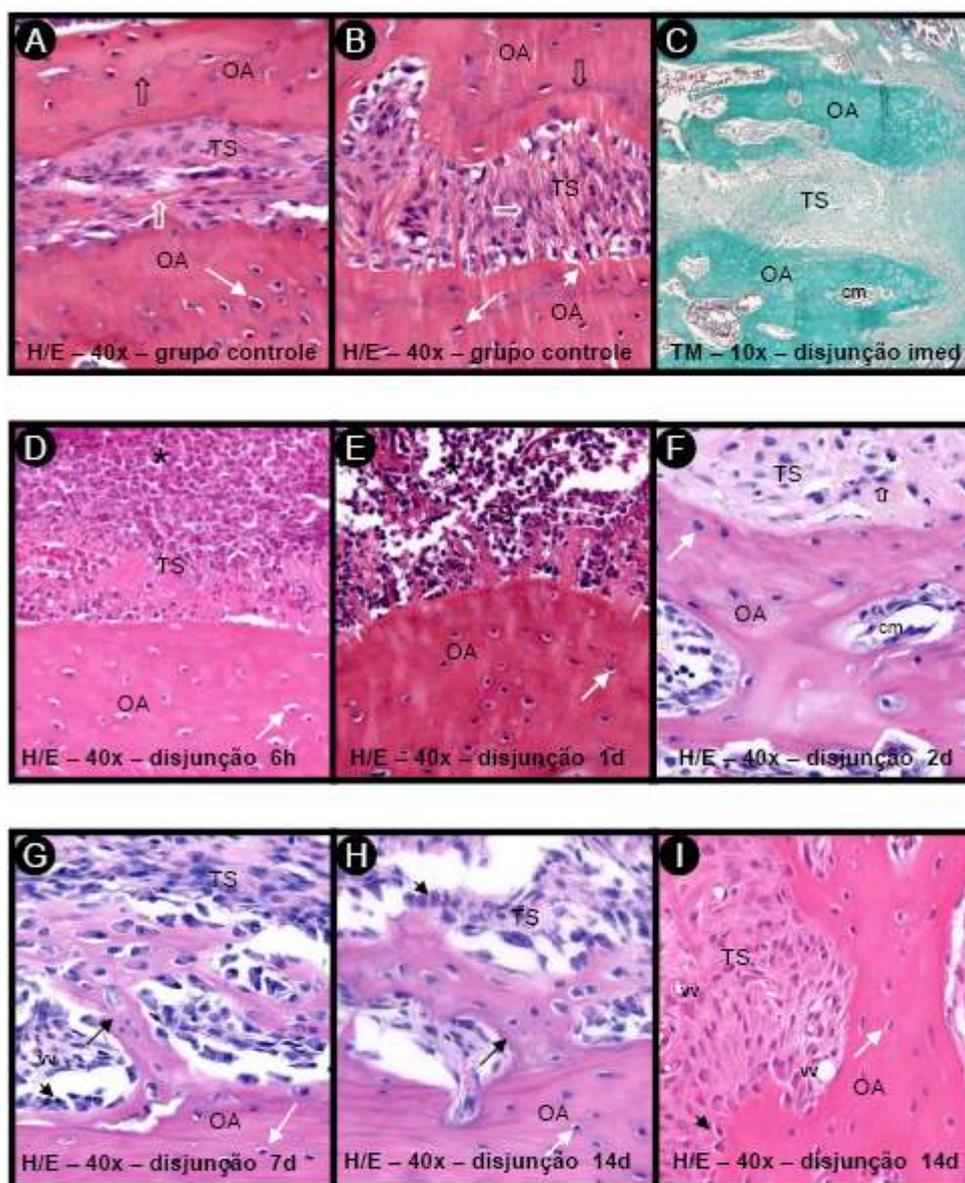


Figura 14 - Fotomicrografias dos campos histológicos dos Grupos Controle e Experimental I. OA) Osso alveolar; TS) Tecido sutural; cm) cavidades medulares; vv) vasos sanguíneos; áreas de formação óssea (setas pretas cheias); linhas reversas (setas pretas vazadas); processo inflamatório (arterisco); osteócitos (setas brancas cheias); fibras colágenas (setas brancas vazadas); fibroblastos (setas pretas vazadas curtas); fibras de Sharpey (cabeça de seta branca) e osteoblastos (cabeça de seta preta).

4.3.3 Grupo experimental II (disjunção com aplicação do laser)

4.3.3.1 Disjunção-Laser imediata

O tecido sutural mostrou-se muito modificado, com mudanças substanciais em seus componentes em função do trauma provocado pelo rompimento da sutura palatina mediana. Notou-se um alargamento desse espaço, principalmente na região anterior da sutura. No terço anterior, as fibras colágenas estavam modificadas e desorganizadas principalmente próximas ao tecido ósseo. Ocorreu vasodilatação em numerosos capilares. Algumas células do tecido sutural apresentavam-se com o núcleo irregular ou picnótico, no entanto, na sua maioria eram normais. A superfície óssea sutural mostrou-se ainda de forma regular, com a presença de tecido osteóide, margeado por alguns osteoblastos volumosos localizados justapostos às superfícies. No interior do osso, os osteócitos tinham núcleos picnóticos. Na região posterior, as características citadas se apresentavam com menor intensidade e os osteoblastos presentes estavam inativos (Figura 15A, página 114).

4.3.3.2 Disjunção-Laser 6 horas

Houve rompimento da sutura sendo que o tecido sutural ficou aderido na superfície óssea e estava preservado. Caracterizou-se pela presença de áreas hemorrágicas com migração de muitos neutrófilos. A maioria dos fibroblastos estava alterada, porém foi possível encontrar fibroblastos íntegros no tecido sutural com núcleo claro. A presença de áreas semi-hializadas também foi evidente neste período. As cavidades medulares apresentaram células adiposas, e, células com núcleos esféricos, demonstrando ser células jovens (precursores). Estas células jovens eram principalmente de neutrófilos jovens, com núcleos grandes ovóides e claros, entremeando as células esféricas escuras. Notaram-se poucos osteoclastos nesta região. Nas margens ósseas foi possível observar osteoblastos com núcleos grandes e claros imersos no tecido osteóide. Também foram observados osteócitos íntegros e ausência de osteoclastos nesta região. Na região posterior as fibras da sutura apresentaram-se sinuosas e sem evidenciação dos feixes característicos (Figuras 15B e C, página 114).

4.3.3.3 Disjunção-Laser 24 horas

Houve a presença de áreas hemorrágicas com lise celular e tecido sutural amorfo. A presença de infiltrado inflamatório de polimorfonucleares caracterizou este período. A superfície óssea sutural mostrou áreas de absorção com grande número de lacunas de Howship, e, inclusive, presença de osteoclastos multinucleados ativos, com citoplasma abundante, dispostos em cadeia a esta superfície, isolados ou em pequenos grupos caracterizando intensa atividade de absorção óssea frontal, deixando a superfície óssea irregular, recortada, com várias lacunas de Howship distribuídas em sua extensão. O tecido ósseo tinha muitos osteócitos alterados ou picnóticos, e vários osteoplastos vazios (Figura 15D, página 114).

4.3.3.4 Disjunção-Laser 48 horas

O tecido sutural caracterizou-se por uma redução no número de neutrófilos e poucas células mononucleares. O fenômeno de lise celular ainda estava presente, porém em menor quantidade que o grupo de disjunção 48 horas. O tecido sutural foi mantido aderido à superfície em grande extensão, principalmente na região posterior. Na região posterior da sutura havia a presença de vasos sanguíneos próximos ao tecido íntegro. Em algumas regiões apresentou-se hialinizado em ambas as margens suturais, caracterizando-se por uma baixa celularidade, fibras desorganizadas com características de massa amorfa e irrigação diminuída. Nestas regiões as cavidades medulares, apresentaram numerosos osteoclastos em lacunas de Howship, caracterizando a reabsorção óssea solapante, a qual foi mais intensa que o grupo de disjunção 48 horas. Em algumas cavidades medulares foram encontradas muitas células destruídas, que são precursores de células do sangue. Porém outras cavidades apresentavam características normais do tecido hematopoiético. Na região anterior, algumas cavidades medulares estavam vazias, ou com células alteradas, predominando também muitos osteoplastos vazios, sem osteócitos. Na região posterior, em alguns cortes foram observadas cavidades medulares contendo osteoblastos ativos, tecido ósseo com osteoplastos com

osteócitos em sua grande maioria e poucos osteoplastos vazios nesta mesma região, demonstrando o processo de reparo ósseo em andamento (Figura 15E, página 114).

4.3.3.5 Disjunção-Laser 7 dias

O espaço sutural mostrou-se ainda amplo, quando comparado ao grupo disjunção 7 dias. O tecido sutural em regeneração caracterizou-se por numerosos vasos sanguíneos hiperêmicos, fibroblastos, células mononucleares e alguns neutrófilos (polimorfonucleares) concentrados nas proximidades de trabécula óssea sem osteócitos (lacunas vazias). O osso de sustentação do tecido sutural foi totalmente reabsorvido na metade anterior de um lado. No lado em que existe o osso remanescente, a trabécula óssea era delgada caracterizada por lacunas vazias ou invadidas por neutrófilos. A superfície óssea sutural remanescente, mesmo na região posterior, estava isenta de células em sua maior extensão. Nota-se pequenas áreas com erosão ou tecido osteóide depositado. A reabsorção óssea solapante foi predominante neste período, sendo que os espaços medulares estavam recobertos por osteoclastos ativos. Notou-se a presença de esparsas trabéculas em desenvolvimento (Figuras 15F e G, página 114).

4.3.3.6 Disjunção-Laser 14 dias

O tecido sutural estava bastante celularizado em toda a sua extensão. Notou-se numerosos vasos sanguíneos, fibroblastos, e grande quantidade de osteoblastos neste período. Em alguns locais os osteoblastos estavam concentrados indicando local de desenvolvimento de trabéculas ósseas. As células da superfície óssea sutural eram volumosas em vários pontos indicando atividade de síntese. Notam-se também a presença de osteócitos volumosos, mas ainda existiam áreas com osteoplastos vazios. Notou-se ainda tecido osteóide, recoberto por osteoblastos (Figuras 15H e I, página 114).

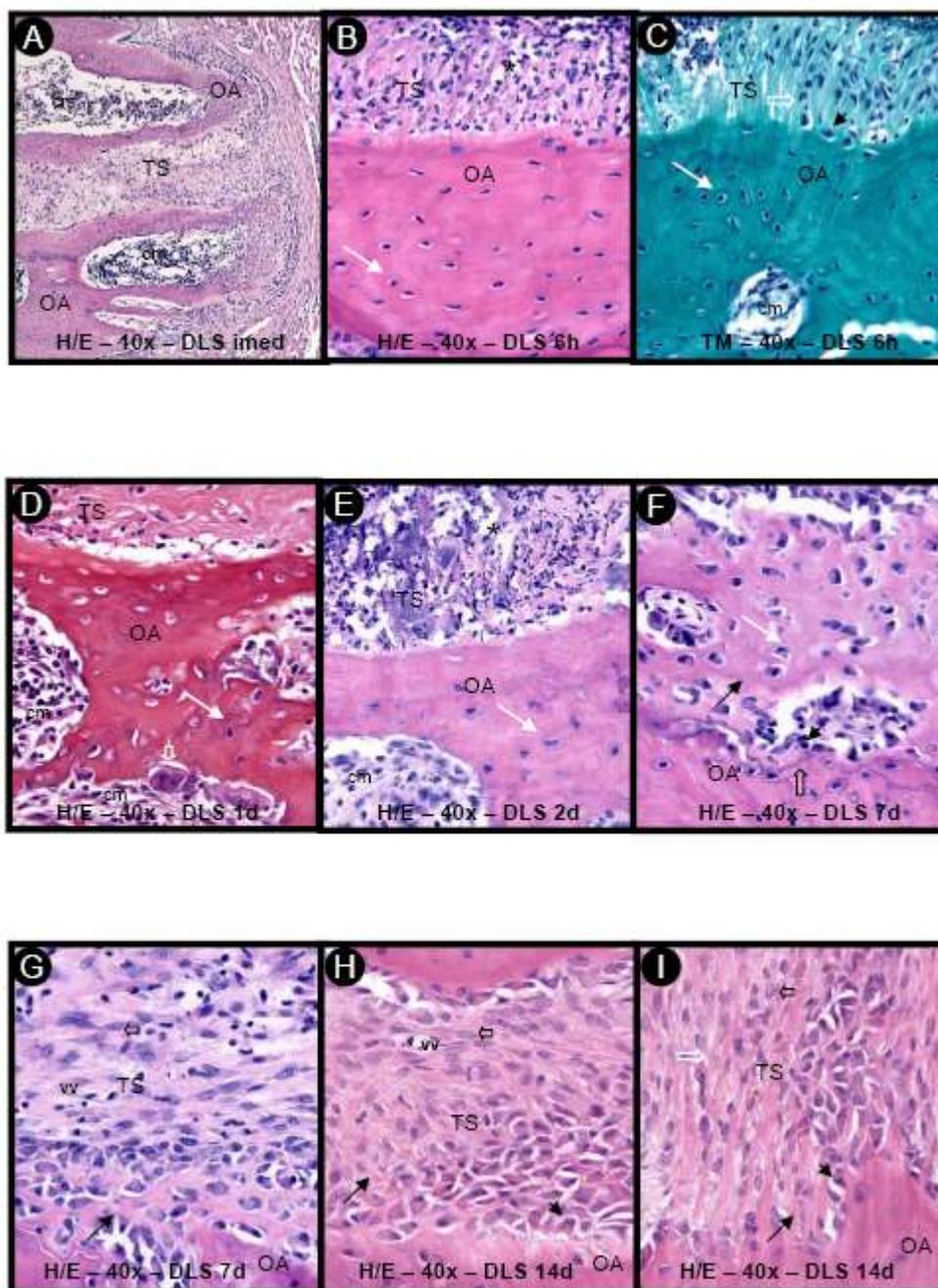


Figura 15 - Fotomicrografias dos campos histológicos do Grupo Experimental II (disjunção-laser DLS). OA) Osso alveolar; TS) Tecido sutural; cm) cavidades medulares; vv) vasos sanguíneos; áreas de formação óssea (setas pretas cheias); linhas reversas (setas pretas vazadas); processo inflamatório (arterisco); osteócitos (setas brancas cheias); fibras colágenas (setas brancas vazadas); fibroblastos (setas pretas vazadas curtas); fibras de Sharpey (cabeça de seta branca); osteoblastos (cabeça de seta preta) e osteoclastos (setas brancas vazadas curtas).

5 DISCUSSÃO

O crescimento sutural é caracterizado pelo aumento de proliferação e diferenciação celular e síntese da matriz mesenquimal, principalmente das células da linhagem fibroblástica e osteoblástica (PEPTAN et al., 2008), como observado neste experimento (Figuras 14A e B, página 111). A proliferação e diferenciação celular acompanham a principal função da sutura de transmitir cargas mecânicas e favorecer o crescimento longitudinal dos ossos do crânio (PEPTAN et al., 2008). Controvérsias existem sobre o arranjo destes tecidos e existem diversas razões para isso: diferenças entre animais experimentais e técnicas histológicas, diferenças entre as suturas ou mesmo dentro de uma mesma sutura.

No grupo controle deste experimento (Figuras 14A e B, página 111), os dois ossos da sutura estavam separados por uma delgada lâmina de tecido conjuntivo denso que se continuava com o periósteo das duas faces dos ossos. A zona capsular da sutura consistiu de tecido conjuntivo denso, regular e de vasos sanguíneos, onde terminam os feixes retilíneos contra-laterais. Esta camada era composta principalmente por um feixe volumoso imaturo de fibras colágenas que eram contíguas e se continuavam diretamente com a porção fibrosa e densa do periósteo. A zona adjacente era muito mais frouxa em textura, mais celular, e era composta por fibrilas pré-colágenas; formadas por feixes paralelos de fibras dispostas em ângulo reto com o osso, continuando-se através do osso (fibras de Sharpey) (Figuras 14A e B, página 111). Esta zona é a parte ativa da sutura em crescimento ativo e quando as mudanças remodeladoras cessam, a sutura consiste somente de uma camada capsular.

