

**FABÍOLA BASTOS DE CARVALHO**

**Avaliação da fotobiomodulação Laser ( $\lambda$  780nm) no  
reparo de reimplantes dentários em ratos**



**PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
Área de Concentração: Laser em Odontologia**

**Salvador  
2013**

**FABÍOLA BASTOS DE CARVALHO**

**Avaliação da fotobiomodulação Laser ( $\lambda$  780nm) no reparo de reimplantes dentários em ratos**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia UFPB-UFBA, como um dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Odontologia.**

**Área de concentração: Laser em Odontologia  
Linha de pesquisa: Biomodulação do reparo tecidual**

**Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr. Luciana Maria Pedreira Ramalho  
Prof. Dr. Antônio Luiz Barbosa Pinheiro**

**SALVADOR  
2013**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA.

C331 Carvalho, Fabíola Bastos de  
Avaliação da fotobiomodulação Laser ( $\lambda$  780nm) no reparo  
de reimplantes dentários em ratos / Fabíola Bastos de Carvalho.  
– Salvador, 2013.  
90 f.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana Maria Pedreira Ramalho.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia.  
Faculdade de Odontologia, 2013.

1. Odontologia. 2. Traumatismos Dentários. 3. Terapia a  
Laser. I. Ramalho, Luciana Maria Pedreira. II. Universidade  
Federal da Bahia. III. Título.

CDU 616.314

**FABÍOLA BASTOS DE CARVALHO**

**Avaliação da fotobiomodulação Laser ( $\lambda$  780nm) no reparo de reimplantes dentários em ratos**

**Salvador, 12 de setembro de 2013.**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Doutor Luciana Maria Pedreira Ramalho – Orientadora – UFBA

---

Prof. Doutor Jean Nunes dos Santos – Membro - UFBA

---

Prof. Doutor Mário Tanomaru Filho – Membro - FOAr - UNESP

---

Prof. Doutor Gustavo Pina Godoy – Membro - UEPB

---

Prof<sup>a</sup>. Doutor Maria Amália Gonzaga Ribeiro – Membro - UFS

## *DEDICATÓRIA*

Dedico este trabalho...

À minha mãe **Nilza**, por estar sempre ao meu lado apoiando e incentivando minhas decisões, sem medir esforços para que os meus sonhos se concretizem. Agradeço por compartilhar com os meus ideais.

Ao meu esposo **Luis**, pelo apoio, carinho, amor, conselhos e amizade, tudo isso foi e é fundamental na minha vida pessoal e profissional. Obrigado pela paciência ao longo desta caminhada.

## ***AGRADECIMENTOS ESPECIAIS***

A **Deus**, pela presença constante em minha vida, sem ele não teria tido forças para superar as dificuldades.

A minha família.... **Avó, pai, tias, tios, primos, afilhada, sogra e cunhada**, que sempre me incentivaram e apoiaram. Que minha ausência durante a realização desse trabalho possa ter sido compreendida.

## ***AGRADECIMENTOS***

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. **Luciana Ramalho**, pela amizade, dedicação e competência com que me auxiliou na elaboração deste trabalho. Agradeço pela confiança em mim depositada.

Ao Prof. **Antônio Pinheiro**, pela oportunidade e confiança. Tenho admiração pela sua grande determinação científica. Foi muito bom fazer parte da “Turma luminosa”.

Ao Prof. **Jean Nunes**, por ter disponibilizado parte do seu tempo para me ajudar com as fotomicrografias. Obrigada pelas valiosas sugestões que tanto contribuíram para este trabalho.

A Prof<sup>a</sup>. **Maria Cristina Cangussú**, que com sua capacidade, presteza e paciência, contribuiu na realização da análise estatística.

A Prof<sup>a</sup>. **Aparecida Marques**, pelo conhecimento e por ter se mostrado sempre atenciosa, desde o processo de seleção até a conclusão deste curso.

Ao Prof. **Márcio Aguiar**, pela inestimável ajuda na execução da parte experimental deste trabalho. Agradeço pela confiança, disponibilidade e atenção.

A **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia**, nas pessoas de seus diretores no período de realização desse trabalho, Prof<sup>a</sup>. **Maria Isabel Vianna** e Prof. **Marcel Arriaga**, pela oportunidade de crescimento profissional.

Aos chefes do departamento de Clínica Odontológica no período de realização desse trabalho, Prof. **Roberto Azevedo** e Prof. **André Freitas**, pelo constante incentivo e apoio para que eu pudesse realizar este curso.

Aos **docentes do Programa Integrado de Pós-graduação UFPB-UFBA**, pelos ensinamentos, convivência e amizade dedicados.

Aos meus colegas de Doutorado **Guilherme Soares, Isabele de Castro, Joubert Aciole, Cristiane Becher e João Reis**. Foram momentos de alegrias, dúvidas, inseguranças, aprendizado... que cada um a sua maneira soube superar e transformar em algo que fizesse crescer. Agradeço pela amizade e experiências vividas.

Ao meu amigo **Artur Barbosa**, “Não há prazer comparável ao de encontrar um velho amigo, a não ser o de fazer um novo.” (Rudyard Kipling). Obrigada pelo apoio sempre.

Aos colegas de pós-graduação **Gilberth Aciole e Máira Costa Lino**, por terem compartilhado comigo parte de suas teses, possibilitando minha participação em eventos científicos, tão importantes para a conclusão deste doutorado.

As pós-doutorandas **Nicole Ribeiro, Priscila Chagas, Ana Paula Cavalcanti, Carolina Montagn, Juliana Monteiro e Susana Sampaio**, pelo convívio, ensinamentos e amizade.

Aos **estagiários do Centro de Biofotônica da FOUFBA**, pela colaboração e apoio na realização da parte experimental desse trabalho. Agradeço também os alegres momentos de descontração, imprescindíveis nessa jornada.

Ao Prof. **Sílvio Albergaria**, seu incentivo foi essencial para que eu iniciasse esse doutorado, e hoje estou aqui, radiante por tê-lo concluído. Agradeço o apoio e por sempre estar torcendo por mim.



Aos colegas da disciplina de **Endodontia da FOUFBA**, Prof<sup>a</sup>. **Fátima Malvar**, Prof<sup>a</sup>. **Erika Carapiá**, Prof<sup>a</sup>. **Roberta Giffoni**, Prof<sup>a</sup>. **Erica Carvalho**, Prof<sup>a</sup>. **Rosângela Torres**, Prof<sup>a</sup>. **Mara Bittencourt** e a secretária **Lívia Rodrigues**, pela amizade e incentivo constante, obrigada por estarem sempre disponíveis, contribuindo para a conclusão deste curso.

Aos colegas do curso de **Especialização em Endodontia da Associação Brasileira de Endodontia – Ba**, **Giovanna Bendocchi Alves**, **Ednaldo de Jesus Filho** e **Luis Rasquin**, pela inestimável amizade, carinho e incentivo constante.

Aos **funcionários da FOUFBA**, que de maneira direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho.

A **CAPES** - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela colaboração científica e financeira.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho. Muito obrigada!

---

## SUMÁRIO

---

<b>LISTA DE QUADROS E TABELAS</b>	
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b>	
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	19
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	21
2.1 Reimplante dental	21
2.2 Reabsorção radicular externa	27
2.3 Fototerapia laser	30
2.4 Resposta celular frente à Fototerapia laser	34
2.5 Reimplante dental X Fototerapia laser	36
<b>3. PROPOSIÇÃO</b>	38
3.1. Objetivo geral	38
3.2. Objetivos específicos	38
<b>4. MATERIAS E MÉTODOS</b>	39
4.1 Respaldo ético da pesquisa	39
4.2 Amostra	39
4.3 Distribuição dos grupos	40
4.4 Etapa cirúrgica	41
4.5 Protocolo de irradiação	46
4.6 Morte dos animais e obtenção das amostras	48
4.7 Exame histológico	50
<b>5. RESULTADOS</b>	52
5.1 Análise histológica	52
5.1.1 Análise descritiva	52
5.1.2 Análise estatística	60
<b>6. DISCUSSÃO</b>	69
<b>7. CONCLUSÃO</b>	78
<b>REFERÊNCIAS</b>	79
<b>ANEXO A</b>	92

---

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**

---

Tabela 01	Distribuição dos grupos de estudo (CARVALHO, 2013).	38
Tabela 02	Critérios semi-quantitativos usados para análise histológica do terço médio da face lingual do dente reimplantado (CARVALHO, 2013).	49

---

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 01	Instrumentos utilizados para extração (CARVALHO, 2013)	40
Figura 02	Luxação do incisivo superior direito (CARVALHO, 2013)	40
Figura 03	Extração do incisivo superior direito (CARVALHO, 2013)	40
Figura 04	Dispositivo utilizado para que o incisivo permanecesse em meio seco (CARVALHO, 2013)	41
Figura 05	Incisivo superior direito sendo colocado no leite (CARVALHO, 2013)	42
Figura 06	Aparelho utilizado para a realização da fototerapia laser (Twinflex Evolution, MMOptics, São Carlos, SP, Brasil) (CARVALHO, 2013)	44
Figura 07	Vista frontal da irradiação na superfície dentária. Ponteira presa ao suporte (CARVALHO, 2013)	45
Figura 08	Irradiação laser na entrada do alvéolo (CARVALHO, 2013)	45
Figura 09	Irradiação laser na mucosa palatina (CARVALHO, 2013)	46
Figura 10	Irradiação laser na mucosa vestibular (CARVALHO, 2013)	46
Figura 11	Aspecto da hemimaxila direita com o incisivo reimplantado (CARVALHO, 2013)	47
Figura 12	Fotomicrografia do grupo experimental G1 15 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, de anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	51
Figura 13	Fotomicrografia do grupo experimental G1 30 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	51
Figura 14	Fotomicrografia do grupo experimental G1 60 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR), anquilose (A). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	52
Figura 15	Fotomicrografia do grupo experimental G2 15 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular e anquilose.	53

	Dentina (D); Ligamento periodontal (LP) (CARVALHO, 2013)	
Figura 16	Fotomicrografia do grupo experimental G2 30 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	53
Figura 17	Fotomicrografia do grupo experimental G2 60 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	54
Figura 18	Fotomicrografia do grupo experimental G3 15 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	55
Figura 19	Fotomicrografia do grupo experimental G3 30 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	55
Figura 20	Fotomicrografia do grupo experimental G3 60 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	56
Figura 21	Fotomicrografia do grupo experimental G4 15 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	57
Figura 22	Fotomicrografia do grupo experimental G4 30 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	57
Figura 23	Fotomicrografia do grupo experimental G4 60 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR), anquilose (A). Dentina (D); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013)	58
Gráfico 01	Representação gráfica da presença da inflamação: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	59
Gráfico 02	Representação gráfica da presença dos osteoclastos:	59

comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)

Gráfico 03	Representação gráfica da presença de anquilose: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	60
Gráfico 04	Representação gráfica da presença de reabsorção radicular inflamatória: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).	60
Gráfico 05	Representação gráfica da presença da inflamação: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	61
Gráfico 06	Representação gráfica da presença dos osteoclastos: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	62
Gráfico 07	Representação gráfica da presença de anquilose: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	62
Gráfico 08	Representação gráfica da presença de reabsorção radicular inflamatória: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	63
Gráfico 09	Representação gráfica da presença da inflamação: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	64
Gráfico 10	Representação gráfica da presença dos osteoclastos: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	64
Gráfico 11	Representação gráfica da presença de anquilose: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	65
Gráfico 12	Representação gráfica da presença de reabsorção radicular inflamatória: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013)	65

---

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

AsGaAl	Arseneto de Gálio e Alumínio
ATP	Adenosina-trifosfato
CEEA	Comissão de Ética na Experimentação Animal
cm	Centímetro
cm <sup>2</sup>	Centímetros quadrados
CW	<i>Continuous wave</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
FBML	Fotobiomodulação Laser
FOUFBA	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia
g	Gramma
g%	Gramas de soluto
h	Hora
HBSS	Solução salina balanceada de Hanks
HE	Hematoxilina-eosina
InGaAl	Índio Gálio e Alumínio
J/cm <sup>2</sup>	Joules por centímetros quadrados
Laser	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mW	Miliwatts
min	Minuto
mOSM/L	Miliosmolares por litro
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
nm	Nanômetros
pH	Potencial de hidrogênio
RNA	Ácido ribonucleico
t	Tempo
UHT	<i>Ultra-high temperature</i>
UI	Unidade internacional
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
$\lambda$	Comprimento de onda
$\mu\text{m}$	Micrometro
$\Phi$	Diâmetro do <i>Spot</i>

## RESUMO

O reimplante dentário é o tratamento de escolha nos casos de traumatismos com avulsão. Entretanto, seu sucesso é limitado, pois grande parte dos dentes é perdida devido à reabsorção radicular progressiva. O prognóstico depende dos procedimentos realizados antes e após o reimplante. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar por meio de análise histológica em microscopia de luz, o efeito da fotobiomodulação laser, antes e após reimplante dentário, no reparo tecidual em incisivos de ratos. Para tanto foram utilizados 60 ratos *Wistar albinus*, que tiveram o incisivo superior direito extraído, e em seguida divididos em 4 grupos (G1 – extração, permanência do dente em meio seco por 40 minutos e reimplante, G2 – extração, conservação do dente em leite por 40 minutos e reimplante, G3 - extração, conservação do dente em leite por 40 minutos, irradiação laser AsGaAl na superfície dentária e na entrada do alvéolo ( $\lambda = 780\text{nm}$ ;  $P = 70\text{mW}$ ; CW;  $21\text{J}/\text{cm}^2$  por tratamento) seguida de reimplante, G4 - extração, conservação do dente em leite por 40 minutos, irradiação laser AsGaAl na superfície dentária e na entrada do alvéolo nos mesmos parâmetros do G3, seguido de reimplante. No G4 após reimplante a mucosa vestibular e palatina correspondente a raiz do dente reimplantado recebeu irradiação laser ( $\lambda = 780\text{nm}$ ;  $P = 70\text{mW}$ ; CW;  $8,4\text{J}/\text{cm}^2$  por sessão a cada 48 horas por 15 dias). A morte dos animais ocorreu após 15, 30 e 60 dias do reimplante. A hemimaxila direita foi removida, fixada em solução de formalina a 10% e processada histologicamente. Foram obtidos cortes longitudinais de  $5\mu\text{m}$ , os quais foram corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina e avaliados quanto a presença de reabsorções radiculares externas, anquilose, osteoclastos e inflamação. Aos 15 dias o G4 demonstrou inflamação crônica mais intensa, com presença de células clásticas e reabsorção radicular inflamatória moderada, com diferenças estatísticas ( $p=0,04$ ) quando comparado ao G3, no qual foi observada a ausência desses parâmetros. Aos 30 dias nos Grupos 1, 2 e 4 foi observada inflamação crônica discreta a moderada e reabsorção radicular severa. O G3 permaneceu com ausência de inflamação e reabsorção radicular inflamatória nos períodos de 30 e 60 dias. Concluiu-se que a fotobiomodulação laser na superfície dentária e na entrada do alvéolo antes do reimplante, favoreceu o processo de reparo de reimplante dentário em ratos, quando comparado aos demais grupos.

**Palavras-chave:** Reabsorção da raiz, Traumatismos dentários, Terapia a laser de baixa intensidade.



## ABSTRACT

The tooth replantation is the treatment of choice in cases of trauma with avulsion. However its success is limited, since much of the tooth is lost due to progressive root resorption. The outcome depends on the procedures performed before and after replantation. Thus, the aim of this study was to evaluate through histological analysis by light microscopy the effect of laser photobiomodulation before and after tooth replantation, on tissue repair in rats incisors. Therefore, we used 60 Wistar *albinus*, who had right upper incisor extracted, and then divided into 4 groups (G1 – extraction, tooth in dry storage for 40 minutes and replantation, G2 – extraction, tooth preserved in milk for 40 minutes and replantation, G3 - extraction, tooth preserved in milk for 40 minutes, GaAIAs laser irradiation on the tooth surface and at the entrance of the alveolus ( $\lambda = 780\text{nm}$ ;  $P = 70\text{mW}$ ; CW;  $21\text{J}/\text{cm}^2$  per treatment) followed by replantation, G4 - extraction, tooth preserved in milk for 40 minutes, GaAIAs laser irradiation on the tooth surface and at the entrance of the alveolus in the same parameters as the G3, followed by replantation. In the G4 after replantation buccal and palatal mucosa corresponding to the root of the tooth reimplanted received laser irradiation ( $\lambda = 780\text{nm}$ ;  $P = 70\text{mW}$ ; CW;  $8.4\text{J}/\text{cm}^2$  per session every 48 hours for 15 days). The death of the animals was performed after 15, 30 and 60 days after replantation. The hemi right jaw was removed, fixed in formalin 10% and histologically processed. Were obtained longitudinal sections of  $5\mu\text{m}$  which were stained with Hematoxylin and Eosin and evaluated for the presence of external root resorption, ankylosis, osteoclasts and inflammation. At 15 days the G4 showed intense chronic inflammation, with the presence of clastic cells and moderate inflammatory root resorption, with differences ( $p=0.04$ ) when compared to G3 in which was observed the absence of these parameters. At 30 days in Groups 1, 2 and 4 was observed chronic inflammation of mild to moderate and severe root resorption. G3 remained with no inflammation and inflammatory root resorption in periods of 30 and 60 days. It was concluded that laser photobiomodulation on tooth surface and at the entrance of the alveolus before replantation, improved the repair process after tooth replantation in rats, when compared to other groups.

**Keywords:** Root resorption, Tooth injuries, Laser therapy, Low-Level.



---

## 1. INTRODUÇÃO

---

Os traumatismos dentários são caracterizados como consequências dos acidentes que afetam os dentes, e são muito comuns na infância. Suas consequências vão desde pequenas fraturas coronárias, até o completo deslocamento do dente do seu alvéolo, o que caracteriza a avulsão dentária (MORI *et al.*, 2007). A prevalência da avulsão varia de 0,5% a 16% de todos os casos de trauma dental (BAGINSKA e WILCZYNSKA-BORAWSKA, 2012). O melhor procedimento para o tratamento da avulsão dentária é o reimplante, ou seja, o reposicionamento do dente em seu alvéolo, o que permite o restabelecimento da estética e função (ANDREASEN; LAURIDSEN; ANDREASEN, 2010).

A reabsorção radicular é a consequência mais frequente da avulsão e posterior reimplante, seu aparecimento está na dependência de alguns fatores como, tempo de permanência extra alveolar, meio de conservação do dente, contaminação microbiana e estágio de formação radicular. A preservação da vitalidade das células do ligamento periodontal e dos cementoblastos nos dentes avulsionados constitui um dos elementos chaves para um bom prognóstico (DONALDSON e KINIRONS, 2001).

De acordo com Consolaro, 2005 o controle da inflamação e do reparo no periodonto em que foi realizada a reimplantação tem grande importância. A persistência da inflamação por longos períodos implica o estabelecimento de um ambiente tecidual desfavorável e estimulador da reabsorção dentária.

A regeneração do ligamento periodontal é o resultado mais esperado para o reimplante dentário. Todos os protocolos de tratamento propostos tem o

objetivo de evitar ou minimizar o processo inflamatório, o qual é diretamente proporcional a extensão do dano periodontal e da infecção pulpar (POI *et al.*, 2007).

