



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL  
- DOUTORADO -**

**ANGELO LUIZ FREDDO**

***AVALIAÇÃO DA DUREZA E DO MÓDULO DE ELASTICIDADE DO OSSO  
MANDIBULAR SUBMETIDO À DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA E À LLLT: ESTUDO  
PRELIMINAR EM OVELHAS***

***A PRELIMINARY STUDY OF HARDNESS AND MODULUS OF ELASTICITY IN  
SHEEP MANDIBLES SUBMITTED TO DISTRACTION OSTEOGENESIS AND  
LOW-LEVEL LASER THERAPY***

**PORTO ALEGRE - RS  
2010**

ANGELO LUIZ FREDDO

***AVALIAÇÃO DA DUREZA E DO MÓDULO DE ELASTICIDADE DO OSSO  
MANDIBULAR SUBMETIDO À DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA E À LLLT: ESTUDO  
PRELIMINAR EM OVELHAS***

Tese apresentada como requisito para a  
obtenção do título de Doutor em  
Odontologia, área de concentração em  
Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial,  
pelo Programa de Pós-Graduação da  
Faculdade de Odontologia da Pontifícia  
Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Gerhardt de Oliveira

– Orientadora –

Prof. Dr. Roberto Hübler

– Co-Orientador –

PORTO ALEGRE – RS  
2010



***Dedicatória***

---

*Dedico este trabalho a meus pais  
Valdemar (in memoriam) e Tania,  
meus irmãos Rodrigo, Silvia e Rafael,  
meus sogros João e Loreni, e minha  
esposa Lisiane.*



## *Agradecimentos*

---

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marília Gerhardt de Oliveira**, pela ajuda extremamente dedicada na construção desta tese. Sua amizade, carinho, obstinação e trajetória profissional são exemplos a ser seguidos.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, na pessoa do magnífico reitor **Prof. Dr. Joaquim Clotet** e à Faculdade de Odontologia representada pelo diretor **Prof. Dr. Marco Túlio Mazzini de Carvalho**, ao quais expresse minha admiração e respeito e agradeço por toda a infra-estrutura oferecida.

Ao **CNPq** e a **CAPES**, por viabilizar recursos para a realização deste Curso de Doutorado em Odontologia, área de concentração em cirurgia e traumatologia bucomaxilofacial.

Ao **Prof. Dr. Jose Antônio Poli de Figueiredo**, coordenador do programa de pós-graduação em odontologia, pela dedicação que tem dispensado ao curso.

Aos professores colaboradores: **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Berenice Dedavid, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliete Hauser, Prof. Dr. Cláiton Heitz, Prof. Dr. João Feliz de Moraes, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Martha Campos** a inteligência e a vontade de colaborar dos senhores guiaram a realização deste projeto.

À equipe do **Biotério e Hospital de Clínicas Veterinário** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), do Laboratório de Materiais e Nanociências – (**GEPSI-LMN**) do Centro de P&D em Física e do Centro de Diagnóstico por Imagem (**CDI**) do Hospital São Lucas, ambos da PUCRS que proveram todos os recursos possíveis na realização da parte experimental deste trabalho.

Aos diversos alunos de especialização e iniciação científica **Fabrcio Massotti, Fernando Gomes, Patrícia Fregapani, Victor Castro e Vinícius Silveira** que colaboraram, com muita competência, em diversas etapas do trabalho.

Aos **Professores** do programa de pós-graduação em odontologia, nível de doutorado, pelos conhecimentos científicos transmitidos, por se dedicarem e compartilharem as suas experiências.

Aos Professores de Cirurgia e Traumatologia da UFPel, pois foi lá que minha trajetória iniciou, e vocês foram meus grandes incentivadores. Aprecio a dedicação, o companheirismo e a vontade de ensinar. Obrigado **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristina Xavier, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elaini Hosni, Prof. Dr. Marcos Torriani, Prof. Dr. Mário Pires.**

Aos meus colegas de curso **André, Giuliano, Jonas, Charles, Daniel, Ferdinando, Guilherme, Anete, Roberto e Livia**, agradeço pelo companheirismo sólido construído nestes anos de curso. Essa importante parceria gerou novos conhecimentos que fortaleceram minha formação.

Aos meus amigos e colegas de profissão **Beatriz, Carlos, Felipe, Mauren, Roger, Taiane**, além de serem ótimos profissionais são amigos leais e foram importantíssimos na construção dessa Tese, sempre me ouvindo e me confortando.

Aos meus familiares, **avós, tios, primos, cunhados e agregados**, o amor de vocês me dá forças para continuar na batalha da vida.

Aos meus **amigos** queridos, no qual é impossível denominar cada um, pois graças a Deus sou abençoado por estar cercado de pessoas queridas. Agradeço pela amizade e pelos muitos momentos de felicidade.

Aos **técnicos, funcionários e alunos** colaboradores do Centro de Microscopia e Microanálise da PUCRS, da Faculdade de Odontologia e da Faculdade de Matemática, que sempre estiveram disponíveis a ajudar, muito comprometidos e gentis.



*Resumo*

---



## RESUMO

**Introdução:** A distração osteogênica é um processo terapêutico para induzir neoformação tecidual entre superfícies ósseas vascularizadas, por meio de uma força lenta e progressiva de tração, através de aparelhos funcionais.

**Objetivos:** Validar a utilização dos testes de nanoindentação em pesquisas com modelo experimental não humano, a fim de conhecer a qualidade do osso mandibular neoformado em ovelhas submetidas à distração osteogênica e à terapia a laser de baixa potência (LLLT), baseado nos valores de dureza e módulo de elasticidade. Complementarmente, objetiva-se conhecer o momento mais benéfico para irradiação do laser, se na fase de latência/ativação ou maturação. Ademais, foram realizadas tomografias computadorizadas para avaliar a dimensão de osso neoformado e verificar possíveis contrações desse alongamento.

**Contexto de Pesquisa:** A nanobiotecnologia é um campo emergente da ciência e da tecnologia que tem o potencial para transformar radicalmente, por meio de novos conhecimentos, os critérios atualmente utilizados para conhecer a qualidade do osso formado por distração osteogênica.

**Materiais e Métodos:** Cinco ovelhas foram utilizadas e nelas instalados distratores extra-bucais, com intuito de neoformar 1,5 cm de osso em 60 dias de observação, sendo que os distratores eram removidos aos 50, 40 e 33 dias de pós-operatório. Quatro animais foram irradiados com LLLT infravermelho (830 nm), tendo recebido oito aplicações, a cada 48 horas, com três pontos de 5J/cm<sup>2</sup> e potência de 50mW, em diferentes períodos terapêuticos; o quinto foi o controle, sem tratamento LLLT. As peças ósseas foram submetidas a testes de nanoindentação para aferir módulo de elasticidade e dureza das amostras e a tomografias computadorizadas para avaliar a contração óssea.

**Resultados:** A LLLT quando utilizada na fase de maturação do osso, promoveu aumento da dureza e do módulo de elasticidade. Por outro lado, os animais irradiados com LLLT durante o período de latência/ativação apresentaram menores valores de dureza e módulo de elasticidade. A análise tomográfica complementar demonstrou que, nos animais com manutenção do distrator por 33 dias, ocorreu contração do osso neoformado.

**Conclusões:** A nanoindentação é um teste capaz de captar as mínimas alterações do metabolismo ósseo e, portanto, uma importante ferramenta na aferição da qualidade do osso em procedimentos de distração osteogênica. A LLLT é mais benéfica quando aplicada no período de maturação do osso, pois promove aumento da dureza e do módulo de elasticidade. O período de consolidação óssea com permanência do distrator deve ser de, no mínimo, três semanas, a fim de prevenir contração do tecido ósseo alongado.

Descritores<sup>1</sup>: Osteogênese por Distração. Terapia a Laser de Baixa Intensidade. Módulo de Elasticidade. Testes de Dureza.

---

<sup>1</sup> Descritores em Ciências da Saúde (DeCS); disponível em <http://decs.bvs.br/>



***Abstract***

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Distraction osteogenesis is a treatment approach designed to induce new bone formation in vascularized bone surfaces through the use of functional devices and the application of slow and progressive traction forces.

**Objectives:** To validate the use of nanoindentation tests in research protocols involving animals and to assess the quality of newly formed bone in sheep mandibles submitted to distraction osteogenesis and low-level laser therapy (LLLT) based on hardness and modulus of elasticity values. We also aim to determine the best moment for the application of laser therapy, i.e., during the latency/activation or consolidation periods, and to assess the dimensions of newly formed bone with the use of computed tomography.

**Background data:** Nanobiotechnology is an emerging concept in the field of science and technology that has a potential to radically change the criteria currently used to assess the quality of bone formed after distraction osteogenesis.

**Methods:** Extraoral distraction devices were placed in five sheep so as to achieve 1.5 cm of lengthened bone in 60 days. Distraction devices were removed 50, 40, and 33 days after surgery. Four animals were also treated with eight applications of infra-red laser (830nm), each 48 hours, in three equidistant spots, with 5Jcm<sup>2</sup> and 50mW of potence, at different times. One was used as control (no laser therapy). The newly formed bone was submitted to nanoindentation tests for the assessment of hardness and modulus of elasticity and a computed tomography to bone contraction evaluation.

**Results:** When applied in the bone consolidation period, LLLT caused an increase in hardness and modulus of elasticity values. On the other hand, animals irradiated with LLLT during the activation period presented lower values. Computed tomography revealed that the animals using the devices for 33 days presented contraction of the newly formed bone.

**Conclusions:** Nanoindentation tests were able to detect slight abnormalities in bone metabolism and proved to be important tools for the assessment of bone quality after distraction osteogenesis. LLLT provides increased benefits when applied during the bone consolidation period, once it promotes an increase in hardness and modulus of elasticity values. The bone consolidation period should be of at least 3 weeks, so as to prevent bone contraction.

Descriptors<sup>2</sup>: Distraction Osteogenesis. Low-Level Laser Therapy. Elastic Modulus. Hardness Tests.

---

<sup>2</sup> Medical Subject Headings (MeSH), disponível em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>



## *Lista de Figuras*

---

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Em (a), o penetrador está preparado para penetrar a amostra; em (b), o penetrador está deformando a amostra por meio da aplicação de uma carga; em (c) a amostra está indentada.....	43
Figura 2- Modelo de distrator externo utilizado .....	50
Figura 3 - Incisão submandibular tipo Risdon .....	52
Figura 4 - Dissecção dos tecidos subcutâneos com tesoura romba .....	53
Figura 5 - Identificação da veia facial nos tecidos sub-cutâneos .....	53
Figura 6 - Exposição da face lateral da mandíbula .....	54
Figura 7 – Osteotomia cortical da face lateral da mandíbula com serra recíprocante .....	54
Figura 8 - Guia de perfuração e distrator osteogênico extra-oral.....	55
Figura 9 - Finalização da osteotomia com uso de cinzel .....	56
Figura 10 - Instalação do distrator mandibular externo .....	56
Figura 11 – Sutura por planos com fio mono náilon 4-0 .....	57
Figura 12 - Irradiação pós-operatória imediata com LLLT .....	59
Figura 13 - Pontos de escolha para irradiação com LLLT .....	59
Figura 14 - Mandíbula dissecada .....	60
Figura 15 - Reconstrução tomográfica 3D .....	62
Figura 16 - Reconstrução 3D pela técnica MIP evidenciando a distância entre os bordos ósseos osteotomizadas com presença de tecido ósseo imaturo entre elas.....	63
Figura 17 - Medida linear do "gap" (osso imaturo) entre as bordas ósseas na região de osso alongado .....	63
Figura 18 – Esquema da área óssea que foi segmentada .....	64
Figura 19 – Em (A), peça óssea incluída em resina de fibra de vidro; em (B) e segmentação em três porções. (C) representa a porção superior, (D) a porção medial e (E) a porção inferior .....	65
Figura 20 – Amostra média, lado superior, devidamente identificada.....	65
Figura 21 - Bloco ósseo pronto para nanoindentação, polido e com área da distração osteogênica identificada com caneta para retroprojetor. O quadro em destaque mostra a cortical externa onde eram feitas as nanoindentações da cortical operada .....	66
Figura 22 – Demarcações das áreas a serem indentadas sobre a cortical óssea.....	67
Figura 23 - Equipamento de nanoindentação .....	68
Figura 24 - Calo ósseo na região de osso distraído .....	71



## ***Lista de Gráficos***

---

## **LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1 - Aplicação de um completo ciclo carga – descarga em um teste de dureza do tipo IHT .....44



## ***Lista de Tabelas***

---



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Organização dos grupos experimentais .....	51
Tabela 2 - Valores mínimos e máximos encontrados para dureza e módulo de elasticidade .....	74
Tabela 3 - Médias de nanodureza e módulo de elasticidade .....	74



## ***Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas***

---

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

ADP	-	adenosina difosfato
ATP	-	adenosina trifosfato
BMP	-	Bone Morphogenetic Protein
CDI	-	Centro de Diagnóstico por Imagem
CEP	-	Comitê de Ética em Pesquisa
CEUA	-	Comitê de Ética para o uso de Animais
Cm	-	Centímetro
Cm <sup>2</sup>	-	Centímetro quadrado
DE	-	Densidade de Energia
DEXA	-	Dual Energy X-Ray Absorptiometry (Densitometria Óssea)
DICOM	-	Digital Imaging and Communications in Medicine
DO	-	Distração Osteogênica
FGF	-	Fator de Crescimento de Fibroblasto
FMV-UFRGS	-	Faculdade de Medicina Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
FO	-	Faculdade de Odontologia
GaAIs	-	Arseneto de Gálio e Alumínio
GaAs	-	Arseneto de Gálio
GEPSI-LMN	-	Laboratório de Materiais e Nanociências – Grupo de Estudos de Propriedades de Superfícies e Interfaces
GPa	-	Gigapascal
h	-	horas
HCV	-	Hospital de Clínicas Veterinárias
HeNe	-	Hélio-Neônio
HU	-	Unidades Hounsfield
Hz	-	hertz
IHT	-	Testes instrumentados de dureza
IL	-	Interleucina
J	-	<i>joule</i>
J/cm <sup>2</sup>	-	<i>joule</i> por centímetro quadrado
Kg	-	Quilograma
LASER	-	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LLLT	-	Low Level Laser Therapy (Terapia à Laser de Baixa Potência)
MPa	-	Megapascal
MEV	-	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	-	miligrama
MIP	-	Maximum Intensity Projection (Projeção de Intensidade Máxima)
ml	-	mililitro
mm	-	Milímetro
mN	-	miliNewtons
mW	-	miliwatts
n	-	Amostra
N	-	Newton
No.	-	Número
nm	-	nanômetro
O <sub>2</sub>	-	Oxigênio
PVC	-	Policloreto de Vinila

PDGF	-	Platelet Derived Growth Factor (fator de crescimento de origem plaquetária)
PPG	-	Programa de Pós-Graduação
PUCRS	-	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PVPI	-	polivinilpirrolidona iodada
s	-	segundo
TC	-	Tomografia Computadorizada
TGF- $\beta$	-	Fator de Transformação do Crescimento beta
W	-	<i>watt</i>
$\lambda$	-	comprimento de onda
$\mu\text{m}$	-	micrômetro
$\mu\text{N}$	-	micronewtons
$\mu\text{g}$	-	Micrograma
UFRGS	-	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
®	-	marca registrada
%	-	Porcento/porcentagem/percentagem
50X	-	cinquenta vezes (aumento de)



## *Sumário*

---

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	23
<b>2 REVISTA DE LITERATURA</b> .....	26
2.1 Distração Osteogênica.....	26
2.2 Osteogênese .....	34
2.3 Terapia a Laser (LLLT) .....	37
2.4 Testes Instrumentados de Dureza – Nanodureza (IHT).....	42
2.5 Tomografia Computadorizada (TC).....	46
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	49
3.1 Seleção da Amostra e Organização dos Grupos Experimentais .....	49
3.2 Etapas Técnicas da Pesquisa .....	51
3.2.1 Sequência Cirúrgica .....	51
3.2.2 Período Pós-Operatório.....	57
3.2.3 Distração Osteogênica .....	57
3.2.3.1 Período de Latência – cinco dias (1º. ao 5º.).....	57
3.2.3.2 Período de Ativação – 15 dias (6º. ao 20º.) .....	57
3.2.3.3 Período de Maturação Óssea – 13 - 30 dias (21º. ao 33º., 40º. ou 50º.).....	58
3.2.4 Irradiação com LLLT.....	58
3.2.5 Morte dos Animais.....	60
3.3 Tomografias Computadorizadas .....	61
3.4 Preparo Laboratorial das Mandíbulas.....	64
3.5 Testes Instrumentados de Dureza (IHT).....	67
3.6 Análise dos Dados.....	69
<b>4 RESULTADOS</b> .....	71
4.1 Análise Tomográfica .....	71
4.2 Análises Físicas.....	72
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	76
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	85
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	87
<b>APÊNDICE A</b> .....	96
<b>APÊNDICE B</b> .....	102
<b>ANEXO A</b> .....	107
<b>ANEXO B</b> .....	108
<b>ANEXO C</b> .....	109



## ***Introdução***

---

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de deformidades faciais é, ainda nos dias de hoje, um desafio à equipe cirúrgica, sendo que muitas vezes os resultados obtidos não são satisfatórios. Nesse sentido, há uma contínua preocupação dos pesquisadores com o desenvolvimento de novas formas de terapêutica e tratamento dessas deformidades (PETZOLD, 1999).