Portanto, as suturas são estruturas que unem os ossos através de um complexo de tecido conjuntivo, com as fibras periféricas inseridas dentro das margens ósseas calcificadas (Figuras 14A e B, página 111). As suturas permitem translação dos ossos, assim como um acréscimo de tecido ósseo nas suas margens durante o crescimento e desenvolvimento e, também, facilitam um relativo movimento dos ossos um contra o outro durante as funções musculares. Isto quer dizer que as suturas têm duas funções básicas: atuam como sítios secundários de crescimento e possuem um sistema amortecedor de proteção.

Storey (1973) aplicando forças laterais por meio de molas helicoidais sobre os incisivos superiores de ratos e coelhos, observou, histologicamente, expansão da pré-maxila, onde o espaço sutural foi aumentado consideravelmente e, conseqüentemente ocorreu rompimento das fibras e formação de edema do tecido conjuntivo e vasodilatação. Os mesmos achados foram encontrados no presente estudo onde um processo inflamatório devido a força

aplicada também estava presente, principalmente nos períodos iniciais pós-expansão (Figuras 14C a F; 15A a E, páginas 111 e 115, respectivamente). Em poucos dias, Storey (1973) observou que ocorreu proliferação de fibroblastos do tecido conjuntivo jovem; osteoblastos apareceram nas margens ósseas e novo osso começou a formar-se, o que também foi observado aos nos períodos de 7 e 14 dias pós-expansão na presente pesquisa (Figuras 14G a I; 15F a I, páginas 111 e 115, respectivamente).

Entretanto, a habilidade do tecido conjuntivo da sutura é conduzida pelos fibroblastos que comandam a regeneração da mesma (TEN CATE, 2001; GARANT, 2003), confirmado no presente experimento nos períodos finais de forma mais acentuada no grupo experimental II (7 e 14 dias), quando ocorreu neoformação e organização das fibras (Figuras 15F a I, página 115).

Conceitualmente, o tecido conjuntivo sutural e os tecidos de suporte periodontal são idênticos por natureza e funcionam como um sistema amortecedor bioelástico. Quando os limites elásticos são excedidos por incremento na duração ou magnitude das forças aplicadas, a transformação bioplástica ou deformação biodestrutiva ocorre. Portanto, a resposta biológica da sutura palatina à um sistema externo de força também é similar à do ligamento periodontal. A combinação de uma vascularização rica com o tecido mesenquimal indiferenciado que proporciona uma fonte de osteoclastos e osteoblastos, faz com que ambos os tecidos respondam à influência das forças aplicadas como foi detectado nos grupos experimentais (Figuras 14 e 15, páginas 111 e 115, respectivamente). As suturas maxilo-faciais são bem mais complexas em suas estruturas tridimensionais macro e microscópicas do que o ligamento periodontal. Portanto, um estudo histológico de uma sutura facial é importante quando a área específica da sutura é definida com vistas à orientação do sistema de força aplicada, fato também mencionado na literatura (NANDA; HICKORY, 1984).

É sabido que as forças mecânicas exercidas pela ERM são absorvidas e transmitidas ao complexo maxilo-facial e ativam uma série de reações mecânicas e tissulares caracterizadas pela deformação e deslocamento tecidual. Neste experimento, esta reação tecidual mecânica causou mudanças na atividade celular e na substância intercelular, que são denominadas reações tissulares biológicas. A literatura (WAGEMANS; VELDE; KUIJPER-JAGTMAN, 1988) mostra que estas respostas podem seguir três estágios diferentes: a primeira reação é uma resposta inicial traumática; cuja gravidade está relacionada à quantidade de expansão da sutura, que por sua vez está associada com a magnitude da força aplicada (Figura 14C, página 111). Em seguida a esta resposta inicial, ocorre um período de reparo de tecido conjuntivo, e logo após, um novo osso é depositado perpendicular ou

paralelamente aos bordos ósseos da sutura como observado nos períodos de 2, 7 e 14 dias com laser (Figuras 15E a I, página 115), e nos períodos de 7 e 14 dias do grupo não-irradiado (Figuras 14G a I, página 111). As deposições ósseas são feitas nas bordas ósseas da sutura, de maneira progressiva de fim de restabelecer a morfologia original da mesma (Figuras 14H e I, 15H e I, páginas 111 e 115, respectivamente). Na presente pesquisa observou-se nos períodos iniciais predomínio do processo inflamatório em resposta a ação traumática da força aplicada na sutura palatina mediana (Figuras 14C a F, página 111), porém depois de 7 dias houve tendência a restabelecer a região da sutura devido a neo-formação óssea (Figuras 14G a I, página 111). Esses achados foram mais precoces nos grupos onde foi aplicado o laser de baixa potência, sendo que no grupo irradiado de 14 dias (Figuras 15H e I, página 115) a quantidade de tecido ósseo formada era bem mais evidente que no grupo submetido somente a disjunção, porém ambos os grupos mostraram uma tendência ao reparo. Porém, verificou-se que para reparo completo da sutura, seria necessário um período maior que 14 dias de contenção.

Moyers (1991) enfatizou que a sutura palatina mediana é uma região de crescimento adaptada às tensões que respondem às forças produzidas pelos tecidos moles que se estendem e se relacionam com ela (septo nasal, etc). As adições de ossos na sutura, portanto, não empurram os elementos adjacentes, separando-os. Ao invés disso, à medida que os ossos vão se separando, pelo aumento dos órgãos associados, os depósitos simultâneos de osso novo nas bordas suturais servem para ampliar os próprios ossos e manter a união entre eles. Durante a ERM tal fato pode ser observado, pois com a separação das metades da maxila observou-se que o espaço entre elas foi gradativamente preenchido com novo osso, como observado no grupo experimental II, no período precoce de 48 horas, e apenas nos períodos longos de 7 e 14 dias (sem irradiação) (Figuras 15F a I, página 115).

Com o aumento da idade, a superfície da sutura torna-se irregular por causa do aumento no número e no comprimento das interdigitações ósseas (MOSS; YOUNG, 1960; KOSKI, 1968; KOKICH et al., 1979; PROFFIT; FIELDS; SARVER, 2007). A borda sutural do grupo controle não mostrou interdigitações pronunciadas, provavelmente, devido ao tipo de animal utilizado e sua idade.

A expansão maxilar é um procedimento ortodôntico utilizado para aumentar a largura do arco dental e da base apical, com movimento mínimo dos dentes posteriores dentro do alvéolo, nos casos de deficiência transversa real ou relativa da maxila (HAAS, 1961; MOSS, 1968; HAAS, 1970; WERTZ, 1970; HICKS, 1978), de discrepâncias ântero-posteriores (HAAS, 1961; WERTZ, 1970; HAAS, 1980), de classe III ou pseudo-classe III; casos de classe I e classe II, com severa mordida cruzada uni ou bilateral (HAAS, 1961; MOSS, 1968;

WERTZ, 1970; HAAS, 1980). Esse procedimento também é indicado nos pacientes com lábio fissurado e fenda palatina, objetivando alcançar um melhor contorno nos arcos dentários (HAAS, 1961; MOSS, 1968; OHSHIMA, 1972; HAAS, 1980; BISHARA; STALEY, 1987) e casos de estenose nasal com respiração bucal (MOSS, 1968; HAAS, 1970; EKSTROM; HENRIKSON; JENSEN, 1977).

A técnica de expansão, geralmente, utiliza aparelhos fixos, que aplicam forças pesadas nos dentes e nas estruturas de suporte. Se a força transversa aplicada possui uma magnitude acima da resistência bioelástica dos elementos suturais, a separação ortopédica dos segmentos maxilares pode ocorrer, o que foi observado neste experimento e também relatado por outros autores (ISAACSON; WOOD; INGRAM, 1964; CLEALL et al., 1965; STOREY, 1973). Os dentes sofrem vários graus de movimento através do osso alveolar, produzindo componentes laterais de força contra as raízes dentárias, ligamento periodontal e osso alveolar (ZIMRING; ISAACSON, 1965), as quais são, excessivamente, maiores do que as forças ortodônticas rotineiras; conseqüentemente, de acordo com Langford e Sims (1982) as informações pertinentes às respostas biológicas às forças ortodônticas não podem ser extrapoladas para esta situação ortopédica.

Neste experimento todos os animais permaneceram saudáveis e não houve perda de peso de modo expressivo durante o período experimental. Foram alimentados com uma dieta balanceada e controlada, não contendo nenhuma substância dura que pudesse danificar o aparelho. Não houve nenhuma dificuldade durante a instalação do aparelho expensor, e o mesmo não causou nenhum desconforto aparente aos animais. Porém, a gengiva marginal livre dos animais próxima ao dispositivo ortodôntico de expansão apresentou-se levemente edematosa, com características inflamatórias. A retenção de alimentos, provocada pelo aparelho e a autólise deficiente, associada a uma dieta mole, provavelmente, conduziu ao desenvolvimento de tal resposta tecidual.

É consenso, entre os autores, que um diastema transitório na linha média pode ser evidenciado durante os estágios precoces da expansão maxilar (HAAS, 1961; WERTZ, 1970; STOREY, 1973; HAAS, 1980; BELL, 1982), e, segundo eles, os incisivos centrais sempre voltam ao contato original, de tal forma, que o espaço entre esses dentes fica igual ou menor ao espaço apresentado no início do tratamento. A presente pesquisa observou através de radiografias oclusais e microtomografias que o grupo controle (Figura 12, página 103), mostrou que a sutura palatina mediana encontrava-se inicialmente bem definida e estreita, aparecendo como uma linha radiolúcida bem demarcada, margeando as superfícies ósseas suturais bem mineralizadas. Em todos os períodos dos grupos experimentais I e II foi notado o

aparecimento de um diastema de aproximadamente 1,5 mm entre os incisivos superiores após o término da expansão maxilar revelando que a sutura palatina mediana nos animais experimentais foi aberta com sucesso e tais achados foram melhores visualizados nas microtomografias do que nas radiografias oclusais (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente). Após o procedimento de expansão, o espaço sutural mostrou-se como uma ampla linha radiolúcida, com espículas ósseas projetando-se para dentro do espaço sutural, caracterizado por uma área radiolúcida de igual ou ligeiramente menor que a largura do dispositivo ortodôntico, devido ao septo ósseo espesso presente na região interincisal (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente).

Durante todo o período do experimento não foi notado o fechamento desse diastema porque o aparelho para obtenção da ERM foi colocado entre os incisivos superiores e aí mantido durante todo o período experimental (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente). Finalmente, no período de 14 dias observou-se que a região sutural estava em processo de reparo, com maior grau de mineralização do que nos períodos experimentais iniciais (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente).

O aparecimento de diastema entre os incisivos centrais também foi citado por Angell (1860) como fator patognômico para a verificação da abertura da sutura palatina mediana submetida às forças de expansão maxilar. Durante o período de contenção, as coroas dos incisivos centrais convergem, obtendo-se um contato proximal desses dentes. Storey (1973) e Muguerza, Shapiro (1980) mostraram que as atividades bioelásticas dos tecidos periodontais e palatais estirados eram responsáveis pela restauração do alinhamento normal dos incisivos através de um movimento mesial dos mesmos. Wertz (1970) relatou que o fechamento do diastema também era ajudado pelo aumento da pressão da musculatura labial na superfície vestibular dos incisivos centrais. Tal reação ajuda no fechamento do espaço e no encurtamento do comprimento do arco. Haas (1970) e Wertz (1970) mostraram que, após as coroas dos incisivos centrais entrarem em contato, a tração contínua das fibras transeptais leva as raízes a convergirem, voltando às suas inclinações axiais marginais. A inclinação dos incisivos superiores, neste estudo, foi verificada através de microtomografias (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente) obtidas após o sacrifício dos animais. Durante o período experimental, as raízes dos incisivos superiores permaneceram levemente divergentes, quase paralelas (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente). Este fato sugere a utilização de um tempo maior de contenção para que haja a formação de tecido ósseo na região da sutura e possibilite a movimentação dos incisivos devido a tração das fibras transeptais para a correção dessas inclinações radiculares, porém o aparelho utilizado

permaneceu entre os incisivos, o que impossibilitaria a ação das fibras transeptais no fechamento do diastema.

O grau de abertura da sutura palatina mediana não foi uniforme em toda sua extensão. O tecido conjuntivo entre as bordas ósseas da sutura pré-maxilar ofereceu menos resistência às forças de expansão do que na área maxilar; uma das razões pode ser porque as forças foram aplicadas diretamente sobre os incisivos, na região da pré-maxila, o que resultou em uma distribuição desigual das forças o que pode ser facilmente visualizado nas microtomografias (Figuras 12 e 13, páginas 103 e 104, respectivamente) e também nas lâminas histológicas, pois o tecido sutural da região anterior da sutura foi o que sofreu o maior impacto da força aplicada, e o tecido sutural da porção posterior foi o que mostrou os primeiros sinais de reparo. A deposição de novo osso na sutura sugeriu que o reparo da mesma pode ter sido influenciado, até certo grau, por fatores mecânicos, já que este crescimento é independente do potencial de crescimento dos próprios ossos (BISHARA; STALEY, 1987) e que a principal resistência para a abertura da sutura palatina mediana, em humanos, não é a própria sutura, mas as estruturas que a cercam, particularmente os ossos esfenóide e zigomático. Segundo os autores, assim que os ossos maxilares começam a se separar, os processos zigomáticos oferecem resistência à expansão, porém o sistema de suturas permite que as estruturas expandidas se reajustem ou se reposicionem.

A inclinação do osso alveolar, observada por Haas (1970) e o tipo do movimento dentário não foram avaliados neste estudo. Thorne e Hugo (1956) notaram inclinação lateral dos dentes em aproximadamente 75% de seus pacientes, mas não indicou o seu grau. Enquanto Debbane (1958) reportou um movimento de inclinação dentária durante a expansão maxilar, Starnbach et al. (1966) observaram o movimento de translação. Um estudo de Murray e Cleall (1971) revelou que ocorria um movimento de inclinação nos estágios iniciais da expansão e movimento de translação por volta do 14^o dia de expansão. Porém como na presente pesquisa não se avaliou um período de pós-contenção, não foi possível observar o movimento de translação relatado na literatura (MURRAY; CLEALL, 1971). A inclinação dentária pura, clinicamente, é indesejável, já que leva a uma perda óssea e perda da fixação dentária irreversível dos dentes de ancoragem.

A tendência dos dentes maxilares e dos segmentos esqueléticos de retornarem à sua posição inicial (recidiva) após a ERM tem sido atribuída a vários fatores, tais como: forças acumuladas nas articulações circumaxilares (ISAACSON; WOOD; INGRAM, 1964; ZIMRING; ISAACSON, 1965), resistência zigomática e de outras suturas circumaxilares (GARDNER; KRONMAN, 1971; WERTZ; DRESKIN, 1977), a musculatura bucal

(DEBBANE, 1958; TIMMS, 1968), forças oclusais causadas pela interdigitação cuspídica e estiramento do mucoperiósteo palatal (MUGUERZA; SHAPIRO, 1980), pois enquanto a maxila se separa, o mucoperiósteo palatal é estirado. Cotton (1978) relatou que as mudanças nos ângulos dos dentes posteriores, após a expansão, podem estar relacionadas ao estiramento das fibras da mucosa palatina. Não há dúvida de que os ossos maxilo-faciais e os dentes superiores estão sujeitos a forças excepcionais, durante a expansão maxilar, e requerem um longo período de contenção para a consolidação e a remodelação no sentido de aliviar toda a pressão e tração criada por tal procedimento. A estabilidade do complexo maxilar não é atingida até que as forças residuais que tentam colapsar os segmentos expandidos sejam totalmente dissipadas (KORKHAUS, 1960; STOREY, 1973; EKSTRÖM; HENRIKSON, 1977). Períodos de contenção de 3 a 6 meses, normalmente, são recomendados para permitir a reorganização e estabilização maxilar (KREBS, 1959; KORKHAUS, 1960; ISAACSON; WOOD; INGRAM, 1964; WERTZ, 1970; STOREY, 1973). Entretanto, Krebs (1959) notou que, em seus pacientes submetidos à expansão maxilar, a arcada dentária, a qual foi mantida sob contenção, mostrou uma tendência a recidivar durante o período de contenção de 3 meses e durante o período de pós-contenção. O mesmo foi observado por Cotton (1978) que relatou uma diminuição de 10 a 15% da expansão obtida. Thorne e Hugo (1956) observaram uma completa recidiva nos pacientes que sofreram expansão maxilar e ficaram com contenção por menos de 2 meses. Mew (1983) defendeu um período total de 1 ano e 6 meses a 4 anos, dependendo da extensão da expansão. Zimring e Isaacson (1965) demonstraram que um período de contenção longo deve ser adotado, a fim de atingir o ajuste sutural e a dissipação das forças residuais acumuladas nas articulações circunvizinhas. O mesmo fato foi observado por Starnbach et al. (1966) que mostraram que, depois de três meses de expansão, as estruturas de suporte dentário ainda reagiam e estavam se ajustando a tais forças. Estes fatos sugerem que após o procedimento de expansão maxilar há necessidade de um tempo considerável de contenção, uma vez que, as forças residuais ainda estavam agindo. Porém, o tamanho, tipo e características da amostra e o período limitado de observação deste estudo, não permitem uma recomendação definitiva do período mais favorável de contenção. Uma consideração adicional na estabilidade da expansão é a forma de contenção. Para um controle maior da recidiva, a contenção fixa é mais indicada (HAAS, 1961; WERTZ, 1970; HAAS, 1980).

