

**Universidade do Vale do Paraíba  
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento**

**RODRIGO DE OLIVEIRA VERONESI**

**EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE NA REPARAÇÃO DE  
ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓGENOS ASSOCIADO AO PLASMA RICO  
EM PLAQUETAS**

São José dos Campos, SP

2006

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Rodrigo de Oliveira Veronesi**

**EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE NA REPARAÇÃO DE  
ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓGENOS ASSOCIADO AO PLASMA RICO  
EM PLAQUETAS**

**EFFECTS OF THE LOW POWER LASER IN THE REPAIR OF  
HOMOGENOUS BONE GRAFTS ASSOCIATED TO PLATELET-RICH  
PLASMA**

Dissertação de Mestrado apresentada no  
Programa de Pós-Graduação em  
Bioengenharia, como complementação dos  
créditos necessários para obtenção do título de  
Mestre em Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. Egberto Munin  
Co-orientador: Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro

São José dos Campos, SP  
2006

V571

Veronesi, Rodrigo de Oliveira

Efeitos do Laser de Baixa Intensidade na reparação de enxertos ósseos homogêneos associado ao Plasma Rico em Plaquetas./ Rodrigo de Oliveira Veronesi. São José dos Campos: UniVap, 2006.

1 Disco laser. Color.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2006.

1. Terapia a laser de baixa potência 2. Ossos/Enxerto Plasma 3. Plaquetas 4. Odontologia I. Munin, Egberto , Orient. II, Zângaro, Renato Amaro, Co-Orient. III. Título

CDU: 616.314-089.843

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiadores ou transmissão eletrônica, desde que citada a fonte.

Assinatura do aluno:



Data: 14 / 12 / 2006

**RODRIGO DE OLIVEIRA VERONESI**

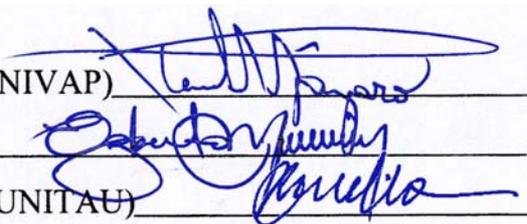
**EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE NA REPARAÇÃO DE  
ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓGENOS ASSOCIADO AO PLASMA RICO  
EM PLAQUETAS**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. **RENATO AMARO ZÂNGARO** (UNIVAP)

Prof. Dr. **EGBERTO MUNIN** (UNIVAP)

Prof. Dr. **JOSÉ BENEDICTO DE MELLO** (UNITAU)

Handwritten signatures in blue ink over horizontal lines. The first signature is for Renato Amaro Zângaro, the second for Egberto Munin, and the third for José Benedicto de Mello.

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco

Diretor do IP&D

São José dos Campos, 11 de dezembro de 2006.

## DEDICATÓRIA

À Deus, por permitir a conquista de mais um sonho;  
À minha esposa, pelo amor, companheirismo, respeito e  
dedicação comigo, e em especial pela excelente  
atenção e amor na relação com nossa filha;  
À minha filha Julia, pela pureza de seu olhar e sorriso, que  
veio para iluminar a minha vida;  
À minha mãe, a quem devo o que sou, pela dedicação  
absoluta na minha educação e nos ensinamentos a cerca do amor;  
Ao meu pai, aquele a quem sempre me espelhei;  
Aos meus irmãos, pelo amor e amizade que cultivamos entre nós.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Prof. Dr Egberto Munin pela compreensão e empenho na desenvolvimento e conclusão deste trabalho;

Aos pacientes do CID (centro de Implantes Dentários) que aceitaram participar desta pesquisa;

Ao Prof. Osni Ferrari da histologia Universidade Estadual de Londrina, pela colaboração na análise histológica das lâminas;

Ao Gilmar, técnico do laboratório de análises Micropar de Londrina, pela confecção das lâminas;

Ao José Antônio técnico da UEM, pela obtenção dos dados coletados a partir das lâminas;

Ao José Ronaldo Veronesi Júnior, meu irmão, pela realização da análise estatística;

Ao Allison Gustavo Braz, um novo amigo, pelo empenho no agendamento da defesa de minha dissertação.

# EFEITOS DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE NA REPARAÇÃO DE ENXERTOS ÓSSEOS HOMÓGENOS ASSOCIADO AO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

## Resumo

A redução da arquitetura óssea é um dos complicantes quando da reabilitação do paciente com implantes osseointegrados, uma vez que, com a perda dos elementos dentais, ocorre uma atrofia do processo alveolar, diminuindo a estrutura óssea disponível em altura e espessura, impossibilitando a fixação de implantes; sendo então necessária a cirurgia prévia de enxerto ósseo. Para tal cirurgia, classicamente é utilizado enxerto ósseo autógeno, pois são bastante previsíveis, e proporcionam melhores prognósticos para os implantes osseointegrados. Entretanto, apresentam o custo alto dos procedimentos hospitalares com anestesia geral, morbidade cirúrgica da área doadora, pouco volume ósseo nas áreas doadoras intra-orais e resistência por parte dos pacientes. Dessa forma, métodos alternativos usando osso humano congelado, osso homogêneo, o qual apresenta excelentes expectativas, por apresentar propriedades semelhantes às do enxerto autógeno quando associado ao PRP (Plasma Rico em Plaquetas) vem sendo utilizado. Com aplicação do laser de baixa intensidade (AlGaAs – 670 nm) no pós-operatório imediato e nas 24, 48 e 72 horas, através do protocolo de aplicação pontual,  $4 \text{ J/cm}^2$  por ponto,  $35 \times 10^{-3} \text{ W}$  de potência,  $0,7 \text{ cm}^2$  de área, por 60 segundos, aplicados em 04 pontos predeterminados sobre a área enxertada, pela vestibular e lingual; e em varredura na linha dos pontos; foi observado uma melhora significativa no processo de reparação destes enxertos ósseos homogêneos associados ao Plasma Rico em Plaquetas, aumentando a qualidade, através do aumento de tecido ósseo em relação ao tecido fibroso (osso mais denso), e quantidade através do aumento de células ósseas, no tecido ósseo neoformado.

**Palavras-chave:** laserterapia, enxerto ósseo, plasma rico em plaquetas, reparação óssea.

## EFFECTS OF THE LOW INTENSITY LASER IN REPAIRING HOMOGEN BONE GRAFT ASSOCIATED TO PLATELET RICH PLASMA

### **Abstract**

The reduced quantity of bone is one of the complications for patient rehabilitation with bone-integrated implants. With the lack of dental elements, a reduction of the branch process occurs, reducing the available bone structure in height and width, not letting the fixation of implants, therefore a previous bone graft surgery is necessary. For that surgery, traditionally autogenic bone graft must be used, because it is a very specific therapy, and allows better prognosis to bone-integration implants. However, they present high cost of the hospital procedures with general anesthetic, post operation suffering of donor area, low bone volume in the intra buccal area of the donor and resistance by the patients. This way, alternate methods using frozen human bone, homogen bone, which presents excellent expectations, because shows a property similar to the autogen graft when associated with PRP (Platelet Rich Plasma) have been used. With the usage of the low level laser (AlGaAs – 670 nm) in the immediate post operation and in the 24, 48 and 72 hours, through punctual application,  $4 \text{ J/cm}^2$  each point,  $35 \times 10^{-3} \text{ W}$  of power,  $0,7 \text{ cm}^2$  of area, during 60 seconds, in 4 points previously determined on the graft area, in the upper and lingual parts, and movement on the application line, a meaningful improvement was observed in the repair process of these homogen graft associated with Platelet Rich Plasma, improving the quality, through the increase of the bone tissue, and through the increase in the amount bone cells, in the new formed bone.

**Keywords:** Lasertherapy, bone graft, platelet rich plasma, bone repair.

## Lista de Figuras

Figura 1 – Laser AlGaAs (670 nm).....	70
Figura 2- Aplicação LBI Vestibular.....	71
Figura 3- Aplicação LBI Lingual.....	71
Figura 4– Reabertura enxerto.....	72
Figura 5– Utilização Broca Trefina.....	72
Figura 6– Implante Fixado.....	72
Figura 7– Amostra coletada.....	72
Figura 8– Lâmina I Grupo Laser. Aumento 300x.....	74
Figura 9 – Lâmina II Grupo. Laser Aumento 300x.....	74
Figura 10– Lâmina I Grupo Controle. Aumento 300x.....	74
Figura 11– Lâmina II Grupo Controle. Aumento 300x.....	74

## Lista de Tabelas

Tabela 1 – Dados de contingência da idade dos grupos experimentais.....	75
Tabela 2 – Dados de contingência da análise do número de células dos grupos experimentais. .....	76
Tabela 3 – Dados de contingência da análise da quantidade de tecido ósseo dos grupos experimentais.....	79

## Lista de Gráficos

Gráfico 1 – Gráfico de colunas das médias do número de células dos grupos experimentais.	76
Gráfico 2 - Média da contagem de células ósseas no grupo laser. ....	77
Gráfico 3 - Média da contagem de células ósseas no grupo controle.....	78
Gráfico 4 – Gráfico representativo das médias das células nos dois grupos.....	78
Gráfico 5 – Gráfico de colunas das médias da quantidade de tecido ósseo dos grupos experimentais.....	79
Gráfico 6 - Média da quantidade de tecido ósseo no grupo laser.....	80
Gráfico 7 - Média da quantidade de tecido ósseo no grupo controle. ....	81
Gráfico 8 – Gráfico representativo das médias das quantidades de tecidos ósseo nos dois grupos. ....	81

# Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	DESENVOLVIMENTO.....	16
2.1	Histórico .....	16
2.2	Tecido Ósseo.....	17
2.3	Laser de Baixa Intensidade.....	22
2.3.1	Efeitos antiinflamatórios e antiedematosos .....	25
2.3.2	Efeito analgésico .....	26
2.4	Plasma Rico em Plaquetas:.....	27
2.4.1	Fatores de crescimento .....	29
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	31
4	PROCESSAMENTO DO OSSO ALÓGENO .....	58
5	PROPOSIÇÃO .....	67
6	MATERIAL E MÉTODOS.....	68
6.1	Descrição da Técnica.....	69
6.2	Análise Histológica .....	73
7	RESULTADOS.....	75
8	DISCUSSÃO.....	82
9	CONCLUSÃO.....	87
	REFERÊNCIAS .....	88
	ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	95
	ANEXO B: COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	96

# 1 INTRODUÇÃO

O reparo tecidual é um dos fenômenos mais importantes observado nos seres vivos, podendo ser considerado como um dos mecanismos primários de sobrevivência (LIZARELLI, LAMANO-CARVALHO; BRENTGANI, 1999). Um dos tecidos com maior capacidade de reparação é o tecido ósseo, exibindo um potencial de regeneração surpreendente, capaz de restaurar perfeitamente sua estrutura original e suas propriedades mecânicas (SCHENK, 1996). A remodelação óssea e sua estimulação são motivos de numerosos estudos, impulsionados, nas últimas décadas, pelo intenso uso de próteses de titânio na Odontologia e Ortopedia.

A preservação do patrimônio biológico dos pacientes é uma preocupação que acompanha os procedimentos odontológicos atuais. O osso alveolar, em particular, tem se destacado quanto a sua conservação, devido à sua função estrutural de suporte aos dentes, ou a seus eventuais substitutos. A presença de fatores de crescimento capazes de acelerar a osseointegração promove uma maior rapidez na reabilitação do paciente.

Breine e Bränemark (1980) propuseram várias técnicas de enxerto, objetivando aumentar a altura e a largura óssea, com o propósito de ampliar as indicações das reabilitações com implantes. Abrektsson (1980) estudou a regeneração óssea e descreveu as fases da cicatrização e remodelação dos enxertos ósseos e estabeleceu os princípios da osseointegração. Adel (1981) com a comprovação da osseointegração, e seus resultados a longo prazo passou a ampliar suas indicações e exigir maiores cuidados com os aspectos estéticos e biomecânicos. Com o estudo de outros pesquisadores (BOYNE; JAMES, 1980; KEELLER, 1987; SAILER, 1989; MISCH, 1990; COLLINS, 1991; SUMMERS, 1994; JENSEN, 1998;) foram propostas novas técnicas, que se tornaram rotina na implantodontia, permitindo que a

reconstrução dos maxilares, com a finalidade de implantes alcançasse alta previsibilidade de sucesso.

Os implantes osseointegrados, comprovadamente, vieram solucionar problemas e otimizar resultados na Odontologia moderna. Porém, os requisitos principais para a sua instalação no meio bucal são a quantidade e qualidade óssea. Com grande frequência nos deparamos com situações em que o tecido ósseo não preenche tais requisitos. Os implantes dentais osseointegrados propostos por Brånemark (1985) tiveram suas fixações limitadas a áreas com estrutura óssea disponível em altura e largura. Desta forma áreas próximas ao seio maxilar, canal alveolar, rebordos finos eram descartadas da possibilidade de receberem implantes.

Na busca de aumentar o potencial de aplicação dos implantes, além daqueles casos ideais, novas alternativas têm sido propostas para solucionar problemas básicos em regiões onde a indicação parece duvidosa. Entre problemas comumente encontrados tem-se a falta de espessura e altura óssea para a instalação dos implantes, deiscências ósseas e conseqüente presença de roscas expostas e falta de adaptação óssea cervical nos casos dos implantes imediatos.

A alternativa para solucionar as limitações da indicação dos implantes envolve basicamente a melhoria da área receptora. Surge daí a necessidade de lançar mão dos materiais e técnicas para aumento do volume ósseo, o que levou ao desenvolvimento dos materiais chamados de substitutos ósseos, os enxertos.

Enxertos ósseos autógenos são bastante previsíveis, e proporcionam melhores prognósticos para os implantes osseointegrados. Entretanto, apresentam o custo alto dos procedimentos hospitalares com anestesia geral, morbidade cirúrgica da área doadora, pouco volume ósseo nas áreas doadoras intra-orais e resistência por parte dos pacientes. Dessa forma, métodos alternativos usando osso alógeno

fresco congelado podem oferecer um suprimento adequado, rápido e seguro em grandes reconstruções maxilo- mandibulares para reabilitações com implantes.

Perrot et al.(1992), descreveram os resultados com o uso de osso fresco congelado isolado ou em combinação com osso autógeno, para a reconstrução dos maxilares com finalidade de reabilitação com implantes. Os resultados deste estudo mostraram que o enxerto alógeno fresco congelado pode ser um material alternativo para a reconstrução dos maxilares atróficos.

No Brasil em fevereiro de 1997 foi aprovada a Lei 9.434, regulamentada pelo Decreto nº 2268 de 30-06-97, que dispõe sobre a remoção de órgãos, tecidos e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento, publicada em portaria nº 304 do Ministério da Saúde em 16 de fevereiro de 2000, que regulamenta banco de tecidos no Brasil.

Bancos de ossos fornecem tecidos adquiridos através de fontes pós-mortem ou doadores vivos. Com critérios de seleção do doador apropriado, e técnicas de processamento, esses tecidos são eficientes e seguros. A disponibilidade desses enxertos alógenos tem aumentado a agilidade na conquista de técnicas de tratamento e aumentando formas inovadoras para alcançar inúmeros desafios reconstitutivos, além de oferecer satisfatoriamente a muitos pacientes, uma alternativa mais barata e de menor morbidade para os seus tratamentos.

A terapia laser de baixa potência (TLBP) tem demonstrado resultados favoráveis *In Vitro* e *In Vivo* quanto ao estímulo da reparação óssea, neste sentido, trabalhos *In Vivo* sugerem que esta terapia promove aceleração da reparação óssea, tais como: reparação alveolar (OLIVEIRA, 1992; GARCIA; CARVALHO; OLIVEIRA, 1995); neoformação óssea pós disjunção palatina (SAITO;SHIMIZU, 1997); e reparação de fraturas (LUGER et al., 1998).

O laser de baixa potência promove a vasodilatação local e angiogênese, tornando o tecido bem vascularizado e determinando, com o maior aporte de oxigênio, uma aceleração do processo de reparação (CARVALHO et al., 1995). Tem sido demonstrado ao longo dos anos, que os efeitos biológicos do laser de baixa potência se processa de diferentes formas, como a indução da atividade mitótica das células epiteliais, modificando a densidade capilar, estimulando a microcirculação local e principalmente aumentando a síntese de colágeno, contribuindo assim diretamente em reparos de defeitos ósseos (GARCIA et al., 1996).

O efeito bioestimulador da radiação laser de baixa intensidade, estimulando a produção de ATP mitocondrial; e o estímulo trófico que aumenta a neoformação capilar e a multiplicação celular, podem melhorar a reparação cicatricial dos enxertos ósseos homogêneos, principalmente quando estes estiverem associados ao PRP (Plasma Rico em Plaquetas); uma vez que, logo após a implantação do enxerto na área receptora, as células são nutridas por difusão, e em 5 a 7 dias inicia-se o processo de angiogênese e revascularização. Desta forma, quanto mais precocemente ocorrer tal processo, melhor será o reparo.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### ***2.1 Histórico***

Em 1858 Ollier criou a fundação científica para estudos de transplantes ósseos, e a partir daí houve abundantes relatos na literatura, com opiniões divergentes em relação ao processo de formação óssea. Uma das questões mais discutidas foi se a responsabilidade da osteogênese era das células do enxerto ou do leito receptor. Ollier defendeu a teoria de que o periósteo representava um papel decisivo na osteogênese dos transplantes ósseos, que as células do enxerto sobreviviam por difusão de nutrientes do periósteo, e ficou sendo o protagonista da escola vital.

Em 1893, Barth, demonstrou que em enxertos compactos todos os elementos morrem e são substituídos por novo osso pelos tecidos que o circundam, iniciando a escola não vital.

No início de 1907 Axhausen, em extensas pesquisas com enxertos, observou que mesmo com cobertura de periósteo as células ósseas morrem, mas que se mantém vivo na periferia exercendo forte função osteogênica, concluindo que a diferença entre autógeno e alógeno era a velocidade de regeneração.

Em 1923 Abee publicou os sucessos de experiências com 3000 casos clínicos de transplantes ósseos alógenos, depois de estocados sob refrigeração (4°C), em enxertos na coluna e fraturas não coaptadas.

Nos anos 40, com a criação do freezer, maior número de enxertos puderam ser armazenados por longos períodos de tempo. Com esse advento o enxerto de escolha era a cabeça de fêmur de doadores vivos com fraturas.

Levander em 1934, afirmou que a reorganização dos transplantes ocorre pelos tecidos celulares pluripotentes vizinhos que são induzidos osteogenicamente por substâncias liberadas com a morte tecidual. Esta opinião ficou conhecida como a *teoria da indução (teoria da metaplasia)*.

Em julho de 1994 foi assinada a lei que regula a remoção, estocagem e transplantes de órgãos humanos para propósitos terapêuticos. Ocorriam normalmente 10.000 doações de osso por ano nos Estados Unidos, e estas doações aumentariam em 20% após o ato de reconciliação orçamentário de 1998. A *American Association of Tissue Banks (AATB)* padronizou um histórico médico para triagem dos doadores, e é usado por todos os Bancos que seguem a AATB, e por si só, este histórico elimina 90% dos doadores não apropriados. E a *Food and Drug Administration (FDA)* estabeleceu normas para a seleção e testes em doadores de tecidos para transplantes, e a preocupação com doenças transmissíveis (AIDS, hepatite B e C) parece estar diminuindo com o uso de testes de sangue altamente sensíveis, além do processamento e esterilização do material.

## **2.2 Tecido Ósseo**

O tecido ósseo possui alto grau de rigidez e resistência à pressão. Os ossos são grandes armazenadores de substâncias, sobretudo de íons de cálcio e fosfato. A extrema rigidez do tecido ósseo é resultado da interação entre os componentes orgânico e mineral da matriz. A matriz óssea é composta por uma parte orgânica e uma parte inorgânica cuja composição é dada basicamente por íons fosfato e cálcio formando cristais de hidroxiapatita (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 1999).

O tecido ósseo tem como característica uma densa camada externa de osso compacto e uma cavidade medular central que no osso vivo está preenchido por medula óssea vermelha e amarela. A cavidade medular é interrompida por um reticulado trabecular ósseo (ou esponjo). Esse trabeculado interno age como espículas de reforço para suportar a camada cortical mais externa, mais espessa de osso compacto.

Uma membrana osteogênica (células formadoras de osso) de tecido conjuntivo envolve a periferia do osso compacto, o perióstio. Aquela parte do perióstio próxima à periferia do osso é mais rica em células, principalmente as precursoras de células ósseas e um rico suprimento microvascular enquanto a parte mais externa é mais fibrosa. As fibras de Sharpey originam-se nesta parte mais externa, penetram na camada celular do perióstio e chegam até a lamela circunferencial. Todas as células internas do osso compacto e do esponjo, estão recobertas por uma única camada de células ósseas, o endóstio, que as separa fisicamente da medula óssea contida no seu interior.

