

Universidade Federal do Rio de Janeiro –UFRJ

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Odontologia

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DOSES DE IRRADIAÇÃO DO LASER DE
BAIXA POTÊNCIA NA MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA EM RATOS
Wistar.**

Thiago Chon Leon Lau, CD

Dissertação submetida ao corpo docente da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos, para a obtenção do Título de Mestre em Odontologia (Ortodontia).

Rio de Janeiro

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DOSES DE IRRADIAÇÃO DO LASER DE
BAIXA POTÊNCIA NA MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA EM RATOS**

WISTAR.

THIAGO CHON LEON LAU, CD

Orientador: Prof^a. Dr^a. MÔNICA TIRRE DE SOUZA ARAÚJO

**Dissertação submetida ao corpo docente da
Faculdade de Odontologia da Universidade do Brasil -
UFRJ, como parte dos requisitos, para obtenção do Título
de Mestre em Odontologia (Ortodontia).**

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Bolognese

Prof^a. Dr^a. Matilde da Cunha
Gonçalves Nojima,

Prof. Dr. Mickelson Rio Lima de Oliveira Costa

Rio de Janeiro

2009

Ficha Catalográfica

LAU, Thiago Chon Leon

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DOSES DE IRRADIAÇÃO DO LASER DE
BAIXA POTÊNCIA NA MOVIMENTAÇÃO DENTÁRIA INDUZIDA EM RATOS
WISTAR. Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Odontologia, 2009.**

XXI, 68 f.

**Dissertação: Mestrado em Odontologia (Ortodontia) – Universidade
Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia, 2009.**

**1 Laser de Baixa Potência 2 Movimentação Dentária
3 Ortodontia 4 Teses**

I Título

II Dissertação (Mestrado - UFRJ/Faculdade de Odontologia)

DEDICO

Dedico este trabalho a toda a doação principalmente de tempo da minha família em especial de minha mãe, Maria de Jesus Costa Cheuk Lau, minha esposa, Marcella de Rubim Nunes Lau, e meu filho, Mateus de Rubin Cheuk Lau, que pacientemente me acompanharam para que eu pudesse cursar e finalizar este curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pela família em que me colocaste e aos outros dons que me possibilitaram chegar até aqui.

À minha mãe, **Maria de Jesus Costa Cheuk Lau**, que foi mais do que mãe, às vezes pai. Minha primeira professora de Odontologia e Ortodontia, quem primeiro me ensinou a usar um alicate e a dobrar um fio e mostrou que os caminhos para um bom tratamento começam no conhecimento básico do que estamos tratando. Por seus incentivos, demonstrações de que ao fazer o bem deve ser bem feito em todos os lugares e a todas as pessoas. A imagem usada como inspiração e que me levou a optar pela ortodontia e carreira acadêmica. MUITO OBRIGADO.

À minha esposa **Marcella** e meu filho **Mateus** que sempre me incentivaram a fazer o mestrado e que vieram comigo para continuar me apoiando e dando suporte, que foi fundamental durante o curso, para que pudesse concluir o curso da melhor maneira possível, obrigado principalmente pela paciência e compreensão.

Ao meu pai **Kong Cheuk Lau** pelo apoio dado esses anos que fiquei afastado de casa, pelas visitas e preocupação com a minha estada no Rio de Janeiro.

Às minhas irmãs **Geórgia e Giovanna** que sempre estiveram preocupadas em como estávamos, principalmente o sobrinho, pelas constantes e animadas visitas que acabavam melhorando nosso humor e dando cada vez mais energia e incentivos para continuar afastado da família por esse tempo.

Aos meus primos, **Nelson, Marcelo, Marcos e Marx** pelas atenção em sempre estarem próximos, pois eram um pedaço da família que morava aqui.

Ao Curso de pós-graduação em Odontologia (Ortodontia) e seu corpo docente pela oportunidade ímpar e pelos conhecimentos transmitidos.

À Dra. **Mônica Tirre de Souza Araújo**, minha orientadora, pela amizade, carinho, orientação, ensinamentos e confiança.

Ao Dr. **Lincoln Issamu Nojima**, coordenador de pós-graduação em odontologia da UFRJ, pela amizade, confiança, orientação clínica e científica.

À Dra. **Margareth Maria Gomes de Souza**, coordenadora da pós-graduação em ortodontia da UFRJ, pela preocupação, amizade e ensinamentos.

À Dra. **Ana Maria Bolognese**, uma grande referência na ortodontia, pela amizade, pelos ensinamentos e ajuda na elaboração desse trabalho.

Ao Dr. **Antônio Carlos de Oliveira Ruellas**, pela amizade, por deixar-nos mais a vontade na clínica e pela orientação em artigos científicos.

Ao Prof. **José Fernando Stangler Brazalle**, por nos mostrar uma ortodontia diferente, com muita calma nos levando a pensar muito mais nos movimentos que podemos realizar. Pela amizade e conversar dos mais variados assunto.

Aos professores **Eduardo Franzotti Santa'Anna, Matilde da Cunha Gonçalves Nojima, Maria Evangelina Monnerat e Teresa Cristina Moreira**

pelos valiosos ensinamentos, preciosa amizade e exemplo de dedicação ao Departamento e à Ortodontia.

Aos Professores das Disciplinas conexas **Carlos Nelson Elias, Cezar Garbim, Gláucio Serra Guimarães, Ieda Maria Orioli, Cristina Maeda Takiya, Ronir Raggio Luiz, Maria da Conceição Ferraz, Irandi Garcia e Vitoria Maria Brandt**. Em especial ao professor **Roberto Amarante**, conhecido de longa data e amigo, ao **Dr. Paulo José Medeiros** pela amizade, ajuda nos planejamentos cirúrgicos e atenção com tratou cada um dos pacientes.

Aos meus queridos colegas **Amanda Osório Ayres Freitas, Bianca Mota dos Santos, Carina Souza Rodrigues, Joanna Almeida Binato, Jose Luis Muñoz Pedraza, Letícia Guilherme Felício e Mariana Marquezan** que de alguma forma contribuíram para que eu conseguisse concluir o curso, foram pacientes comigo e me ajudaram nas mais diversas dificuldades. Em especial à turma do biotério onde aprendemos mais coisas juntos, Carina, José e Mariana.

Aos colegas da 42ª turma, **Ângela Cardoso Dalvi, Cristiane Pereira Machado Correa, Luciana Boaventura Duarte Fernandes, Matheus Melo Pithon, Maurício Barboza Guerra da Silva, Paula Paiva do Nascimento Izquierdo, Raphael Brito e Rogério Lacerda dos Santos**, pela amizade, pelos ensinamentos, por terem sido a os primeiros veteranos a não realizarem trote com os novatos e por nos ensinar os caminhos que já conheciam sempre dispostos e disponíveis às nossas inseguranças e falta de prática. Cada um a sua maneira faz falta.

Aos colegas da 44ª turma, **Ana Sabaneeff, Alexandre Ribeiro, Carolina Mascarenhas Baratieri, Cláudia Mattos, Diego Coelho Lorenzoni, Donizete**

D'Andrea, Ilana Miranda Luz e Matheus Alves Júnior, pela amizade e companheirismo durante esse ano juntos.

Aos colegas da 41ª turma, **Antônio Izquierdo, Felipe Nobre e Felipe Giacomet**, pela amizade, mostrar alguns caminhos mais curtos e ajudas quando passavam pelo Departamento.

Aos colegas de doutorado **Ana de Lourdes Lira, Ângela Azevedo, Antônio Izquierdo, Camilo Aquino Melgaço, Estela Maris Jurach, Hugo Caracas, José Columbano, José Vinícius Bolognese Maciel, Leonard Euler e Sávio Prado**. Agradeço a amizade, os conselhos e ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários **Bruno Marques Machado de Carvalho, Mônica Mello do Nascimento Gonçalves, Robson Antônio de França, Terezinha de Souza Lopes, Vanilda Antônio Saturnino e Waltencir Silva Ferreira** pela dedicação ao curso e amizade. Obrigado especial ao **Wal** por estar sempre presente, ajudando muito, pelo pão de arroz com mortadela e por nos levar para conhecer São Gonçalo.

Ao bioterista **Advaldo Nunes Bezerra** pelo ensinamento no manejo dos animais e pela doação de espaço no biotério.

Aos técnicos de histologia **Luis Fernando Fragoso, José Neri da Silva e Ana Paula Martins** pelo auxílio no preparo das peças e confecção das lâminas.

À professora de patologia da UFPI **Terezinha Castelo Branco** pela ajuda e ensinamentos na análise das lâminas.

À **CAPES**, pela bolsa de estudos concedida.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (**FAPERJ**) pelo auxílio financeiro concedido para execução do projeto que deu origem a essa dissertação.

À **Moreli Ortodontia** pela gentil doação das molas utilizadas na pesquisa

“A Palavra era Deus. Tudo foi feito por meio dela. Nela estava a vida e a vida era a luz dos homens.” Jo 1, 1-4

“Parabéns servo bom como te mostraste fiel nesta mínima coisa, recebe o governo de dez cidades. Pois a todo aquele que tem, será dado, mas àquele que não tem até mesmo o que tem lhe será tirado.” Lc 19.17;25

RESUMO

LAU, Thiago Chon Leon Lau. INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DOSES DE IRRADIAÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA INDUZIDA EM RATOS *WISTAR*. Orientador: Dra. Mônica Tirre de Souza Araújo. Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Odontologia, 2009. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Ortodontia). XXI, 68 f.

O objetivo do autor foi avaliar o efeito de diferentes doses de irradiação de laser de baixa potência (LBP) na movimentação dentária induzida. Trinta e cinco ratos *Wistar* foram divididos igualmente e de forma aleatória em cinco grupos (n=7). Grupo controle composto por animais sem dispositivo ortodôntico e sem irradiação com LBP (G1) e com dispositivo ortodôntico (G2). Os grupos experimentais foram divididos de acordo com as doses pesquisadas: 5.25 J/cm² (G3), 35 J/cm² (G4) e 6000 J/cm² (G5). Foi aplicada carga de magnitude de 40 cN por meio de mola de Níquel-Titânio com sentido mesial no 1º molar do animal. O dente a ser movimentado foi irradiado com LBP (830nm), arseaneto de gálio e alumínio (Ga-Al-As), variando a dose nos grupos que foram irradiados. Os resultados mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre as

doses. Nenhuma delas foi capaz de intensificar ou reduzir a quantidade de movimento dentário induzido. A análise qualitativa mostrou maior atividade absorptiva nas amostras irradiadas com $5,25 \text{ J/cm}^2$ e 6000 J/cm^2 quando comparados irradiados com 35 J/cm^2 e ao controle com dispositivo ortodôntico. Mediante os resultados foi possível concluir que as doses aplicadas não foram capazes de acelerar ou reduzir a movimentação dentária induzida, apesar de as doses de 5.25 J/cm^2 e 6000 J/cm^2 intensificarem as reações no ligamento periodontal do dente estimulado e a dose 35 J/cm^2 mostrou reações reduzidas à força ortodôntica.

SUMMARY

LAU, Thiago Chon Leon Lau. INFLUÊNCIA DE DIFERENTES DOSES DE IRRADIAÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA NA MOVIMENTAÇÃO ORTODÔNTICA INDUZIDA EM RATOS WISTAR. Orientador: Dra. Mônica Tirre de Souza Araújo. Rio de Janeiro: UFRJ/Faculdade de Odontologia, 2009. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Ortodontia). XXI, 68 f.

The aim of the author was to evaluate the effect of different doses of laser irradiation on experimental tooth movement. The following doses were used 5.25 J/cm² (G3), 35 J/cm² (G4) and 6000 J/cm² (G5), two control groups were used the first (G1) no laser irradiation and no orthodontic appliance and the second (G2) used just orthodontic appliance. Thirty five *Wistar* rats were equally and in a randomized way divided into five groups. The orthodontic force was applied in order to move the upper molar in a mesial direction with 40 cN. The irradiation were made with Thera Laser (830 nm) with the different doses. The results show no statistical difference between the groups. Otherwise the histological analyses demonstrated that the groups 3 and 5 presented a bigger absorption activity when compared to groups 2 and 4. These findings suggest that all three LLL irradiation

were not able to accelerate or reduce experimental tooth movement. However the cellular activity in the groups 3 and 5 were more intense when compared to the other groups and in group 4 were reduced when compared with the control group.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DELINEAMENTO DA PESQUISA

Quadro 1	Distribuição dos animais da amostra.....	6
Quadro 2	Dose por grupo e tempo necessário para irradiação de cada ponto com o Ga-Al-As.....	9
Figura 1	Fotografia mostrando clinicamente o dispositivo ortodôntico instalado.....	7
Figura 2	Figura 2 – Fotografias mostrando o dispositivo ortodôntico a) fio de amarrilho fixado ao primeiro molar na região cervical e à mola de níquel-titânio; b) dispositivo ortodôntico instalado nos incisivos, recoberto com composito resinoso e marcação para padronizar mensuração.....	8
Figura 3	Fotografia mostrando peso de chumbo de 40g padrão para carga aplicada pela mola.....	8
Figura 4	Leitura direta da distância entre a mesial do primeiro molar superior e a marcação feita na resina.....	10

ARTIGO 2

- Figure 1** a) Clinical view of the orthodontic device installed between the maxillary first molar and maxillary incisors.
b) Points of laser irradiation on mesial, buccal and lingual sides of maxillary first molar..... 45
- Figure 2** Clinical view of macroscopic analysis, directly measurement of the distance between the mesial face of maxillary first molar and the reference point at the maxillary incisor..... 45
- Figure 3** Histological characteristic of all groups. A – Control group. B – Control group with orthodontic appliance without laser. C – Experimental group with 5 J/cm². D – Experimental group with 35 J/cm². E – Experimental group with 6000 J/cm². Periodontal ligament (PL), alveolar bone (AB), cementum (C). Black arrows indicate BMU's; Bar = 103µm..... 46

