



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



Lucas de Sousa Goulart Pereira

Efeito da laserterapia em duplo comprimento de onda
sobre a osseointegração de implantes em área
enxertada: um estudo pré-clínico

Formatado: Fonte: 20 pt

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, 20 pt

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, 20 pt

UBERLÂNDIA

2022

Lucas de Sousa Goulart Pereira

Efeito da laserterapia em duplo comprimento de onda
sobre a osseointegração de implantes em área
enxertada

Trabalho de conclusão de curso apresentado a
Faculdade de Odontologia da UFU, como requisito
parcial para obtenção do título de Graduado em
Odontologia

Orientadora: Prof. Dr. Guilherme José Pimentel
Lopes de Oliveira

Co-orientadora: Júlia Raulino Lima

UBERLÂNDIA

2022

SUMÁRIO

<u>Resumo</u>	<u>04</u>
<u>Abstract</u>	<u>05</u>
<u>Introdução</u>	<u>06</u>
<u>Objetivo</u>	<u>08</u>
<u>Hipóteses</u>	<u>09</u>
<u>Materiais e Métodos</u>	
<u>Animais e Grupos</u>	<u>10</u>
<u>Procedimento de enxertia</u>	<u>11</u>
<u>Procedimento de instalação dos implantes</u>	<u>12</u>
<u>Tratamento com LLLT</u>	<u>13</u>
<u>Análise microtomográfica</u>	<u>14</u>
<u>Análise estatística</u>	<u>16</u>
<u>Resultados</u>	<u>17</u>
<u>Discussão</u>	<u>19</u>
<u>Conclusão</u>	<u>21</u>
<u>Referências bibliográficas</u>	<u>22</u>
<u>Anexos</u>	<u>27</u>

~~Efeito da laserterapia em duplo comprimento de onda sobre a osseointegração de implantes em área enxertada~~

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, 14 pt, Negrito, Verificar ortografia e gramática

Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: Múltiplos 1,08 lin.

Formatado: À esquerda, Recuo: À esquerda: 0 cm, Primeira linha: 0 cm, Espaçamento entre linhas: Múltiplos 1,08 lin.

Formatado: Recuo: À esquerda: 0 cm, Primeira linha: 0 cm

Formatado: À esquerda

Resumo

Esse estudo avaliou se associação de dois comprimentos de onda de lasers em baixa intensidade (LLLT), (laser infra-vermelho e vermelho), possui efeito na quantidade e estrutura dos tecidos mineralizados formados ao redor de implantes instalados em áreas enxertadas com osso bovino desproteínizado (OBD). Para o desenvolvimento da pesquisa, foram utilizados 64 ratos, distribuídos aleatoriamente em 4 grupos com 16 animais cada. Os grupos foram divididos de acordo com o protocolo de irradiação, sendo eles: CTR – Implantes não submetidos à LLLT; IRL – Implantes tratados por LLLT infra-vermelho; RL – Implantes tratados por LLLT vermelho; IRL/RL – Implantes tratados por LLLT vermelho e infra-vermelho. Os animais foram submetidos a procedimentos de enxertia nas tíbias e após 60 dias foram instalados os implantes. Durante a instalação dos implantes os animais dos grupos LLLT foram submetidos à irradiação onde foram aplicados 4J ao redor dos implantes nos grupos IRL, RL e IRL-RL. Após 15 e 45 dias, os animais foram eutanasiados e as biópsias com os implantes foram fixadas e posteriormente submetidos ao escaneamento em microtomógrafo. Foram executadas análises de quantidade de tecidos mineralizados ao redor dos implantes (BV/TV%) e da microestrutura do tecido ósseo (Espessura, espaço e número de trabéculas – Tb.Th; Tb.Sp e Tb.N). As áreas enxertadas irradiadas com o laser infra-vermelho tiveram maiores valores de BV/TV%, enquanto que as áreas irradiadas com laser vermelho apresentou maiores valores de Tb.N do que o grupo controle no período de 45 dias ($p < 0.05$). A combinação dos lasers vermelho e infra-vermelho promoveu maior BV/TV% e Tb.N do que o grupo CTR aos 45 dias ($p < 0.05$). A combinação dos lasers vermelho e infra-vermelho aumenta a quantidade de tecidos mineralizados que foi associado ao aumento do número de trabéculas ao redor de implantes instalados em áreas enxertadas com OBD.

Palavras-chaves: Laserterapia, osseointegração, substitutos ósseos.

Abstract

This study evaluated if the association of two wavelengths of low-intensity lasers (LLLT), (infrared and red laser), has an effect on the amount and structure of mineralized tissues formed around implants installed in areas grafted with deproteinized bovine bone (DBB). For the development of the research, 64 rats were used, and were randomly distributed in 4 groups with 16 animals each. The groups were divided according to the irradiation protocol, as follows: CTR – Implants not submitted to LLLT; IRL – Implants treated by infra-red LLLT; RL – Implants treated by red LLLT; IRL/RL – Implants treated by red and infrared LLLT. The animals underwent grafting procedures on the tibias and after 60 days the implants were installed. During the implants placement, the animals of the LLLT groups were submitted to irradiation where 4J was applied around the implants in the IRL, RL and IRL-RL groups. After 15 and 45 days, the animals were euthanized and the biopsies with the implants were fixed and later submitted to microtomography scanning. Analyzes of the amount of mineralized tissues around the implants (BV/TV%) and of the bone tissue microstructure (Thickness, space and number of trabeculae – Tb.Th; Tb.Sp and Tb.N) were performed. The grafted areas irradiated with the infrared laser had higher values of BV/TV%, while the areas irradiated with the red laser showed higher values of Tb.N than the control group in the period of 45 days ($p<0.05$). The combination of red and infrared lasers promoted higher BV/TV% and Tb.N than the CTR group at 45 days ($p<0.05$). The combination of red and infrared lasers increases the amount of mineralized tissue that has been associated with an increase in the number of trabeculae around implants placed in OBD-grafted areas.