O tecido ósseo possui uma matriz orgânica (35%) intimamente associada a uma fase mineral (65%). A matriz é composta por proteínas colágenas e não colágenas. O colágeno é em sua maior parte do tipo I e representa cerca de 90% da matriz orgânica. Entre as proteínas não colágenas estão a decorina, biglicana, osteonectina, osteopontina, sialoproteína óssea – BSP, osteocalcina e uma família de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs). A osteocalcina é uma glicoproteína expressa pelos osteoblastos maduros; na matriz extracelular liga-se a hidroxapatita. A osteopontina, além de se ligar a hidroxapatita, também apresenta sítios de ligação para as integrinas presente nas superfícies dos osteoblastos e osteoclastos promovendo a adesão destas células à superfície óssea. A sialoproteína óssea (BSP) é expressa no estágio final de diferenciação dos osteoblastos e osteócitos,

possui sítios de ligação para estas células, além de ligar-se às fibrilas colágenas e aos íons cálcio. As proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) ativam a expressão do gene *cdfa 1* nas células osteoprogenitoras, promovendo a diferenciação de osteoblastos, e conseqüentemente, a neoformação óssea.

Dentre os tipos celulares que compõem o tecido ósseo se encontram:

**Osteoblastos:** Células que sintetizam a parte orgânica da matriz óssea. Durante a alta atividade sintética, os osteoblastos destacam-se por apresentar elevada basofilia, que se atenua na medida em que a síntese protéica é reduzida. Essas células apresentam-se com formato poliédrico, possuindo núcleo ovóide e sistemas de comunicação intercelular. Os osteoblastos no momento em que estão envolvidos completamente por matriz óssea dão origem aos osteócitos (ROSS ; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000).

**Osteócitos:** São células localizadas em cavidades ou lacunas dentro de trabéculas ósseas. Estas células estão associadas à nutrição das trabéculas, possuindo estas, prolongamentos citoplasmáticos que conectam umas às outras (ROSS; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000).

**Osteoclastos:** Células que participam dos processos de reabsorção do tecido ósseo. São células gigantes e multinucleadas, extensamente ramificadas, derivadas da fusão de monócitos que atravessam os capilares sangüíneos. Medem 30 a 50 micrometros, possuem três a seis núcleos ovóides. Nos osteoclastos jovens, o citoplasma apresenta uma leve basofilia que vai progressivamente diminuindo com o amadurecimento da célula, até que o citoplasma torna-se acidófilo. Os osteoclastos, através da ação enzimática, escavam a matriz óssea, formando depressões conhecidas como superfícies de reabsorção ou lacunas de Howship (ROSS; ROMRELL, 1993; SILVA, 2000).

A formação do tecido ósseo sempre se inicia por depósito de matriz osteóide, que subsequente, mineraliza-se. Dois pré-requisitos são essenciais para que ocorra formação: vascularização ampla e conjugada com um suporte mecânico estável, permitindo uma deposição organizada. A resposta do osso à fratura, perfuração, infecção, interrupção da fonte sangüínea e às lesões de expansão é relativamente limitada. O osso inerte deve ser reabsorvido, e o osso novo deve ser formado, ocorrendo crescimento de vasos sangüíneos na área envolvida (GUYTON, 1993; ROSS ; ROMRELL, 1993).

Qualquer lesão óssea (fratura, defeito, fixação de implantes, interrupção do suprimento sangüíneo) ativa a regeneração óssea local pela liberação de fatores de crescimento (FC) e indutores. O osso é uma das fontes mais ricas em fatores de crescimento. Entre os fatores de crescimento detectados no osso, alguns são produzidos pelas células ósseas, tais como: fator de crescimento semelhante à insulina (FCSI), fator de crescimento de transformação (FCT), fator de crescimento de fibroblasto (FCF), fator de crescimento derivado de plaquetas (FCDP) enquanto outros são sintetizados por tecidos ósseos relacionados (interleucina-1 {IL-1}, fator de necrose tumoral {FaNT}). Uma simples lesão produzida pela perfuração de um orifício parece ativar uma seqüência programada de eventos, iniciados pelo preenchimento do defeito por formação óssea aposicional e depois conduzida a uma integração estrutural da área do defeito por remodelação harversiana. Pequenos defeitos ósseos esponjosos revelam um padrão de cicatrização similar ao da cortical. A cicatrização também ocorre em duas fases, começando com formação de osso embrionário atravessando o defeito e no interior dos espaços intertrabeculares adjacentes. Numa segunda fase, a remodelação restaura a arquitetura trabecular (SCHENK; 1996).

O desenvolvimento do osso é, tradicionalmente, classificado como ossificação endocondral ou indireta, no caso de um modelo de cartilagem servir como precursor. Esse processo é responsável pela formação dos ossos curtos e longos. Já na ossificação intramembranosa ou direta, o osso desenvolve-se diretamente na membrana conjuntiva sem a precedência de molde cartilaginoso. Forma-se a partir desse processo os ossos occipital, parietal, dos maxilares superior e inferior, ossos curtos e crescimento em espessura dos ossos longos (ROSS; ROWRELL, 1993).

Entretanto, devido à rápida remodelação que ocorre durante o desenvolvimento ósseo, o tecido ósseo inicial, depositado tanto por ossificação endocondral como por intramembranosa, logo serão substituídos. O osso substituto é formado sobre o já existente por crescimento aposicional (ROSS; ROWRELL, 1993).

No decorrer do crescimento, a espessura e a modelação da forma dos ossos fundamentam-se nas atividades de formação e reabsorção por meio dos envoltórios perióstio e endóstio (SCHENK, 1996).

O osso esponjoso, durante e após o período de crescimento pode sofrer modelação em decorrência de uma adaptação estrutural à carga funcional. A remodelação, caracterizada pela reposição ou substituição tecidual, porém sem alteração da arquitetura óssea, é responsável pela qualidade mecânica do osso. Segundo Schenk (1996), a remodelação pode ocorrer em decorrência de causas sistêmicas, sendo ativadas pelos hormônios de crescimento e da tireóide e paratireóide e inibida pela calcitonina e cortisona. Causas locais como fratura, procedimentos cirúrgicos, também ativam a remodelação.

O tecido ósseo exibe um potencial de regeneração surpreendente, porém esta capacidade apresenta limitações na ausência de suprimento sangüíneo,

instabilidade mecânica, presença de defeitos sobexistentes e de tecidos competidores com uma alta atividade de proliferação (SCHENK, 1996).

Na evolução do processo de regeneração óssea, Okamoto e Russo (1973), enfatizaram quatro fases importantes: a proliferação celular, desenvolvimento, maturação e finalmente mineralização.

### **2.3 Laser de Baixa Intensidade**

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). Esta é uma radiação eletromagnética não ionizante, visível ou não, dependendo da fonte (RIGAU, 1996).

A luz laser possui propriedades únicas que a diferem de outras fontes luminosas: monocromaticidade, ou seja, emite radiações em um único comprimento de onda; coerência, onde as ondas propagam-se com a mesma fase no espaço e no tempo, e colimação onde sua direcionalidade permite a obtenção de alta densidade de energia concentrada em pequenos pontos (GENOVESE, 2000).

Os lasers são divididos em lasers de alta e baixa potência. Os primeiros são destinados a remoção, corte e coagulação de tecidos, enquanto que os lasers de baixa potência (LBP) são utilizados em processos de reparação tecidual. Os principais efeitos gerados pelo LBP nos tecidos têm natureza estimulatória, causando aumento do metabolismo celular, quimiotaxia e vascularização, etc (LOPES; BRUGNERA, 1998).

A coerência é uma das propriedades da luz laser, porém ao penetrar no tecido, esta propriedade se perde nos primeiros extratos da pele. Isto ocorre devido à grande variedade de estruturas celulares que compõem a pele (WHARTON et al.,

1964; 1966; PARRISH; 1980, JORI, 1980; ANDERSON et al., 1982, MICKILEY et al., 1988; HACZEKI et al., 1988; 1989). Segundo alguns autores, apesar da perda de coerência da radiação do LBP no interior dos tecidos, esta é absorvida pelas células gerando alterações no seu metabolismo tanto em tecidos superficiais como profundos (GIESE, 1980; MESTER et al., 1985; LOBKO et al., 1985; SVAASAND, 1990). O efeito de estimulação com LBP depende do comprimento de onda, da dose e da intensidade da luz utilizada na irradiação (FEDOSEYEVA et al., 1988).

Karu (1988) verificou que a irradiação de mitocôndrias isoladas induziu mudanças na homeostasia celular, que implicaram em reações em cascata e propuseram um número de componentes da cadeia respiratória (citocromos, citocromos oxigenase e flavinas desidrogenase) os quais são fotorreceptores ou cromóforos primários e desta maneira capazes de absorver luz para um comprimento de onda apropriado. Estas causam, em curto prazo, a ativação da cadeia respiratória. Assim, a cadeia de elétrons transportados desta maneira resulta na melhora e no aumento da síntese de ATP. Além disso, a radiação laser afeta os níveis de íons hidrogênio na célula. Essa parceria no aumento de ATP causa ativação de outros íons transportados na membrana tais como: sódio e potássio e altera o fluxo de cálcio entre mitocôndrias e citoplasma. A variação desses parâmetros é um componente necessário no controle da atividade proliferativa da célula.

A radiação laser pode ser refletida, transmitida, absorvida ou espalhada (*scattering*) pelo tecido. A monocromaticidade do laser determina a absorção seletiva por parte dos cromóforos, com resposta afim a um ou a vários comprimentos de onda, fenômeno conhecido como ressonância a uma determinada frequência. Cada comprimento de onda, portanto, terá um tipo diferente de interação segundo o tecido alvo.

O laser de Arseneto de Gálio (GaAs) emite radiação não visível, na faixa do infravermelho próximo. A adição de Alumínio (Al) permite a produção de lasers visíveis na faixa do vermelho, constituindo o laser diodo de arseneto de gálio e alumínio (AlGaAs). Este laser de diodo apresenta regime de emissão contínuo, comprimento de onda variando de 620 a 830nm e cor vermelha. Os lasers de baixa intensidade apresentam potencial terapêutico na profundidade dos tecidos, porém comparado ao laser de He-Ne, que se destaca em lesões superficiais, o laser de AlGaAs oferece aplicações terapêuticas em lesões mais profundas (GENOVESE, 2000).

Os efeitos terapêuticos dos lasers sobre os diferentes tecidos biológicos são muito amplos, ao induzir efeitos trófico-regenerativos, antiinflamatórios e analgésicos, os quais se têm demonstrado em estudos tanto *in vitro* como *in vivo*; destacando-se os trabalhos que demonstram um aumento na microcirculação local (MIRÓ et al., 1984; MAIER et al., 1990), no sistema linfático (LIEVENS, 1986; 1988; 1990; 1991), proliferação de células epiteliais (STEINLECHNER; DYSON, 1993) e fibroblastos (LUBART et al., 1995; WEBB et al., 1998; ALMEIDA-LOPES et al., 1998) assim como aumento da síntese de colágeno dos fibroblastos (ENWEMEKA et al., 1990; SKINNER et al., 1996).

Benedicenti (1982) relatou que os efeitos bioestimuladores do laser atua no fisiologismo celular acelerando a produção de ATP nas mitocôndrias e conseqüentemente o aumento da liberação da energia após a hidrólise das moléculas do ATP, revertendo em ADP para, novamente após a captação do radical  $PO_4$ , retornar a ATP e assim sucessivamente.

Em 1983, o mesmo autor demonstrou que a radiação laser, exercendo um estímulo na produção de ATP mitocondrial, resulta no aumento da velocidade de mitoses e conseqüentemente na aceleração da reparação tecidual.

O efeito bioestimulador da radiação laser de baixa intensidade, estimulando a produção de ATP mitocondrial, bem como o estímulo trófico que aumenta a neoformação capilar e a multiplicação celular, podem melhorar a reparação cicatricial dos enxertos ósseos homogêneos, principalmente quando estes estiverem associados ao PRP (Plasma Rico em Plaquetas), uma vez que, logo após a implantação do enxerto na área receptora, as células são nutridas por difusão, e em 5 a 7 dias inicia-se o processo de angiogênese e revascularização.

Toda reparação óssea necessita dos osteoblastos (célula formadora de matriz óssea); um dos procedimentos que podem aumentar o número de osteoblastos por indução a mitoses seria a aplicação de Laser de Baixa Intensidade (LBI). Segundo Genovese (2000), o LBI, quando aplicado sobre uma célula, atua sobre as mitocôndrias desta célula aumentando a produção de ATP, e conseqüentemente, induzindo a célula a uma proliferação e síntese protéica aumentadas.

Este fenômeno, demonstrado por Merli (2003), em que o LBI foi aplicado em defeitos ósseos em reparação, induziu uma formação de 40% mais trabéculas ósseas do que nos defeitos que repararam sem a aplicação do LBI.

### **2.3.1 Efeitos antiinflamatórios e antiedematosos**

De acordo com Miro (1984), a vasodilatação e o aumento da microcirculação são resultados de um aumento do metabolismo tissular e da normalização da homeostasia. Este mecanismo de vasodilatação capilar é mantido em todos os casos por mais de 20 minutos após a aplicação do laser, mesmo que a região seja resfriada, e mais, este efeito não depende tão somente do efeito físico nos receptores celulares, mas também da ativação de mediadores químicos do balanço vascular humoral, como liberação de histamina e serotonina.

Fuertes (1986) e Lievens (1986) salientaram que o efeito antiinflamatório e antiedematoso do LBP são realizados por meio do aumento da microcirculação local, determinando alterações na pressão hidrostática nas alças capilares, processando, assim, revigoramento da circulação sangüínea e da drenagem linfática, influenciando de maneira plena na redução dos líquidos intercelulares e catabólicos nelas dissolvidos, dentre os quais os ácidos pirúvico, láctico e outros produtos da decomposição protéica.

Silveira e Lopes (1991), relataram que a irradiação com LBP determina degranulação de mastócitos numa intensidade maior do que em condições normais e fisiológicas, o que favorece a ocorrência de alterações circulatórias locais, especialmente a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular.

### **2.3.2 Efeito analgésico**

Benedicenti (1982b) demonstrou que após a radiação com LBP havia um aumento de  $\beta$ -endorfina, considerada fator analgésico fisiológico, em nível do líquido cefalorraquidiano.

Cruantes (1984) destacou que o efeito analgésico do laser se dá por meio da liberação de produtos químicos morfimiméticos como endorfinas e encefalinas.

Segundo Lombard et al (1990), os efeitos analgésicos do laser são mais prováveis em decorrência da liberação de serotonina e acetilcolina.

Genovese (2000) salienta que a terapia laser pode acarretar diminuição da intensidade de dor, não só pela inibição da enzima ciclooxigenase, mas também pelo fato de atuar como um fator equilibrador do potencial da membrana em repouso, dificultando a transmissão do estímulo nervoso.

## **2.4 Plasma Rico em Plaquetas:**

Graças aos últimos avanços em biologia molecular e biotecnologia tornou possível a identificação de componentes capazes de promover diferenciação de células mesenquimais estimulando e regulando o processo de cicatrização. A concentração desses elementos possibilita ampliar e mesmo acelerar o processo de regeneração fisiológica (GREEN ET AL 1997).

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) que vem sendo muito utilizado nas cirurgias de enxerto ósseo é um produto derivado do sangue autógeno por processo laboratorial, colhido em período pré-operatório e rico em fatores de crescimento originários dos grânulos  $\alpha$ -plaquetários. Lynch (1989).

Esses polipeptídeos (fatores de crescimento) são considerados mediadores biológicos naturais, sendo responsáveis por regular diversos eventos celulares essenciais, como: mitogênese, quimiotaxia, citodiferenciação e síntese de matriz (GIANNOBILE, 1996).

Assim o plasma rico em plaquetas é um produto orgânico, atóxico e não imunorreativo, que tem sido utilizado para acelerar os caminhos da cicatrização da ferida cirúrgica (ANITUA, 1999; LYNCH, 1989; MARX, 1998), a partir dos vários fatores de crescimento nele presentes (HOWELL, 1997; WHITMAN, 1997).

De acordo com Marx (1999), os fatores de crescimento exercem vários efeitos sobre os processos de reparação e regeneração, daí considerados iniciadores universais de quase todos os processos cicatriciais. A sinalização aos fatores de crescimento se encontra mediada por receptores de membrana específicos na superfície das células sobre as quais atuam promovendo uma proliferação ou inibição em diferentes situações, o que garante uma especificidade de ação frente a cada situação (LENHARO; COSSO, 2001).

Utilizado como simples estratégia para concentrar plaquetas ou enriquecer coágulo natural (95% células vermelhas, 4% plaquetas e 1% células brancas), o PRP (4% células vermelhas, 95% plaquetas e 1% células brancas) fundamenta-se na modulação e aceleração dos processos cicatriciais por meio dos fatores de crescimento contidos nas plaquetas (DINATO ET AL, 2001).

Em seus trabalhos, Shimnele et al (1998) sugerem que PRP é uma excelente “ferramenta” para aumentar e acelerar a taxa de formação óssea, uma vez que é uma fonte autóloga de fatores de crescimento, de fácil obtenção no tempo cirúrgico, o que a torna extremamente efetiva e segura.

Marx e Garg (1999) relataram que a presença de células brancas no PRP lhe confere uma resistência natural aos processos infecciosos e/ou alérgicos. Contudo são as plaquetas o componente mais importante, devido capacidade de liberar os fatores de crescimento (WHITMAN, 1997).

É obtido 20ml de sangue do paciente em jejum no pré-operatório, passando por um processo de centrifugação que separa as frações do sangue, sendo pipetada a porção correspondente ao PRP (Plasma Rico em Plaquetas), e adicionado um anticoagulante, o Citrato de Sódio. No momento da cirurgia, para ativá-lo, deve-se adicionar Cloreto de Cálcio. Feres (2003).

A aplicação do plasma rico em plaquetas (PRP) no local da injúria amplia a influência do PDGF e do TGF- $\beta$ , pelo menos nos estágios iniciais do processo de regeneração óssea. Apesar dessa atividade extinguir-se dentro de sete a dez dias, o reforço inicial que o PRP oferece ao processo é benéfico, uma vez que propicia, mais rapidamente, a cascata de eventos regenerativos (GARG ,1999 ).

O Plasma Rico em Plaquetas apresenta na sua composição básica três componentes: plasma, leucócitos e plaquetas. O plasma sangüíneo é formado pelo soro sangüíneo mais os diversos fatores da coagulação. Os leucócitos são células

brancas, que conferem ao PRP uma resistência natural aos processos infecciosos e/ou alérgicos, melhorando o prognóstico do tratamento. E as plaquetas que representam o componente mais importante quando o enfoque é a modulação cicatricial para enxertos ósseos, devido à capacidade de liberar fatores de crescimento. (WHITMAM, 1997; MARX, 1999).

#### **2.4.1 Fatores de crescimento**

Estudos específicos do PRP identificaram uma lista completa dos fatores de crescimento, sendo pelo menos três deles, oriundos dos grânulos  $\alpha$  - plaquetários, a saber: fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento similar à insulina (IGF-I) e fator transformador de crescimento beta (TGF- $\beta$ s) (ANITUA, 1999; GANIO 1993; LYNCH, 1991; MARX 1999).

Esses fatores embora liberados conjuntamente pelos grânulos  $\alpha$ -plaquetários, apresentam épocas definidas de atuação. Inicialmente o PDGF atua na angiogênese e no início da diferenciação celular. O TGF- $\beta$  aprimora a diferenciação celular e conjuntamente estimula a maturação celular. O IGF termina esta maturação e programa através do estímulo de outras células a consolidação do processo cicatricial.

O fator de crescimento derivado de plaqueta (PDGF) é uma glicoproteína presente nos grânulos  $\alpha$  - plaquetários, sendo também encontrados em macrófagos e células endoteliais (ANITUA, 1999). São liberados quando ocorre o agregamento plaquetário e início do processo da cascata da coagulação.

Os fatores de crescimento de transformação beta (TGF- $\beta$ ), constituem uma super família de mediadores locais e suas principais atividades são quimiotaxia e

mitogênese dos precursores de osteoblastos, além de estimular a deposição de matriz colágeno para cicatrização de feridas e de osso (GARG, 1999 b). Segundo ANITUA (1999), quando atuam sobre os osteoclastos, inibem a reabsorção óssea.

O fator de crescimento similar à insulina (IGF-I) é mitogênico para as células de linhagem osteoblástica e estimulador da osteogênese a partir dos osteoblastos diferenciados.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

Burwell (1966) reportou como o tratamento físico e químico do osso alógeno derivado de íliaco e adição de osso medular autógeno afeta os resultados do transplante ósseo. Este estudo demonstrou a relevância do tratamento ao osso de banco, e forneceu melhores informações sobre o mecanismo de indução em transplante ósseo e na osteogênese do reparo ósseo. Foram usados na pesquisa 295 ratos. Peças de osso íliaco foram obtidas de um grupo de ratos doadores e tratados por vários métodos físicos e químicos: congelamento ( $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-79^{\circ}\text{C}$  e  $-196^{\circ}\text{C}$ ); liofilização (sem esterilização, esterilizado com alta energia de radiação); descalcificado ( com EDTA); irradiado; fervido em água; imerso em solução de mertiolate; extração dos componentes orgânicos; calcinação a  $660^{\circ}\text{C}$ . Cada receptor recebeu do lado direito no músculo paravertebral o osso tratado e do lado esquerdo o osso tratado foi impregnado com medula vermelha do receptor antes de serem transplantados. Os enxertos foram removidos para estudos após 2, 6 e 12 semanas. Do ponto de vista da indução, o osso congelado ou seco congelado mostrou-se mais apropriado para o propósito de enxerto. A esterilização, física ou química, do osso seco congelado não apresentou diferença. O osso liofilizado remodelou mais rapidamente que o congelado. A importância da medula vermelha autógena fresca em promover osteogênese por um efeito indutivo no transplante ósseo e na cicatrização de prováveis fraturas é acentuada. O novo osso formado em cada grupo foi derivado do componente autógeno do enxerto, pois em nenhum dos enxertos alógenos tratados e implantados intramuscularmente sem medular autógena formou osso.