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Table 1	Researches included in the metha-analysis and its laser type, fluence used, type of tissue irradiated and method of evaluation.....	24
Table 2	Effect of laser irradiation on Cell viability and survival.....	25
Table 3	Effect of laser irradiation on the percentage of cells that have suffered DNA damage.....	26

ARTIGO 2

Table 1	Descriptive analysis, mean value of orthodontic movement after seven days.....	47
Table 2	Anova One-Way and Tukey's post-hoc to tooth movement, no statistic significance was found between groups.....	47

LISTA DE SIGLAS

AB / OA	alveolar bone/osso alveolar
ANOVA	análise de variância
ATP	adenosina tri-fosfato
C	cemento/ cementum
CEUA	Comissão de Ética com Uso de Animais
cN	centinewton
cm ²	centímetro quadrado
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DE	densidade de energia
DL	raiz distolingual
DP	densidade de potência
dp	desvio-padrão
DV	raiz distovestibular
g	Gramma
Ga-Al-As	arseaneto de gálio e alumínio/ gallium-aluminum-arsenide
G1	Grupo controle sem dispositivo ortodôntico e sem irradiação/ Control group without orthodontic device and without laser irradiation

G2	Grupo controle sem irradiação e com dispositivo ortodôntico/ Control group without irradiation and with orthodontic device
G3	Grupo experimental irradiado com 5,25 J/cm ² e com aparelho/ Experimental group irradiated with 5.25 J/cm ² and with orthodontic device
G4	Grupo experimental irradiado com 35 J/cm ² e com aparelho/ Experimental group irradiated with 35 J/cm ² and with orthodontic device
G5	Grupo experimental irradiado com 6000 J/cm ² e com aparelho/ Experimental group irradiated with 6000 J/cm ² and with orthodontic device
Hz	Hertz
HE	hematoxilina-eosina/ hematoxilina-eosina
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
LBP/LLL	laser de baixa potência / low-level laser
LP	ligamento periodontal
M	raiz mesial
ML	raiz mesiolingual
mm	milímetro
ml/Kg	mililitro por quilograma
mW	miliwatt
nº	número
NiTi	níquel titânio
NIR	Near Infra-Red/ próximo ao infra-vermelho
nm	Nanômetro

PL	periodontal ligament
Pot	potência
sd	standard deviation
W/cm ²	Watt por centímetro quadrado
”	Polegada
%	Porcento
µm	Micrometro
λ	comprimento de onda
°C	Grau Celsius

ÍNDICE

		Página
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	PROPOSIÇÃO.....	4
3	DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	5
	3.1 AMOSTRA.....	5
	3.2 MONTAGEM DO DISPOSITIVO.....	6
	3.3 APLICAÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA.....	8
	3.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	9
	3.5 ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	10
	3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	12
4	DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA.....	13
	4.1 LAU, T.C.L.; MARQUEZAN, M.; BOLOGNESE, A.M.; TIRRE- ARAÚJO, M.S. Meta-Analyze of Low Level Laser Therapy and its cellular effects.....	14

4.2	LAU, T.C.L; TIRRE-ARAÚJO, M.S. Low Level Laser Therapy Influence of Dose of LLL Therapy on Induced Dental Movement	30
5	DISCUSSÃO.....	48
6	CONCLUSÃO.....	57
7	RECOMENDAÇÕES.....	58
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
9	ANEXOS.....	63
9.1	ANEXO 1 PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA COM USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO CIENTÍFICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO.....	63

1 INTRODUÇÃO

A Ortodontia baseia-se na resposta celular às forças biomecânicas. Entretanto, pouco se conhece a respeito do meio pelo qual as células respondem a tais forças (Carano e Siciliani, 1996). Embora mudanças histológicas no ligamento periodontal associadas com osteoclasia e osteogênese induzida ortodonticamente estejam bem definidas (Reitan, 1967; Stuani, 2003), o mecanismo celular real, efetuando e controlando o movimento dentário, é menos claro. A interação de fatores metabólicos, biomecânicos, bioelétricos e bioquímicos tem sido relacionada (Ruellas, 1999).

Desde o trabalho experimental de Sandstedt (Ruellas, 1999), há consenso geral de que movimento ortodôntico causa absorção óssea no lado de pressão e aposição no lado de tração (Ruellas, 1999; Stuani, 2003). Uma vez o dente submetido à aplicação de forças ortodônticas, acredita-se que as reações histológicas permitam que o processo de remodelação óssea possibilite ao dente se mover e, então, manter a largura fisiológica do espaço periodontal (Reitan, 1967).

Afirma-se que para acelerar o tratamento ortodôntico é necessário aumentar a taxa de movimentação dentária, para isso vários estudos tem sido realizados na tentativa de aumentar a quantidade de movimento dentário sem causar danos ao dente e periodonto (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006). Trabalhos têm demonstrado que aumento na movimentação dentária pode ser conseguido com injeções locais de prostaglandinas (Yamasaki, Miura *et al.*, 1980; Yamasaki, Shibata *et al.*, 1984), vitamina D3 (Takano-Yamamoto, Kawakami *et al.*, 1992) e osteocalcina em torno do alvéolo (Hashimoto, Kobayashi *et al.*, 2001). Ainda que estimulem a velocidade do movimento dentário, essas substâncias produzem efeitos colaterais indesejados, como dor e desconforto no local da aplicação (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006).

Vários pesquisadores têm estudado os efeitos da terapia com laser de baixa potência. Foi descoberto que o efeito bioestimulador pode acelerar a regeneração óssea na sutura palatina mediana durante a expansão rápida da maxila (Saito e Shimizu, 1997), nos sítios de extração (Takeda, 1988) e pode ainda aumentar a taxa de movimentação ortodôntica (Kawasaki e Shimizu, 2000). O mecanismo de biomodulação da formação óssea pelo LBP ainda não foi completamente elucidado, mas sugere-se que a energia é absorvida por cromóforos intracelulares e convertida em energia metabólica através, provavelmente, da cadeia respiratória (Karu, 1989).

O laser infravermelho produz incremento de Adenosina tri-fosfato (ATP), favorecendo grande número de reações que intervêm no metabolismo celular, tais como: aumento na síntese de DNA e RNA; incremento na produção de colágeno; variações quantitativas de prostaglandinas E2 e F2 e estímulo da vascularização sanguínea e linfática (Karu, 1989; 1999; Karu e Kolyakov, 2005).

Estudos sugerem que o mecanismo do LBP em nível celular é fundamentado na absorção de radiação monocromática visível e próximo ao infravermelho (NIR) por componente da cadeia respiratória mitocondrial causando mudanças nas propriedades redox (fechamento de alguns canais e abertura de novos com característica similar) e aceleração de transferência de elétrons (reações primárias), que são seguidas por reações biomecânicas secundárias da sinalização celular (Karu, Pyatibrat e Afanasyeva, 2005; Karu, Pyatibrat, Kolyakov *et al.*, 2005).

Apesar do vasto conhecimento sobre a ação do LBP, estudos seguem diferentes protocolos de aplicação, gerando resultados diferentes: com efeitos positivos, onde ocorre aumento na taxa de movimentação (Kawasaki e Shimizu, 2000; Cruz, Kohara *et al.*, 2004; Goulart, Nouer *et al.*, 2006); efeito nulo, onde grupo experimental e controle não diferem (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006); e efeito inibitório, onde o grupo irradiado apresentou taxas menores de movimento dentário (Goulart, Nouer *et al.*, 2006; Seifi, Shafeei *et al.*, 2007).

Fato exposto, o objetivo desse estudo foi conhecer os efeitos da variação de dose aplicada por LBP com finalidade de acelerar a movimentação ortodôntica sem gerar efeitos adversos.

2 PROPOSIÇÃO

Verificar a influência de diferentes doses de irradiação com LBP na movimentação ortodôntica induzida, por meio de:

- 2.1 meta-análise sobre os efeitos em diferentes células e tecidos;
- 2.2 avaliação macroscópica da quantidade de movimentação dentária, e,
- 2.3 avaliação qualitativa das reações teciduais e celulares nos tecidos periodontais.

3 DELINEAMENTO DA PESQUISA

3.1 AMOSTRA

A amostra foi composta de ratos da linhagem *Wistar (Rattus Novergicus Albinus)*. Foram utilizados 35 ratos machos com aproximadamente 90 dias de idade e pesando cerca de 250g. Os procedimentos realizados nesta pesquisa obedeceram às recomendações éticas e legais especificadas no Manual do COBEA (Cobea, 2007) e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biofísica da UFRJ.

Trinta e cinco ratos *Wistar* divididos igualmente e de forma aleatória em cinco grupos (n=7). Grupo controle composto por animais não irradiados por LBP sendo (G1) sem dispositivo ortodôntico e (G2) com dispositivo ortodôntico. Os grupos experimentais foram divididos de acordo com as doses pesquisadas: 5.25 J/cm² (G3) (Goulart, Nouer *et al.*, 2006), 35 J/cm² (G4) (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) e 6000 J/cm² (G5) (Kawasaki e Shimizu, 2000) (Quadro 1, página 6).

Grupo	Irradiação com LBP	Movimentação Ortodôntico	Momento da eutanásia	Nº de animais
G1	Sem irradiação	Não	1º dia	7
G2	Sem irradiação	Sim	7º dia	7
G3	5.25 J/cm ²	Sim	7º dia	7
G4	35 J/cm ²	Sim	7º dia	7
G5	6000 J/cm ²	Sim	7º dia	7

Quadro 1 – Distribuição dos animais da amostra.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas específicas para este fim, forradas com raspas de madeira seca (maravalha de pinus). A luminosidade e temperatura ambiental foram controladas para manter os ciclos dia/noite de 12 horas para evitar alterações no metabolismo do animal. A temperatura foi mantida entre 21 e 23°C, considerada ideal para o crescimento e desenvolvimento dos animais.

Foi fornecida ração (Labina – Purina), pulverizada em processador de alimentos para evitar eventuais danos ao dispositivo ortodôntico durante a mastigação (Stuani, 2003; Mendes, 2005). Água mineral *ad libitum* foi garantida aos animais.

As gaiolas eram higienizadas diariamente, sendo as raspas de madeira trocadas. Ração e água também foram trocadas diariamente.

3.2 MONTAGEM DO DISPOSITIVO

O dispositivo ortodôntico utilizado no experimento compreendeu uma de mola de níquel-titânio de secção fechada com 7 mm de comprimento (cod. 35.20.064, Morelli), distendida entre os incisivos superiores (ponto de origem) até o primeiro molar superior direito (ponto de aplicação da força) para promover

movimento mesial deste dente, criando áreas de pressão e de tração no ligamento periodontal (Figura 1).



Figura 1 – Fotografia mostrando clinicamente o dispositivo ortodôntico instalado.

O procedimento de instalação do dispositivo ortodôntico foi realizado com os animais sedados sob injeção intramuscular, da associação de 1,33ml/Kg de cloridrato de ketamina (ketamina Agener) e 0,67ml/kg de xilazina (Coopazine-Schering-Plough) com auxílio de seringa de insulina descartável. Durante a adaptação do dispositivo, o animal ficou posicionado em decúbito dorsal e mantido em mesa operatória apropriada.

As extremidades da mola foram fixadas aos dentes com fio de amarrilho 0,008". Na região anterior presa aos incisivos central contornando a região cervical na posterior fixada ao primeiro molar direito na região do colo. Após adaptação deste ao incisivo, a fixação foi reforçada com a aplicação de resina composta (Transbond XT Light Cure Adhesive®), precedida de profilaxia, condicionamento com ácido fosfórico a 37%, lavagem com água e secagem com algodão. Na resina foi feita marca com ponta diamantada esférica nº1011 (KG Sorensen) (Figura 2).

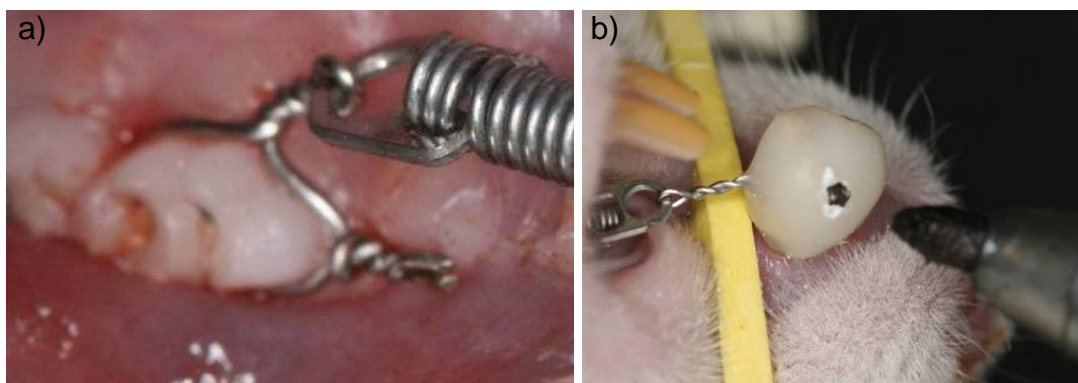


Figura 2 – Fotografias mostrando o dispositivo ortodôntico a) fio de amarrilho fixado ao primeiro molar na região cervical e à mola de níquel-titânio; b) dispositivo ortodôntico instalado nos incisivos, recoberto com composto resinoso e marcação para padronizar mensuração.

A carga aplicada ao primeiro molar foi de aproximadamente 40 gF (Figura 3, página 8), com a orientação da mola o mais horizontal possível (Heller e Nanda, 1979; Consolaro, 2005; Fracalossi, 2009).