Key-words: Bone substitutes, lasertherapy, osseointegration.

Formatado: Fonte: Não Negrito

Introdução

A reabsorção óssea pode ocorrer devido a várias condições fisiológicas e patológicas. Apesar de o tecido ósseo apresentar alta capacidade regenerativa, existem limitações quanto à extensão da ferida que podem levar a uma recuperação incompleta da região danificada (Araújo et al., 2015). Atualmente, a manutenção do volume ósseo alveolar após extrações dentárias têm sido um dos maiores desafios da odontologia, uma vez que, a reabilitação oral com implantes osseointegrados é muito bem-sucedida em pacientes com volume e densidade óssea favoráveis, que forneçam estabilização adequada (Simonis et al., 2010). A falta de estimulação funcional do osso alveolar induz a uma perda óssea contínua, ocasionando em defeitos em seu volume, tanto vertical, quanto horizontalmente (Araújo et al., 2015). Desta forma, como alternativa de reduzir as taxas de falhas em implantes dentários e corrigir defeitos ósseos não reparados corretamente, procedimentos de aumento de volume e/ou densidade óssea vem sendo estudados (Mendoza-Azpur et al., 2019; Oliveira et al., 2020).

Dentre os procedimentos descritos na literatura, o uso de substitutos ósseos tem se destacado devido aos seus resultados positivos. Os enxertos osteocondutores tem se destacado por oferecer maior comodidade aos pacientes e menos riscos a sua saúde, visto que elimina a necessidade de um segundo local cirúrgico para a colheita do tecido doador e reduz a dor pós-operatória (Mendoza-Azpur et al., 2019; Pignaton et al., 2019). Apesar de existirem diferentes biomateriais de várias origens, o osso bovino desproteínizado (OBD) é considerado o que possui maior evidência científica na sua utilização em comparação a outros biomateriais osteocondutores (Pignaton et al., 2019; Pignaton et al., 2020). Porém, embora os biomateriais osteocondutores produzam resultados clínicos favoráveis, sua capacidade biológica para a formação óssea apenas via osteocondução é menos eficaz quando comparada aos enxertos ósseos autógenos (Carmagnola et al., 2003). Além disso, os implantes instalados em áreas enxertadas com biomateriais osteocondutores necessitam de maior período de tempo para estabelecimento do processo de osseointegração (Daneshi-Sani et al., 2016). Sendo assim, tem sido proposto a associação de biomateriais osteocondutores com fatores de

crescimento (Kim et al., 2015), enxerto de osso autógeno (Mendoza-Azpur et al., 2019), concentrados sanguíneos (Pichotano et al., 2019) ou laserterapia em baixa potência (LLLT) (Oliveira et al., 2020) com intuito de melhorar o padrão de cicatrização óssea e osseointegração nessas áreas enxertadas.

A terapia utilizando laser de baixa potência em defeitos ósseos e na consolidação de fraturas apresenta benefícios ao paciente (Fávaro-Pipi et al., 2010; Moreira et al., 2018). Para a aplicação em baixa intensidade dois grupos de lasers têm sido utilizados de acordo com o comprimento de luz: vermelho (660nm) e infravermelho (830nm) (Freddo et al., 2009). Entretanto os lasers com comprimento de onda dentro da faixa da luz infravermelha apresentam maior penetrabilidade dentro dos tecidos e por isso são preferíveis na aceleração da cicatrização óssea (Jakse et al., 2007; Freddo et al., 2009), porém o seu protocolo de irradiação requer 7 sessões de irradiação, o que pode ser clinicamente inviável. Nesse contexto, aplicações únicas do laser vermelho também têm demonstrado serem efetivos no processo de regeneração óssea em estudos pré-clínicos em animais imunosuprimidos (Garcia et al., 2014; Garcia et al., 2018), com a vantagem de que apenas uma aplicação trans-cirúrgica já é efetiva na promoção de efeitos benéficos na cicatrização óssea (Garcia et al., 2014; Garcia et al., 2018). A comparação direta do laser vermelho e infra-vermelho e a sua utilização de forma combinada com intuito de acelerar o processo de osseointegração de implantes em áreas enxertada ainda carece de maiores investigações.

Objetivo

Geral

O objetivo desse estudo será de avaliar se a associação da LLLT em baixa intensidade com laser infra-vermelho e vermelho melhoram a osseointegração de implantes em áreas enxertadas com OBD.

Específico

Avaliar o efeito da laserterapia no reparo ósseo em áreas enxertadas

Comparar os diferentes protocolos de luz utilizados na laserterapia e relação ao seu potencial em acelerar o reparo ósseo.

Formatado: Fonte: Não Negrito

Hipóteses

H0 – Os diferentes protocolos de laser não serão distintos entre si e o em relação ao grupo controle em relação ao seu efeito no reparo do tecido ósseo;

H1- Os diferentes protocolos de laser serão distintos entre si e o em relação ao grupo controle em relação ao seu efeito no reparo do tecido ósseo;

Formatado: Fonte: Não Negrito

Material e métodos

Esse estudo foi submetido e aprovado junto ao Comitê de ética de utilização de animais da Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Faculdade de Odontologia de Uberlândia, Brasil (CEUA/UFU: 011-20). Para esse estudo foram utilizados 64 ratos (*Rattus norvegicus*, variação Wistar) com 3 meses de idade, com peso entre 250–300 g que foram mantidos em um ambiente com temperatura ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade (65-70%), e ciclos de luz (12 horas) controlado. Os animais foram alimentados com ração apropriada e foi oferecido água e ração ad libitum. Esse estudo foi conduzido de acordo com o protocolo ARRIVE para conduta de estudos pré-clínicos.