Burwel (1968) revisou a literatura sobre o comportamento dos enxertos autógenos e alógenos, fresco, congelado e liofilizado. O osso cortical permanece na

sua maior parte necrótico após o enxerto, mas sobreviveram células da periferia do mesmo. A camada superficial sobrevivente nunca excede 0,3mm, e se atribui à difusão plasmática canalicular que é suplementada mais tarde pela difusão vascular do leite. Os osteócitos que sobrevivem, não participam da osteogênese. Nova formação óssea é derivada dos osteoblastos advindos da periferia do perióstio e endóstio na superfície do enxerto. Quando o osso é transplantado de íliaco, a porção esponjosa tem 3 vantagens sobre a cortical: os espaços medulares facilitam a proliferação de vasos; numerosos osteoblastos estão presentes na periferia do osso trabecular; e a presença de medula vermelha, que tem uma capacidade de formação óssea muito grande. A invasão vascular no osso cortical congelado é mais lenta do que no autógeno fresco, isso não é evidente no cortical liofilizado, que é livre de gordura e tecidos moles. Aparentemente revascularizam mais rápido do que o fresco autógeno. Esta surpresa sugere que a remoção da gordura e tecidos moles facilita a penetração de vasos. Mas o estímulo para o reparo por osteogênese só acontece quando o osso está morrendo ou recentemente morto. Osso liofilizado remodela mais rapidamente que o congelado e é preferido para uso clínico porque pode ser convenientemente armazenado em embalagens estéreis, em temperatura ambiente.

Johner (1972) examinou a cicatrização de orifícios criados, com diâmetro de 0,1 e 1,0 mm na cortical da tíbia de coelhos. Observou que a formação óssea no interior desses orifícios iniciou-se em 2 dias, sem precedência de reabsorção osteoclástica, revelando dependência de tamanho. Até 0,2 mm de diâmetro, os orifícios formados são preenchidos por osso lamelar. Entretanto, em orifícios maiores, verificou uma estrutura de osso embrionário e posteriormente osso lamelar foi depositado nos espaços intertrabeculares neoformados. Após 4 semanas constatou que ambos orifícios, pequenos ou grandes estavam preenchidos por osso

compacto. Tal fato indica que o osso não é capaz de atravessar espaços de largura maior que 1,0 mm em salto único.

Lane et al. (1972) com o objetivo de avaliar enxertos alógenos secos congelados, como preenchimento e reparo dos defeitos deixados pela remoção de enxertos cortico - esponjosos autógenos da base anterior da mandíbula, desenvolveram um estudo em macacos comparando o osso autógeno fresco e alógeno seco congelado em mandíbulas de macacos *Irus*. Realizaram uma análise clínica radiográfica e histológica destes enxertos. Um lado recebeu autógeno fresco retirado do lado oposto; o outro foi enxertado com osso alógeno seco-congelado, um sítio doador foi deixado sem preenchimento como controle. Os enxertos foram cirurgicamente removidos após 16, 17 e 18 semanas observaram poucas e leves diferenças clínicas entre autógeno e alógeno, todos preencheram totalmente o defeito. Avaliações radiográficas foram feitas a cada 4 semanas, até a 8ª semana e não puderam ser observadas diferenças entre os dois tipos de enxerto. Na 12ª semana o autógeno se mostrou menos radiopaco e os limites menos evidentes, e o alógeno com bordas evidentes e áreas radiolúcidas começaram a aparecer. Ao final da 16ª semana o autógeno estava mais uniformemente radiopaco e alógeno do que o sítio receptor, e o alógeno com alterada radiolucidez e radiopacidade. O sítio doador controle ao final da 22ª semana mostrou-se com evidente defeito. A avaliação histológica, com presença ou ausência de osteogênese, considerou sucesso da incorporação quando novo osso estava em íntimo contato com o enxerto, ou quando o enxerto não era identificado. Os achados para o enxerto alógeno mostraram a permanência de todos, 50% com ativa atividade osteogênica, e 50% passivamente sendo incorporados no sítio receptor. Foram observadas algumas áreas de fibrose, mas com a maior área de fusão ao leito e algumas porções de osso necrótico remanescente na periferia sendo reabsorvido. O osso

autógeno mostrou diferentes fases de osteogênese, áreas com lacunas sem vascularização e áreas com atividade osteoblástica e osteoclástica intensa, células osteogênicas proliferando e novo osso sendo formado ao redor das trabéculas existentes. O osso autógeno mostrou parcial reabsorção, uma porção sobrevivente aparece como osso cicatrizado e incorporado ao leito receptor. Os resultados radiográficos, clínicos e histológicos indicaram que o osso seco-congelado é um material de enxerto satisfatório em conjunto com a técnica de processamento, para preenchimento de defeitos de sítios doadores de osso fresco autógeno.

Urist (1976) estudando enxertos autógenos e alógenos descreve importantes propriedades biológicas do tecido ósseo, que é a base para pesquisas com aloenxertos e desenvolvimento de bancos de ossos. O resultado do enxerto foi determinado por propriedades específicas do osso medular e cortical. A primeira fase é a osteogênese: a síntese de novo osso por ambos, células do leito receptor e do enxerto. O novo osso é produzido por células da superfície do osso cortical e medular frescos. O início do processo de incorporação se dá durante toda a primeira semana após a cirurgia. O novo osso é produzido por células do leito receptor através do processo de osteoindução. Este é um processo pelo qual células mesenquimais do leito receptor são recrutadas para diferenciarem-se em osteoblastos. O recrutamento e diferenciação dessas células é provavelmente modulado por polipeptídeos de baixo peso molecular, tal como a glicoproteína, proteína morfogenética óssea (BMP). A atividade da BMP não requer viabilidade das células do enxerto, e está presente não somente em enxertos autógenos frescos, como também em enxertos alógenos modificados. A BMP pode ser mais facilmente exposta nos processos de desmineralização do enxerto, que não pode ser autoclavado pois destrói a atividade da BMP. A terceira propriedade do enxerto é a osteocondução que é dada por um processo tridimensional de crescimento de

capilares, tecidos perivasculares e invasão por célula osteoprogenitoras do leito dentro do enxerto. O enxerto propicia uma ponte ou estrutura para o crescimento tecidual. Enxertos de osso cortical mantêm mais comumente a integridade estrutural durante o remodelamento. Porém a incorporação de todo o enxerto procede por substituição, em uma gradual reabsorção do enxerto e troca por novo osso. A incorporação do enxerto é caracterizada por 5 estágios definidos. Inicia-se pelo processo inflamatório, seguido pela revascularização, osteoindução, osteocondução, e finalmente remodelação terminando com uma estrutura mecanicamente eficiente. Ambos os enxertos autógeno e alógeno provocam uma resposta inflamatória aguda. Aproximadamente na segunda semana, o processo inflamatório promove a fibrogranulação e aumento da atividade osteoclástica. O segundo e terceiro estágio de incorporação, que pode demorar por varias semanas, inclui vascularização e osteoindução. A fase de inflamação é similar em osso fresco alógeno ou autógeno. Algumas células sobreviventes da superfície do leito produzem novo osso durante as duas primeira semanas, porém com o final da segunda semana, inicia uma resposta imune do receptor e células mononucleares invadem o enxerto. Esta resposta imune aparece para atrasar a importante fase osteoindutiva de incorporação do enxerto. A proliferação vascular ocorre rapidamente no osso alógeno, e esses vasos são circundados por células inflamatórias, que bloqueiam a sua produção e degeneram o enxerto. O resultado é uma rápida e progressiva necrose do enxerto. A fase de incorporação é caracterizada por osteoindução e subsequente osteocondução, não sendo tão bem sucedido como visto em enxerto autógeno e é marcadamente atrasado. Esta resposta inferior é mediada por uma resposta imunológica do receptor. Se bem sucedida a consolidação, as diferenças entre alógeno e autógeno gradualmente diminuem no período de um ano. Métodos de preservação e modificação do enxerto têm sido experimentados para reduzir a

antigenicidade do enxerto. Desidratação e congelamento, congelamento a fresco aparecem para improvisar uma incorporação mais eficiente. Outras técnicas como a descalcificação e desproteinização, são menos efetivas. Todos estes métodos matam as células podendo não ocorrer a osteogênese primária. Enxertos modificados servem como fontes de osteoindução e como treliça para o crescimento vascular e migração de células do receptor.

Kelly e Friedlaender (1977) descreveram que o osso alógeno interage biologicamente com o tecido receptor no sítio do enxerto. A adição de osso autógeno particulado, e medular, ao osso alógeno, aumenta a osteogenicidade do enxerto. O processamento para secar e congelar o osso reduz, com significativo resultado clínico, a antigenicidade do enxerto alógeno. Julgando-se pelo resultado dos 14 casos, que estiveram sob contínuo acompanhamento, o osso alógeno para o aumento de rebordos desdentados pode ser uma possível alternativa para o osso autógeno.

Bogatov et al. (1983) estudaram a regeneração óssea em mandíbula de ratos e observaram que a TLBP reduzia o tempo de reparação em ferimentos.

Lomnitskii e Biniashvskii (1983) estudaram o efeito de várias doses de radiação emitidas por laser de He-Ne (632,8nm) em 105 coelhos e os resultados obtidos sugeriram estímulo na osteogênese. Eles verificaram que a TLBP causava efeitos nas células osteoblásticas e na regeneração óssea periodontal. Os autores inferiram que esta terapia ativa as células osteoblásticas e acelera seu desenvolvimento e a calcificação.

Trelles e Mayayo (1987), observaram que o laser de He-Ne (632,8nm) com irradiação de  $2,4\text{J}/\text{cm}^2$  alternando dias, num período de três semanas, auxiliava na reparação de fraturas ósseas. Esses autores detectaram aumento da largura

trabecular. Além de maior número de fibroblastos nos calos ósseos irradiados quando comparados aos não irradiados.

Goldberg e Stevenson (1987) estudaram a biologia do enxerto ósseo cortical autógeno e alógeno, em caninos. Enxertos autógenos e alógenos, frescos e congelados foram implantados e acessados histologicamente de 1 semana a 2 anos após. Em modelos autógenos, a precoce reação inflamatória após o enxerto cortical é a mesma descrita na literatura para o osso esponjoso. Nas duas primeiras semanas os núcleos dos osteócitos desaparecem e uma larga e espalhada necrose acontece. O índice de revascularização da cortical autógena é significativamente menor do que a esponjosa. Enxerto cortical usualmente não é penetrado por vasos sanguíneos do doador até o sexto dia, e dependendo da medida do enxerto, a completa revascularização pode não ocorrer até 2 meses. A penetração vascular do enxerto é resultado da reabsorção osteoclástica da periferia e infiltração vascular dos canais haversianos, portanto, o que atrasa a revascularização do osso cortical é a densa estrutura do mesmo. A reabsorção do enxerto resulta em uma estrutura mecanicamente fraca da sexta semana até 6 meses do transplante. Em modelos animais, enxerto alógeno cortical fresco funciona pobremente e invoca uma extensa resposta imune que aumenta a reabsorção enquanto atrasa o processo de revascularização. Os vasos que migram do leito receptor são circundados por células inflamatórias que os bloqueiam e sofrem degeneração. A medular é invadida por granulação fibrosa inicialmente e transformação em medular normal, só é vista após 24 meses. Uma ampla e espalhada necrose osteocítica está presente por duas semanas, novo osso aposicional ocorre esporadicamente, e sempre após 2 anos do transplante permanecem grandes áreas de osso necrótico. Porém, quando enxertos corticais alógenos frescos são estabilizados, apresentando baixa compressão, osteoindução e osteocondução, podem ocorrer mesmo na presença de

resposta imune. Após 1 ano esses enxertos alógenos podem ser estruturalmente e mecanicamente similares aos autógenos. O congelamento e congelamento a seco do osso cortical alógeno podem melhorar a incorporação. A reabsorção é o principal evento desse material e independe do estado do sitio receptor. Formação óssea procede muito mais lentamente e atrasada do que no autógeno, embora isto seja um pouco mais eficiente que no alógeno fresco. Apesar do inicial estágio inflamatório ser diminuído após transplantação de congelado ou congelado seco, a reabsorção e nova formação óssea procede de forma similar ao alógeno fresco. Todos os enxertos passam por uma fase inflamatória, revascularização, osteoindução, osteocondução, e finalmente, remodelação, para proporcionar uma eficiente estrutura. E o inicio do reparo depende da revascularização seguida por acréscimo mineral. Recentes trabalhos laboratoriais sugerem que histocompatibilidade pode ser um significativo fator do aumento do sucesso de osso fresco congelado alógeno. Enxertos alógenos que de outra maneira estariam fadados a falhar, demonstram aumento da incorporação com o uso de um tratamento breve com imunossupressores.

Takeda (1988), utilizando 24 ratos da raça wistars durante 8 semanas, realizou estudos sobre o efeito do laser de baixa potência GaAs em osso alveolar após extração dentária. Os primeiros molares de todos os animais foram extraídos e o alvéolo cirúrgico irradiado com laser de GaAs 904nm, numa densidade de potência de  $25\text{mW/cm}^2$  e densidade de energia de  $20\text{J/cm}^2$  por 5 minutos imediatamente após a cirurgia e diariamente até o sacrifício. Após análise histológica de rotina, o autor demonstrou o efeito benéfico do laser de baixa potência no início da formação óssea no alvéolo, constatando maior proliferação de fibroblastos nos animais irradiados, havendo também formação de matriz osteóide e trabeculado ósseo, sugerindo uma alta atividade dos osteoblastos.

Howes et al (1988) realizaram enxertos de matriz de osso desmineralizado em ratos, verificando a formação local de cartilagem e osso sob a influência de fatores de crescimento adicionados no enxerto. Constataram que suplementos de fator de crescimento derivados de plaqueta aumentou tanto a produção de mRNAs, colágeno 2 como a atividade da fosfatase alcalina e a quantidade de cálcio no osso.

De Tejada et al. (1990), estudaram o efeito da irradiação com laser de He-Ne (632,8nm) com potência de 6mW, em fratura de fêmur de rato, através de análise ultra-estrutural e hormonal. Os resultados levaram os autores a concluir que a TLBP aumenta vascularização e o rápido aparecimento de células osteogênicas.

Nagasawa et al. (1991) observaram que a TLBP (He-Ne; 632,8 nm), sobre osso alveolar após exodontia, durante aproximadamente quatro minutos, favorece reparação óssea mais rápida que em pacientes não irradiados (NAGASAWA et al., 1991).

Tsuchida et al (1991) realizaram um estudo em ratos normais e diabéticos utilizando um laser de He-Ne em feridas cirúrgicas. Observaram que tanto nos animais normais como nos diabéticos, a reparação da ferida foi mais acelerada naqueles grupos irradiados comparados aos controles.

Kusakari et al. (1992) realizaram trabalhos *In Vivo* e *In Vitro* através dos quais demonstraram a ação moduladora da TLBP sobre a reparação óssea e cultura de osteoblastos. No experimento *In Vivo* utilizaram cães adultos submetidos a perfurações na região da mandíbula e tratadas com TLBP (780nm), com uma potência de 30mW. Utilizando os mesmos parâmetros de irradiação, os autores estudaram a ação deste laser em culturas de osteoblastos (linhagem UMR 106) marcadas com timidina tritiada. Um terceiro experimento foi realizado também com cães, após exodontias com implantação de cilindros de titânio nos alvéolos. O protocolo de irradiação aplicado nesta fase do trabalho foi utilizando um laser em

810 nm e potência de 60 mW. Os resultados *In Vitro* demonstraram que o laser em 780 nm promoveu estimulação na síntese de DNA, síntese protéica e ativação de fosfatase alcalina. *In Vivo*, os lasers promoveram, sem muita diferença entre os comprimentos de onda, aumento da reparação observado pela elevação da quantidade de vasos presente no local de lesão.

Oliveira (1992) realizou um estudo histológico em osso alveolar infectado (alveolite) tratado com TLBP. Utilizou o laser de GaAs (904nm), com uma potência entre 0,5 e 3,5 mW e frequência de 500 a 3700 Hz. Analisando o processo de reparação após 06, 15 e 28 dias, o autor concluiu que a radiação laser acelerou a cronologia do reparo das feridas, principalmente no sexto dia.

Nicolli-Filho e col. (1993), citam vários autores que comprovam os efeitos da laserterapia atuando em nível celular como Bogatov et al. (1983), estudando a regeneração óssea observaram que a laserterapia reduz o tempo de reparação em ferimentos provocados, e Takeda (1988), através de estudos em osso alveolar, avaliou os efeitos da energia laser de GaAs, após extração de molares em ratos, observando histologicamente uma aceleração no processo de reparo alveolar.

Anders et al. (1993) observaram melhora na microcirculação, diminuição no infiltrado celular, síntese de procolágeno, ativação na proliferação de fibroblastos e fibroses mais fortes após o tratamento com laser, em ratos com artrite. Salientaram que os nervos injuriados e ossos fraturados podem curar, rapidamente, nos grupos tratados com laser.

Kameja et al (1995) avaliaram o processo de cicatrização de feridas tratadas com LBP, com diferentes comprimentos de onda (830, 680 e 632,8 nm). Não foram observadas diferenças macroscópicas entre os grupos tratados, entretanto, foi observada significativa diferença quando comparados com o grupo controle.

Histologicamente, grupos irradiados apresentavam maior proliferação de vasos sanguíneos e de tecido conjuntivo.

David et al. (1996), estudaram o efeito da TLBP utilizando o laser de He-Ne (632,8 nm), na reparação óssea de fraturas com fixação interna em tibia de ratos. Sessenta e dois animais tiveram ambas as tíbias submetidas à cirurgia, tendo sido utilizada a tibia contralateral como controle. A irradiação foi feita com doses de 0, 2 e 4J/cm<sup>2</sup>, com uma potência de 10mW, sobre uma área de 7mm<sup>2</sup>, de forma transcutânea. Os animais foram submetidos à irradiação diária, sendo sacrificados após duas e seis semanas pós-cirurgia. Avaliaram a reparação óssea das tíbias através de radiografias e estudo histológico. Os resultados demonstraram não haver diferenças significativas entre a região de reparação nas tíbias irradiadas quando comparados aos controles.

Yaakobi et al. (1996) obtiveram bons resultados em ratos com lesões tibiais tratados com TLBP (He-Ne 632,8nm). A dosimetria aplicada neste estudo foi de 31J/cm<sup>2</sup>, com potência de 5,3 mW, durante 2,3 minutos diretamente sobre a região de perfuração no quinto e sexto dia pós-cirurgia. Os autores avaliaram a quantidade de fosfatase alcalina e cálcio na região de reparação. Nos animais submetidos ao laser houve mais deposição de cálcio, assim como aumento da fosfatase alcalina, sugerindo maior atividade e/ou número de osteoblastos no local de reparação.

Garcia et al. (1996), estudaram a reparação de feridas alveolares após extração dos incisivos centrais superiores tratadas com auxílio do laser de baixa potência. Os animais foram divididos em 2 grupos, sendo que o grupo controle não sofreu irradiação e o grupo experimental foi irradiado com laser de GaAs 904 nm pontual, diretamente sobre o local com potência de 2mW, frequência de 2.100 Hertz e tempo de exposição de 3 minutos imediatamente após a cirurgia e diariamente até o sacrifício. Após a análise dos resultados observaram que as feridas submetidas à

ação do laser, quando comparadas com aquelas do grupo controle, mostraram processos avançados de reparação óssea caracterizado pela organização mais rápida do coágulo sangüíneo, intensa proliferação vascular e fibroblástica, formação óssea precoce e intensa, além do fechamento epitelial mais rápido do alvéolo dental, quando comparados com as feridas do grupo controle.

Hé Hernández et al.(1997) analisaram os resultados alcançados com a aplicação do laser de He-Ne (632,8 nm) e GaAs (904 nm) em 204 pacientes no tratamento de osteomioartrite, afecções dermatológicas e transtornos na cicatrização. Os resultados foram promissores, uma vez que 77% dos pacientes melhoraram, notadamente.

Saito e Shimizu (1997), obtiveram bons resultados na regeneração óssea de sutura palatina com utilização de laser de AlGaAs (830nm), após a disjunção palatina em ratos. Foram realizadas irradiações com dose de 35,3 J/cm<sup>2</sup> e potência de 100 mW sobre a região proposta, onde a expansão levou cerca de sete dias (três a 10 minutos por dia), três dias (sete minutos por dia, durante os dias 0-2 ou 4-6), e um dia (21 minutos). A regeneração de osso na sutura de palatina, avaliada por histomorfometria, revelou maior regeneração no grupo tratado por sete dias. A irradiação durante o período inicial de expansão (0 a dois dias) foi mais efetiva, visto que posteriormente (dias quatro a seis) a irradiação não teve qualquer efeito sobre a regeneração óssea. Estes achados sugerem que o LBP pode acelerar a regeneração óssea na sutura palatina durante expansão palatal rápida e que este efeito não é dependente só da dose de irradiação de laser total, como também do tempo e frequência de irradiação. Os autores sugerem que a TLBP possa ser de benefício terapêutico, encurtando o período de retenção (aparelho ortodôntico) devido à aceleração da regeneração óssea em tratamentos ortodônticos.