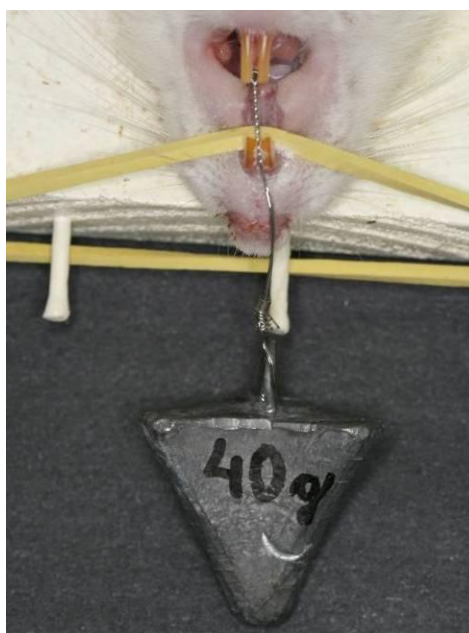


Figura 3 – Fotografia mostrando peso de chumbo de 40g padrão para carga aplicada pela mola.

3.3 APLICAÇÃO DO LASER DE BAIXA POTÊNCIA

O equipamento de laser utilizado foi um diodo semiconductor de Ga-Al-As (Thera Laser, DMC Equipamentos), com comprimento de onda de 830 nm,

potência máxima de 100 mW e sistema de entrega por fibra óptica de diâmetro de 0,6 mm, com área do spot de aproximadamente 0,003 cm².

A aplicação do laser foi iniciada imediatamente após a instalação do dispositivo ortodôntico (dia 0) e mantida por 6 dias consecutivos, totalizando 7 aplicações nos animais sacrificados após 7 dias (Mendes, 2005). As irradiações foram feitas através de fibra óptica, utilizando-se o método direto e pontual sobre as regiões mesial, vestibular e lingual da porção cervical da mucosa gengival do primeiro molar permanente superior direito a ser movimentado (Figura 1, página 45). O tempo de aplicação foi determinado pelas características de cada grupo experimental (Quadro 2).

Grupo	Dose de irradiação	Tempo
G1	Sem aplicação	Sem aplicação
G2	Sem aplicação	Sem aplicação
G3	5.25 J/cm ²	2 segundos
G4	35 J/cm ²	7 segundos
G5	6000 J/cm ²	9 minutos

Quadro 2 – Dose por grupo e tempo necessário para irradiação de cada ponto com o Ga-Al-As (Thera Laser, DMC Equipamentos).

3.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Imediatamente após a montagem do dispositivo, foi medida a distância entre a marca na resina que cobria o incisivo central superior direito e a parede mesial primeiro molar superior direito com paquímetro, com precisão de centésimo de milímetro (Figura 4, página 10). Este procedimento foi repetido imediatamente antes de cada eutanásia. A diferença entre as medidas inicial e final foi considerada como quantidade de movimentação dentária.

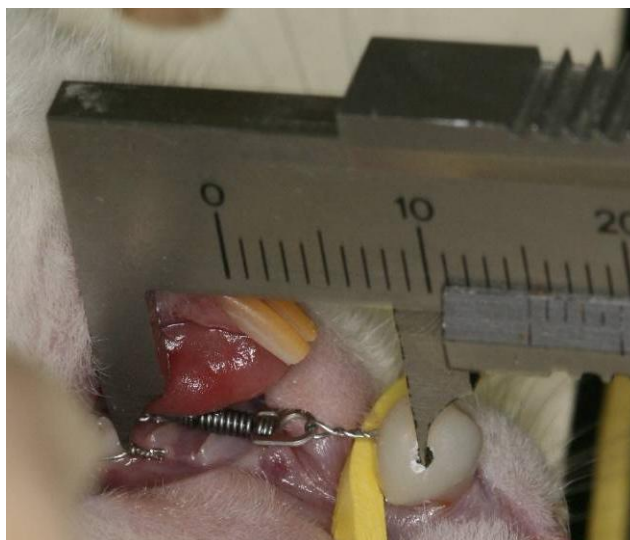


Figura 4 – Leitura direta da distância entre a mesial do primeiro molar superior e a marcação feita na resina.

3.5 ANÁLISE MICROSCÓPICA

A eutanásia foi realizada nos tempos experimentais determinados para cada grupo por asfixia com éter etílico puro C₄H₁₀ (Veter), numa campânula de vidro hermeticamente fechada. Em seguida, as maxilas foram dissecadas e osteotomizadas para a obtenção de secções teciduais das regiões das regiões mesial e distal aos primeiros molares superiores do lado direito, compreendendo o dente movimentado e cerca de 5 mm de osso alveolar adjacente. As peças foram fixadas em solução de formol neutro a 10% durante uma semana.

Na sequência, as peças foram lavadas em água corrente por 2-5 minutos e submetidas ao processo de descalcificação em solução de Ana Morse (partes iguais de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20%) por 35 dias, sendo a solução trocada diariamente e a temperatura ambiente mantida em 21°C (Fernandes, Gaio *et al.*, 2007). A quantidade de solução utilizada para descalcificação foi 10 vezes o volume da peça. A confirmação da completa remoção dos minerais foi feita através do teste de punção do tecido duro com agulha fina e da obtenção de Raio-x das peças.

Verificada descalcificação, as peças foram lavadas em água corrente por 24 horas, com a finalidade de retirar o excesso de solução descalcificadora, dando início a desidratação gradativa através de banhos com álcool. Concluída a desidratação, as peças foram submetidas a três banhos de xilol, por 1 hora cada. Sendo o xilol miscível tanto em álcool como em parafina, ele remove todo o álcool e deixa o tecido em condições de ser impregnado pela parafina.

Observada a completa substituição do álcool pelo xilol, foram realizados três banhos, com duração de duas horas cada, a fim de impregnar parafina na peça. Os 2 primeiros banhos foram em solução de xilol-parafina na proporção de 2:1 e 2:2 respectivamente. O terceiro foi apenas em parafina. Em cada um desses banhos, as peças foram mantidas em estufa a temperatura de 58° C. Após a completa embebição por parafina, as peças foram incluídas em parafina fundida, em caixas de papel retangulares identificadas.

Os blocos foram cortados transversalmente com espessura de 5 μ m iniciando-se pela coroa. Tão logo observado o aparecimento das raízes, a cada cinco cortes realizados, três eram coletados em lâminas de vidro. Sendo corados por HE. Esse procedimento visou garantir distância de 20 μ m entre cada um dos cortes destinados a uma mesma análise, evitando que estruturas como osteoclastos, que possuem cerca de 15 μ m em ratos (Taweechaisupapong, Srisuk *et al.*, 2005), fossem visualizados e contados duas vezes. Todos os cortes analisados estavam compreendidos no terço cervical da raiz, pois foi observado, em projeto piloto, que a raiz do primeiro molar do rato possui cerca de 2 mm de comprimento, o que permite a realização de até 132 cortes com espessura de 5 μ m todos contidos no terço cervical. Obtidos os cortes teciduais, esses foram corados para realização da análise microscópica. A região de análise foi o

periodonto da raiz mesial dos dentes movimentados (Kawasaki e Shimizu, 2000; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008).

A leitura das estruturas histológicas foi realizada com o auxílio do microscópio de luz Nikon Eclipse E600, com resoluções 10 NF x 10 para individualização e identificação morfológica dos tecidos do periodonto de sustentação.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com relação à avaliação macroscópica, os valores nominais a taxa de movimentação dentária, em milímetros, foram tabulados e estatísticas descritivas foram obtidas. Uma vez verificada distribuição normal e homogênea, através do teste de normalidade Kolmogorov/Smirnov as médias de taxa de movimentação dentária foram comparadas levando-se em conta dois fatores de variação: tempo e grupo experimental, por meio de Análise de Variância (ANOVA) e pós teste de Tukey.

4 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

4.1 ARTIGO 1

LAU, T.C.L.; MARQUEZAN, M.; BOLOGNESE, A.M.; TIRRE-ARAÚJO, M.S.
Meta-analyzis of Low Level Laser Therapy and its Cellular Effects. A ser
submetido para publicação na revista Lasers in Surgery and Medicine

4.2 ARTIGO 2

LAU, T.C.L.; TIRRE-ARAÚJO, M.S.
Influence of Dose of LLL Therapy on Induced Dental Movement. A ser
submetido para publicação na revista Photomedicine and Laser Surgery

ARTIGO 1

Meta-Analysis of Low Level Laser Therapy and its Cellular Effects

ABSTRACT

Background and Objectives: Low level laser therapy has been used for a variety of medical conditions, but the irradiation of cells can alter whole-cell metabolism. The aim of this study was elucidate the effects of different laser irradiation doses and protocol to the normal condition of treated cells, or tissues.

Methods: Systematic review with meta-analysis, for researches and meta-analysis of low level laser therapy and its results on normal cell function, such as ultra-structural alterations and DNA damage.

Results: Eight researches were included in the study. Three articles have performed cell viability tests and the result presented an increase in viability (%) of cells when low fluences (5 J/cm²) were applied and a decrease with higher fluences (10 to 16 J/cm²). Five articles used transmission electron microscopy to identify any type of ultra structural morphology alteration in irradiated cell and a few differences were found such as the presence of giant mitochondria, and elevated number of collagen fibrils inside the cells. Two articles reported DNA tests performed, and in both used Comet Assay was used and the same result obtained: damage appears only with high-fluence (10 to 16 J/cm²).

Conclusion: Low level laser therapy can be used without causing cell damage that can compromise their normal function, when low doses close to 5 J/cm² are used.

KEY-WORDS

Low level laser therapy, DNA damage, ultra-structural characteristics of cells and Mitochondria

INTRODUCTION

The use of low intensity laser as therapeutic modality was originally initiated in Europe by Professor Endre Mester in Hungary who reported the earliest clinical application in medicine in 1968. He described that the healing process of chronic ulcer was faster when they were irradiated with argon lasers (1). Since this study, the number of studies on the medical application of low-level laser therapy has grown steadily and there is increasing clinical use of laser, in vivo and in vitro, for variety of medical condition is rising (1).

The laser light emitted is polarized and coherent and may be absorbed by different tissues (2). Tissue biostimulation is only possible if irradiated cells have molecular photoacceptors that absorb the light and enter into state of excitation triggering intracellular cascade of signals leading to a measurable biological effect (2). The transduction of the primary photosignal and its amplification in the cell leads to a photobiological macroeffect, such as increased proliferation or DNA synthesis. Irradiation of cells at certain wavelengths can also activate some of the native components and biochemical reactions as well as whole-cell metabolism can be altered (3).

The possible damaging effects of laser irradiation are still highly contested. Light absorption per se induces the production of reactive oxygen and nitrogen species that are involved in subsequent free radical reaction and lead to modification of biomolecules and change in cell function (4). Laser induced free

radical production in leukocytes(5), erythrocytes(6), and keratinocytes(7) with the use of various types of laser devices, light wavelength, and dose rates.

The ultrastructural change in irradiated cells has also been a focus of study. Some studies have revealed a new ultrastructural conformation of isolated rat liver mitochondria after irradiation (8). Manteifel (9) found that the number of mitochondria decreased after irradiation, but some giant mitochondria appeared and the total volume was nearly the same as that of non-irradiated cell. Other studies concentrated on cell morphology and characteristics Delbari(10), Bayat(11), De Araújo(12).

The aim of this meta-analysis was to collect these results together and endeavor to understand the whole modification that a cell or a tissue undergoes after it has been submitted after low level laser irradiation (LLLI).

METHODS

A literature search was performed on Medline, Pubmed and Cochrane. The key-words research and systematic review were: Low level laser therapy OR low intensity laser therapy OR low energy laser therapy OR phototherapy, AND ultra structural changes OR ultra structural analysis OR mitochondria OR DNA damage.

A total of 59 results were found, which were subjected to the following inclusion criteria:

1. Laboratory experiment;
2. DNA or ultra-structural analysis;
3. Low level laser therapy with wavelengths in the range 632 – 1064 nm and delivery of 1–16 J/cm²;

RESULTS

Literature search result

The literature research identified 59 potentially relevant articles that were assessed by their abstracts. Thirty-nine abstracts were excluded as irrelevant, 21 researches were evaluated and 8 of them, which are shown in Table 1, met the inclusion criteria for laboratory experiment and analysis characteristic. No bias detection was made because studies with bias were excluded from the meta-analysis.

Meta-analysis of results

Cell viability

In three articles cell viability tests were performed: Hawkins(13) , Kujawa(14) and Houreld(15). The results presented an increase in viability (%) of cells when low fluences were applied and a decrease with higher fluences.

In the survey of Hawkins(13), the cell viability assay showed that normal cells exposed to a single dose on 2 consecutive days responded with an increase in cell viability after 0.5 J/cm² (P=0.033) and 5 J/cm² (P=0.046), while at higher doses of 10 and 16 J/cm² there was a decrease in cell viability. A dose of 2.5 J/cm² did not increase or decrease the cell viability when compared with the normal non-irradiated control and the viability was maintained.

Kujawa (14) affirmed that light irradiation did not produce any substantial changes in cell survival measured as cell specific, mostly mitochondrial and metabolic activity.

Hourel(15) observed that cells irradiated at a wavelength of 632.8 nm with a fluence of 5 J/cm² showed a significant increase in viability (%) when compared to diabetic-wounded non-irradiated cells (P=0.001) and cells irradiated with 16 J/cm². Cells irradiated at a wavelength of 830 nm with a fluence of either 5 or 16 J/cm² and incubated for one hour showed no significant change in % viability. On the other hand, cells irradiated with 16 J/cm² showed a significant increase in caspase-3 and 7 in comparison with normal and diabetic-wounded non-irradiated cells (P<0.000) and cells irradiated with 5 J/cm² (P=0.021). When irradiated at a wavelength of 1064 nm with either 5 or 16 J/cm², there was no significant change in % viability, although cells irradiated with 16 J/cm² showed a decrease when compared with normal and diabetic wounded non-irradiated cells (P=0.066 and P=0.076, respectively)(15). The results were summarized in Table 2.

Ultra structural morphology

Five articles used transmission electron microscopy to identify any type of ultra structural morphology alteration in irradiated cells (9-12,16,17). The articles were divided into two subgroups: the first with two studies, which focused their analysis on mitochondria (9,17), and the other three concentrated on cell morphology and characteristics (10-12).