Uma das formas de manter a largura da base da maxila após a expansão rápida é através da formação óssea no espaço da sutura palatina mediana, quando se consegue uma separação considerável dos ossos maxilares. Portanto, um período de contenção longo é

necessário para possibilitar a formação óssea na sutura diminuindo-se, dessa forma, a recidiva da expansão obtida. Assim, seria bastante favorável se a formação óssea nesta região fosse acelerada, diminuindo, assim o período de contenção e a recidiva pós-expansão.

O reparo tecidual da sutura palatina mediana após a ERM pode ser comparado, histologicamente, ao reparo de uma fratura óssea, a qual pode ser usada como modelo do processo de cicatrização óssea. O osso, com seu conteúdo medular é um tecido ricamente vascularizado. Quando fraturado, ocorre no local uma intensa hemorragia. Um coágulo preenche a região entre os dois extremos fraturados, bem como qualquer espaço criado pelo esgarçamento de tecidos adjacentes, tal como o perióstio e o endóstio. A formação de tecido de granulação no interior da malha do coágulo ocorre do mesmo modo como nos tecidos moles. No segundo ou terceiro dias, condroblastos e osteoblastos em rápida proliferação, muito semelhantes a fibroblastos, aparecem nas áreas próximas ao perióstio e endóstio lesados. No fim da primeira semana, ilhotas de cartilagem aparecem no tecido de granulação que substituiu o coágulo. A combinação do tecido fibroblástico e ilhotas de cartilagem forma um manguito firme que faz ponte com os extremos fraturados. Este tecido de sustentação é conhecido como tecido mole ou calo provisório (pró-calo). Ao fim da primeira semana algum cálcio é depositado na matriz cartilaginosa, endurecendo mais o calo provisório e agindo como tala nas terminações ósseas fraturadas. Por esta ocasião, os osteoblastos de origem periostal e endostal começam a formar osteóide (matriz protéica do osso). Eventualmente, o pró-calo torna-se atravessado por um labirinto de trabéculas ósseas formadas a esmo. Desenvolve-se a calcificação progressiva do calo provisório, sendo este substituído, finalmente, pelo calo ósseo (osteóide). O osso trabeculado é o primeiro tipo de osso a ser formado durante o desenvolvimento do esqueleto, e também o primeiro a ser depositado durante a cicatrização de uma fratura (BURKITT; YOUNG; HEATH, 1997; DUCY; SCHINKE; KARSENTY, 2000; FREITAS; BARANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2000).

Portanto, a reparação de uma lesão óssea é essencialmente um tipo de cicatrização por tecido conjuntivo. Difere da reparação dos tecidos moles porque a formação do tecido ósseo calcificado especializado envolve a atividade de osteoblastos e osteoclastos. Segundo Robbins, Angel e Kumar (1986) estas células são derivadas do perióstio e endóstio na área da lesão ou, possivelmente da transformação metaplásica de células mesenquimais primitivas ou fibroblastos no tecido conjuntivo adjacente. A reparação óssea pode ser tão perfeita a ponto de não se poder visualizar a fratura, posteriormente, aos raios-X.

Porém, a cicatrização tecidual é um processo complexo que envolve respostas locais e sistêmicas. O uso da laserterapia para a cicatrização de feridas tem sido apontado como

efetivo na modulação tecidual. Atualmente é utilizado o termo biomodulação para representar os efeitos produzidos pela irradiação laser, pois seus efeitos podem ser produzidos tanto para estimular como para inibir, substituindo desta forma o antigo termo bioestimulação, utilizado no início da laserterapia. Porém a biomodulação do laser é uma das áreas de maior controvérsia no uso dos lasers, e a maioria das aplicações do LLLT é em tecidos moles. Entretanto há um crescente interesse em sua aplicação em tecidos duros. A cicatrização óssea difere da cicatrização de tecidos moles, pois é mais lenta, e depende da intensidade do trauma ósseo e a extensão do dano ao osso. O trauma ósseo é imediatamente seguido por uma seqüência no processo reparativo tecidual no qual as células osteogênicas do periósteo proliferam e se diferenciam em osteoblastos (FREITAS; BARANAUKAS; CRUZ-HOFLING, 2000).

O uso potencial dos lasers na biomodulação do reparo ósseo através de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas tem sido estudado por pesquisadores em todo o mundo com o objetivo de proporcionar ao paciente, uma maior rapidez na cicatrização óssea, amenizando o quadro de edema pós-cirúrgico, melhorando a cicatrização tecidual e, portanto, menor desconforto pós-operatório. Os efeitos do LLLT no osso ainda são controversos, pois estudos têm mostrado resultados conflitantes (IN DE BREAKT et al., 1991; HALL et al., 1994; POGREL; CHEN; ZHANG, 1997; SEIFI et al., 2007; NISSAN et al., 2006). Porém, o LLLT tem sido considerado como responsável pela biomodulação na cicatrização de fraturas ósseas em modelos animais, baseado em estudos morfo genéticos, bioquímicos e de microscopia eletrônica. Desta forma a laserterapia tem sido apontada como capaz de modular várias respostas biológicas afetadas por alguns fatores envolvidos com o modo da radiação, tais como: dose total de energia, comprimento de onda, densidade de potência, tipo de emissão e tempo de radiação.

Também, está claramente relatado na literatura que os efeitos biomoduladores da laserterapia são dose dependentes (KANA et al., 1981; YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996; SAITO; SHIMIZU, 1997; OZAWA; SHIMIZU; ABIKO, 1997; SAITO; SHIMIZU, 1997; SCHAFFER et al., 1997; LUGER et al., 1998; KIPSHIDZE et al., 2001; KREISLER et al., 2002; ALBERTINI et al., 2004). Parâmetros de irradiação, como a densidade de potência (W/cm^2) e tempo de exposição foram mais importantes em relação à dose de energia total (J/cm^2) na "foto-biomodulação" de fibroblastos humano *in vitro* (VAN BREUGEL; BÄR, 1992; RIGAU; MAS, 1998; ALMEIDA-LOPES et al., 2001; KHADRA et al., 2005a). A influência da laserterapia também depende da fase de crescimento celular (KARU; PYATIBRAT; KALENDO, 1995; SAITO; SHIMIZU, 1997; OZAWA et al., 1998; SILVA

JÚNIOR et al., 2002; KARU et al., 2008), do comprimento de onda (SCHLAGER et al., 2000; MI et al., 2004), bem como da frequência e número de aplicações (SAITO; SHIMIZU, 1997; SILVA JÚNIOR et al., 2002), já que uma única aplicação da irradiação laser mostrou ser suficiente para a obtenção de efeitos celulares (DELGADO et al., 1997; POGREL; CHEN; ZHANG, 1997; UEDA; SHIMIZU, 2001).

Comprimentos de onda maiores são mais resistentes à dispersão em relação a comprimentos menores, e penetram em camadas mais profundas da pele (KOLÁROVÁ; DITRICHOVÁ; WAGNER, 1999). Porém a dispersão da luz laser no tecido é muito complexa, pois várias estruturas como fibras colágenas, células e organelas celulares, vasos e outros componentes teciduais, influenciam na dispersão do laser no tecido (GENOVESE, 2007). O tamanho, a forma e a orientação de tais estruturas influenciam enormemente a dispersão do laser nos tecidos (HILLENKAMP, 1989). Quando a luz passa do ar para o interior de qualquer substância, tal como um tecido biológico, sua velocidade muda, mas a frequência permanece a mesma, e o comprimento de onda pode ser usado para caracterizar o laser (NICOLA; NICOLA, 2002). Segundo Anderson e Parrish (1982) e Basford (1995) a luz vermelha ($\lambda=632,8\text{nm}$) de um Laser de He-Ne penetra 0,5 - 1,0 mm antes de perder 37% de sua intensidade, enquanto que diodos lasers de comprimentos no espectro infravermelho ($\lambda=820$ a 904nm) penetram em torno de 2mm antes de perder a mesma fração de sua energia. Bossy et al. (1985) mostraram, em um estudo *in vitro*, que em um laser de baixa potência (850nm; 10mW), a penetração no osso compacto tem uma máxima penetração de 18mm no osso em direção axial e aproximadamente 6mm em direção córtico-medular. O uso do laser GaAlAs, o mesmo utilizado nesse estudo, tem aumentado nos últimos 10 anos. Pode atingir 2-3 cm de profundidade de penetração (KHADRA et al., 2004b; GENOVESE, 2007). Este tipo de laser é conhecido por ter um alto poder de penetração em relação aos outros tipos. Este alto poder de penetração pode ser devido a baixa absorção na água na extensão de onda (infravermelho) deste laser. Daí o por quê da escolha do laser operando no espectro infravermelho, quando da investigação de efeitos biomoduladores no tecido ósseo, o que foi feito na presente pesquisa, levando-se em conta também outros parâmetros como fluência e densidade de potência.

Deve ser entendido, também, que enquanto a energia penetra nos tecidos, há uma dispersão múltipla provocada, tanto pelos eritrócitos quanto pelos microvasos, influenciando marcadamente a distribuição final da energia laser (WALSH, 1997a; 1997b). Portanto, os parâmetros que determinam a natureza dos efeitos do laser, em qualquer situação, podem ser assim resumidos: parâmetros fixos, os quais não podem ser modificados pelo operador,

incluindo comprimento de onda, coeficientes de absorção e de reflexão do tecido irradiado; resfriamento interno (corrente sanguínea) e fatores variáveis, os quais podem ser modificados pelo operador ao nível do equipamento ou na interface tecidual, incluindo potência do laser, modo contínuo ou pulsado, densidade de energia e tempo de exposição.

Na Odontologia um número de diferentes tipos de lasers de baixa potência com diferentes comprimentos de onda, incluindo o He-Ne (632,8nm), GaAs (904nm), GaAlAs (805 ± 25 nm), Argônio (480 a 530nm) entre outros têm sido usados em diferentes doses e protocolos de tratamento. A fonte de laser utilizada neste experimento foi o laser diodo infravermelho de GaAlAs (DMC equipamentos®, São Carlos - SP) com ondas contínuas de 830nm e potência máxima de 100mW, com uma fibra ótica de 6mm de diâmetro. A irradiação foi feita numa única aplicação colocando-se a fibra ótica em contato direto com a mucosa palatina, posterior a face palatina dos incisivos superiores, liberando uma dosagem de 126J/cm². A escolha desse tipo de laser baseou-se no fato que os lasers infra-vermelhos possuem uma maior penetração nos tecidos subcutâneos devido à sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele, fato já relatado na literatura (OHSHIRO; CALDERHEAD, 1991; GORDJESTANI; DERMAUT; THIERENS, 1994; KOLÁROVÁ; DITRICOVÁ; WAGNER, 1999; GENOVESE, 2007).

O laser não-cirúrgico significa que ele não é térmico. Este tipo de laser emite uma forma de irradiação não-ionizante altamente concentrada, que em contato com os diferentes tecidos resulta em efeitos fotoquímicos diversos alterando o funcionamento normal da célula. Os diferentes efeitos sobre os tecidos são devido à diferença de meios ativos, os quais determinam o comprimento de onda da radiação emitida. Por ser uma forma de energia não-ionizante, ao contrário de outras formas de radiação usadas terapêuticamente, tais como raios X, Gama e nêutrons, a irradiação laser não é invasiva e é muito bem tolerada pelos tecidos, podendo ser usada repetidamente, sem riscos para o paciente. (PINHEIRO; FRAME, 1992; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; GENOVESE, 2007). Porém, para induzir um fator bioestimulador ótimo, a dose de radiação tem limites máximos e mínimos (TSAI; LYNN; MING-CHIEN, 1997). Se a dose for muito baixa, ela pode induzir a um efeito não-mensurável. Ao contrário, se a dose for alta pode resultar em pouco ou nenhum efeito e se for extremamente alta, ela pode induzir a um efeito inibitório (MESTER et al., 1971; PÖNTINEN, 1992; HALL et al., 1994; SATTAYUT; HUGHES; BRADLY, 1999; DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; NICOLA; NICOLA, 2002). Portanto uma sub-exposição ou uma super-exposição da irradiação laser pode mudar os resultados clínicos ou experimentais. Para escolha da densidade de energia utilizado neste experimento

procurou-se um valor médio dos relatados na literatura odontológica, já que não há protocolo definido como constatado no estudo de Nicola, Nicola (2002), Brugnera Júnior et al. (2003).

Tem sido mostrado que a irradiação a laser exerce efeitos bioenergéticos, bioelétricos, bioquímicos e biológico nas células. A respeito dos efeitos bioenergéticos, os fotoreceptores da cadeia energética são ativados, aumentando a produção de ATP necessária para as reações inter-estruturais no ciclo metabólico, pois este consome grande quantidade de oxigênio, facilitando, então, o processo de reparo das células (GENOVESE, 2007). O efeito bioelétrico normaliza o potencial iônico da membrana, vitalizando as funções celulares (GENOVESE, 2007). No efeito bioquímico há uma ativação direta da indução de síntese de enzimas (BOLOGNANI et al., 1993; OSTUNI; PASSARELLA; QUAGLIANIELLO, 1994; GENOVESE, 2007), e essa luz tem como primeiros alvos os lisossomos e as mitocôndrias das células. As proteínas são as estruturas que mais têm afinidade pela luz vermelha e infravermelha usada na laserterapia (WALSH, 1992). No efeito biológico, a fotoestimulação aumenta a síntese de ATP promovendo a produção de ácido nucléico (KARU; PYATIBRAT; KALENDO, 1995), o que acelera a divisão celular (YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996). Pode aumentar a proliferação epitelial e fibroblástica, estimular à produção de colágeno e atividade fagocítica, bem como à produção de endorfinas (MESTER et al., 1971; MESTER; MESTER; MESTER, 1985; ASANAMI et al., 1993; WEBB; DYSON; LEWIS, 1998). Entretanto, o mecanismo regulador da laserterapia ainda não foi completamente elucidado. Já foi demonstrada que existe no organismo do animal, uma função foto-reguladora a partir de certos fotorreceptores moleculares capazes de absorver um fóton de determinado comprimento de onda, chegando a provocar uma transformação na atividade funcional e metabólica da célula (VAN BREUGEL; BÄR, 1992; PINHEIRO, 1998). Após absorver um comprimento de onda específico e gerar o estado de excitação, os processos moleculares primários, nos receptores moleculares, podem levar a determinada resposta. Esta resposta pode envolver alterações na membrana celular alterando sua permeabilidade, aumento da vasodilatação local, angiogênese, produção de fibroblastos, síntese de colágeno, produção de linfócitos T e B, liberação de endorfinas locais e alterações nas prostaglandinas locais; aumento da síntese de ATP e outras atividades metabólicas, promovendo, assim, uma série de alterações fisiológicas. A maioria dos autores concorda que a melhora na cicatrização das feridas submetidas a irradiação laser é devida ao aumento na proliferação celular (TRELLES; MAYOYO, 1987; BARUSKA; YAAKOBI; ORON, 1995; FREITAS; BARANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2000; GARAVELLO-FREITAS, et al., 2003; GENOVESE, 2007). No grupo experimental II, no período de 6 horas foi possível detectar que os osteoblastos

apresentavam-se ovóides, bem volumosos, sugerindo que o laser fez com que estimulasse ao máximo a capacidade dos osteoblastos (Figura 15C, páginas 115). Porém, não houve nenhuma alteração na arquitetura do osso. Concluiu-se, que LLLT, usado no período inflamatório do processo de reparo ósseo, aumenta atividade de células normais (reabsorção e formação), concordando com os achados de Nicolau et al. (2003) e Pretel, Lizarelli, Ramalho (2007). Diferentes comprimentos de onda parecem ser absorvidos por distintos receptores. Entretanto, a identidade dos fotorreceptores responsáveis pelos efeitos biológicos da terapia com laser de baixa potência não é conhecida. Vários estudos têm sugerido que, tanto elementos do sistema mitocondrial quanto porfirinas endógenas na célula, são os cromóforos que absorvem energia na terapia laser de baixa potência, mas ainda há necessidades de mais estudos para determinar tais achados, principalmente estudos a nível biomolecular. O uso de extensão de comprimento de onda inapropriado encontrada em alguns trabalhos (DAVID et al., 1996; KUCEROVA et al., 2000) pode também levar a resultados negativos.