A distração osteogênica (DO) é uma alternativa emergente nas reconstruções ósseas faciais, podendo ser empregada nos casos de deformidades congênitas, traumas, após cirurgias oncológicas e nas reabilitações bucomaxilofaciais com implantes osseointegrados. A DO utiliza aparelhos distratores implantados, externamente ou justaósseos, com a finalidade de permitir crescimento ósseo em local deformado, estimulando os mecanismos reparadores do próprio organismo para reconstrução de tecidos moles e duros (MOFID *et al.*, 2001; MEHRA e FIGUEROA, 2008). Porém, a estabilidade a longo prazo dos resultados obtidos pela DO ainda não está bem documentada, existindo relatos de instabilidade e recidivas. Além disso, devido ao tempo de maturação óssea exigido para remoção do distrator, esta técnica pode gerar grande desconforto ao paciente, levando muitos autores a procurarem soluções para acelerar o processo de maturação óssea e melhorar as propriedades físicas do sítio ósseo alongado (STEWART *et al.*, 1999; DOUGLAS *et al.*, 2000; FARHADIEH *et al.*, 2000; HAGIWARA e BELL, 2000; SHIMAZAKI *et al.*, 2000).

A utilização da LLLT (Low Level Laser Therapy) tem empregado faixas do espectro de luz visível e infravermelha para melhorar o processo de cicatrização, pelas suas qualidades de estímulo à vascularização, à proliferação de fibroblastos e à deposição de colágeno (MESTER *et al.*, 1985; FONNOF, 2002; FREDDO *et al.* 2009). Estuda-se a utilização da LLLT na biomodulação do processo inflamatório e do reparo ósseo, por suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas que proporcionam maior neoformação e maior rapidez na cicatrização óssea, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual ao paciente submetido à cirurgia (TAKEDA, 1988; WEBER *et al.*, 2006; ANGELETTI *et al.*, 2010).



A neoformação óssea pode ser avaliada por meio de vários tipos de testes que diferem em complexidade e acurácia. A nanodureza revela as propriedades físicas como: dureza, módulo de elasticidade aparente, deformidades e diferenças residuais nas áreas analisadas (LIM e CHAUDHRI, 1999).

Análises mecânicas e físicas podem ser úteis na identificação da qualidade da neoformação óssea e nas mudanças no metabolismo dessa formação. O objetivo desta pesquisa é validar a utilização dos testes de nanoindentação em pesquisas com modelo experimental não humano, a fim de conhecer a qualidade do osso mandibular neoformado em ovelhas submetidas à distração osteogênica e LLLT, com base nos valores de dureza e módulo de elasticidade. Complementarmente, objetiva-se conhecer o momento mais benéfico para irradiação da LLLT, se na fase de latência/ativação ou maturação. Ademais, foram realizadas tomografias computadorizadas para avaliar a dimensão de osso neoformado e verificar possíveis contrações desse alongamento.



*Revista de Literatura*

---

## 2 REVISTA DE LITERATURA

### 2.1 Distração Osteogênica

A distração osteogênica (DO) tem início com técnicas antigas de reposicionamento e estabilização óssea de fraturas, usadas inclusive por Hipócrates. A DO foi inicialmente introduzida, para reconstruir e alongar ossos longos por Codivilla, em 1905. Em 1927, Abbott foi o primeiro a utilizar a DO para alongamento da tíbia e nesse estudo fez referência à necessidade de um período de latência de sete a 10 dias. Sua técnica não obteve grande aceitação clínica em decorrência da grande morbidade e de complicações como infecções, edema local, necrose de pele e calcificação imprevisível nas zonas expandidas (SAMCHUKOV *et al.*, 1999). Em cirurgias bucomaxilofaciais, Snyder *et al.* (1973) divulgaram o primeiro relato da utilização de distração osteogênica na face, em um estudo utilizando mandíbulas de cães.

Todavia, foi a partir de 1989, que os estudos e testes clínicos de Gavril Ilizarov, aperfeiçoaram a técnica da distração osteogênica e constituíram um verdadeiro marco na evolução, difusão e sedimentação da DO. São três experimentos principais que embasaram a técnica (ILIZAROV, 1989a, 1989b, 1990). Nos três estudos, sempre empregando tíbia de cães, Ilizarov avaliou algumas variáveis e observou a sua interferência no processo de neoformação óssea. As conclusões de suas pesquisas foram: (a) quanto mais rígida a fixação e mais preservadas as estruturas de aporte sanguíneo e celular, com mínima lesão do perióstio e endóstio, maior será o potencial osteogênico; (b) o ritmo de ativação superior a 1,5 mm/dia, tende a formar tecido osteóide; (c) os casos com lesão da medular óssea, formou-se tecido necrótico; (d) a decorticalização parcial ou total não interfere na recorticalização do segmento ósseo alongado; (e) 1mm/dia de ativação apresentou-se bem-tolerado, sem que houvesse união precoce; (f) a osteogênese ocorreu mais rapidamente à medida que a frequência de ativações aumentava.

A partir de 1992, a técnica vem sendo aplicada em microssomia hemifacial (McCarthy *et al.*, 1992), micrognatia (Molina e Monasterio, 1995), deformidades

craniofaciais, e reparo de defeitos ósseos segmentares da mandíbula (TOTH *et al.*, 1998). Atualmente, a distração osteogênica tem sido aplicada em cirurgias de expansão de palato, alongamento de sínfise mandibular, correção de defeitos faciais congênitos, pacientes portadores de fendas palatais, correção dos defeitos de continuidade mandibular, reconstruções mandibulares após ressecção de tumores e utilizada previamente à instalação de implantes osseointegrados como alternativa aos enxertos ósseos (BLOCK *et al.*, 1998 e URBANI *et al.*, 1999).

Neste contexto, a DO apresenta-se como uma alternativa promissora e cada vez mais sedimentada em reconstruções ósseas faciais (SAMCHUKOV, 1999; MOFID *et al.*, 2001).

A distração osteogênica é um processo que envolve a formação de um osso novo, entre superfícies ósseas vascularizadas, após osteotomia ou corticotomia, por meio de aparelhos funcionais (WATZEK *et al.*, 2000). Por intermédio da osteotomia, seguida por movimentos lentos, promovidos pelo aparelho, o “*gap*” é inicialmente preenchido por um calo ósseo, que é substituído por tecido ósseo (GAGGL *et al.*, 1999).

Outro conceito bastante aceito na literatura é o de que a distração osteogênica é um método desenvolvido para induzir neoformação tecidual entre dois segmentos de um osso, por meio de uma força lenta e progressiva de tração. Pode ser classificada em dois tipos básicos: a distração fiseal, que envolve a separação da epífise e da diáfise de um osso longo, e a calotase, que consiste na distensão gradual de um calo ósseo formado ao redor de uma linha de fratura ou osteotomia, estimulando e mantendo a regeneração e a atividade de crescimento dos tecidos adjacentes duros e moles (MEYER *et al.*, 2001).

Assim, a técnica da DO é dividida em três períodos distintos. No primeiro não há afastamento dos cotos ósseos, no entanto inicia o processo reparacional (formação de um calo ósseo imaturo), este o qual é chamado de período de latência (entre zero e sete dias). Segue-se o período de ativação (teoricamente sem limite de tempo), quando os cotos ósseos são afastados gradativamente, pela ativação do aparelho distrator, até a correção da deformidade. Finalmente, há o período de maturação óssea, também denominado período de consolidação (três a sete semanas), quando o aparelho distrator para de ser ativado, funcionando apenas como mecanismo de fixação rígida, a fim de que o calo ósseo imaturo seja mantido

imobilizado para ocorrer ossificação e remodelação óssea. Somente ao final de tal período o aparelho distrator pode ser removido (TAVAKOLI *et al.*, 1998).

Já Nação (2002) classifica a distração osteogênica em quatro estágios clínicos:

- *Osteotomia* - ocorre a osteoclastia; máxima preservação do periósteo e do endósteo para assegurar o suprimento sanguíneo do calo ósseo inicial que terá um importante papel osteogênico no processo de distração.
- *Período de latência* - formação do calo reparador; regeneração dos tecidos moles, periósteo, vasos sanguíneos e a proliferação de células osteogênicas.
- *Distração* - indução mecânica da formação do novo osso pela separação gradual dos segmentos da osteotomia; esta tração deve promover estímulos adequados para que as células do periósteo sejam capazes de diferenciarem-se em células com potencial osteogênico.
- *Consolidação* - o aparelho é mantido em fixação para que ocorra a consolidação do segmento entre as extremidades da osteotomia.

As vantagens da DO incluem a formação de osso sem a necessidade de enxerto e, portanto, de uma área doadora; não há limite para a quantidade de ganho tecidual, além dos tecidos moles acompanharem o crescimento. Por outro lado, suas desvantagens incluem um período de tratamento mais longo, o risco de infecção é maior, há necessidade de um aparelho distrator adequado e o custo do tratamento passa a ser mais elevado (ODA *et al.*, 1998; NOSAKA *et al.*, 2000).

Diversas pesquisas clínicas e científicas foram realizadas com o objetivo de aperfeiçoar as técnicas da DO, os aparelhos distratores, os vetores de distração, ampliando as indicações e melhorando o prognóstico e as condições dos pacientes operados. Nesse contexto, ensaios clínicos utilizando a DO demonstram com sucesso a sua utilização nas mais severas reconstruções maxilomandibulares, inclusive com associações de técnicas de enxerto ósseo autógeno (BLOCK e BAUGHMAN, 2005; RAINER e CHIARI, 2005).

Porém, apesar da utilização cada vez mais difundida, a DO ainda necessita de aprimoramentos, pois pode trazer grande desconforto ao paciente, especialmente quando utilizados aparelhos distratores externos, que podem induzir infecções de

superfície, parestesias, cicatrizes hipertróficas e dificuldade de convívio social (DINER *et al.*, 1996).

Diante disso, Diner *et al.* (1996), desenvolveram um distrator interno e aplicaram em uma paciente com microssomia hemifacial. O acesso cirúrgico para a instalação do distrator foi intrabucal e a ativação feita por meio de uma haste flexível transmucosa. A paciente foi reabilitada adequadamente embora os resultados a longo prazo necessitassem de maior acompanhamento.

Os mesmos autores, dando continuidade aos estudos com distratores internos, trataram nove casos de deformidades faciais com tais distratores, sendo um deles bilateral, objetivando o alongamento do ramo mandibular. O protocolo utilizado apresentou um período de latência de quatro dias, com ritmo de 1mm diário, em uma única ativação. O próprio distrator funcionou como meio de fixação por um período médio de 22 dias (15 a 35 dias). Os parâmetros de avaliação foram exclusivamente clínicos, sendo possível observar melhora na estética facial, muito mais pela nova situação da base óssea do que pelo desenvolvimento de tecidos moles. O posicionamento do distrator entre o perióstio e o calo ósseo produzido cirurgicamente não apresentou inconvenientes à maturação do osso neoformado (DINER *et al.*, 1997).

Para avaliação, frente ao processo de alongamento, das alterações musculares no músculo masseter e no digástrico, Fisher *et al.* (1997), realizaram DO no ângulo mandibular direito de 10 cães. Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos de acordo com a época da morte. Um animal foi morto com três dias após o início do alongamento, três foram mortos com 11 dias de alongamento, outros três cães após 20 dias de alongamento e 20 dias de contenção; finalmente, três espécimes foram mortos após 20 dias de alongamento e mais 48 dias de contenção. O grupo controle foi composto a partir da coleta aleatória de amostras contralaterais de seis animais. Houve boa tolerância ao procedimento apesar da maloclusão causada pelo desvio mandibular. Os autores observaram que o músculo submetido ao alongamento apresentava sinais precoces de atrofia, nos primeiros dias de alongamento, seguido por período misto entre atrofia e hipertrofia das fibras musculares, culminando com a regeneração do tecido. No masseter, por estar posicionado perpendicularmente ao vetor do alongamento mandibular, as mesmas

alterações puderam ser vistas após um estágio mais avançado de alongamento mandibular.

Weil *et al.* (1997) realizaram a técnica da DO para correção de deficiência transversa em mandíbula de nove pacientes. Os pesquisadores adotaram um protocolo com quatro e cinco dias de latência, um ritmo diário de 0,75mm em três ativações e, um período de contenção de três meses. Não houve intercorrências frente à utilização desta técnica. Três dos nove pacientes apresentaram união precoce dos cotos devido a falhas nos aparelhos distratores e, um paciente apresentou união precoce provavelmente em decorrência do ritmo adotado das ativações.

Um ponto fundamental na técnica da DO, é conhecer o melhor momento da remoção do aparelho distrator. Para tanto, Reichel *et al.* (1998) buscaram determinar quais métodos de mensuração, da densidade óssea, são úteis na monitorização da estabilidade biomecânica antes da remoção dos fixadores externos em ossos submetidos a alongamento ósseo. Com esse objetivo, eles utilizaram 24 ovelhas, que foram submetidas ao alongamento da tíbia esquerda por um aparelho externo com seis pinos. O protocolo de ativação respeitou um período de latência de sete dias e duas ativações diárias de 0,5mm acompanhadas por avaliação radiográfica semanal durante 30 dias. A densidade óssea de cada zona alongada e, também, de cada tíbia contralateral foi avaliada utilizando densitometria óssea (DEXA) e tomografias computadorizadas. Além disso, as amostras foram submetidas a testes mecânicos, com força de tração de 5N a 75N e torção. Pelos resultados radiográficos e tomográficos obtidos, os pesquisadores concluíram que a calcificação da zona alongada apresentou-se de forma semelhante à consolidação de fraturas. A densidade óssea superior a 70% em comparação ao lado controle elimina o risco de fratura e, é alcançado na oitava semana pós-distração. Ao concluírem, os autores afirmaram que os dois métodos de avaliação utilizados eram importantes e, quando o DEXA sugerir uma densidade de 70% ou superior, ou a tomografia computadorizada quantitativa sugerir 60% ou mais, pode-se afastar o risco de fraturas.