Mitochondrial alteration after irradiation produced an increase in ATP synthesis and granular aspect during the first hours, but after 24 hours the aspect was similar to that of the control group (17). Another aspect was presence of giant mitochondria in irradiated group; the number of mitochondria was reduced when compared with non-irradiated cells, but the total area of all mitochondria was similar for experimental and control groups (9).

Delbari(10) studied the difference between collagen fibrils of non-irradiated and irradiated rat ligaments and observed that fibril diameter in irradiated group was larger than in control group but density was similar. Bayat(11) used transmission electron microscopy on rabbit articular cartilage to evaluate the chondrocytes and demonstrated that the nucleus of control and experimental group presented the same characteristics: euchromatin nucleus in all cells, and observed a significant difference in the quantity and depth of filopodia, which means that irradiated chondrocyte worked more than normal chondrocyte. Another observation was that experimental group had a moderate density of fibrillary network of extracellular matrix while the control group presented low density. De Araújo(12) observed that the organization of collagen fibrils and inflammatory response occurred faster in irradiated group than in control group.

DNA damage

Two articles reported on DNA tests performed, both using Comet Assay(13,14) obtaining the same result. Damage appeared only with high fluence. Kujawa(14) observed that with higher radiant exposure (15 J/cm^2) DNA damage was statistically significant. Hawkins(13) found the same result: higher doses, 10 J/cm^2 and 16 J/cm^2 , showed a significant increase in amount of DNA damage. However, for wounded fibroblast cells, 0.5 J/cm^2 showed a significant increase in DNA damage, possibly indicating that the dose was too low to stimulate the cell to normalize cell function and initiate healing process. Results also showed a significant increase in DNA damage after 16 J/cm^2 indicating that the dose was too high and caused additional damage which inhibited cellular response to wounding and slowed down the repair process. The other doses, 2.5, 5 and 10 J/cm^2 , did not

show a significant increase in DNA damage, although only 5 J/cm² showed a decrease in DNA damage indicating a repair process (13). This result indicates that after the optimum dose, as the dose increases the amount of DNA damage also increases (13,14). The results are summarized in Table 3.

DISCUSSION

The quality of the methodology of the scientific articles used in this meta-analysis were good and presented all the information about the laser irradiation, such as the laser source, wavelength, frequency, spot area, timing and fluence. The other reviews and meta-analyses found in literature presented only its clinical role in biology and medicine (1, 18-21).

There are many open questions such as what is the exact mechanism of action; what is the correct dosage for a certain medical condition; the effect in cellular viability; DNA damage and changes in surround tissues?

One theory try to explain that the biomodulative effect of laser irradiation is dependent on the initial acceptors of laser light, is that a cascade of reactions induced by laser light absorption and connected with alteration in cellular homeostasis, is considered a photo-signal transduction chain in a cell(3). Karu (3) found that Infra-Red laser (620 nm) stimulated DNA and RNA synthesis rates, enzyme activity, and cAMP levels. It is postulated that the respiratory chain is stimulated, activating ATP turnover, increasing Hb, and ultimately triggering an increase in cell proliferation.

This meta-analysis provides one with sufficient information to believe that with the use of a correct wavelength, no degenerative or lethal alteration occurs within the cells or the tissue surrounding the irradiated areas. (9-15, 17)

The articles used in this meta-analysis reported the observation of significant DNA damage only when high fluence was applied, more than 10 J/cm², or low fluence, 0.5 J/cm² (13,14). Kujawa (14), in his experiments, did not find any considerable cytotoxic or genotoxic effects of infrared (810 nm) low intensity (200 mW, 3.75–11.25 J/cm²) laser irradiation and reduced cellular protein damage.

Wounded cells exposed to a single dose of 0.5 J/cm² on 2 days showed a decrease in the cell viability, an increase in cellular damage and an increase in DNA damage indicating that the dose was too small to reverse the damage caused from the wounding(13).

Higher doses of 10 and 16 J/cm² showed a decrease in cell viability, decrease in cell proliferation with an increase in DNA damage after 16 J/cm² but no increase in cellular damage indicating an early repair process triggered by wounding or irradiation. Wounded cells responded to the intermediate dose of 2.5 J/cm² which maintained cell viability, a decrease in cell proliferation, slight increase in both cellular and DNA damage indicating that the dose was not sufficient to stimulate or harm wounded fibroblasts. Wounded cells responded to a single dose of 5 J/cm² with maintained cell viability, an increase in cell proliferation, slight decrease in both cellular, and DNA damage. The results indicate that 5 J/cm² stimulates the wounded cells to normalize cell function, increase cell proliferation, and promote healing and repair(13). Hourelid (15) showed that diabetic-wounded WS1 cells responded in a dose, and more significantly, a wavelength dependent manner to laser light. At the correct wavelength (632.8 or 830 nm), a fluence of 5

J/cm² was stimulatory; there was complete wound closure by day 4 and cells were protected from apoptosis, while cells irradiated with 16 J/cm² showed incomplete wound closure and increased apoptosis.

De Araújo (12) observed that the reepithelization process was faster in irradiated samples. The dermis of the irradiated wounds contained large, activated fibroblasts as well as a larger number of myofibroblasts. Moreover, fibroblasts of the irradiated-lesions showed a high number of collagen-containing phagosomes when compared with fibroblasts from the non-irradiated lesions. Apparently, the radiation inhibits the inflammatory response as observed by the precocious disappearance of neutrophils and necrosis on the first days of healing and by the lower number of macrophages and discrete interstitial edema on the later days. The laser radiation appears to have an influence on the fibrillogenesis of the collagen fibrils. Irradiated fibroblasts had many cytoplasmic processes, defining extracellular compartments within which groups of thin collagen fibrils were organized.

The internal mitochondrial ultrastructure was preserved: visual inspection of mitochondrial profiles in sections of irradiated lymphocytes did not reveal any impairment of the inner and outer mitochondrial membranes and matrix, which usually accompany the degeneration of these organelles; the mean area of the mitochondrial profile did not change appreciably, and an increase in ATP synthesis occurred (9,17). It is more probable that giant mitochondria are formed by the fusion of several small mitochondria (9). The following facts argue in favor of this: a) the appearance of unusual mitochondrial profiles in ultrathin sections of irradiated lymphocytes; b) a fourfold decrease in the number of mitochondria in irradiated lymphocytes; c) the same total chondriome volume. The total

chondriome volume in the irradiated cell remains practically the same as that in the control cell. It is suggested that the giant mitochondria result from the fusion of single small mitochondria. About 85% of the small intact-cell mitochondria near the nucleus are involved in this process (9, 16, and 17).

CONCLUSION

The present meta-analysis indicated that low intensity laser radiation accelerates wound healing by stimulating the biological activities and differentiation of fibroblasts and by reducing the inflammatory process (9-15, 17). Irradiation also appeared to have an effect on the organization of collagen fibrils in the extracellular compartment (10-12).

No increase in DNA damage or cell viability was found, even though there was an increase in DNA synthesis when laser was used at low fluence (2,5-5 J/cm²) (13-15).

TABLES

Table 1 Researches included in the meta-analysis and its laser type, fluence used, type of tissue irradiated and method of evaluation.

Author	Laser	Fluence applied (J/cm²)	Tissue	Evaluation method
Bayat, 2007	He-Ne (632,8)	13	Rabbits	Transmission Electron Microscopy (TEM)
Delbari, 2007	He-Ne(632,8)	0.01; 1.2	Rats	TEM
De Araújo, 2007	He-Ne(632,8)	1	Rats	TEM
Hourelid, 2007	He-Ne(632,8) Diode (830)	5;16	Human fibroblasts	Trypan Blue exclusion and apoptosis
Hawkins, 2006	He-Ne	0.5;2.5;5;10;16	Human fibroblasts	Comet Assay and CellTiter-Glo
Bortoletto, 2004	GaAlAs (635 nm)	10	Culture cells Hep-2	TEM
Kujawa, 2004	CTL 1106MX (810 nm)	3.75 – 15.0	Culture cells B14	Method of Mosman and Comet Assay
Manteifel, 1997	He-Ne(632,8)	56	Lymphocytes	TEM

Table 2 Effect of laser irradiation on cell viability and survival.

Author	Fluence applied (J/cm ²)	Data of experimental groups for cell viability	Data of control groups for cell viability
Hawkins, 2006	0.5	9.384 pM ATP*	10.310 pM ATP
	2.5	10.685 pM ATP*	
	5	10.4652 pM ATP*	
	10	8.167 pM ATP*	
	16	8.724 pM ATP*	
Kujawa, 2004	3.75	-----	100%
	7.50	98% of cell survival	
	11.25		
	15.00	96% of cell survival 95% of cell survival	
Hourelid, 2008	5	96% of cell survival	95%
	16	90% of cell survival	

*pM ATP indicates the amount of energy a cell can produce, more energy means that the cell is working well, in anormal condition.

Cell survival % indicates how many cells were still alive and in normal condition after laser irradiation.

Table 3 Effect of laser irradiation on the percentage of cells that have suffered DNA damage.

Author	Fluence applied (J/cm²)	Data of Experimental groups for DNA damage	Data of Control groups for DNA damage
Hawkins, 2006	0.5	36.53%	33.63%
	2.5	35.82%	
	5	32.53%	
	10	34.15%	
	16	34.55%	
Kujawa, 2004	3.75	11.5%	11.1%
	7.50	13.2%	
	11.25	17.9%	
	15	21.8%	

REFERENCES

1. Reddy GK. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. *J Clin Laser Med Surg* 2004; 22(2):141-150.
2. Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry (Mosc)* 2004; 69(1):81-90.
3. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B* 1999; 49(1):1-17.

4. Kim YG. Laser mediated production of reactive oxygen and nitrogen species; implications for therapy. *Free Radic Res* 2002; 36(12):1243-1250.
5. Klebanov GI, Strashkevich IA, Chichuk TV, Modestova TM, Vladimirov Yu A. Effects of endogenous photosensitizers on the laser-induced priming of leucocytes. *Membr Cell Biol* 1998; 12(3):339-354.
6. Broccio M, Della Rovere F, Granata A, Wanderlingh U, Zirilli A, Tanzariello A, Pirrone G, Broccio G. Free radical erythrocyte damage in tumoral disease assessed by He-Ne laser and optical microscope through "Heinz Bodies" method. *Anticancer Res* 1998; 18(2A):1075-1078.
7. Grossman N, Schneid N, Reuveni H, Halevy S, Lubart R. 780 nm low power diode laser irradiation stimulates proliferation of keratinocyte cultures: involvement of reactive oxygen species. *Lasers Surg Med* 1998; 22(4):212-218.
8. Greco M, Perlino E, Pastore D, Guida G, Marra E, Quagliariello E. Helium-neon laser irradiation of rat liver mitochondria gives rise to a new subpopulation of mitochondria: isolation and first biochemical characterization. *J Photochem Photobiol B* 1991; 10(1-2):71-78.
9. Manteifel V, Bakeeva L, Karu T. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with He-Ne laser: appearance of giant mitochondria. *J Photochem Photobiol B* 1997; 38(1):25-30.
10. Delbari A, Bayat M. Effect of low-level laser therapy on healing of medial collateral ligament injuries in rats: an ultrastructural study. *Photomed Laser Surg* 2007; 25(3):191-196.
11. Bayat M, Ansari E, Gholami N, Bayat A. Effect of low-level helium-neon laser therapy on histological and ultrastructural features of immobilized rabbit articular cartilage. *J Photochem Photobiol B* 2007; 87(2):81-87.

12. de Araujo CE, Ribeiro MS, Favaro R, Zezell DM, Zorn TM. Ultrastructural and autoradiographical analysis show a faster skin repair in He-Ne laser-treated wounds. *J Photochem Photobiol B* 2007; 86(2):87-96.
13. Hawkins DH, Abrahamse H. The role of laser fluence in cell viability, proliferation, and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium-neon laser irradiation. *Lasers Surg Med* 2006; 38(1):74-83.
14. Kujawa J, Zavodnik IB, Lapshina A, Labieniec M, Bryszewska M. Cell survival, DNA, and protein damage in B14 cells under low-intensity near-infrared (810 nm) laser irradiation. *Photomed Laser Surg* 2004; 22(6):504-508.
15. Houreld NN, Abrahamse H. Laser light influences cellular viability and proliferation in diabetic-wounded fibroblast cells in a dose- and wavelength-dependent manner. *Lasers Med Sci* 2008; 23(1):11-18.
16. Manteifel VM, Karu TI. [Structure of mitochondria and activity of their respiratory chain in subsequent generations of yeast cells exposed to He-Ne laser light]. *Izv Akad Nauk Ser Biol* 2005(6):672-683.
17. Bortoletto R, Silva NS, Zangaro RA, Pacheco MT, Da Matta RA, Pacheco-Soares C. Mitochondrial membrane potential after low-power laser irradiation. *Lasers Med Sci* 2004; 18(4):204-206.
18. Bjordal JM, Johnson MI, Lopes-Martins RA, Bogen B, Chow R, Ljunggren AE. Short-term efficacy of physical interventions in osteoarthritic knee pain. A systematic review and meta-analysis of randomised placebo-controlled trials. *BMC Musculoskelet Disord* 2007; 8:51.
19. Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Joensen J, Couppe C, Ljunggren AE, Stergioulas A, Johnson MI. A systematic review with procedural assessments and

meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow). *BMC Musculoskelet Disord* 2008; 9:75.

20. Yousefi-Nooraie R, Schonstein E, Heidari K, Rashidian A, Pennick V, Akbari-Kamrani M, Irani S, Shakiba B, Mortaz Hejri SA, Mortaz Hejri SO, Jonaidi A. Low level laser therapy for nonspecific low-back pain. *Cochrane Database Syst Rev* 2008(2):CD005107.

21. Chou R, Huffman LH. Nonpharmacologic therapies for acute and chronic low back pain: a review of the evidence for an American Pain Society/American College of Physicians clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 2007; 147(7):492-504.