Pastori (1998), avaliou o comportamento do osso homólogo liofilizado e desmineralizado, através de sua implantação em defeitos ósseos criados em tíbias de cães. Realizou-se dois defeitos ósseos padronizados em cada tíbia, sendo que um foi preenchido com coágulo, outro, com osso liofilizado desmineralizado. Os animais foram sacrificados com 60, 90, 120 e 150 dias. Os resultados permitiram observar que o material implantado é biocompatível e osteocondutor.

Nicolau, Zângaro e Pacheco (1998) analisaram o grau de reparação óssea mediante utilização de TLBP. Utilizaram 12 ratos Wistar, divididos em grupo controle e grupo irradiado. Os animais tiveram o fêmur direito perfurado, recebendo irradiação com laser de He-Ne (632,8 nm), a cada 24 horas, com densidade de energia de  $2\text{J}/\text{cm}^2$  e potência de 2,68 mW. As irradiações foram feitas de forma transcutânea a cada 24 horas durante 30 dias. Os grupos (controle e irradiado) foram radiografados após cinco, 15 e 30 dias da cirurgia. Para a análise das radiografias foi utilizado o programa de imagem ImageLab 2.3<sup>®</sup>. As áreas de reparação óssea no grupo irradiado apresentaram maior índice de radiopacidade comparado ao grupo controle, demonstrando qualitativamente maior calcificação. Estes dados levaram os autores a concluir que a TLBP causou o estímulo da maturação óssea no local de lesão, evidenciado 15 dias após cirurgia. Em 30 dias não houve diferença entre animais controles e irradiados.

Marx e Carlson (1998) avaliaram, radiograficamente, enxertos que receberam quantidades adicionais de fatores de crescimento por adição de PRP. Evidenciaram uma taxa de maturação radiográfica de 1,62 para 2,16 vezes maior que o enxerto sem PRP. A análise histomorfométrica mostrou um aumento da densidade óssea em enxerto que recebeu PRP (74,0% +/- 11%), quando comparado com enxerto sem PRP (55,1% +/- 8%).

Ozawa et al. (1998), verificaram a ação da radiação de 500mW com laser de AlGaAs (830nm) em osteoblastos de rato em cultura. Os resultados demonstraram que a irradiação promoveu maior proliferação celular e aumento da fosfatase alcalina. Foi percebida maior formação de nódulos ósseos nas culturas irradiadas, após 21 dias. Os autores ressaltam dois pontos importantes neste estudo: um que houve a estimulação da proliferação celular de osteoblastos, outro é que a irradiação ocasionou estímulo na diferenciação celular, percebida pela maior diferenciação de células osteoblásticas e incremento na formação óssea.

Picon et al. (1998), realizaram um estudo histológico em ratos, investigando a reparação alveolar modulada por laser de He-Ne (550nm). Os autores utilizaram 48 animais os quais foram submetidos a exodontia. Vinte e quatro animais tiveram o alvéolo irradiado previamente à sutura com 0,95mW, durante seis minutos. A radiação foi conduzida ao interior do alvéolo via fibra óptica (125µm). Os animais foram sacrificados três, sete, 14 e 21 dias após a cirurgia. No grupo irradiado foi verificado pequeno aumento não significativo na proliferação osteoblástica e na formação de tecido ósseo, quando comparado ao grupo controle. Segundo os autores estes resultados sugerem que esse tipo de tratamento não trouxe benefícios significantes para o processo de reparação, atribuindo este fato principalmente ao comprimento de onda utilizado (região do verde com 550 nm).

Marx e Garg (1998) descreveram três diferentes processos associados com enxertos ósseos bem sucedidos: osteogênese, osteoindução e osteocondução. A osteogênese é a formação e desenvolvimento do osso. A osteoindução é o ato ou o processo de estimular a osteogênese. A osteocondução propicia uma matriz física ou uma estrutura adequada para a deposição de novo osso. Para estimular o crescimento ósseo à partir de sua superfície, um enxerto osteocondutor requer a presença de osso pré-existente ou células mesenquimais diferenciadas. O osso

autólogo utiliza a osteogênese, a osteoindução e a osteocondução, na formação de um novo osso. Os enxertos alógenos, que podem ser corticais ou esponjosos, possuem propriedade osteocondutoras e possivelmente osteoindutoras, porém, não são osteogênicos. Os enxertos alógenos são obtidos de cadáveres, são processados em condições estéreis e estocados em banco de ossos. As formas encontradas são o seco congelado (FDBA), o congelado seco desmineralizado (DFDBA), o fresco congelado (FFBA) e os frescos (FB). Algumas das vantagens do aloenxertos incluem uma disponibilidade imediata, eliminação de um local doador no paciente, anestesia e tempo cirúrgicos reduzidos, menor perda de sangue, e menos complicações. As desvantagens estão associadas principalmente pelo uso de tecidos de outros indivíduos porque uma resposta imune, mesmo que discreta, pode ocorrer e a qualidade do enxerto ósseo depende da história médica do doador e o risco de transmissão de doenças não pode ser descartado.

Os efeitos não térmicos são produzidos por radiações laser a baixa densidade de potência, ou seja, de  $0,01$  a  $1 \text{ W/cm}^2$  ou a uma densidade de energia de  $0,1$  a  $10 \text{ J/cm}^2$ . O efeito fotofísico ou fotoelétrico é o processo capaz de provocar modificações nos potenciais de membrana, incrementando a síntese de ATP. Os incrementos de ATP mitocondrial que são produzidos após a irradiação laser, favorecem um grande número de reações que intervêm no metabolismo celular. Entre elas está a ação na reparação e cicatrização tissular tanto na pele como no sistema nervoso, no tecido ósseo e no bulbo piloso (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998)

Podemos ainda utilizar o laser para bioestimulação óssea em casos de fraturas, acelerando o tempo de cicatrização e melhorando sua qualidade. Em endodontia o laser aplicado pontualmente sobre a região do ápice, tem apresentado resultados na regeneração de lesões periapicais de difícil solução (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998)

O laser de baixa potência tem sido empregado freqüentemente em múltiplas especialidades médicas e odontológicas, devido à suas ações para o alívio da dor, estímulo da reparação óssea e tecidual, redução do edema e da hiperemia nos processos antiinflamatórios, prevenção de infecções, além de atuar em parestesias e paralisias. Na clínica odontológica, o laser de baixa potência pode ser utilizado em processos como úlcera aftosa recorrente, herpes, nevralgias e hipersensibilidades dentinárias, ativando a recuperação em quadros de paralisias e parestesias. Atualmente são realizados rotineiramente diversos estudos relacionando a laserterapia com a bioestimulação óssea, com a aplicação em implantes e cirurgia oral menor, com diminuição da dor e edema nos casos de pós-operatórios (ALMEIDA LOPES, 1999).

Sathaiah, Nicolau e Zângaro (1999) investigaram o efeito da TLBP na reparação óssea de ratos Wistar através da técnica de Espectroscopia Raman (ER) no infravermelho próximo. Neste estudo foram utilizados 30 ratos Wistar (20 irradiados e 10 controles), os quais tiveram a tíbia direita perfurada. Os animais foram irradiados a cada 24 horas em quatro sessões com  $4\text{J}/\text{cm}^2$ ;  $2,68\text{mW}$ ; durante 100 segundos, com um laser de He-Ne ( $632,8\text{nm}$ ). Os animais foram sacrificados 5, 10, 15, 20, e 25 dias após a cirurgia e as amostras ósseas submetidas à ER em cinco pontos cada. A análise de resultados foi realizada observando o deslocamento Raman do pico de hidroxiapatita de cálcio ( $960\text{cm}^{-1}$ ). Observou-se que o pico da hidroxiapatita de cálcio apresentou-se significativamente mais intenso nos animais irradiados, sendo esta diferença mais evidente no grupo com 15 dias pós-cirurgia. Os autores concluíram a existência de maior incorporação de hidroxiapatita de cálcio em estruturas ósseas sobre a ação do laser de He-Ne.

Anitua(1999) utilizando uma técnica ambulatorial para obtenção de PRP, tratou 29 pacientes submetidos à extração em futuros sítios para colocação de

implantes. Concluiu que a aplicação do PRP promove regeneração óssea e dos tecidos moles mais rapidamente, sendo ausentes os efeitos negativos, risco de infecção ou de transmissão de doenças, por ser um material autógeno. Fato mencionado por RAPP (1999) após avaliar o uso de PRP em conjunto com enxerto ósseo em cirurgias.

Lizarelli, Lamano-Carvalho e Brentegani (1999) observaram a ação do laser de AlGaAs (790nm) sobre reparação óssea alveolar em ratos. Para tal estudo utilizaram  $1,5\text{J}/\text{cm}^2$ , 30mW, durante 20 segundos, sobre uma área de  $0,4\text{cm}^2$ , aplicados em uma dose única em forma de varredura imediatamente após a cirurgia. O estudo foi realizado através de análise histológica sete, 14 e 21 dias pós-cirurgia. Após sete e 14 dias o grupo irradiado apresentou uma quantidade de tecido ósseo formado cerca de 10% maior que o grupo controle.

Kucerová et al. (2000), realizou um estudo para avaliar o efeito de diferentes frequências de irradiação de  $1,5\text{ J}/\text{cm}^2$  por cinco dias, com LBP sobre o processo de reparação óssea. Para tanto 124 pacientes foram submetidos a exodontias de molares inferiores (36, 37, 38, 46, 47, 48). Foram tratados com TLBP com laser AlGAAs (670nm), com potência de 20mW e frequências de cinco, 292 e 9.000 Hz. O nível de IgA e albumina na saliva, e mudanças na densidade óssea do alvéolo foram monitorados. Observaram diferenças significantes nos níveis de IgA e albumina no grupo irradiado quando comparados aos não irradiados. Foram observados níveis significativamente maiores de IgA e albumina no grupo irradiado comparados ao controle, principalmente no grupo tratado com 9.000Hz. A densidade óssea analisada por radiografia digital, seis meses após o tratamento cirúrgico não mostrou diferenças entre os grupos irradiado e controle.

Os efeitos bioestimuladores do Laser de Baixa Intesidade são baseados no princípio do aumento de produção de ATP mitocondrial, segundo GENOVESE

(2000). A radiação Laser é recebida por cromóforos presentes na membrana das mitocôndrias induzindo-as a uma produção acelerada de ATP, que leva a uma atividade celular aumentada. Células, como os osteoblastos, passam a sintetizar mais colágeno e passam a entrar em mitoses mais rápidas.

A influência da radiação laser He-Ne na osteogênese, após fraturas cirúrgicas, foi demonstrada em pesquisas realizadas em ratos Wistar, por FREITAS e Baranauskas (2000). O tratamento laser iniciou 24 horas após a cirurgia. Os animais foram divididos, aleatoriamente, em 3 grupos com diferentes doses de radiação e aplicações diárias. Análise com microscopia óptica e eletrônica, revelaram que os tratamentos com doses de 31,5 e 94,7 J/cm<sup>2</sup> resultaram na formação óssea com trabeculado mais denso, o qual indicou maior síntese de colágeno.

Dortbudak et al. (2000), em recentes estudos sobre o efeito do laser de baixa potência em culturas de osteoblastos derivados de células mesenquimais, utilizaram 10 culturas irradiadas em três tempos distintos de 3, 5 e 7 dias, com laser de AlGaAs - 690nm por 60 segundos e 10 culturas como grupo controle. Utilizando o poder de fluorescência da tetraciclina, os autores observaram diferenças significativas em culturas examinadas após 16 dias e concluíram que a irradiação com diodo laser AlGaAs apresentou grandes efeitos bioestimulativos sobre culturas de osteoblastos representando um importante auxiliar para osteogênese e osteointegração de implantes dentais devido ao aumento da atividade celular reparadora.

Dörtbudak, Hass e Mailath-Pokorny (2000), investigaram a ação da TLBP com laser AlGaAs (690nm) em culturas de células ósseas. Neste estudo 30 culturas foram irradiadas com uma densidade de energia de 1,6J/cm<sup>2</sup>, durante 60 segundos, com potência de 21mW e analisadas em três, cinco e sete dias. Utilizaram tetraciclina incorporada ao meio de cultura para identificação dos níveis de

mineralização. A intensidade de fluorescência das culturas foi mensurada após oito, 12 e 16 dias. A análise aos 12 dias demonstrou que o grupo irradiado apresentava crescimento superior ao controle. A produção de matriz óssea e intensidade de fluorescência foi significativamente maior no grupo irradiado após oito, 12 e 16 dias, quando comparados aos controles.

Stefani et al. (2000) avaliaram por análise histomorfométrica, o processo de cicatrização de ferida óssea, ao redor de implantes colocados em alvéolos dentais extraídos, com ou sem a aplicação simultânea de PRP. Com finalidade de marcar o osso regenerado, uma solução de calceína a 2% foi administrada via IM em 0, 7, 15, 30, 45, 60 e 75 dias após inserção do implante. Observaram, dentro dos limites do estudo, que a combinação de PDGF / IGF-I participou ativamente da fase inicial da reparação óssea.

Marx e Garg (2000) afirmaram que a bioquímica dos tecidos receptores e dos enxertos são compatíveis, mas a adição de PRP estimula uma consolidação e mineralização do enxerto na metade do tempo com 15 a 30% de ganho na densidade óssea.

Kassolis et al (2000), publicaram artigo no qual apresentaram resultados de 15 pacientes tratados usando o PRP combinado com FDBA para elevação de seio maxilar e/ou aumento de espessura de rebordo. O restante do PRP foi colocado para cobrir o enxerto. Os autores, por meio dos resultados obtidos, sugeriram que o FDBA associado ao PRP é uma alternativa terapêutica viável para levantamento de seio maxilar e/ou aumento de espessura de rebordo para posterior colocação de implantes.

Kassolis et al.(2000), realizaram este estudo para avaliar se o uso do PRP associado a enxertos de osso liofilizado causavam resultados diferentes dos enxertos realizados somente com o osso liofilizado. Para tal, foram realizadas

cirurgias de levantamento de seio maxilar com e sem o PRP. Após 6 meses de cicatrização, as áreas cirúrgicas foram reabertas para a instalação dos implantes e biópsias foram colhidas para análise histológica. Os autores observaram que nas cirurgias realizadas com a adição de PRP, formou-se osso mais denso que nos casos onde foi utilizado somente o osso liofilizado.

Shanaman et al, (2001), relataram estudo microscópico utilizando enxerto ósseo autógeno usando GBR com e sem PRP para aumento ósseo vertical e horizontal. A análise histológica, após a utilização de enxerto autógeno associado ao PRP, revelou presença de resíduos de tecido ósseo do enxerto bem como osso neoformado, o mesmo acontecendo quando da utilização somente do enxerto ósseo. Os autores concluíram que a adição de PRP não alterou a qualidade nem a quantidade neoformada em comparação a GBR sem PRP.

Coombe et al. (2001), investigaram os efeitos do laser de baixa potência sobre a proliferação osteoblástica utilizando células de osteossarcoma humano. As células foram irradiadas por 10 dias com laser AlGaAs 830nm contínuo, 90 mW de potência e densidades de energia de 0,3, 0,5, 1, 2 e 4 J/cm<sup>2</sup>. A viabilidade celular não foi afetada pela radiação laser, sendo maior que 90 % em todos os grupos. A proliferação celular também não foi afetada por qualquer nível de energia ou variação de exposição. Investigações nas concentrações de cálcio intracelular revelaram uma tendência de passagem de cargas positivas após irradiação. Os autores concluíram que o laser de baixa potência foi incapaz de estimular células do osteossarcoma neste estudo, ressaltando a necessidade de estudos futuros sobre o efeito bioestimulatório da laserterapia em células deste tipo para podermos tornar o laser de baixa potência um potencial de aceleração celular em movimentações ortodônticas.

Limeira Junior et al. (2001), avaliaram histologicamente a influência da radiação do laser não cirúrgico AlGaAs - 830nm sobre reparo ósseo de defeitos padronizados em fêmur de ratos. Os animais foram irradiados transcutaneamente em 4 pontos sendo a primeira irradiação imediatamente após a cirurgia e a cada 48 horas, com a dose total de  $16 \text{ J/cm}^2$  (feixe de 0,06 de diâmetro e potência de 40mW). Com este estudo os autores concluíram que os grupos irradiados mostraram evidências de um reparo mais avançado comparado com os grupo não irradiados, confirmando o efeito de biomodulação positiva sobre reparos de defeitos ósseos irradiados com laser de baixa potência.

Nicolau (2001), analisou os efeitos do laser de baixa potência AlGaAs – 660 nm em tecido ósseo durante sua reparação através de perfurações com broca cirúrgica no fêmur de 48 ratos divididos em grupo controle e grupo irradiado. Os animais receberam  $10 \text{ J/cm}^2$  fornecidos pelo laser no 2º, 4º, 6º e 8º dias após a cirurgia sobre o local da perfuração. Os animais foram sacrificados 5, 15 e 25 dias após a cirurgia e analisados histológica e histomorfometricamente. A autora concluiu que a terapia com laser de baixa potência induziu o aumento da remodelação óssea em todas as diferentes fases do experimento, porém não determinando alterações na microestrutura óssea nos animais irradiados.

Para avaliar o efeito da radiação laser de 830 nm no reparo de enxerto ósseo orgânico bovino associado ou não ao uso de membrana, Gerbi (2001), realizou este estudo. Um total de 42 ratos da raça wistar albinos, do sexo feminino, divididos em cinco grupos: Grupo I (controle – 6 animais); Grupo II (experimental Gen-ox – 9 animais); Grupo III (experimental Gen-ox + laser – 9 animais); Grupo IV (experimental Gen-ox + membrana Gen-Derm – 9 animais); Grupo V (experimental Gen-ox + membrana Gen-Derm + laser – 9 animais). Os grupos tratados com laser receberam sete aplicações com intervalos de 48h, com dosimetria de  $16 \text{ J/cm}^2$  por

sessão, divididos em quatro pontos de 4 J/cm<sup>2</sup>. Os períodos de sacrifício foram de 15, 21 e 30 dias. Concluíram que a laserterapia não cirúrgica resultou em efeito de biomodulação positiva.

Kim et al. (2002,) avaliaram microscopicamente, a neoformação em defeitos ósseos ao redor de implantes com e sem PRP associados a enxertos aloplásticos de gesso Paris e enxertos ósseos autógenos. Análise histológica e histomorfométrica foram realizadas após 6 e 12 semanas das cirurgias em 10 cães, nos quais 30 implantes Avana (10x4 mm) de titânio puro foram fixados em defeitos cirúrgicos na crista ilíaca mediante o seguinte protocolo cirúrgico.

Os defeitos foram analisados após 3 condutas:

- sítio controle, recebendo apenas os implantes;
- sítio com a posição de gesso Paris e enxerto ósseo autógeno;
- sítio com enxerto ósseo autógeno associado a gesso Paris e PRP.

A análise histológica demonstrou que todos os defeitos tratados com enxerto e gesso apresentaram neoformação ao longo de todo o defeito, ao passo que no grupo controle houve neoformação apenas na região inferior do defeito. Os autores concluíram que o defeito, quando tratado com PRP, demonstrou maior contato entre osso e gesso Paris.

Ainda, Kim et al. (2002), avaliaram os resultados da utilização de osso desmineralizado com e sem PRP ao redor de implantes Avana em titânio comercial puro, de 10x4 mm, e inseridos no centro de defeitos ósseos realizados em cães. A análise histológica foi realizada em seis e doze semanas após a cirurgia, demonstrando que os defeitos tratados com osso desmineralizado e PRP apresentaram neoformação óssea geral, enquanto os defeitos sem esses

tratamentos (controle) apresentaram neoformação óssea apenas na região inferior do implante.

Agahaloo, Moy e Freymiller (2002) analisaram os efeitos da utilização de PRP em 4 defeitos ósseos no crânio de cada um de 12 coelhos. Os defeitos foram criados com 8 mm de diâmetro e imediatamente tratados com osso autógeno, somente ou PRP, osso autógeno e PRP, como defeitos experimentais e sem tratamento, como controle. Os resultados foram avaliados por meio de radiografias digitais de subtração, histologia e histomorfometria após 1, 2 e 4 meses, demonstrando aumento na histomorfometria nos grupos com osso autógeno e osso autógeno e PRP, e maior densidade em comparação ao grupo controle, como evidenciado na análise radiográfica. Entretanto, os autores concluíram não haver alterações radiográficas e histomorfométricas significantes nos defeitos submetidos ao enxerto ósseo autógeno, com ou sem adição de PRP.

Merli (2002), realizou um estudo que visou analisar se o Laser de Baixa Intensidade, com comprimento de onda de 670 nm e potência de 15 mW, alterava a reparação de um defeito ósseo. Para tal, foram utilizados 20 ratos Wistar machos, cujas tíbias foram acessadas cirurgicamente e perfuradas para a criação de um defeito de 2 mm de diâmetro. Nas tíbias direitas, antes da sutura, foram aplicados 3 J/cm<sup>2</sup> sobre o defeito, e mais 6 J/cm<sup>2</sup> sobre as suturas no pós-operatório imediato, após 24, 48 e 72 horas; nas tíbias esquerdas a sutura foi realizada sem a aplicação do Laser. Após 14 dias os animais foram sacrificados e as áreas dos defeitos foram submetidas a processamento para análise histométrica da densidade do tecido ósseo neo-formado. Como resultado, o autor observou que nos defeitos onde se aplicou o laser formou-se 40% mais osso que nos defeitos que repararam sem a aplicação.