Animais e Grupos

Os 64 animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos com 16 animais cada, que foram divididos de acordo com o protocolo de irradiação que foi aplicado sobre os implantes que foram instalados: CTR – Implantes que não foram submetidos a LLLT; IRL – Implantes que foram tratados por LLLT infra-vermelho; RL – Implantes que foram tratados por LLLT vermelho; IRL/RL – Implantes que foram tratados por LLLT associando-se os lasers vermelho e infra-vermelho. Os animais foram submetidos ao procedimento de enxertia nas tíbias direitas e foi aguardado um período de 60 dias. Após esse período, os implantes foram instalados em ambas as tíbias e deu-se início ao procedimento de LLLT nos grupos aonde foi planejado o procedimento de irradiação. Após os períodos de 15 e 45 dias os animais foram eutanasiados. [As tíbias utilizadas nesse estudo se referem a aquelas que foram submetidas ao procedimento de enxertia, enquanto que a outra tíbia foi utilizada para avaliar o processo de osseointegração em áreas de osso nativo. Serão avaliados em outro projeto.](#)

Formatado: Não Realce

Procedimento de enxertia

Os animais foram anestesiados por uma combinação de Xilazina (Rompum, Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil) na dosagem de 20mg/ml /10mg/Kg /IP de massa corporal, juntamente com Cetamina (Agener União Ltda, São Paulo, SP, Brasil) na dosagem de 50mg/ml/80mg/Kg/IP 8 mg/Kg de massa corporal. Posteriormente, foram submetidos à tricotomia da região interna das patas posteriores direitas e esquerda e realizada a antissepsia. Uma incisão de aproximadamente 10 mm foi realizada, em planos, sobre a tuberosidade da tíbia (Fig. 1A). Após dissecação delicada, o tecido ósseo foi submetido à osteotomia, por meio de uma broca esférica montada em contra ângulo com auxílio de um motor elétrico ajustado a 1200 rpm (BLM 600 – Driller, São Paulo, SP, Brasil) sob abundante irrigação com solução salina estéril. O defeito formado teve como medidas finais 4 mm de comprimento e de largura (Fig. 1B) e 1.5mm de profundidade (Fig. 1C), sendo que os mesmos foram posteriormente preenchidos com osso bovino desproteínizado (Cerabone, Botiss, Zossen, Alemanha) (Fig. 1D). O tecido foi suturado por planos internamente com fio reabsorvível 5.0 (Vicryl Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil) e externamente com fio de seda 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil) e foi aguardado um período de 60 dias. Os animais receberam, por via intraperitoneal, penicilina associada à estreptomicina na dosagem 0,8 ml/kg de peso em dose única (Multibiótico Small, Vitalfarma, São Sebastião do Paraíso, MG, Brasil) e 1 mg/kg de peso de cetoprofeno 1% (Ketoflex; Mundo Animal, São Paulo, Brasil) por 3 dias a cada 24 horas.

Figura 1: Procedimento cirúrgico de enxertia. Após tricotomia do local, incisão em planos e dissecação (A), foi criado um defeito com 4mm de comprimento e de largura (B) e 1.5mm de profundidade (C). Posteriormente o defeito foi preenchido com biomaterial (D).

Formatado: Não Realce

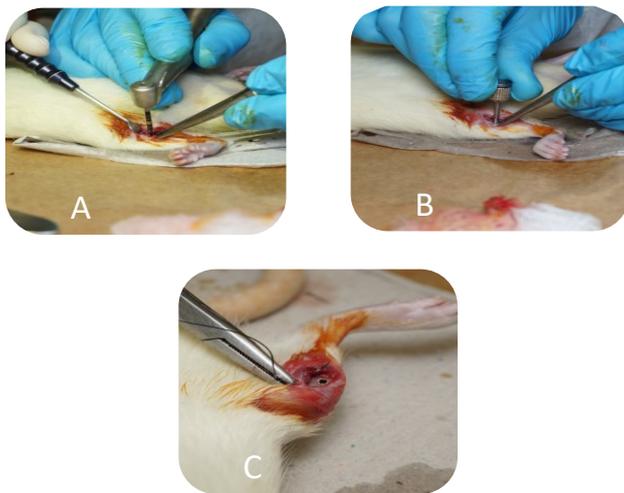


Procedimento de instalação dos implantes

Após um período de 60 dias, foi realizada uma intervenção cirúrgica para instalação de implantes em ambas as tíbias. Uma incisão semelhante ao primeiro procedimento foi realizada sobre a tuberosidade da tíbia. A região enxertada foi preparada para instalação dos implantes por meio da aplicação de uma sequência progressiva de fresas (fresa lança; fresa espiral de 2.0 mm – Neodent®; Curitiba, PR, Brasil) para acomodar um implante de titânio com 4 mm de altura por 2.2 mm de diâmetro (Superfícies usinada, Curitiba, PR, Brasil). Todas as perfurações foram realizadas com auxílio de um motor elétrico, ajustado a 1200 rpm, sob abundante irrigação com solução salina estéril (Fig. 2A). O implante foi instalado com a ajuda de uma chave digital (Chave digital hexagonal 1.2mm – Neodent, Curitiba, PR, Brasil) (Fig. 2B). A sutura dos tecidos (Fig. 2C) e o protocolo medicamentoso pós-operatório foi semelhante ao utilizado na primeira cirurgia. Nos períodos de 15 e 45 dias após os procedimentos cirúrgicos de instalação dos implantes, os animais foram submetidos à eutanásia por aprofundamento da dose de anestésico.