O controle do tempo em que o dente avulsionado permanece fora do seu alvéolo e sua manutenção em meio de conservação adequado, durante este período, podem favorecer o prognóstico do reimplante. O ideal é que este procedimento seja realizado imediatamente após o trauma (KEKLIKOGU e ASCI, 2006), entretanto na prática nem sempre isso é possível.

Na busca por procedimentos que possam minimizar edema, inflamação e estimular a cicatrização por meio da biomodulação celular, muitas são as terapias que surgem, sendo a utilização do laser uma delas.

Os possíveis benefícios da terapia laser de baixa potência no reparo após reimplante dentário tem sido considerados, baseados em uma série de efeitos biológicos como aumento da circulação local (RIBEIRO *et al.*, 2004), proliferação de fibroblastos (KREISLER *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2010; SAMPAIO *et al.*, 2013), aumento da síntese de colágeno (PUGLIESE *et al.*, 2003; PARKER, 2007) e estimulação de macrófagos e linfócitos (TIMLIN; CARDEN; MORRIS, 1999), que culminam no processo chamado fotobiomodulação laser.

O objetivo desse estudo foi avaliar por meio de análise histológica o efeito da fotobiomodulação laser ( $\lambda$  780nm) no reparo tecidual, quando aplicada antes e após reimplante dentário em ratos Wistar *albinus*.

---

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

### 2.1 – Reimplante dental

Estudos de Trope, 2002; Andreasen *et al.*, 2002; Chappuis e Von Arx, 2005; Pohl; Filippi; Kirschner, 2005 a, b; Tzigkounakis *et al.*, 2008 e Petrovic *et al.*, 2010 mostram que a avulsão é uma das mais graves lesões dentárias, e o prognóstico é muito dependente das ações tomadas no local do acidente e imediatamente após o trauma. Os principais fatores etiológicos são as brigas e os esportes e os incisivos centrais superiores são os dentes mais atingidos, por serem mais protruídos que os inferiores, recebendo primeiramente o trauma (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001).

O reimplante é o tratamento de escolha principalmente em crianças e adolescentes em que o crescimento facial e o desenvolvimento psicossocial são críticos, e consiste em reposicionar o dente em seu alvéolo após avulsão, mantendo a unidade dentária no arco, para a execução de um tratamento conveniente posterior (ANDERSSON *et al.*, 2012).

Para um prognóstico favorável, a manutenção da vitalidade das células do ligamento periodontal é de extrema importância e o reimplante imediato é a melhor opção. Porém essa conduta nem sempre ocorre, seja por conta da dimensão de trauma, que coloca em risco a vida do paciente, ou à complexidade do dano na área, e ainda a falta de conhecimento sobre a possibilidade do reimplante (FLORES *et al.*, 2007).

O tempo de um dente avulsionado fora do alvéolo é inversamente proporcional à possibilidade de sucesso, ou seja, ausência de reabsorção radicular externa inflamatória. Em 1970, Groper e Bernick analisaram dentes de

cães reimplantados variando os tempos extra-alveolar (0, 10, 15 e 30 min.; 1, 3, 8 e 24 horas) e concluíram que quanto maior for o tempo extra-alveolar, pior o prognóstico e que a partir de 1h, a possibilidade de reparo diminui significativamente.

Andersson; Bodin; Sorensen, 1989 em um estudo com 151 pacientes, concluíram que dentes reimplantados após 60 minutos irão sofrer anquilose e reabsorção dentro de 3-7 anos em pacientes jovens (8-16 anos), enquanto dentes reimplantados em condições semelhantes em pacientes mais velhos (17 a 39 anos) podem permanecer em funcionamento durante um tempo maior.

Pettiette *et al.*, 1997 observaram uma melhor cicatrização após 30 min., em meio seco quando comparado com 45 e 60 minutos, os quais não foram diferentes estatisticamente entre si. Boyd; Kinirons; Gregg (2000) ao examinarem os fatores associados com o início da reabsorção em incisivos humanos reimplantados, puderam observar que a maior prevalência ocorreu em dentes reimplantados após 1h e meia quando comparados aos que permaneceram em meio seco não mais que 30 minutos.

Em 2010 Petrovic *et al.*, avaliaram os fatores associados a avulsão, seu tratamento e prognóstico em 51 crianças. Observaram que o tempo extra alveolar que obteve resultados mais favoráveis de cicatrização estava no prazo de até 1h após o acidente. Altas taxas de reabsorção inflamatória foram detectadas em dentes cuja duração extra-alveolar foi superior a 60 min. De acordo com Andersson *et al.*, 2012, após esse período todas as células do ligamento periodontal são tidas como não viáveis.

No reimplante imediato o prognóstico será melhor, uma vez que se evitará o ressecamento e conseqüentemente, a necrose do ligamento periodontal e polpa. No entanto, os dentes raramente são reimplantados em curto intervalo de tempo, dessa forma, um fator a ser considerado é o meio de conservação para o dente avulsionado, até que se possa proceder o reimplante.

O meio de conservação é definido como uma solução fisiológica que tem o objetivo de manter a viabilidade das células presentes sobre a superfície dentária, sua capacidade de aderência e multiplicação (ASHKENAZI; MAROUNI; SARNAT, 2000; POHL; FILIPPI; KIRSCHNER, 2005 b). O uso de um meio inapropriado aumenta o risco de necrose celular, a qual irá conduzir a reabsorção radicular. O pH e a osmolaridade são mais importantes que a composição química dessas soluções e devem estar entre 2,2 - 7,4 e 290 – 300mOSM/L respectivamente (BLOMLOF, 1981).

Em dentes reimplantados, preservar a propriedade das células progenitoras de se reproduzirem e recolonizarem a área injuriada, a viabilidade e o potencial mitogênico das demais células do ligamento periodontal, são propriedades essenciais para a recolonização (LEKIC *et al.*, 1996).

Diferentes meios de conservação tem sido propostos para serem utilizados em dentes avulsionados, como os que serão descritos a seguir.

A Solução Salina Balanceada de Hanks (HBSS) é uma solução fisiologicamente balanceada contendo todos os metabólitos essenciais para manutenção celular. Foi desenvolvida para fins de pesquisa e é a solução aceita pela Academia Americana de Endodontia para manter a viabilidade das

células do ligamento periodontal por várias horas com taxas de sucesso de 90% (ASHKENAZI; MAROUNI; SARNAT, 2000; SIGALAS *et al.*, 2004; UDOYCE; JAFARZADEH; ABBOTT, 2012). No entanto o pronto acesso a esta solução é uma das principais desvantagens (WANG *et al.*, 2012).

O Viaspan é um meio de transplante de órgãos que pode efetivamente manter a viabilidade de fibroblastos humanos (HILTZ e TROPE, 1991), porém não se trata de um meio barato e de fácil acesso (TROPE; HUPP; MESAROS, 1997; MALHOTRA, 2011).

A saliva humana embora seja facilmente disponível, não é considerada um meio de conservação efetivo para dentes avulsionados por possuir microrganismos e seus subprodutos, e não apresentar osmolaridade fisiológica (BLOMLOF, 1981). Entretanto pode ser indicada como meio imediato por não mais de 30 min. (LEKIC; KENNY; BARRETT, 1998).

Meios hipotônicos como água de torneira não são indicados por conduzirem à lise celular e maiores taxas de reabsorção (UDOYCE; JAFARZADEH; ABBOTT, 2012). Soluções isotônicas com o soro fisiológico tem sido sugeridas por curtos períodos, por possuir osmolaridade compatível com as células do ligamento periodontal, no entanto não possuem nutrientes (MALHOTRA, 2011).

O leite bovino por apresentar baixo conteúdo bacteriano, osmolaridade fisiológica (BLOMLOF, 1981), pH neutro, alguns nutrientes (FLORES *et al.*, 2007) e fatores de crescimento (ANDREASEN *et al.*, 1995), é amplamente aceito como meio de conservação adequado para dentes avulsionados. O processo de pasteurização pode ainda inativar enzimas nocivas ao ligamento,



reduzindo a contaminação microbiana deste e do tecido pulpar. Sua eficácia clínica é considerada equivalente ao HBSS (MARINO *et al.*, 2000; TROPE, 2002; SIGALAS *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2012).

Blomlof em 1981 avaliou a viabilidade e a recuperação de células do ligamento periodontal humano, em leite e em saliva. Os resultados mostraram que essas células sobreviveram melhor em leite. 50% das células estavam viáveis após 10 horas, enquanto nenhuma célula estava viável após 3 horas em saliva.

Em 2000, Marino *et al.*, avaliaram a habilidade do leite longa vida em servir como meio de conservação para a manutenção da viabilidade de células do ligamento periodontal de dentes avulsionados. Os resultados mostraram que após 1, 2, 4 e 8 horas, essas células se mantiveram viáveis.

Werder; Von Arx; Chappuis, 2011 em um estudo clínico com 42 dentes humanos avulsionados e reimplantados, correlacionaram a cicatrização periodontal com o meio de conservação utilizado, os autores observaram que as maiores taxas de cicatrização foram encontradas quando os dentes foram armazenados em DentoSafeBox – meio de cultura tecidual (6/8 dentes), seguido do leite (9/16 dentes) e solução salina (5/9 dentes). No grupo de pacientes cujos dentes foram mantidos em meio seco (9 dentes), não foi observada cicatrização periodontal.

Embora o leite exiba resultados bastante favoráveis, tal solução diminui, porém não impede a reabsorção radicular. Além disso, muitas das propriedades inerentes às células do ligamento periodontal estão reduzidas em função do tempo de estocagem nesta solução. Logo, permite-se o emprego do

leite para conservação de dentes avulsionados, desde que seja imerso por um período curto de tempo (SOUZA *et al.*, 2012).

A água de coco, um isotônico natural disponível em países tropicais, também tem sido pesquisada para uso como meio de conservação. É rica em aminoácidos, proteínas, vitaminas e sais minerais. A influência da solução de água de coco verde sobre a superfície dentária, quando comparada à do leite pasteurizado em relação à presença e a natureza da reabsorção radicular e da anquilose, foi estudado por Aguiar; Santana, Santos em 2005. Por meio de análise histológica, os autores observaram que incisivos de ratos conservados em leite pasteurizado por 30 minutos e aqueles imersos em água de coco por 90 minutos demonstraram baixos índices de reabsorção e anquilose. Confirmando a forte influência do meio e do período de permanência extra-alveolar sobre o reparo periodontal dos dentes reimplantados.

Gopikrishna *et al.*, 2008 a e b demonstraram em seus estudos que a água de coco foi superior ao HBSS em manter a viabilidade das células do ligamento periodontal humano. Já Moreira-Neto *et al.*, 2009 observaram que a água de coco foi inferior ao leite em manter a viabilidade de fibroblastos humanos.

Udoyce; Jafarzadeh; Abbott, 2012 em um estudo de revisão das publicações entre os anos de 1981 e 2010, sobre meios de conservação, puderam observar que embora o HBSS e o Viaspan tenham grande potencial em manter as células do ligamento periodontal viáveis após avulsão, os aspectos práticos de uso dessas soluções para o público as tornam menos ideais. O leite segundo os autores, por ser capaz de manter as células do

ligamento periodontal e ainda ser mais acessível e disponível na maioria das situações, é o mais indicado.

## **2.2 – Reabsorção radicular externa**

Por mais rápido que o reimplante seja realizado, a ocorrência de áreas de necrose, exsudato inflamatório e formação de coágulo de sangue no espaço do ligamento periodontal é observado. A manutenção das fibras do ligamento periodontal, bem como os cementoblastos, o pré-cimento e os restos epiteliais de Malassez são fundamentais para preservação da integridade da raiz. (CONSOLARO, 2005). Quando essas estruturas não podem se manter viáveis, é provável que se inicie um processo de reabsorção (FILIPPI; POHL; VON ARX, 2002; SCHJOTT; ANDREASEN, 2005).

O fenômeno desencadeador da maioria das reabsorções radiculares externa é a ocorrência do dano nos cementoblastos, deixando a superfície dentária desnuda, sem pré-cimento, expondo assim a porção mineralizada ao aparecimento de pequenos conjuntos de células chamadas de unidades de remodelação óssea, representadas pelos osteoblastos e osteoclastos (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001).

As reabsorções externas podem ser divididas em reabsorção superficial, reabsorção inflamatória e reabsorção por substituição ou anquilose (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001).

A reabsorção radicular externa superficial é restrita ao cimento, e em geral surge uma semana após o reimplante ou quando o ligamento periodontal sofre compressão, levando a uma isquemia local ou pequena destruição das

fibras desta membrana. É reparada com cimento neoformado o qual restabelece o contorno radicular. Esse tipo de reabsorção é autolimitante e repara espontaneamente quando não há contaminação dentinária ou reação inflamatória persistente (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001; MAJORANA *et al.*, 2003; MOULE e MOULE, 2007).

A reabsorção externa inflamatória ocorre pela lesão da membrana periodontal, que induz um processo inflamatório proporcionando um maior acúmulo de mediadores locais da atividade osteoclástica. A inflamação tem como objetivos a destruição do agente agressor e reparação da área afetada. Nesse tipo de reabsorção os maiores agentes agressores derivam da necrose pulpar associada ao dano nos tecidos de sustentação (ANDREASEN e ANDREASEN 2001; POHL; FILIPPI; KIRSCHNER, 2005a). A reabsorção inflamatória progressiva é sustentada pelas bactérias e subprodutos do canal radicular e túbulos dentinários, podendo ser revertida quando o tratamento endodôntico for realizado (MAJORANA *et al.*, 2003).

A anquiose dental ocorre após a perda do ligamento periodontal e sua substituição por osso, deixando assim a superfície dentária em contato direto com o osso alveolar (NE; WITHERSPOOTI; GUTMAFIN, 1999). Esse contato direto, bem como a incorporação do tecido dental na estrutura óssea alveolar, mesmo que apenas em parte da superfície dentária, promove a sua inclusão no processo de remodelação óssea, estabelecendo-se assim a reabsorção radicular externa substitutiva (BOYD; KINIRONS; GREGG, 2000).

A reabsorção por substituição é tida como um processo de cicatrização, pois substitui a dentina por osso. Em casos de grandes áreas de necrose do

ligamento periodontal e cimento, a reabsorção por substituição é irreversível e pode evoluir a taxas variáveis, dependendo da idade do paciente, ocorrendo rapidamente em jovens (FUSS; TSEIS; LIN, 2003).

Andreasen *et al.*, 1995 ao analisar o resultado de 400 reimplantes, reportaram 76% de reabsorção radicular externa. Em um estudo clínico retrospectivo, realizado por Boyd; Kinirons; Gregg (2000), em crianças que sofreram reimplantes dentários, os autores observaram que a reabsorção por substituição foi mais comum que a reabsorção inflamatória. No estudo de Chappuis e Von Arx, 2005 ao avaliarem 45 dentes reimplantados, encontraram reabsorção externa em 42,3% dos casos. Soares *et al.*, 2008 observaram que 68% dos 100 dentes avaliados apresentaram reabsorção radicular externa após reimplante. Em 2010, Petrovic *et al.*, ao analisarem radiograficamente o resultado de reimplantes dentários, verificaram sinais de reabsorção radicular externa em 84% dos dentes e que a reabsorção inflamatória foi a mais predominante. No mesmo ano Hecova *et al.*, ao avaliarem clínica e radiograficamente dentes avulsionados, observaram a ocorrência de reabsorção externa em 16,2% dos casos, sendo que em 26,5% deles eram reabsorção inflamatória, 42,9% reabsorção por substituição e 30,6% reabsorção superficial. No estudo de Werder; Von Arx; Chappuis, 2011, foi observada reabsorção externa em 22 dos 42 dentes avulsionados, sendo que 21 dentes tiveram reabsorção por substituição e apenas 1 dente apresentou reabsorção superficial. Nenhuma reabsorção inflamatória foi detectada.

Várias estratégias de tratamento visam melhorar o prognóstico dos dentes reimplantados, procurando maneiras de favorecer o reparo do

ligamento periodontal, com vistas a prevenir ou minimizar a reabsorção radicular externa, na tentativa de manter o dente no alvéolo por um período mais longo.

### **2.3 - Fototerapia laser**

Na busca por procedimentos que possam minimizar edema, inflamação e estimular a cicatrização por meio da biomodulação celular, muitas são as terapias que surgem, sendo a utilização do laser uma delas.

O Laser (Amplificação da luz por emissão estimulada de radiação) é uma radiação eletromagnética não ionizante, sendo um tipo de fonte luminosa com características bastante diferentes das de uma luz fluorescente ou de uma lâmpada comum. A emissão da luz laser é monocromática, ou seja, com um único comprimento de onda, possui coerência espacial e temporal, na qual as ondas propagam-se com a mesma fase no espaço e tempo. Sua colimação permite a obtenção de alta densidade de energia concentrada em pequenos pontos (PINHEIRO; BRUGNERA Jr; ZANIN, 2010).

A compreensão dos fenômenos que envolvem a interação entre os diversos lasers e tecidos baseia-se principalmente no entendimento das reações que podem ser induzidas nesses tecidos pela luz laser. A extensão da interação entre lasers e os tecidos é geralmente determinada por fatores relacionados ao laser e pelas características ópticas de cada tecido (PINHEIRO; BRUGNERA Jr; ZANIN, 2010).

A absorção da luz laser pelos tecidos pode resultar em quatro processos: fotoquímico, fototérmico, fotomecânico e fotoelétrico. A partir da

ocorrência desses efeitos, podem-se esperar diversas manifestações clínicas. A Fototerapia laser utiliza a luz laser de baixa intensidade, nos comprimentos de onda de 632 – 904 nm para estimular a resposta biológica (WALSH, 1997). Ao invés de gerar efeito térmico, o laser de baixa potência age induzindo reações fotoquímicas nas células (HASHMI *et al.*, 2010). Dentro do grupo dos efeitos fotoquímicos inclui-se a biomodulação, que é o efeito da luz laser sobre processos moleculares e bioquímicos que normalmente ocorrem nos tecidos, como por exemplo na cicatrização de feridas e no reparo ósseo (PINHEIRO; BRUGNERA Jr; ZANIN, 2010).

Na biomodulação a célula trabalhará buscando um estado de normalização da região afetada (ALMEIDA-LOPES *et al.*, 2001). Os fenômenos biomodulatórios promovem efeitos terapêuticos de morfodiferenciação e proliferação celular, neoformação tecidual, redução de edema, maior regeneração celular, aumento da microcirculação local e permeabilidade vascular (KARU, 1989; KREISLER *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2004).

De acordo com Gungormus e Akyol (2009), a biomodulação laser resulta em aumento da atividade celular durante o processo de cicatrização, proliferação de fibroblastos (KREISLER *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2010; SAMPAIO *et al.*, 2013), aumento da síntese de ATP, DNA, RNA e colágeno (PARKER, 2007), estimulação de macrófagos e uma grande taxa de produção de matriz extracelular (PUGLIESE *et al.*, 2003; PINHEIRO *et al.*, 2011).