O período de latência que compreende a primeira fase na técnica da distração osteogênica, e que pode perdurar por até sete dias do tempo global do tratamento, também, tem sido alvo de investigação para a redução no tempo de tratamento.

No intuito de realizar um estudo específico para alongamento ósseo em mandíbula e determinar a necessidade do período de latência na região maxilofacial, os pesquisadores utilizaram 22 ovelhas, sendo quatro do grupo controle, o qual não sofreu alongamento, e as restantes divididas em três grupos experimentais. Foi realizado o protocolo da distração osteogênica bilateralmente no corpo mandibular para avanço da sínfise. No grupo “A”, a distração iniciou-se no pós-operatório imediato, no grupo “B”, foi instituído um período de latência de quatro dias e, para o grupo “C”, sete dias. Os resultados da análise biomecânica, 20 dias após a distração, revelaram uma diferença estatística altamente significativa em carga máxima e de dureza entre o grupo experimental e o controle, sendo o último mais forte. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais. Os autores concluíram que diferenças na fase de latência desde o pós-operatório imediato até sete dias não alteram as características histológicas, as propriedades biomecânicas nem a densidade óssea do tecido alongado (TAVAKOLI *et al.*, 1998).

McTavish *et al.* (2000), estudaram, em mandíbulas de ovelhas, a estabilidade a longo prazo do alongamento ósseo. Utilizaram microparafusos de titânio fixados no momento da instalação do aparelho distrator, os quais serviram de referência na manutenção do alongamento obtido. Após o período de 45 dias (5+20+20), necessários para o alongamento, consolidação óssea e remoção dos aparelhos distratores, os espécimes foram avaliados radiograficamente a cada três meses até que se completasse um ano. Após a morte, as mandíbulas foram removidas e a distância entre os parafusos marcadores, obtida diretamente, além da análise radiográfica, microscópica e ensaio biomecânico. Ao final do estudo, mesmo com diferentes períodos de observação, não foi encontrado nenhum grau de recidiva em qualquer dos animais.

No mesmo sentido, Douglas *et al.* (2000), utilizaram a distração osteogênica para tratar sequelas em uma paciente de 16 anos que teve anquilose temporomandibular. Para a redução da sobressaliência de 16mm foram necessários 21 dias de alongamento, não havendo complicações neurológicas (nervo alveolar inferior), infecciosas ou de posicionamento dentário. Neste caso clínico, os autores acrescentaram marcadores metálicos à face lateral da mandíbula que permitiram acompanhar a estabilidade ao longo de um ano após a remoção do aparelho. Foi observada uma recidiva de 2,5mm de cada lado entre o mês nove e ao final de um



ano da remoção do aparelho. Mesmo com o grau de recidiva observado, o resultado clínico alcançado foi exitoso e os autores consideraram a técnica encorajadora.

No entanto, os ganhos adicionais com a DO apontados por outros autores não foram observados por Marquez *et al.* (2000). Em seu relato, um menino de 7 anos, portador de microsomia hemifacial foi tratado com alongamento mandibular e, por meio da proervação cefalométrica, durante dois anos. Os autores observaram que o tratamento não foi capaz de estimular o desenvolvimento de tecidos moles associados, como afirmaram outros autores, mantendo e até mesmo evidenciando a deficiência dos mesmos. Os resultados obtidos pelo alongamento do ramo mandibular não se mostraram estáveis ao final de dois anos, apresentando um quadro de recidiva, não ocorrência da compensação e não desenvolvimento dos tecidos moles no surto de crescimento seguinte, como era esperado.

Consolo *et al.* (2000), estudaram o processo ósseo para aperfeiçoar a reabilitação implanto-protética. Para tanto, a técnica de distração osteogênica foi aplicada a sete pacientes com deformidades de crista alveolar, para obter o aumento ósseo desejado. Foram realizadas avaliações clínicas e radiológicas durante 12 semanas, antes da instalação dos implantes, biópsias com 40, 60, e 88 dias, assim como micro-radiografias foram analisadas para avaliar o volume ósseo trabecular. Os resultados mostraram uma condição firme do processo de deposição óssea 60 dias após o final da distração. Estes resultados sugeriram a possibilidade de instalação de implantes para evitar perda óssea devido à carga mecânica.

Em 2001, em uma das maiores revisões sobre distração osteogênica publicados em cirurgia craniomaxilofacial, Mofid *et al.* realizaram um balanço quanto aos resultados obtidos, técnica cirúrgica, manejo pós-operatório e principais complicações encontradas. Um questionário de quatro páginas foi encaminhado a 2476 membros da *American Society of Maxillofacial Surgeons* e da *American Cleft Palate-Craniofacial Association*, além dos principais autores de artigos sobre DO nos últimos cinco anos. Entre os formulários retornados, aplicados os critérios de exclusão, restaram 145 somando-se o total de 3278 casos. O índice de satisfação quanto aos resultados obtidos chegou a 93% nos casos de deficiências unilaterais de mandíbula. Cerca de 35% apresentou algum tipo de complicação. A recidiva foi observada tanto em casos do terço médio como em mandíbulas e os cirurgiões que a notaram referem sua ocorrência nos primeiros seis meses após o final do

alongamento. Como a recidiva e a maloclusão não foram consideradas complicações pelos entrevistados, estas se resumiram a lesões em estruturas vitais 6,2%, infecções e osteomielites que acometeram 9,5% dos casos, e falhas na técnica (queda de distrator, dor, união prematura) com 15% de incidência. Os autores observaram não haver diferença na prevalência de pseudoartroses ou consolidação prematura com ou sem um período de latência, sendo que a sua eliminação poderia ser utilizada na redução do tempo global de tratamento. Notaram que aqueles que utilizaram um ritmo de alongamento de 2mm diários apresentaram um aumento significativo de lesões ao nervo alveolar inferior e, finalmente, que a frequência de ativações, desde que mantido um ritmo diário de 1mm, não interfere na incidência de união fibrosa podendo, portanto, ser restringida a uma ativação diária para maior adesão dos pacientes ao tratamento.

Enislidis *et al.* (2005) realizaram um estudo retrospectivo das principais complicações da distração osteogênica para ganhos verticais de mandíbula. Quarenta e cinco cirurgias foram realizadas em 37 pacientes durante 1999 e 2003 para ganho ósseo e posterior reabilitação implanto-protética. Cerca de 75% dos pacientes desenvolveram algum tipo de complicação relacionada à técnica de alongamento. As principais complicações encontradas foram deiscência, hipoestesia, dor, fratura e instabilidade de distratores, infecções e até fratura do osso basal. Com esse estudo os autores concluíram que a técnica da distração osteogênica é bastante complexa, porém pode ser utilizada com sucesso para obter ganhos ósseos e possibilitar a reabilitação com implantes osteointegráveis.

Hubler *et al.* (2010) em um estudo utilizando testes físicos de XRD e XRF, avaliaram o efeito da LLLT na composição química e estrutura cristalina do tecido ósseo formado após a distração osteogênica. Cinco coelhos após sofrerem um alongamento ósseo de 4,9mm foram irradiados com laser AsGaAl (830nm, 10J/cm<sup>2</sup>, 40 mW). Os autores concluíram que a LLLT tem um efeito positivo sobre a neoformação óssea, já que houve uma maior mineralização nos grupos irradiados pela LLLT que se traduziu num aumento dos níveis de Cálcio e Fósforo. Ademais, a estrutura cristalina era compatível com hidroxiapatita e sua porcentagem foi maior nos grupos irradiados.

## 2.2 Osteogênese

O tecido ósseo é o constituinte principal do esqueleto, serve de suporte para as partes moles e protege órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica. Além do mais, aloja e protege a medula óssea, formadora das células do sangue, proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis, e constitui um sistema de alavancas que amplia as forças geradas na contração muscular (CARNEIRO e JUNQUEIRA, 2008).

O tecido ósseo é um tecido mineralizado, de natureza conjuntiva, capaz de reparação quando lesado, sofre remodelação e cresce, demonstrando sua vitalidade. O processo pelo qual esse tecido é formado denomina-se ossificação ou osteogênese, podendo ser originado de duas formas: a ossificação intramembranosa, atualmente também conhecida como endoconjuntiva e a ossificação endocondral (KATCHBURIAN e ARANA, 2004).

A ossificação intramembranosa ou endoconjuntiva é responsável pelo desenvolvimento dos ossos chatos, especialmente aqueles que se encontram no crânio e na face e ocorre das extremidades para o centro. Ela ocorre no interior de uma membrana de tecido conjuntivo. Inicialmente, o tecido conjuntivo mesenquimático torna-se bastante vascularizado e os grupos de osteoblastos que aí se diferenciam formam o osteóide, que é a matriz colágena descalcificada. A calcificação da matriz dá origem a zonas ou pontos de ossificação e as células aí aprisionadas são agora osteócitos. Resultam assim lamina ósseas irregulares que aos poucos crescem e se fundem (CARNEIRO e JUNQUEIRA, 2008).

A ossificação endocondral acontece quando as células mesodérmicas transformam-se em células produtoras de cartilagem, antes do início da formação do osso. É um processo muito mais lento que a intramembranosa e ocorre na maioria das partes do esqueleto, principalmente nos ossos longos. Ocorre utilizando uma peça de cartilagem hialina como molde. Os condrócitos hipertrofiam-se, a matriz cartilaginosa é reduzida e mineralizada, os condrócitos morrem por apoptose e as cavidades deixadas pelos condrócitos são invadidas por capilares sanguíneos e células osteogênicas provenientes do tecido conjuntivo adjacente. Estas células osteogênicas formam osteoblastos que produzem a matriz óssea sobre os restos de cartilagem hialina calcificada (CARNEIRO e JUNQUEIRA, 2008).

O processo da cicatrização óssea pode ser dividido em três eventos biológicos: a fase inflamatória, a reparativa e a fase remodeladora. A primeira etapa é caracterizada pela formação do coágulo, a segunda pela construção do calo ósseo e a terceira é a remodelação e a formação de um novo tecido ósseo de forma lamelar (COWIN, 2001).

Quando acontecem as fraturas ósseas, como é o caso da DO, os vasos sanguíneos são rompidos e uma hemorragia local preenche a zona da lesão, resultando na formação de um coágulo sanguíneo. Ao mesmo tempo plaquetas desgranuladas e células inflamatórias migratórias liberam PDGF, TGF- $\beta$  FGF e IL-1 e IL-6, os quais ativam as células osteoprogenitoras no periósteo e na cavidade medular, estimulando a atividade osteoclástica e osteoblástica. As primeiras células presentes são progenitoras pluripotentes chamadas de células-tronco mesenquimais que possivelmente se originam do periósteo, do endósteo, da medula óssea, do endotélio vascular. As células osteoprogenitoras, que estão mais próximo da fratura e são supridas por uma rede de capilares, diferenciam-se em osteoblastos e começam a secretar a matriz óssea, diferenciação essa que aparenta ser ativada pelas BMPs – Bone Morphogenetic Protein (ANDIA *et al.*, 2006).

Na DO, à medida que o osso se afasta, a área central separada torna-se uma área de grande atividade celular e suprimento sanguíneo. Na porção regenerada existem fibroblastos que produzem colágeno, que, por sua vez, age como suporte para o desenvolvimento de osteóides. Estes osteóides dispõem-se em colunas paralelas ao longo da direção da distração, entre as extremidades ósseas e a porção central regenerada. O osso produzido é menos denso e de menor volume, em relação ao osso original, mas acredita-se que seja de igual potencial de crescimento (MATTICK, 2000).

Na distração osteogênica, muitos autores creem que a neoformação óssea é produto tanto da ossificação intramembranosa como endocondral, pois as células osteoprogenitoras que se encontram no meio da massa em proliferação possuem um suprimento sanguíneo inadequado, transformando-se em condroblastos pela baixa tensão de oxigênio. Tais células produzirão cartilagem que acabará sendo substituída por osso primário formado pela ossificação endocondral. A ossificação intramembranosa é responsável pelo primeiro osso produzido junto ao tecido lesado. Durante o processo de remodelação o tecido ósseo primário é substituído pelo

secundário, reforçando ainda mais a zona de reparação de fratura (COTRAN *et al.*, 2000; COWIN, 2001).

Komuro *et al.* (1994) avaliaram a osteogênese após distração osteogênica em mandíbulas de coelhos. Os achados histológicos observados demonstraram um padrão de ossificação variável entre intramembranosa e endocondral convergido para a formação de osso maduro indistinguível do osso normal adjacente, embora as áreas de cartilagem não se apresentassem ordenadas como no disco epifisário. Imagens radiográficas obtidas ao final do período de alongamento e após seis semanas de consolidação demonstraram uma disposição em zonas na região do alongamento, sendo uma faixa radiolúcida central, que tende a diminuir com o tempo de consolidação, e duas áreas de menor grau de mineralização vizinhas e passíveis de diferenciação do osso normal.

Recentemente, grandes avanços científicos sobre a fisiologia óssea foram possíveis a partir dos estudos no campo da Biologia Molecular. Dessa forma, foi possível estudar e identificar, em nível molecular, os diversos fatores e enzimas envolvidas no processo de reparo ósseo. Como exemplo, pode-se citar as proteínas morfogenéticas ósseas, que são fatores indutores da formação óssea pertencentes à grande família dos fatores de crescimento (ANDIA *et al.*, 2006).

Hamdy *et al.* (2003) também investigaram se uma única injeção local de BMP-7 (Osteogenic protein 1 ou OP-1) sobre a zona de distração, no início da fase de consolidação, poderia acelerar a regeneração do osso. O experimento foi realizado em tíbias de coelhos seguindo um protocolo de sete dias de latência, distração de 0,25mm/12 horas por três semanas, seguida de injeção de OP-1 em quatro dosagens (zero, 80, 800 ou 2000 µg). Após três semanas de consolidação, os animais foram mortos e os espécimes submetidos a análises histológicas, densitométrica, imunohistoquímica e biomecânicas. Os testes não demonstraram diferenças significativas entre nenhum dos grupos. Possivelmente, as OP-1 são mais úteis quando aplicados em fases precoces da distração. Em todo o processo de regeneração óssea após aplicação de forças de tração como no caso da DO, o perióstio é o grande responsável pela osteogênese, pois contém células com o potencial se diferenciar em osteoblastos.

### 2.3 Terapia a Laser (LLLT)

À biomodulação pela terapia à laser tem sido atribuído o aumento dos efeitos biológicos, como o crescimento epitelial e fibroblástico, a estimulação da síntese de colágeno, o aumento da capacidade de fagocitose e liberação de endorfina, resultando na produção de efeitos terapêuticos analgésicos, antiinflamatórios e reparador tecidual (MESTER *et al.*, 1985).

Os lasers de GaAIs são muito utilizados na biomodulação. A composição do cristal semiconductor de luz pode variar consideravelmente. Dependendo da porcentagem de cada substância utilizada, o comprimento de onda da luz emitida pode variar de  $\lambda = 660\text{nm}$  a  $\lambda = 940\text{nm}$ . Os mais utilizados são os lasers com comprimento de onda de  $\lambda = 820\text{nm}$  a  $\lambda = 830\text{nm}$  (infravermelhos) e  $\lambda = 670\text{nm}$  (vermelho), os quais emitem radiação tanto no modo contínuo quanto no pulsado (MESTER *et al.*, 1985).

Para Catão (2004), a LLLT deve seguir os seguintes parâmetros: escolha do comprimento de onda, densidade de energia (DE), densidade de potência, tipo de regime de operação do laser, frequência do pulso, número de sessões e características ópticas do tecido, como os coeficientes de absorção e espalhamento.