Formatado: Não Realce

Figura 2: Procedimento cirúrgico de instalação dos implantes. Uma sequência progressiva de fresas foi utilizada para acomodar o implante. As perfurações foram realizadas por um motor elétrico sob abundante irrigação (A), o implante instalado com uma chave digital (B) e os tecidos foram suturados em planos (C).



Tratamento com LLLT

O laser de GaAlAs ([XT Therapy EC Laser](#) 100mW, $\phi \sim 0.600\mu\text{m}$, divergência da ponta = 0.37rad, CW, área do spot de 0,0283 cm², DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brazil) foi utilizado para execução das irradiações. O laser foi irradiado no transcirúrgico em cada um dos pontos de irradiação. A energia aplicada em cada ponto foi de 1 J por ponto, o que resultou um total de 4 J por sessão. A densidade de energia de irradiação utilizada foi de aproximadamente 35,33 J/cm²/ponto, totalizando 141,32 J/cm² por sessão. Esse aparelho opera com modo de irradiação vermelho (λ 600nm), infravermelho (λ 808nm) ou combinado (λ 600- λ 808nm) (Fig. 3). Para a emissão de energia de 1J, foi necessário o tempo de 10 segundos para LLLT com laser vermelho ou infravermelho e 5 segundos com a aplicação combinada dos dois comprimentos de onda. Isso resultou em sessões de 40 segundos com os lasers aplicados de forma isolada e 20 segundos quando os comprimentos de onda foram aplicados de forma combinada.

Figura 3: Procedimento de aplicação da laserterapia. O laser foi irradiado no transcirúrgico em 4 pontos. A energia aplicada em cada ponto foi de 1 J por ponto, o que resultou um total de 4 J.

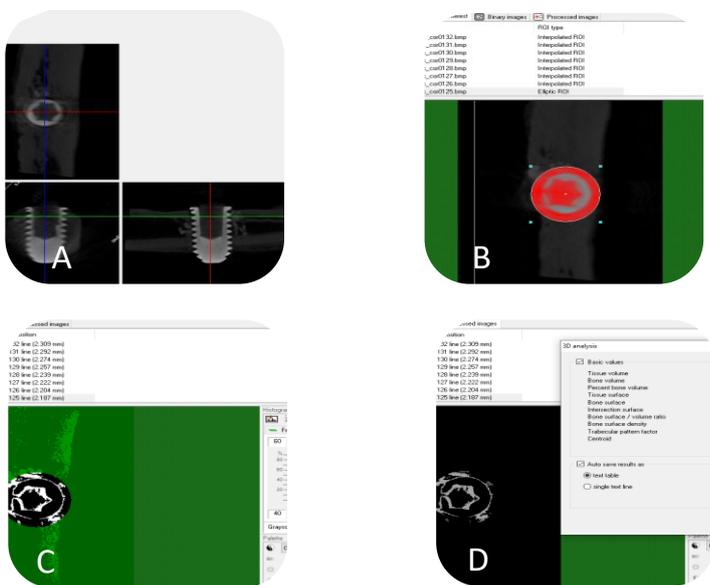


Análise microtomográfica

As tíbias foram fixadas em paraformaldeído a 4% por 48 horas e posteriormente armazenadas em Álcool 70°. Essas amostras foram escaneadas por um microtomógrafo (Skyscan, Aatselaar Bélgica) com os seguintes parâmetros: Pixel da câmera: 12.45; potência do tubo de raio-x: 65 kVp, intensidade do raio-x: 385 μ A, tempo de integração: 300 ms, filtro: Al-1 mm e tamanho do voxel: 18 μ m³. Um primeiro software (NRecon, Data Viewer) foi utilizado para reconstrução tridimensional e reposicionamento espacial das imagens possibilitando adquirir o plano coronal de cada amostra. O segundo software utilizado (CTAnalyser, Aatselaar, Bélgica) foi o responsável pela análise propriamente dita das imagens. O primeiro passo realizado foi exportar as imagens obtidas pelo primeiro software. Em seguida, foram selecionadas 100 fatias de cada imagem determinando a área que foi analisada pelo software. A região de interesse (ROI) foi definida como uma região circular com 0,5 mm em torno de todo o diâmetro do implante obtendo assim uma figura geométrica de um cilindro ao longo do implante. Esse ROI foi definido como Volume Total (0,5mm de margem ao

redor dos implantes- 4,5 mm x 3,2 mm). Como os implantes colocados não receberam o cover screw em alguns casos houve formação óssea dentro da plataforma protética. Para que esta formação óssea não interfira com a análise do volume de tecido mineralizado ao redor do implante foi definido um segundo ROI para remoção do volume da plataforma. Com os resultados obtidos nos dois ROIs foi possível definir o volume de formação óssea utilizando a fórmula: Volume Total – Volume Plataforma = Volume de tecidos mineralizados. O threshold utilizado na análise foi de 60-40 tons de cinza, e os valores do volume do tecido mineralizado ao redor dos implantes foram obtidos na forma de porcentagem (Paula et al., 2018). Também foram obtidos valores adicionais relacionados a número, espessura e separação das trabéculas ósseas (Tb.N, Tb.Th, Tb.Sp) (Fig. 4).