Por essas alterações é que este tipo de terapia é largamente utilizada na estimulação da cicatrização nos tecidos moles (MESTER et al., 1971; BRAVERMAN et al., 1989; LUGER et al., 1998), controle da inflamação (HONMURA, 1992; LIZARELLI et al., 1999; BJORDAL et al., 2003), no controle da dor (artrite reumatóide, disfunção de ATM e numerosas outras condições dolorosas) (WALKER, 1983; FIKÁCKOVÁ et al., 2007); regeneração nervosa (ROCHKING et al., 1986; ANDERS et al., 1993; KHULLAR et al., 1996); regeneração óssea após fratura em animais (TRELLES; MAYOYO, 1987; BARUSKA; YAAKOBI; ORON, 1995, LUGER et al., 1998) e para estimular o sistema imune a fim de atenuar os efeitos infecciosos (KARÚ, 1987; FRANKS, 1999). Relatos têm sido feitos a respeito do efeito supressivo nas reações imunes alcançadas pela LLLT (BRUGNERA JÚNIOR, PINHEIRO, 1998), o que é especialmente promissor nos casos de enxerto autógeno ou xenógeno na Odontologia, onde uma combinação com a imunossupressão é desejada (REYNESDAL et al., 1993; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998).

As reações vasculares durante a LLLT também são apontadas como um dos mecanismos que leva a eficácia dos efeitos clínicos alcançados, pois a circulação sanguínea é um fator determinante importante para a cicatrização de feridas e para o alívio da dor (MAEGAWA et al., 2000; GENOVESE, 2007). O laser atua indiretamente no esfíncter pré-capilar, através de mediadores químicos, paralisando-o, produzindo, portanto, abertura constante estimulando a micro-circulação. Uma melhora na micro-circulação e estímulo em nível de fibroblastos, com produção de fibras elásticas e colágenas mais ordenadamente, são fatores que determinam um melhor padrão de cicatrização da lesão (KHADRA et al. 2004a;

KHADRA et al., 2004b; GENOVESE, 2007), como foi observado no grupo experimental II nos períodos de 7 e 14 dias (Figuras 15F a I, páginas 115).

Os resultados encontrados no presente estudo confirmam o efeito bioestimulatório da LLLT, a qual depende principalmente da capacidade do tecido de responder a energia de luz. Nos grupos irradiados foi observada uma proliferação celular mais acentuada que nos grupos sem irradiação. Porém, os mecanismos que levam a estimulação da cicatrização não estão totalmente esclarecidos, mas podem ser multifatoriais e incluem a promoção da osteogênese (OZAWA, et al., 1998; DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; KHADRA, et al., 2004a; LIU et al., 2007), produção de colágeno a qual é a porção principal da proteína da matriz óssea (SAITO; SHIMIZU, 1997; OZAWA, et al., 1998; PEREIRA et al., 2002; PINHEIRO; GERBI, 2006) diferenciação e proliferação de células osteogênicas (YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996; OZAWA, et al., 1998), respiração mitocondrial e síntese de ATP (MORIMOTO, et al., 1994; YU, et al., 1994). A LLLT também aumenta o fluxo sanguíneo local permitindo o suprimento de células circulantes. (PINHEIRO, et al., 2001; GARAVELLO; BARANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2004; KHADRA, et al., 2004a). TRELLES e MAYOYO (1987) demonstraram um importante aumento na vascularização e uma formação de tecido ósseo mais rápida nos animais irradiados. Sugeriram que a LLLT pode modular as funções dos osteócitos e promover o metabolismo e função do calo ósseo. Os resultados aqui encontrados indicam que a LLLT acelerou a maturação de novo osso. O exame histológico mostrou que a angiogênese, proliferação de fibroblastos e neo-formação de osso foi mais pronunciado no grupo irradiado do que no grupo não irradiado.

Os resultados do presente estudo são suportados por estudos prévios (SAITO; SHIMIZU, 1997; DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; KHADRA, et al., 2004a; KHADRA, et al., 2004b; FUKUHARA, et al., 2006; LIU, et al., 2007). A partir do presente resultado acredita-se que a cicatrização da sutura palatina mediana, após a ERM, depende primariamente da disponibilidade de células osteogênicas precursoras ao redor do tecido ósseo e da capacidade dessas células invadir a sutura e se diferenciarem em osteoblastos. Nossa hipótese para o mecanismo pelo qual a LLLT pode melhorar a cicatrização óssea é pelo estímulo ao recrutamento dos osteoblastos, porém estudos biomoleculares são necessários para a comprovação de tal hipótese.

Muitos pesquisadores têm encontrado resultados positivos com o uso da LLLT em estudos realizados *in vivo* (KANA et al., 1981; TANG; CHAI, 1986; TRELLES; MAYOYO, 1987; TAKEDA, 1988; BRAVERMAN et al., 1989; NAGASAWA; KATO; NEGISHI, 1991; ANDERS et al., 1993; ASANAMI et al., 1993; PYCZEK; SOPALA; DABROWSKI, 1994;

YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996; SAITO; SHIMIZU, 1997; PINHEIRO et al., 1997; MORRONE et al., 1998; LUGER et al., 1998; OLIVEIRA, 1999; MAEGAWA et al., 2000; KAWASAKI; SHIMIZU, 2000; PINHEIRO, et al., 2001; SILVA JÚNIOR et al., 2002; UEDA; SHIMIZU, 2003; GERBI; PINHEIRO; LIMEIRA JÚNIOR, 2003; GARAVELLO-FREITAS et al., 2003, PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004a; KHADRA et al., 2004b; GARAVELLO; BARANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2004; LOPES et al., 2005; GERBI et al., 2005; SILVA; CAMILLI, 2006; WEBER et al., 2006; MILORO; MILLER; STONER, 2007; LOPES et al., 2007; LIU, et al., 2007; KAMALI et al., 2007) e *in vitro* (VAN BREUGEL; BÄR, 1992; OZAWA; SHIMIZU; ABIKO, 1997; OZAWA et al., 1998; DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; MORRONE et al., 2000; ALMEIDA-LOPES et al., 2001; TORRICELLI et al., 2001; UEDA; SHIMIZU, 2001; KIPSHIDZE et al., 2001; KREISLER et al., 2002; NICOLA et al., 2003; FUKUHARA et al., 2006).

Faz-se necessário, portanto, avaliar os parâmetros utilizados na terapia com o laser em baixa intensidade neste trabalho, como o comprimento de onda (ηm), potência (mW), densidade de potência (W/cm^2), modo de operação (pulsado ou contínuo), dosagem (J/cm^2), técnica de tratamento e intervalos de tratamento. Além da inclusão de critérios para a avaliação e a qualidade da estatística na análise dos resultados. Alguns dos erros mais comuns desses trabalhos são: a utilização de doses muito baixas como alguns estudos realizados por Hall et al. (1994), David et al. (1996), In de Braekt et al. (1991), Pogrel, Chen, Zhang (1997). Walker (1983) utilizou doses de 1 a $2\text{J}/\text{cm}^2$ para aliviar a dor de seus pacientes, embora a indicação para estes casos requeiram doses maiores. Erro no grupo controle como no caso de Seichert (1989) que considerou o grupo controle como sendo aquele irradiado com a metade da dose do grupo experimental. Nestes casos, uma vez irradiado, não serve como controle. A não observância do efeito sistêmico do laser mostra-se como um dos equívocos mais comuns. Braverman et al. (1989) criaram duas fendas num mesmo animal e irradiaram uma das fendas para melhorar a reparação e consideraram como controle a outra fenda não-irradiada. Os autores observaram que houve efeito positivo também na fenda não-irradiada e justificaram pelo efeito sistêmico provocado pelo laser no organismo irradiado. Tal erro de metodologia também foi cometido por outros autores, porém nem sempre reconhecido prontamente por terem tido resultados benéficos com a LLLT em seus trabalhos (KANA et al., 1981; ROCHKIND et al., 1989; BRAVERMAN et al., 1989; HALL et al., 1994; DAVID et al., 1996; SCHLAGER et al., 2000; FREITAS; BARANAUSKAS; CRUZ-HÖFLING, 2000;

DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; GUZZARDELLA et al., 2003; NISSAN et al., 2006; YOUSSEF et al., 2007).

A fotoativação do LLLT não ocorre somente na área de incidência do feixe do raio, mas também em uma área igualmente distribuída ao seu redor, de forma tridimensional. Baseado nos princípios de difusão, transmissão e reflexão do feixe de laser que atinge o tecido, dependendo do comprimento de onda, a região de eficiência do laser estende-se por cerca de 1cm de diâmetro, tendo como centro o ponto de incidência do feixe. Não se pode definir exatamente nem a profundidade alcançada nem a dose que atinge alvos abaixo do ponto de incidência, o que dificulta o conhecimento da dosimetria exata. Pensando nas reações sistêmicas que a LLLT pode apresentar, a presente pesquisa teve a preocupação de introduzir um grupo controle (sem disjunção e sem laser), um grupo experimental I (disjunção e sem laser), e grupo experimental II (disjunção e LLLT). Sabe-se que através de mediadores metabólicos o efeito do laser pode alcançar partes distantes do corpo. O modelo em animais pequenos como ratos, torna-se ainda mais crítico sob este aspecto. Existem ainda muitos outros erros cometidos pela falta de conhecimento sobre os efeitos do laser, sendo necessário o estudo aprofundado da física e biologia antes do início de qualquer trabalho com o laser de baixa potência (NICOLA; NICOLA, 2002). Os fatores que determinam o efeito tecidual inicial da irradiação laser incluem o comprimento de onda, a potência, a forma de onda e as propriedades ópticas do tecido. O número de combinações desses fatores são infinitos, muitos dos quais poderão resultar em danos inaceitáveis para os tecidos e resultados clínicos inadequados.

Vários sistemas de laser têm sido usados rotineiramente para bioestimulação nos defeitos dos tecidos, porém a propriedade de cada aparelho deve ser cuidadosamente analisada antes de selecionar um para aplicação clínica ou experimental. É de extrema importância adotar um método estimulatório próprio. Apesar dos relatos conflitantes em relação a LLLT na ossificação, o uso correto de parâmetros apropriados tem se mostrado efetivo na cicatrização óssea. Os parâmetros adotados na presente pesquisa estão baseados em resultados promissores obtidos quando aplicados *in vivo* (BRAVERMAN et al., 1989; YU et al., 1994; PINHEIRO et al., 1997; OLIVEIRA, 1999; MORRONE et al., 2000; SILVA JÚNIOR et al., 2002). Porém, quanto a dosagem total apesar de alguns relatos sugerirem doses baixas, o presente estudo utilizou uma dosagem maior (126J/cm²) em uma única aplicação. Segundo alguns autores (YAAKOBI; MALTZ; ORON, 1996; SAITO; SHIMIZU, 1997; PINHEIRO et al., 1997; LUGER et al., 1998) é possível que o efeito da terapia laser dependa não somente da dose total de irradiação, mas também do momento, tempo e modo de

irradiação. Muitos autores têm enfatizado a importância da escolha apropriada do nível de energia, mas a energia recomendada para obter efeito positivo varia grandemente na literatura.

O princípio básico da LLLT é que a irradiação laser possui uma capacidade, dependente do comprimento de onda, capaz de alterar o comportamento celular na ausência de um aquecimento significativo (BASFOR, 1995). Além disso, a magnitude do efeito da biomodulação, também, depende do estado fisiológico da célula no momento da irradiação (KARU, 1989; KARU; PYATIBRAT; KALEND, 1995; KARU et al., 2008). Por essas razões, os efeitos biomoduladores nem sempre são possíveis de serem obtidos. A literatura (OZAWA, et al., 1998) tem mostrado que a ação de estimulação da irradiação laser ocorre durante os estágios iniciais de proliferação e diferenciação em células precursoras imaturas, mas não ocorre durante os estágios mais avançados de diferenciação celular. No presente estudo, a cicatrização óssea parece que foi acelerada nos períodos de 2, 7 e 14 dias dos grupos irradiados, enquanto que no grupos não-irradiados, apenas nos períodos finais (7 e 14 dias). Desta forma, ainda permanece incerto se a estimulação óssea é um efeito geral ou se uma estimulação isolada dos osteoblastos pelo LLLT é possível. Em alguns estudos (TRELLES; MAYAYO, 1987) sobre a neoformação óssea, existe a sugestão de que o efeito biomodulatório do laser não seria apenas por suas propriedades específicas, mas também pela criação de uma série de condições locais que acelerariam a neoformação óssea.

O efeito de biomodulação da laserterapia sobre o reparo ósseo pode envolver o aumento da liberação de GF de células irradiadas, entre estes o FGF que é encontrado no tecido ósseo, e que segundo Sigurdson et al. (1995), à semelhança de outros GF, atuam nas células já diferenciadas responsáveis pela formação óssea, induzindo divisão celular ou aumento da secreção de matriz extracelular. Embasado na literatura (OZAWA; SHIMIZU; ABIKO, 1997; PINHEIRO et al., 1997; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; OZAWA et al., 1998; OLIVEIRA, 1999; SILVA JÚNIOR et al., 2002; FUKUHARA et al., 2006; PRETEL; LIZARELLI; RAMALHO, 2007; PINHEIRO et al., 2008) como protocolo clínico, recomendamos a aplicação de laser imediatamente após o ato operatório, uma vez que já foi demonstrado que no período inicial ocorre a maior resposta celular, já que o tecido procura reparar a injúria do tecido através de mediadores químicos da inflamação e de proliferação celular que seriam biomodulados pela radiação laser. No presente trabalho a terapia laser exerceu uma ação estimulatória sobre as células osteogênicas durante as 2 primeiras semanas. Esta ação resultou na proliferação e diferenciação celular e sugere aumento do volume do osso formado.

A LLLT é caracterizada por uma intensidade muito baixa de irradiação. Assim, todos os efeitos biológicos são causados diretamente pela penetração da luz laser nos tecidos e não em função do aquecimento, o qual ocorre somente entre 0,1°C e 0,5°C resultado da aceleração do metabolismo pelo LLLT (KARU, 1987; KARU, 1989; BRAVERMAN et al., 1989; BASFORD, 1989; BASFORD, 1995; GENOVESE, 2007). A grande maioria dos trabalhos publicados relata claras evidências de que a irradiação laser altera processos celulares em animais de uma maneira não-térmica e dependente do comprimento de onda.

No presente estudo, avaliou-se o efeito da terapia com laser de GaAlAs ($\lambda=830\text{nm}$) na biomodulação óssea após ERM. Como modelo animal, foram utilizados ratos machos adultos jovens para evitar interferências de fatores hormonais. Os ratos vêm sendo utilizados como modelo experimental por numerosos pesquisadores para avaliar a cicatrização óssea. Assim, a resposta cicatricial sob uma variedade de condições tem sido bem documentada. Os ossos da sutura palatina mediana dos ratos apresentam uma camada de osso cortical densamente mineralizada e bem formada, recoberta por uma camada de periósteo. Estudos prévios relataram um ciclo de remodelação óssea alveolar de seis dias, para ratos, comparados aos 60 a 120 dias para adultos humanos. Além disso, a neoformação óssea em ratos foi observada após seis dias do tratamento cirúrgico (FRIESEN et al., 1999).

A biomodulação com laser foi introduzida na Europa há mais de cinco décadas em aplicações clínicas e médicas. Os lasers usados em Odontologia tem incluído os lasers de alta potência tais como: laser de CO₂, o de garneto de alumínio e ytrio (Nd:YAG), o laser de argônio e o laser de Er:YAG e os de baixa potência tais como o laser de hélio e neônio (He-Ne), e os lasers semicondutores. Em geral o laser de alta potência é usado para procedimentos cirúrgicos e os de baixa potência para biomodulação. Na Odontologia, o laser tem sido utilizado, em diversas áreas como cirurgias, dentística geral para a remoção de cárie, tratamento de hipersensibilidade dentinária, pericoronarite, aftas e herpes simples, além de ser empregado também para anestésias, para a aceleração do processo de cicatrização tecidual e controle da dor (WALKER, 1983; SIMUNOVIC; TROBONJACA; TROBONJACA, 1998).