ARTIGO 2

Influence of Dose of LLL Therapy on Induced Dental Movement

Abstract

Objective: The aim of this study was to evaluate the effect of gallium-aluminum-arsenide (Ga-Al-As) laser irradiation with different irradiation doses, on the rate of orthodontic movement in molars of rats.

Methods: Thirty-five rats were divided into five groups (n=7), two control groups were used one (G1) had no LLL irradiation and no orthodontic device and the other (G2) had also no LLL irradiation and had orthodontic device. Three experimental groups with orthodontic device and LLL were used, the difference among these 3 groups was the irradiation dose. Group 3 (G3) 5.25 J/cm², Group 4 (G4) 35 J/cm² and Group 5 (G5) 6000 J/cm². Irradiations were performed every day, with a total of seven irradiations. The space was measured after the orthodontic device was inserted and at the seventh day, before euthanasia, the difference was considered tooth movement. Intergroup comparisons of the values were performed with One-Way ANOVA and Tukey's post-hoc. Descriptive histologic analysis with Hematoxylin-Eosin staining and descriptive analysis were made.

Results: The groups with 5.25 J/cm² and 6000 J/cm² dose showed the same amount of tooth movement as the control group with orthodontic appliance and without laser irradiation. Nevertheless, the 35 J/cm² dosage presented less orthodontic movement than other groups but not statistically significant.

Conclusion: The results suggested that photoradiation did not alter the orthodontic movement at a dosage of 5.25 J/cm² and 6000 J/cm², whereas a 35.0 J/cm² dose may retard it. This demonstrated the dose dependence nature of

laser irradiation, with movement maintained at doses of 5.25 and 6000J/cm² and decreased at 35 J/cm².

Key Words

Low level laser therapy, induced tooth movement, dose dependence, histological analysis

INTRODUCTION

Orthodontic movement is based on cellular response to biomechanical forces. However the way cells respond to these forces is still unknown (1).

Although histological changes in the periodontal ligament associated with orthodontic movement have been well defined, the real cellular mechanism that controls tooth movement is not very clear. An interaction between metabolic, biomechanical, bioelectric and biochemical factors has been related (2). These changes need time to occur and do not cause root or bone resorption (3, 4).

Long orthodontic treatment period is a concern that leads to patients neglecting to go through orthodontic treatment. According to previous studies (5, 6), the amount of tooth movement in response to applied force is influenced by several factors such as gender, status of periodontal ligament (PDL) and, especially, type of tooth movement, and magnitude of the applied force. With a healthy canine and moderate applied force (150 gF), Ricketts reported that the movement to be 1 mm at the end of activation. In general, the mechanics applied produced canine retraction at an average of 1.27 and 0.87 mm per month (5).

There has been an ongoing search for mechanical orthodontic processes that cause faster and safer tooth movement, with a large number of studies on

brackets, wires, and accessory development. Some researchers have worked on ways to obtain greater orthodontic movement by understanding the cellular changes resulting from it (7).

Literature shows several methods to stimulate bone remodeling such as drug injections (8), electric stimulation (9), and ultrasound application (10). These methods depend on procedures that could be associated with discomfort and pain. Many studies have endeavored to find methods capable of increasing the rate of tooth movement without consequent damage to the root and periodontium. Recently, several articles have shown that acceleration of movement can be produced by the local injection of prostaglandins (PGs) (11, 12), 1,25(OH)₂D₃ (the active form of vitamin D₃) (13-15) and osteocalcin around the alveolar socket (16). Although these substances stimulated the rate of movement, they also caused undesirable side effects such as local pain and discomfort for patient during the injection procedure (7).

Recently, different researchers have studied the results of low-level laser therapy (LLLT) and found that its stimulatory effects can accelerate bone regeneration in midpalatal suture during rapid palatal expansion (17) and stimulate collagen synthesis, which is a major matrix protein in bone (18, 19). Other studies found that laser irradiation can stimulate bone regeneration at bone fracture and extraction sites (20, 21) and increase rate of orthodontic tooth movement in rats (22). The stimulatory effect of LLLT was independent of the radiation intensity and exposure time and depended only on the fluence (23).

Many studies have shown that LLLT accelerated orthodontic tooth movement, (7, 22, 24-26) but there is wide variation in the amount of force and laser irradiation. There is no pattern to follow. The aim of this study was to evaluate 3 different

doses of a Ga-A-IAs Laser energy and its effect tooth movement with orthodontic device.

MATERIAL AND METHODS

Animals

Thirty five male Wistar rats (*Rattus Norvegicus*) aged approximately 90 days and averaging 300 g in weight were used for the experiment. They were kept under constant temperature (21- 23°C) and light cycle (12-hour light/dark environment) with standard laboratory diet. The animals were randomly divided into five groups (n=7), two control groups were used one (G1) had no LLL irradiation and no orthodontic device and the other (G2) had also no LLL irradiation and had orthodontic device. Three experimental groups with orthodontic device and LLL were used, the difference among these 3 groups was the irradiation dose. Group 3 (G3) 5.25 J/cm², Group 4 (G4) 35 J/cm² and Group 5 (G5) 6000 J/cm². The experimental period was 7 days, when the resorption of alveolar bone and the number of osteoclast starts to decrease (3, 4).

Experimental tooth movement

A fixed appliance consisting of a nickel-titanium closed coil spring (code 35.20.064, Morelli) was inserted between the maxillary right first molar and maxillary incisors and tied with 0.008-inch stainless steel ligature wire to deliver a 40 gF load. There was no reactivation during the experimental period. (Fig 1 A)

Laser irradiation

For the low-energy laser source, a gallium-aluminum-arsenide (Ga-Al-As) laser (Thera Laser, DMC Equipments) was used. The wave length was 830 nm and the output power was 100~700 mW, variable. Continuous waves at 100 mW output power conditions were used. The laser beam was delivered by a optical fiber with a spot area of 0,003 cm², and irradiation was applied, under anesthesia, by placing the end of the optical fiber tip in contact with mesial, buccal, palatal sides of the gingiva, in the area of the maxillary first molar (Fig 1 B). The difference between groups with laser irradiation was the time of irradiation, Group 3 was irradiated for 2 seconds, Group 4 for 7 seconds and Group 5 for 3 minutes, all in each face.

Macroscopic analysis

To measure the distance between the mesial region of the first molar and the incisors, a perforation was made in the resin used to fix the coil onto the incisor. This measurement was made with a compass (Odin) and this process was repeated when orthodontic appliance was inserted and at the end of experiment showing the result of the orthodontic device. (Fig 3)

Microscopic analysis

On day 7 the rats were submitted to euthanasia by decapitation. The maxillae, including the irradiation sites were removed, fixed in a solution containing 10% formaldehyde overnight, and prepared for histomorphometric examination. The

maxillary molar occlusal plane was determined as noted above. The bone specimens were immersed in Morse solution for decalcification. When decalcification was verified, the specimen was embedded in paraffin and cut transversely to a thickness of 5 μ m. Starting from the crown as soon as emergence of roots was observed, at every 5 cuts performed, 3 were collected in layers of glass. Only one of the cuts was intended for hematoxylin-eosin (HE) staining. The mesial root of the moved tooth was elected for the evaluations. (28,13). To characterize the osteoclastic activity of the bone modeling units (BMUs), which are cellular groups constituted of clastic cells, osteoblasts and macrophages (3, 4), were counted on the adjacent alveolar bone surface, and were counted throughout the entire extension of the periodontal ligament.

Statistical Analysis

The values used were represented by the mean \pm SD for each group. Intergroup comparisons of the values were performed with One-Way Anova and Tukey's post hoc. A value of $P < 0.05$ was considered to indicate a significant difference.

RESULTS

The animals supported the experiment very well; not one died, two of them lost the orthodontic device, one from the group irradiated at 5.25J/cm² and another from the group at 35 J/cm², and were discarded from the sample.

The measure of the orthodontic movement after seven days indicated that the 6000 J/cm² irradiated group(1.3 \pm 0.24mm) and 5.25J/cm² (1.21 \pm 0.28mm) presented faster movement than the non-irradiated group (1.11 \pm 0.47mm) and the 35 J/cm² irradiated group (0.87 \pm 0.19mm). However the difference between non-

irradiated group, 6000 J/cm², 35 J/cm² and 5,25J/cm² was not statistically significant (P<0.05). The 35 J/cm² group demonstrated lower rate tooth movement presenting less movement than all the other groups, but without statistical significance (P<0.05). Table 1 and Table 2

The microscopic analysis of the control group at day 7 showed a normal periodontium and normal alveolar bone surrounding the mesial root of the first molar and this group was the parameter for comparison.

The group with orthodontic device and no laser presented the periodontium disorganized in the mesial area of the root; the fibers were not organized, the cementoblast layer was shown to be larger than normal and the alveolar bone showed signs of resorption presenting 8 Bone Modeling Units (BMU).

The Group with orthodontic device and irradiated for 2 seconds produced a fluence of 5.25J/cm² and in the microscopy analyze appeared to be similar to non-irradiated group with orthodontic device but with more inflammatory response, more bone resorption and 15 BMU in the mesial area of the mesial root.

The experimental group with a fluence of 35 J/cm² presented no inflammatory characteristics in the periodontium; the root, bone and periodontal ligament was similar to the group with no laser and no orthodontic appliance.

On day 7 the group with a fluence of 6000 J/cm² presented characteristics similar to those of the group without laser irradiation and with orthodontic appliance and to the group irradiated with a dose of 5.25 J/cm², but more intense response presenting 20 BMU in the mesial region of the mesial root. Figure 4 shows the histological characteristics of all groups.

DISCUSSION

In the present study the dose dependency was measured, with regard to the effects of Ga-Al-As laser (Thera Laser, DMC Equipments) with a wave length of 830 nm and an output power of 100 mW on orthodontic movement. The results obtained demonstrated that low level laser therapy associated with orthodontic movement is dose dependant, and that laser therapy could increase or decrease the movement.

The dose used in this experiment was previously tested by other researchers: 6000 J/cm² (22), 5,25 J/cm² (25) and 35 J/cm² (25). The laser parameters of Kawasaki and Shimizu were 830 nm, 100 mW, 0.6 mm diameter, 35.3 W/cm², with an energy density of approximately 6000 J/cm² obtained by calculation (22). The energy density was very much higher than it should be for the stimulatory effects according to previous knowledge (28-31). The time elapsed to irradiate each tooth was too long and the purpose of accelerating the orthodontic treatment could be compromised.

The findings in the present study for the group irradiated with 6000 J/cm² and 5.25 J/cm² suggest that laser irradiation stimulated orthodontic movement in the initial period (form day 0 to day 7) when compared with the group with orthodontic appliance and without laser irradiation. Many authors first described the increase in the rate of orthodontic movement associated with the use of photoradiation as being the result of an increase in the number of osteoclasts on the compression side (22, 24, 25).

The group irradiated at 35 J/cm² showed a different result when compared with the other experimental groups, but similar to those found by Goulart (25) and Seifi (32)

which means that the value of orthodontic movement decreased when compared with the group without laser irradiation and the other irradiated groups.

The results of this study were similar to others found in the literature (7, 22, 24, 25, 32) but the differences between the groups were not statistically significant disagreeing with Kawasaki and Shimizu (22) and Goulart (25) who found greater difference between irradiated and non-irradiated groups. This can be explained by differences in the method because in the present study, more orthodontic force was used than Kawasaki and Shimizu (22) used and a different laser configuration to the one Goulart (25) used.

The microscopy analyses suggested that laser irradiation with a dose of 6000 J/cm² and 5.25 J/cm² increased the inflammatory response in the periodontal ligament. With a higher number of osteoclasts and BMU on the pressure side and the presence of more osteoid tissue than in the control group with orthodontic appliance without laser irradiation.

On the other hand, for the group irradiated at 35.0 J/cm² and submitted to the same type of orthodontic movement and equal load as the other groups with orthodontic appliance presented an organized periodontal ligament without signs of inflammatory response, the characteristic of the bone, cementum and periodontal fibers were similar to those of the control group without orthodontic appliance and without laser irradiation. The numbers of osteoclasts or osteoblasts and the presence of osteoid tissue were similar to those of the control group without orthodontic appliance, indicating that if it were an inflammatory response promoted by the orthodontic appliance, it had finished before day 7. Goulart (25) assumed that 35.0 J/cm² irradiation in a single spot on the target area as soon as the desired orthodontic movement is concluded may produce faster bone

formation and maturation for tooth anchorage. This result was similar for laser irradiation with this type of dose in other tissues, cells or living animals (25, 30-33). This dose dependency in increasing or decreasing a response has a bell-like shape with a threshold, a sharp peak, and a decay phase (23). Karu (34) found that within a broad range of doses (from 8 J/m^2 to $2 \times 10^5 \text{ J/m}^2$) there is not one but two bell-shaped dose curves; the peak of one of them falls within a low-dose region (around 50 J/m^2), whereas that of the other falls within a region of higher doses (104 J/m^2). It has been assumed that at the root of the existence of these two stimulative dose regions are two different mechanisms governing the interaction between radiation and the primary photoacceptors. Later Karu (23) found that the dose curves obtained with different cellular systems are of the same type and are characterized by seven peaks in the dose interval studied (from 7 J/m^2 to $5 \times 10^5 \text{ J/m}^2$). The location of the peaks was found to be independent of the radiation intensity and exposure time and depended only on the fluence.

The results of the present study demonstrated that there are at least two peaks of stimulatory effects: one around 5.25 J/cm^2 and another around 6000 J/cm^2 , but it is believed that between these values there could be more bell-like curves with stimulatory and inhibitory effects on orthodontic movement.

The literature is unanimous in affirming that lower doses provide better result for the maintenance of cellular homeostasis (23, 25, 30, 31, 33-37), so if both 6000 J/cm^2 and 5.25 J/cm^2 produced the same increase in tooth movement it is believed that the second fluence is a better and safer option and a faster procedure.