Figura 4: Procedimento de análise microtomográfica. Um primeiro software foi utilizado para reconstrução tridimensional e reposicionamento espacial da imagem (A). Um segundo software foi utilizado para determinar o ROI (B), o threshold (C) e para realizar a análise dos parâmetros (D).



Análise Estatística

Os dados desse estudo foram numéricos e tiveram sua distribuição normal confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados entre os grupos foram comparados por meio do teste de two-way anova complementado pelo teste de Tukey onde foram associados a relação dos efeitos do tempo e dos tratamentos. O software GraphPad Prism 8 (San Diego, USA) foi utilizado para análise inferencial dos dados desse estudo. Todos os testes foram aplicados ao nível de confiança de 95%.

Resultados

Resultados

Foi verificado que as áreas enxertadas irradiadas com o laser infra-vermelho tiveram maiores valores de BV/TV%, enquanto que as áreas irradiadas com laser vermelho apresentou maiores valores de Tb.N do que o grupo controle no período de 45 dias ($p < 0.05$). A combinação dos lasers vermelho e infra-vermelho promoveu maior BV/TV% e Tb.N do que o grupo CTR aos 45 dias ($p < 0.05$). O tratamento e o tempo influenciaram nos parâmetros de BV/TV% e de Tb.N de forma significativa ($p < 0.05$). As tabelas 1-4 expõe os dados de média e desvio padrão de BV/TV%, Tb.Th (mm), Tb.N(1/mm) e de Tb.Sp(mm), respectivamente.

Tabela 1: Dados de média e desvio padrão do BV/TV% em todos os grupos e períodos de avaliação.

* $p < 0.05$ Maiores valores de BV/TV do que o grupo CTR –Two-way anova complementado pelo teste de Tukey.

Grupos/Períodos	15 dias	45 dias
CTR	19.20 ± 4.14	19.40 ± 4.61
IRL	22.20 ± 12.19	28.60 ± 4.15*
RL	18.80 ± 3.96	22.00 ± 6.67
IRL-RL	22.60 ± 8.87	29.80 ± 3.49*

Formatado: À esquerda

Tabela 2: Dados de média e desvio padrão do Tb.Th(mm) em todos os grupos e períodos de avaliação.

Grupos/Períodos	15 dias	45 dias
CTR	18.08 ± 1.70	18.90 ± 1.96
IRL	19.77 ± 2.53	18.71 ± 0.67
RL	17.32 ± 0.95	18.96 ± 1.74
IRL-RL	19.49 ± 2.39	17.56 ± 0.95

Tabela 3: Dados de média e desvio padrão do Tb.N (1/mm) em todos os grupos e períodos de avaliação. *p<0.05 Maiores valores de Tb.N do que o grupo CTR – Two-way anova complementado pelo teste de Tukey.

Grupos/Períodos	15 dias	45 dias
CTR	0.023 ± 0.002	0.022 ± 0.004
IRL	0.030 ± 0.011	0.032 ± 0.008
RL	0.027 ± 0.004	0.034 ± 0.009*
IRL-RL	0.030 ± 0.008	0.034 ± 0.001*

Tabela 4: Dados de média e desvio padrão do Tb.Sp (mm) em todos os grupos e períodos de avaliação.

Grupos/Períodos	15 dias	45 dias
CTR	6.06 ± 0.76	7.05 ± 1.34
IRL	6.52 ± 0.80	6.38 ± 0.70
RL	5.56 ± 0.26	5.98 ± 0.49

IRL-RL

6.80 ± 0.94

6.15 ± 0.18

Discussão

Foi verificado nesse estudo que a laserterapia tem efeito na formação óssea ao redor de implantes instalados em áreas enxertadas com osso bovino desproteínizado, porém esse efeito foi dependente do comprimento de onda utilizado nesse estudo, o que confirma que o comprimento de onda é mais importante no estímulo na cicatrização do que a energia utilizada para bioestimulação, pois apesar dos efeitos distintos, os grupos testados fizeram uso da mesma dosagem de energia luminosa.

Formatado: Fonte: Não Negrito

Formatado: Recuo: Primeira linha: 1,25 cm

Formatado: Fonte: Não Negrito

Devido ao fato de áreas enxertadas com substitutos ósseos osteocondutores apresentarem limitações biológicas que refletem em uma osseointegração inferior comparado a áreas de osso nativo (Lima et al., 2022; Quiroz et al., 2022), terapias complementares que estimulem o processo de osseointegração nessas áreas são necessários, e a laserterapia em baixa intensidade tem se demonstrado uma terapia promissora tal como demonstrado em estudos anteriores e nesse estudo em que a aplicação da laserterapia com luz infra-vermelha aumentou a quantidade de tecidos mineralizados ao redor de implantes (Oliveira et al., 2020; Oliveira et al., 2021). Adicionalmente a isso foi observado um aumento do número de trabéculas da área enxertada ao redor dos implantes quando foi utilizado a laserterapia com a luz vermelha, resultado esse que está de acordo com o estímulo na cicatrização do tecido ósseo também já descrito com essa luz (Fonseca et al., 2022).

Devido ao fato de áreas enxertadas com substitutos ósseos osteocondutores apresentarem limitações biológicas que refletem em uma osseointegração inferior comparado a áreas de osso nativo (Lima et al., 2022; Quiroz et al., 2022), ~~Novas técnicas cirúrgicas e~~ terapias complementares são estudadas todos os dias para que o sucesso que estimulem o processo ~~de~~ osseointegração nessas áreas são necessários, e a laserterapia em baixa intensidade tem se demonstrado uma terapia promissora tal como demonstrado em estudos anteriores e nesse estudo em que a aplicação da laserterapia com luz infra-vermelha aumentou a quantidade de tecidos mineralizados ao redor de implantes (Oliveira et al., 2020; Oliveira et al., 2021). Adicionalmente a isso foi observado um aumento do número de trabéculas da área enxertada ao redor dos implantes quando foi utilizado a laserterapia com a luz vermelha, resultado esse que está de acordo com o estímulo na cicatrização do tecido ósseo também já descrito com essa luz (Fonseca et al., 2022).