Em 1989, Karu afirmou que a LLLT atua na estimulação da reparação tecidual, melhorando a regeneração e a cicatrização de tecidos por meio da promoção da proliferação celular, da aceleração na formação de tecidos de granulação, do aumento da síntese de ATP (adenosina trifosfato) e do estímulo na síntese do colágeno, com formação das fibras procolágenas tipos I e III.

O processo de reparo das feridas pode ser dividido em três fases: celular, proliferativa e remodeladora. A maior parte dos relatos sobre bioestimulação da LLLT sugerem que os efeitos mais importantes ocorrem na fase de proliferação, pois especialistas acreditam que o processo de metabolismo celular acentua-se devido à fotorrecepção mitocondrial pela luz monocromática, sugerindo que o laser aumenta o metabolismo respiratório de certas células e, assim, modifica as propriedades eletrofisiológicas da célula (MEYERS, 1990; PINHEIRO e GERBI, 2006).

Segundo Tiphlova e Karu (1987), a cadeia respiratória mitocondrial é um sistema dinâmico unitário, responsável pela absorção da energia laser em um

determinado ponto, promovendo transformações em toda a cadeia respiratória celular e em todo o estado metabólico celular. A absorção da luz por componentes da cadeia respiratória – flavina desidrogenase, citocromo e citocromo oxidase – provoca uma ativação da cadeia respiratória, o que, por sua vez, ocasiona alterações em ambos os potenciais de ação das membranas mitocondrial e citoplasmática.

O número de mitocôndrias de uma célula varia de acordo com a demanda de energia necessária para seu funcionamento. A matriz mitocondrial possui enzimas essenciais para as reações utilizadas na geração de energia e com partículas de síntese de ATP. A LLLT pode liberar a energia armazenada na forma de ATP, aumentar a sua síntese ou convertê-la em ADP - adenosina difosfato (TAKEDA, 1988).

A literatura consultada sobre o assunto também afirma que a LLLT promove o aumento na concentração das beta-endorfinas e, conseqüentemente, desencadeia efeito analgésico. A LLLT também promove a liberação dos mastócitos, aumentando a concentração de histamina, provoca vasodilatação, com aumento da permeabilidade vascular, além de atuar nas prostaglandinas, inibindo e bloqueando a ação da enzima cicloxigenase e na ativação dos linfócitos, promovendo, assim, efeito antiinflamatório (MESTER *et al.*, 1985; CATÃO, 2004; RODRIGO *et al.*, 2009).

Mais recentemente, tem sido demonstrado que a LLLT acelera a regeneração de feridas, tanto de tecidos moles quanto de duros, estimulando fibroblastos, tecidos especializados e endotélio vascular, entre outros. Portanto, a LLLT tem a capacidade de biomodular e acelerar o processo de reparo, ativando a proliferação celular e a vascularização de tecidos lesados. Esta biomodulação parece estar associada ao potencial do laser em aumentar a respiração mitocondrial e a síntese de adenosina trifosfato (PRETEL *et al.*, 2007).

Mester *et al.* (1985), revisaram todos os seus experimentos publicados, bem como do uso clínico da LLLT. Esses pesquisadores iniciaram a utilização do laser em humanos na década de 1970, tratando úlceras de difícil cicatrização, bem como aquelas que não reparavam, com a densidade de energia aproximada de 4J/cm<sup>2</sup>. Os autores recomendam a LLLT, baseados tanto no acompanhamento de mais de 1100 casos publicados, em que aproximadamente 90% tiveram resposta positiva ao

reparo, quanto pelos estudos efetivados que avaliaram a modulação do processo inflamatório e do reparo tecidual em animais.

Takeda (1988) analisou histologicamente o efeito da LLLT na cicatrização inicial do alvéolo após extração dos primeiros molares superiores direitos em ratos Wistar. Os alvéolos foram irradiados imediatamente após a exodontia, no grupo experimental, durante cinco minutos com um laser semiconductor de GaAs, com comprimento de onda de  $\lambda = 904\text{nm}$ , densidade de potência de  $25\text{mW/cm}^2$  e densidade de energia de  $20\text{J/cm}^2$ . Animais não-irradiados integraram o grupo controle. Os resultados demonstraram que a irradiação com LLLT teve um efeito benéfico na cicatrização inicial do alvéolo dentário.

A radiação com LLLT tem sido apontada como responsável pela biomodulação na cicatrização de fraturas ósseas em modelos animais. Luger *et al.*, (1998) avaliaram o efeito da LLLT na cicatrização de feridas utilizando dois grupos de ratos Wistar com 25 animais cada um, os quais sofreram uma fratura na tíbia, recebendo fixação interna. O primeiro grupo foi tratado com laser HeNe ( $\lambda=632,8\text{nm}$ , potência de  $35\text{mW}$ ), aplicado transcutaneamente por 30 minutos, diariamente, durante 14 dias. O segundo grupo serviu como controle e não recebeu radiação. Após quatro semanas, as tíbias foram removidas e tensionadas até sua fratura. A carga máxima da fratura e a dureza estrutural da tíbia foi estatisticamente maior no grupo radiado. Além disso, a não-união da fratura foi encontrada em quatro ratos do grupo controle e em nenhum do grupo radiado. Os autores concluíram que a LLLT desempenha um importante papel na melhora da cicatrização óssea em ratos.

Garcia *et al.*, (2001) avaliaram a influência do número de aplicações de LLLT sobre o reparo da ferida de exodontia dentária em ratos, observando o resultado da biomodulação microscopicamente. As feridas tratadas com LLLT demonstraram reparação alveolar diferenciada, caracterizada pela formação mais rápida do tecido de granulação cicatricial, neoformação óssea precoce e maior grau de ossificação e fechamento mais rápido das bordas epiteliais das feridas. Os eventos biológicos mostraram-se mais evidentes nos períodos iniciais de três e sete dias, persistindo mais favoráveis nos grupos experimentais durante toda a pesquisa. Os grupos tratados com maior número de aplicações demonstraram maior aceleração do processo de reparação alveolar. Os resultados fortalecem as evidências de que a



ação do laser se processa a nível vascular e celular com maior intensidade nas fases iniciais da cicatrização.

Pinheiro *et al.* (2001) avaliaram a neoformação óssea após a radiação com laser infravermelho em fraturas criadas em fêmur de ratos. Quarenta ratos foram divididos em quatro grupos: grupo A (12 sessões,  $4,8\text{J}/\text{cm}^2$  por sessão, 28 dias); grupo C (três sessões,  $4,8\text{J}/\text{cm}^2$  por sessão, sete dias). Os grupos B e D serviram como controle não irradiados. As radiações foram realizadas 48 horas após a cirurgia, e repetidas três vezes por semana. A morfometria computadorizada mostrou uma diferença estatisticamente significativa entre as áreas de mineralização óssea nos grupos C e D. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B (28 dias). Em uma segunda investigação, os mesmos autores, determinaram o efeito da LLLT na cicatrização óssea após a inserção de implantes. Dez cães foram divididos em dois grupos de cinco animais, os quais receberam os implantes. Dois animais de cada grupo serviram de controle. Os animais foram irradiados três vezes por semana, por duas semanas, com um laser diodo ( $\lambda=830\text{nm}$ ;  $40\text{mW}$ ) com uma DE total de  $4,8\text{J}/\text{cm}^2$  por sessão e DE de  $1,2\text{J}/\text{cm}^2$  por ponto. Os animais foram mortos aos 45 e aos 60 dias após a cirurgia. Os resultados da microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram uma melhor cicatrização óssea após a irradiação com o laser diodo de  $830\text{nm}$ . Os autores ressaltam que tais achados sugerem que a utilização da LLLT ( $830\text{nm}$ ) melhora significativamente a cicatrização óssea nos estágios iniciais, concluindo, pois, que a LLLT pode aumentar o reparo ósseo nos estágios iniciais da cicatrização.

Lopes (2002) analisou, através da MEV, a concentração de hidroxiapatita de cálcio e matriz orgânica na cicatrização óssea periimplantar de coelhos. Quinze animais foram divididos entre os grupos irradiados, com dois em cada subgrupo, e os não irradiados com três em cada subgrupo. Os sítios receptores dos implantes foram as tíbias, sendo utilizado um período de observação de 15, 30 e 45 dias. O laser diodo empregado tinha comprimento de onda infravermelho ( $830\text{nm}$ ), GaAlAs, densidade de energia de  $21,5\text{J}/\text{cm}^2$ , potência  $10\text{mW}$ , irradiação pontual por seis segundos. Os resultados em relação à concentração média de hidroxiapatita permitiram observar que não houve diferença significativa, em 15 dias, entre os animais irradiados e não irradiados. Porém, uma diferença significativa foi observada em 30 e 45 dias. Com relação à média total da concentração da matriz orgânica, foi

possível observar diferença significativa somente em 30 dias entre irradiados e não irradiados. Aos 45 dias de pós-operatório foi possível observar uma acentuada diferença na união osso-implante entre os espécimes irradiados e não irradiados. A partir dos resultados obtidos a autora conclui que a LLLT promove uma cicatrização óssea periimplantar mais acelerada.

Com o propósito de avaliar se a irradiação com LLT poderia acelerar a regeneração óssea e reduzir o tempo da fase de consolidação, Miloro *et al.* (2007), avaliaram histológica e radiograficamente nove mandíbulas distraídas de coelhos. O protocolo de distração foi de um dia de latência, ritmo de 1mm/dia e irradiação por LLLT imediatamente após cada ativação. Os animais foram irradiados com laser GaAsAl (820nm, 6J/cm<sup>2</sup>) e observados por duas, quatro e seis semanas. Mediante os resultados obtidos, os pesquisadores concluíram que a LLLT acelera o processo de regeneração óssea durante a fase de consolidação, permitindo a remoção mais precoce do aparelho e reduzindo a morbidade.

Por outro lado, David *et al.* (1996) avaliaram radiograficamente, microscopicamente e por meio de ensaios mecânicos a ação do laser de HeNe (632,8nm) na regeneração de fraturas ósseas experimentais em ratos. Os parâmetros utilizados pelos autores consistiram de 10mW de potência e densidade de energia de 2J/cm<sup>2</sup> e 4J/cm<sup>2</sup>. Esses pesquisadores não observaram diferenças entre os grupos irradiados e não irradiados no que diz respeito ao processo de reparação óssea.

Uma pesquisa recente investigou o efeito da LLLT na cicatrização de fraturas produzidas em tíbias de coelhos. O laser utilizado foi o GaAsAl (780nm, 4J/cm<sup>2</sup>) aplicado diariamente durante cinco minutos, a partir do quarto dia até o final do pós-operatório em quatro semanas. A formação do calo ósseo e a densidade óssea foram avaliadas por meio de tomografias computadorizadas. Além disso, foram realizados testes para avaliar as propriedades biomecânicas. Os resultados demonstraram maior densidade óssea no grupo irradiado com laser. A tomografia computadorizada mostrou, ao longo do calo ósseo, uma densidade de 297 Unidades Hounsfield (HU) no grupo controle e de 691 HU no irradiado. Com relação aos testes biomecânicos, não foram verificadas diferenças com relação à força de tensão entre o grupo com e sem laser. Tais resultados sugerem que a utilização da LLLT pode favorecer a formação do calo em estágios precoces do processo de cicatrização,

mas com benefícios duvidosos nas propriedades biomecânicas (SHAKOURI *et al.*, 2010).

Em uma abordagem semelhante à presente pesquisa, Cerqueira *et al.* (2007) analisaram as características microscópicas do efeito da LLLT no período de ativação e consolidação de mandíbulas de ovelhas submetidas à DO. O grupo controle não recebeu irradiação. O segundo grupo recebeu irradiação no período de ativação e o terceiro no de consolidação. Os grupos foram irradiados a cada 48 horas e receberam um total de cinco aplicações. O período de contenção do aparelho distrator foi de 21 dias. Em todos os grupos foi possível identificar o local de osso maduro lamelar preexistente, com matriz calcificada, canais de Havers e alguns osteócitos. Distanciando-se do osso maduro, observaram-se trabéculas de tecido ósseo menos volumosas dispostas no sentido do alongamento. Na região mais central, havia maior volume de tecido conectivo fibroso, bastante vascularizado e pequenas zonas de calcificação. Os resultados demonstraram que os grupos irradiados com laser GaAIs apresentaram maior disposição de trabéculas ósseas mineralizadas em relação ao controle. No grupo que recebeu irradiação no período de ativação foi observada a presença de tecido cartilaginoso. Portanto, a LLLT atuou de forma mais favorável quando utilizada no período de consolidação, após o alongamento ósseo.

#### **2.4 Testes Instrumentados de Dureza – Nanodureza (IHT)**

A dureza é uma das propriedades físicas mais relevantes de um material, estando inerentemente relacionada à resistência que o mesmo apresenta. Sua caracterização é importante por ser um indicativo para a avaliação de materiais quanto a seu comportamento frente à aplicação de uma tensão. Sua importância está relacionada às grandes aplicações de carga a que os materiais, no caso o osso distraído, são submetidos, auxiliando na escolha daqueles que resistam a condições bastante adversas (KUCERA, 1965).

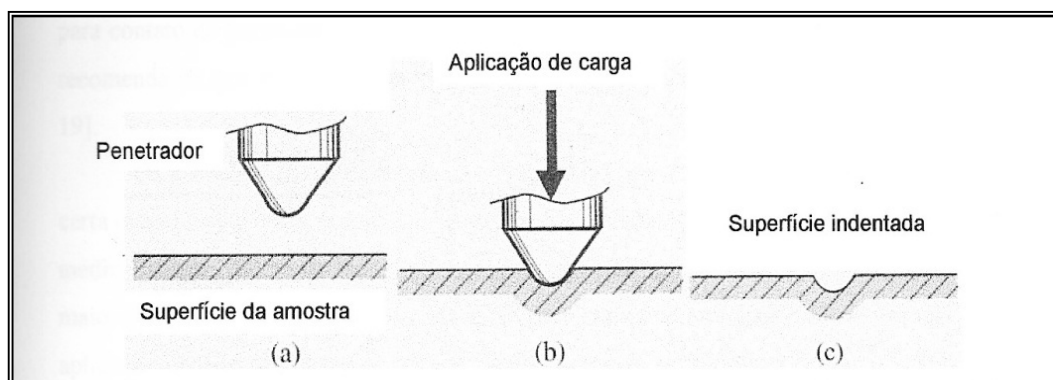
Experimentos usando nanodureza revelam as propriedades físicas como: dureza, módulo de elasticidade aparente, deformidades e diferenças residuais nas áreas analisadas. É sabido que alguns fatores influenciam na dureza: tipo de

ligação, defeitos, impurezas, temperatura, estrutura cristalina e tamanho (LIM e CHAUDHRI, 1999).

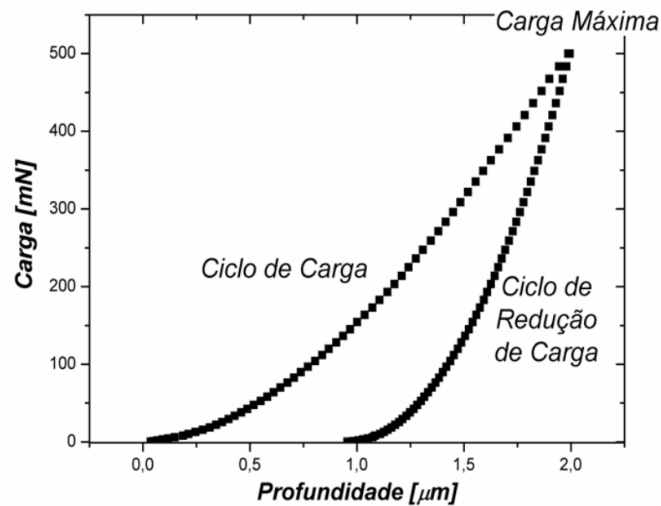
O teste de indentação, de acordo com o valor da carga aplicada, é considerado de nano e/ou microdureza. Ambos os testes utilizam valores baixos de carga. Os testes de nanodureza são simples, rápidos e não destrutivos (BLANDO, 2001).