Atualmente, diversos pesquisadores estão trabalhando com os lasers não-cirúrgicos na odontologia com o objetivo de confirmar os resultados positivos alcançados na aceleração do processo de cicatrização de feridas em tecidos mole e ósseo, onde tem sido verificada a proliferação de fibroblastos, assim como de tecido especializado como o endotélio vascular e componentes das células sanguíneas. Entretanto, uma área de grande dúvida no momento é o seu emprego em tecido ósseo, pois a biomodulação tecidual é, sem dúvida, uma das áreas de maior controvérsia no uso dos lasers na Odontologia, embora muitos autores têm encontrado

efetos benéficos e recomendam a sua utilização. Existem alguns relatos em relação ao tecido ósseo com bons resultados, onde alguns pesquisadores (DÖRTBUDAK; HAAS; MAILATH-POKORNY, 2000; KHADRA et al., 2004b; KHADRA, et al., 2005) usaram o LLLT após a colocação de implantes e obtiveram melhor osteointegração devido a rápida remodelação óssea. Dessa forma, relataram que a LLLT parece ser útil também na implantodontia como auxiliar da osteointegração, estimulando a proliferação de células ósseas. No campo da Ortodontia, a irradiação laser tem sido relacionada ao alívio da dor resultante do movimento dentário (TURHANI et al., 2006) facilita a regeneração óssea prevenindo recidivas (SAITO; SHIMIZU, 1997) e à facilidade na movimentação dentária em ratos (KAWASAKI; SHIMIZU, 2000) e no homem (CRUZ et al., 2004). Recentemente, cada vez mais aumentam as pesquisas sobre LLLT na Odontologia com intuito de aplicação clínica. Porém, ainda são escassas no campo da Ortodontia sobre a remodelação óssea.

Atualmente, observa-se que clínicos de todas as áreas estão integrando cada vez mais esta ferramenta de trabalho no seu dia-a-dia. Porém deve ficar claro que o mecanismo dos efeitos da luz laser nos tecidos ainda não é bem conhecido e uma análise comparativa destes resultados é difícil, devido à grande variedade de técnicas, métodos de trabalho e materiais experimentais utilizados, bem como às variações na dose do laser utilizada. Isso porque a escolha dos parâmetros do laser é efetuada de acordo com a experiência dos autores, uma vez que não existem parâmetros universalmente aceitos na laserterapia. Além disso, muitos autores que usam protocolos e unidades de laser similares relataram resultados conflitantes. Não há um determinado parâmetro que por si só produza os efeitos biomoduladores da laserterapia, mas a conjugação de parâmetros diferentes e suas variações de acordo com o modelo experimental.

Apesar do LLLT tratar-se de um avanço tecnológico recente, seu emprego na área odontológica é bem vasto. Porém, acreditamos que são necessárias mais pesquisas e comprovações clínicas com a finalidade de se determinar melhor a ação do laser em cada diferente situação e os mecanismos de ação sobre as células.

Frente ao ineditismo deste trabalho e tendo em vista os relatos conflitantes encontrados na literatura quanto aos protocolos ideais de irradiação com a luz laser, é necessário desenvolver modos mais padronizados e efetivos de irradiação uma vez que uma variedade muito grande de possibilidades de combinações é possível, tais como comprimento de onda, dosagem (quantidade, número de aplicações e momento de aplicação), densidade de potência, tempo de exposição e forma de aplicação da luz laser (contínua, pulsátil) nas mais variadas indicações da LLLT. Ainda são necessários estudos no sentido de determinar as

células-alvo responsáveis pela ação da irradiação com laser e o papel da irradiação sobre estas células durante a formação óssea. Além disso, a realização de técnicas imuno-histoquímicas ajudará a elucidar alguns pontos obscuros quanto ao comportamento celular, o que nos encoraja à realização de novas investigações.

6 CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos deste estudo, pode-se concluir que:

6.1 Ocorreu aceleração da remodelação óssea nos períodos iniciais, como constatado nos grupos experimentais irradiados de 48 horas, enquanto que nos grupos experimentais não-irradiados, a remodelação óssea pode ser observada apenas nos períodos finais (7 e 14 dias);

6.2 Observou-se o efeito bioestimulador nos períodos finais dos grupos irradiados (7 e 14 dias);

6.3 As microtomografias computadorizadas mostraram maior riqueza de detalhes para analisar o rompimento da sutura palatina mediana e seu reparo com o depósito de tecido ósseo do que as radiografias convencionais.

REFERÊNCIAS

ABE, T. Diode laser LLLT-enhanced bone fusion of femoral shaft fracture complicated by chronic osteomyelitis: a case report. **Laser Ther**, v. 2, p.175-178, 1990.

ALBERTINI, R. et al. Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650nm) on carrageenan induced rat paw oedema. **J Photochem Photobiol B: Biol**, v. 74, n. 2-3, p. 101-107, May 2004.

ALMEIDA-LOPES, L. Aplicações clínicas do laser-não-cirúrgico. In: BRUGNERA Jr., A.; PINHEIRO, A. L. B. **Laseres na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998. p. 99-120.

ALMEIDA-LOPES, L. et al. Acción dei laser a baja densidad de potencia en la proliferación in vitro de fibroblastos de encía humana. **Bol SELMQ**, v. 14, n. 5, p. 14-18, Dez 1998.

ALMEIDA-LOPES, L. et al. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. **Lasers Surg Med**, v. 29, n. 2, p. 179-184, Aug 2001.

ANDERS, J. J. et al. Low power laser irradiation alters the rate of regeneration of the rat facial nerve. **Lasers Surg Med**, v.13, n.1, p.72-82, 1993.

ANDERSON, R. R.; PARRISH, J. A. Optical properties of human skin. In: Regan, J. D.; PARRISH, J. A. (Ed.). **The science of photomedicine**. New York: Plenum, 1982. p.147-195.

ANGELL, E. H. Treatment of irregularities of the permanent or adultteeth. **Dental Cosmos**, v. 1, n. 10, p. 540-544, May 1860 apud DEBBANE, E.F. A cephalometric and histologic study of the effect of orthodontic expansion of the midpalatal suture. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar. 1958.

ANGLE, E.H. Bone growing. **Dental Cosmos**, v. 52, p. 261, 1910 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

ANNEROOTH, G. et al. The effect of low-energy infra-red laser irradiation on wound healing in rats. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 26, n. 1, p. 12-17, Feb 1988.

ANNERTH, G.; HALL, G.; RYDEN, H. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 1, n. 26, p 12-17, Feb 1988.

ARAÚJO, N. S.; ARAÚJO, V. G. **Patologia Bucal**. São Paulo: Artes médicas, 1984.

ASANAMI, S. et al. The activatory effect of low incident energy He-Ne laser radiation on hydroxyapatite implants in the rabbit mandibular bone. **Laser Ther**, v. 5, p. 29-32, 1993.

BARBER, A. F., SIMS, M. R.: Rapid maxillary expansion and external root resorption in man: A scanning electron microscope study. **Am J Orthod**, v. 79, n.6, p. 630-652, Jun 1981.

BARNES, R. E.: The early expansion of deciduous arches and its effect on the developing permanent dentition. **Am. J. Orthod**, v. 42, p. 83, 1956 apud DEBBANE, E.F. A cephalometric and histologic study of the effect of orthodontic expansion of the midpalatal suture. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

BARUSHKA, O.; YAAKOBI, T.; ORON, U. Effect of low-energy laser (He-Ne) irradiation on the process of bone repair in the rat tibia. **Bone**, v. 16, n. 1, p. 47-55, Jan 1995.

BASFORD, J. R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers Surg Med**, v. 16, n. 4, p. 331-342, 1995.

BASFORD, J. R. Low-energy laser therapy: controversies and new research findings. **Lasers Surg Med**, v. 9, n.1, p. 1-5, 1989.

BELL, R. A. A review of maxillary expansion in relation to rate of expansion and patient's age. **Am J Orthod**, v.81, n.1, p. 32-37, Jan 1982.

BIEDERMAN, W.; CHEM, B. Rapid correction of Class III malocclusion by midpalatal expansion. **Am J Orthod**, v. 63, n. 1, p. 47-55, Jan 1973.

BIHARI, J.; MESTER, A. R. The biostimulative effect of low level laser therapy on longstanding crural ulcers using Helium Neon Laser, Helium Neo Laser Plus infrared lasers, and noncoherent light: Preliminary report of a randomised double blind comparative study. **Laser Ther**, v. 1, n. 2, p. 97, 1989.

BISHARA, S. E.; STALEY, R. N. Maxillary expansion: Clinical implications. **Am J Orthod**, v. 91, n. 1, p. 3-14, Jan 1987.

BJORDAL, J. M. et al. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. **Aust J Physiother**, v. 49, n. 2, p. 107-16, 2003.

BOLOGNANI, L. et al. ATPase and ATPsynthetase activity in myosin exposed to low power laser and pulsed electromagnetic fields. **Bioelectrochem Bioenergetics**, v. 32, p. 155-164, 1993.

BOSSY, I. et al. In vitro survey of low energy laser beam penetration in compact bone. **Acupunct Electrother Res**, v. 10, n.1-2, p. 35-39, 1985.

BOURGELAISE, D. B. C. The physics of lasers. In: ARNDT, K. A. **Cuttaneous laser therapy**. New York: John Wiley & Sons, 1983.

BRAVERMAN, B. et al. Effect of helium-neon and infrared laser irradiation on wound healing in rabbits. **Lasers Surg Med**, v. 9, n. 1, p. 50-58, 1989.

BROSSMAN, R. E.; BENNETT, C. G.; MEROW, W. W. Facioskeletal remodeling resulting from rapid palatal expansion in the monkey. **Arch Oral Biol**, v. 18, n. 8, p. 987-94, Aug 1973.

BROWN, G.I.V. The application of orthodontia principles to trhe prevention of nasal disease. **Dental Cosmos**, v.45, p. 765-75, 1903 apud DEBBANE, E. F. A cephalometric and histologic study of the effects of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

BRUGNERA JÚNIOR, A. et al. **Atlas de laserterapia aplicada à clínica odontológica**. São Paulo: Santos, 2003.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Lasers na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.

BUCK, D. L.; CHURCH, N. H. A histologic study of human tooth movement, **Am J Orthod**, v. 62, n. 5, p. 507-16. Nov 1972.

BURKITT, H. G.; YOUNG, B.; HEATH, J. W. **Wheater's Functional Histology: A text and color atlas**. Hong Kong: Longman Group, 3rd ed, 1997.

CALDERHEAD, R. G. The Nd: YAG and GaAIAs lasers: a laser comparative analysis in pain therapy. In: ATSUMI, K.; NIMSAKUL, N. **Laser**. Tokyo: Japan Society for Laser Medicine, v. 21, n. 1, 1981.

CHACONAS, S. J.; CAPUTO, A. A. Observation of orthopedic force distribution produced by maxillary orthodontic appliances. **Am J Orthod**, v. 6, n. 82, p. 492-501, Dec 1982.

CLEALL, J. F. et al. Expansion of the midpalatal suture in the monkey. **Angle Orthod**, v. 35, p. 23-35, Jan 1965.

COBEA – Comitê Brasileiro de Experimentação em Animais. Disponível na internet via www.meusite.com.br/cobea. Acesso em 10 outubro de 2006.

COMPADRETTI, G. C.; TASCA, I.; BONETTI, G. A. Nasal airway measurements in children treated by rapid maxillary expansion. **Am J Rhinol.**, v. 20, n. 4, p. 385-93, Jul-Aug 2006.

CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias**. São Paulo: Dental Press, 2005. 615p.

COTTON, L. A. Slow maxillary expansion: Skeletal versus dental response to low magnitude force in Macaca mulatto. **Am J Orthod**, v. 73, n. 1, p. 1-23; Jan 1978.

CROSS, D. L.; McDONALD, J. P. Effect of rapid maxillary expansion on skeletal, dental, and nasal structures: a postero-anterior cephalometric study. **Eur J Orthod**, v. 22, n. 5, p. 519-28, Oct 2000.

CRUZ, D. R. et al. Effects of Low-Intensity Laser Therapy on the Orthodontic Movement Velocity of Human Teeth: A Preliminary Study. **Lasers Surg Med**, v. 35, n.2, p. 117-120, 2004.

SILVA, R. V.; CAMILLI, J. A. Repair of bone defects treated with autogenous bone graft and low-power laser. **J Craniofac Surg**, v. 17, n. 2, p. 297-301, Mar 2006.

DAVID, R. et al. Effect of Low-Power He-Ne laser on fracture healing in rats. **Lasers Surg Med**, v. 19, n. 4, p. 458-464, 1996.

DEBBANE, E. F. A cephalometric and histologic study of the effects of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

DEBBANE, E. F. Contribution to the study of new bone formation in tooth movement. **Rep Congr Eur Orthod Soc**, v. 40, p. 371-7, 1964.

DELGADO, G. H. et al. Tratamiento de defectos óseos horizontales en periodoncia con láser helio-neon. **Rev Cubana Med Milit**, v. 26, n. 2, p. 110-115, 1997.

DERICHSWEILER, H. The disjunction of the midpalatal suture. **Trans Eur Orthod Soc**, v. 29, p. 257-265, Jul 1953 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

DEWEY, M. Development of the maxillae with reference to opening the median suture. **Items of interest**, v. 35, p. 189-208, discussion 271-282, 1913 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

DONATO, A. C.; BORAKS, S. **Laser não-cirúrgico, aplicações prática em odontoestomatologia**. São Paulo: Robe, 1993. p. 150-158.

DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; MAILATH-POKORNY, G. Biostimulation of bone marrow cells with a diode soft laser. **Clin Oral Impl Res**, v.11, n.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 Impl Res**, v. 13, n. 3, p. 288-292, Jun 2002.

DUCY, P.; SCHINKE, T.; KARSENTY, G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. **Science**, v. 289, n. 5484, p. 1501-1504, Sept 2000.

EKSTROM, C; HENRIKSON, C. O.; JENSEN, R. Mineralization in the midpalatal suture after orthodontic expansion. **Am J Orthod**, v. 71, n. 4, p. 449-455, Apr 1977.

FAWCETT, D. W. Bone. In: BLOOM. **A textbook of histology** 12th ed. Philadelphia: Chapman & Hall, 1993. p. 204-207.

FEDERSPIEL, N.M. Development of the maxillae with reference to opening the median suture. **Items of interest**, v. 35, discussion 271-282, 1913 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

FERNANDO, S.; HILL, C. M.; WALKER, R. A. Randomised double blind comparative study of low level laser therapy following surgical extraction of lower molar teeth. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 31, n. 3, p. 170-172, Jun 1993.

FIGURA 4. - EXCITAÇÃO dos átomos com liberação de um fóton. Disponível em: <<http://ciencia.hsw.uol.com.br/laser3.htm>> Acesso em: 20 março de 2008.

FIGURA 5: ESPECTRO eletromagnético. Disponível em: <http://www.teleco.com.br/tutoriais/tutorialfoI/pagina_3.asp>. Acesso em: 20 março de 2008.

FIGURA 6: PROPRIEDADES de monocromaticidade (cor única) e coerência (ondas na mesma fase) de uma radiação laser. Disponível em: <www.electrotherapy.org/Images/laserlight.jpg>. Acesso em 20 março de 2008.

FIKÁCKOVÁ, H. et al. Effectiveness of low-level laser therapy in temporomandibular joint disorders: a placebo-controlled study. **Photomed Laser Surg**, v. 25, n. 4, p. 297-303, Aug 2007.

FISHER, L. W. et al. Synthetic peptide antisera: their production and use in the cloning of matrix proteins. **Connect Tissue Res**, v. 21, n. 1-4, p. 43-50, 1989.

FRANKS, Y. Low level laser therapy in the management of chronic wounds. **J Community Nursing**, v. 13, n. 4, p. 14-22, Apr 1999.

FREITAS, I. G.; BARANAUSKAS, V.; CRUZ-HÖFLING, M. A. Laser effects on osteogenesis. **Appl Surf Sci**, v. 154/155, p. 548-554, Feb 2000.

FRIESEN, L. R. et al. Laser irradiation of bone: II. Healing response following treatment by CO₂ and Nd:YAG Lasers. **J Periodontol**, v. 70, n. 1, p.75-83, Jan 1999.