Entretanto, apesar dos bons efeitos observados com os lasers de luz vermelha e infra-vermelha utilizada de forma isolada, foi notado que quando os mesmos foram utilizados de forma associada os efeitos no número das trabéculas e na quantidade de tecidos mineralizados ao redor dos implantes foi superior ao grupo controle, o que demonstrou uma sinergia devido a associação das luzes com

diferentes comprimentos de onda. O motivo de se associar os lasers com diferentes comprimentos de onda -devido ao laser vermelho ser melhor absorvido superficialmente e o laser infra-vermelho ter maior poder de penetrabilidade nos tecidos (Pereira et al., 2022) pode ser a razão para que a associação dos dois lasers ter induzido esse melhor padrão ósseo do que a utilização dos lasers vermelho e infra-vermelho de forma isolada.

Um fato importante observado nesse estudo é que a laserterapia em duplo comprimento de onda aumentou o número de trabéculas e a quantidade de tecidos mineralizados sem, no entanto, interferir no espaço e na espessura das trabéculas. É provável que essas variáveis sofram maiores interferências da estrutura do substituto ósseo utilizado, que por ser de baixa taxa de reabsorção mantem sua estrutura mesmo com o avanço do processo de cicatrização. O osso bovino desproteínizado é um material trabeculado e poroso, e as interferências de número de trabéculas deve ter ocorrido devido a formação óssea ao redor de suas partículas por osteocondução (Jansen et al., 2006).

Além disso, o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa

Além disso, o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa

Além disso, o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa

Além disso, o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa

Além disso, o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa

Além disso, o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa

Pe houve maior quantidade de trabéculas nos grupos RL e IRL RL que no grupo CTR?

Formatado: Fonte: Não Negrito

A laserterapia de baixa potência com laser vermelho apresenta uma grande influência na microestrutura do tecido ósseo quando realizada irradiação transeirúrgica potencializando fatores como proliferação, migração e diferenciação de osteoblastos. Conseqüentemente, sua irradiação associada ao laser infravermelho, também possui influência nesses fatores.

Além disso,

Formatado: Fonte: Não Negrito

o fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa necessariamente que o osso é de boa qualidade. Um osso extremamente mineralizado e com baixa quantidade de trabéculas representa um osso com menor vascularização e baixa resistência à compressão. Por outro lado, um osso com baixo conteúdo mineral e excesso de trabéculas representa um osso mais propício a fraturas e baixa capacidade de proteção (Morgan et al., 2018). Sendo assim, um osso de qualidade é um osso com uma boa quantidade de conteúdo mineral e com uma ideal porcentagem de osso trabeculado. Estudos adicionais serão necessários para determinar se esses resultados observados nesse estudo refletem em uma melhor condição do tecido ósseo reparado e se existe benefícios ao processo de osseointegração.

~~As trabéculas ósseas são as lacunas formadas pelas conexões irregulares entre as lamínulas ósseas. Dessa forma, o número de trabéculas é inversamente proporcional à quantidade de tecido mineralizado, uma vez que essas trabéculas são espaços vazios que comportam a medula e não conteúdo mineral.~~

Formatado: Fonte: Não Negrito

~~O fato de ter maior quantidade de tecidos mineralizados representa melhor formação de osso?~~

O fato de haver uma maior quantidade de tecido mineralizado não significa necessariamente que o osso é de boa qualidade. Um osso extremamente mineralizado e com baixa quantidade de trabéculas representa um osso com menor vascularização e baixa resistência à compressão. Por outro lado, um osso com baixo conteúdo mineral e excesso de trabéculas representa um osso mais propício a fraturas e baixa capacidade de proteção (Morgan et al., 2018). Sendo assim, um osso de qualidade é um osso com uma boa quantidade de conteúdo mineral e com uma ideal porcentagem de osso trabeculado. Estudos adicionais serão necessários para determinar se esses resultados observados

nesse estudo refletem em uma melhor condição do tecido ósseo reparado e se existe benefícios ao processo de osseointegração.

Esse estudo apresenta limitações inerentes a ausência dos dados histológicos para avaliação do processo de osseointegração que não é possível de ser executado apenas por meio de análises microtomográficas. Além disso, serão necessários mais estudos para que sejam definidos parâmetros de protocolos de irradiação e de análise das amostras, tais como número sessões de irradiação e valores de threshold ideais para reduzir a formação de artefatos e para identificar melhor os diferentes componentes dos tecidos mineralizados.

Pq houve resultados diferentes entre os tipos de lasers testados nesse estudo?