O teste de nanoindentação é uma técnica quantitativa de medida de dureza e consiste em forçar um pequeno indentador contra a superfície de um material a ser testado. O indentador, também chamado de penetrador, é uma extremidade passível de ser constituída de vários materiais e que pode possuir as mais variadas formas geométricas. Atualmente, carbetos e pontas de diamantes têm sido utilizados com formas cônicas, esféricas e piramidais (Berkovich) (CALLISTER, 1997).

O teste começa após a determinação do valor de carga. Inicialmente, o indentador entra em contato com a amostra com um valor de carga mínimo. Logo após o contato, a carga vai sofrendo incrementos que comumente variam de acordo com o tempo. O ciclo de carregamento é finalizado ao alcançar o valor de carga fixado, dando início ao ciclo de descarregamento. Nesta parte do ciclo, o indentador começa a diminuir o contato com o material, sofrendo decrementos de carga até atingir o valor de carga mínima. O teste é então finalizado, retirando-se completamente o indentador da amostra (Figura 1). O comportamento do material frente ao ciclo de aplicação de carga é registrado de acordo com o Gráfico 1, representado abaixo (BLANDO, 2005).



**Figura 1-** Em (a), o penetrador está preparado para penetrar a amostra; em (b), o penetrador está deformando a amostra por meio da aplicação de uma carga; em (c) a amostra está indentada  
**Fonte:** [BLANDO, 2005].



**Gráfico 1 - Aplicação de um completo ciclo carga – descarga em um teste de dureza do tipo IHT**  
**Fonte: [BLANDO, 2005].**

O valor de dureza pode ser estimado continuamente durante o ciclo de carga por meio de sensores que verificam a profundidade de indentação e a carga aplicada a cada instante. Assim, baseado na geometria conhecida do indentador e nos valores de profundidade e carga, é estimada, então, a penetração causada no material e, conseqüentemente, o seu valor de dureza instantâneo (CHANG *et al.*, 2009).

É possível realizar mapeamento das medidas sobre a superfície com uma matriz de 100 x 100 micrômetros aproximadamente. A técnica possui precisão em profundidade de cerca de 2 nm e cargas mínimas de 400 micronewtons. Por se tratarem de medidas em escalas nanométricas é fundamental que as amostras sejam planas e polidas (Ni *et al.*, 2006).

Como durante a nanoindentação o indentador é dirigido para dentro do material, ocorrem deformações elásticas e plásticas, o que resulta na formação de uma impressão de dureza conforme a forma do indentador. Na remoção do indentador (descarga), somente a porção elástica é restabelecida. Assim, o módulo de elasticidade, também conhecido como módulo de *Young*, pode ser aferido uma vez que, durante o ciclo de descarga, a deformação estará diretamente relacionada à recuperação elástica do material (CHICOT, 1996).

A mensuração do módulo de elasticidade é importante, uma vez que ele mede a capacidade de um material deformar-se quando sofre uma pressão e, depois, retornar à sua forma original, quando a pressão for removida.

Os principais constituintes do tecido ósseo são o colágeno do tipo I e os cristais de hidroxiapatita. A parte mineral, composta pela hidroxiapatita, oferece rigidez e capacidade de suportar cargas. A matriz orgânica, composta de colágeno tipo I, proporciona tanto a resistência quanto a flexibilidade do osso, além de determinar sua organização estrutural. Portanto, as propriedades físicas do osso são dependentes das propriedades desses constituintes, desde sua composição até sua organização estrutural, a nanoestrutura (lamelas), a microestrutura (ósteon - espaço trabecular) e a macroestrutura (compacto e esponjoso). Em DO, as pesquisas sobre propriedades biomecânicas concentram-se em âmbito macro e microestruturais, enquanto que poucas pesquisas nanoestruturais foram realizadas (ZYSSET *et al.*, 1999).

Um estudo comparou o módulo de elasticidade entre ossos trabeculares e corticais de doadores de ossos femurais humanos. Pela técnica da nanoindentação, os autores encontraram valores médios relativos ao módulo de elasticidade de  $18 \pm 1,7$  GPa para o osso trabecular e de  $20 \pm 0,27$  gigapascal para o cortical. Os especialistas concluíram não haver diferenças estatísticas quanto ao módulo de elasticidade do osso cortical e medular (TURNER *et al.*, 1999).

Wang *et al.* (2006) realizaram uma pesquisa de nanoindentação em vértebras e tíbias bovinas, nas quais eles mensuraram a dureza e o módulo de elasticidade. Os pesquisadores realizaram as medidas tanto em osso medular quanto em osso cortical, no sentido longitudinal e no transversal. Para o osso cortical no sentido longitudinal, foram feitas as medidas nos ósteons, com valores de módulo de elasticidade médio de  $24 \pm 2,5$  GPa e dureza média de  $0,81 \pm 0,15$  GPa, e nas lamelas intersiticiais, com valores de  $30 \pm 2,4$  GPa para o módulo de elasticidade e de  $0,89 \pm 0,11$  GPa para a dureza. No sentido transversal, ainda no osso cortical, os valores encontrados de módulo de elasticidade médios foram de  $19 \pm 1,6$  GPa e de dureza, de  $0,64 \pm 0,06$  GPa. Em se tratando de osso medular, observaram valores médios de módulo de elasticidade no sentido longitudinal de  $20 \pm 2$  e no sentido transversal de  $14,7 \pm 1,9$  GPa. Com relação à dureza, verificaram valores médios de  $0,52 \pm 0,09$  GPa (longitudinal) e de  $0,41 \pm 0,06$  GPa (transverso).

Em calo ósseo de fêmur de ratos submetidos a fraturas, foram determinadas as propriedades físicas pela nanoindentação. O módulo de elasticidade variou bastante ao longo do calo ósseo e essa grande variação ocorreu devido à presença de diversos tecidos na região da cicatrização. O tecido de granulação apresentou

valores de 0,61 megapascal (MPa) a 1,27MPa (média de 0,99MPa), o tecido cartilaginoso de 1,39MPa a 4,42MPa (média de 2,89MPa), e o osso de 26,92MPa a 1010MPa (média de 132,00MPa) (LEONG e MORGAN, 2008).

Seong *et al.* (2009), relacionaram as propriedades físicas do osso com a estabilidade inicial de implantes dentários. Para esta pesquisa, usaram quatro pares de mandíbulas e maxilas edêntulas de cadáveres humanos frescos. Foram medidos a dureza e o módulo de elasticidades de tais ossos pela nanoindentação, na região anterior e posterior, direita e esquerda. Quanto aos valores de dureza, os pesquisadores obtiveram uma média de 0,52GPa para a maxila e 0,59GPa para a mandíbula. Com relação ao módulo de elasticidade, os autores observaram valores de 14,9GPa para a maxila e de 18,3GPa para mandíbula. Com esta pesquisa eles concluíram que há diferenças entre maxila e mandíbula e entre região anterior/posterior e que as diferenças de dureza e módulo de elasticidade alteram a estabilidade primária dos implantes.

## 2.5 Tomografia Computadorizada (TC)

A tomografia computadorizada (TC) é um exame de imagem que permite a reconstrução tridimensional do esqueleto diretamente ou por meio de uma série de fatias bidimensionais. Todos os índices estruturais comumente determinados por secções histológicas bidimensionais podem ser obtidos de maneira não destrutiva por um grande número de cortes em qualquer uma das três direções ortogonais (FELDKAMP *et al.*, 1989).

Hangartner e Gilsanz (1996) avaliaram a cortical óssea através de TC, concluíram que a densidade do material da cortical óssea pode ser medida de maneira acurada pela tomografia computadorizada se a espessura do córtex ultrapassar 2-2,5mm.

A TC proporciona uma medida de densidade mineral óssea na mandíbula potencialmente útil como um método não invasivo para avaliar a qualidade óssea mandibular (LINDH *et al.*, 1996).

Rüegsegger *et al.* (1976) desenvolveram um estudo para quantificar a mineralização óssea usando a TC. Concluíram que a qualidade das imagens reconstruídas permitiu uma quantificação separada do osso compacto e do osso

esponjoso, além de quantificar a densidade do osso esponjoso com uma precisão de +/- 2% entre diferentes densidades.

Uma das maneiras de avaliar qualitativa e quantitativamente a neoformação óssea é a tomografia computadorizada. Este exame permite avaliar a densidade e a geometria óssea, proporcionando informações mais detalhadas sobre a qualidade e a quantidade de osso neoformado em decorrência de sua grande acurácia, mínimo erro e a relação direta com os achados histológicos. Por esta razão, a literatura descreve-a como o método mais objetivo para avaliar o osso da área submetida à distração osteogênica. Apesar disto, poucas pesquisas clínicas ou experimentais sobre imagem têm sido publicadas objetivando quantificar o processo de regeneração óssea no esqueleto craniofacial (ARONSON *et al.*, 1990; SWENNEN *et al.*, 2005).

Para Bontrager (2003), dentre as vantagens da utilização da TC, destaca-se a sensibilidade aos tipos de tecidos quando comparada às radiografias convencionais, de maneira que diferenças entre tipos de tecidos podem ser mais claramente delineadas e estudadas. Em outras palavras, a radiografia convencional evidencia tecidos que tenham diferença de pelo menos 10% em densidade, ao passo que a tomografia computadorizada pode detectar diferenças de densidade entre tecidos de 1% ou até menos. Nesse sentido, torna-se um importante exame para avaliação da contração do alongamento ósseo, nos estudos de estabilidade da distração osteogênica.





*Metodologia*

---

### 3 METODOLOGIA

Esta pesquisa foi realizada junto ao Biotério e ao Hospital de Clínicas Veterinário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), ao Centro de Diagnóstico por Imagem (CDI) da Faculdade de Medicina da PUCRS e ao Laboratório de Materiais e Nanociências – Grupo de Estudos de Propriedades de Superfícies e Interfaces (GEPsi-LMN) do Centro de P&D em Física da PUCRS.

O projeto para a execução deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (CEP-PUCRS: 0219/07) e pelo Comitê de Ética para o uso de Animais (075/08 – CEUA) - Anexos A e B. O autor objetivou garantir a proteção adequada aos animais utilizados no estudo, preservando seus direitos e assegurando à comunidade científica que esta investigação fosse realizada dentro dos parâmetros preestabelecidos e aprovados para pesquisas com animais. Para tal, seguiram-se os princípios éticos em observância à Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, que trata dos procedimentos para o uso científico de animais, respeitando-se, também, os princípios éticos na pesquisa experimental com animais de laboratório.

#### 3.1 Seleção da Amostra e Organização dos Grupos Experimentais

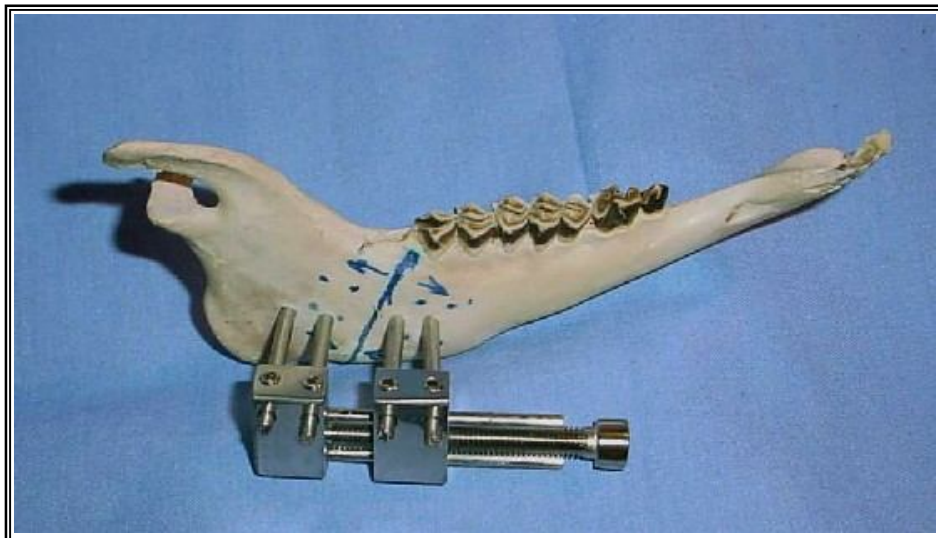
Para a presente investigação, foram selecionadas cinco ovelhas fêmeas da raça *Corriedale*. Os espécimes com idade reconhecida de 2 anos, peso compreendido entre 40 e 45 quilos, adquiridos por intermédio da Faculdade de Medicina Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FMV-UFRGS).

Os animais foram admitidos no Hospital de Clínicas Veterinário e foram submetidos a exames laboratoriais básicos (hemograma completo, coagulograma e parasitológico) para descartar a possibilidade de quaisquer doenças presentes, prévias à intervenção cirúrgica e que pudessem interferir nos resultados deste trabalho.

Os cinco animais selecionados foram divididos, aleatoriamente, em cinco grupos experimentais (A, B, C, D e E). Cada grupo permaneceu com o distrator

osteogênico externo<sup>3</sup>, mostrado na Figura 2. O tempo que cada animal permaneceu com o aparelho distrator está de acordo com a Tabela 1. A LLLT foi realizada no período de latência/ativação do distrator (grupos A, B e C) ou no período de maturação óssea (grupo D). O grupo E não recebeu nenhuma irradiação por LLLT. Todos os animais permaneceram em observação por 60 dias.

Durante o experimento, os animais ficaram alojados em duplas, em baias apropriadas, sendo cada animal identificado por uma placa. Eles permaneceram no Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV) da UFRGS durante todo período do experimento, sob cuidados do pesquisador e orientação da equipe de médicos-veterinários do próprio Hospital.



**Figura 2- Modelo de distrator externo utilizado**

Fonte: Cerqueira, 2003

---

<sup>3</sup> PROMM® – Indústria de Materiais Cirúrgicos (LTDA) – Porto Alegre – RS, Brasil. Dispositivo de distração osteogênica fabricado para fins de pesquisa com DO da PUCRS, não disponível comercialmente.

**Tabela 1- Organização dos grupos experimentais**

<b>Grupos</b>	<b>Tempo do Distrator LLLT</b>	<b>Pós Operatório</b>
Grupo A (Ovelha 1)	50 dias	Latência/Ativação 60 dias
Grupo B (Ovelha 2)	40 dias	Latência/Ativação 60 dias
Grupo C (Ovelha 3)	33 dias	Latência/Ativação 60 dias
Grupo D (Ovelha 4)	33 dias	Período de maturação 60 dias
Grupo E (Ovelha 5)	33 dias	Ausente 60 dias

### **3.2 Etapas Técnicas da Pesquisa**

#### **3.2.1 Sequência Cirúrgica**

Todas as etapas dos procedimentos anestésicos foram executadas por um médico-veterinário que acompanhou o pré, o trans e o pós-operatório dos espécimes.

A anestesia geral foi obtida através da indução com o uso de Acepromazina 0,05mg/kg, Meperidina 2mg/kg, Quetamina 4mg/kg e máscara de Halotano. Para intubação utilizou-se Propofol 8ml. A manutenção da anestesia foi realizada com Halotano em O<sub>2</sub> 100%. Eventualmente, doses complementares intramusculares de manutenção foram administradas.

A profilaxia antibiótica foi realizada com a administração endovenosa de Ampicilina Sódica, 10mg/kg.

Após a perda de consciência os espécimes foram posicionados em decúbito lateral direito, sendo fixados à mesa cirúrgica por amarrilhos. A região submandibular esquerda foi tricotomizada com uma lâmina de barbear descartável e a antisepsia local realizada com degermante polivinilpirrolidona iodo (PVPI).