Lopes (2002), avaliou o efeito do laser de AlGaAs em cicatrização óssea periimplantar realizando uma lesão óssea na tíbia de 16 coelhos divididos em grupo controle e grupo experimental irradiados com laser AlGaAs 830nm, feixe com área de  $0,0028\text{cm}^2$ , densidade de energia de  $21,5\text{ Jcm}^2$  e potência de 10 mW. Os animais foram sacrificados 15, 30 e 45 dias após a cirurgia e os espécimes analisados por espectroscopia Raman em infravermelho próximo monitorando componentes ósseos orgânicos e inorgânicos e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para análise da porção osso-implante. Os resultados apresentaram uma diferença significativa na concentração dos componentes inorgânicos entre irradiados e não irradiados em 30 dias e similar em 45 dias, porém em 15 dias não apresentaram diferença. A concentração do componente orgânico apresentou diferença significativa apenas em 30 dias. A MEV sugeriu uma diferença no embridamento osso-implante apenas em 30 e 45 dias após a cirurgia. Com isto o autor concluiu que a laserterapia melhora a cicatrização óssea e que a MEV mostrou ser uma técnica complementar para a avaliação do embridamento osso-implante.

Salgado (2002), avaliando a velocidade do processo de regeneração óssea primária com uso do laser de baixa potência conjugado à técnica de regeneração óssea guiada com membrana de colágeno, realizou perfurações ósseas na tíbia esquerda de 16 coelhos divididos em grupo I que não recebeu nenhum tratamento, grupo II submetido à irradiação com laser de AlGaAs– 650 nm, grupo III recebendo uma membrana de colágeno aniônico cobrindo a lesão e grupo IV com a presença da membrana e irradiação. Foi utilizada uma DE  $5\text{ J/cm}^2$  sobre a lesão no trans-operatório e 15 J aplicados em 3 pontos distintos de  $5\text{ J/cm}^2$  sobre a lesão no pós-operatório imediato. No primeiro, terceiro, quinto e sétimo dias consecutivos foram utilizados  $20\text{ J/cm}^2$  divididos em 4 pontos de  $5\text{ J/cm}^2$ , sendo que no oitavo dia os animais foram sacrificados. Um estudo comparativo histológico demonstrou nos

grupo II e IV um aumento na velocidade de regeneração óssea primária, observando uma maior formação de osteóide, além de melhor qualidade na formação do tecido de granulação quando comparado com os grupos I e III. Tal fato afirma a intensa atuação do laser de baixa potência no processo de bioestimulação celular.

Torrezan e cols (2003) utilizaram homoenxerto congelado para reconstrução em áreas atróficas pré-implantares. Utilizaram duas formas de enxertias: a forma em bloco, que é utilizada para aumentar a espessura óssea, e a forma particulada, utilizada para levantamento de seio maxilar. Concluíram que o pós-operatório foi menos traumático em relação à enxertia autógena; não houve grandes diferenças clínicas e radiográficas em relação à enxertia autógena; os riscos de transmissão de doenças são praticamente inexistentes, graças ao controle destes pacientes e aos testes realizados sobre o material e outras áreas da Medicina, como a Ortopedia já utilizam este tipo de enxertia.

Minichetti et al.(2004), relataram um caso em humano, de enxerto de osso mineralizado liofilizado, com a finalidade de manter o volume ósseo após exodontia para posterior colocação de implante dentário. Na análise histológica houve formação ou remodelação do osso que era clinicamente útil para o propósito do estudo.

Jensen et al. (2004), pesquisaram o efeito dos enxertos alógenos de osso congelado fresco e do PRP em fixação de implantes. Foram inseridos implantes em úmero de cães e cada implante era fixado em uma abertura de 2,5 mm. Quatro tratamentos das aberturas foram realizados: grupo 1 preenchido com coágulo, grupo 2 com PRP, grupo 3 com osso alógeno congelado fresco, grupo 4 com osso alógeno congelado fresco associado ao PRP. Os resultados após 3 semanas mostraram propriedades mecânicas pobres em locais onde não foram enxertados com osso congelado fresco. Os enxertos de osso congelado fresco aumentaram de forma

significante a fixação dos implantes e a formação de osso na abertura e crescimento ósseo na superfície dos implantes. O PRP não teve nenhum efeito significativo usado isoladamente ou associado ao enxerto de osso, e os autores sugeriram mais estudos para investigar o efeito e possíveis aplicações clínicas do PRP já que é considerado uma fonte rica de fatores de crescimento autógeno.

Keith (2004), relatou um caso de uma paciente do gênero feminino de 37 anos que perdeu o dente 37 com reabsorção severa da mandíbula e solicitou a colocação de um implante ao invés de uma prótese fixa e preferiu um enxerto alógeno ao invés do autógeno para evitar um segundo local cirúrgico. Um bloco de osso alógeno seco foi selecionado e moldado para o caso, em seguida reidratado com solução salina estéril, e estabilizado através de um parafuso e coberto com PRP e membrana reabsorvível, após 4 meses o enxerto estava incorporado ao tecido receptor sem complicações e ampliando a altura óssea de 3 a 9 mm. O implante foi colocado e uma coroa unitária foi confeccionada. O osso alógeno foi bem tolerado pelos tecidos do receptor e mantiveram a integridade e força estrutural.

Ferreira (2006), revisou a literatura quanto aos benefícios da laserterapia de baixa intensidade e sua associação com a implantodontia, salientando os seus efeitos no processo de osseointegração de implantes. A eficácia de tal terapia como coadjuvante na implantodontia é confirmada através das pesquisas científicas relatadas no trabalho. A necessidade de mais estudos comprobatórios de tais benefícios é evidente, porém o futuro da implantodontia associada ao laser de baixa intensidade tornar-se cada vez mais promissor e instigante, na medida que os resultados obtidos trazem vantagens reais para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes (AU).

Weber et al (2006), estudaram histologicamente o efeito da terapia laser de baixa intensidade (830 nm) no processo de reparo de defeitos ósseos associados

com enxerto ósseo autógeno. Foram usados 60 ratos fêmeas da raça Wistar e divididos em 4 grupos: Grupo 1: controle; Grupo 2: laserterapia baixa intensidade no leito cirúrgico; Grupo 3: laserterapia baixa intensidade no enxerto e Grupo 4: laserterapia baixa intensidade em ambos enxerto e leito cirúrgico. A dose por sessão foi de  $10 \text{ J/cm}^2$ , e esta foi aplicada no leito cirúrgico (G2/G4) e no enxerto ósseo (G3/G4). Laserterapia baixa intensidade foi aplicada dia sim e dia não durante 15 dias (comprimento de onda 830 nm, área de  $05\text{cm}^2$ , potência de 50mW e densidade de potência de  $10 \text{ J/cm}^2$ ). A dose foi fracionada em 4 pontos. Os animais foram sacrificados 15, 21 e 30 dias após a cirurgia. Amostras foram coletadas para análise histológicas. Concluíram que a laserterapia baixa intensidade tem efeito positivo na biomodulação do processo de reparo de defeitos ósseos associados com enxerto ósseo autógeno.

## 4 PROCESSAMENTO DO OSSO ALÓGENO

Pelker et al. (1984) estudaram os efeitos de várias técnicas de preservação das propriedades biomecânicas em modelos de ratos. As propriedades físicas iniciais dos enxertos ósseos são determinadas por muitos fatores: incluindo a área doadora; a idade; sexo e características físicas do doador e o método de escolha para preservar e armazenar o enxerto para o futuro uso. Congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$  produz poucas mudanças nas propriedades físicas, mas não evita a autólise enzimática em estocagens por períodos longos. Portanto, congelamento a temperaturas mais baixas, e congelamento com desidratação são os mais preferidos para longos períodos de armazenamento. Os ossos usados neste estudo foram obtidos de ratos adultos (acima de 300 g de peso) por exibirem as mesmas características dos ossos esponjosos humanos. Um total de 90 fêmures e 324 vértebras foram testadas e analisadas. As peças foram divididas em 4 grupos: congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  e depois desidratado ( liofilizado); congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$ ; congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$ ; congelado a  $-196^{\circ}\text{C}$ . Os resultados indicaram que o congelamento a temperaturas tão baixas como a do nitrogênio líquido não alteram as propriedades torsionais de ossos longos ou propriedades compressivas das vértebras, e que a liofilização produz poucas mudanças nas propriedades compressivas.

Friedlaender (1987) com o propósito de ajudar o cirurgião a entender a natureza de um enxerto ósseo alternativo e escolher qual material é mais apropriado para uma aplicação específica, descreveu as técnicas de obtenção, seleção do doador, processamento e armazenamento em banco de ossos para proporcionar um seguro e eficaz tecido para procedimentos reconstrutivos eletivos, garantindo a esses materiais propriedades biológicas e biomecânicas compatíveis com a aplicação clínica desejada. Em todos os enxertos, o processo de

incorporação altera temporariamente as características biomecânicas e físicas. Com critérios de seleção dos doadores e técnicas de armazenamento adequadas, estes tecidos são seguros e eficazes.

Goldberg e Stevenson (1987) descreveram que os resultados clínicos dos procedimentos de enxerto ósseo dependem de muitos fatores, incluindo tipo e fixação do enxerto ósseo tanto quanto o lugar e o status do leito receptor, e que os enxertos ósseos servem para uma ou para as duas importantes funções: como fonte de células osteogênicas e como apoio mecânico. Enxertos autógenos, esponjosos e corticais, são geralmente implantados frescos e são em sua maioria osteogênicos, seja provendo uma fonte de células osteoprogenitoras ou sendo osteoindutivos. Enxertos corticais, autógenos ou alógenos, no mínimo atuam inicialmente como uma forte barreira para que os espaços sejam preenchidos ou como suporte. Todos os enxertos ósseos são inicialmente reabsorvidos, mas enxertos esponjosos são completamente substituídos, enquanto que enxertos corticais permanecem como uma mistura de osso necrótico e osso viável por um período de tempo prolongado. Os alógenos são menos e mais vagarosamente substituídos pelo osso hospedeiro porque, eles invocam respostas local e imuno-sistêmicas que diminuem ou destroem a osteoindutividade e o processo condutivo. Esses procedimentos também são influenciados pela vascularidade e composição do leito receptor.

Laforest et al. (1991) compararam as propriedades mecânicas de um osso cortical humano seguindo três técnicas de congelamento profundo: adição de dimetil-sulfoxalina (D.M.S.O) e diminuição de temperatura com imersão em nitrogênio líquido, imersão em nitrogênio sem crioproteção, congelamento profundo em um aparelho elétrico a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Estes testes aplicando carga axial, realizados em dois fêmures (88 amostras) permitiram determinar a contração da ruptura  $f$  (max) e o módulo de elasticidade. Teste de torção foram realizados em quatro fêmurs (66

amostras), para obter a contração da ruptura (max) e o módulo de elasticidade. Foram colhidas muitas amostras do córtex, que aleatoriamente foram divididas em 4 grupos, três deles sendo congelados profundamente com um dos métodos estudados, e o quarto sendo testado fresco, depois manufaturando uma amostra padrão. Os resultados obtidos no estágio fresco foram comparáveis com aqueles publicados na literatura [f (max)=158 MPa, E=9000 MPa, t (max)= 60 MPa, G=4000 MPa]. Os resultados obtidos após o congelamento profundo tanto na carga axial como na torção, demonstraram diferenças significativas, ainda que sempre de baixo valor. O cirurgião pode usar um desses métodos de congelamento, sem temer qualquer deteriorização das propriedades mecânicas que poderiam ameaçar a estabilidade primária do enxerto. No entanto, somente nitrogênio líquido permite uma conservação de longa duração, e somente o uso de crioproteção pode dar chance de preservação dos condrócitos em caso do enxerto diafisal e epifisal.

Munting et al. (1988) com o objetivo de encontrar um efetivo e seguro método de esterilização, que não destruísse a capacidade osteoindutiva do osso desmineralizado, testaram 5 métodos em ratos. Enxertos obtidos e processados sob condições estéreis serviram como controle. Nova formação óssea foi determinada pelo peso seco, teor de cálcio, incorporação de Sr-85. Soluções de glutaraldeído, formaldeído ou óxido de etileno destroem quase toda a capacidade osteoindutiva. Irradiação por 2,5 Mrads Co-60 resultou em uma perda da metade da capacidade osteoindutiva. Mertiolate 0,18 % foi o único que não reduziu a indução óssea no osso desmineralizado. Devido ao fato de o mertiolate não ser esporicida; a irradiação gama parece ser o mais apropriado agente de esterilização para o uso clínico.

Itoman e Nakamura (1991) estudaram em modelos de ratos os efeitos das várias técnicas de processamento nas propriedades biomecânicas e na união e

incorporação histológica de enxerto ósseo. O processamento pode interferir nas propriedades osteoindutivas, osteocondutivas e na antigenicidade do enxerto. Foram utilizados ratos marrons Normandos como doadores (BN) e ratos Fischer (Fi) como receptores. Peças ósseas de 1cm foram coletadas do fêmur de 70 doadores (BN) e foram processados por simples congelamento (FFB), em um freezer a  $-80^{\circ}$  congelamento e desidratação(FDB), e descalcificação em solução de 0,6N-HCL (DB). As peças foram enxertadas em defeitos de 1cm de comprimento no fêmur dos receptores e fixados com fios de arame de Kirschener. Enxertos autógenos frescos (AB) e alógenos frescos (FB) foram usados como controle; 300 amostras foram obtidas de fêmur de ambos os lados de 150 ratos, em um total de 600 peças; 150 foram usadas para testes biomecânicos e 150 para examinar a viscoelasticidade, outras 150 para estimar a resistência a compressão, e 150 amostras foram retiradas para estudos histológicos e radiológicos. Foram retiradas amostras com 4, 8, 12, 16, e 24 semanas. Para isso foram separados os ratos em 5 grupos com 30 ratos por grupo. Estes grupos foram subdivididos em 5 sub-grupos de 6 ratos, sendo 3 experimentais (alógeno congelado, alógeno congelado e seco, e descalcificado) e 2 controles (fresco autógeno e fresco alógeno). Em cada subgrupo foram obtidas 24 amostras, em um total de 120 por grupo com total geral de 150 ratos e 600 amostras. Em relação a resistência à compressão os valores foram expressados pela máxima carga por unidade de área, e foi extremamente baixa nos ossos processados particularmente nos descalcificados, comparados com fresco autógeno ( $p < 0,001$ ). Todos os tipos de enxertos demonstraram uma mínima resistência compressiva nas 8 primeiras semanas sem diferenças estatísticas para os 5 grupos. O osso recuperou 60% a 80% dos seus valores originais em 16 semanas depois de enxertado. Em relação a viscoelasticidade dinâmica, os valores absolutos dos ossos processados antes do enxerto estão aumentados em FDB seguidos por FFB, FB e

DB, e os valores encontrados foram 2 vezes maior para FDB e FFB, que em FB ( $p < 0,01$ ), indicando que a viscoelasticidade foi diminuída nesses processos. A viscosidade foi temporariamente diminuída no FFB e FDB nas 4 semanas após o enxerto, mas a elasticidade aumentou no mesmo estágio. A elasticidade está aumentada em todos os enxertos da 8<sup>a</sup> a 16<sup>a</sup> semana. No fresco autógeno e DB a temporária redução no módulo absoluto não foi demonstrada até a 4 semana após o enxerto. O resultado da medida da diminuição do módulo mostrou que o valor para o DB estava mais alto que dos outros antes do enxerto. Porém, após o enxerto os valores aumentaram da 4<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana em FDB, FFB, FB. Em achados radiográficos no enxerto autógeno, na 4<sup>a</sup> semana a linha de consolidação é observada, já na 16<sup>a</sup> semana o enxerto está incorporado e a linha de união não aparece. Nos enxertos processados, a linha de consolidação e a formação de novo osso eram lentas em relação ao autógeno. O FB mostrou a pior união e incorporação radiográfica, em análise morfométrica. A proporção de incorporação, que era proposta como um indicador histológico da propriedade osteoindutiva, demonstrou linear acréscimo em todos os grupos, exceto no FB, em todo o período após o enxerto. Nas 24 semanas, o autógeno mostrou a melhor incorporação e o FB a pior ( $p < 0,001$ ). FFB, FDB, e DB estão superior ao FB ( $p < 0.01$ ). Estas diferenças sugerem que mudanças nas propriedades mecânicas dependem do grau de absorção e formação. Os resultados indicaram, que na prática clínica, um apropriado tipo de enxerto deve ser cuidadosamente escolhido para o propósito desejado.

Hardin (1994) afirmou que bancos de ossos representam quase uma ilimitada fonte de material para reconstrução, e que muitas formas de bancos de ossos alógenos estão disponíveis para o cirurgião. Dentre os enxertos disponíveis estão os frescos, frescos-congelados, seco-congelados e ossos desmineralizados.

Cada um desses enxertos carrega riscos e têm limitações únicas e propriedades de manuseio. Para usar esses materiais apropriadamente, o cirurgião deve estar familiarizado com as propriedades de cada um, analisando a diminuição da perda de sangue, a ausência da morbidade da área doadora e a diminuição do tempo cirúrgico, sentindo-se confiante de que o banco de ossos está lhe fornecendo um enxerto estéril e seguro. Deve avaliar os riscos de doenças transmissíveis (como AIDS, hepatite, cultura de aeróbicos e anaeróbicos, sífilis e anticorpo HTLV-I) através do histórico médico e social do paciente (câncer, infecções, doença mental, presidiário, usuário de drogas ou homossexual). Existem duas escolas sobre o melhor caminho para se obter um enxerto ósseo estéril. O primeiro método é uma coleta e um processamento estéril, através da esterilização do ambiente e equipe médica, e coleta do material em até 24 hs após a morte do doador. Um segundo método inclui uma esterilização secundária do material no final do processamento, que pode ser por irradiação gama. Entretanto, a quantidade de radiação necessária para inativar o vírus do HIV pode ser maior que a recomendada, pois em altas doses pode mudar as características biomecânicas do osso e diminuir o potencial osteoindutivo. A outra forma é o óxido de etileno, mas estudos mostram certa toxicidade de resíduos presentes no enxerto que podem provocar falhas, mas em um processo bem adequado esse efeito é insignificante, tornando-se um potente agente de esterilização que mata esporos resistentes e inativa o HIV. O osso fresco alógeno não é muito usado pela dificuldade de seleção de doador e do transporte. O osso alógeno congelado em temperaturas entre  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $-170^{\circ}\text{C}$  tem a vantagem da técnica simples de preparo e estocagem, mas as desvantagens de mantê-lo sob um congelamento contínuo e monitorado para evitar degelo acidental, e o congelamento, por si só, não destrói vírus e esporos. Uma vez descongelado, o osso apresenta as mesmas características físicas do osso fresco autógeno. Enxertos

osteocondral podem ser criopreservados, tratados com glicerol antes de congelados para proteger os condrócitos. Osso congelado remodela principalmente por osteocondução. A velocidade de neoformação óssea é lenta e a quantidade do novo osso formado é baixa pela imunogenicidade do enxerto. A imunossupressão pode diminuir a rejeição, mas aumentar complicações cicatriciais. Enxertos congelados tem sido usados em cirurgias ortognáticas e reconstrução de maxila e mandíbula com sucesso. O osso seco congelado tem sido o enxerto de escolha de cirurgiões que não tem acesso ao osso congelado. O processamento envolve a sublimação do gelo sólido direto para vapor removido em uma câmara de vácuo. O processamento mata todas as células e diminui a antigenicidade. O enxerto precisa ser reconstituído em solução salina antes de usado, de uma a vinte quatro horas antes. A maior desvantagem é a reabsorção acentuada e indeterminada do enxerto, além de microfraturas presentes que diminuem a resistência torcional. Por outro lado, a resistência à carga axial é a mesma do congelado sendo esta uma das vantagens, e a outra é a estocagem em temperatura ambiente. O osso desmineralizado é considerado clinicamente não imunogênico. A desmineralização expõe as proteínas morfogenéticas tornando o enxerto osteoindutivo. O índice de reabsorção é alto, em torno de 49% do enxerto. Não tolera carga axial, e deve ser usado em áreas de pouca carga. Por fim, Hardin prevê que no futuro, ossos alógenos tornar-se-ão obsoletos. Em lugar de ossos de banco, cirurgiões usarão ossos protéticos morfogênicos sinteticamente produzidos que têm sido incorporados dentro de uma matriz absorvível. Esses materiais permanecerão numa forma que permitirá o material do enxerto crescer e amadurecer com o paciente. Entretanto, até que este objetivo seja atingido e este material esteja clinicamente disponível, cirurgiões devem estar familiarizados com as capacidades e limitações do enxerto de banco.

Tomford e Mankin (1999) apontaram a existência de 10.000 doadores de tecidos em bancos de ossos nos EUA anualmente, e que os ossos alógenos são usados freqüentemente por cirurgiões ortopédicos. A fonte mais comum é a do doador cadavérico, e este tipo de doador poderá aumentar em 20% nos próximos 2 anos como resultado do Ato de Reconciliação Orçamentário de 1998 e através do cumprimento das seguintes regras:

- a) Hospitais devem informar todas as mortes ao Organ Procurement Organization” (OPO);
- b) Hospitais devem trabalhar com o OPO para se aproximarem das famílias;
- c) O consentimento da família é obrigatório;
- d) Hospitais devem consentir a participação no programa Medicare.