~~Diversos fatores influenciam nos resultados de terapias com laser de baixa intensidade, número de sessões, potência do aparelho, densidade de energia e comprimento de onda do laser. Como o protocolo de irradiação foi semelhante para todos os grupos, apenas o comprimento de onda do laser foi diferente sendo que foram utilizados laser vermelho (λ 600nm), infravermelho (λ 808nm) e combinado (λ 600 λ 808nm). Dessa forma, sabemos que o laser infravermelho possui uma alta penetrabilidade tecidual influenciando no volume total de mineralização do tecido, enquanto que, o laser vermelho possui uma baixa penetrabilidade tecidual e possui maior influência na microestrutura e arquitetura do tecido ósseo. Com a combinação dos dois tipos de laser, utilizando uma única irradiação no transcirúrgico, esse trabalho mostrou que temos como resultado ambos os efeitos dos dois diferentes tipos de laser.~~

Limitações

Esse estudo apresenta limitações inerentes a ausência dos dados histológicos para avaliação do processo de osseointegração que não é possível de ser executado apenas por meio de análises microtomográficas. Além disso, serão~~São~~ necessários mais estudos para que sejam definidos

Formatado: Recuo: Primeira linha: 1,25 cm

parâmetros de protocolos de irradiação e de análise das amostras, tais como número sessões de irradiação e valores de threshold ideais para reduzir a formação de artefatos e para identificar melhor [diferentes estruturas os diferentes componentes dos tecidos mineralizados.](#)

Conclusão

Conclusão

Conclusão ~~do estudo~~

Pode-se concluir que a combinação dos lasers vermelho e infra-vermelho aumenta a quantidade de tecidos mineralizados que foi associado ao aumento do número de trabéculas ao redor de implantes instalados em áreas enxertadas com osso bovino desproteínizado.

Referências bibliográficas

- 1) Araújo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava F. Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontol 2000*. 2015 Jun;68(1):122-34.
- 2) Simonis P, Dufour T, Tenenbaum H. Long-term implant survival and success: a 10-16-year follow-up of non-submerged dental implants. *Clin Oral Implants Res*. 2010 Jul;21(7):772-7.
- 3) Mendoza-Azpur G, de la Fuente A, Chavez E, Valdivia E, Khoully I. Horizontal ridge augmentation with guided bone regeneration using particulate xenogenic bone substitutes with or without autogenous block grafts: A randomized controlled trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019 Aug;21(4):521-530.
- 4) de Oliveira GJPL, Aroni MAT, Pinotti FE, Marcantonio E Jr, Marcantonio RAC. Low-level laser therapy (LLL) in sites grafted with osteoconductive bone substitutes improves osseointegration. *Lasers Med Sci*. 2020 Sep;35(7):1519-1529.

- 5) Spin-Neto R, Stavropoulos A, Coletti FL, Pereira LA, Marcantonio E Jr, Wenzel A. Remodeling of cortical and corticocancellous fresh-frozen allogeneic block bone grafts--a radiographic and histomorphometric comparison to autologous bone grafts. *Clin Oral Implants Res.* 2015 Jul;26(7):747-52.
- 6) Hartlev J, Erik Nørholt S, Spin-Neto R, Kraft D, Schou S, Isidor F. Histology of augmented autogenous bone covered by a platelet-rich fibrin membrane or deproteinized bovine bone mineral and a collagen membrane: A pilot randomized controlled trial. *Clin Oral Implants Res.* 2020 Aug;31(8):694-704.
- 7) Nkenke E, Neukam FW. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. *Eur J Oral Implantol.* 2014 Summer;7 Suppl 2:S203-17.
- 8) Pignaton TB, Wenzel A, Ferreira CEA, Borges Martinelli C, Oliveira GJPL, Marcantonio E Jr, Spin-Neto R. Influence of residual bone height and sinus width on the outcome of maxillary sinus bone augmentation using anorganic bovine bone. *Clin Oral Implants Res.* 2019 Apr;30(4):315-323.
- 9) Pignaton TB, Spin-Neto R, Ferreira CEA, Martinelli CB, de Oliveira GJPL, Marcantonio E Jr. Remodelling of sinus bone grafts according to the distance from the native bone: A histomorphometric analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2020 Oct;31(10):959-967.
- 10) Carmagnola D, Adriaens P, Berglundh T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Apr;14(2):137-43.
- 11) Danesh-Sani SA, Wallace SS, Movahed A, El Chaar ES, Cho SC, Khouly I, Testori T. Maxillary Sinus Grafting With Biphasic Bone Ceramic or Autogenous Bone: Clinical, Histologic, and Histomorphometric Results From a Randomized Controlled Clinical Trial. *Implant Dent.* 2016 Oct;25(5):588-93.
- 12) Kim HJ, Chung JH, Shin SY, Shin SI, Kye SB, Kim NK, Kwon TG, Paeng JY, Kim JW, Oh OH, Kook MS, Yang HJ, Hwang SJ. Efficacy of rhBMP-2/Hydroxyapatite on Sinus Floor

- Augmentation: A Multicenter, Randomized Controlled Clinical Trial. *J Dent Res.* 2015 Sep;94(9 Suppl):158S-65S.
- 13) Pichotano EC, de Molon RS, de Souza RV, Austin RS, Marcantonio E, Zandim-Barcelos DL. Evaluation of L-PRF combined with deproteinized bovine bone mineral for early implant placement after maxillary sinus augmentation: A randomized clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019 Apr;21(2):253-262.
- 14) Fávoro-Pípi E, Feitosa SM, Ribeiro DA, Bossini P, Oliveira P, Parizotto NA, Renno AC. Comparative study of the effects of low-intensity pulsed ultrasound and low-level laser therapy on bone defects in tibias of rats. *Lasers Med Sci.* 2010 Sep;25(5):727-32.
- 15) Moreira GS, Machado Alves PH, Esper LA, Sbrana MC, da Silva Dalben G, Neppelenbroek KH, Fraga de Almeida ALP. Effect of Low-Level Laser on the Healing of Bone Defects Filled with Autogenous Bone or Bioactive Glass: In Vivo Study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2018 Jan/Feb;33(1):169-174.
- 16) Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Aug;18(4):517-24.
- 17) Freddo AL, Rodrigo SM, Massotti FP, Etges A, de Oliveira MG. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep;24(5):721-8.
- 18) Garcia VG, Sahyon AS, Longo M, Fernandes LA, Gualberto Junior EC, Novaes VC, Ervolino E, de Almeida JM, Theodoro LH. Effect of LLLT on autogenous bone grafts in the repair of critical size defects in the calvaria of immunosuppressed rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014 Oct;42(7):1196-202.