CONCLUSION

From the present experimental study, it was possible to conclude that gallium-aluminum-arsenide (Ga-Al-As) laser irradiation on the alveolar edge of rats, in association with application of an orthodontic force, influences orthodontic movement. The 6000 J/cm² and the 5.25 J/cm² irradiation accelerated orthodontic movement in the treated group when compared with the control group during the observation period (from 0 to 7 days), whereas the 35.0 J/cm² irradiation retarded the movement when compared with the group with orthodontic appliance non-irradiated during the observation periods (from 0 to 7 days).

When using the laser parameters used in this research it can be assumed that 5.25 J/cm² is the better dose to produce an increase in the orthodontic movement without any damage to the cells, root and alveolar bone.

REFERENCES

1. Carano A, Siciliani G. Effects of continuous and intermittent forces on human fibroblasts in vitro. *Eur J Orthod.* 1996 Feb;18(1):19-26.
2. Ruellas ACO. Influência do uso de anovulatórios na movimentação ortodôntica – estudo em coelhos. Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Bolognese Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1999.
3. Fracalossi ACC, Santamaria, M.Jr., Consolaro M-O, M.F., Consolaro, Experimental tooth movement in murines: study period and direction of microscopic sections. *Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial.* [Tópico especial]. 2009 jan./fev. 2009;14(1):15.

4. Consolaro AM-O, Maria Fernanda. A experimental model of induced tooth movement and of dental resorption associated. *Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas* 2ª ed. Maringá, PR: Dental Press; 2005. p. 28.
5. Iwasaki LR, Haack JE, Nickel JC, Morton J. Human tooth movement in response to continuous stress of low magnitude. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2000 Feb;117(2):175-83.
6. Kawarizadeh A, Bourauel C, Jager A. Experimental and numerical determination of initial tooth mobility and material properties of the periodontal ligament in rat molar specimens. *Eur J Orthod*. 2003 Dec;25(6):569-78.
7. Limpanichkul W, Godfrey K, Srisuk N, Rattanayatikul C. Effects of low-level laser therapy on the rate of orthodontic tooth movement. *Orthod Craniofac Res*. 2006 Feb;9(1):38-43.
8. Kobayashi Y, Takagi H, Sakai H, Hashimoto F, Mataka S, Kobayashi K, et al. Effects of local administration of osteocalcin on experimental tooth movement. *Angle Orthod*. 1998 Jun;68(3):259-66.
9. Spadaro JA. Mechanical and electrical interactions in bone remodeling. *Bioelectromagnetics*. 1997;18(3):193-202.
10. Hadjiargyrou M, McLeod K, Ryaby JP, Rubin C. Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. *Clin Orthop Relat Res*. 1998 Oct(355 Suppl):S216-29.
11. Yamasaki K, Miura F, Suda T. Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. *J Dent Res*. 1980 Oct;59(10):1635-42.

12. Yamasaki K, Shibata Y, Imai S, Tani Y, Shibasaki Y, Fukuhara T. Clinical application of prostaglandin E1 (PGE1) upon orthodontic tooth movement. *Am J Orthod.* 1984 Jun;85(6):508-18.
13. Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Kobayashi Y, Yamashiro T, Sakuda M. The effect of local application of 1,25-dihydroxycholecalciferol on osteoclast numbers in orthodontically treated rats. *J Dent Res.* 1992 Jan;71(1):53-9.
14. Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Yamashiro T. Effect of age on the rate of tooth movement in combination with local use of 1,25(OH)₂D₃ and mechanical force in the rat. *J Dent Res.* 1992 Aug;71(8):1487-92.
15. Collins MK, Sinclair PM. The local use of vitamin D to increase the rate of orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1988 Oct;94(4):278-84.
16. Hashimoto F, Kobayashi Y, Mataka S, Kobayashi K, Kato Y, Sakai H. Administration of osteocalcin accelerates orthodontic tooth movement induced by a closed coil spring in rats. *Eur J Orthod.* 2001 Oct;23(5):535-45.
17. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1997 May;111(5):525-32.
18. van Breugel HH, Bar PR. Power density and exposure time of He-Ne laser irradiation are more important than total energy dose in photo-biomodulation of human fibroblasts in vitro. *Lasers Surg Med.* 1992;12(5):528-37.
19. Abergel RP, Lyons RF, Castel JC, Dwyer RM, Uitto J. Biostimulation of wound healing by lasers: experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *J Dermatol Surg Oncol.* 1987 Feb;13(2):127-33.

20. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988 Dec;17(6):388-91.
21. Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med.* 1987;7(1):36-45.
22. Kawasaki K, Shimizu N. Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. *Lasers Surg Med.* 2000;26(3):282-91.
23. Karu TI, Pyatibrat LV, Ryabykh TP. Nonmonotonic behavior of the dose dependence of the radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed laser radiation at $\lambda = 820$ nm. *Lasers Surg Med.* 1997;21(5):485-92.
24. Cruz DR, Kohara EK, Ribeiro MS, Wetter NU. Effects of low-intensity laser therapy on the orthodontic movement velocity of human teeth: a preliminary study. *Lasers Surg Med.* 2004;35(2):117-20.
25. Goulart CS, Nouer PR, Mouramartins L, Garbin IU, de Fatima Zanirato Lizarelli R. Photoradiation and orthodontic movement: experimental study with canines. *Photomed Laser Surg.* 2006 Apr;24(2):192-6.
26. Youssef M, Ashkar S, Hamade E, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. The effect of low-level laser therapy during orthodontic movement: a preliminary study. *Lasers Med Sci.* 2008 Jan;23(1):27-33.
27. Taweechaisupapong S, Srisuk N, Nimitpornsuko C, Vattraphoudes T, Rattanayatikul C, Godfrey K. Evening primrose oil effects on osteoclasts during tooth movement. *Angle Orthod.* 2005 May;75(3):356-61.

28. Lim HM, Lew KK, Tay DK. A clinical investigation of the efficacy of low level laser therapy in reducing orthodontic postadjustment pain. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1995 Dec;108(6):614-22.
29. Agaiby AD, Ghali LR, Wilson R, Dyson M. Laser modulation of angiogenic factor production by T-lymphocytes. *Lasers Surg Med.* 2000;26(4):357-63.
30. Houreld NN, Abrahamse H. Laser light influences cellular viability and proliferation in diabetic-wounded fibroblast cells in a dose- and wavelength-dependent manner. *Lasers Med Sci.* 2008 Jan;23(1):11-8.
31. Hawkins DH, Abrahamse H. The role of laser fluence in cell viability, proliferation, and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium-neon laser irradiation. *Lasers Surg Med.* 2006 Jan;38(1):74-83.
32. Seifi M, Shafeei HA, Daneshdoost S, Mir M. Effects of two types of low-level laser wave lengths (850 and 630 nm) on the orthodontic tooth movements in rabbits. *Lasers Med Sci.* 2007 Nov;22(4):261-4.
33. Kujawa J, Zavodnik IB, Lapshina A, Labieniec M, Bryszewska M. Cell survival, DNA, and protein damage in B14 cells under low-intensity near-infrared (810 nm) laser irradiation. *Photomed Laser Surg.* 2004 Dec;22(6):504-8.
34. Karu T, Tiphlova O, Esenaliev R, Letokhov V. Two different mechanisms of low-intensity laser photobiological effects on *Escherichia coli*. *J Photochem Photobiol B.* 1994 Aug;24(3):155-61.
35. Hawkins D, Abrahamse H. Biological effects of helium-neon laser irradiation on normal and wounded human skin fibroblasts. *Photomed Laser Surg.* 2005 Jun;23(3):251-9.
36. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B.* 1999 Mar;49(1):1-17.

37. Manteifel VM, Karu TI. [Structure of mitochondria and activity of their respiratory chain in subsequent generations of yeast cells exposed to He-Ne laser light]. Izv Akad Nauk Ser Biol. 2005 Nov-Dec(6):672-83.

Figure

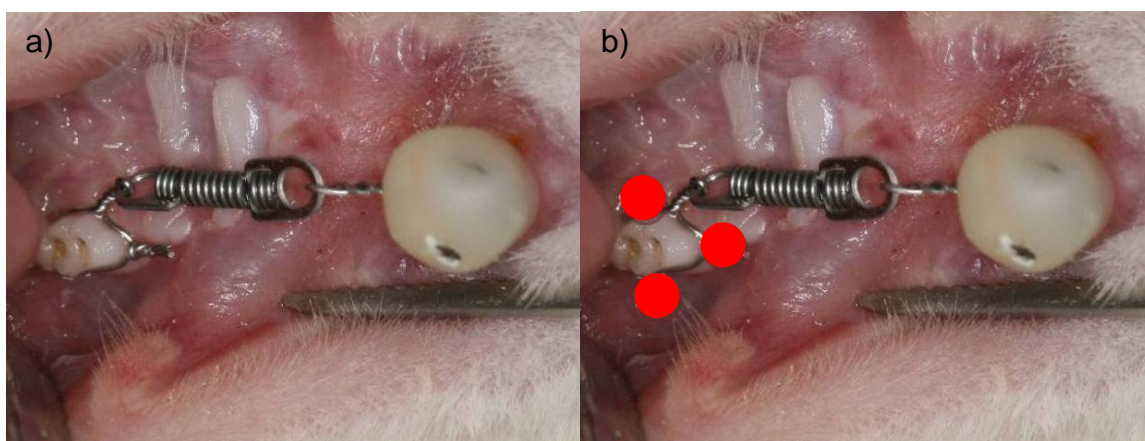


Figure 1 – a) Clinical view of the orthodontic device installed between the maxillary first molar and maxillary incisors. b) Points of laser irradiation on mesial, buccal and lingual sides of maxillary first molar.

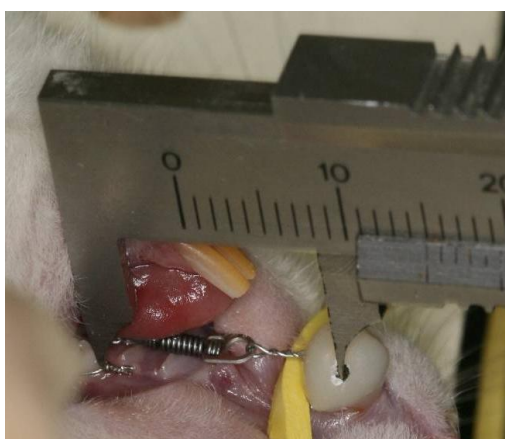


Figure 2 – Clinical view of macroscopic analysis, directly measurement of the distance between the mesial face of maxillary first molar and the reference point at the maxillary incisor.

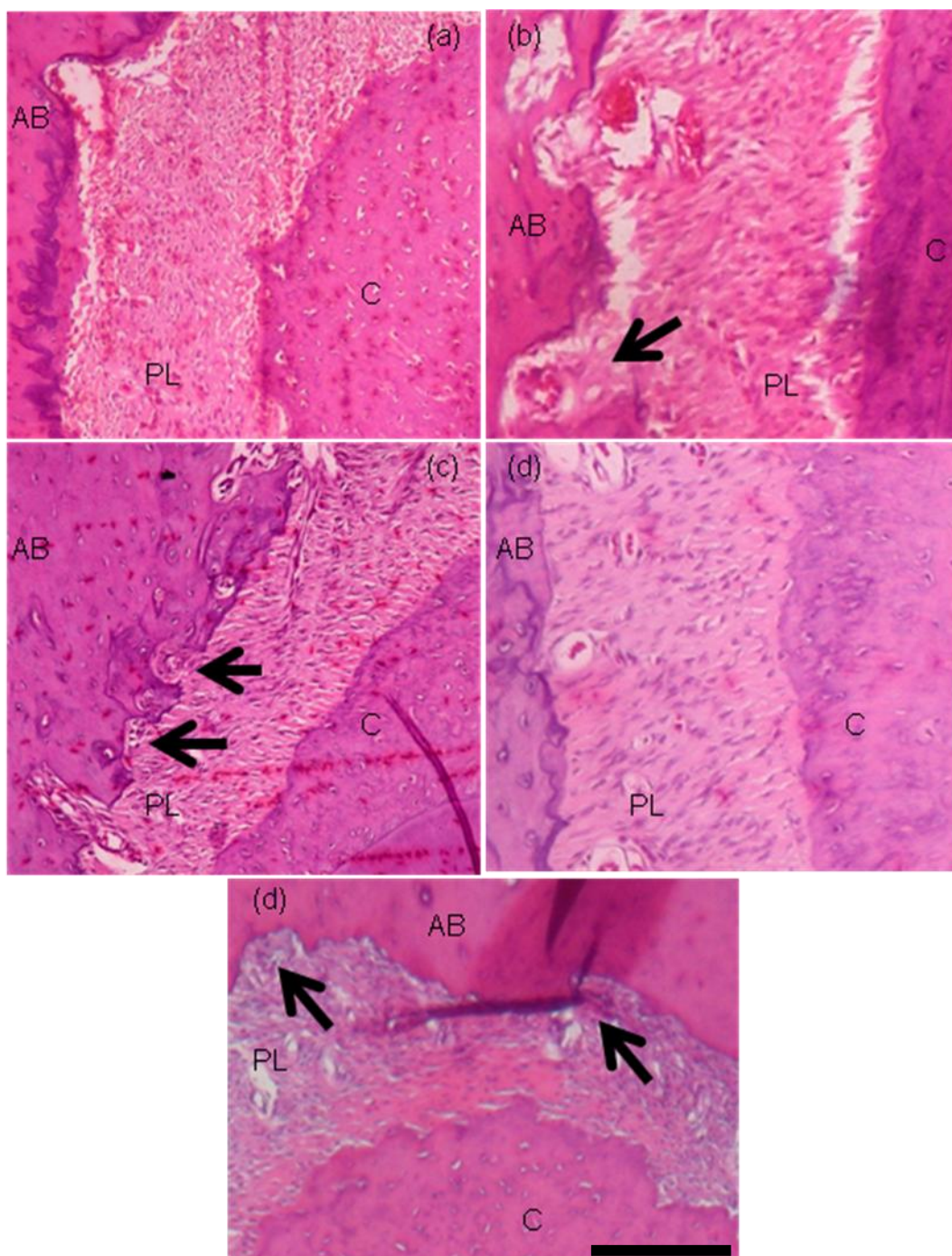


Figure 3 – Histological characteristic of all groups. a) – Control group. b) – Control group with orthodontic appliance without laser. c) – Experimental group with 5 J/cm². d) – Experimental group with 35 J/cm². e) – Experimental group with 6000 J/cm². Periodontal ligament (PL), alveolar bone (AB), cementum (C). Black arrows indicate BMU's; Bar = 103µm

Tables

Groups	2	3	4	5
Mean	1.11 mm	1.22 mm	0.87 mm	1.30 mm
Standard Deviation	0.47	0.28	0.19	0.24

Table 1 – Descriptive analysis, mean value of orthodontic movement after seven days.