A preocupação com doenças transmissíveis (AIDS, hepatite B e C) com o uso de ossos alógenos parece estar diminuindo como resultado do uso de testes de sangue altamente sensíveis, como o teste *polymerase chain reaction* (PCR). Este teste multiplica o genoma viral (DNA), para detectar pequenas quantidades de vírus, é um teste extremamente sensível, serve para detectar o vírus no doador bem no início, como 7 dias após a inoculação. O último caso reportado de AIDS transmitida através de enxerto alógeno foi em 1992, resultado de um enxerto feito em 1985. Depois disso, nenhum caso apareceu de AIDS ou hepatite. Outro teste é o *genome amplification tests*, o qual detecta a presença de vírus HIV e hepatite C no sangue do doador pela detecção de RNA, e é mais eficiente que PCR, pois HIV é um vírus RNA. A triagem do doador através da análise do histórico médico é outro método para prevenção da transmissão de doenças, e elimina 90% dos doadores inapropriados. A Associação Americana de Banco de Tecidos (AATB) que tem desenvolvido modelos para banco de tecidos, desenvolveu um modelo de triagem

padronizado de histórico, que é usado em todos os bancos que seguem as diretrizes da AATB.

## 5 PROPOSIÇÃO

O propósito deste trabalho foi avaliar a influência do Laser de Baixa Intensidade no processo de cicatrização de enxertos ósseos homogêneos congelados associado ao Plasma Rico em Plaquetas da seguinte forma:

- Verificar a melhora da qualidade do osso neo-formado através relação tecido ósseo x tecido fibroso;
- Verificar a melhora da quantidade do osso neo-formado através da mensuração das células ósseas;
- Verificar a aceleração do processo de reparo ósseo.

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram obtidas de pacientes submetidos à cirurgia de enxerto ósseo realizado no CID – Centro de Implantes Dentários, Londrina Pr, onde todos tiveram as devidas informações sobre o trabalho e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o qual está apresentado na seção de anexos. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Univap, sob protocolo número L050/2005/CEP.

As amostras foram divididas em dois grupos, de forma aleatória em relação à idade e sexo. O Grupo Laser foi constituído por 08 pacientes que receberam enxerto ósseo homogêneo congelado de Banco de Osso, em bloco, associado ao Plasma Rico em Plaquetas, para aumento de espessura da região anterior de Maxila e aplicação de Laser de Baixa Intensidade (ALGaAs – 670 nm) no pós-operatório imediato e nas 24, 48 e 72 horas. O Grupo controle foi constituído de 08 pacientes que se submeteram à mesma técnica cirúrgica para colocação de enxerto ósseo homogêneo congelado, também associado ao Plasma Rico em Plaquetas, porém sem a aplicação de Laser de Baixa Intensidade. O Grupo Laser foi constituído por 06 mulheres e 02 homens, e o Grupo Controle também foi constituído por 06 mulheres e 02 homens. As amostras foram obtidas durante a perfuração da loja óssea, utilizando broca Trefina para confecção da loja cirúrgica para fixação dos implantes ao invés das fresas convencionais, deixando, desta forma, de eliminar o tecido ósseo durante a perfuração para armazená-lo dentro da broca Trefina, não causando nenhum tipo de dano ao paciente.

## **6.1 Descrição da Técnica**

Após uma minuciosa anamnese e verificada a real necessidade de uma cirurgia reconstrutiva prévia à fixação dos implantes dentários osseointegrados, os pacientes receberam antibioticoterapia, com Amoxicilina 2g uma hora antes da cirurgia, ou Eritromicina 2g uma hora antes da cirurgia para aqueles alérgicos à Penicilina; e Arcoxia 120 mg uma hora antes da cirurgia. Os pacientes fizeram bochecho com antisséptico bucal à base de clorexidina 0,12% 2 vezes ao dia, começando 2 dias antes da cirurgia.

Previamente à cirurgia, os pacientes foram submetidos à anti-sepsia extra e intra-bucal. Na anti-sepsia extra bucal foi usado PVPI 10 % (Iodo), de forma centrífuga (de dentro para fora), e na intra bucal bochecho por 1 minuto com clorexidina 0,12%.

Realizou-se anestesia local infiltrativa, com anestésico Mepivacaína a 2% de Epinefrina (vasoconstritor); em média foi usado 3 tubetes anestésicos (5,4 ml) para cada procedimento. Em seguida, a incisão foi realizada com lâmina de bisturi número 15, na crista do rebordo edêntulo, estendida até a região de primeiro pré-molar esquerdo e direito, terminada com uma incisão relaxante além da junção muco-gengival. Descolou-se o retalho muco-periostal, preservando o periósteo, uma vez que esta estrutura é extremamente importante para o processo de reparo ósseo; expondo desta forma a tábua óssea da região anterior da maxila, reabsorvida devido à ausência dos elementos dentais anteriores superiores.

Após o preparo da área receptora, através de decorticalização com broca esférica em baixa rotação e sob abundante irrigação, para aumentar a área de nutrição; foi selecionado e condicionado o osso homogêneo congelado, de forma a adaptar perfeitamente à área; condicionamento feito com brocas (sob irrigação com

soro fisiológico) e osteótomo (alicate próprio para corte de tecido ósseo). O enxerto é então associado ao Plasma Rico em Plaquetas, antes de ser fixado à região. A fixação é feita com parafuso de titânio (liga de titânio que não osseointegra), de forma que o bloco de osso enxertado fique o mais estável possível (condição indispensável para que ocorra a revascularização e posterior integração desse material). Elimina-se qualquer aresta do bloco, para que não se tenha o risco de exposição, por perfuração da mucosa. Procede-se a reposição e sutura do retalho, sem tensão nos bordos, com fio de seda 4,0, com pontos separados, para que não ocorra a exposição de todo o enxerto na eventualidade de que algum ponto venha a se soltar.

Esses procedimentos foram realizados em todos pacientes, tanto do Grupo Laser quanto do Controle.

No Grupo Laser foi realizada a laserterapia de Baixa Intensidade, com o Laser de AlGaAs, KC 611 compact laser, Dento flex, 670 nm, representado na figura 1, no pós-operatório imediato, e nas 24, 48 e 72 horas após (segundo protocolo Genovese 2000).



**Figura 1 – Laser AlGaAs (670 nm)**

O protocolo de aplicação foi puntual, 4 J/cm<sup>2</sup> por ponto, 35x10<sup>-3</sup>w, 0,7 cm<sup>2</sup>, por 60 segundos, aplicados em 04 pontos sobre a área enxertada: apical, coronário, mesial e distal do enxerto, tanto pela vestibular (figura 2) quanto pela lingual (figura 3); e em varredura na linha dos pontos. As aplicações foram realizadas sempre pelo mesmo profissional.



**Figura 2- Aplicação LBI Vestibular**



**Figura 3- Aplicação LBI Lingual**

Para os pacientes do Grupo Controle, foram passadas apenas as recomendações pós-operatórias convencionais para tal cirurgia.

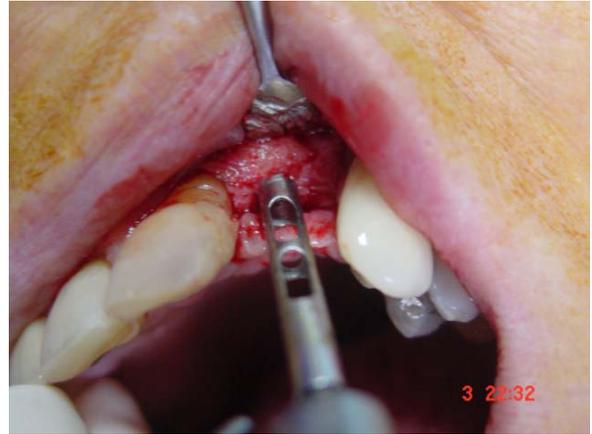
Para ambos os Grupos foram retirados os pontos com 7 dias e realizada uma avaliação com 1 mês.

Esperou-se o mesmo tempo para integração do enxerto nos 2 Grupos (4 meses), para então realizar a reabertura e fixação dos implantes osseointegrados (figura 4). Nesta etapa cirúrgica utilizou-se uma Broca Trefina (figura 5) no lugar das Fresas convencionais, durante a confecção da loja cirúrgica para fixação do implante osseointegrado (figura 6), obtendo a amostra a ser analisada (figura 7). Com a utilização das Fresas convencionais ocorre a eliminação do tecido ósseo, pelo

desgaste do osso, ao passo que com a Trefina, esse osso é armazenado no interior desta broca, não tendo, portanto, nenhum dano ao paciente.



**Figura 4– Reabertura enxerto**



**Figura 5– Utilização Broca Trefina**



**Figura 6– Implante Fixado**



**Figura 7– Amostra coletada**

Essa amostra foi mantida em Formol a 10% e depois encaminhada ao laboratório de análises para confecção das lâminas com cortes histológicos.

## **6.2 Análise Histológica**

As lâminas foram confeccionadas em um laboratório de análises clínicas de Londrina – PR (Micropar), da seguinte forma:

1 Passo: processamento do tecido:

Realizado a descalcificação do tecido, através de imersão em uma mistura de 100 ml de Água, 7 ml de Ácido Clorídrico e 5 ml de Formol, por 8 – 12 horas.

2º Passo: preparação do tecido para Inclusão:

O material foi colocado em uma máquina autotécnico durante uma noite, onde foram realizados os seguintes procedimentos automaticamente: 06 banhos com Álcool Absoluto por uma hora e meia cada amostra; 02 Xilol uma hora e meia cada amostra e 02 Parafinas na temperatura de 70°C

3º Passo: inclusão dos tecidos nos blocos de Parafina 70°C e resfriamento em freezer

4º Passo: cortes em Parafina: foram feitos cortes com 02 Micras. Os cortes, colocados nas lâminas, foram desparafinadas em estufa a 70°C por mais ou menos 20 minutos.

5º Passo: as lâminas passaram por uma série de banhos: Xilol aquecido a 60°C, Xilol frio, Álcool Absoluto, Álcool 95%, Álcool 85% e lavagem em água.

6º Passo: coloração: 5 minutos em Hematoxilina, lavagem em água; 2 minutos em Eosina (amarela), 05 Banhos com Álcool Absoluto.

02 Banhos com Xilol frio, e então montadas as lâminas com Bálsamo e Lamínula.

Após confeccionadas, as lâminas foram submetidas a análise através de um software que quantifica o número de células ósseas, e a relação entre o tecido ósseo e o tecido fibroso presentes em cada uma delas; de forma que, através do

número de células ósseas podemos avaliar a quantidade óssea, e a relação tecido ósseo e tecido fibroso a qualidade óssea.

As lâminas do grupo laser demonstraram um número maior de células ósseas (figuras 8 e 9) em relação às do grupo controle; e as lâminas do grupo controle apresentaram uma quantidade de tecido fibroso (figuras 10 e 11) maior que do grupo laser.



Figura 8– Lâmina I Grupo Laser.  
Aumento 300x

**Osteócitos**



Figura 9 – Lâmina II Grupo. Laser  
Aumento 300x



Figura 10– Lâmina I Grupo  
Controle. Aumento 300x

**tecido fibroso**

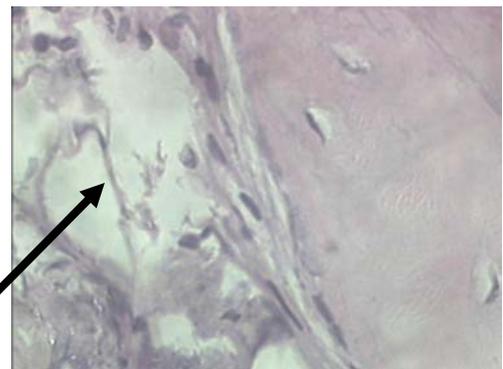


Figura 11– Lâmina II Grupo  
Controle. Aumento 300x

## 7 RESULTADOS

Através da análise histológica, foi observada uma melhora na quantidade e na qualidade do tecido ósseo neoformado no Grupo Laser em relação ao Grupo Controle. Foram mensuradas a quantidade de células ósseas e a relação entre tecido ósseo e tecido fibroso nos dois Grupos. Cada lâmina foi dividida em campos de 10678,01  $\mu\text{m}^2$ , e em cada campo destes foram feitas as mensurações.

A análise estatística foi feita por meio do programa SPSS 13<sup>®</sup> (*Statistic Package for the Social Sciences*, Chicago, IL, USA). Todos os testes foram de duas caudas, estabelecendo-se um nível de significância (p-valor) em 0,05. Quando os dados brutos foram colocados no programa estatístico para uma análise inicial, esse mostrou que possuíam uma distribuição não-normal; portanto, os testes estatísticos utilizados consistiram em testes não-paramétricos.

Quando foi analisada a idade entre os grupos experimentais a tabela 1 demonstra os resultados estatísticos. Foi utilizado o teste de *Wilcoxon*, para analisar a diferença entre as idades dos sujeitos nos grupos experimentais, os resultados não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $Z = -0,841$ ;  $p < 0,400$ ), o que demonstra uma homogeneidade entre as idades dos grupos.

**Tabela 1 – Dados de contingência da idade dos grupos experimentais.**

	Controle	Laser
Média	44,38	52,63
Erro padrão	4,76	3,95
Desvio Padrão	13,48	11,17

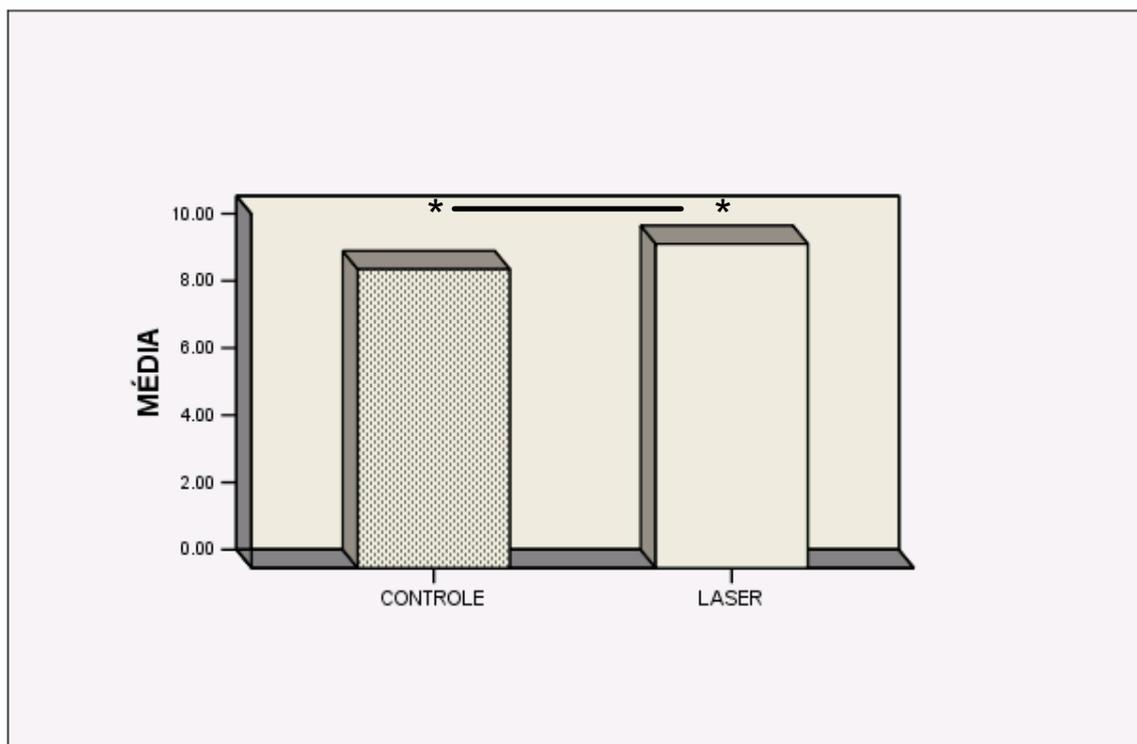
Para a comparação entre os grupos experimentais sobre a análise da contagem das células ósseas foi utilizado o teste de *Wilcoxon*, onde demonstrou

diferença significativa entre os grupos, os resultados foram os seguintes: Grupo laser>Grupo controle:  $Z=-3,185$ ,  $p<0,001$ . A tabela 1 demonstra os resultados estatísticos entre os grupos experimentais.

**Tabela 2 – Dados de contingência da análise do número de células dos grupos experimentais.**

	Controle	Laser
Média	8,9	9,7
Erro padrão	0,19	0,17

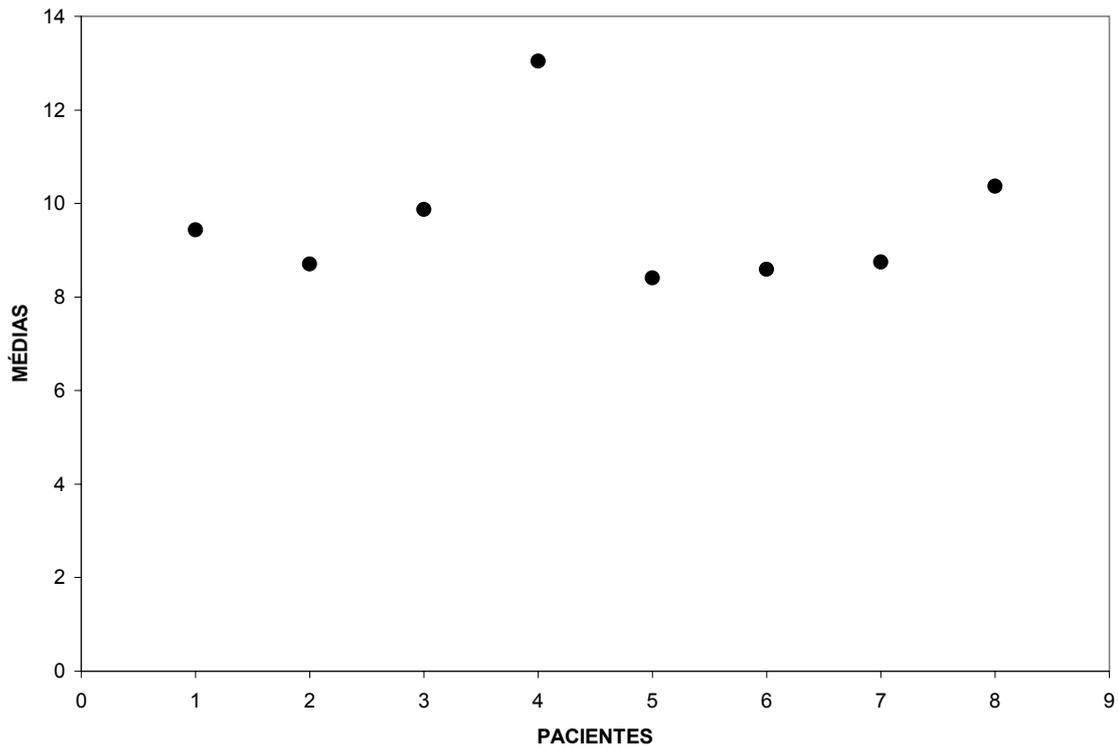
Gráfico 1 representativo das médias do número de células dos grupos experimentais.



**Gráfico 1 – Gráfico de colunas das médias do número de células dos grupos experimentais.**

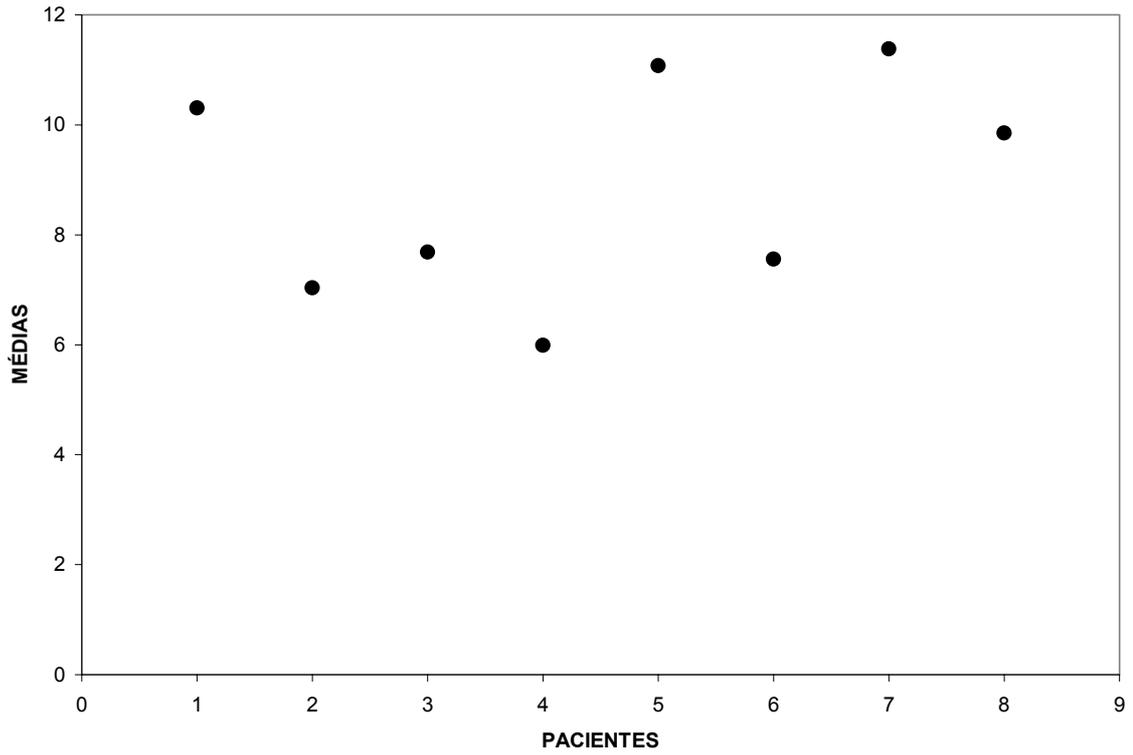
\* Diferença estatisticamente significante,  $p < 0,001$  entre os grupos.