O mecanismo biológico básico do efeito da Fotobiomodulação laser (FBML) é a absorção da luz vermelha pelos cromóforos na citocromo-C-oxidase, contidos nos componentes proteicos da cadeia respiratória localizada

na mitocôndria. A luz infravermelha inicia a cascata de eventos metabólicos por meio de efeitos nas membranas, agindo nos canais de cálcio (KARU 1989; KARU e KOLYAKOV, 2005). Apesar da absorção da luz visível e infravermelha ocorrer de maneira diferente, a primeira sendo absorvida pelas mitocôndrias e a outra atuando na membrana celular, o resultado dessas interações é semelhante, conduzindo ao aumento da atividade enzimática, aumento no transporte de elétrons e na produção de adenosina trifosfato (ATP), podendo desta forma, favorecer várias reações do metabolismo celular durante um processo de reparo (TAFUR e MILLS, 2008).

Foi demonstrado em estudos, *in vitro* e *in vivo* (KARU; PYATIBRAT; AFANASYEVA, 2005; TORRES *et al.*, 2008; LOPES *et al.*, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2011) que a fotobiomodulação laser no nível celular, ao estimular o fotoreceptor citocromo-C-oxidase, resulta no aumento do metabolismo e produção de energia, consequentemente aumentando o metabolismo oxidativo mitocondrial. Dessa forma, inicia uma cascata de reações celulares que modulam o comportamento biológico, modulando a angiogênese, macrófagos e linfócitos; a proliferação de fibroblastos e síntese de colágeno; diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos, entre outros, acelerando assim o processo de reparação.

A interação da luz laser com os tecidos pode levar a diferentes resultados (estimulação ou inibição) dependendo de vários fatores como comprimento de onda, dose, potência, tempo, número de irradiações, propriedades ópticas dos tecidos e tipo de célula irradiada, além das características fisiológicas das células no momento da irradiação (WERNECK



*et al.*, 2005; CASTRO *et al.*, 2005). De acordo com Karu 1989, a luz laser estimula as células que estão crescendo pobremente no momento da irradiação. Se o tecido é completamente funcional, não existe estímulo ou efeito terapêutico. No entanto se o tecido estiver danificado, a irradiação laser tentará normalizar a função celular, restaurar a homeostase e estimular a cicatrização e reparo (HENRIQUES; CAZAL; CASTRO, 2010).

Além do efeito biomodulador, a fototerapia laser tem ação analgésica, pelo aumento da síntese de beta-endorfina, diminuição da liberação de transmissores nociceptivos e pela modulação da inflamação. A condução do estímulo doloroso também é dificultada pela atuação na estabilização do potencial elétrico da membrana (WALSH, 1997).

As propriedades anti-inflamatórias são baseadas na redução da síntese da prostaglandina E2, fator de necrose tumoral, interleucina1 $\beta$ , cicloxigenase-2, mRNA e ativador de plasminogênio (CORREA *et al.*, 2007; MAYAHARA *et al.*, 2010).

O uso da Fototerapia laser em odontologia tem sido aplicado em algumas situações clínicas como no tratamento de herpes simples recorrente, na terapia de periodontite, no tratamento de hipersensibilidade dentinária, na prevenção e no tratamento da mucosite, no alívio da dor de disfunção temporomandibular, na aceleração do movimento ortodôntico, no processo de reparo pós exodontia, no tratamento de alveolite e na aceleração do reparo ósseo após instalação de implante ósseo integrado (PINHEIRO; BRUGNERA Jr.; ZANIN, 2010).

## 2.4 – Resposta celular frente à Fototerapia laser

Sabe-se que para evitar ou minimizar a ocorrência da reabsorção radicular externa após reimplante, o tratamento da superfície dentária na tentativa de manter a viabilidade das células do ligamento periodontal é de suma importância.

Baseando-se na ação do laser de baixa intensidade no reparo tecidual, seu efeito biomodulador sobre fibroblastos tem sido amplamente estudado.

Almeida-Lopes *et al.*, 2001, utilizando cultura de fibroblastos gengivais humano, avaliaram o efeito da fototerapia laser no crescimento celular, mantendo a dose fixa ( $2\text{J}/\text{cm}^2$ ) e variando o comprimento de onda (670, 780, 692 e 786nm). Os autores observaram que os lasers infravermelhos estimularam o crescimento celular em valores significativamente maiores que os vermelhos. Observaram também que as células cultivadas em *déficit* nutricional mostraram crescimento maior que os controles na mesma condição, enquanto que as células cultivadas em condições ideais apresentaram crescimento celular semelhante ao controle, quando irradiadas.

O efeito biomodulador do laser sobre fibroblastos do ligamento periodontal humano foi avaliado por Kreisler *et al.*, 2003. Os resultados mostraram que as células irradiadas com laser de diodo 809nm revelaram atividade proliferativa consideravelmente maior do que o grupo controle. Essa diferença foi significativa até 72h após irradiação.

Marques *et al.*, 2004 avaliaram a síntese de proteínas e a morfologia ultra-estrutural de uma linhagem de fibroblastos gengivais humanos após irradiação com laser AsGaAl 904nm. Foram observadas algumas mudanças

ultra-estruturais importantes nas mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso, diminuindo a produção de colágeno tipo I e demais proteínas por esses fibroblastos.

Damante (2004), avaliou o efeito do laser de diodo AsGaAl vermelho (660nm) e infravermelho (780nm) na produção de fatores de crescimento por fibroblastos gengivais humanos *in vitro*. Puderam observar que a produção de fator de crescimento de fibroblastos básico foi significativamente maior nos grupos irradiados com laser infravermelho nas densidades de energia de  $3\text{J}/\text{cm}^2$  e  $5\text{J}/\text{cm}^2$ .

Azevedo *et al.*, 2006 realizaram um estudo para avaliar o efeito de diferentes densidades de potência ( $\text{mW}/\text{cm}^2$ ) na biomodulação de fibroblastos gengivais humanos. O laser utilizado foi o diodo AsGaAl, com  $2\text{J}/\text{cm}^2$  de densidade de energia. A variação foi na potência, onde um grupo utilizou 10mW ( $142\text{mW}/\text{cm}^2$ ) e outro 29mW ( $428,57\text{mW}/\text{cm}^2$ ). O grupo controle não recebeu irradiação e seu número de células foi estatisticamente menor. O grupo 10mW apresentou maior crescimento celular durante todo experimento, levando os autores a concluir que quanto menor a densidade de potência, maior o crescimento celular.

Em 2010 Choi *et al.*, investigaram os efeitos biológicos do laser de diodo AsGaAl sobre cultura de fibroblastos humanos do ligamento periodontal. Os resultados mostraram que houve proliferação celular no grupo irradiado, sem diferença estatística com o grupo controle. Entretanto, um incremento significativo na proliferação celular ocorreu entre 24 e 48h após irradiação laser com  $3,94\text{J}/\text{cm}^2$  de energia.

## 2.5– Reimplante dental X Fototerapia laser

Embasando-se nos efeitos terapêuticos da fotobiomodulação, favorecendo a cicatrização e agindo como analgésico e anti-inflamatório, é possível acreditar que o laser terapêutico exerça efeitos benéficos no reparo após reimplante dentário.

Sabe-se que após o reimplante o ligamento periodontal lesionado sofre uma resposta inflamatória para remover o tecido danificado previamente ao início do processo reparador. A principal característica do processo inflamatório é a atividade osteoclástica intensa. Portanto a modulação da inflamação, bem com o a proliferação das células danificadas do ligamento periodontal são importantes para atenuar a reabsorção radicular externa.

Pereira em 2004 avaliou a ação do laser de AsGaAl 830nm no periodonto de dentes de cães reimplantados. Os dentes foram mantidos fora do alvéolo por 60 minutos e em seguida reimplantados. O grupo irradiado recebeu a primeira aplicação no alvéolo antes do reimplante, a segunda aplicação imediatamente após o reimplante em 6 pontos (2 na região do periápice, um na face vestibular, outro na face palatina, um na mesial e distal na altura do terço médio radicular). A terceira, quarta e quinta irradiações ocorreram 24, 48 e 72h após o reimplante. O laser utilizado operou com potência de 100mW; 2,4J/cm<sup>2</sup>; 24 segundos, CW, modo pontual e área do feixe de 0,6 mm. Os animais foram mortos em 7 e 14 dias. Os resultados mostraram que nos grupos irradiados, o tecido conjuntivo estava mais organizado, com menor infiltrado inflamatório, áreas de reabsorção de cimento e osso menos intensa e mais regulares, neoformação de fibras e matriz dos tecidos duros.

Saito *et al.*, 2011 avaliaram por meio da histomorfometria e imunohistoquímica o efeito da fototerapia laser na cicatrização de incisivos de ratos reimplantados após diferentes períodos extra-alveolar (4, 30 e 45 minutos). A porção radicular e o alvéolo foram irradiados com laser AsGaAl 660nm e 830nm respectivamente, antes do reimplante. Os animais foram mortos após 60 dias. Os resultados mostraram áreas de reabsorção radicular externa inflamatória e por substituição em todos os grupos sem diferença estatística. A anquilose foi mais frequente no grupo irradiado cujo dente permaneceu 30 minutos fora do alvéolo que o controle. Os autores puderam concluir que o laser não melhorou o processo de cicatrização após reimplante dentário em ratos.

Vilela *et al.*, 2012 avaliaram histologicamente incisivos de ratos reimplantados e irradiados com laser InGaAl (685nm; 50mW, 4 aplicações de 50J/cm<sup>2</sup>), 15 30 e 60 dias após reimplante. Os incisivos permaneceram fora do alvéolo por 15 minutos. A irradiação laser foi realizada na superfície dentária e no alvéolo antes do reimplante e sobre as faces vestibular e palatina do rebordo alveolar após reimplante. Os autores observaram menor presença da reabsorção radicular no grupo laser quando comparado com o grupo controle. Os resultados também evidenciaram menor quantidade de células inflamatórias e áreas necróticas.

Assim, embora a ação do laser em baixa intensidade sobre os tecidos biológicos já seja um assunto amplamente investigado, existe escassez de estudos avaliando seu efeito sobre o reparo em dentes reimplantados, o que torna esta pesquisa relevante.

---

## **3. PROPOSIÇÃO**

---

### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a influência da fotobiomodulação laser ( $\lambda$  780nm), antes e após reimplante dentário, no reparo tecidual em incisivos de ratos *Wistar*.

### **3.2. Objetivos específicos**

Descrever e comparar por meio de análise histológica a presença e a natureza de reabsorções externas radiculares (inflamatória e por substituição), presença de anquilose, células clásticas e inflamação após reimplante de incisivos de ratos *Wistar*, irradiados ou não com laser Arseneto de Gálio e Alumínio ( $\lambda$  780nm) na superfície dentária e na região correspondente à entrada do alvéolo antes do reimplante, assim como nas mucosas vestibular e palatina após esse procedimento.

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 4.1 - Respaldo ético da pesquisa

Este experimento em animais seguiu as normas de conduta de experimentação animal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FOUFBA) e foi realizado após a aprovação pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) desta Instituição (**Anexo A**), sob o protocolo de número 06.10, de acordo com a LEI Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008.

### 4.2 - Amostra

Foram utilizados 60 ratos da espécie *Rattus norvegicus*, classe *Mammalia*, ordem *Roedentia*, da linhagem *Wistar*, machos, com idade aproximada de dois meses, pesando entre 200 e 250 gramas cada, provenientes do Centro de Criação de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Os animais foram mantidos no Laboratório de Experimentação Animal da FOUFBA em micro-isoladores de policarbonato individuais, forrados com maravalha autoclavada trocada diariamente, com temperatura de 22°C e luminosidade ambiente, acomodados em estante ventilada (INSIGHT Equipamentos Ltda – Ribeirão Preto – SP - Brasil) com injeção direta de ar através de válvulas de aço inoxidável que possuem fechamento automático. O equipamento possui painel com comando por teclado, tipo membrana, com sensor de pressão diferencial, indicador de alarme luminoso da troca de filtros e problemas de pressão e vazão. Além disso, possui sistemas independentes de insuflamento e exaustão de ar, que

proporciona um baixo índice de infecções, eliminação de odores provenientes das excreções, e baixo volume de ruídos.

Os animais foram alimentados normalmente com ração comercial para roedores Labina (Purina - São Paulo – SP - Brasil) antes e após o experimento e água *ad libitum*, exceto nas 12 horas pós operatórias período em que permaneceram sem ração. Após este período, os animais se alimentaram com ração sólida triturada até completar 72 horas, em seguida a alimentação voltou a ser normal.

### 4.3 - Distribuição dos grupos

Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos de 15 animais cada e, após o procedimento de reimplante, subdivididos em três grupos de cinco animais cada, de acordo com o período experimental de 15, 30 e 60 dias. A distribuição dos grupos pode ser vista na **Tabela 01**.

**Tabela 01 - Distribuição dos grupos de estudo (CARVALHO, 2013).**

<b>Grupos</b>	<b>Tratamento da superfície dentária e do alvéolo antes do reimplante</b>	<b>n</b>	<b>MORTE</b>
GRUPO 1 (G1)	Sem meio de conservação, e sem tratamento da superfície dentária e do alvéolo	15	15 dias 30 dias 60 dias
GRUPO 2 (G2)	Meio de conservação leite, e sem tratamento da superfície dentária e do alvéolo	15	15 dias 30 dias 60 dias
GRUPO 3 (G3)	Meio de conservação leite e aplicação de laser ( $\lambda= 780\text{nm}$ ) na superfície dentária e alvéolo	15	15 dias 30 dias 60 dias
GRUPO 4 (G4)	Meio de conservação leite, aplicação de laser ( $\lambda= 780\text{nm}$ ) na superfície dentária e alvéolo e após reimplante, aplicação na mucosa vestibular e palatina por 15 dias	15	15 dias 30 dias 60 dias



#### 4.4 – Etapa cirúrgica

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados utilizando instrumental cirúrgico organizado em conjuntos individuais, esterilizados em autoclave, bem como equipamentos de proteção individual observando-se todos os princípios de biossegurança.

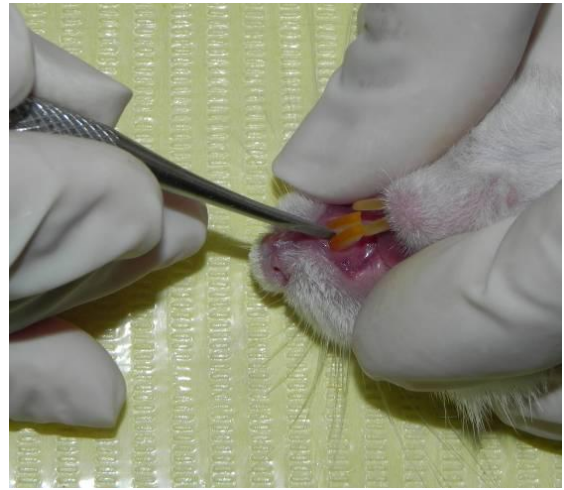
Os animais foram submetidos à anestesia geral com injeção intraperitoneal de Cloridrato de Quetamina 10% (Cetamin, Syntec – Cotia – SP - Brasil) e Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazina, Syntec – Cotia – SP - Brasil), na posologia de 0,06ml/100g e 0,03ml/100g, respectivamente.

Em seguida foram posicionados em decúbito dorsal para realização da anti-sepsia intra-oral da porção anterior da maxila com *microbrush* (Vigodent Coltene – Rio de Janeiro – RJ – Brasil) embebido em Digluconato de Clorexidina a 0,12% (FGM produtos odontológicos - Joinville – SC – Brasil).

Para extração do incisivo superior direito de cada animal foram utilizados instrumentos adaptados para sindesmotomia, luxação e exodontia (**Figs. 01 a 03**) semelhante ao estudo de Okamoto e Russo, 1973. Foi utilizado um fórceps número 150, pediátrico (Golgran – São Caetano do Sul – SP - Brasil) no qual foi realizado um sulco na sua parte ativa para melhor apreensão da coroa do incisivo do rato.



**Figura 01 – instrumentos utilizados para extração (CARVALHO, 2013).**



**Figura 02 – Luxação do incisivo superior direito (CARVALHO, 2013).**



**Figura 03 – Extração do incisivo superior direito (CARVALHO, 2013).**

No Grupo 1 após a exodontia, os dentes foram mantidos em meio seco por um período de 40 minutos, presos em cera número 7 (Asfer - São Caetano do Sul – SP - Brasil) com auxílio de uma lima endodôntica posicionada na abertura foraminal (**Fig. 04**).



**Figura 04 – Dispositivo utilizado para que o incisivo permanecesse em meio seco (CARVALHO, 2013).**

Para controle do crescimento contínuo do incisivo do rato e da necrose do tecido pulpar posterior à avulsão, após esse período a papila dentária foi removida com lâmina de bisturi número 15 (Embramac – Itapira – SP - Brasil), e a polpa extirpada via retrógada, com o auxílio de uma lima K número 25 (Dentsply Maillefer - Ballaigues – Suíça) pré-curvada. Em seguida, por meio da abertura foraminal, os canais radiculares foram irrigados com soro fisiológico, secos com pontas de papel absorvente esterilizadas (Tanari – Manaus – AM - Brasil) e preenchidos com hidróxido de cálcio em veículo viscoso (Hidróxido de cálcio 49,77g%; polietilenoglicol 400; óxido de zinco e colofônia – Calen - SS

White - Rio de Janeiro – RJ - Brasil) utilizando uma agulha longa 27G (DFL – Rio de Janeiro – RJ - Brasil) e seringa ML (SS White - Rio de Janeiro – RJ - Brasil) própria para esse medicamento.

Em seguida foi realizada nova anti-sepsia da região anterior da maxila com Digluconato de Clorexidina 0,12% (FGM produtos odontológicos – Joinville – SC - Brasil) e lavagem do alvéolo com 2ml de soro fisiológico utilizando seringa descartável, para remoção do coágulo. O reimplante do incisivo em seu alvéolo foi realizado com auxílio do mesmo fórceps utilizado na extração, com movimento lento e delicado, sem qualquer tipo de tratamento na superfície dentária e dentro do alvéolo.

No Grupo 2 após exodontia, os dentes foram mantidos em 20ml leite UHT desnatado (Cotochés - Ribeirão das Neves – MG - Brasil) (**Fig. 05**), em temperatura ambiente e em copos descartáveis individuais, por um período de 40 minutos.



**Figura 05 – Incisivo superior direito sendo colocado no leite (CARVALHO, 2013).**

Decorrido esse período a polpa foi removida e o canal radicular preenchido com hidróxido de cálcio da mesma forma que no Grupo 1.

Após esses procedimentos, foi realizada nova anti-sepsia da região anterior da maxila com Digluconato de Clorexidina a 0,12% (FGM produtos odontológicos – Joinville - SC - Brasil) e lavagem do alvéolo com 2ml de soro fisiológico utilizando seringa descartável, para remoção do coágulo. O reimplante do incisivo em seu alvéolo foi realizado com auxílio do mesmo fórceps utilizado na extração, com movimento lento e delicado, sem qualquer tipo de tratamento na superfície dentária e dentro do alvéolo.

No Grupo 3 os dentes receberam os mesmos procedimentos realizados no grupo 2, porém, antes do reimplante foi aplicado na superfície dentária e na entrada do alvéolo, laser de Arseneto de Gálio e Alumínio  $\lambda$  780nm (MM Optics LTDA - São Carlos – SP - Brasil). Em seguida os incisivos foram reimplantados.

No Grupo 4 os dentes receberam os mesmos procedimentos realizados no Grupo 3, porém, após o reimplante, foi realizada irradiação com laser na mucosa vestibular e na mucosa palatina do dente reimplantado, a cada 48 horas por 15 dias.