FUKUHARA, E. et al. Optimal low-energy laser irradiation causes temporal G2/M arrest on rat calvarial osteoblasts. **Calcif Tissue Int**, v. 79, n. 6, p. 443-50, Dec 2006.

GARANT, P. R. **Oral Cells and Tissues**. Illinois: Quintessence Books, 2003. 430p.

GARAVELLO, I.; BARANAUSKAS, V.; CRUZ- HÖFLING, M. A. The effects of low laser irradiation on angiogenesis in injured rat tibiae. **Histol Histopathol**, v. 19, n. 1, p. 43-8, Jan 2004.

GARAVELLO-FREITAS, I. et al. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix or Photobiol ganization during tibia wound healing in rats. **J Photochem Photobiol B: Biol**, v. 70, n. 2, p. 81-9, May-Jun 2003.

GARDNER, G. E.; KRONMAN, J. H. Cranioskeletal displacements caused by rapid palatal expansion in the Rhesus monkeys. **Am J Orthod**, v. 59, n. 2, p. 146-155, Feb 1971.

GARIB, D. G. et al. Periodontal effects of rapid maxillary expansion with tooth-tissue-borne and tooth-borne expanders: a computed tomography evaluation. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 129, n. 6, p. 749-58, Jun 2006.

GENOVESE, W. J. **Laser de baixa potência**. Aplicações terapêuticas na odontologia. São Paulo: ed Santos, 2007.

GERAN, R. G. et al. A prospective long-term study on the effects of rapid maxillary expansion in the early mixed dentition. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 129, n. 5, p. 631-40, May 2006.

GERBI, M. E. M. **Efeitos da radiação laser de 830nm no reparo ósseo de feridas cirúrgicas com implante de osso orgânico bovino associadas ou não ao uso de membrana**. 2004. 166 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

GERBI, M. E. M.; PINHEIRO, A. L. B.; LIMEIRA JÚNIOR, F. A. Efeito da laserterapia de 830nm sobre o reparo de defeitos ósseos com implante de osso bovino orgânico e mineral. **Pesq Odont Bras**, v. 17, supl. 2, p. 255, 2003.

GERBI, M. E. M. et al. O. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. **Photomed Laser Surg**, v. 23, n. 4, p. 382-8, Aug 2005.

GIORDANO, V. et al. Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae. **Injury**, v. 34, n. 2, p. 85-94, Feb 2003.

GIORDANO, V.; GIORDANO, M.; KNACKFUSS, I. G. Fatores de crescimento e diferenciação ósseos. Efeitos sobre o processo de consolidação de fratura: presente e futuro. **Rev Bras Med**, v. 57, n. 9, p. 14-20, Sept 2000.

GODDARD, C.L. Separation of the superior maxilla at the symphysis. **Dental Cosmos**, v. 35, p. 880-82, 1893 apud DEBBANE, E. F. A cephalometric and histologic study of the effects of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

GOLDMAN, L. et al. Effect of laser beam impacts on teeth, **J Am Dent Assoc**, v. 70, p. 601-606, Mar 1965.

GOLDMAN, L. **The biomedical laser: technology & clinical applications**. New York: Springer Verlag, 1981. p.5-25.

GORDJESTANI, M.; DERMAUT, L.; THIERENS, H. Infrared laser and bone metabolism: a pilot study. **International J Oral Maxillofac Surg**, v. 23, n. 1, p. 54-56, Feb 1994.

GREENBAUM, K. R.; ZACHRISSON, B. U. The effect of palatal expansion therapy on the periodontal supporting tissues. **Am J Orthod.**; v. 81, n.1, p.12-21, Jan 1982.

GUZZARDELLA, G. A. et al. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an *in vivo* comparative study. **Clin Oral Impl Res**; v. 14, n. 2, p. 226-232, Apr 2003.

GUZZARDELLA, G. A. et al. Laser stimulation on bone defect healing: an *in vitro* study. **Lasers Med Sci**, v. 17, n. 3, p. 216-220, Aug 2002.

HAAS, A. J. Rapid expansion of the maxillary dental arch and nasal cavity by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 31, n. 2, p. 73-90, Apr 1961.

HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

HAAS, A. J. Palatal expansion: just the beginning of dentofacial orthopedics. **Am J Orthod**, v. 57, n.3, p. 219-55, Mar 1970.

HAAS, A. J. Long-term posttreatment evaluation of rapid palatal expansion. **Angle Orthod**, v. 50, n.3, p. 189-217, Jul 1980.

HAHN, L. et al. Avaliação do volume da cavidade nasal antes e após a expansão rápida da maxila por meio da rinometria acústica. **Rev Sogaor**, v. 3, n. 2, p. 85-96, 1999.

HALAZONETIS, D. J.; KATSAVRIAS, E.; SPYROPOULOS, M. N. Changes in cheek pressure following rapid maxillary expansion. **Eur J Orthod**, v. 16, n. 4, p. 295-300, Aug 1994.

HALL, G. et al. Effect of low energy laser irradiation on wound healing. An experimental study in rats. **Swed Dental J**, v. 18, n. 1-2, p. 29-34, 1994.

HALLMAN, H. O. et al. Does low-energy helium-neon laser irradiation alter "*in vitro*" replication of human fibroblasts? **Lasers Surg Med**, v. 8, n. 2, p. 125-129, 1988.

HARRY, M.R.; SIMS, M. R. Root resorption in bicuspid intrusion. A scanning electron microscope study. **Angle Orthod**, v. 52, n. 3, p. 235-58, Jul 1982.

HARZER, W.; SCHNEIDER, M.; GEDRANGE, T. Rapid maxillary expansion with palatal anchorage of the hyrax expansion screw-pilot study with case preresentation. **J Orofac Orthop**, v. 65, n. 5, p. 419-24, Sept 2004.

HAWLEY, C.A. A study in maxillary movement. Items of interest, v.34, p. 426-51, 1912 apud DEBBANE, E. F. A cephalometric and histologic study of the effects of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

HELLDÉN, L. Periodontal healing following experimental injury to root surfaces of human teeth. **Scand J Dent Res**, v. 80, n. 3, p. 197-205, Feb 1972.

HERRING, S. W. Sutures - A tool in functional cranial analysis. **Acta Anat**, v. 83, n. 2, p. 222-247, 1972.

HERSHEY, H. G.; STEWART, B. L.; WARREN, D. W.: Changes in nasal airway resistance associated with rapid maxillary expansion. **Am J Orthod**, v. 69, n. 3, p. 274, Mar 1976.

HICKS, E. P. Slow maxillary expansion a clinical study of the skeletal versus dental response to low-magnitude force. **Am J Orthod**, v. 71, n. 4, p. 449-455, Apr 1977.

HILLENKAMP, F. Laser radiation tissue interaction. **Health Physics**, v. 56, n. 5, p. 613-616, May 1989.

HOFFER, F. L. Jr, WALTERS, R. D. Adaptive changes in the face of the *Macaca mulatta* monkey following orthopedic opening of the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 45, n. 4, p. 282-90, Oct 1975.

HONMURA, A. et al. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. **Lasers Surg Med**, v. 12, n.4, p. 441-9, 1992.

IN DE BRAEKT, M. M. et al. Effect of Low Level Laser Therapy on Wound Healing After palatal Surgery in Beagle Dogs. **Lasers Surg Med**, v. 11, n.5, p. 462-470, 1991.

INGRAM, R. T. et al. Distribution of non-collagenous proteins in the matrix of adult human Bone: evidence of anatomic and functional heterogeneity. **J Bone Miner Res**, v. 8, n. 9, p. 1019-1029, Sept 1993.

ISAACSON, R.; WOOD J. L.; INGRAM, A. H. Forces produced by rapid maxillary expansion. **Angle Orthod**, v. 34, n. 4, p. 256-260, Oct 1964.

JASLOW, C. R. Mechanical properties of cranial sutures. **J Biomech**, v. 23, p. 313-321, 1990.

JOHNSTON, C. S.; HUANG, S. N. Effect of ascorbic acid nutrition on blood histamine and neutrophil chemotaxis in guinea pigs. **J Nutr**, v. 121, n. 1, p. 126-30, Jan 1991.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido Ósseo. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.111-128, 1999.

KAMALI, F. et al. The therapeutic effect of low-level laser on repair of osteochondral defects in rabbit knee. **J Photochem Photobiol B**, v. 88, n. 1, p. 11-5, Jul 2007. Epub 2007 May 1.

KAMEYA, T. et al. Effects of different wavelengths of low level laser therapy on wound healing in mice. **Laser Ther**, v. 7, p. 33-36, 1995.

KANA, J. S. et al. Effect of low-power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. **Arch Surg**, v. 116, n. 3, p. 293-296, Mar 1981.

KARU, T. Photobiological fundamentals of low-power laser therapy. **J Quantum Electronics**, v. QE23. n. 10, p. 1703-1717, Oct 1987.

KARU, T. Photobiology of low-power laser effects. **Health Phys**, v. 56, n. 5, p. 691-704, May 1989.

KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **J Photochem Photobiol B**, v. 49, n. 1, p. 1-17, Mar 1999.

KARU, T; PYATIBRAT, L. V; KALENDO, G. S. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated *in vitro*. **J Photochem Photobiol B**, v. 27, n. 3, p. 219-223, Mar 1995.

KARU, T. et al. Effects of monochromatic low-intensity laser irradiation on adhesion of HeLa cells in vitro. **Lasers Surg Med**, v. 18, n. 2, p. 171-177, 1996.

KARU, T et al. Elementary processes in cells after light absorption do not depend on the degree of polarization: implications for the mechanisms of laser phototherapy. **Photomed Laser Surg**, v. 26, n. 2, p. 77-82, Apr 2008.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. Tecido Ósseo. In: KATCHBURIAN, E.; ARANA-CHAVES, V. **Histologia e Embriologia Oral. Texto – Atlas - Correlações Clínicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 21-38, 1999.

KAWASAKI, K.; SHIMIZU, N. Effects of low-energy laser irradiation on Bone remodeling during experimental tooth movement in rats. **Lasers Surg Med**, v. 26, n. 3, p. 282-291, 2000.

KERT, J.; ROSE, L. **Clinical laser therapy low level laser therapy**. Copenhagen: Scandinavian Medical Laser Technology, 1998.

KETCHAM, A.H. Treatment by the orthodontist supplementing that by the rhinologist. **Dental Cosmos**, v. 54, p. 1312-1321, 1912 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

KHADRA, M. et al. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. v. 97, n. 6, p. 693-700, Jun 2004a.

KHADRA, M. et al. Effect of laser therapy on attachment, proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells cultured on titanium implant material. **Biomaterials**, v. 26, n. 17, p. 3503-9, Jun 2005.

KHADRA, M. et al. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. **Clin Oral Implants Res**, v. 15, n. 3, p. 325-332, Jun 2004b.

KHULLAR, S. M. et al. Preliminary study of low-level laser for treatment of long-standing sensory aberrations in the inferior alveolar nerve. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 54, n.7, p. 2-7, Jan 1996.

KIM, Y. D. et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. **Lasers Surg Med**, v. 39, n. 5, p. 441-50, Jun 2007.

KIPSHIDZE, E. N. et al. Low-power helium-neon laser irradiation enhances production of vascular endothelial growth factor and promotes growth of endothelial cells In Vitro. **Lasers Surg Med**, v. 28, n. 4. p. 355-364, Apr 2001.

KOKICH, V. G. et al. Craniofacial sutures. In: Bowden D. **Aging in nonhuman primates**. New York: Raven Press. 1979. 368 p.

KOLÁVORA, H.; DITRICHOVÁ, D.; WAGNER, J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. **Lasers Surg Med**, v. 24, n.3, p. 231-235, 1999.

KORKHAUS, G. Present orthodontic thought in Germany: jaw widening with active appliances in cases of mouth breathing. **Am J Orthod**, v. 46, n.3, p. 187-206, Mar 1960.

KOSKI, L. K. Cranial growth centers: Facts or fallacies? **Am J Orthod**, v. 54, n. 8, p. 566-583, Aug 1968.

KREBS, A. Expansion of the midpalatal suture, studied by means of metallic implants. **Acta Odontol Scand**, v. 17, n. 4, p. 491-501, Dec., 1959.

KREBS, A. Midpalatal suture expansion studied by the implant method over a seven-year period. **Trans Eur Orthod Soc**, p. 131-42, 1964.

KREISLER, M et al. Low Level 809nm Diode Laser-Induced In Vitro Stimulation of the Proliferation of Human Gingival Fibroblasts. **Lasers Surg Med**, v. 30, n. 5, p. 365-369, Jun 2002.

KRESSNER, A. Maxillary orthopedics and otorhinolaryngology. **Trans Eur Orthod Soc**, v. 42, p. 355-360, Jul 1966.

KUBOTA, J.; OSHIRO, T. The effects of diode laser low reactive level therapy (LLLT) on flap survival in a rat model. **Laser Ther**, v. 1, n. 3, p. 127, 1989.

KUCEROVÁ, H. et al. Low-level laser therapy after molar extraction. **J Clin Laser Med Surg**, v. 18, n. 6, p. 309-15, Dec 2000.

KUTSCH, V. K. Lasers in dentistry: comparing wavelengths. **J Am Dent Assoc**, v. 124, n. 2, p. 49-54, Feb 1993.

LABBE, R. F. et al. Laser photobioactivation mechanisms: in vitro studies using ascorbic acid uptake and hydroxyproline formation as biochemical markers of irradiation response. **Lasers Surg Med**, v. 10, n.2, p. 201-207, 1990.

LAGRAVÈRE, M. O. et al. Meta-analysis of immediate changes with rapid maxillary expansion treatment. **J Am Dent Assoc**, v. 137, n. 1, p. 44-53, Jan 2006.

LANDSBERGER, R. Indications for the expansion of the maxilla. **Dental Cosmos**, v. 52, p. 121, 1910 apud DEBBANE, E. F. A cephalometric and histologic study of the effects of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

LANGFORD, S. R.; SIMS, M. R. Root surface resorption, repair, and periodontal attachment following rapid maxillary expansion in man. **Am J Orthod**, v. 81, n. 2, p. 108-15, Feb 1982.

LEMOS, C. et al. Sistema ósteo-articular, In: BRASILEIRO FILHO, G. et al. **Bogliolo-patologia**. 5. ed. Rio Janeiro. Guanabara Koogan, 1994. cap. 26, p. 827-847.

LERNER, U. H. Osteoclast formation and resorption. **Matrix Biology**, v. 19, n. 2, p. 107-120, May 2000.

LIAN, J. B.; STEIN, G. S. Concepts of osteoblast growth and differentiation: basis for modulation of Bone cell development and tissue formation. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 3, n. 3, p. 269-305, 1992.

LIEVENS, P. C. Laser stimulation of collagen synthesis in human of the lymphatic system. **Laser Med Sci**, v. 6, n.2, p. 189-191, Jun 1991.

LILJA, E.; ODENRICK, L. Root resorption following slow maxillary expansion. **Swed Dent J Suppl**, v. 15, p.123-9, 1982.

LIM, H. M.; LEW, K. K.; TAY, D. K. A clinical investigation of the efficacy of low level laser therapy in reducing orthodontic postadjustment pain. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 108, n. 6, p.614-22, Dec 1995.

LIMEIRA JÚNIOR, F. A., PINHEIRO, A. L. B.; GERBI, M. E. M. Avaliação Histológica do Reparo Ósseo em Ferida Cirúrgica com Implante de Osso e Membrana Liofilizados após Laser 830nm. **Pesq Odont Bras**, v. 16, Supl, p. 170, 2002.

LIMPANICHKUL, W. et al. Effects of low-level laser therapy on the rate of orthodontic tooth movement. **Orthod Craniofac Res**, v. 9, n. 1, p. 38-43, Feb 2006.

LINES, P. A. Adult rapid maxillary expansion with corticotomy. **Am J Orthod**, v.67, n. 1, p. 44-56, Jan 1975.

LIU, X. et al. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. **Photomed Laser Surg**, v. 25, n. 6, p. 487-94, Dec 2007.

LIZARELLI, R. F. Z.; LAMANO-CARVALHO, T. L.; BRENTÉGANI, L. G. Histometrical evaluation of the healing of the dental alveolus in rats after irradiation with a low-powered GaAlAs laser. **SPIE Conference on Lasers in Dentistry**, v. 3593, p. 49-55, 1999.

LOPES, C. B. et al. Infrared laser light reduces loading time of dental Implants: A Raman spectroscopic study. **Photomed Laser Surg**, v. 23, n. 1, p. 27–31, Feb 2005.