Quando analisado a contagem de células ósseas em cada sujeitos dos grupos experimentais, foi utilizado o teste de *Wilcoxon*, onde não obteve diferença significativa entre os sujeitos. O gráfico 2 demonstra um gráfico de pontos com a média da contagem de células ósseas no grupo laser.

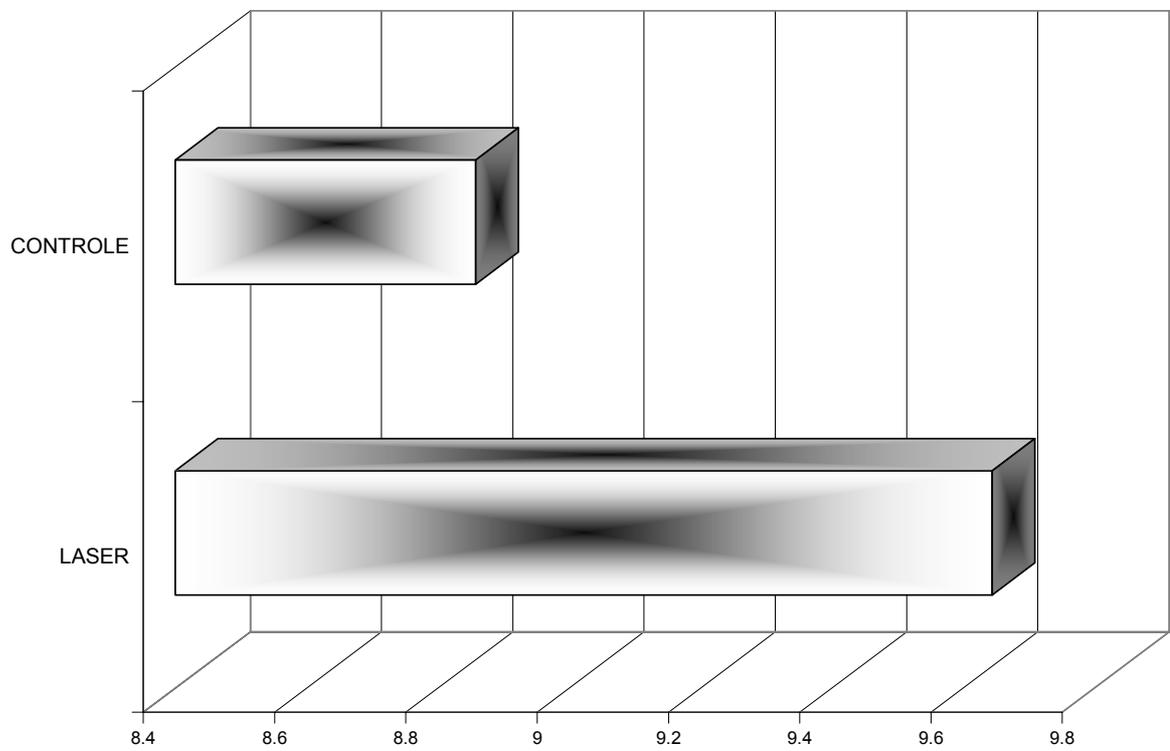


**Gráfico 2 - Média da contagem de células ósseas no grupo laser.**

O gráfico 3 demonstra um gráfico de pontos com a média da contagem de células ósseas no grupo controle.



**Gráfico 3 - Média da contagem de células ósseas no grupo controle.**



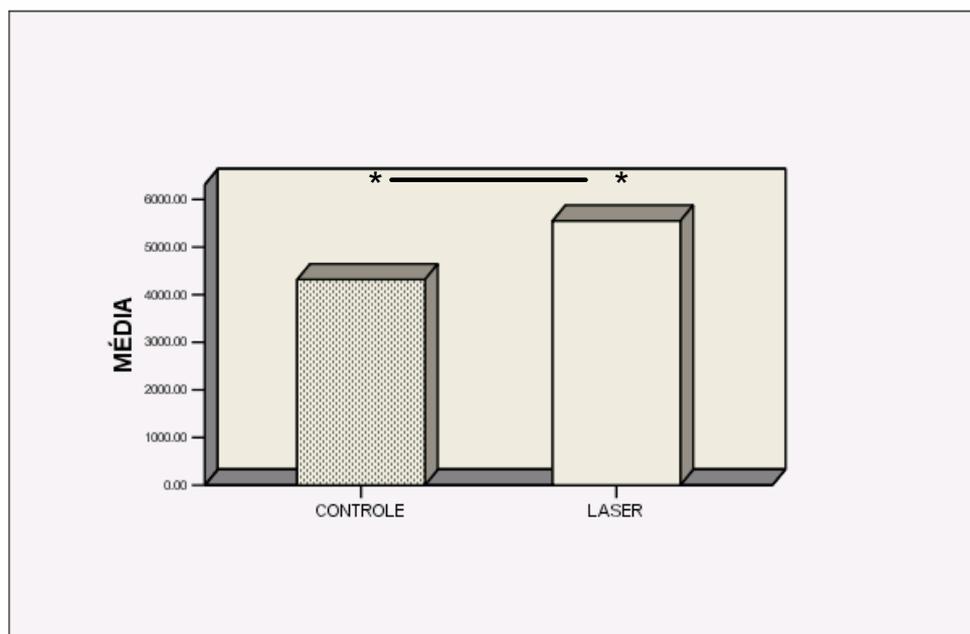
**Gráfico 4 - Gráfico representativo das médias das células nos dois grupos.**

Para a comparação entre os grupos experimentais sobre a análise da quantidade de tecido ósseo foi utilizado o teste de *Wilcoxon*, onde demonstrou diferença significativa entre os grupos, os resultados foram os seguintes: Grupo laser>Grupo controle:  $Z=-4,889$ ,  $p<0,0001$ . A tabela 3 demonstra os resultados estatísticos entre os grupos experimentais.

**Tabela 3 – Dados de contingência da análise da quantidade de tecido ósseo dos grupos experimentais.**

	Controle	Laser
Média	4187,4	5547,3
Média do erro padrão	115,9	203,9

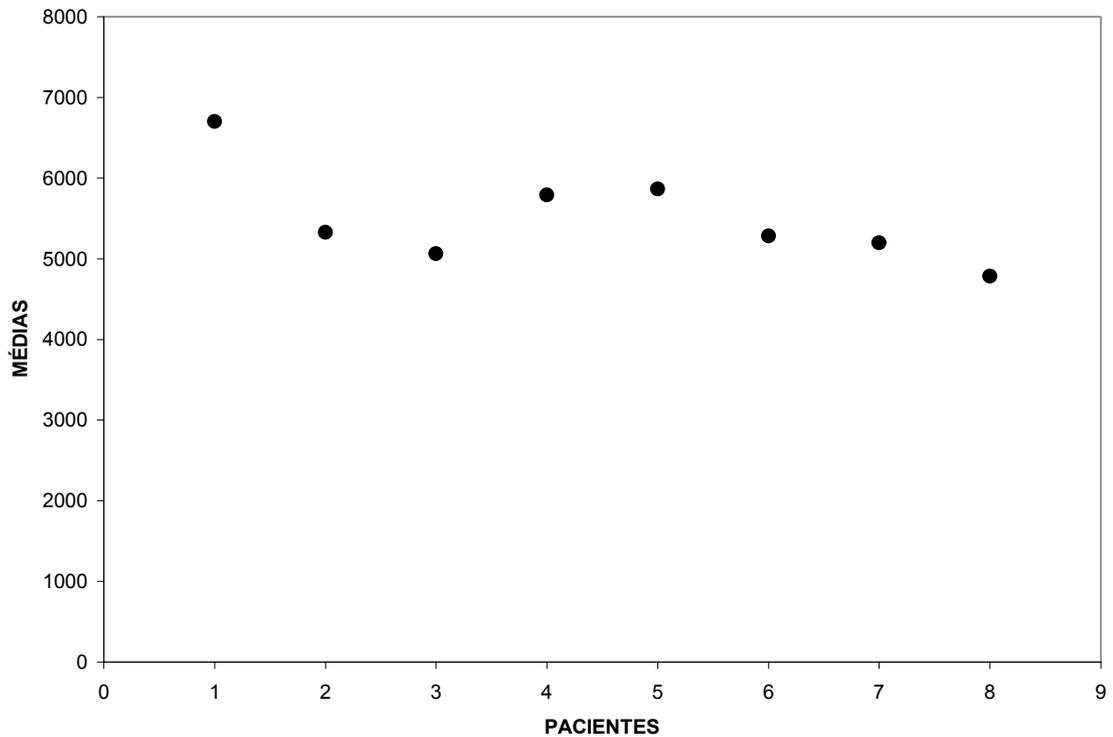
Gráfico 5 representativo das médias da quantidade de tecido ósseo dos grupos experimentais.



**Gráfico 5 – Gráfico de colunas das médias da quantidade de tecido ósseo dos grupos experimentais.**

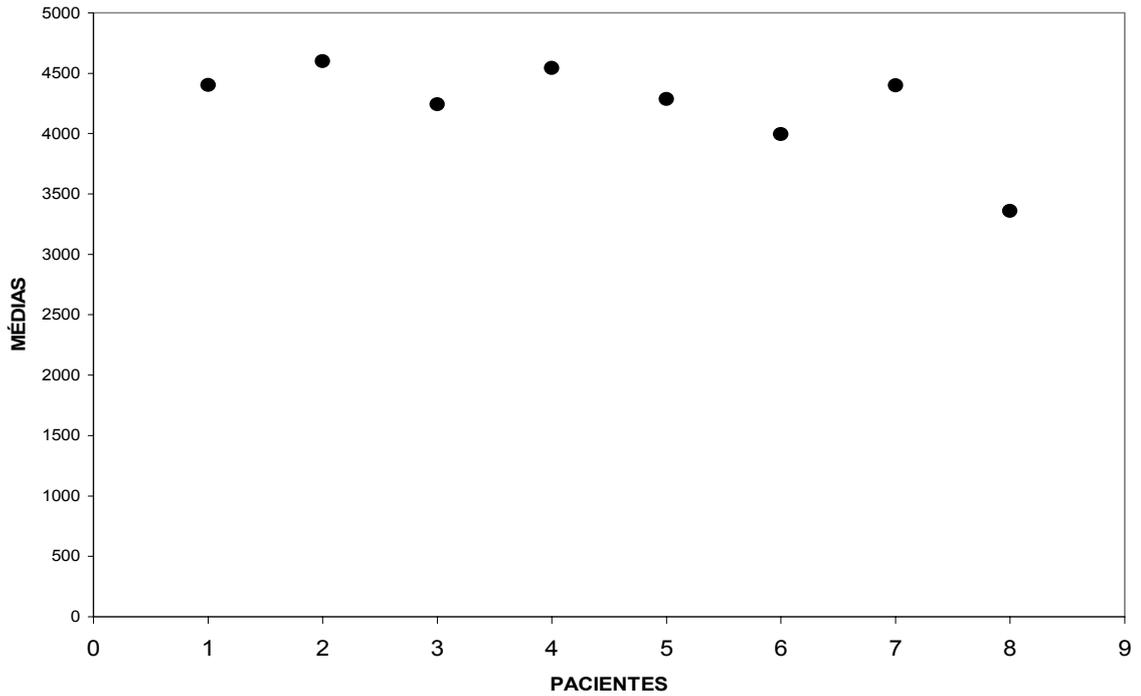
\* Diferença estatisticamente significativa,  $p < 0,001$  entre os grupos.

Quando analisado a quantidade de tecido ósseo em cada sujeitos dos grupos experimentais, foi utilizado o teste de *Wilcoxon*, onde não obteve diferença significativa entre os sujeitos. O gráfico 6 demonstra um gráfico de pontos com a média da quantidade de tecido ósseo no grupo laser.

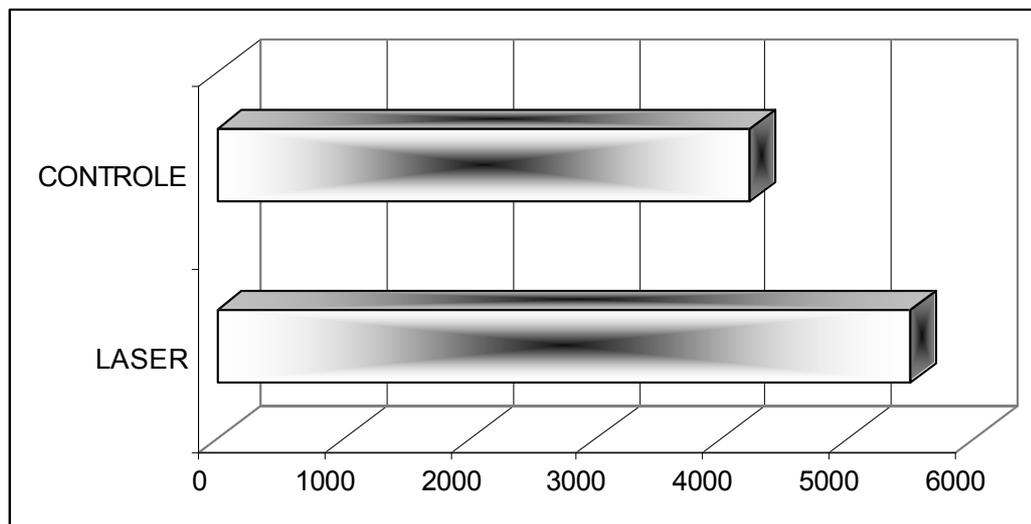


**Gráfico 6 - Média da quantidade de tecido ósseo no grupo laser.**

O gráfico 7 demonstra um gráfico de pontos com a média da quantidade de tecido ósseo no grupo controle.



**Gráfico 7 - Média da quantidade de tecido ósseo no grupo controle.**



**Gráfico 8 - Gráfico representativo das médias das quantidades de tecidos ósseo nos dois grupos.**

## 8 DISCUSSÃO

Enxerto ósseo homogêneo associado ao Plasma Rico em Plaquetas para reconstruções de perdas ósseas previamente a fixações de implantes osseointegrados, vem sendo utilizado como substituto do enxerto autógeno, por não apresentar morbidade da área receptora, e um prognóstico previsível e bons resultados; a aplicação do Laser de Baixa Intensidade – ALGAs (670 nm) no pós-operatório imediato, e nas 24, 48 e 72 horas, destas cirurgias tem melhorado significativamente o processo de reparação, aumentando a qualidade, através do aumento de tecido ósseo em relação ao tecido fibroso, e quantidade, através do aumento de células ósseas, do tecido ósseo neoformado.

Perrot et al.(1992), descreveram os resultados com o uso de osso fresco congelado isolado ou em combinação com osso autógeno, para a reconstrução dos maxilares com finalidade de reabilitação com implantes. Os resultados deste estudo mostraram que o enxerto alógeno fresco congelado pode ser um material alternativo para a reconstrução dos maxilares atróficos.

Os efeitos terapêuticos dos lasers sobre os diferentes tecidos biológicos são muito amplos, ao induzir efeitos trófico-regenerativos, antiinflamatórios e analgésicos, os quais se têm demonstrado em estudos tanto *in vitro* como *in vivo*; destacando-se os trabalhos que demonstram um aumento na microcirculação local (MIRÓ et al., 1984; MAIER et al., 1990), no sistema linfático (LIEVENS, 1986; 1988; 1990; 1991), proliferação de células epiteliais (STEINLECHNER; DYSON, 1993) e fibroblastos (LUBART et al., 1995; WEBB et al., 1998; ALMEIDA-LOPES et al., 1998) assim como aumento da síntese de colágeno dos fibroblastos (ENWEMEKA et al., 1990; SKINNER et al., 1996).

Toda reparação óssea necessita dos osteoblastos (célula formadora de matriz óssea); um dos procedimentos que podem aumentar o número de osteoblastos por indução a mitoses seria a aplicação de Laser de Baixa Intensidade (LBI). Segundo Genovese (2000), o LBI, quando aplicado sobre uma célula, atua sobre as mitocôndrias desta célula aumentando a produção de ATP, e conseqüentemente, induzindo a célula a uma proliferação e síntese protéica aumentadas.

Este fenômeno, demonstrado por Merli(2003), em que o LBI foi aplicado em defeitos ósseos em reparação, induziu uma formação de 40% mais trabéculas ósseas do que nos defeitos que repararam sem a aplicação do LBI.

O efeito bioestimulador da radiação laser de baixa intensidade, estimulando a produção de ATP mitocondrial, bem como o estímulo trófico que aumenta a neoformação capilar e a multiplicação celular, podem melhorar a reparação cicatricial dos enxertos ósseos homogêneos, principalmente quando estes estiverem associados ao PRP (Plasma Rico em Plaquetas), uma vez que, logo após a implantação do enxerto na área receptora, as células são nutridas por difusão, e em 5 a 7 dias inicia-se o processo de angiogênese e revascularização.

Lopes (2002), avaliou o efeito do laser de AlGaAs em cicatrização óssea periimplantar realizando uma lesão óssea na tíbia de 16 coelhos divididos em grupo controle e grupo experimental irradiados com laser AlGaAs 830nm, feixe com área de  $0,0028\text{cm}^2$ , densidade de energia de  $21,5\text{ Jcm}^2$  e potência de 10 mW. Os resultados apresentaram uma diferença significativa na concentração dos componentes inorgânicos entre irradiados e não irradiados em 30 dias e similar em 45 dias, porém em 15 dias não apresentaram diferença. A concentração do componente orgânico apresentou diferença significativa apenas em 30 dias. A MEV sugeriu uma diferença no embricamento osso-implante apenas em 30 e 45 dias após a cirurgia. Com isto o autor concluiu que a laserterapia melhora a cicatrização óssea

e que a MEV mostrou ser uma técnica complementar para a avaliação do embricamento osso-implante.

Salgado (2002), avaliando a velocidade do processo de regeneração óssea primária com uso do laser de baixa potência conjugado à técnica de regeneração óssea guiada com membrana de colágeno, realizou perfurações ósseas na tíbia esquerda de 16 coelhos divididos em grupo I que não recebeu nenhum tratamento, grupo II submetido à irradiação com laser de AlGaAs– 650 nm, grupo III recebendo uma membrana de colágeno aniônico cobrindo a lesão e grupo IV com a presença da membrana e irradiação. Foi utilizada uma DE  $5 \text{ J/cm}^2$  sobre a lesão no trans-operatório e 15 J aplicados em 3 pontos distintos de  $5 \text{ J/cm}^2$  sobre a lesão no pós-operatório imediato. No primeiro, terceiro, quinto e sétimo dias consecutivos foram utilizados  $20 \text{ J/cm}^2$  divididos em 4 pontos de  $5 \text{ J/cm}^2$ , sendo que no oitavo dia os animais foram sacrificados. Um estudo comparativo histológico demonstrou nos grupo II e IV um aumento na velocidade de regeneração óssea primária, observando uma maior formação de osteóide, além de melhor qualidade na formação do tecido de granulação quando comparado com os grupos I e III. Tal fato afirma a intensa atuação do laser de baixa potência no processo de bioestimulação celular.

Torrezan e cols (2003) utilizaram homoenxerto congelado para reconstrução em áreas atróficas pré-implantares. Utilizaram duas formas de enxertias: a forma em bloco, que é utilizada para aumentar a espessura óssea, e a forma particulada, utilizada para levantamento de seio maxilar. Concluíram que o pós-operatório foi menos traumático em relação à enxertia autógena; não houve grandes diferenças clínicas e radiográficas em relação à enxertia autógena; os riscos de transmissão de doenças são praticamente inexistentes, graças ao controle destes pacientes e aos testes realizados sobre o material e outras áreas da Medicina, como a Ortopedia já utilizam este tipo de enxertia.

Keith (2004), relatou um caso de uma paciente do gênero feminino de 37 anos que perdeu o dente 37 com reabsorção severa da mandíbula e solicitou a colocação de um implante ao invés de uma prótese fixa e preferiu um enxerto alógeno ao invés do autógeno para evitar um segundo local cirúrgico. Um bloco de osso alógeno seco foi selecionado e moldado para o caso, em seguida reidratado com solução salina estéril, e estabilizado através de um parafuso e coberto com PRP e membrana reabsorvível, após 4 meses o enxerto estava incorporado ao tecido receptor sem complicações e ampliando a altura óssea de 3 a 9 mm. O implante foi colocado e uma coroa unitária foi confeccionada. O osso alógeno foi bem tolerado pelos tecidos do receptor e mantiveram a integridade e força estrutural.