Após os reimplantes, nenhuma contenção foi realizada, uma vez que a própria conformação anatômica do dente é suficiente para mantê-lo em sua posição original, de acordo com Okamoto e Okamoto 1995.

Os animais receberam dose única intramuscular de 20.000 UI de uma associação antibiótica (Benzilpenicilina benzantina 3.000.000 UI; Benzilpenicilina procaína 1.500.000 UI; Benzilpenicilina potássica 1.500.000 UI

– Megacilin Super Plus - Vansil Ind. Com. e Repr. Ltda. – Descalvado – SP - Brasil).

#### 4.5 - Protocolo da irradiação

Nos Grupos 3 e 4, para irradiação da superfície dentária, foi utilizado o laser de Arseneto de Gálio e Alumínio (Twinflex Evolution MMOptics - São Carlos – SP - Brasil) (**Fig. 06**) nos seguintes parâmetros:  $\lambda$  780nm; P= 70 mW; emissão contínua; modo de aplicação pontual (desfocado);  $\Phi$ = 0,04cm<sup>2</sup>; 16,8J/cm<sup>2</sup> por tratamento; t= 160 segundos por ponto.



**Figura 06 - Aparelho utilizado para a realização da fototerapia laser (Twinflex Evolution, MMOptics, São Carlos, SP, Brasil) (CARVALHO, 2013).**

Os dentes foram colocados em uma placa de Petri contendo soro fisiológico de modo que não cobrisse a face proximal voltada para cima. A irradiação foi realizada nas faces mesial e distal, e com a ponteira posicionada a uma distância de 3,5cm da superfície a ser irradiada, com auxílio de um suporte (**Fig. 07**). A área a ser irradiada correspondeu a média do comprimento

do dente (1,2cm) e foi calculada pela fórmula  $A= \pi r^2$ , dando um resultado de  $1,13\text{cm}^2$ . A densidade de energia fornecida foi de  $8,4\text{J}/\text{cm}^2$  para cada face proximal (mesial e distal).

Para irradiação na entrada do alvéolo, primeiramente foi realizada nova anti-sepsia da região anterior da maxila com Digluconato de Clorexidina a 0,12% (FGM produtos odontológicos – Joinville – SC - Brasil) e remoção do coágulo por meio de lavagem do alvéolo com 2ml de soro fisiológico utilizando seringa descartável. Com a ponteira posicionada na entrada do alvéolo (**Fig. 08**), foi aplicado laser AsGaAl  $\lambda$  780nm; P= 70mW; emissão contínua;  $\Phi=0,04\text{cm}^2$ ; Densidade de energia  $4,2\text{J}/\text{cm}^2$ ; t= 60 segundos. Em seguida os incisivos foram reimplantados.



Figura 07 – Vista frontal da irradiação na superfície dentária. Ponteira presa ao suporte (CARVALHO, 2013).



Figura 08 – Irradiação laser na entrada do alvéolo (CARVALHO, 2013).

No Grupo 4, para irradiação do laser na mucosa vestibular e palatina (**Figs. 09 e 10**), foi utilizado o laser AsGaAl  $\lambda$  780nm; P= 70mW; emissão contínua;  $\Phi=0,04\text{cm}^2$ ; t= 60 segundos;  $4,2\text{J}/\text{cm}^2$  por ponto a cada 48 horas por 15 dias;  $67,2\text{J}/\text{cm}^2$  por tratamento. Para esse procedimento os animais eram anestesiados com a mesma substância utilizada na etapa cirúrgica, sendo aplicado um terço da dose utilizada para a exodontia, em função da duração do procedimento ser menor.



Figura 09 – Irradiação laser na mucosa palatina (CARVALHO, 2013).



Figura 10 – Irradiação laser na mucosa vestibular (CARVALHO, 2013).

#### 4.6 - Morte dos animais e obtenção das amostras

Os animais foram mortos de acordo com os períodos experimentais de 15, 30 e 60 dias após reimplante. Para a morte dos animais utilizou-se câmara de gás dióxido de Carbono (EB 248, Insight Equipamentos - Ribeirão Preto – SP - Brasil), recomendada para esse fim pela legislação vigente, que dispõe de uma câmara dimensionada e ambiente condizente para evitar a inalação por



peessoas. Este gás tem rápida ação letal por provocar depressão do sistema nervoso central, mas ainda assim, após detecção de parada respiratória, recomenda-se manter os animais na câmara por mais 10 minutos, para confirmação de sua morte. Os indicativos de morte são a ausência de movimentos respiratórios, batimentos cardíacos e perda dos reflexos.

Após a constatação da morte do animal, a porção anterior da hemimaxila direita, incluindo o incisivo central reimplantado, foi removida com auxílio de lâmina de bisturi número 15 (Embramac – Itapira – SP - Brasil) (**Fig. 11**).



**Figura 11 – Aspecto da hemimaxila direita com o incisivo reimplantado (CARVALHO, 2013).**

As peças foram colocadas em frascos individuais, previamente preparados e etiquetados, contendo solução de formalina a 10% e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Oral do Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FOUFBA), onde foram processadas.

Nenhum animal, bem como incisivo reimplantado foi perdido durante o experimento.

#### **4.7 – Exame histológico**

Após o período de fixação de três dias, as amostras foram descalcificadas em solução de ácido nítrico 5% por um período de 38 horas e, em seguida submetidas ao processamento pela técnica histológica de rotina e incluídas em parafina. Foram realizados cortes longitudinais, em micrótomo, com espessura de 5 $\mu$ m, semi-seriados de 1/5, corados por hematoxilina-eosina (HE). Apenas o terço médio da face lingual das raízes foi examinado histologicamente em microscopia de luz, utilizando o microscópio Zeiss Axioscope (Carl Zeiss MicroImaging, Inc – NY – Estados Unidos), uma vez que esta região não é danificada pelos procedimentos cirúrgicos. O terço cervical pode ser danificado pela ação do fórceps durante a extração do dente, enquanto que o terço apical pode ser danificado pela ação de corte da lâmina de bisturi durante a remoção da papila dentária.

As lâminas foram avaliadas através de análise descritiva comparativa, no Laboratório de Patologia Oral do Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada da FOUFBA, por um avaliador calibrado, utilizando os critérios descritos na **Tabela 02**.

**Tabela 02 – Critérios semi-quantitativos usados para análise histológica do terço médio da face lingual do dente reimplantado (CARVALHO, 2013).**

<b>Critérios</b>	<b>Ausente</b>	<b>Discreto</b>	<b>Moderado</b>	<b>Severo</b>
<b>Reabsorção radicular inflamatória</b>	-	Presença de pontos de reabsorção em <25% da área observada	Presença de pontos de reabsorção em 25 – 50% da área observada	Presença de pontos de reabsorção em 50 – 100% da área observada
<b>Anquilose</b>	-	Presença de junção entre osso e dente em <25% da área observada	Presença de junção entre osso e dente em 25 – 50% da área observada	Presença de junção entre osso e dente em 50 - 100% da área observada
<b>Inflamação</b>	-	Presença de <25% de linfócitos e plasmócitos em relação ao total de células na área observada	Presença de 25 - 50% de linfócitos e plasmócitos em relação ao total de células na área observada	Presença de 50 - 100% de linfócitos e plasmócitos em relação ao total de células na área observada
<b>Osteoclastos</b>	-	Presença de <25% de osteoclastos	Presença de 25 - 50% de osteoclastos	Presença de 50 - 100% de osteoclastos

---

## **5. RESULTADOS**

---

### **5.1 – Análise histológica**

Os resultados foram obtidos por meio da microscopia de luz, para todos os grupos experimentais, como descrito anteriormente.

#### **5.1.1 – Análise descritiva**

##### **Grupo 1**

Aos 15 dias, foi observada a presença de inflamação crônica leve em todos os espécimes, presença esparsa de células linfocitárias, ausência de células osteoclásticas, reabsorção inflamatória e anquilose. Em 30 dias pôde-se observar aumento do processo inflamatório crônico, com presença de células linfocitárias em até metade da área observada, sendo considerado moderado (80% dos espécimes). Os osteoclastos estavam presentes (40% dos espécimes) e a reabsorção inflamatória observada foi severa (60% dos espécimes). Também foram encontrados poucos pontos de anquilose (60% dos espécimes). No período de 60 dias, a inflamação crônica se manteve moderada (60% dos espécimes) da mesma forma que a reabsorção inflamatória. 40% dos espécimes apresentaram anquilose severa, e em 100% foi observada a presença discreta de osteoclastos. Os achados histológicos do Grupo 1 de modo geral são mostrados nas figuras 12 a 14.

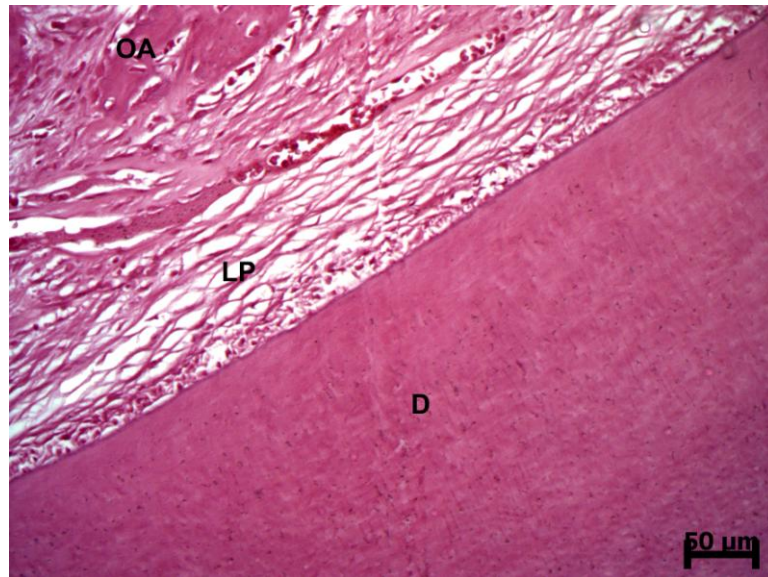


Figura 12 - Fotomicrografia do grupo experimental G1 15 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).

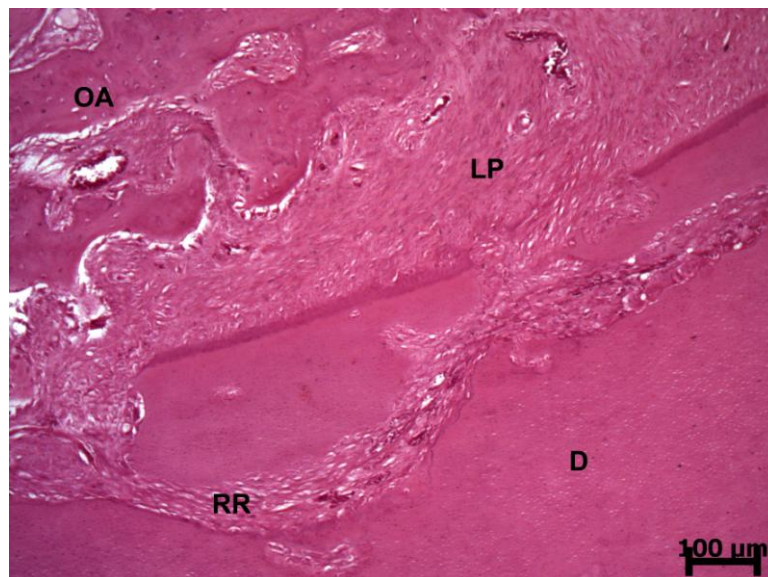


Figura 13 - Fotomicrografia do grupo experimental G1 30 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).

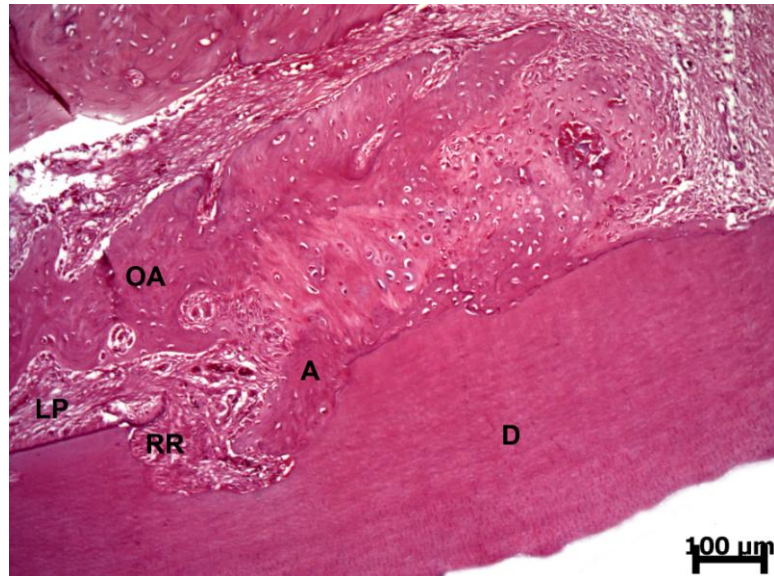
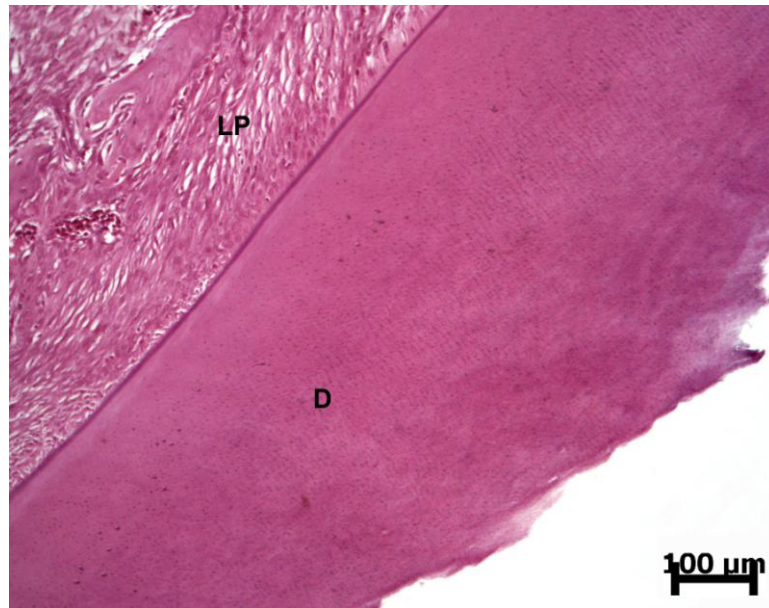


Figura 14 - Fotomicrografia do grupo experimental G1 60 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR), anquilose (A). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).

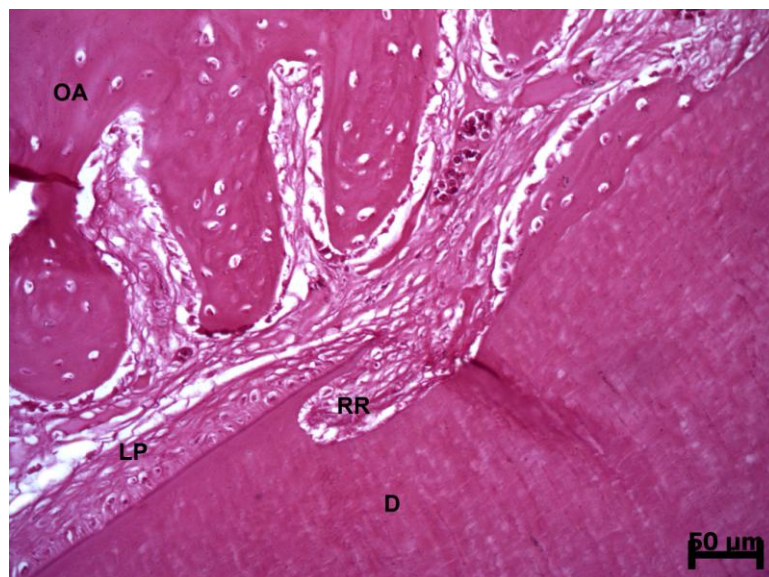
## Grupo 2

Aos 15 dias foram observadas poucas células inflamatórias crônicas (40% dos espécimes), ausência de osteoclastos (100% dos espécimes) e reabsorção inflamatória (80% dos espécimes). Pontos de anquilose não foram observados. Em 30 dias não houve aumento do processo inflamatório, entretanto foram observadas algumas células clásticas (40% dos espécimes) bem como áreas de reabsorção inflamatória considerada severa em 40% dos espécimes. Em mais da metade da área observada a anquilose esteve presente (60% dos espécimes). Aos 60 dias, o processo inflamatório se manteve com a presença de poucas células inflamatórias crônicas. Os osteoclastos estavam ausentes (80% dos espécimes), porém a reabsorção

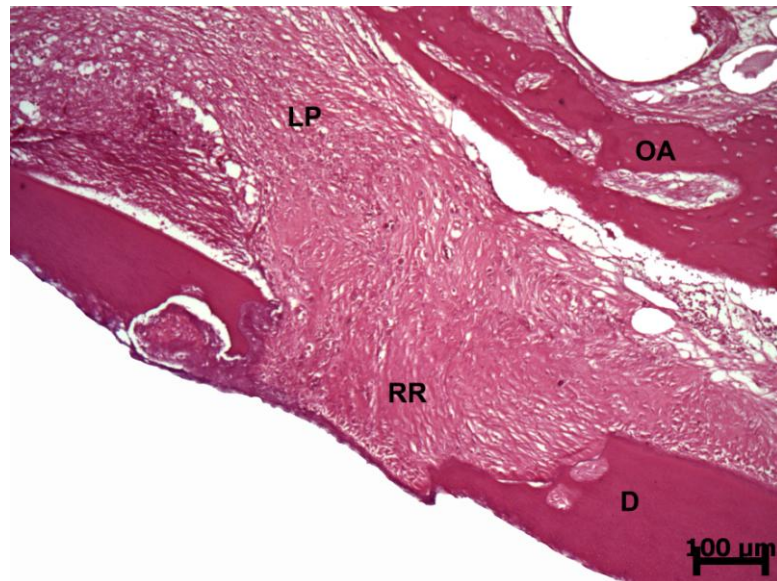
inflamatória foi observada em até metade da área (60% dos espécimes). Não foi observada anquilose nesse período. Os achados histológicos do Grupo 2 de modo geral são mostrados nas figuras 15 a 17.



**Figura 15 - Fotomicrografia do grupo experimental G2 15 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular e anquilose. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP) (CARVALHO, 2013).**



**Figura 16 - Fotomicrografia do grupo experimental G2 30 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).**



**Figura 17 - Fotomicrografia do grupo experimental G2 60 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).**

### **Grupo 3**

No Grupo 3 aos 15 dias poucas células inflamatórias linfocitárias estavam presentes, considerando-se inflamação leve (60% dos espécimes). Não foram observadas células clásticas e áreas de reabsorção inflamatória em 100% dos espécimes. A anquilose também não foi observada. Em 30 dias houve redução da inflamação crônica, com ausência de células linfocitárias em todos os espécimes. Osteoclastos, reabsorção inflamatória e anquilose se mantiveram ausentes. No período experimental de 60 dias o padrão histológico foi o mesmo que no período de 30 dias. Os achados histológicos do Grupo 3 de modo geral são mostrados nas figuras 18 a 20.