Campos cirúrgicos estéreis, fixados por pinças Backaus, isolaram o campo operatório. Na região a ser incisada, procedeu-se à infiltração local com Lidocaína a

1%, com Epinefrina na proporção de 1:100.000, no espaço subcutâneo, na dose aproximada de 3 ml por animal.

A intervenção cirúrgica descrita foi sempre realizada pela mesma equipe de pesquisadores, com o objetivo de proporcionar fidelidade do dano tecidual produzido.

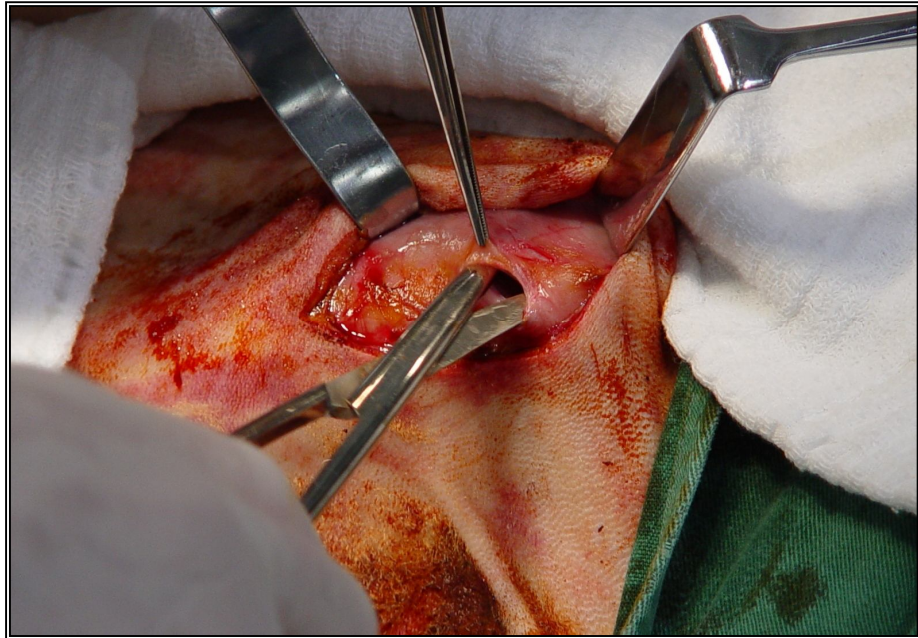
Com um bisturi no. 3 e lâmina descartável no. 15 uma incisão linear, 1cm abaixo da região basilar esquerda da mandíbula, medindo aproximadamente 3cm foi realizada (Figura 3).



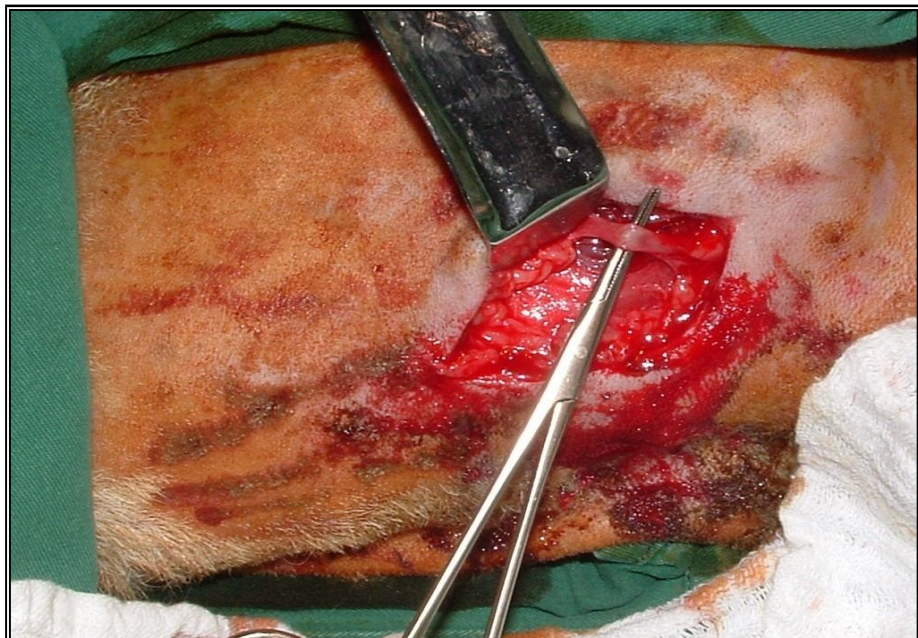
**Figura 3 - Incisão submandibular tipo Risdon**

Em uma abordagem por planos, por meio de dissecação roma com tesoura de Matzenbaum, divulsiona-se inicialmente o tecido sub-cutâneo e o músculo platisma. Abaixo deste a veia facial é isolada e ligada e, por último, o periósteo foi cuidadosamente descolado junto com as inserções do músculo masseter, utilizando-se descoladores do tipo Molt, tanto pela face lateral quanto pela medial da mandíbula. Afastadores do tipo Farabeuf foram posicionados expondo a superfície lateral da mandíbula (figuras 4, 5 e 6). As osteotomias foram realizadas com serra recíprocante pela face lateral e medial da mandíbula, tendo-se o cuidado para não osteotomizar a parte medular do osso. As osteotomias foram realizadas posteriormente ao último molar e delimitadas a partir do ponto cefalométrico Gônio

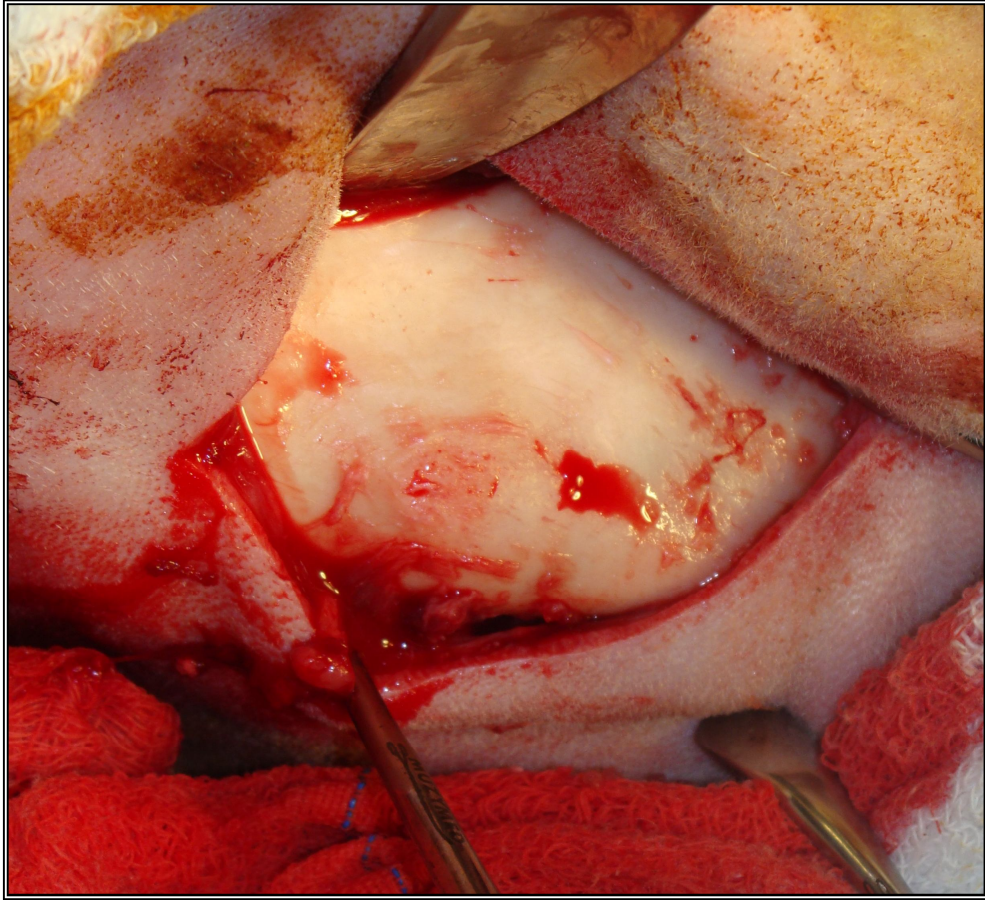
em direção à região do triângulo retromolar, unidas pela basilar e crista alveolar, na região do ângulo mandibular (Figura 7).



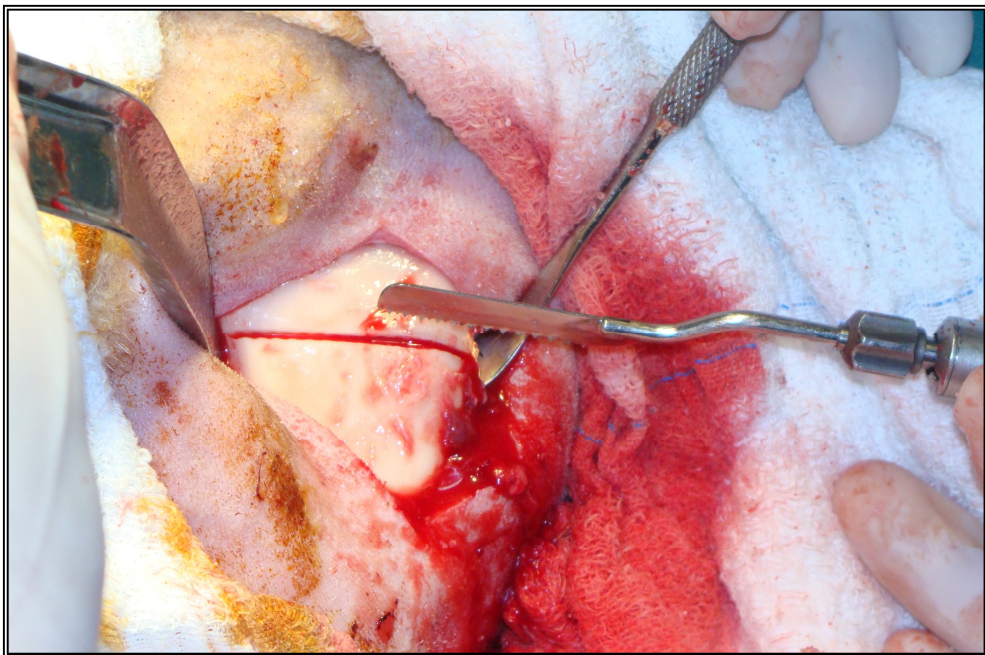
**Figura 4 - Dissecção dos tecidos subcutâneos com tesoura romba**



**Figura 5 - Identificação da veia facial nos tecidos sub-cutâneos**

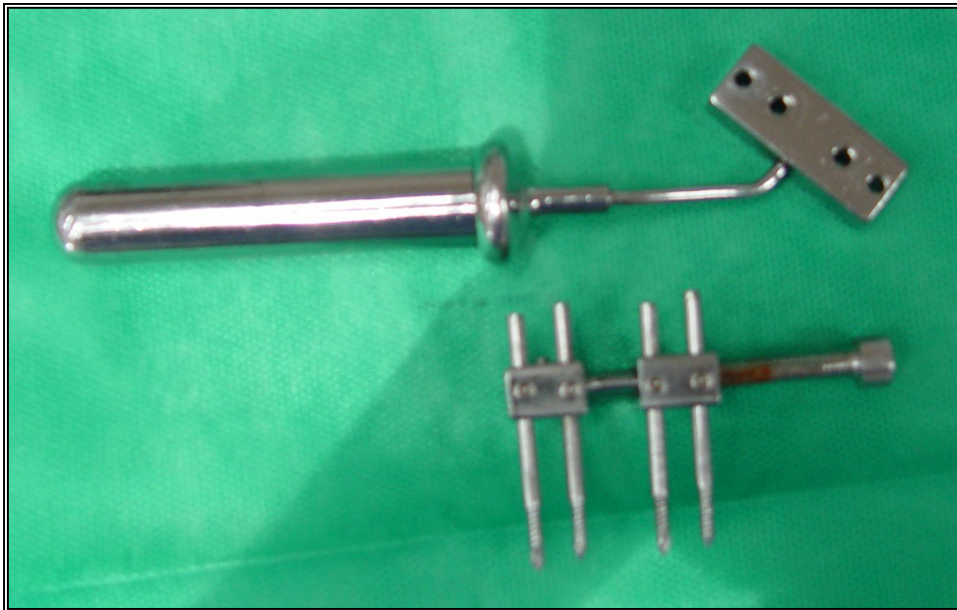


**Figura 6 - Exposição da face lateral da mandíbula**



**Figura 7 – Osteotomia da cortical lateral da mandíbula com serra recíprocante**

Em seguida, o guia de perfuração fornecido pelo fabricante<sup>4</sup> do distrator osteogênico (figura 8) foi posicionado sobre a linha de osteotomia, acima da pele, onde é feita perfuração transcutânea com broca de baixa rotação, helicoidal de 2,0mm, específica dos parafusos do distrator, sob irrigação abundante de soro fisiológico. A cada perfuração, um pino era instalado estabilizando-se o guia e permitindo que uma nova perfuração fosse realizada respeitando-se o paralelismo entre os pinos do distrator. O aparelho distrator foi, então, ativado até obtenção de uma resistência à ativação do aparelho distrator, para que a fratura pudesse ser concluída com o uso de cinzéis retos (figura 9).

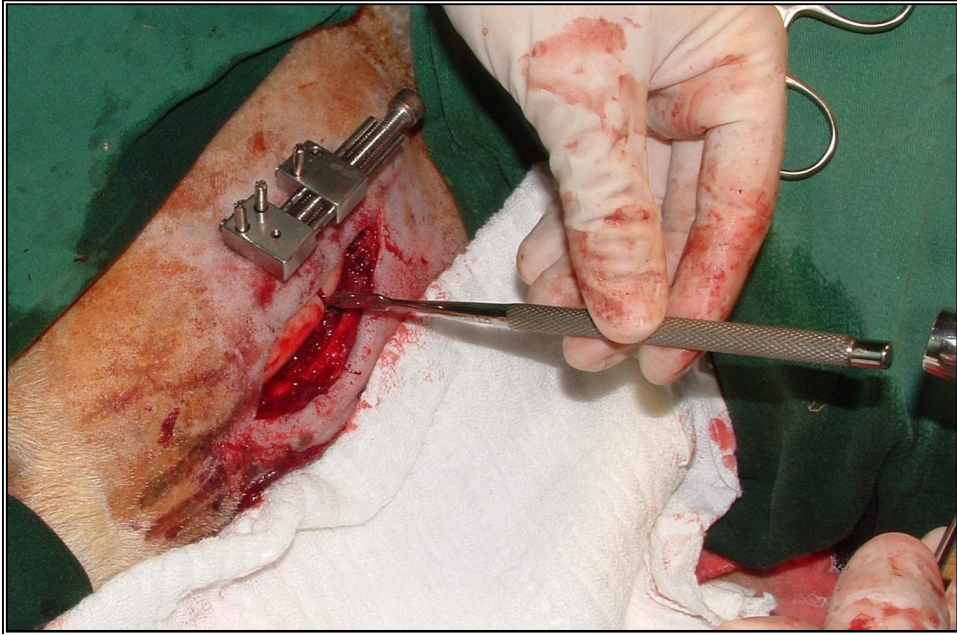


**Figura 8 - Guia de perfuração e distrator osteogênico extra-oral**

---

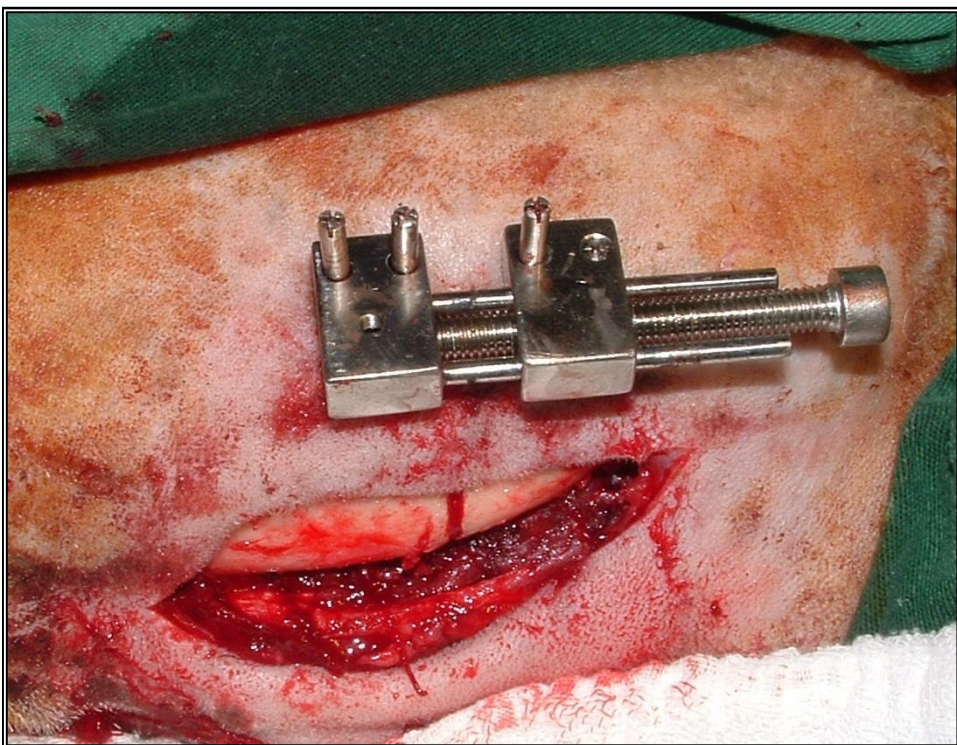
<sup>4</sup> PROMM® – Indústria de Materiais Cirúrgicos (LTDA) – Porto Alegre – RS, Brasil. Dispositivo de distração osteogênica fabricado para fins de pesquisa com DO da PUCRS, não disponível comercialmente.