LOPES, L. A. et al. Infrared Laser Photobiomodulation (λ 830 nm) on Bone Tissue Around Dental Implants: A Raman Spectroscopy and Scanning Electronic Microscopy Study in Rabbits. **Photomed Laser Surg**, v. 25, n. 2, p. 96-101, 2007.

LOW, J.; REED, A. **Eletroterapia explicada princípios e pratica**. São Paulo: Manole, 2001. p.389-409.

LUGER, E. J. et al. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. **Lasers Surg Med**, v. 22, n. 2, p. 97-102, 1998.

MAEGAWA, Y. et al. Effects of near-Infrared low-level laser irradiation on microcirculation. **Lasers Surg Med**, v. 27, n. 5, p. 427-437, 2000.

MAIMAN, T. Stimulated optical radiation in ruby. **Nature**, v.187, p.493, 1960.

MARCANTONIO JÚNIOR, E.; MARCANTONIO, R. A. C.; CIRELLI, J. A Regeneração óssea: vertical e horizontal. In: TUNES, U. R.; RAPP, G E. (Coord.). **Atualização em Periodontia e Implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, 1999. cap. 15, p. 297-316.

MARTENSON, G. Rhinological aspects. **Trans Eur Orthod Soc**, v. 29, p.291-93, Jul 1956.

MELO, C. A. S.; MELO, A.; MELO, B. Characterization of light penetration in rat tissues. **J Clin Laser Med Surg**, v. 18, n. 4, p. 175-79, 2001.

MELSEN, B. A.: A histological study of the influence of sutural morphology and skeletal maturation on rapid palatal expansion in children. **Trans Eur Orthod Soc**, p. 499, 1972.

MEMIKOGLU, T. U.; ISERI, H. Effects of a bonded rapid maxillary expansion appliance during orthodontic treatment. **Angle Orthod**, v. 69, n. 3, p. 251-256, Jun 1999.

MESNARD, L. Immediate separation of the maxillae as a treatment for nasal impermeability. **Dental record**, v.49, p.371-71, 1929 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

MESTER, A. F.; MESTER, A. Wound healing. **Laser Ther**, v. 1, n. 1, p. 7, 1989.

MESTER, E. The use of the laser beam in therapy. **Orv Hetil**, v. 107, n. 22, p. 1012-6, May 1966.

MESTER, E.; MESTER, A. F.; MESTER, A. The biomedical effects of laser application. **Lasers Surg Med**, v. 5, n. 1, p. 31-39, 1985.

MESTER, E.; SPIRY, T.; SZENDE, B.; TOTA, J. G. Effect of laser rays on wound healing. **Am J Surg**, v. 122, n. 4, p. 532-535, Oct 1971.

MEW, J. Relapse following maxillary expansion. A study of twenty-five consecutive cases. **Am J Orthod**, v. 83, n. 1, p. 56-61, Jan 1983.

MI, X.Q. et al. A comparative study of 632,8nm and 532nm laser irradiation on some rheological factors in human blood *in vitro*. **J Photochem Photobiol B: Biol**, v. 74, n. 1, p. 7-12, Mar 2004.

MILORO, M.; MILLER, J. J.; STONER, J. A. Low-Level Laser Effect on Mandibular Distraction Osteogenesis. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 65, n.2, p. 168-176, Feb 2007.

MISERENDINO, L.J.; PICK, R.M. **Lasers in Dentistry**, Quintessence Publishing, 1995.

MODOLIN, M.L.A., SOUZA, L.C. M (1993). **Cicatrização das feridas**, in: Barros, J.J., Souza, L.C.M. Traumatismo Buco Maxilo Facial. São Paulo: Roca, p. 58.

MONSON, G. Constricted vaults. **Dental Cosmos**, v. 40, p. 914-20, 1898 apud HAAS, A. J. The treatment of maxillary deficiency by opening the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 35, p. 200-17, Jul 1965.

MORIMOTO, Y. et al. Effect of low-intensity argon laser irradiation on mitochondrial respiration. **Lasers Surg Med.** , v. 15, n. 2, p. 191-199, 1994.

MORRONE, G. et al. Muscular trauma treated with a Ga-Al-As diode laser: In Vivo experimental study. **Lasers Med Sci**, v. 13, n.4, p. 293-298, Dec 1998.

MORRONE, G. et al. Osteochondral lesion repair of the knee in the rabbit after low-power diode Ga-Al-As laser biostimulation: an experimental study. **Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol**, v. 28, n. 4, p. 321-36, Jul 2000.

MOSS, J. R. Rapid expansion of the maxillary arch. Part I. **J Clin Orthod**, v. 6, p. 165-171, Apr 1968.

MOSS, M. L. Experimental alteration of sutural área morphology. **Anat Rec**, v. 127, n. 3, p. 568-589, Mar 1957.

MOSS, M. L.; YOUNG, R. W. A functional approach to craniology. **Am J Phys Antropol**, v. 18, n. 4, p. 281-292, Dec 1960.

MOYERS, R. E. **Ortodontia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. 483p.

MUGUERZA, O. E.; SHAPIRO, P. A.: Palatal mucoperios-tomy an attempt to reduce relapse after slow maxillary expansion. **Am J Orthod**, v. 78, n. 5, p. 548, Nov 1980.

MURRAY, J. H., CLEALL, J. F. Early tissue response to rapid maxillary expansion in the midpalatal suture of the rhesus Monkey. **J. Dent. Res.**, v. 50, n. 6, p. 1654-60, Dec 1971.

NAGASAWA, A.; KATO, K.; NEGISHI, A. Bone regeneration effect of low level lasers including argon laser. **Laser Ther**, v. 3, p. 59-62, 1991.

NANDA R, HICKORY W. Zygomaticomaxillary suture adaptations incident to anteriorly-directed forces in rhesus monkeys. **Angle Orthod**, v.54, n. 3, p.199-210, Jul 1984.

NEELEY, W. W. 2nd; EDGIN, W. A.; GONZALES, D. A. A review of the effects of expansion of the nasal base on nasal airflow and resistance. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 65, n. 6, p.1174-9, Jun 2007.

NICHOLSON, P. T.; PLINT, D. A. A long term study of rapid maxillary expansion and bone grafting in cleft lip and palate patients. **Eur J Orthod**, v. 11, n. 2, p. 186-92, May 1989.

NICOLA, J. H.; NICOLA, E. M. D. Wavelength, frequency, and color: absolute or relative concepts? **J Clin Laser Med Surg**, v. 20, n. 6, p. 307-311, Dec 2002.

NICOLA, R. A. et al. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Lasers Med Sci**, v. 18, n. 2, p. 89-94, May 2003.

NISSAN, M. et al. HeNe laser irradiation delivered transcutaneously: its effect on sciatic nerve of rats. **Lasers Surg Med**, v. 6, n.5, p.435-438, 1986.

NISSAN, J. et al. Effect of low intensity laser irradiation on surgically created bony defects in rats. **J Oral Rehabil**, v. 33, n. 8, p. 619-924, Aug 2006.

NOMURA, K.; YAMAGUCHI, M.; ABIKO, Y. Inhibition of interleukin-1beta production and gene expression in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation. **Lasers Med Sci**, v. 16, n. 3, p. 218-223, Jun 2001.

O'KANE, S. H. et al. Low intensity laser irradiation inhibits tritiated thymidine incorporation in the Hemopoietic cell lines HL-60 and U937. **Lasers Surg Med**, v. 14, n.1, p. 34-39, 1994.

ODENRICK, L.; LILJA, E.; LINDBÄCK, K. F. Root surface resorption in two cases of rapid maxillary expansion. **Br J Orthod**, v. 9, n. 1, p. 37-40, Jan 1982.

ODENRICK, L. et al. Surface resorption following two forms of rapid maxillary expansion. **Eur J Orthod**, v. 13, n. 4, p. 264-70, Aug 1991.

OGAWARA, M. et al. Effect of ascorbic acid deficiency on primary and reparative dentinogenesis in non-ascorbate-synthesizing ODS rats. **Arch Oral Biol**, v. 42, n. 10-11, p. 695-704, Oct-Nov 1997.

OHSHIMA, O. Effect of lateral expansion force on the maxillary suture in cynomolgus monkey. **J Osaka Dent Univ**, v. 6, n. 1, p. 11, Apr 1972.

OHSHIRO, T.; CALDERHEAD, R. G. The development of low reactive-level laser therapy (LLLT) and its present status. **J Clin Laser Med Surg**, v. 9, n. 4, p. 267-275, Aug 1991.

OLIVEIRA, M A. M. **Efeito da Radiação Laser Não-Cirúrgica na Bioestimulação Óssea Pós-implante: Análise com Microscopia Eletrônica de Varredura**. 1999. 85p. Monografia (Especialização em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial). Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 1999.

OSTUNI, A.; PASSARELLA, S.; QUAGLIANIELLO, E. The energy dose dependence of the activity of glutamate de hydrogenase irradiated with helium neon laser. **Laser Technol**, v. 4, n. 1/2, p. 13-16, 1994.

OTTOLENGUI, R. Spreading the maxillae versus Spreading the arch. **Items of interest**. v. 26, p. 836-55, 1904 apud DEBBANE, E.F. A cephalometric and histologic study of the effect of orthodontic expansion of the midpalatal suture. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

OZAWA, Y.; SHIMIZU, N.; ABIKO, Y. Low-Energy Diode Laser Irradiation reduced plasminogen activator activity in human periodontal ligament cells. **Lasers Surg Med**, v. 21, n. 5, p. 456-463, 1997.

OZAWA, Y. et al. Low-Power Laser Irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone**, v. 22, n. 4, p. 347-354, Apr 1998.

OZAWA, Y. et al. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone formation *in vitro*. **Proc SPIE**, v. 1984, p. 281-288, 1995.

PATEL, C.K.N. et al. Selective excitation transfer and optical maser action in N₂-CO₂. **Physiol. Rev.**, v.13, p.617-9, 1964.

PASSARELLA, S. et al. Increase of proton electrochemical and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by Helium-Neon laser. **FEBS Letters**, v. 175, n. 1, p. 95, Sept 1984.

PEARSON, L. E.; PEARSON, B. L. Rapid maxillary expansion with incisor intrusion: a study of vertical control. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 115, n. 5, p. 576-82, May 1999.

PEPTAN, A. I. et al. Responses of intramembranous bone and sutures upon in vivo cyclic tensile and compressive loading. **Bone**, v.42, p. 432-438, 2008.

PEREIRA, A. N. et al. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. **Lasers Surg Med**, v. 31, n. 4, p.263-267, 2002.

PERSSON, M.: Structure and growth of facial sutures. **Odontol. Revy Supp**, v. 26, p. 1-146, 1973.

PERSSON, M.; THILANDER, B. Palatal suture closure in man from 15 to 35 years of age. **Am J Orthod**, v. 72, n. 1, p. 42-52, Jul 1977.

PIMENTA, L. H. M. **Laser em medicina e biologia**. São Paulo: Roca, 1990.

PINHEIRO, A. L. B. Evolução histórica. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. (Org.). **Lasers na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998. cap. 01, p. 19-26.

PINHEIRO, A. L. B.; FRAME, J. W. Laser em Odontologia: seu uso atual e perspectivas futuras. **Rev Gaúcha Odontol**, v. 40, n. 5, p. 327-332, set/out 1992.

PINHEIRO, A. L. B.; GERBI, M. E. M. Photoengineering of bone repair processes. **Photomed Laser Surg**, v. 24, n. 2, p. 169-178, 2006.

PINHEIRO, A. L. et al. Low-Level Laser Therapy in management of disorders of the maxillofacial region. **J Laser Clin Med Surg**, v. 15, n. 4, p. 181-183, 1997.

PINHEIRO, A. L. et al. Low-level laser therapy in the management of the maxillofacial region. **J Clin Laser Med Surg**, v. 16, n. 4, p. 223-226, Aug.1998.

PINHEIRO, A. L. et al. Infrared laser light further improves bone healing when associated with bone morphogenetic proteins and guided bone regeneration: an in vivo study in a rodent model. **Photomed Laser Surg**, v. 26, n. 2, p. 167-74, Apr 2008.

PINHEIRO, A. L. B. et al. O. Effect of 830-nm Laser Light on the Repair of Bone Defects Grafted with Inorganic Bovine Bone and Decalcified Cortical Osseous Membrane. **J Clin Laser Med Surg**, v. 21, n. 5, p. 301-306, Oct 2003.

POGREL, M. A.; CHEN, J. W.; ZHANG, K. Effects of low-energy gallium-aluminum-arsenide laser irradiation on cultured fibroblasts and keratinocytes. **Lasers Surg Med.**, v. 20, n. 4, p. 426-432, 1997.

PÖNTINEN, P. J. **Low level laser therapy as a medical treatment modality**. Tampere: Art Urpo, 1992, p. 13-17.

PRETEL, H.; LIZARELLI, R. F.; RAMALHO, L. T. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. **Lasers Surg Med**, v. 39, n. 10, p. 788-96, Dec 2007.

PROFFIT, W. R.; FIELDS JR, H. W.; SARVER, D. M. **Contemporary orthodontics**, 4th ed., St. Louis: Mosby Elsevier, 2007, 751p.

PYCZEK, M.; SOPALA, M.; DABROWSKI, Z. Effect of low-energy laser power on the bone marrow of the rat. **Folia Biológica**, v. 42, n. 3-4, p. 151-156, 1994.

RENSON, C. E. **Lasers in dentistry**, v. 16, n. 9, p. 371-372, 1989.

RIGAU, I.; MAS, J. Bioenergia e Propriedades ópticas dos Tecidos. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B.. **Laseres na Odontologia Moderna**. São Paulo: Pancast, 1998. p. 65-78.

RINDERER, L. The effects of expansion of the palatal suture. **Rep Congr Eur Orthod Soc**. v. 42, p. 365-82, Jul 1966.

RIZZATTO, S. M. D. et al. Avaliando o procedimento da expansão rápida da maxila através da tomografia computadorizada helicoidal. **Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 3, n. 4, p. 76-87, 2004.

ROBBINS, S. L.; ANGEL, M.; KUMAR, V. Inflamação e reparação. In: ROBBINS, S. L.; ANGEL, M.; KUMAR, V. **Patologia Básica**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 32-68.

ROBEY, P. G. et al. Structure and molecular regulation of Bone matrix proteins. **J Bone Min Res**, v. 8, Supl. 2, p, 483-87, Dec 1993.

ROCHKIND, S. et al. Electrophysiological Effect of HeNe Laser on Normal and Injured Sciatic Nerve in the Rat. **Acta Neurochir (Wien)**, v. 83, n.3-4, p.125-130, 1986.

ROCHKIND, S. et al. Systemic effects of Low-Power Laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. **Lasers Surg Med**, v. 9, n. 2, p. 174-182, 1989.

ROSENBERG, A. E. Skeletal system and soft tissue tumors. In: COTRAN, R.S.; ROBINS, S.L., KUMAR, V. **Robbins-pathologic basic of disease**. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1994. Cap.27, p. 1213-1217.

ROSSI JÚNIOR, R. **Bases biológicas da implantodontia**. São Paulo: Pancast, 1994 Cap. 4, p.38-71: Reação dos tecidos bucais frente a agressão.

RØYNESDAL, A. K. et al. The effect of soft Laser application on postoperative pain and swelling. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 22, n. 4, p. 242-245, Sept 1993.

RYGH, P. Ultrastructural celular reactions in pressure zones of the rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. **Acta Odont Scand**, v. 30, n. 5, p. 575-593, Nov 1974.

SAADIA, M.; TORRES, E. Sagittal changes after maxillary protraction with expansion in class III patients in the primary, mixed, and late mixed dentitions: a longitudinal retrospective study. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 117, n. 6, p. 669-80, Jun 2000.

SAITO, S.; SHIMIZU, N. Stimulatory effects of low-laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in rat. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 111, n. 5, p. 525-532, May 1997.

SAKURAI, Y.; YAMAGUCHI, M.; ABIKO, Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. **Eur J Oral Sci**, v. 108, n. 1, p. 29-34, Feb 2000.

SATO, K. Avaliação cefalométrica da disjunção palatina mediana, através da telerradiografia em norma frontal. **Rev Odont Metodista**, v. 6, n. 1, p. 123-36, 1985.

SATTAYUT, S.; HUGHES, F.; BRADLY, P. 820 nm gallium aluminium arsenide laser modulation of prostaglandin E2 production in interleukin-1 stimulated myoblasts. **Laser Ther**, v. 11, p. 88-95, 1999.