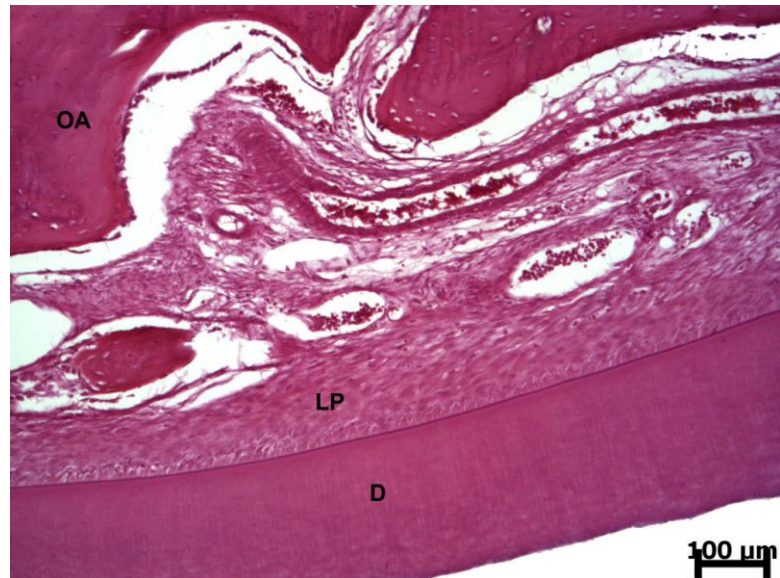


Figura 18 - Fotomicrografia do grupo experimental G3 15 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).

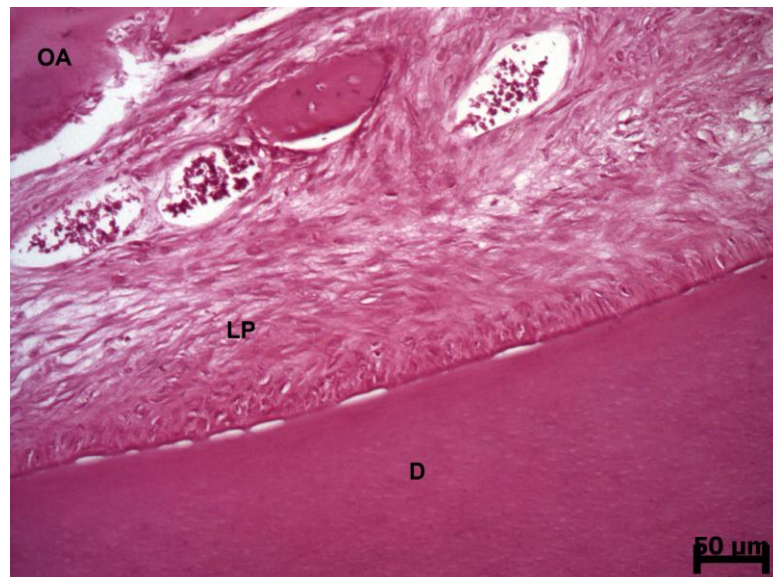
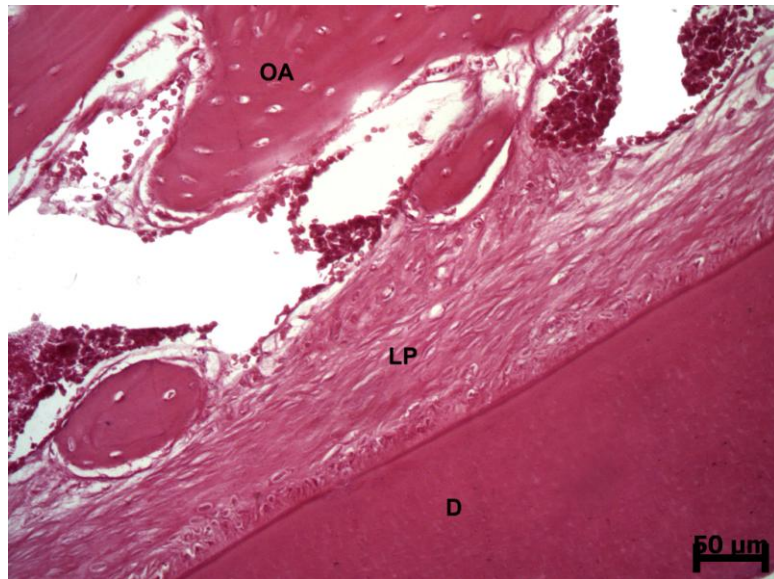


Figura 19 - Fotomicrografia do grupo experimental G3 30 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).

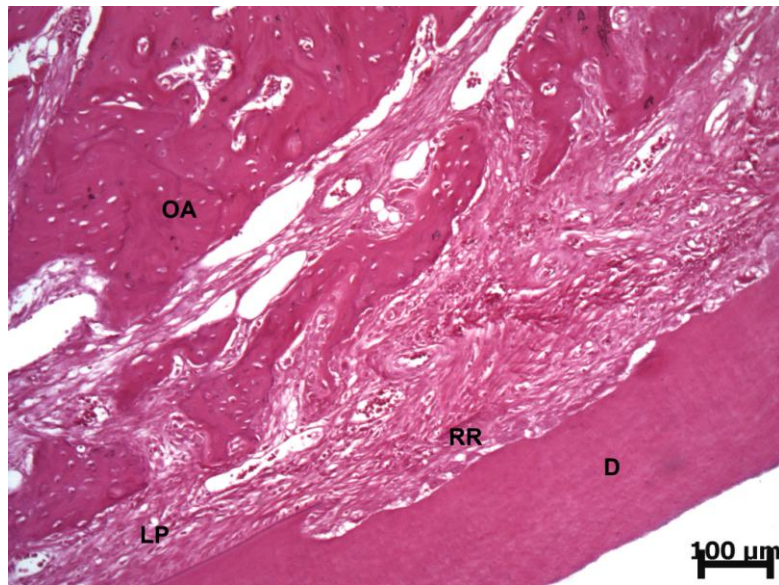


**Figura 20 - Fotomicrografia do grupo experimental G3 60 dias. Observa-se ausência de reabsorção radicular, anquilose e inflamação. Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).**

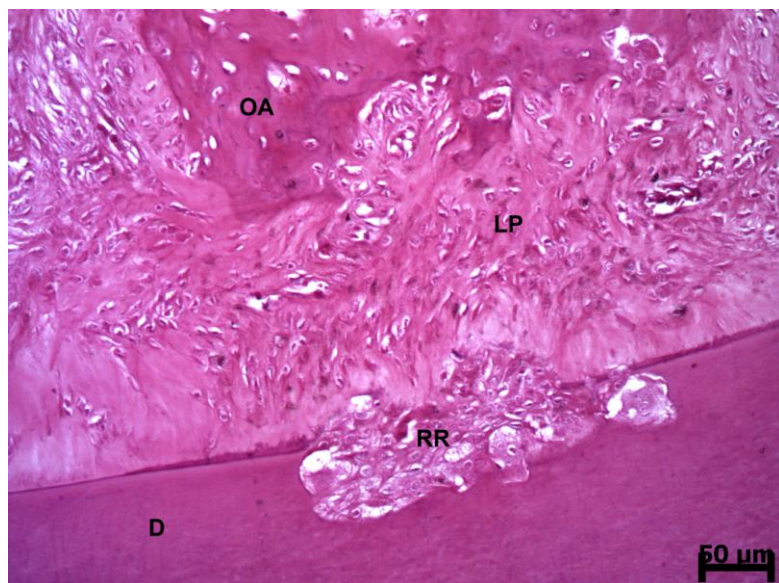
#### **Grupo 4**

Aos 15 dias a inflamação crônica estava presente, com células linfocitárias em até metade da área observada (80% dos espécimes). Poucos osteoclastos, áreas de reabsorção inflamatória e anquilose estavam presentes. Em 30 dias a inflamação crônica se manteve moderada (100% dos espécimes), porém foram observadas poucas células clásticas em todos os espécimes. Houve aumento das áreas de reabsorção inflamatória, as quais foram observadas em mais da metade da área (80% dos espécimes). Foram observados pontos de anquilose. Em 60 dias o processo inflamatório se mostrou mais intenso, com aumento no número de células inflamatórias crônicas (40% dos espécimes). Não foram observadas células clásticas e

houve redução das áreas de reabsorção inflamatória em 60% dos espécimes. Os achados histológicos do Grupo 4 de modo geral são mostrados nas figuras 21 a 23.



**Figura 21 - Fotomicrografia do grupo experimental G4 15 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).**



**Figura 22 - Fotomicrografia do grupo experimental G4 30 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR). Dentina (D); Ligamento periodontal (LP); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).**

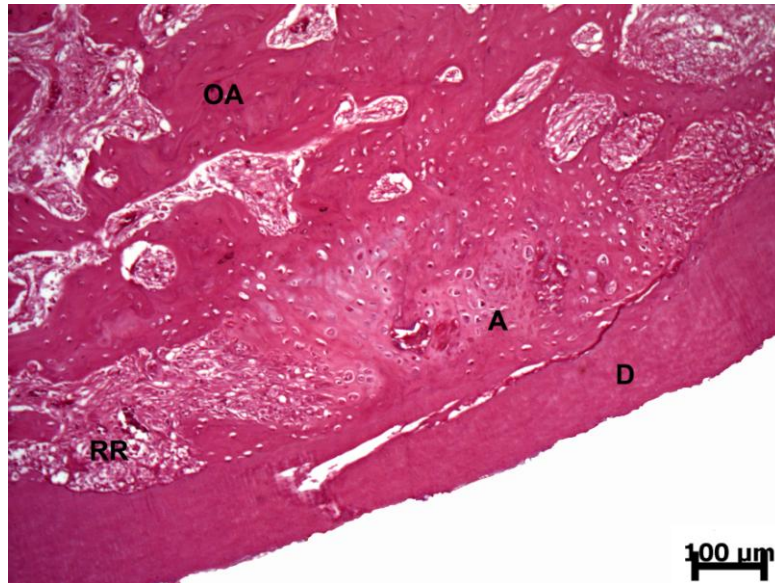


Figura 23 - Fotomicrografia do grupo experimental G4 60 dias. Observa-se presença de reabsorção radicular (RR), anquiose (A). Dentina (D); Osso alveolar (OA) (CARVALHO, 2013).

### 5.1.2 – Análise estatística

Para análise estatística e comparação intra e inter-grupo o teste empregado foi o Exato de Fisher, sendo este não-paramétrico, considerando-se uma significância de 5%.

#### Comparativo entre grupos 15 dias

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre G1 e G4 ( $p=0,02$ ) e G2 e G4 ( $p=0,04$ ) com relação a inflamação. O Grupo 4 demonstrou processo inflamatório mais intenso, classificado como moderado. Em todos os espécimes do Grupo 4 foi observada a presença de células clásticas,

diferentemente dos demais grupos. Essa diferença foi estatisticamente significativa entre G4 e G3 ( $p=0,04$ ) e G4 e G2 ( $p=0,04$ ). Com relação a reabsorção inflamatória, foi observada diferença estatística apenas entre G4 e G3 ( $p=0,04$ ), no Grupo 3 da mesma forma que as células clásticas, a reabsorção inflamatória não foi observada nesse período (**Gráficos 01 a 04**).

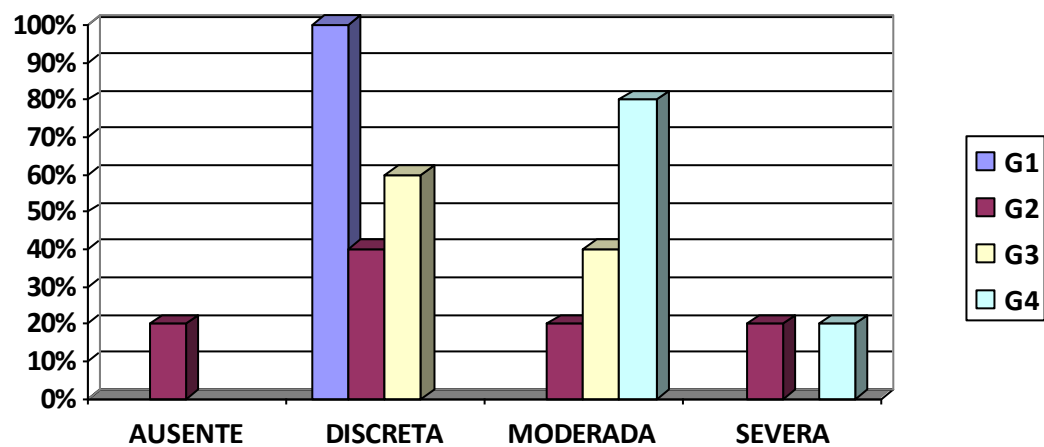


Gráfico 01 – Representação gráfica da presença de inflamação: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

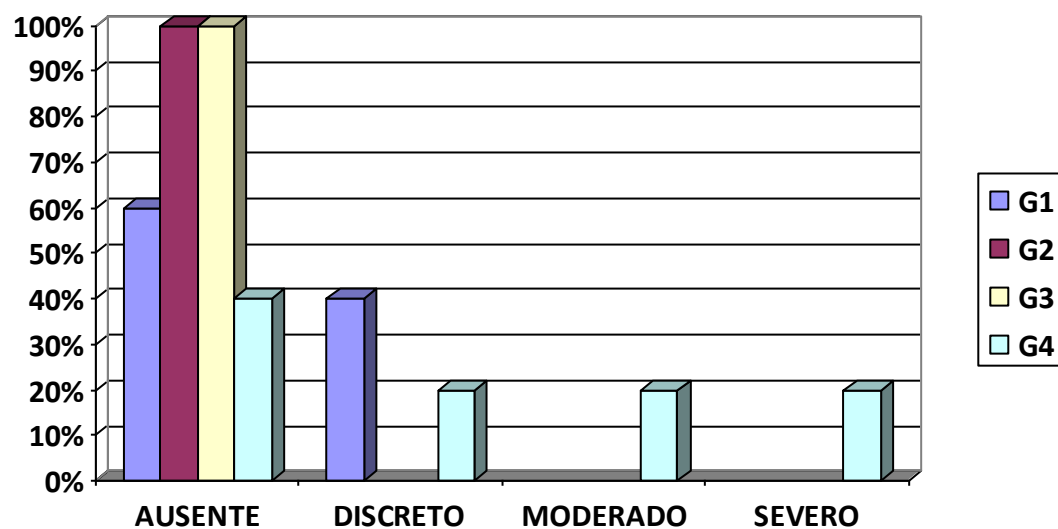


Gráfico 02 – Representação gráfica da presença dos osteoclastos: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

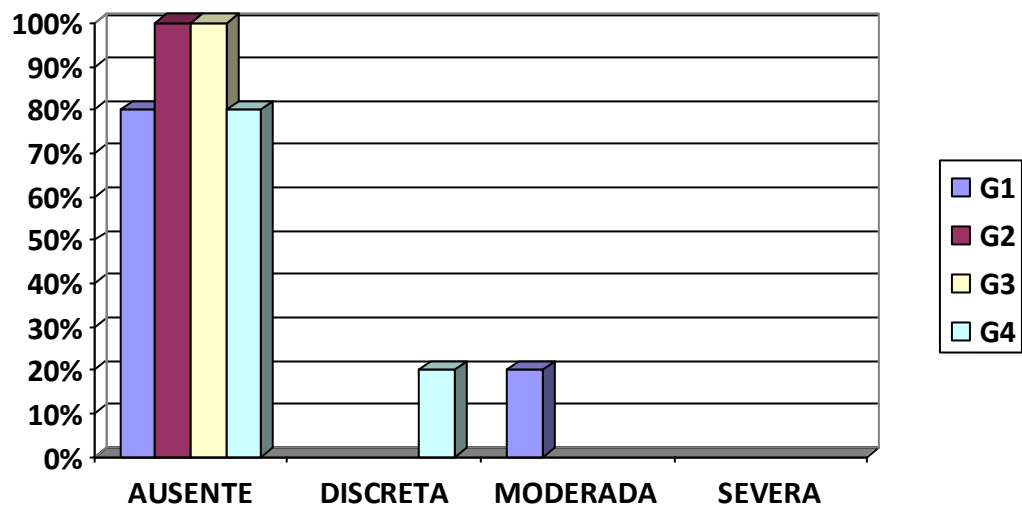


Gráfico 03 – Representação gráfica da presença de anquilose: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

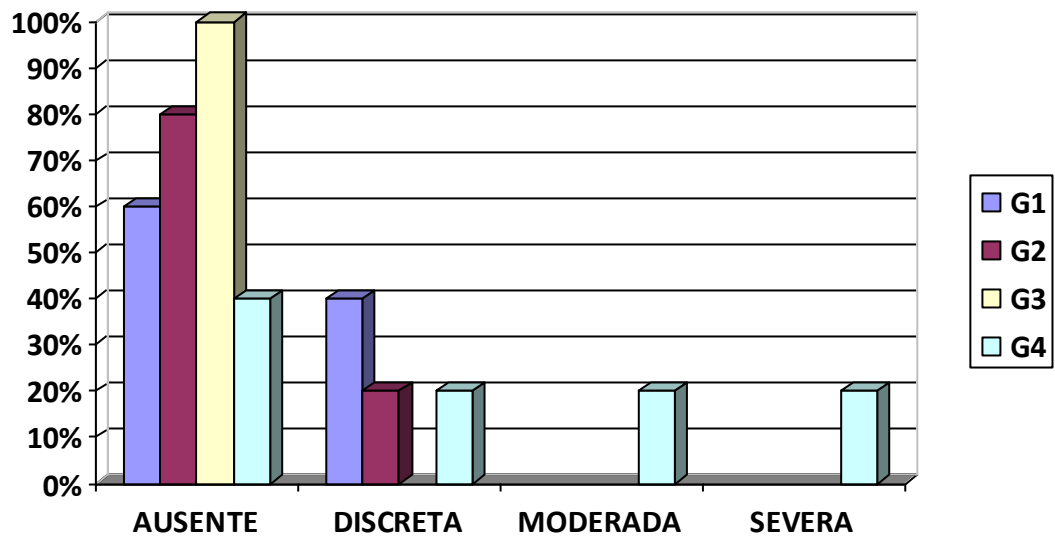


Gráfico 04 – Representação gráfica da presença de reabsorção radicular inflamatória: comparação entre os grupos aos 15 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

### Comparativo entre grupos 30 dias

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre G3 e os outros grupos com relação a presença de inflamação. O G3 teve 100% dos espécimes com ausência de processo inflamatório. No critério osteoclastos, houve diferença estatística entre G1 e G4 ( $p=0,02$ ); G2 e G4 ( $p=0,04$ ) e G3 e G4 ( $p=0,03$ ) sendo que G3 foi o que apresentou maior número de espécimes sem osteoclastos, enquanto G1 apresentou mais da metade dos espécimes avaliados com presença severa desse tipo celular. A reabsorção inflamatória se apresentou da mesma forma que os osteoclastos no G1, com diferença significativa ( $p=0,04$ ) quando comparado ao G3, grupo que a reabsorção esteve ausente em 80% dos espécimes. O G4 também apresentou reabsorção inflamatória severa em mais da metade dos espécimes avaliados, porém só apresentou diferença estatística quando comparado ao G3 ( $p=0,03$ ) **(Gráficos 05 a 08)**.