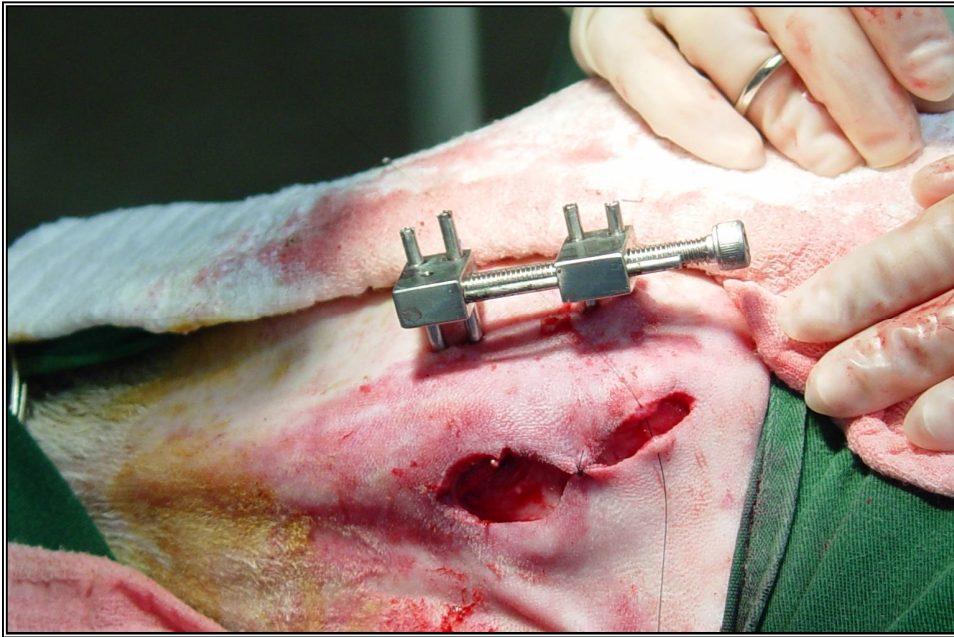


**Figura 9 - Finalização da osteotomia com uso de cinzel**

Para verificarmos a completa fratura mandibular o distrator osteogênico era ativado em 3mm. Constatada a separação mandibular, o aparelho era voltado ao ponto zero e sua instalação era inspecionada (figura 10). Após irrigação abundante para a limpeza do leito operatório, foi realizada sutura da ferida operatória, por planos, com fio monofilamentar de náilon no. 4-0 em pontos isolados (Figura 11). A sutura de pele foi removida após sete dias.



**Figura 10 - Instalação do distrator mandibular externo**



**Figura 11 – Sutura por planos com fio mono náilon 4-0**

### **3.2.2 Período Pós-Operatório**

No período pós-operatório, os espécimes permaneceram no Hospital Veterinário, sob cuidados do pesquisador e orientação da equipe de médicos-veterinários, coordenados pelo Dr. Carlos Afonso de Castro Beck. Receberam Morfina 0,4mg/kg de 8/8h durante 72h e Pentabiótico (associação de Penicilina Benzatina, Procaína e Estreptomicina) a cada 24h durante sete dias.

### **3.2.3 Distração Osteogênica**

#### *3.2.3.1 Período de Latência – cinco dias (1º. ao 5º.)*

Durante os cinco primeiros dias pós-operatórios, o distrator osteogênico não foi ativado, apenas inspecionado e higienizado com iodoform alcoólico a 1%.

#### *3.2.3.2 Período de Ativação – 15 dias (6º. ao 20º.)*

A partir do sexto dia pós-operatório, em todos os grupos, iniciaram-se as ativações do aparelho distrator, avançando 1mm por dia, até que se completassem 15 mm de extensão ao final do experimento.

### 3.2.3.3 Período de Maturação Óssea – 13 - 30 dias (21º. ao 33º., 40º. ou 50º.)

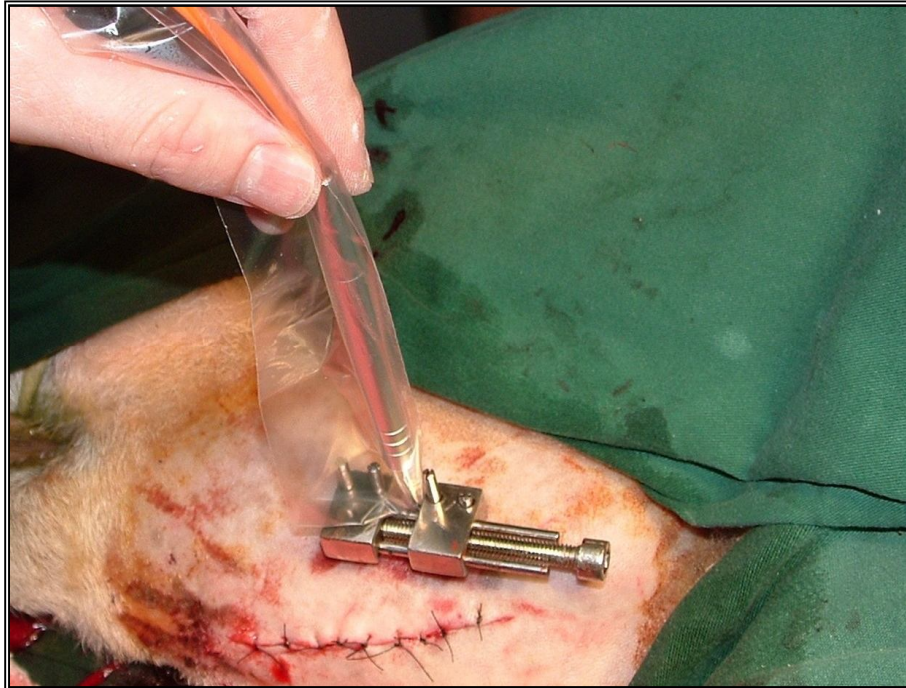
Após o período de alongamento, o aparelho distrator foi mantido em “silêncio”, inativo, por um período de 30 dias no grupo A, 20 dias no grupo B e 13 dias nos grupos C, D e E para que ocorresse a consolidação óssea. Quando decorrido o tempo de maturação óssea, para cada grupo, o dispositivo de distração foi removido com anestesia local.

### 3.2.4 Irradiação com LLLT

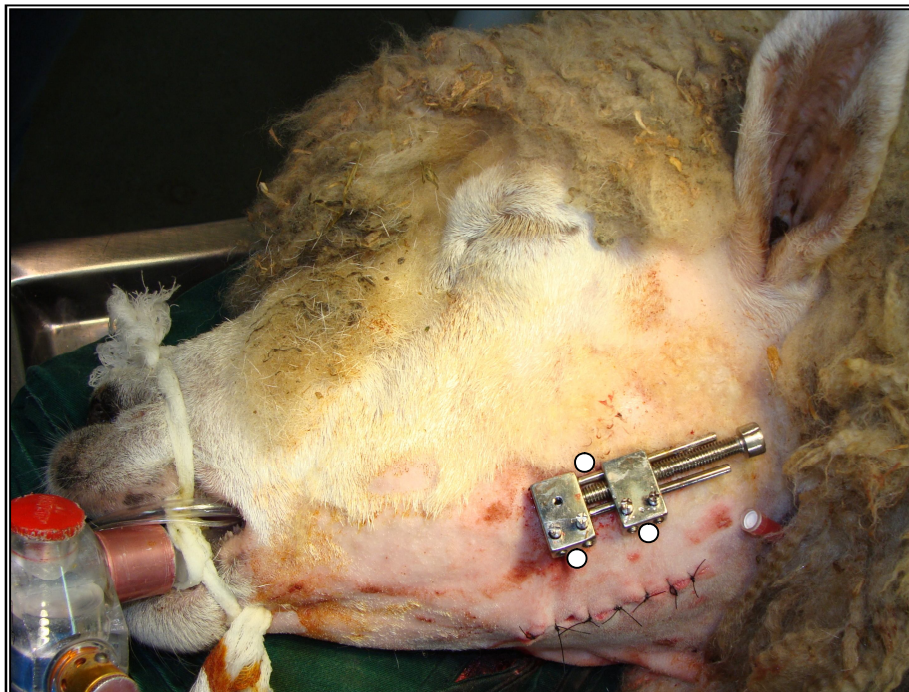
O aparelho utilizado para irradiação foi o Thera Laser<sup>5</sup>, devidamente calibrado (Anexo C), com meio ativo GaAlAs (arseneto de gálio e alumínio), com comprimento de onda de 830nm, devidamente calibrado. Nas ovelhas 1, 2 e 3, chamadas de laser latência/ativação, a irradiação inicial foi aplicada logo após o término da sutura (figura 12) e a cada 48 horas, totalizando oito aplicações, ou seja, as irradiações iniciavam no período de latência e se estendiam pelo período de ativação. No animal número 4, laser maturação, a primeira irradiação aconteceu no último dia da ativação do distrator, seguindo com mais sete aplicações a cada 48 horas, totalizando oito aplicações, durante o período de maturação óssea. Por ser indolor, este procedimento não necessitou do uso de sedação ou anestésicos. Os espécimes 1, 2, 3 e 4 receberam irradiações pontuais sobre a região distraída. Houve três pontos de irradiação de 5J/cm<sup>2</sup>, totalizando 15J/cm<sup>2</sup> por sessão, na potência de 50mW, em modo contínuo, com um tempo de 1,41 minutos. A energia total aplicada, ao final do experimento, correspondeu a 120J/cm<sup>2</sup>. A ovelha número 5 ou grupo E, controle, não recebeu nenhuma irradiação, porém, o animal passou pelo mesmo protocolo de irradiação ativação com a ponteira desligada. A forma de irradiação foi sempre pontual, em contato com o tecido e com a ponteira num ângulo de 90° com este. A escolha dos pontos de irradiação se deu em três pontos equidistantes e de forma a fugir dos parafusos de fixação do distrator (Figura 13).

---

<sup>5</sup> DMC equipamentos (São Carlos, São Paulo, Brasil)



**Figura 12 - Irradiação pós-operatória imediata com LLLT**

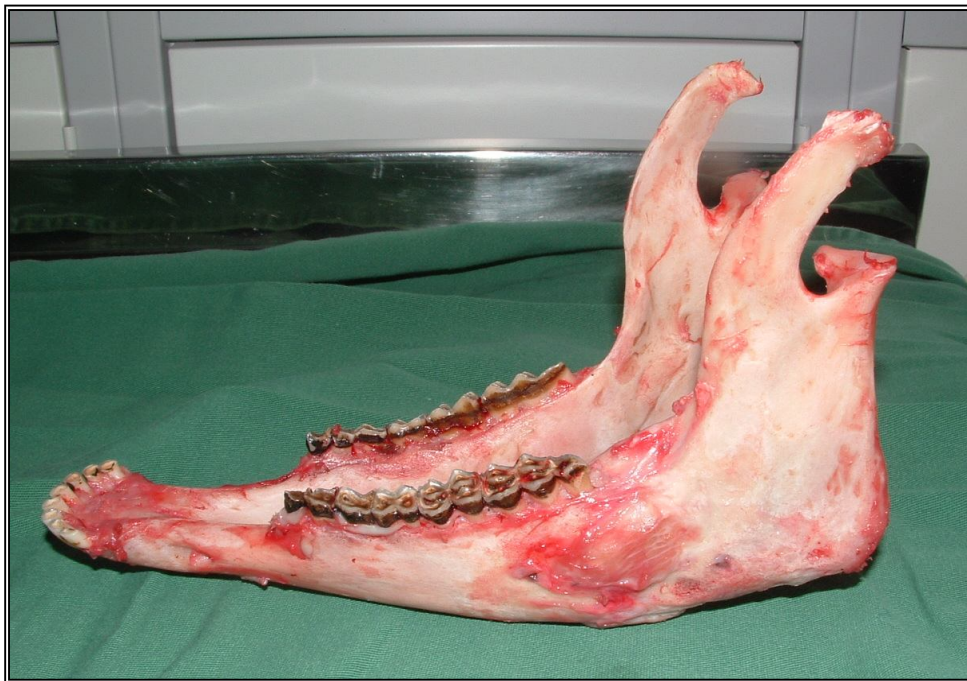


**Figura 13 - Pontos de escolha para irradiação com LLLT**

### 3.2.5 Morte dos Animais

Quando atingiram 60 dias do procedimento cirúrgico, os espécimes foram mortos por meio de anestesia profunda com os mesmos anestésicos utilizados para o procedimento cirúrgico, ocasionando morte por parada cardiorrespiratória, respeitando-se, dessa forma, a Resolução no. 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências.

Constatada a morte dos animais, pelos sinais vitais, as mandíbulas foram dissecadas e retiradas com descoladores e cinzéis e conservadas em glutaraldeído (Figura 14).



**Figura 14 - Mandíbula dissecada**

A escolha do glutaraldeído deve-se ao fato de que diversas análises necessitem de vácuo, impossibilitando o uso de formol que reagiria com o óleo usado nas bombas e fornos de vácuo.