19) Garcia VG, Gualberto EC Júnior, Ervolino E, Nagata MJH, de Almeida JM, Theodoro LH. aPDT for periodontitis treatment in ovariectomized rats under systemic nicotine. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2018 Jun;22:70-78.

20) de Paula LGF, Lopes de Oliveira GJP, Pinotti FE, Grecchi BB, de Aquino SG, Chiérici Marcantonio RA. Effect of Avocado/Soybean Unsaponifiables (ASU) on Osseointegration in Rats with Experimental Arthritis. Int J Oral Maxillofac Implants. 2018 May/Jun;33(3):603-612.

[21\) Scalize PH, de Sousa LG, Gonçalves LMN, Pitol DL, Palinkas M, Coppi AA, Righeti MA, Ricardo V, Bombonato-Prado KF, Regalo SCH, Siessere S. Low-level laser therapy enhances the number of osteocytes in calvaria bone defects of ovariectomized rats. Animal Model Exp Med. 2019 Feb 21;2\(1\):51-57. doi: 10.1002/ame2.12056. PMID: 31016287; PMCID: PMC6431244.](#)

[22\) Lima JR, Soares PBF, Pinotti FE, Marcantonio RAC, Marcantonio-Junior E, de Oliveira GJPL. Comparison of the osseointegration of implants placed in areas grafted with HA/TCP and native bone. Microsc Res Tech. 2022 Apr 9. doi: 10.1002/jemt.24126. Epub ahead of print. PMID: 35397154.](#)

[23\) Quiroz VF, Lima JR, Pinotti FE, Marcantonio RAC, Marcantonio-Junior E, de Oliveira GJPL. Comparison of osseointegration in areas grafted with deproteinized bovine bone and native bone. A preclinical study. Acta Odontol Latinoam. 2022; 35\(1\):3-9. doi: <https://doi.org/10.54589/aol.35/1/3>.](#)

[24\) Oliveira GJPL, Pinotti FE, Aroni MAT, Marcantonio E Jr, Marcantonio RAC. Effect of different low-level intensity laser therapy \(LLL\) irradiation protocols on the osseointegration of implants placed in grafted areas. J Appl Oral Sci. 2021 Apr 14;29:e20200647. doi: 10.1590/1678-7757-2020-0647. PMID: 33886940; PMCID: PMC8054649.](#)

Formatado: Cor da fonte: Automática, Inglês (Estados Unidos), Padrão: Transparente

Formatado: Cor da fonte: Automática, Inglês (Estados Unidos), Padrão: Transparente

- [25\) da Fonseca GAMD, Cavalcanti MFXB, de Souza Maior JD, da Silva Pereira J, Pinto LA, Matias M, Frigo L. Laser-photobiomodulation on titanium implant bone healing in rat model: comparison between 660- and 808-nm wavelength. Lasers Med Sci. 2022 Jun;37\(4\):2179-2184. doi: 10.1007/s10103-021-03481-0. Epub 2022 Jan 14. PMID: 35028766.](#)
- [26\) Pereira DA, Mendes PGJ, de Souza Santos S, de Rezende Barbosa GL, Pessoa RSE, de Oliveira GJPL. Effect of the association of infra-red and red wavelength photobiomodulation therapy on the healing of post-extraction sockets of third lower molars: a split-mouth randomized clinical trial. Lasers Med Sci. 2022 Jan 26. doi: 10.1007/s10103-022-03511-5. Epub ahead of print. PMID: 35079918.](#)
- [27\) Jensen SS, Broggin N, Hjørtting-Hansen E, Schenk R, Buser D. Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. Clin Oral Implants Res. 2006 Jun;17\(3\):237-43. doi: 10.1111/j.1600-0501.2005.01257.x. PMID: 16672017.](#)
- [21\)28\) Morgan EF, Unnikrisnan GU, Hussein AI. Bone Mechanical Properties in Healthy and Diseased States. Annu Rev Biomed Eng. 2018 Jun 4;20:119-143. doi: 10.1146/annurev-bioeng-062117-121139. PMID: 29865872; PMCID: PMC6053074.](#)



Universidade Federal de Uberlândia
- Comissão de Ética na Utilização de Animais -



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Efeito da laserterapia em dupla irradiação sobre a osseointegração de implantes em áreas de osso nativo e enxertada." protocolo nº 011/20, sob a responsabilidade de **Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **03 de Julho de 2020**.

(We certify that the project entitled "Efeito da laserterapia em dupla irradiação sobre a osseointegração de implantes em áreas de osso nativo e enxertada", protocol 011/20, under the responsibility of **Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of **July 03th, 2020**.)

Vigência do Projeto	Início: 20/03/2020 Término: 20/12/2020
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Rato heterogêneo Wistar
Número de animais	84
Peso / Idade	250-300 gramas/ 3 meses
Sexo	Macho
Origem / Local	Os animais serão adquiridos e mantidos no Centro de Bioterismo e Experimentação Animal (REBIR)
Local onde serão mantidos os animais:	REBIR

Uberlândia, 06 de Julho de 2020.


Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Comissão de Ética na Utilização de Animais /UFU
Coordenador da CEUA
Portaria Nº 1234 DE 01 DE OUTUBRO DE 2019