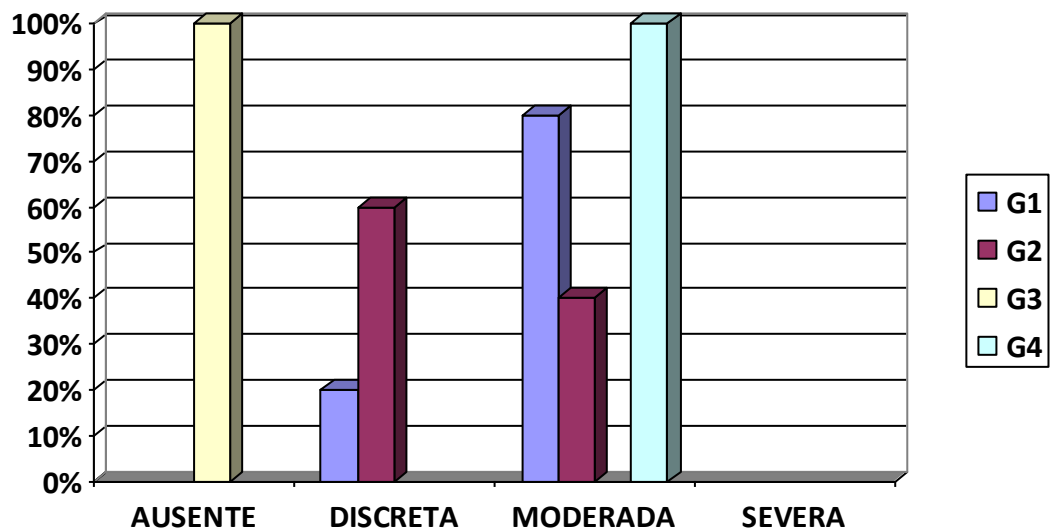


Gráfico 05 – Representação gráfica da presença de inflamação: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

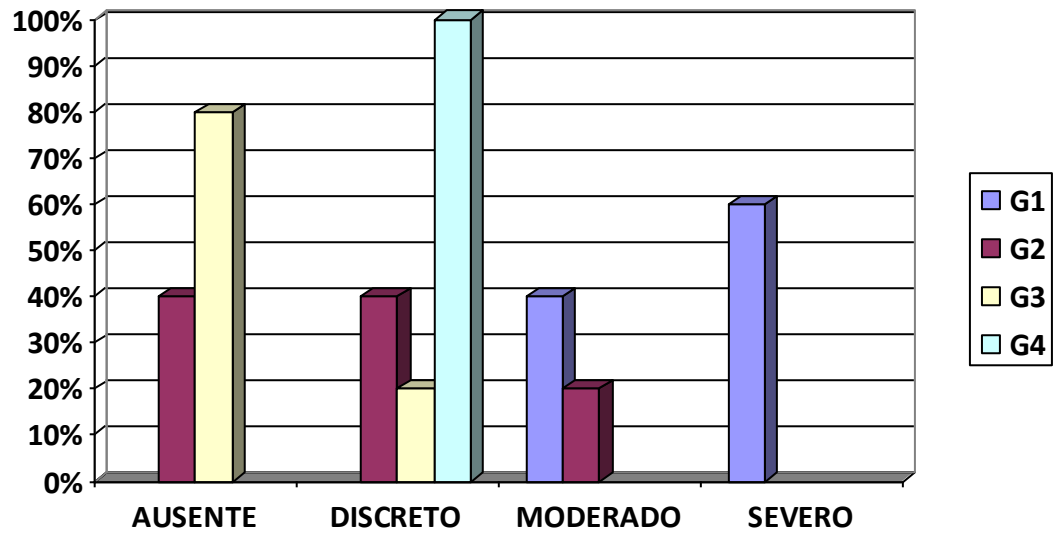


Gráfico 06 – Representação gráfica da presença dos osteoclastos: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

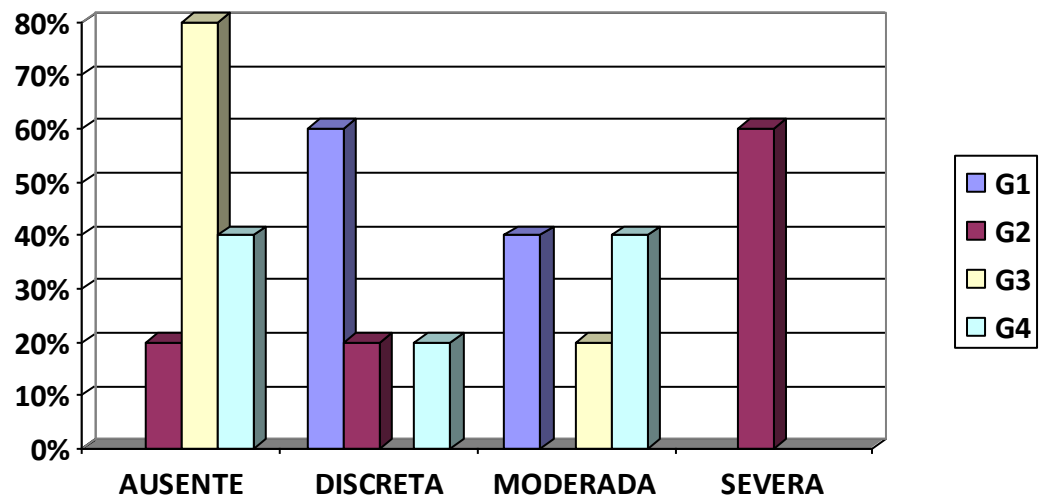
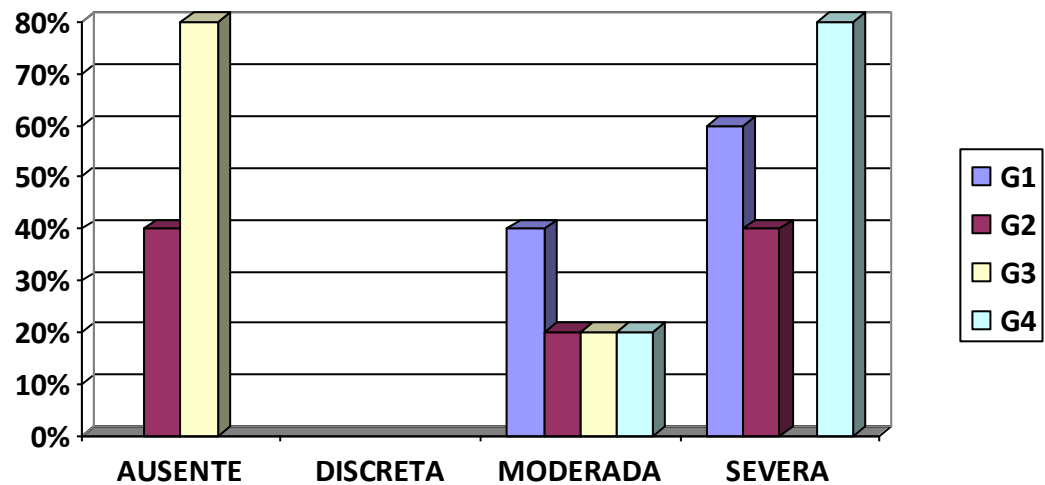


Gráfico 07 – Representação gráfica da presença de anquilose: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).





**Gráfico 08 – Representação gráfica da presença de reabsorção radicular inflamatória: comparação entre os grupos aos 30 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).**

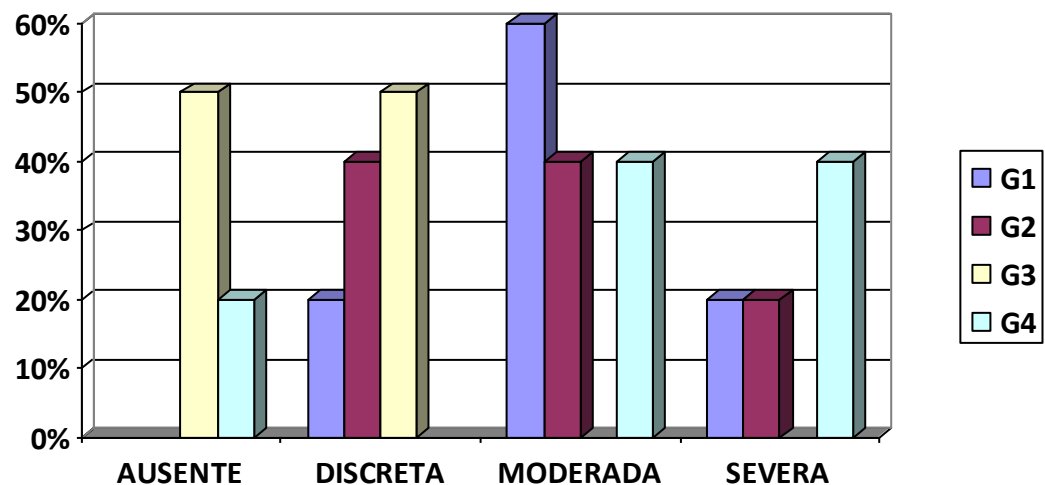
### **Comparativo entre grupos 60 dias**

O G3 apresentou todos os espécimes com ausência da reabsorção inflamatória com diferença significativa com os demais grupos ( $p=0,03$ ). Com relação a variável osteoclastos, no G1 ainda foi observada presença dessas células, a qual foi estatisticamente significativa quando comparada com os outros grupos ( $p<0,05$ ). Nos Grupos 3 e 4, não foi observada presença de osteoclastos. No G3 não foi observada presença de anquilose, embora nos demais grupos tenha sido observado algum grau de anquilose. Algum nível de inflamação crônica foi observada em todos os grupos, com diferença estatística apenas entre G1 e G3 ( $p=0,03$ ) (**Gráficos 09 a 12**).

### **Comparativo de cada grupo ao longo do período experimental**

A comparação dos grupos individualmente nos 3 períodos experimentais, observou-se que no G1, os critérios reabsorção, osteoclastos e inflamação tiveram aumento significativo ( $p<0,05$ ) ao longo do tempo. No G2

apenas os critérios presença de osteoclastos e anquilose aumentaram significativamente entre 15 e 30 dias ( $p=0,04$  e  $p=0,03$  respectivamente). No G3 os níveis de reabsorção radicular inflamatória, presença de osteoclastos e anquilose se mantiveram ausentes ou leve durante os 3 períodos analisados, enquanto que a inflamação apresentou redução significativa de 15 para 30 dias ( $p=0,01$ ), sendo considerada ausente na maioria dos espécimes (80%). De 30 para 60 dias, não houve diferença significativa quanto a inflamação no G3. O G4 demonstrou persistência de todos os critérios analisados ao longo dos períodos experimentais sem diferença significativa entre eles.



**Gráfico 09 – Representação gráfica da presença de inflamação: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).**

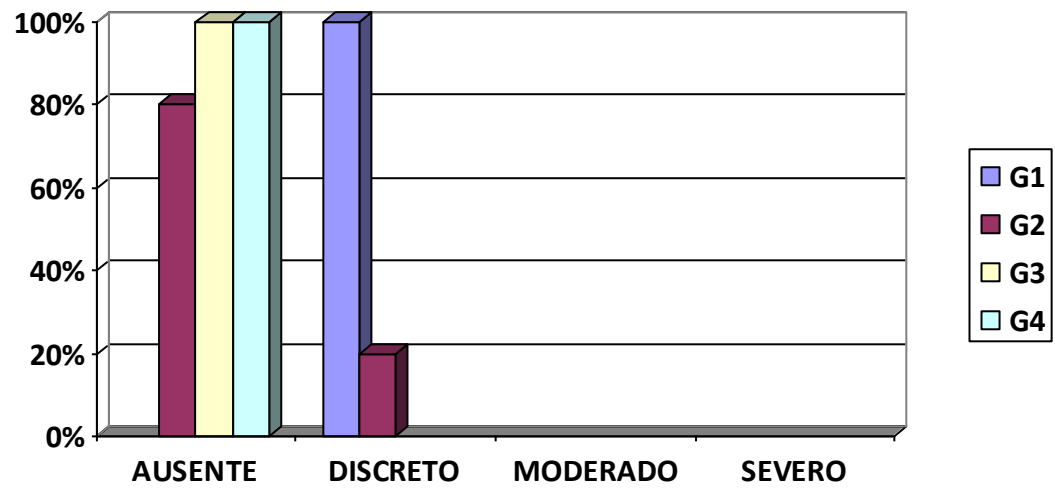


Gráfico 10 – Representação gráfica da presença dos osteoclastos: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

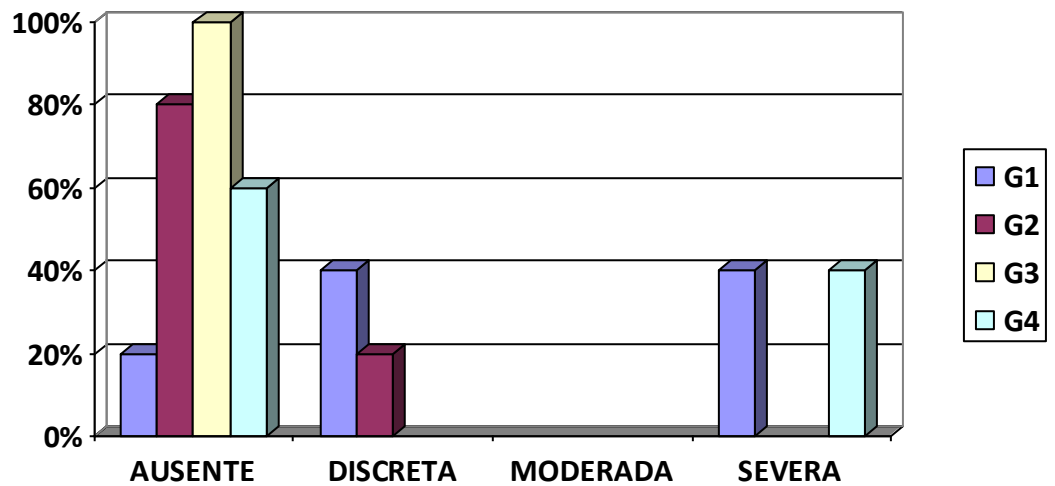


Gráfico 11 – Representação gráfica da presença de anquilose: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

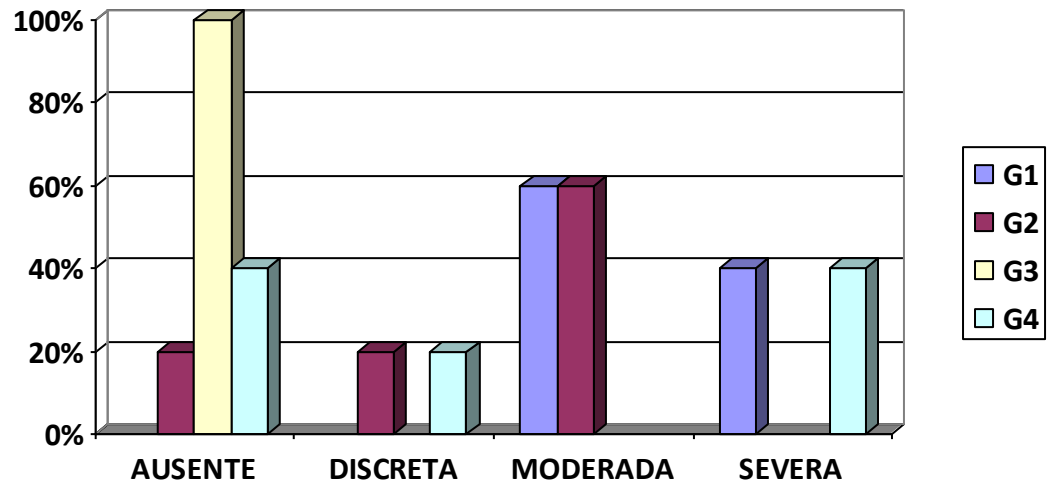


Gráfico 12 – Representação gráfica da presença de reabsorção radicular inflamatória: comparação entre os grupos aos 60 dias após reimplante (CARVALHO, 2013).

---

## 6. DISCUSSÃO

---

O sucesso do reimplante dentário mesmo nos dias atuais é limitado. Grande parte dos dentes é perdida pela reabsorção radicular externa, justificando a busca por novas formas de tratamento para controlar esse problema (KINIRONS *et al.*, 2000; SOARES *et al.*, 2008; HECOVA *et al.*, 2010; VILELA *et al.*, 2012).

Estudos (PANZARINI *et al.*, 2005; LUSTOSA-PEREIRA *et al.*, 2006; MORI *et al.*, 2007; GULINELLI *et al.*, 2008; MORI *et al.*, 2010; SAITO *et al.*, 2011) sobre reimplante dentário tem utilizado métodos histológicos para avaliar o processo de cicatrização frente a essas novas terapias. O rato é o modelo experimental animal usado nos estudos de reimplante dentário, e apesar da fácil manipulação, e a existência de uma metodologia definida para reproduzir avulsão e reimplante, seus dentes apresentam algumas peculiaridades. Os incisivos superiores do rato possuem crescimento contínuo e apresentam-se encurvados. A porção vestibular é totalmente revestida por esmalte, enquanto a face palatina tem ausência natural dessa estrutura, sendo revestida por cimento (ECCLES, 1964). O ligamento periodontal está apenas localizado na porção palatina e em partes da mesial e distal da raiz (ECCLES, 1964).

Baseado nessa anatomia, o presente estudo realizou irradiação laser nas faces mesial e distal da superfície dentária e na entrada do alvéolo antes do reimplante, e após o reimplante na mucosa vestibular e palatina que recobre o processo alveolar, semelhante aos estudos de Saito *et al.*, 2011 e Vilela *et al.*, 2012, os quais irradiaram respectivamente a superfície palatina da raiz e a

mucosa palatina alveolar, a entrada do alvéolo, toda superfície dentária e a mucosa palatina alveolar.

Quando o reimplante imediato não é possível, o dente deve ser mantido em um meio de conservação, a fim de preservar a viabilidade das células do ligamento periodontal e em alguns casos estimular sua proliferação, na tentativa de reduzir a presença de reabsorções (ANDREASEN e ANDREASEN, 2001).

O leite tem sido recomendado como melhor meio de conservação (MARINO *et al.*, 2000; PEARSON *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2012). Sua efetividade em preservar a viabilidade celular está relacionada a osmolaridade, presença de substâncias nutricionais e fatores de crescimento além de menor conteúdo bacteriano por conta do processo de pasteurização (MARINO *et al.*, 2000). Embora o leite exiba resultados bastante favoráveis, tal solução diminui, porém não impede a reabsorção radicular (SOUZA *et al.*, 2012). Na tentativa de manter a integridade do ligamento periodontal remanescente, os incisivos utilizados nos Grupos 2, 3 e 4 foram armazenados em leite bovino UHT desnatado. Walsh em 1997 afirmou que a gordura do leite afeta a viabilidade celular, sendo o leite com baixo conteúdo de gordura mais apropriado. Os dentes permaneceram no leite em temperatura ambiente, pois em uma situação real, provavelmente permaneceria assim até a realização do reimplante. Embora segundo Lekic; Kenny; Barrett, 1998 temperaturas mais próximas a 4 graus proporcione melhores resultados na cicatrização do que a temperatura ambiente.