Tooth Movement	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Group 2		0.828	0.664	0.748
Group 3	0.828		0.296	1.000
Group 4	0.664	0.296		0.230
Group 5	0.748	1.000	0.230	

Significance level: $p < 0.05$

Table 2 – One-Way Anova and Tukey's post-hoc to tooth movement, no statistic significance was found between groups.

5 DISCUSSÃO

A escolha do rato como modelo de estudo ocorreu, entre outros fatores, pelo fato do osso alveolar ser adequado para observação da remodelação óssea em condições normais ou de movimentação dentária induzida devido ao perfeito equilíbrio entre absorção e formação óssea, e também pela alta taxa de remodelamento ósseo (Ashizawa e Sahara, 1998). O dente de escolha foi o molar por assemelhar-se ao dos humanos no que diz respeito aos aspectos anatômicos e histológicos, enquanto os incisivos, devido ao caráter monofiodonte, apresentam erupção contínua, o que contra-indica seu uso (Reitan e Kvam, 1971; Heller e Nanda, 1979; Consolaro, 2005). Baixo custo, disponibilidade, facilidade de manuseio, possibilidade de padronização da amostra e sua utilização em diversas pesquisas anteriores relacionada à movimentação ortodôntica (Reitan, 1967; Heller e Nanda, 1979; Kawasaki e Shimizu, 2000; Stuani, 2003; Consolaro, 2005; Mendes, 2005; Fracalossi, 2009) foram fatores que também justificaram a escolha deste animal. Animais machos foram preferidos para este experimento com o objetivo de eliminar qualquer interferência hormonal, devido ao ciclo menstrual das fêmeas (Stuani, 2003; Consolaro, 2005; Mendes, 2005; Fracalossi, 2009).

Existe grande variedade de dispositivos ortodônticos usados em ratos, mas para o presente trabalho foi utilizada uma mola distendida do primeiro molar superior até os incisivos superiores tal qual descrito por (Heller e Nanda, 1979; Consolaro, 2005; Mendes, 2005; Fracalossi, 2009). A força empregada nos diversos trabalhos também variou muito desde 10 cN (Kawasaki e Shimizu, 2000) até 100cN (Gonzales, Hotokezaka *et al.*, 2008), mas foi optado novamente pelo modelo proposto por Heller (Heller e Nanda, 1979) usando-se 40 cN (Stuani, 2003; Mendes, 2005; Taweechaisupapong, Srisuk *et al.*, 2005; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008). Sendo esta força capaz de deflagrar alterações nas estruturas periodontais com conseqüente remodelação óssea, sem a criação de numerosas e extensas áreas hialinizadas.

O laser escolhido para irradiar os animais foi um diodo semicondutor de Ga-Al-As (Thera Lase, DMC Equipamentos, São Carlos, São Paulo, Brasil) com comprimento de onda de 830 nm, laser infravermelho. Os aparelhos que trabalham com luz vermelha visível (He-Ne, 632.8nm) e com luz infravermelha (Ga-Al-As, 800 a 900nm) são os que apresentam maior absorção e os melhores efeitos terapêuticos em tecidos vivos (Hourelid e Abrahamse, 2008; Youssef, Ashkar *et al.*, 2008). No entanto, por possuir maior comprimento de onda, os lasers infravermelhos possuem maior poder de penetração nos tecidos sendo mais indicado para ação na remodelação óssea (Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008; Hourelid e Abrahamse, 2008).

O resultado da meta-análise demonstrou que usando o LBP com o comprimento de onda e dose adequadas não proporciona nenhuma alteração prejudicial às células ou tecidos irradiados e/ou circundantes (Manteifel, Bakeeva *et al.*, 1997; Bortoletto, Silva *et al.*, 2004; Kujawa, J., Zavodnik, I. B. *et al.*, 2004;

Hawkins e Abrahamse, 2005; Bayat, Ansari *et al.*, 2007; De Araujo, Ribeiro *et al.*, 2007; Delbari e Bayat, 2007; Houreld e Abrahamse, 2008).

No presente trabalho foram utilizadas três diferentes doses de irradiação do LBP durante a movimentação ortodôntica dos primeiros molares superiores: a primeira de 5.25 J/cm^2 que segundo Goulart (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) promoveria aumento na quantidade de movimento para mesial do primeiro molar superior, a segunda 35 J/cm^2 que segundo Goulart (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) faria com que houvesse diminuição da movimentação dentária induzida e por fim a terceira com 6000 J/cm^2 que segundo Kawasaki e Shimizu (Kawasaki e Shimizu, 2000) proporcionaria, também, aumento na movimentação do primeiro molar superior. As aplicações de laser foram diárias seguindo protocolo realizado por Mendes (Mendes, 2005) sendo a primeira irradiação logo após a instalação do dispositivo e a última vinte e quatro horas antes do sacrifício.

A avaliação macroscópica, medida do movimento dentária, foi realizada diretamente na boca do animal usando-se um paquímetro e medindo-se a distância entre a face mesial do primeiro molar superior e um ponto de referência feito com ponta diamantada na resina que mantinha o dispositivo preso aos incisivos (Drevensek, Sprogar *et al.*, 2006). A forma de quantificar pode variar em alguns estudos, que se utilizam de modelos de gesso, digitalização e aproximam a imagem, além de usarem outros dentes como referência (Kawasaki e Shimizu, 2000; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008).

O resultado da avaliação macroscópica mostrou que não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos irradiados com 5.25 J/cm^2 , 35 J/cm^2 , 6000 J/cm^2 e o grupo controle com aparelho e sem aplicação de laser, apesar de cada grupo apresentar uma quantidade de movimentação distinta, sendo o maior

valor para o grupo 5 ($1.3 \pm 0.28\text{mm}$) depois o grupo 3 ($1.21 \pm 0.28\text{mm}$) e por fim o grupo 2 ($1.11 \pm 0.47\text{mm}$), mas o grupo 4 ($0.87 \pm 0.19\text{mm}$) apresentou diminuição na quantidade de movimentação em relação ao grupo controle. Esse resultado mostrou que existe dependência da dose de irradiação para se obter o efeito desejado do LBP, podendo ser desde aumento até diminuição da movimentação, o que já havia sido demonstrado para outras aplicações da laserterapia (Karu, Piatibrat *et al.*, 1997; Kujawa, J., Zavodnik, I. B. *et al.*, 2004; Hawkins e Abrahamse, 2006; Houreld e Abrahamse, 2008) e também na movimentação dentária (Goulart, Nouer *et al.*, 2006).

Alguns autores reportaram que o uso de diodo semi-condutor de Ga–Al–As era muito baixo para produzir efeito estimulatório ou inibitório na quantidade de movimentação dentária induzida (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006). Ao contrário, Youssef *et al.* (Youssef, Ashkar *et al.*, 2008) e Cruz *et al.* (Cruz, Kohara *et al.*, 2004) demonstraram que o LBP estimula, aumentando a velocidade da movimentação ortodôntica. Comparando-se a dose e o comprimento de onda Ga–Al–As do laser, a energia total usada por Limpanichkul foi de 75 J/cm^2 (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006), sendo maior do que na pesquisa de Youssef 8 J/cm^2 (Youssef, Ashkar *et al.*, 2008), já Cruz usou 50 J/cm^2 (Cruz, Kohara *et al.*, 2004), Fujita trabalhou com 54 J/cm^2 e no presente estudo testou-se três diferentes doses 5.25 J/cm^2 , 35 J/cm^2 , as mesmas encontradas em pesquisa de Goulart (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) e 6000 J/cm^2 a mesma usada por Kawasaki e Shimizu (Kawasaki e Shimizu, 2000) . Em relação ao comprimento de onda Limpanichkul usou 860 nm (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006) encontrado como maior quando comparado as trabalhos de Youssef 809 nm (Youssef, Ashkar *et al.*, 2008), Cruz 780 nm (Cruz, Kohara *et al.*, 2004), Goulart 780nm (Goulart,

Nouer *et al.*, 2006) Fujita 810 nm (Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008). No presente trabalho foi usado comprimento de onda de 830nm igual a Kawasaki e Shimizu (Kawasaki e Shimizu, 2000), apesar de ser maior do que os dos autores que conseguiram um aumento significativo, foi menor do que o usado do Limpanichkul (Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006) que obteve diminuição na movimentação dentária.

Ao comparar-se a diferença produzida pelas irradiações na movimentação ortodôntica encontra-se divergência com alguns trabalhos que realizaram irradiação com a mesma dose que a presente pesquisa. Com 6000 J/cm² dois estudos conseguiram aumento significativo na movimentação ortodôntica (Kawasaki e Shimizu, 2000; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008) apesar de usarem o mesmo modelo animal, existe diferença na força empregada pelo presente trabalho e os autores supracitados, mas o que segundo Gonzales (Gonzales, Hotokezaka *et al.*, 2008) não seria justificativa para a diferença nos resultados, pois para forças de 10, 25 e 50 cN não há diferença na quantidade de movimentação. Além disso, a força utilizada neste trabalho foi capaz de gerar remodelação óssea sem áreas de hialinização. Quando se compara a dose de 5.25 J/cm² tem-se novamente uma divergência em relação a trabalhos que usaram a laserterapia para aumentar a resposta celular à força ortodôntica (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) e, também, com relação aos autores que empregaram dose semelhante para aumentar a resposta celular em outras situações clínicas e laboratoriais (Kujawa, J., Zavodnik, I. B. *et al.*, 2004; Hawkins e Abrahamse, 2005; Houreld e Abrahamse, 2008).

Em relação os resultados encontrados com a dose de 35 J/cm² aos resultados da literatura também se tem uma pequena discordância, pois Goulart

(Goulart, Nouer *et al.*, 2006) encontrou diminuição da movimentação ortodôntica, estatisticamente, significativa enquanto no nosso trabalho, apesar da diminuição, não houve significância estatística. Com relação ao trabalho supracitado existe diferença de período de observação que foi, inicialmente, de vinte e um dias e mais vinte e um dias após ativação mais vinte e um dias, totalizando 63 dias de experimento além de carga maior do que a escolhida para esta pesquisa, 3 Oz, aproximadamente 88 cN, enquanto neste trabalho foi feita uma avaliação única após sete dias e usada força de 40 cN provavelmente foram esses os fatores que levaram à diferença nos resultados.

A provável razão do LBP não produzir nem aumento nem diminuição, estatisticamente significativa, do movimento dentário, como os demais trabalhos (Kawasaki e Shimizu, 2000; Cruz, Kohara *et al.*, 2004; Goulart, Nouer *et al.*, 2006; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008; Youssef, Ashkar *et al.*, 2008), pode ser devido ao pequeno período experimental, sete dias, que foi suficiente para observar as alterações histológica (Stuani, 2003; Consolaro, 2005; Fracalossi, 2009) enquanto a maioria dos autores supracitados realizou estudos por mais de doze dias.

Outro ponto discordante foi o comprimento de onda que em estudo realizado com células diabéticas respondeu aos estímulos do LBP de forma dose dependente, e de modo mais significativo, sendo dependente do comprimento de onda. Onde o comprimento de onda maior nem sempre leva a uma ação mais estimulante (Hourelid e Abrahamse, 2008)

Para avaliação microscópica os achados foram semelhantes aos apresentados na literatura, para irradiação com 6000 J/cm^2 e 5.25 J/cm^2 há aumento da resposta inflamatória, com maior presença de osteoclastos e vasos sanguíneos, ao fim dos sete dias de irradiação (Kawasaki e Shimizu, 2000;

Goulart, Nouer *et al.*, 2006). No grupo com dose de irradiação de 35 J/cm², as características periodontais se assemelharam ao grupo sem laser e sem dispositivo ortodôntico, com ausência de osteoclastos, sem áreas de absorção óssea e radicular, aparentando características de homeostasia de tecido sadio, resultado semelhante ao de Goulart (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) e Seifi (Seifi, Shafeei *et al.*, 2007). A movimentação ortodôntica se procesa pela remodelação óssea, nos primeiros dias ocorre a ação dos osteoclastos que absorvem a parede óssea que está sendo pressionada e após cessada a atividade osteoclástica, inicia-se a neoformação óssea nas áreas de tração (Reitan, 1967; Stuani, 2003).

O aumento na velocidade da movimentação ortodôntica associado com o uso do LBP foi descrito, por muitos autores, como resultado do aumento no número de osteoclastos no lado de compressão (Kawasaki e Shimizu, 2000; Cruz, Kohara *et al.*, 2004; Goulart, Nouer *et al.*, 2006; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008). A quantidade de osteoclastos aumenta pela maior divisão celular das células mesenquimais indiferenciadas, quimiotaxia de pré-ostoclastos, anexação ou fusão de células (Kawasaki e Shimizu, 2000). A ação do laser sobre os osteoclastos continua sem elucidação sendo associada à fusão de macrófagos e sua conseqüente transformação em osteoclastos maduros (Kawasaki e Shimizu, 2000). Entretanto, existe a teoria que existe há aumento na vascularização por ação de agentes quimitáxicos, e este incremento facilita a chegada dos osteoclastos, pois essas células advêm da medula óssea (monócitos) e que são transportadas pela corrente sanguínea (Kawasaki e Shimizu, 2000; Goulart, Nouer *et al.*, 2006). Dessa maneira, pode-se dizer que os vasos sanguíneos do ligamento periodontal estão envolvidos na regulação da remodelação óssea durante o movimento ortodôntico (REN *et al.*, 2008).