SAWADA, M; SHIMIZU, N. Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor- β 1 in the rat. **Eur J Orthod**, v. 18, n. 1, p. 169-79, 1996.

SCANAVINI, M. A. et al. Avaliação comparativa dos efeitos maxilares da expansão da maxila com os aparelhos de Haas e Hyrax. **Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 11, n. 1, p. 44-59, 2006.

SCHAFFER, M. et al. Biomodulative effects induced by 805 nm laser irradiation of normal and tumor cells. **J Photochem Photobiol B**, v. 40, n. 3, p. 253-257, Oct 1997.

SCHLAGER, A. et al. Low-Power Laser Light in the healing of burns: A comparison between two different wavelengths (635 nm and 690 nm) and a placebo group. **Lasers Surg Med**, v. 27, n. 1, p. 39-42, 2000.

SCOTT, J. H. Growth at facial sutures. **Am J Orthod**, v. 42, n. 5, p. 381-387, May 1956.

SEAL, B. L.; OTERO, T. C.; PANITCH, A. A polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration. **Materials Science Engineering R**, v. 34, n. 4-5, p. 147-230, Oct 2001.

SEIFI, M. et al. Effects of two types of low-level laser wave lengths (850 and 630 nm) on the orthodontic tooth movements in rabbits. **Lasers Med Sci**, v. 22, n. 4, p. 261-4, Nov 2007. Epub 2007 Mar 3.

SICHER, H.; DU BRUL, E.L. **Anatomia Bucal**. 6 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1977. 511 p.

SIGURDSSON, T. J. et al. Periodontal repair in dogs: recombinant bone morphogenetic protein- 2 significantly enhances periodontal regeneration. **J Periodontol**, v. 60, n. 2, p. 131-138, Feb 1995.

SILVA FILHO, O. G.; CAPELOZZA Filho, L. Expansão rápida da maxila: preceitos clínicos. **Ortodontia**, v. 21, n. 1, p. 49-69, 1988.

SILVA JÚNIOR, A. N. et al. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. **J Clin Lasers Med Surg**, v. 20, n. 2, p. 83-87, Apr 2002.

SIMÕES, F. X. P. C. **Avaliação da maturação óssea na região da sutura palatina mediana após expansão rápida da maxila, por meio de imagem digitalizada.** (Dissertação em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001.

SIMÕES, F. X. P. C.; ARAÚJO, T. M.; BITTENCOURT, M. A. V. Avaliação da Maturação Óssea na Sutura Palatina Mediana, após Expansão Rápida da Maxila, por Meio da Imagem Digitalizada. **Rev Dental Press Ortod Ortop Fac**, v. 8, n. 1, p. 59-68, jan-fev 2003.

SIMS, M. R.; WEEKES, W. T. Resorption related to orthodontics and some morphological features of the periodontal microvascular bed. **Int Endod J**, v. 18, n. 2, p. 140-5, Apr 1985.

SIMUNOVIC, Z.; TROBONJACA, T.; TROBONJACA, Z. Treatment of medial and lateral epicondylitis--tennis and golfer's elbow--with low level laser therapy: a multicenter double blind, placebo-controlled clinical study on 324 patients. **J Clin Laser Med Surg**, v. 16, n. 3, p. 145-51, Jun 1998.

SKINNER, S. M. et al. A preliminary study of the effects of laser radiation on collagen metabolism in cell culture. **Aust Dent J**, v. 41, n. 3, p. 188-192, Jun 1996.

SPECTOR, J. A. et al. Expression of Bone Morphogenetic Proteins during Bone healing. **Plast Reconstr Surg**, v. 107, n. 1, p. 124-134, Jan 2001.

STARNBACH, H. et al. Facioskeletal and dental changes resulting from rapid maxillary expansion, **Angle Orthod**, v. 36, n. 2, p. 152-164, Apr 1966.

STOCKFISCH, H. Rapid maxillary expansion of the maxillar-success and relapse. **Trans Eur Orthod Soc**, v.45, p. 469-81, Jul 1969.

STOREY, E.: Tissue response to the movement of bones. **Am J Orthod**, v. 64, n.3, p. 229, Sept 1973.

TAGA, R. et al. Reparo de defeito ósseo perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. **R Bras Implant**, Jan/Feb 1997.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. **International J Oral Maxillofac Surg**, v. 17, n. 6, p. 388-391, Dec 1988.

TANG, X. M.; CHAI, B. P. Effects of CO2 Laser irradiation on experimental fracture healing: a transmission electron microscopic study. **Lasers Surg Med**, v. 6, n. 3, p. 346-352, 1986.

TEN CATE, A. R. **Histologia Bucal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

TEN CATE, A. R., FREEMAN, E., DICKINSON, J. B.: Sutural development and its response to rapid expansion. **Am J Orthod**, v. 71, n. 6, p. 622-36, Jun 1977.

TERMINE, J. D. Biochemistry of the Bone matrix. In: LINDH, E.; THORELL, J. L. **Clinical impact of bone and connective tissue markers**. London: Academic Press, 1989. p. 91-100.

THILANDER, B.; RYGH, P.; REITAN, K. Diagnóstico e planejamento do tratamento ortodôntico. In: Graber, T. M; Vanarsdall, R. L. **Ortodontia princípios e técnicas atuais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. cap. 2 Reações teciduais em ortodontia. p. 101-168.

THOMPSON, R. W. Extraoral high-pull forces with rapid palatal expansion in the Macaca mulatta. **Am J Orthod**, v. 66, n. 3, p. 302-17, Sept 1974.

THORNE, N; HUGO, A. Expansion of maxilla. Spreading the midpalatal suture; measuring the widening of the apical base and the nasal cavity on serial roentgenograms. **Am J Orthod**, v.46, p.626, 1960.

TIMMS D. J. An occlusal analysis of lateral maxillary expansion with midpalatal suture opening. **Dent Pract Dent Rec**, v. 18, n. 12, p. 435-41, Aug 1968.

TIMMS, D. J. A study of basal movement with rapid maxillary expansion. **Am J Orthod**, v. 77, n.5, p. 500-7, May 1980.

TIMMS, D. J. The reduction of nasal airway resistance by rapid maxillary expansion and its effect on respiratory disease. **J Laryngol Otol**, v. 98, n. 4, p. 357-62, Apr 1984.

TIMMS, D. J., MOSS, J. P. An histological investigation into the effects of rapid maxillary expansion on the teeth and their supporting tissues. **Trans Eur Orthod Soc**, v. 71, n. 4, p. 263-71, Apr 1971.

TORRICELLI, P. et al. Laser biostimulation of cartilage: in vitro evaluation. **Biomedicine Pharmacotherapy**, v. 55, n. 2, p. 117-120, Mar 2001.

TOST, I. A.J.E. et al. **Aplicaciones del laser de CO2 en odontologia**. Madrid: Ergon Ediciones, S.A., 1995.

TRELLES, M. A.; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. **Lasers Surg Med**, v. 7, n.1, p. 36-45, 1987.

TSAI, C.; LYNN, L. H. H.; MING-CHIEN, K. Effect of CO2 laser on healing of cultured meniscus. **Lasers Surg Med**, v. 20, p. 172-8, 1997.

TURHANI, D. et al. Pain relief by single low-level laser irradiation in orthodontic patients undergoing fixed appliance therapy. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 130, n. 3, p. 371-7, Sept 2006.

UEDA, Y.; SHIMIZU, N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy on bone nodule formation in rat calvarial cells. **J Clin Laser Med Surg**, v. 21, n. 5, p. 271-277, Oct 2003.

UEDA, Y.; SHIMIZU, N. Pulse irradiation of low-power laser stimulates bone nodule formation. **J Oral Sci**, v. 43, n. 1, p. 55-60, Mar 2001.

URIST, M. R. Bone formation by autoinduction. **Science**, v. 150, n. 698, p. 893-899, Nov 1965.

URSI, W. J. S. et al. Alterações transversais produzidas pela aparelho de expansão maxilar com cobertura oclusal, avaliada pelas telerradiografias pósterio-anteriores. **Ortodontia**, v. 34, n. 3, p. 43-55, 2001.

VAN BREUGEL, H. H. F. L.; BÄR, P. R. D. Power density and exposure time of He-Ne Laser Irradiation are more important than total energy dose in photo-biomodulation of human Fibroblasts In Vitro. **Lasers Surg Med**, v. 12, n. 5, p. 528-537, 1992.

VARDIMON, A. D. et al. Rapid palatal expansion: part 1. Mineralization pattern of the midpalatal suture in cats. **Am J Orthod**, v. 113, n. 4, p. 371-8, Apr 1998.

VARDIMON, A. D. et al. Determinants controlling iatrogenic external root resorption and repair during and after palatal expansion, **Angle Orthod**, v. 61, n. 2, p. 113-124, Summer 1991.

VIAZIS A.D. Entrevista. **Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 3, n. 4, p. 1-2, Jul/Ago 1996.

WAGEMANS, P.A.; VAN DE VELDE, JP; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M. Sutures and forces: A review. **Am J Orthod**, v. 94, n. 2, p. 129-141, Aug 1988.

WALKER, J. Relief from chronic pain by low power laser irradiation. **Neurosci Lett**, v. 43, n. 2-3, p. 339-344, Dec 1983.

WALKER, M. D. et al. Effect of Low-Intensity Laser Irradiation (660nm) on a radiation-impaired wound-healing model in murine skin. **Lasers Surg Med**, v. 26, n. 1, p. 41-47, 2000.

WALSH, L. J. The use of lasers in implantology: an overview. **J Oral Implantol**, v. 18, n. 4, p. 335-340, 1992.

WALSH, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. **Aust Dent J**, v. 42, n. 4, p. 247-254, Oct 1997a.

WALSH, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications. **Aust Dent J**, v. 42, n. 5, p. 302-306, Aug 1997b.

WALTERS, R. D. Facial changes in the Macaca Mulatta Monkey by orthopedic opening of the midpalatal suture. **Angle Orthod**, v. 45, n. 3, p. 169-179, Jul 1975.

WATSON. W. G. Expansion and fenetration or dehiscense (editorial). **Am J Orthod**, v. 77, n. 3, p. 330-332, Mar 1980.

WEBB, C.; DYSON, M.; LEWIS, W. H. P. Stimulatory effect on 660 nm low level laser energy on hypertrophic scan-derived fibroblasts: Possible mechanisms for increase in cell culture. **Lasers Surg Med**, v. 22, n.5, p. 294-301, 1998.

WEBER, J. B. et al. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. **Photomed Laser Surg**, v. 24, n. 1, p. 38-44, Feb 2006.

WEESNER, B. W. Jr. Laser in medicine and dentistry where are we now? **J Tenn Dent Assoc**, v. 78, n. 1, p. 20-25, Jan 1998.

WERTZ, R. A. Changes in nasal airflow incident to rapid maxillary expansion. **Angle Orthod**, v. 38, n.1, p. 1-11, Jan 1968.

WERTZ, R. A. Skeletal and dental changes accompanying rapid midpalatal suture opening. **Am J Orthod**, v. 58, n.1, p. 41-66, Jul 1970.

WERTZ, R.; DRESKIN, M. Midpalatal suture opening: a normative study. **Am J Orthod**, v. 71, n. 4, p. 367-81, Apr 1977.

WEST, I. M. **Changes in facial sutures following the opening of the midpalatine suture in the macaque monkey**. Illinois: University of Illinois, 1964, 155p.

WHITTAKER, P.; PATTERSON, M. J. Ventricular remodeling after acute myocardial infarction: effect of Low-Intensity Laser Irradiation. **Lasers Surg Med**, v. 27, n. 1, p. 29-38, 2000.

WIGDOR, H. A. et al. Lasers in dentistry. **Lasers Surg Med**, v. 16, n. 2, p. 103-133, 1995.

WILLIS, F.M. Rapid separation of superior maxillary bones to relieve deflected nasal septum and contracted nares. **Dental Cosmos**, v.53, p. 784-86, 1911 apud DEBBANE, E. F. A cephalometric and histologic study of the effects of orthodontic expansion of the midpalatal suture of the cat. **Am J Orthod**, v. 44, n.3, p.187-219, Mar 1958.

WITZIG, J. W.; SPAHL, T. J. **Ortopedia Maxilofacial Clínica e Aparelhos**. 3. ed. São Paulo: Santos; 1995. p. 279-413.

WLODARSKI, K. H. Properties and origin of osteoblasts. **Clin Orthop Relat Res**, n. 252, p. 276-93, Mar 1990.

WOZNEY, J. M. Molecular biology of the bone morphogenetic proteins. **J Periodontol**, v.66, p. 506-510, 1998.

YAAKOBI, T.; MALTZ, L.; ORON, U. Promotion of Bone Repair in the Cortical Bone of the Tíbia in Rats by Low Energy Laser (He-Ne) irradiation. **Calcif Tissue Int**, v. 59, n. 4, p. 297-300, Oct 1996.

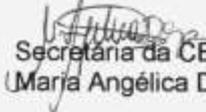
YOUNG, B.; HEATH, J. W. Tecidos esqueléticos. In: YOUNG, B.; HEATH, J. W. **Histologia funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 172-192.

YOUSSEF, M. et al. The effect of low-level laser therapy during orthodontic movement: a preliminary study. **Lasers Med Sci**, v. 23, n. 1, p. 27-33. Epub 2007 Mar 15.

YU; W; NAIM, J. O; LANZAFAME, R. J. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. **J Photochem Photobiol B: Biol**, v. 59, n. 2, p.167-170, Feb 1994.

ZIMRING, J.F.; ISAACSON, R. J. Forces produced by rapid maxillary expansion III. Forces present during retention. **Angle Orthod**, v. 35, n. 3, p. 178-186, Jul 1965.

ANEXO A - – Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).

 <p>UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO COMISSÃO DE ÉTICA CEUA NO USO DE ANIMAIS Campus de Ribeirão Preto</p>	<p>UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Campus de Ribeirão Preto <i>Comissão de Ética no Uso de Animais</i></p>
<h2>CERTIFICADO</h2>	
<p>Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 05.1.1276.53.7), intitulado: "Análise do Comportamento da Remodelação Óssea, Após a Disjunção da Sutura Palatina Mediana em Ratos Wistar de Diferentes Faixas Etárias e com Aplicação de Laser de Baixa Potência", de autoria de Andréa Sasso Stuani, por estar de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do <i>Campus</i> de Ribeirão Preto – USP, foi aprovado em reunião da CEUA de 08.02.06</p>	
<p>Ribeirão Preto, 10 de fevereiro de 2006</p>	
 <p>Presidente da CEUA Prof. Dr. Wagner Ferreira dos Santos</p>	
 <p>Secretária da CEUA Maria Angélica Depiro</p>	
<hr/> <p>Av. Bandeirantes, 3900 – CEP 14040-900 – Ribeirão Preto – São Paulo Fone: (16) 602 4469 – Fax: (16) 633 7964</p>	

ANEXO B - Análise dos fenômenos histológico.

Fenômenos		1	2	3	4	5	T	1	2	3	4	5	T	1	2	3	4	5	T	1	2	3	4	5	T	
LIGAMENTO PERIODONTAL	Espessura	Normal																								
		Aumentada																								
		Diminuída																								
	Fibras Colágenas	Normais																								
		Distendidas																								
		Comprimidas																								
	Áreas Hialinas	Pequenas																								
		Médias																								
		Grandes																								
	Vasos Sangüíneos	Normais																								
		Comprimidos																								
		Colabados																								
	Alterações Circulatórias	Dilatados																								
		Hiperemia																								
		Edema																								
Infiltrado Inflamatório	Trombose																									
	Hemorragia																									
	Neutrófilos																									
	Macrófagos																									
Restos Epiteliais de Malassez	Plasmócitos																									
	Linfócitos																									
	CGMs																									

SUPERFICE ÓSSEA	Regular																								
	Irregular																								
TECIDO OSTEÓIDE	Regular																								
	Irregular																								

OSTEOBLASTOS	Núcleo	Mitótico																							
		Picnótico																							
		Cariorrexe																							
	Quanto disposição	Em Paliçada																							
		Ao acaso																							
	Quanto localização	Justapostos																							
A distância																									
	Nas lacunas																								

OSTEOCLASTOS	Núcleo(s)	Mitótico																							
		Picnótico																							
		Cariorrexe																							
	Quanto superfície	Ausente																							
		A Distância																							
		Justaposto																							
	Nas lacunas																								

LINHA DE REVERSÃO	Regular																								
	Irregular																								
OSTEOCITO (quant.)	Normal																								
	Aumentado																								
	Diminuído																								