Para que o laser exerça seus efeitos biológicos, algum nível de deficiência celular tem que estar presente. A fotobiomodulação laser será efetiva quando a função celular, ou seja, a situação de redox estiver subótima (PINHEIRO; BRUGNERA Jr; ZANIN, 2010). Dessa forma, a irradiação laser nos Grupos 3 e 4 foi realizada em dentes conservados em leite por 40 minutos, diferente do estudo de Vilela *et al.*, 2012, o qual utilizou irradiação com laser de baixa potência em incisivos de ratos mantidos em meio seco, antes do reimplante. Saito *et al.*, 2011 utilizaram a solução salina como meio de conservação de incisivos de ratos, por períodos de 30 e 45 minutos antes da irradiação laser.

O tempo extra aveolar de 40 minutos foi baseado nos estudos de Consolaro, 2005 e Saito *et al.*, 2011, que verificaram que as células do ligamento periodontal cementário permaneceram viáveis nesse período.

A avulsão causa ruptura do feixe vaso nervoso levando a necrose pulpar, e consequente contaminação bacteriana do canal radicular, favorecendo a reabsorção radicular externa inflamatória (PANZARINI *et al.*, 2005; GULINELLI *et al.*, 2008). Considerando esse aspecto, neste trabalho para evitar a necrose pulpar, a polpa foi removida antes do reimplante e o canal radicular preenchido com pasta de hidróxido de cálcio, devido a sua capacidade de prevenir e/ou controlar a progressão da reabsorção inflamatória, por sua ação antibacteriana e de neutralização de toxinas (GULINELLI *et al.*, 2008). Contudo, pode ser observado que essa substância não evitou a ocorrência da reabsorção inflamatória, nos Grupos 1, 2 e 4.

Além da necrose pulpar, outra via de contaminação é a superfície dentária exposta durante o período extra alveolar. Para controlar esta contaminação bacteriana, e assim evitar sua interferência na progressão da reabsorção radicular, foi administrado antibiótico a base de penicilina, conforme estudos prévios (LUSTOSA-PEREIRA *et al.*, 2006; SOTTOVIA *et al.*, 2006; MORI *et al.*, 2007; GULINELLI *et al.*, 2008; MORI *et al.*, 2010) de reimplante de incisivos de ratos.

A contenção do dente reimplantado constitui um dos fatores que podem interferir negativamente no processo de reparação das estruturas periodontais no modelo experimental em ratos. De acordo com Okamoto e Okamoto (1995), a imobilização envolvendo o dente reimplantado e o dente contíguo pode ocasionar uma compressão do periodonto contra a parede mesial do alvéolo, provocando reabsorção e anquilose. Além disso, no lado distal, o deslocamento do dente no sentido mesial cria espaço excessivo que facilita perda de coágulo e contaminação local. Neste estudo não foi utilizada contenção do dente reimplantado, por acreditar que a própria configuração anatômica do incisivo, com uma curvatura acentuada, seria capaz de permitir sua estabilização no alvéolo, conforme os trabalhos de Lustosa-Pereira *et al.*, 2006; Mori *et al.*, 2007; Ricieri *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009; Mori *et al.*, 2010.

Para a análise histológica do reimplante dentário, cortes transversais do dente avaliado podem ser realizados (SOTTOVIA *et al.*, 2006; MORI *et al.*, 2007; MORI *et al.*, 2010; VILELA *et al.*, 2012). Embora permita uma visão de todas as paredes da raiz, necessitam de um grande número de cortes semi



seriados para um estudo detalhado de toda extensão alveolar. Cortes longitudinais, apesar de serem de mais difícil execução, necessitando de boa adaptação do bloco de parafina para cortes paralelos ao longo eixo, permitem uma ampla visão da parede palatina da raiz, região que se concentra o ligamento periodontal em incisivos de ratos (OKAMOTO e OKAMOTO, 1995). Sendo assim, nesse estudo foram utilizados cortes longitudinais, semelhante aos trabalhos de Panzarini *et al.*, 2005; Poi *et al.*, 2007; Gulinelli *et al.*, 2008; Negri *et al.*, 2008; Ricieri *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009; Saito *et al.*, 2011.

Os efeitos do laser sobre as células são comprimento de onda e dose-dependentes. O estudo de Kreisler *et al.*, 2003, revelou que o laser infravermelho tem um efeito estimulante sobre a proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal. No presente estudo a escolha do comprimento de onda (780 nm) foi baseada no tecido alvo, ou seja, células do ligamento periodontal radicular e alveolar.

Os resultados desse estudo mostraram que nos espécimes do G1 o processo inflamatório e a reabsorção radicular externa se tornaram mais intensos (moderado a severo) com o passar do tempo (30 e 60 dias), tais achados corroboram com os resultados dos trabalhos de Mori *et al.*, 2010 e Vilela *et al.*, 2012, demonstrando que o meio seco favorece a necrose das células do ligamento periodontal cementário, o que contribui para a inflamação e reabsorção radicular. Para Sottovia *et al.*, 2006, a presença de restos necróticos do ligamento periodontal contribui para o processo inflamatório pela liberação de várias enzimas e mediadores inflamatórios ao longo do curso da cicatrização. Comparado ao meio seco, a permanência dos incisivos somente

em leite (G2), produziu condições que permitiram que essas células fossem menos afetadas, resultando em menor inflamação principalmente aos 15 dias.

Os grupos irradiados G3 e G4, no período experimental de 15 dias apresentaram inflamação crônica mais intensa, classificada de discreta a severa, quando comparados aos grupos não irradiados. Esse resultado pode ser atribuído ao fato de que a fotobiomodulação laser aumenta a vasodilatação e a microcirculação local (TACHIYAMA; FARINELLI; ANDERSON, 2002; IHSAN, 2005). A irradiação laser parece acelerar o estágio exudativo da inflamação, tendo assim um efeito pró inflamatório nos períodos iniciais (MENDEZ *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2010), o que pôde ser confirmado no presente estudo.

Como a inflamação contribui para um ambiente favorecedor da presença de células clásticas e da reabsorção, corroborando com essa afirmação, este estudo observou que nos Grupos 1, 2 e 4, quando a inflamação foi classificada como moderada e severa, nos períodos avaliados, a presença de osteoclastos e da reabsorção inflamatória também se faziam presentes.

Diferentemente do observado no Grupo 3, onde a inflamação foi classificada como ausente a moderada, sendo moderada apenas no período experimental de 15 dias. A maioria dos espécimes desse grupo não apresentaram osteoclastos nem reabsorção em todos os períodos experimentais. Dessa forma, a modulação do processo inflamatório observado no Grupo 3, o qual recebeu irradiação laser na superfície dentária e na entrada do alvéolo antes do reimplante, parece ter sido importante para atenuar a reabsorção radicular externa. Achados semelhantes foram encontrados no

trabalho de Vilela *et al.*, 2012, ao observarem que o efeito anti-inflamatório do laser pode ter auxiliado na redução do processo de reabsorção radicular, quando o mesmo foi aplicado apenas no alvéolo e na raiz antes do reimplante. Segundo esses autores, a irradiação laser parece ter inibido a ação clástica, favorecendo os processos de síntese de fibroblastos, cementoblastos e osteoblastos.

Nossos achados diferem dos resultados de Saito *et al.*, 2011 onde o tratamento da superfície dentária e do alvéolo com laser de baixa potência não interferiu no processo cicatricial de reimplantes em ratos. Os autores não observaram diferenças entre o grupo controle e o grupo irradiado quanto a ocorrência da reabsorção inflamatória e substitutiva, embora sem diferença estatística o grupo laser tenha demonstrado uma fase mais avançada no processo de cicatrização. Os resultados divergentes podem estar associados às diferentes metodologias como modelo animal, período de avaliação, tempo extra-alveolar e parâmetros do laser.

A cicatrização do ligamento periodontal corresponde a uma série de interações entre fibroblastos gengivais, osteoblastos, cementoblastos e fibroblastos de ligamento periodontal. Esses fibroblastos são essenciais uma vez que podem se diferenciar em osteoblastos e cementoblastos para restaurar a perda do osso alveolar e do cimento (Choi *et al.*, 2010). Dessa forma este estudo utilizou os efeitos de estimulação celular e proliferação, sobre os fibroblastos remanescentes, além dos efeitos vasculares, anti-inflamatório e analgésico do laser.

De fato os espécimes do Grupo 3, o qual recebeu irradiação laser na superfície dentária e na entrada do alvéolo, apresentaram resultados positivos com relação ao reparo pós reimplante dental, visto que não foram observados osteoclastos e reabsorção inflamatória nos períodos avaliados. Acredita-se que os parâmetros do laser utilizado nesse grupo tenha contribuído para proliferação e diferenciação dos fibroblastos. Segundo Lekic *et al.*, 2001, o ligamento periodontal tem uma população celular heterogênea que pode se diferenciar em cementoblastos ou osteoblastos. Os resultados encontrados no estudo de Choi *et al.*, 2010 demonstraram que o laser de diodo AsGaAl pôde estimular a proliferação e diferenciação de fibroblastos humanos.

No presente estudo, os Grupos 1, 2 e 3 exibiram anquilose principalmente no período de 30 dias. A avulsão é suficiente para causar morte dos cementoblastos e eliminar os restos epiteliais presentes no ligamento periodontal. A ausência dos restos epiteliais pode permitir a ocorrência de anquilose, uma vez que essas células são as responsáveis por manter o espaço do ligamento periodontal (Lustosa-Pereira *et al.*, 2006).

Reabsorção radicular inflamatória moderada a severa foi observada no período de 30 dias após reimplante no Grupo 4, que recebeu irradiação laser na superfície dentária e na entrada do alvéolo antes do reimplante e após o reimplante, na mucosa vestibular e palatina. Acredita-se que a irradiação laser por 15 dias na região da mucosa palatina, tenha estimulado a diferenciação e ativação de osteoclastos. De acordo com Karu 1999, o citocromo C mitocondrial absorve a energia laser e essa absorção aumenta a atividade celular via aumento da síntese de ATP. Uma vez que os osteoclastos são

células multinucleadas, com mitocôndria de alta atividade, essas células são prontamente afetadas pelo laser (NICOLAU *et al.*, 2003; ; YAMAGUCHI; KASAI, 2006).

Panzarini *et al.* (2013) ao estudarem a cronologia do processo de reparo após reimplante imediato de incisivo de rato, observaram aumento significativo da TRAP (enzima que demonstra a atividade osteoclástica) a partir do sétimo dia após reimplante e em todos os períodos posteriores (15, 28 e 60 dias), comprovando a existência de células clásticas durante o reparo. Baseando-se nesse aspecto, é possível que no Grupo 4, a irradiação laser por 15 dias após o reimplante tenha estimulado as células clásticas presentes, observando-se assim reabsorção radicular externa inflamatória nesse grupo em todos os períodos.

O dano ao ligamento periodontal observado após a avulsão dentária, leva a uma resposta inflamatória para remover o tecido lesado antes do processo de reparo (CONSOLARO, 2005). Dessa forma, a modulação da inflamação é importante para atenuar a reabsorção radicular externa. De acordo com os resultados do presente estudo, o uso do laser de baixa intensidade pode ser uma ferramenta importante no controle das reabsorções após reimplante, aumentando seus índices de sucesso.

---

## **7. CONCLUSÃO**

---

De acordo com os resultados obtidos na análise histológica do presente estudo, baseado na metodologia utilizada, parece lícito concluir que:

- A fotobiomodulação laser na superfície dentária e na entrada do alvéolo antes do reimplante (G3) favoreceu o processo de reparo tecidual após reimplante dentário em ratos, apresentando ausência de reabsorções radiculares externas, anquilose, osteoclastos e inflamação, quando comparado aos Grupos não irradiados e ao Grupo que recebeu irradiação laser antes e após reimplante durante 15 dias (G4);

- A fotobiomodulação laser na superfície dentária e na entrada do alvéolo antes do reimplante e nas mucosas vestibular e palatina após reimplante (G4), não favoreceu o reparo tecidual, demonstrando a presença de reabsorções radiculares externas, anquilose, osteoclastos e inflamação nos períodos avaliados.

## Referências

- AGUIAR, M. C.; SANTANA, E. J. B.; SANTOS, J. N. Efeito da água de coco e do leite pasteurizado sobre a superfície dentária de dentes reimplantados – estudo histológico em ratos. **RPG Revista da Pós Graduação**, v. 12, n. 3, p. 342-349, 2005.
- AIHARA, N.; YAMAGUCHI, M.; KASAI, K. Low-energy irradiation stimulates formation of osteoclast-like cells via RANK expression in vitro. **Lasers in Medical Science**, v. 21, n. 1, p. 24-33, 2006.
- ALMEIDA-LOPES, L.; RIGAU, J.; ZÂNGARO, R. A.; GUIDUGLI-NETO, J.; JAEGER, M. M. M. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 29, n. 2, p. 179-184, 2001.
- ANDERSSON, L.; ANDREASEN, J. O.; DAY, P.; HEITHERSAY, G.; TROPE, M.; DIANGELIS, A. J.; KENNY, D. J.; SIGURDSSON, A.; BOURGUIGNON, C.; FLORES, M. T.; HICKS, M. L.; LENZI, A. R.; MALMGREN, B.; MOULE, A. J.; TSUKIBOSHI, M. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. **Dental Traumatology**, v. 28, n. 2, p. 88–96, 2012.
- ANDERSSON, L.; BODIN, I.; SORENSEN, S. Progression of root resorption following replantation of human teeth after extended extraoral storage. **Endodontic and Dental Traumatology**, v. 5, n. 1, p. 38-47, 1989.
- ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F. M. **Texto e atlas colorido de traumatismo dental**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2001, 770p.
- ANDREASEN, J. O.; ANDREASEN, F. M.; SKEIE, A.; HJÖRTING-HANSEN, E.; SCHWARTZ, O. Effect of treatment delay upon pulp and periodontal healing of traumatic dental injuries - a review article. **Dental Traumatology**, v, 18, n.3, p. 116 – 128, 2002.

ANDREASEN, J. O.; BORUM, M. K.; JACOBSEN, H. L.; ANDREASEN, F. M. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 1. Diagnosis of healing complications. **Endodontic and Dental Traumatology**, v. 11, n. 2, p. 51-58, 1995.

ANDREASEN, J. O.; LAURIDSEN, E.; ANDREASEN, F. M. Contradictions in the treatment of traumatic dental injuries and ways to proceed in dental trauma research. **Dental Traumatology**, v. 26, n. 1, p. 16-22, 2010.

ASHKENAZI, M.; MAROUNI, M.; SARNAT, H. In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage H. Sarnat<sup>1</sup> in four media at room temperature. **Endodontic and Dental Traumatology**, v. 16, n. 2, p. 63–70, 2000.

AZEVEDO, L. H.; EDUARDO, F. P.; MOREIRA, M. S.; EDUARDO, C. P.; MARQUES, M. M. Influence of different power densities of LILT on cultured human fibroblast growth. **Lasers in Medical Science**, v. 21, n. 2, p. 86–89, 2006.

BAGINSKA, J.; WILCZYNSKA-BORAWSKA, M. First-aid algorithms in dental avulsion. **Journal of school nursing**, v. 28, n. 2, p. 90-94, 2012.

BLOMLOF, L. Storage of human periodontal ligament cells in a combination of different media. **Journal of Dental Research**, v. 60, n. 11, p. 1904-1906, 1981.

BOYD, D. H.; KINIRONS, M. J.; GREGG, T. A. A prospective study of factors affecting survival of replanted permanent incisors in children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 10, n. 3, p. 200-205, 2000.

CHAPPUIS, V.; VON ARX, T. Replantation of 45 avulsed permanent teeth: a 1-year follow-up study. **Dental Traumatology**, v. 21, n. 5, p. 289 – 296, 2005.

CHOI, E. J.; YIM, J. Y.; KOO, K. T.; SEOL, Y. J.; LEE, Y. M.; KU, Y.; RHYU, I. C. CHUNG, C. P.; KIM, T. I. Biological effects of a semiconductor diode laser on human periodontal ligament fibroblasts. **Journal of Periodontal and Implant Science**, v. 40, n. 3, p. 105-110, 2010.



CONSOLARO, A. **Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas.** Maringá: Dental Press editora, 2005, 540p.

CORREA, F.; LOPES-MARTINS, R. A.; CORREA, J. C.; IVERSEN, V. V.; JOENSON, J.; BJORDAL, J. M. Low-level laser therapy (GaAs  $\lambda = 904$  nm) reduces inflammatory cell migration in mice with lipopolysaccharide-induced peritonitis. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 25, n. 4, p. 245-249, 2007.

DAMANTE, C. A.; GREGHI, S. L. A.; A SANT'ANA, A. C. P.; PASSANEZI, E. Clinical evaluation of the effects of low intensity laser (GAALAS) on wound healing after gingivoplasty in humans. **Journal of Applied Oral Science**, v. 12, n. 2, p. 133-136, 2004.

DE CASTRO, J. L.; PINHEIRO, A. L.; WERNECK, C. E.; SOARES, C. P. The effect of laser therapy on the proliferation of oral KB carcinoma cells: an in vitro study. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 6, p. 586-589, 2005.

DONALDSON, M.; KINIRONS, M. J. Factors affecting the time of onset of resorption in avulsed and replanted incisor teeth in children. **Dental Traumatology**, v. 17, n. 5, p. 205-209, 2001.

ECCLES, J. D. The development of the periodontal membrane in the incisor. **Archives of Oral Biology**, v. 9, p. 127-133, 1964.

FILIPPI, A.; POHL, Y.; VON ARX, T. Treatment of replacement resorption with Emdogain - a prospective clinical study. **Dental Traumatology**, v. 18, n. 3, p. 138-143, 2002.

FLORES, M. T.; ANDERSSON, L.; ANDREASEN, J. O.; BAKLAND, L. K.; MALMGREN, B.; BARNETT, F.; BOURGUIGNON, C.; DIANGELIS, A.; HICKS, L.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M.; TSUKIBOSHI, M.; VON ARX, T. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. II. Avulsion of Permanent Teeth. **Dental Traumatology**, v. 23, n. 3, p. 130-136, 2007.

FUSS, Z.; TSESIS, I.; LIN, S. Root resorption - diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. **Dental Traumatology**, v. 19, n. 4, p. 175-182, 2003.

GOPIKRISHNA, V.; BAWEJA, P. S.; VENKATESHBABU, N.; THOMAS, T.; KANDASWAMY, D. Comparison of Coconut Water, Propolis, HBSS, and Milk on PDL Cell Survival. **Journal of Endodontics**, v. 34, p. 587–589, 2008a.

GOPIKRISHNA, V.; THOMAS, T.; KANDASWAMY, D. A quantitative analysis of coconut water: a new storage media for avulsed teeth. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics**, v. 105, p. e61-e65, 2008b.

GROPER, J. N.; BERNICK, S. Histological study of the periodontium following replantation of teeth in the dog. **ASDC Journal of Dentistry for Children**, v. 37, n. 1, p. 25-35, 1970.

GULINELLI, J. L.; PANZARINI, S. R.; FATTAH, C. M. R. S.; POI, W. R.; SONODA, C. K.; NEGRI, M. R.; SAITO, C. T. M. H. Effect of root surface treatment with própolis and fluoride in delayed tooth replantation in rats. **Dental Traumatology**, v. 24, n. 6, p. 651-657, 2008.