Com irradiação de 35 J/cm^2 , segundo Goulart (Goulart, Nouer *et al.*, 2006), ocorre aceleração no processo de reparação óssea com a formação mais rápida de tecido granular de reparo, além de atrasar a diferenciação de osteoblastos em osteócitos o que aumenta a formação de tecido ósseo.

Os efeitos biomoduladores do LBP são dose dependente e para a movimentação ortodôntica não poderia ser diferente, o que explicaria vários artigos com os mais diversos resultados, desde aumento, manutenção a diminuição da quantidade de movimento. (Kawasaki e Shimizu, 2000; Cruz, Kohara *et al.*, 2004; Goulart, Nouer *et al.*, 2006; Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006; Fujita, Yamaguchi *et al.*, 2008). Essa característica já havia sido identificada em outras estruturas, tecidos e cultura de células (Karu, Pyatibrat *et al.*, 1997; Kujawa, J., Zavodnik, I. B. *et al.*, 2004; De Araujo, Ribeiro *et al.*, 2007; Houreld e Abrahamse, 2008).

A dose-dependência da laserterapia foi descrita como um gráfico com o formato de sino e que para cada pico, onde há biomodulação de aumento na resposta celular, há uma fase onde a biomodulação diminui a resposta celular (Karu, Piatibrat *et al.*, 1997). Baseado nos resultados do presente trabalho e associado aos achados de Goulart (Goulart, Nouer *et al.*, 2006) e Kawasaki e Shimizu (Kawasaki e Shimizu, 2000) que para a movimentação dentária induzida existem pelo menos dois picos de aumento para as doses de 5.25 J/cm^2 e 6000 J/cm^2 . Na região onde há diminuição da resposta celular pelo menos a dose de 35 J/cm^2 é conhecida. Porém, o resultado de estudos em outros tecidos, a região de biomodulação negativa, diminuição da resposta celular, inicia-se próximo a 10 J/cm^2 (Kujawa, J., Zavodnik, I. B. *et al.*, 2004; Kujawa, J., Zavodnik, L. *et al.*, 2004; Hawkins e Abrahamse, 2006; Limpanichkul, Godfrey *et al.*, 2006; Seifi, Shafeei *et*

al., 2007; Houreld e Abrahamse, 2008) e estende-se até após a dose de 35 J/cm^2 (Goulart, Nouer *et al.*, 2006).

Contudo o efeito biomodulador de diminuição de resposta celular pode ser usado a favor do ortodontista em casos de absorção dentária, pois nos grupos de movimentação ortodôntica o único que não apresentou áreas de absorção radicular foi o G4, irradiado com 35 J/cm^2 . Entretanto para essa aplicação são necessários mais estudos.

6 CONCLUSÃO

- 6.1 A meta-análise permite afirmar que o uso do LBP em baixas doses, próxima de 5 J/cm^2 , não representa perigo ao funcionamento normal das células ou tecidos irradiados;
- 6.2 a laserterapia é dose dependente, em certas doses houve a manutenção da quantidade de movimentação (5.25 J/cm^2 e 6000 J/cm^2) com outras ocorreu a diminuição da movimentação dentária induzida (35 J/cm^2);
- 6.3 a análise qualitativa do periodonto mostrou que a dose de 35 J/cm^2 apesar de apresentar movimentação dentária mostrava características histológicas semelhantes ao grupo controle, sem movimentação ortodôntica e sem laser. Os grupos irradiados com 5 J/cm^2 e 6000 J/cm^2 apresentavam características semelhantes com aumento da atividade absortiva e neoformativa que o grupo controle com movimentação e sem aplicações de laser.

7 RECOMENDAÇÕES

Para futuras pesquisas sobre a aplicação de LBP na movimentação dentária induzida, sugere-se a utilização de diferentes doses e protocolos de aplicação e a avaliação por períodos mais prolongados de movimentação dentária, com o intuito de diminuir o tempo de tratamento. As absorções radiculares também devem ser estudadas quando da irradiação por LBP, já que o grupo que ocorreu diminuição da movimentação também mostrou qualidade periodontal semelhante a um tecido sadio sem movimentação induzida.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ashizawa, Y. e N. Sahara. Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. Arch Oral Biol, v.43, n.6, Jun, p.473-84. 1998.

Bayat, M., E. Ansari, *et al.* Effect of low-level helium-neon laser therapy on histological and ultrastructural features of immobilized rabbit articular cartilage. J Photochem Photobiol B, v.87, n.2, May 25, p.81-7. 2007.

Bortoletto, R., N. S. Silva, *et al.* Mitochondrial membrane potential after low-power laser irradiation. Lasers Med Sci, v.18, n.4, p.204-6. 2004.

Carano, A. e G. Siciliani. Effects of continuous and intermittent forces on human fibroblasts in vitro. Eur J Orthod, v.18, n.1, Feb, p.19-26. 1996.

Cobea. Princípios éticos na experimentação animal. São Paulo 2007.

Consolaro, A. M.-O., Maria Fernanda. Um modelo experimental de movimentação dentária induzida e das reabsorções dentárias associadas. In: (Ed.). Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas Maringá, PR: Dental Press, 2005. Um modelo experimental de movimentação dentária induzida e das reabsorções dentárias associadas, p.28

Cruz, D. R., E. K. Kohara, *et al.* Effects of low-intensity laser therapy on the orthodontic movement velocity of human teeth: a preliminary study. Lasers Surg Med, v.35, n.2, p.117-20. 2004.

De Araujo, C. E., M. S. Ribeiro, *et al.* Ultrastructural and autoradiographical analysis show a faster skin repair in He-Ne laser-treated wounds. J Photochem Photobiol B, v.86, n.2, Feb 1, p.87-96. 2007.

Delbari, A. e M. Bayat. Effect of low-level laser therapy on healing of medial collateral ligament injuries in rats: an ultrastructural study. Photomed Laser Surg, v.25, n.3, Jun, p.191-6. 2007.

Drevensek, M., S. Sprogar, *et al.* Effects of endothelin antagonist tezosentan on orthodontic tooth movement in rats. Am J Orthod Dentofacial Orthop, v.129, n.4, Apr, p.555-8. 2006.

Fernandes, M. I., E. J. Gaio, *et al.* Microscopic qualitative evaluation of fixation time and decalcification media in rat maxillary periodontium. Braz Oral Res, v.21, n.2, Apr-Jun, p.134-9. 2007.

Fracalossi, A. C. C., Santamaria, M.Jr., Consolaro M-O, M.F., Consolaro, A. Movimentação dentária experimental em murinos: período de observação e plano dos cortes microscópicos. Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial, v.14, n.1, jan./fev. 2009, p.15. 2009.

Fujita, S., M. Yamaguchi, *et al.* Low-energy laser stimulates tooth movement velocity via expression of RANK and RANKL. Orthod Craniofac Res, v.11, n.3, Aug, p.143-55. 2008.

Gonzales, C., H. Hotokezaka, *et al.* Force magnitude and duration effects on amount of tooth movement and root resorption in the rat molar. Angle Orthod, v.78, n.3, May, p.502-9. 2008.

Goulart, C. S., P. R. Nouer, *et al.* Photoradiation and orthodontic movement: experimental study with canines. Photomed Laser Surg, v.24, n.2, Apr, p.192-6. 2006.

Hashimoto, F., Y. Kobayashi, *et al.* Administration of osteocalcin accelerates orthodontic tooth movement induced by a closed coil spring in rats. Eur J Orthod, v.23, n.5, Oct, p.535-45. 2001.

Hawkins, D. e H. Abrahamse. Biological effects of helium-neon laser irradiation on normal and wounded human skin fibroblasts. Photomed Laser Surg, v.23, n.3, Jun, p.251-9. 2005.

Hawkins, D. H. e H. Abrahamse. The role of laser fluence in cell viability, proliferation, and membrane integrity of wounded human skin fibroblasts following helium-neon laser irradiation. Lasers Surg Med, v.38, n.1, Jan, p.74-83. 2006.

Heller, I. J. e R. Nanda. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontic tooth movement. An experimental study. Am J Orthod, v.75, n.3, Mar, p.239-58. 1979.

Hourelid, N. N. e H. Abrahamse. Laser light influences cellular viability and proliferation in diabetic-wounded fibroblast cells in a dose- and wavelength-dependent manner. Lasers Med Sci, v.23, n.1, Jan, p.11-8. 2008.

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

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

Karu, T. I. e S. F. Kolyakov. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. Photomed Laser Surg, v.23, n.4, Aug, p.355-61. 2005.

Karu, T. I., L. V. Piatibrat, *et al.* [Nonmonotony of dose-effect dependence during irradiation of cells in vitro with pulsed laser radiation with a wavelength of 820 nm]. Dokl Akad Nauk, v.354, n.1, May, p.117-9. 1997.

Karu, T. I., L. V. Pyatibrat, *et al.* Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide. Lasers Surg Med, v.36, n.4, Apr, p.307-14. 2005.

_____. Absorption measurements of a cell monolayer relevant to phototherapy: reduction of cytochrome c oxidase under near IR radiation. J Photochem Photobiol B, v.81, n.2, Nov 1, p.98-106. 2005.

_____. Nonmonotonic behavior of the dose dependence of the radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed laser radiation at $\lambda = 820$ nm. Lasers Surg Med, v.21, n.5, p.485-92. 1997.

Kawasaki, K. e N. Shimizu. Effects of low-energy laser irradiation on bone remodeling during experimental tooth movement in rats. Lasers Surg Med, v.26, n.3, p.282-91. 2000.

Kujawa, J., I. B. Zavodnik, *et al.* Cell survival, DNA, and protein damage in B14 cells under low-intensity near-infrared (810 nm) laser irradiation. Photomed Laser Surg, v.22, n.6, Dec, p.504-8. 2004.

Kujawa, J., L. Zavodnik, *et al.* Effect of low-intensity (3.75-25 J/cm²) near-infrared (810 nm) laser radiation on red blood cell ATPase activities and membrane structure. J Clin Laser Med Surg, v.22, n.2, Apr, p.111-7. 2004.

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

Manteifel, V., L. Bakeeva, *et al.* Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with He-Ne laser: appearance of giant mitochondria. J Photochem Photobiol B, v.38, n.1, Mar, p.25-30. 1997.

Mendes, O. F. Influência do laser de baixa potência na movimentação ortodôntica: estudo experimental em ratos. Orientador: Prof^a Dr^a Margareth Maria Gomes Souza (Dissertação) Ortodontia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005. 133 p.

Reitan, K. Clinical and histologic observations on tooth movement during and after orthodontic treatment. Am J Orthod, v.53, n.10, Oct, p.721-45. 1967.

Reitan, K. e E. Kvam. Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. Angle Orthod, v.41, n.1, Jan, p.1-14. 1971.

Ruellas, A. C. O. Influência do uso de anovulatórios na movimentação ortodôntica – estudo em coelhos. Orientador: Prof^a Dr^a Ana Maria Bolognese (Tese) Faculdade de Odontologia - Departamento de Ortodontia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999. 159 p.

Saito, S. e N. Shimizu. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. Am J Orthod Dentofacial Orthop, v.111, n.5, May, p.525-32. 1997.

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

Stuani, A. S. Aspectos histológicos do periodonto no lado de pressão de dentes, quando submetidos à força ortodôntica. Orientador: Prof^a Dr^a Maria Evangelina Monerat (Dissertação). Ortodontia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003. 160 p.

Takano-Yamamoto, T., M. Kawakami, *et al.* The effect of local application of 1,25-dihydroxycholecalciferol on osteoclast numbers in orthodontically treated rats. J Dent Res, v.71, n.1, Jan, p.53-9. 1992.

Takeda, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. Int J Oral Maxillofac Surg, v.17, n.6, Dec, p.388-91. 1988.

Taweichaisupapong, S., N. Srisuk, *et al.* Evening primrose oil effects on osteoclasts during tooth movement. Angle Orthod, v.75, n.3, May, p.356-61. 2005.

Yamasaki, K., F. Miura, *et al.* Prostaglandin as a mediator of bone resorption induced by experimental tooth movement in rats. J Dent Res, v.59, n.10, Oct, p.1635-42. 1980.

Yamasaki, K., Y. Shibata, *et al.* Clinical application of prostaglandin E1 (PGE1) upon orthodontic tooth movement. Am J Orthod, v.85, n.6, Jun, p.508-18. 1984.

Youssef, M., S. Ashkar, *et al.* The effect of low-level laser therapy during orthodontic movement: a preliminary study. Lasers Med Sci, v.23, n.1, Jan, p.27-33. 2008.

9 ANEXOS

9.1 ANEXO 1 PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA COM USO DE ANIMAIS EM EXPERIMENTAÇÃO CIENTÍFICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO.

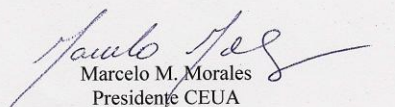


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO - UFRJ
Centro de Ciências da Saúde - CCS

Prezada Professora Mônica Tirre de Souza Araujo

A Comissão de Ética com uso de animais (CEUA) em Experimentação Científica do centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro certifica que o projeto sob sua coordenação e intitulado: "Influencia de diferentes doses de irradiação do laser de baixa potencia na movimentação ortodontica", onde é previsto protocolo com utilização de animais, foi aprovado por esta comissão, sob o número de referência ODONTO 007.

Atenciosamente;


Marcelo M. Morales
Presidente CEUA

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](#)