Ferreira (2006), revisou a literatura quanto aos benefícios da laserterapia de baixa intensidade e sua associação com a implantodontia, salientando os seus efeitos no processo de osseointegração de implantes. A eficácia de tal terapia como coadjuvante na implantodontia é confirmada através das pesquisas científicas relatadas no trabalho. A necessidade de mais estudos comprobatórios de tais benefícios é evidente, porém o futuro da implantodontia associada ao laser de baixa intensidade tornar-se cada vez mais promissor e instigante, na medida que os resultados obtidos trazem vantagens reais para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes (AU).

Weber et al (2006), estudaram histologicamente o efeito da terapia laser de baixa intensidade (830 nm) no processo de reparo de defeitos ósseos associados com enxerto ósseo autógeno. Foram usados 60 ratos fêmeas da raça Wistar e divididos em 4 grupos: Grupo 1: controle; Grupo 2: laserterapia baixa intensidade no leito cirúrgico; Grupo 3: laserterapia baixa intensidade no enxerto e Grupo 4: laserterapia baixa intensidade em ambos enxerto e leito cirúrgico. A dose por sessão foi de  $10 \text{ J/cm}^2$ , e esta foi aplicada no leito cirúrgico (G2/G4) e no enxerto ósseo

(G3/G4). Laserterapia baixa intensidade foi aplicada dia sim e dia não durante 15 dias (comprimento de onda 830 nm, área de  $05\text{cm}^2$ , potência de 50mW e densidade de potência de  $10\text{ J/cm}^2$ ). A dose foi fracionada em 4 pontos. Os animais foram sacrificados 15, 21 e 30 dias após a cirurgia. Amostras foram coletadas para análise histológicas. Concluíram que a laserterapia baixa intensidade tem efeito positivo na biomodulação do processo de reparo de defeitos ósseos associados com enxerto ósseo autógeno.

## 9 CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos através da análise histológica, podemos concluir que o Laser de Baixa Intensidade AlGaAs – 670 nm, aplicado no pós-operatório imediato e nas 24, 48 e 72 horas, de forma puntual,  $4 \text{ J/cm}^2$  por ponto,  $35 \times 10^{-3} \text{ w}$ ,  $0,7 \text{ cm}^2$ , por 60 segundos, aplicados em 04 pontos predeterminados sobre a área enxertada, pela vestibular e lingual; após a cirurgia de enxerto ósseo homogêneo associado ao Plasma Rico em Plaquetas, melhora a quantidade (através do aumento de células ósseas) e a qualidade (aumento de tecido ósseo em relação ao tecido fibroso) do tecido ósseo neoformado, tornando mais previsível o prognóstico destas cirurgias, em relação a futura fixação de implantes osseointegrados.

No Grupo Laser a quantidade de tecido ósseo em média foi de  $5568,2 \mu\text{m}^2$  e no Grupo controle foi de  $4228,2 \mu\text{m}^2$ , o que demonstra um aumento da qualidade de tecido ósseo neoformado, uma vez que por apresentar maior área de tecido ósseo do que fibroso, torna-se mais denso.

Em relação ao número de células ósseas encontradas em cada amostra, no Grupo Laser em média teve  $9,64 \mu\text{m}^2$  e no Grupo Controle teve  $8,86 \mu\text{m}^2$ , o que representa um aumento quantitativo do número de células ósseas, portanto, melhorando a quantidade do tecido neoformado.

Porém, apenas com a análise histológica não foi possível determinar aceleração no processo de reparo ósseo, sendo necessário aguardar o mesmo tempo de integração do enxerto ósseo convencional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELL, et al. A 15 years study of osseointegrated implants en the tratment of the edentulous jaw. **J. Oral Surg.** v.10, p. 387-416, 1981.

AGHALLO T.L; MOY P. K; FREYMILLER Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects. A pilot study. **J. oral Maxillofac. Surg.** v.60, n.10, p.1176-81. Oct. 2002.

ALMEIDA-LOPES, L. **Análise *in vitro* da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana com laser de baixa potência.** 1999. 131 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisas e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba.1999.

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

ANITUA,E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. **Int J Oral Maxillofac Impl,** v. 14, p. 529-535, 1999.

BOGATOV, VV; DAVYDOV, BN; SOLO, VA. Regeneration of bone tissue after laser osteotomy of mandible. **Stomatologiya, Mosk.** v. 62, p. 12-14, 1983.

BOYNE, P. J.; JAMES, R. A. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. **J Oral Surg,** v. 38, Aug, 1980.

BRÄNEMARK, P.I.; ADELL, R.; BREINE, U. Intra-osseous ancorag of dental protheses. Experimental estudies. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.,**Stochholm, v.3, p.81, 1969.

BRUGNERA, J. A.; PINHEIRO, A. L. B. **Laser na Odontologia Moderna.** São Paulo: Pancast. 1998. 356p.

BURWELL, R. G.. Treated composite homograft-autografts of Cancellous Bone: in Analysis of Indutive Mechanisms en Bone Transplantation. **J. Bone Joint Surg.,** London,v.48b, n. 3. Aug. 1966.

BURWELL, R. G. The científic basis of bone homotransplantation. **Sci Basis Med Ann Rev.,** p.147-167, 1968.

CARVALHO, P. S. P. et al. Ação do raio laser na reparação de feridas de extração dental infectadas- estudo histológico em ratos. **R. G. O.** v. 43, n. 4, p. 191-194, 1995.

COOMBE, A. R. et al. The effects of low level laser irradiation on osteoblastic cells. **Clin. Orthod. Res.** v 4, n. 1, p. 3-14, 2001.

DAVID, R; NISSAN, M; COHEN, I; SOUDRY, M. Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. **Lasers Sug. Med..** v.19, p. 458-464, 1996.

DE TEJADA, THG.; MARIN, DR; SORIANO, FM. Efecto de la irradiación con láser de HeNe en el callo de fractura experimental. Repercusion ultra-structural, morfométrica y hormonal. **Rev. Ortop. Traum.** v. 34, p. 84-91, 1990.

DINATO, C. J; BARRETO, M. A; MENDONÇA, R. G; SCARSO, J. Plasma rico em plaquetas. In.: DINATO, C. J; POLIDO, D.W. **Implantes Osseointegrados: Cirurgia e Prótese.** São Paulo: Artes Médicas. 2001. p. 315-342.

DORTBUDAK, O; HASS, R.; MALLATH-POKORNY, G. Bioestimulation of bone marrow cells with a diodo soft laser. **Clin. Oral Implants Res.** v 11, n. 6, p. 540-545, 2000.

FERES, F.J.; **Análise comparativa do índice de sucesso dos implantes osseointegrados com e sem a utilização de PRP, no protocolo de fixação,** Dissertação (Mestrado em Odontologia na área de Periodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, USP, Bauru, 2003.

FERREIRA, A. L.; **Laserterapia em baixa intensidade no processo de osseointegração de implantes,** Apresentada a Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia para obtenção do grau de Especialista, UFMG, Belo Horizonte, 2006.

FRIEDLAENDER, G. E. In suport of reconstrutive surgery of the hip.**Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 225, p.17-21, Dec. 1987.

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

GARCIA, VG; CARVALHO, PSP; OLIVEIRA, JAGP. Ação da radiação laser na reparação de feridas de extração dental infectadas: estudo histológico em ratos. **RGO,** Porto Alegre. v. 43, n.4, p. 191-194, 1995.

GARCIA, V. G. et al. Reparação de feridas de extração dental submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo histológico em ratos. **F. O. L.** v. 9, n. 1, p. 33-41, 1996.

GENOVESE, W. J. Laser de Baixa Intensidade. **Aplicações terapêuticas em Odontologia.** São Paulo: Ed. Lovise. p.84-85; 134-136; 2000.

GERBI, M. E. M. M. Efeitos da radiação laser de 830nm no reparo ósseo de feridas cirúrgicas com implante de osso bovino associadas ou não ao uso de membranas. Salvador; [s.ed.], 2001.p.166.

GOLDBERG, V.M.; STWVENSON,S. Natural Hstory of autografts and allografts.**Clin. Orthop.**, Philadelphia, v. 225, p. 7-16, dec. 1987.

HARDIN, C. K. Banked Bone. Otolaryngol. **Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 27, n. 5, p. 911-925, Oct. 1994.

HERNÁNDEZ, GSD; DIAS, MCR; CHELATA, JRA; HERNÁNDEZ, RMD; ANDREU, MIG; LLANES, EL. Tratamiento de defectos óseos horizontales en periodoncia com láser hélio-neón. **Rev. Cubana Med. Milit.** v. 26, n. 2, p. 110-115, 1997.

HOWES, R; BOWNESS, J. M; MARTIN, G. R; REDDI, A. H. Platelet-Derived Growth Factor enhances desmineralized bone matrix-induced cartilage and bone formation. **Calcified Tissue International**, v.42, p.34-38, 1988.

ITOMAN, M.; NAKAMURA, S. Experimental study on allogenic bone grafts. **Int. Orthop.**, v. 15, p. 161-165, 1991.

JENSEN, J. et al. Reconstruction of the severely resorbed maxilla with bone grafting and osseointegrated implants: A preliminary report. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 48, p. 27-33, 1990.

JOHNER, R. Zur Knochenheilung in Abhängigkeit von der Defektgröße. **Helv Chir Acta**, v. 39, p. 409, 1972.

JENSEN, T. B. et al. Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation. An experimental study in dogs. **J. Orthop. Res.**, v. 22, n. 3, p. 653-658, May 2004.

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

KASSOLIS, J. D. et al. Alveolar ridge augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft. **J. Periodontol**, v. 71, n. 10, Oct 2000.

KELLER, E.E. et al. Maxillary antral and nasal one-stage inlay composite graft preliminary report on 30 recipient sites. **J Oral Maxillofac Surg.**, v.52, n.5, p.438-447, May.1994.

KELLY, J. F.; FRIEDLANDER, G. E. Preprosthetic bone graft augmentation with allogeneic bone : a preliminary report. **J. Oral. Surg.**, v. 35, n.4, p.268-275, Apr. 1977.

KEITH, J. D. Localized ridge augmentation with a block allograft followed by secondary implant placement a case report. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, v. 24, n.1, p. 11-17, Feb. 2004.

KUCEROVÁ, H; DOSTALOVA, T; HIMMLOVA, L; BARTOVA, J; MAZANEK, J. Low-Level Laser Therapy after Molar Extraction. **J. Clin. Lasers Med. Surg.** v. 18, n. 6, p. 309-315, 2000.

KUSAKARI, H; ORISAKA, N; TANI, H. Effects of low power laser on wound healing of gingiva and bone. In: GALLETTI, G; BOLOGNANI, L; USSIA, G. **Laser applications in medicine and surgery**. Bolonha: Monduzi. 1992.

LAFORREST, P. et al. Comparaison des qualités mécaniques de los cortical de banque suivant la méthode de congélation: comparison of the mechanical properties

of cortical bank bone, according to the deep freezing technique used. **Revue Chirurgie Orthopédique**, v. 77, p. 389-395.,1991.

LANE, S. W. et al. Comparison of homogenous freeze-dried and fresh autogenous bone grafts in the monkey mandible. **J Oral Surgery**, v. 30, p. 649-655, Sep. 1972.

LENHARO, A; COSSO, F. Fatores de crescimento quando usar? **Innovations J**, v.5, n.1, p.21-25, 2001.

LIMEIRA JUNIOR, F. A. **Avaliação do reparo ósseo com o uso de osso anargônico e membrana reabsorvível após irradiação com Laser de diodo 830nm**. 2001. 177f Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia.. Universidade Federal da Bahia. 2001.

LIZARELLI, R.F.Z.; LAMANO-CARVALHO, T.L; BRENTGANI, 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.

LOMNITSKII, I; BINIASHEVSKII, E.U. Mechanism of the stimulation of reparative osteogenesis by laser irradiation. **Stomatologia (Mosk)**. V. 62, n. 5, p. 18-20, 1983.

LOPES, C. B. **Cicatrização óssea periimplantar após Laserterapia em 830nm – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia Raman no infravermelho próximo (ER-IVP)**. 2002. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisas e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba. 2002.

LOPES, L. A. **Análise *in vitro* da Proliferação Celular de Fibroblastos de Gengiva Humana Tratados com Laser de Baixa Potência**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Instituto de Pesquisas e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba. 1999.

LUGER, EJ; ROCHKIND, S; WOLLMAN, Y; KOGAN, G. 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.

KAMEYA, T; IDE, S. H; ACORDA, J. A; YAMADA, H; ABE, N. Effects of different wavelengths of low laser therapy on wound healing in mice. **Laser Ther**, v. 7, p. 33-36, 1995.

KASSOLIS, J. D. et al. Alveolar ridge augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft. **J. Periodontol**, v. 71, n. 10, Oct 2000.

MARX, R. E; CARLSON, E. R; Platelet-rich plasma-growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod**, v.6, n. 85, p. 638-646, 1998.

MARX, R.E.; GARG, A. K. Bone structure, Metabolismo, and physiology: its impact on dental implantology. **Implant. Dent.**, Baltimore, v.7, n.4, 1998.

MARX, R.E; GARG, A.K. Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hiperbaric oxygen. In: \_\_\_\_\_. **The Sinus Bone Graft**. Colorado: Quintessence, 1999.p. 183-189.

MARX, R.E; GARG, A.K. A estrutura óssea, o metabolismo e a fisiologia: seu impacto na implantodontia. **J Impl Dent**, v. 5, p.15-25, 1999-2000.

MERLI, L. A. S. **Efeito da aplicação do laser de baixa intensidade na reparação do tecido ósseo**. Dissertação (mestrado em ciências da saúde) - Escola Paulista de Medicina / UNIFESP, São Paulo, 2002.

MISCH, C.E. Implants in the partially edentulous patient and subantral augmentation (abst). In: **UCLA SYMPOSIUM**, April 19-21, 1990, *Palm Springs, California*,. **Abstract....** Palm Spring: UCLA, 1990. p.16.

MISCH, C.E. Density of bone: effect on treatment plans, surgical approach, healing and progressive bone loading. Int. **J. Oral Implantol.**, v. 6, p. 23-31, 1990.

MINICHETTI, J. C. et al. Human histologic analysis of mineralized bone allograft (Puros) placement before implant surgery. **J Oral Implant.**, v. 30, n. 2, p. 74-82, 2004.

MUNTING,E. ; et al. Efect of sterelization onosteoinduction. C omparison of five methods in demineralized rat bone. **Acta Orthop. Scand.**, Oslo, v. 54, n.1, p.34-38, Feb. 1988.

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

NICOLAU, R. A **Análise histomorfométrica de tecido ósseo fotobioestimulado por laser de As-Ga-Al (660nm)**. 2001. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisas e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba. 2001.

NICOLAU, R.A.; ZÂNGARO, R. A; PACHECO, M.T.T. Fotobioestimulação de Tecido Ósseo com Laser de Baixa Potência. In: FÓRUM NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM SAÚDE. 4., **Anais...** [s.n.], 1998. v. 4, p.367.

NICCOLI FILHO, W. D. et al. Efeitos da Radiação Laser do tipo Hélio-Neônio verde (550nm) no processo de reparo em feridas de extração dental : Estudo histológico em ratos. **Rev. Odontol. UNESP**. v. 22, n. 2, p. 213-221, 1993.

OLIVEIRA, J.A.G.P. **Ação da radiação laser (arsênio-gálio) no reparo alveolar de feridas de extração dental infectadas - estudo histológico em ratos**. 1992. 78 f. Tese (Doutorado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial). Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.1992.

OZAWA, Y; SHIMIZU, N; KARIYA, G; ABIKO, Y. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone**. v. 22, n. 4, p. 347-354, 1998.

PASTORI, C. M. **Implante de osso homólogo liofilizado e desmineralizado (Pacific Coast Dental Freeze Dried Bone Products) em defeitos ósseos de tíbias de cães: estudo histológico.** Araçatuba: [s.ed.], 1998. p.80.

PELKER, R.R.;et al. Effects of freezing and freeze-drying on the biomechanical properties of rat bone. **J. Orthop. Res**, New York, v.1, n. 4, p. 405-422, Nov. 1984.

PELKER, R. R.; FRIEDLAENDER, G. E. Biomechanical aspects of bone autografts and allografts. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia,v. 18, n. 2, p. 235-239, Apr. 1987.

PERROT, D.H.; SMITH, R. A.; KABAM, L.B.; The use of fresh frozen allogeneic bone for maxillary and mandibular reconstruction. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Lombard, v.21, p.260-265, 1992.

PICON, L.C.; NICCOLI- FILHO, W.D; OKAMOTO, T; CARDENUTO, N. **Efeitos da radiação laser do tipo Hélio-Neônio verde (550nm) no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos.** Centro Odontológico Virtual. Disponível em: <http://www.nib.unicamp.br/cov/artigo1/luciana1.htm>. Acesso em: 06 jul. 1998.

ROSS, MH; ROMRELL, LJ. **Histologia, texto e atlas.** São Paulo: Panamericana. 1993. p. 141-179.

ROSSI Jr., R.; LEMOS, J. J.; PÍSPICO, R. **Utilização de plasma rico em plaquetas em enxertos ósseos - proposta de um protocolo de obtenção simplificado .** Disponível em < <http://www.odontologia.com.br/artigos.asp?id=225&idesp=6&ler=s> , Acesso em : nov 2002.

SALGADO, J. F. M. **Avaliação da velocidade do processo de regeneração óssea primária, conjugando a técnica de regeneração óssea guiada com membrana de colágeno aniônico e terapia com laser de baixa potencia.** 2002. 93 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Instituto de Pesquisas e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba.2002.

SAITO, S; SHIMIZU, N. Estimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. **J. Orthod. Dentofac. Orthop.** v. 111, n. 5, p. 32-525, 1997.

SATHAIAH, S.; NICOLAU, R.A; ZÂNGARO, R.A. Promotion of bone repair by low power laser therapy: a raman spectral investigation In: INTERNATIONAL CONFERENCE ICASS AND FACSS, 45., **Proceedings... [s.n.]**,1999.p. 24-29.

SCHENK, R. regeneração óssea: bases biológicas. In: BUSER, D; DAHLIN, C; SCHENK, R. **Regeneração Óssea Guiada na Implantodontia.** São Paulo: Quintessence,1996. p.49-100.

SHANAMAN, R. H.; FILSTEIN, M. R.; DANESH-MEYER, M. J. Localized ridge augmentation using guided bone regeneration and platelet-rich plasma. **Int. J. Periodont. Restorat. Dent.**, v. 21, n. 4, 2001.

SHIMNELE, S. R; STRAUSS, J. E; GEORGEFF, K; MARX, R. E. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Maxillofac Surg**, v.85, p.638-646, 1998.

STEFANI, C. M; MACHADO, M. A; SALLUM, E. A; TOLEDO, S. Platelet-derived growth factor / Insulin-like growth Factor-I combination and bone regeneration around implants placed into extraction sockets: histometric study in dogs. **Implant Dent.** v.9, n.2, p. 126-131, 2000.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low energy laser on alveolar bone after tooth extraction. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 17, n. 6, p. 388-391, 1988.

TOMFORD, W. W.; MANKIN, H. J. Bone Banking: update on methods and materials. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 30, n. 4, p. 565-571, Oct. 1999.

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

TSUCHIDA, T; AIZAWA, K; BABA, J; YAMAMOTO, H. Wound healing in mice using He-Ne scanning laser. **J Clin Laser Med Surg.**, p.265-266, 1991.

URIST, M.R. **Practical applications of basic research on bone graft physiology.** St. Louis: Mosby, 1976, p. 1 – 26.

WEBER, J.B; Pinheiro A.L; de Oliveira M.G; Oliveira F.A; Ramalho **LM Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft.** Photomed Laser Surg;24(1):38-44, 2006 Feb.

YAAKOBI, T; MALTZ, L; ORON, U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (HeNe) irradiation. **Calcif. Tissue Int.** v. 59, p. 297-300, 1996.

## ANEXOS

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pelo presente termo que atende as exigências legais e éticas, o Sr. (a) \_\_\_\_\_, portador (a) da cédula de identidade RG nº \_\_\_\_\_, após receber minuciosa explicação a respeito dos procedimentos a que será submetido: enxerto ósseo homogêneo associado ao Plasma Rico em Plaquetas, e não restando quaisquer dúvidas, autoriza de seu **LIVRE E ESCLARECIDO CONSENTIMENTO** a doação da amostra de tecido ósseo colhido durante a fase de fixação dos implantes dentários, através de uma broca Trefina, substituindo as fresas convencionais, que eliminariam tal tecido ósseo durante a sua utilização; portanto, sem causar risco ou dano. Amostra esta que será utilizada para realização de pesquisa objetivando melhorar a qualidade óssea, e proporcionar maior conforto pós-operatório. A pesquisa será realizada na Universidade do Vale do Paraíba – São José dos Campos.

Fica claro que o doador pode a qualquer momento retirar seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9 do Código de Ética Odontológica). Por estarem de acordo assina o presente termo.

Londrina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2006.

---

Assinatura do doador

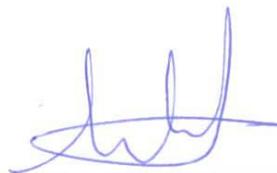
## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo n.º L050/2005/CEP, sobre “*Influência do laser de baixa intensidade no processo de reparo de enxertos ósseos homogêneos associado ao plasma rico em plaquetas*”, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Egberto Munin, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, conforme Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

São José dos Campos, 02 de setembro de 2005



---

**PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR**  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Univap

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)