GUNGORMUS, M.; AKYOL, U. The effect of gallium-aluminum-arsenide 808-nm low-level laser therapy on healing of skin incisions made using a diode laser. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 6, p. 895-899, 2009.

HASHMI, J. T.; HUANG, Y. Y.; SHARMA, S. K.; KURUP, D. B.; DE TABOADA, L.; CARROLL, J. D.; HAMBLIN, M. R. Effect of pulsing in low-level light therapy. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 42, n. 6, p. 450-466, 2010.

HECOVA, H.; TZIGKOUNAKIS, V.; MERGLOVA, V.; NETOLICKY, J. A retrospective study of 889 injured permanent teeth. **Dental Traumatology**, v. 26, n. 6, p. 466-475, 2010.

HENRIQUES, A. C. G.; CAZAL, C.; CASTRO, J. F. L. Low intensity laser therapy effects on cell proliferation and differentiation. Review of the literature. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, n. 4, p. 295-302, 2010.

HILTZ, J.; TROPE, M. Vitality of human lip fibroblasts in milk, Hanks balanced salt solution and Viaspan storage media. **Endodontic and Dental Traumatology**, v. 7, n. 2, p. 69-72, 1991.

IHSAN, F. R. M. Low level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 3, p. 289–294, 2005.

KARU, T. I.; KOLYAKOV, S. F. Exact action spectra for cellular responses relevant to phototherapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 4, p. 355-361, 2005.

KARU, T. I.; PYATIBRAT, L. V.; AFANASYEVA, N. I. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide. **Lasers Surgery Medicine**, v. 36, n. 4, p. 307–314, 2005.

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

KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology**, v. 49, n. 1, p. 1-17, 1999.

KEKLIKOGLU, N.; ASCI, S. K. Histological evaluation of a replanted tooth retained for 49 years. **Dental Traumatology**, v. 22, n. 3, p. 157–159, 2006.

KINIRONS, M. J.; GREGG, T. A.; WELBURY, R. R. R.; COLE, B. O. I. Variations in the presenting and treatment features in reimplanted permanent incisors in children and their effect on the prevalence of root resorption. **British Dental Journal**, v. 189, n. 5, p. 263-266, 2000.

KREISLER, M.; CHRISTOFFERS, A. B.; WILLERSTAUSEN, B.; d'HOEDT, B.

Effect of low-level GaAlAs laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, n., p. 353–358, 2003.

LEKIC, P. C.; KENNY, D. J.; BARRETT, E. J. The influence of storage conditions on the clonogenic capacity of periodontal ligament cells: implications for tooth replantation. **International Endodontic Journal**, v. 31, n. 2, p. 137-140, 1998.

LEKIC, P. C.; KENNY, D. J.; BARRETT, E. J. The influence of storage conditions on the clonogenic capacity of periodontal ligament cells: implications for tooth replantation. **International Endodontic Journal**, v. 31, n. 2, p. 137–140, 1998.

LEKIC, P.; KENNY, D.; MOE, H. K.; BARRETTI, E.; MCCULLOCH, C. A. Relationship of clonogenic capacity to plating efficiency and vital dye staining of human periodontal ligament cells: implications for tooth replantation. **Journal of Periodontal Research**, v. 31, n. 4, p. 294-300, 1996.

LEKIC, P.; ROJAS, J.; BIREK, C.; TENENBAUM, H.; MCCULLOCH, C. A. G. Phenotypic comparison of periodontal ligament cells in vivo and in vitro. **Journal of Periodontal Research**, v. 36, n. 2, p. 71-79, 2001.

LOPES, C. B.; PACHECO, M. T. T.; SILVEIRA JUNIOR, L.; *et al.* The effect of the association of near infrared laser therapy, bone morphogenetic proteins, and guided bone regeneration on tibial fractures treated with internal rigid fixation: A Raman spectroscopic study. **Journal of Biomedical Materials Research A**, v. 4, n. 4, p. 1257-1263, 2010.

LUSTOSA-PEREIRA, A.; GARCIA, R. B.; DE MORAES, I. G.; BERNARDINELI, N.; BRAMANTE, C. M.; BORTOLUZZI, E. A. Evaluation of the topical effect of alendronate on the root surface of extracted and replanted teeth. Microscopic analysis on rats' teeth. **Dental Traumatology**, v. 22, n. 1, p. 30–35, 2006.

MAJORANA, A.; BARDELLINI, E.; CONTI, G.; KELLER, E.; PASINI, S. Root resorption in dental trauma: 45 cases followed for 5 years. **Dental Traumatology**, v. 19, n. 5, p. 62-265, 2003.

MALHOTRA, N. Current developments in interim transport (storage) media in dentistry: an update. **British Dental Journal**, v. 211, n. 1, p. 29-33, 2011.

MARINO, T. G.; WEST, L. A.; LIEWEHR, F. R.; MAILHOT, J. M.; BUXTON, T. B.; RUNNER, R. R.; MCPHERSON, J. C. III. Determination of periodontal ligament cell viability in long shelf-life milk. **Journal of Endodontics**, v. 26, n. 12, p. 699-702, 2000.

MARQUES, M. M.; PEREIRA, A. N.; FUJIHARA, N. A.; NOGUEIRA, F. N.; EDUARDO, C. P. Effect of low-power laser irradiation on protein synthesis and ultrastructure of human gingival fibroblasts. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 34, n. 3, p. 260–265, 2004.

MAYAHARA, K.; YAMAGUCHI, A.; SAKAGUCHI, M.; IGARASHI, Y.; SHIMIZU, N. Effect of Ga-Al-As laser irradiation on COX-2 and cPLA2-a expression in compressed human periodontal ligament cells. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 42, n. 6, p. 489–493, 2010.

MENDEZ, T. M. T. .V.; PINHEIRO, A. L. B.; PACHECO, M. T. T.; NASCIMENTO, P. M.; RAMALHO, L. M. P. Dose and Wavelength of Laser Light Have Influence on the Repair of Cutaneous Wounds. **Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery**, v. 22, n. 1, p. 19–25, 2004.

MOREIRA-NETO, J. J. S.; GONDIM, J. O.; RADDI, M. S. G.; PANSANI, C. A. Viability of human fibroblasts in coconut water as a storage medium. **International Endodontic Journal**, v. 42, p. 827–830, 2009.

MORI, G. G.; GARCIA, R. B.; de MORAES, I. G.; BRAMANTE, C. M.; BERNARDINELLI, N. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of a solution of alendronate as an intracanal therapeutic agent in rat teeth submitted to late reimplantation. **Dental Traumatology**, v. 23, n. 4, p. 218–221, 2007.

MORI, G. G.; NUNES, D. C.; CASTILHO, L. R.; MORAES, I. G.; POI, W. R. Propolis as storage media for avulsed teeth: microscopic and morphometric analysis in rats. **Dental Traumatology**, v. 26, n. 1, p. 80–85, 2010.

MOULE, A. J.; MOULE, C. A. The endodontic management of traumatized permanent anterior teeth: a review. **Australian Dental Journal Supplement**, v. 52, n. 1, p. S122-S137, 2007.

NE, R. F.; WITHERSPOOTI, D. E.; GUTMAFIN, J. L. Tooth resorption. **Quintessence International**, v. 30, n. 1, p. 9-25, 1999.

NEGRI, M. R.; PANZARINI, S. R.; POI, W. R.; SONODA, C. K.; GULINELLI, J. L.; SAITO, C. T. M. H. Analysis of the healing process in delayed tooth replantation after root canal filling with calcium hydroxide, Sealapex and Endofill: a microscopic study in rats. **Dental Traumatology**, v. 24, n. 6, p. 645–650, 2008.

NICOLAU, R. A.; JORGETTI, V.; RIGAU, J.; PACHECO, M. T.; DOS REIS, L. M.; ZÂNGARO, R. A. Effect of low-power GaAlAs laser (660 nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Lasers in Medical Science**, v. 18, n. 2, p. 89-94, 2003.

OKAMOTO, T.; OKAMOTO, R. Interferência da imobilização após reimplante imediato de incisivo superior de ratos. Estudo histomorfológico. **Revista de Odontologia UNESP**, v. 24, n. 1, p. 97-98, 1995.

OKAMOTO, T.; RUSSO, M. C. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. **Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba**, v. 2, p. 153-169, 1973.

PANZARINI, S. R.; PERRI DE CARVALHO, A. C.; POI, W. R.; SONODA, C. K. Use of Vitamin C in Delayed Tooth Replantation. **Brazilian Dental Journal**, v. 16, n. 1, p. 17-22, 2005.

PANZARINI, S. R.; OKAMOTO, R.; POI, W. R.; *et al.* Histological and immunohistochemical analyses of the chronology of healing process after

immediate tooth replantation in incisor rat teeth. **Dental Traumatology**, v. 29, n. 1, p. 15-22, 2013.

PARKER, S. Low-level laser use in dentistry. **British Dental Journal**, v. 202, n. 3, p. 131-138, 2007.

PEARSON, R. M.; LIEWEHR, F. R.; WEST, L. A.; PATTON, W. R.; MCPHERSON, J. C.; RUNNER, R. R. Human periodontal ligament cell viability in milk and milk substitutes. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 3, p. 184-186, 2003.

PEREIRA, C. F. Estudo **da recuperação do ligamento periodontal de cães usando laser de baixa potência em reimplantes intencionais**. Dissertação ( Mestrado - Programa de bioengenharia do Instituto de pesquisa e desenvolvimento do vale do Paraíba) São José dos Campos, São Paulo, 2004.

PEREIRA, M. C. M. C.; PINHO, C. B.; MEDRADO, A. R. P.; ANDRADE, Z. A.; REIS, S. R. A. Influence of 670 nm low-level laser therapy on mast cells and vascular response of cutaneous injuries. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology**, v. 98, n. 3, p. 188–192, 2010.

PETROVIC, B.; MARKOVIC, D.; PERIC, T.; BLAGOJEVIC, D. Factors related to treatment and outcomes of avulsed teeth. **Dental Traumatology**, v. 26, n. 1, p. 52–59, 2010.

PETTIETTE, M.; HUPP, J.; MESAROS, S.; TROPE, M. Periodontal healing of extracted dogs's teeth air-dried for extended periods and soaked in various media. **Endodontic and Dental Traumatology**, v. 13, n. 3, p. 113-118, 1997.

PINHEIRO, A. L. B.; BRUGNERA JR, A.; ZANIN, F. A. A. **Aplicação do Laser na Odontologia**. São Paulo: Santos, 2010, 428 p.

PINHEIRO, A. L. B.; SOARES, L. G. P.; ACIOLE, G. T. S.; *et al.* Light microscopic description of the effects of laser phototherapy on bone defects grafted with mineral trioxide aggregate, bone morphogenetic proteins, and

guided bone regeneration in a rodent model. **Journal of Biomedical Material Research part A**, v. 98, n. 2, p. 212-221, 2011.

POHL, Y.; FILIPPI, A.; KIRSCHNER, H. Results after replantation of avulsed permanent teeth. I. Endodontic considerations. **Dental Traumatology**, v. 21, n. 2, p. 80–92, 2005a.

POHL, Y.; FILIPPI, A.; KIRSCHNER, H. Results after replantation of avulsed permanent teeth. II. Periodontal healing and the role of physiologic storage and antiresorptive-regenerative therapy. **Dental Traumatology**, v. 21, n. 2, p. 93 – 101, 2005b.

POI, W. R.; CARVALHO, R. M.; PANZARINI, S. R.; SONODA, C. K.; MANFRIN, T. M.; RODRIGUES, T. S. Influence of enamel matrix derivative (Emdogain) and sodium fluoride on the healing process in delayed tooth replantation: histologic and histometric analysis in rats. **Dental Traumatology**, v. 23, n. 1, p. 35–41, 2007.

PUGLIESE, L. S.; MEDRADO, A. P.; REIS, S. R. A.; ANDRADE, Z. A. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 307-313, 2003.

RIBEIRO, M. S.; DA SILVA, D. F.; DE ARAÚJO, C. E.; DE OLIVEIRA, S. F.; PELEGRINI, C. M.; ZORN, T. M.; ZECELL, D. M. Effects of low-intensity polarized visible laser radiation on skin burns: a light microscopy study. **Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery**, v. 22, n. 1, p. 59-66, 2004.

RICIERI, C. B.; SONODA, C. K.; ARANEGA, A. M.; PANZARINI, S. R.; POI, W. R.; SUNDEFELD, M. L. M. M.; OKAMOTO, T. Healing process of incisor teeth of diabetic rats replanted after storage in milk. **Dental Traumatology**, v. 25, n. 3, p. 284–289, 2009.

SAITO, C. T. M. H.; GULINELLI, J. L.; PANZARINI, R. S.; GARCIA, V. G.; OKAMOTO, R.; OKAMOTO, T.; SONODA, C. K.; POI, W. R. Effect of low-level laser therapy on the healing process after tooth replantation: a



histomorphometrical and immunohistochemical analysis. **Dental Traumatology**, v. 27, n. 1, p. 30–39, 2011.

SAMPAIO, S. C. P. O.; MONTEIRO, J. S. C.; CANGUSSÚ, M. C. T.; SANTOS, G. M. P.; SANTOS, M. A. V.; SANTOS, J. N.; PINHEIRO, A. L. B. Effect of laser and LED phototherapies on the healing of cutaneous wound on healthy and iron-deficient Wistar rats and their impact on fibroblastic activity during wound healing. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 3, p. 799-806, 2013.

SANTOS, C. L.; SONODA, C. K.; POI, W. R.; PANZARINI, S. R.; SUNDEFELD, M. L.; NEGRI, M. R. Delayed replantation of rat teeth after use of reconstituted powdered milk as a storage medium. **Dental Traumatology**, v. 25, n. 1, p. 51-57, 2009.

SANTOS, N. R. S.; SANTOS, J. N.; REIS Jr, J. A.; *et al.* Influence of the Use of Laser Phototherapy (1660 or 790 nm) on the Survival of Cutaneous Flaps on Diabetic Rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 4, p. 483-488, 2010.

SCHJOTT, M.; ANDREASEN, J. O. Emdogain does not prevent progressive root resorption after replantation of avulsed teeth: a clinical study. **Dental Traumatology**, v. 21, n. 1, p. 46–50, 2005.

SIGALAS, E.; REGAN, J. D.; KRAMER, P. R.; WITHERSPOON, D. E.; OPPERMAN, L. A. Survival of human periodontal ligament cells in media proposed for transport of avulsed teeth. **Dental Traumatology**, v. 20, n. 1, p. 21-28, 2004.

SOARES, A. J.; GOMES, B. P. F. A.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA-FILHO, F. J. Relationship between clinical–radiographic evaluation and outcome of teeth replantation. **Dental Traumatology**, v. 24, n. 2, p. 183–188, 2008.

SOTTOVIA, A. D.; SONODA, C. K.; POI, W. R.; PANZARINI, S. R.; LAURIS, J. R. P. Delayed tooth replantation after root surface treatment with sodium

hypochlorite and sodium fluoride: histomorphometric analysis in rats. **Journal of Applied Oral Science**, v. 14, n. 2, p. 93-99, 2006.

SOUZA B. D. M.; LUCKEMEYER D. D.; FELIPPE, W. T.; ALVES, A. M. H.; SIMÕES C. M. O.; FELIPPE, M. C. S. Effect of milk renewal on human periodontal ligament fibroblast viability in vitro. **Dental Traumatology**, v. 28, n. 3, p. 214–216, 2012.

TACHIHARA, R.; FARINELLI, W. A.; ANDERSON, R. R. Low intensity light-induced vasodilation in vivo. **Laser Medicine and Surgery**, v. 47, n. 4, p. 11-16, 2002.

TAFUR, J.; MILLS, P. J. Low-Intensity light therapy: exploring the role of redox mechanisms. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 26, n. 4, p. 323-328, 2008.

TIMLIN, J. A.; CARDEN, A.; MORRIS, M. D. Chemical Microstructure of Cortical Bone Probed by Raman Transects. **Applied Spectroscopy**, v. 53, n. 11, p. 1429-1435, 1999.

TORRES, C. S.; SANTOS, J. N.; MONTEIRO, J. S. C.; *et al.* Does the Use of Laser Photobiomodulation, Bone Morphogenetic Proteins, and Guided Bone Regeneration Improve the Outcome of Autologous Bone Grafts? An in Vivo Study in a Rodent Model. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 26, n. 4, p. 371-377, 2008.

TROPE, M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. **Dental Traumatology**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2002.

TROPE, M.; HUPP, J. G.; MESAROS, S. V. The role of the socket in the periodontal healing of replanted dog's teeth stored in ViaSpan for extended periods. **Endodontic and Dental Traumatology**, v. 13, n. 4, p. 171-175, 1997.

TZIGKOUNAKIS, V.; MERGLOVA, V.; HECOVA, H.; NETOLICKY, J. Retrospective clinical study of 90 avulsed permanent teeth in 58 children. **Dental Traumatology**, v. 24, n. 6, p. 598–602, 2008.

UDOYCE, C. I.; JAFARZADEH, H.; ABBOTT, P. V. Transport media for avulsed teeth: A review. **Australian Endodontic Journal**, v. 38, n. 3, p. 129–136, 2012.

VILELA, R. G.; GJERDE, K.; FRIGO, L.; LEAL JUNIOR, E. C. P.; LOPES-MARTINS, R. A. B.; KLEINE, B. M.; PROKOPOWITSCH, I. Histomorphometric analysis of inflammatory response and necrosis in re-implanted central incisor of rats treated with low-level laser therapy. **Lasers in Medical Science**, v. 27, n. 3, p. 551–557, 2012.

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

WANG, W. J.; ZHAO, Y. M.; FENG, X. Y.; JIA, W. Q.; GE, L. H. Effect of skimmed pasteurized milk and Hank's balanced salt solution on viability and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells. **Dental Traumatology**, v. 16, n. 10, 2012. [Epub ahead of print].

WERDER, P.; VON ARX, T.; CHAPPUIS, V. Treatment outcome of 42 replanted permanent incisors with a median follow-up of 2.8 years. **Schweizerische Monatsschrift für Zahnmedizin**, v. 121, n. 4, p. 312-320, 2011.

WERNECK, C. E.; PINHEIRO, A. L.; PACHECO, M. T.; SOARES, C. P.; DE CASTRO, J. L. Laser light is capable of inducing proliferation of carcinoma cells in culture: a spectroscopic in vitro study. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 3, p. 300-303, 2005.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**  
**Comissão de Ética na Experimentação Animal**

UFBA - Faculdade de Odontologia - Av. Araújo Pinho, 62 - Canela  
CEP: 40.140-110 - Salvador - BA - Tel: (71) 3283-8966  
Home-page: [www.ufba.br](http://www.ufba.br)

## **CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto de Pesquisa nº 06.10 “AVALIAÇÃO DO EFEITO DA FOTOBIMODULAÇÃO LASER ( $\lambda$  780 nm) NO REPARO DE REIMPLANTES DENTÁRIOS EM RATOS” de autoria de LUCIANA MARIA PEDREIRA RAMALHO, foi analisado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal e considerado APROVADO em reunião ordinária realizada nesta data.

Salvador, 29 de março de 2011

**Prof. Antônio Luiz B. Pinheiro**  
**Presidente da CEEA**