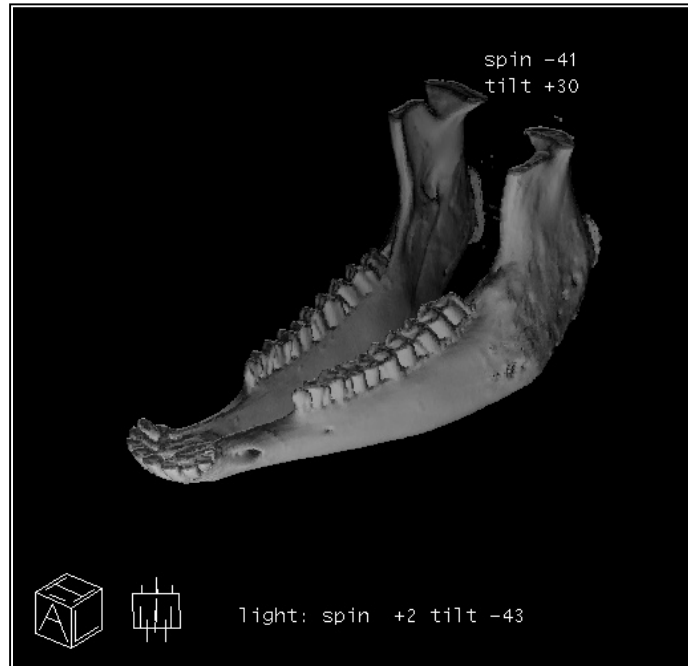
Na sequência, as mandíbulas foram imageadas por tomografia computadorizada no Centro de Diagnóstico por Imagem (CDI) e, em seguida,

encaminhadas ao laboratório de Materiais e Nanociências – Grupo de Estudos de Propriedades de Superfícies e Interfaces (GEPSI-LMN) do Centro de P&D em Física do Parque Científico e Tecnológico da PUCRS (TECNOPUC).

### 3.3 Tomografias Computadorizadas

As tomografias computadorizadas foram executadas no CDI da Faculdade de Medicina da PUCRS, localizado no Hospital São Lucas da PUCRS.

Para avaliação da distância do alongamento ósseo após 60 dias, analisando se houve contração óssea que pudesse gerar recidiva, as tomografias foram realizadas em um equipamento Siemens® - Somaton Plus 4. As amostras foram posicionadas sobre a mesa de exames e obtidos cortes axiais, com fatias de 0,5 mm. As imagens foram armazenadas em formato Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) no servidor de imagens do referido Hospital. O *software* utilizado para manipulação das imagens foi o PixViewer®, capaz de realizar processamento tridimensional. A partir desses cortes axiais foram obtidas as reconstruções tridimensionais volumétricas (figura 15). Sobre esta renderização 3D, aplicou-se uma ferramenta do próprio aparelho do tomógrafo, chamada de reconstrução com intensidade máxima (MIP) por diferença de densidade. A técnica MIP (*maximum intensity projection*) é uma forma de mostrar os dados adquiridos com a tomografia computadorizada, na qual as estruturas de maior densidade são utilizadas para formar a imagem final.



**Figura 15 - Reconstrução tomográfica 3D**

Nessas reconstruções por MIP, realizou-se a medida do *gap* ósseo por meio de uma medida linear, entre as extremidades ósseas maduras, já que o osso formado pela DO ainda imaturo, apresenta-se hipodenso na tomografia e este espaço foi denominado “gap” (figura16). Dois examinadores realizaram duas medidas cada um, em cada reconstrução, no próprio programa do tomógrafo (PixViewer®). O ponto de eleição das medidas foi sobre o centro da área distraída, eqüidistante entre a distância da crista alveolar até a basilar da mandíbula (figura 17). Destas duas medidas de cada animal operado, foi alcançada uma média para cada animal. Estas médias servem para efeito de comparação da influência do tempo de contenção na fase de maturação: ovelha 1 (30 dias), ovelha 2 (20 dias) e ovelhas 3,4 e 5 (13 dias).



**Figura 16 - Reconstrução 3D pela técnica MIP evidenciando a distância entre os bordos ósseos osteotomizadas com presença de tecido ósseo imaturo entre elas**



**Figura 17 - Medida linear do "gap" (osso imaturo) entre as bordas ósseas na região de osso alongado**



### 3.4 Preparo Laboratorial das Mandíbulas

No GEPSI-LMN, as peças foram cortadas ao meio, com auxílio de um mini-motor de corte (Proxxon®-50HZ; 40W), dividindo a mandíbula em duas hemiarcadas. Em seguida, a região do osso neoformado e uma porção do osso antigo foi osteotomizada no sentido vertical separando-as das demais áreas. Procedeu-se da mesma forma no lado contralateral, obtendo-se duas porções ósseas de interesse, o lado operado e o lado controle (Figura 18). A seguir, as peças foram levadas a um dessecador pelo período de uma semana e depois a um forno vácuo a uma pressão atmosférica de 5 Pascal, por mais uma semana, com o objetivo de eliminar remanescentes de glutaraldeído no interior do tecido ósseo, evitando reações químicas no momento da inclusão da resina.

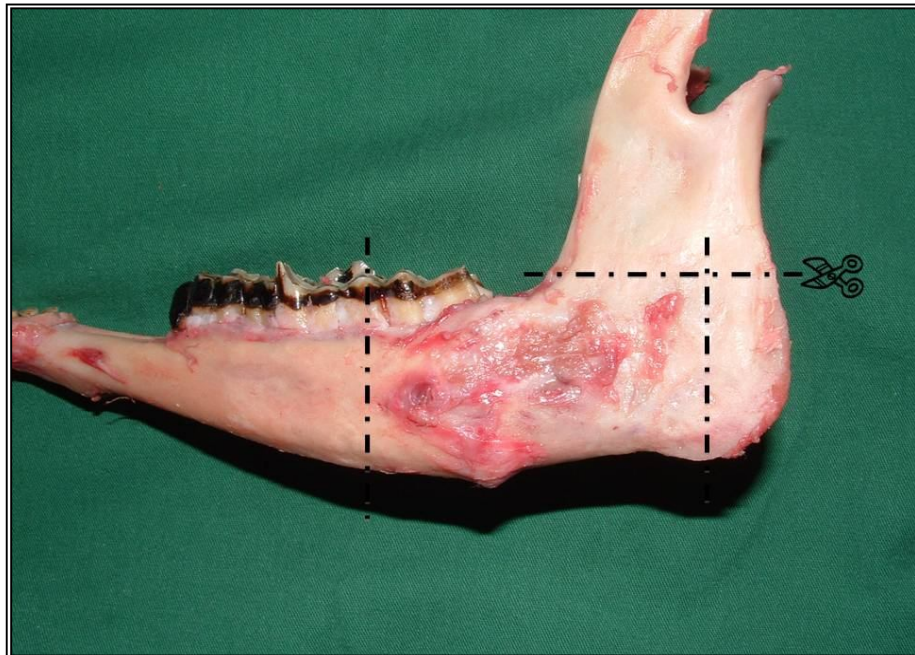
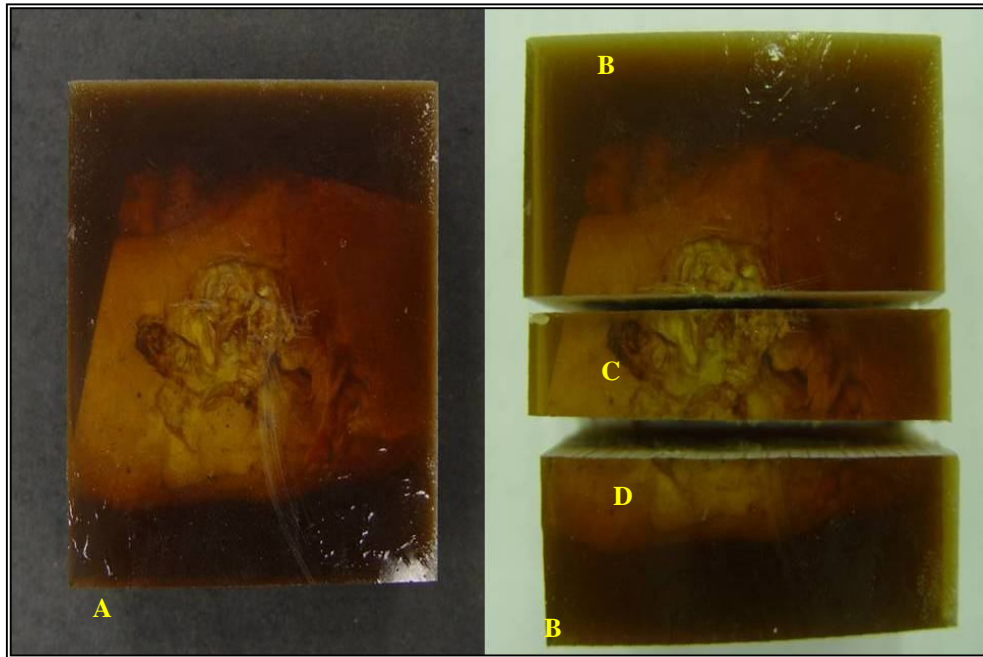


Figura 18 – Esquema da área óssea que foi segmentada

As porções de interesse da mandíbula, agora incluídas em formas quadradas pré-moldadas de PVC e preenchidas com resina de fibra de vidro (Fiberglass® incolor), foram cortadas axialmente com auxílio de uma serra-fita (St1101, Starrett®) em três blocos (figura 19) após tomarem presa. Ou seja, cada mandíbula foi separada em três blocos, todos devidamente identificados em lado controle ou lado operado; amostra superior, medial (lado superior ou inferior) e inferior (Figura 20).



**Figura 19 – Em (A), peça óssea incluída em resina de fibra de vidro; em (B) e segmentação em três porções. (C) representa a porção superior, (D) a porção medial e (E) a porção inferior**



**Figura 20 – Amostra média, lado superior, devidamente identificada.**

Uma exigência do teste de nanoindentação, de acordo com a norma ISO 14577 (2002), relacionada aos testes instrumentados de indentação para dureza e parâmetros de materiais, é que as superfícies das amostras estejam extremamente planas e polidas. Assim, todos os blocos ósseos foram submetidos a um polimento

manual, sequencial de oito lixas d'água (80, 150, 320, 400, 600, 1200, 2400 e 4000) e, nos intervalos, os blocos foram levados ao ultrassom e submersos em água altamente deionizada, para eliminação de resíduos de resina e osso, por aproximadamente cinco minutos. O polimento das primeiras lixas foi realizado com água e os das lixas 600, 1200, 2400 e 4000 foi realizado com auxílio de uma mistura, na proporção de 1:1, de propilenoglicol e álcool isopropílico ( $C_3H_8O_2 + CH_3CH_2CH_2OH$ ). Entre cada troca de lixa, os blocos eram lavados, secados e levados ao microscópio óptico (Olympus® BX 60) para que fosse realizada a verificação da direção dos traços do polimento na amostra e verificar se havia uniformidade entre os mesmos. Para secagem utilizou-se gás Nitrogênio (White Martins®).

Para finalizar o processo, os blocos ósseos foram polidos com pasta de diamante (DPPaste; Struers®) de  $9\mu m$ ,  $1\mu m$  e  $\frac{1}{4}\mu m$  e também um polimento final, com solução de carboneto de sílica e água filtrada em uma politriz metalográfica.

Para a realização dos testes instrumentados de dureza, marcou-se a região correspondente à região óssea alongada, após sua identificação no microscópio óptico, com caneta para retroprojektor sobre a resina polida, (Figura 21).



**Figura 21 - Bloco ósseo pronto para nanoindentação, polido e com área da distração osteogênica identificada com caneta para retroprojektor. O quadro em destaque mostra a cortical externa onde eram feitas as nanoindentações da cortical operada**

Nesta área do osso distraído, 34 regiões sobre a cortical externa do lado operado e seis regiões do lado controle foram identificadas a partir de fotomicrografias em um microscópio óptico com aumento de 50 vezes. Nessas fotomicrografias eram marcadas as regiões a serem medidas pela nanoindentação através de círculos vermelhos, sempre sobre a cortical externa (Figura 22).



**Figura 22 – Demarcações das áreas a serem indetadas sobre a cortical óssea externa em fotomicrografias ópticas em 50x**

### **3.5 Testes Instrumentados de Dureza (IHT)**

Os testes instrumentados de dureza (IHT) foram realizados nas dependências do GEPSI nos blocos médios (lado superior), operado e controle de cada grupo, pelo físico do laboratório.

As propriedades físicas na região do osso neoformado, foram analisadas por medidas de dureza e módulo de elasticidade, utilizando-se um penetrador com geometria *Berkovich* e um equipamento dinamicamente controlado (HV100 – Fisherscope - Helmut-Fischer Inc®) com resolução de 2nm em profundidade e até 20 N em carga (Figura 23).



**Figura 23 - Equipamento de nanoindentação**

Para esta análise, padronizou-se que os corpos de prova polidos (amostras), fossem avaliados com uma carga de 50mN, cada ciclo foi configurado com um intervalo de tempo de 40s para carga e 40s para a descarga, em uma linha sobre a cortical externa, iniciando 0,5 mm antes e até 0,5 mm após a região neoformada, totalizando 34 aferições por amostra operada, respeitando-se o tamanho da peça, permitindo mensurar as propriedades do osso que sofreu a distração osteogênica. No lado controle de cada grupo, devido às medidas apresentarem padrões semelhantes, as aferições foram realizadas sobre a cortical externa, totalizando seis aferições por peça.

O objetivo das múltiplas medidas foi avaliar toda extensão da área distraída, uma vez que havia diferentes níveis de amadurecimento do tecido ósseo, em virtude do alongamento gradual característico da técnica de DO.

Os dados do comportamento de dureza e módulo de elasticidade de cada amostra foram exportados para o *software* Microsoft® Office Excel 2007 visando à obtenção de gráficos e tabelas mostrando a variação ao longo da amostra.

### 3.6 Análise dos Dados

Para análise dos dados obtidos, foi constituído um modelo de comparação das médias dos diferentes animais nos seguintes efeitos:

- LLLT: comparação entre os grupos experimentais, quanto à diferença laser latência/ativação, laser maturação e sem laser;
- tempo de manutenção do distrator: comparação entre os períodos 33, 40 e 50 dias e seus respectivos lados controles.

Realizou-se uma análise descritiva de carácter exploratório, com o objetivo de organizar e resumir os dados.

Para o processamento e a análise dos dados foi empregado o *software* Excel para Windows®, orientado e supervisionado pelo Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes, Professor de Bioestatística da Faculdade de Matemática da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Por se tratar de um estudo preliminar, com resultados ainda desconhecidos na literatura e, acima de tudo, respeitando-se a as pesquisas com experimentação animal, que preconizam a mínima utilização destes, fez-se uma apresentação descritiva dos resultados, caso a caso.



***Resultados***

---

## 4 RESULTADOS

De um modo geral, as ovelhas toleraram muito bem o procedimento cirúrgico, sendo capazes de manter a dieta normalmente. Mesmo após as ativações dos aparelhos distratores, esta rotina manteve-se até o final do experimento, o que se reflete pela manutenção do peso e da saúde dos animais atestados pelos veterinários.

A análise macroscópica realizada após a constatação da morte dos animais, no momento da dissecação da mandíbula, revelou a presença de um calo ósseo na região de neoformação óssea em todas as ovelhas (Figura 24).



**Figura 24 - Calo ósseo na região de osso distraído**

### 4.1 Análise Tomográfica

Esta análise foi realizada medindo-se a distância entre os cotos ósseos, de uma margem até a outra da osteotomia, com o intuito de avaliar se houve redução pelo fato dos dispositivos distratores serem removidos prematuramente.

Para Lopes *et al.* (2007), o avanço de programas de computação gráfica melhora a interatividade da visualização, mensuração e análise para planejamento do tratamento de afecções maxilomandibulares. Mensurações diretas de pontos craniofaciais, distâncias, áreas e volumes podem ser obtidos partindo de TC, o que



proporciona uma descrição quantitativa das deformidades do esqueleto, permitindo o planejamento cirúrgico e a avaliação do crescimento craniofacial. Com base nesses recursos que a tomografia proporciona, foi possível avaliar a região óssea em que foi realizada a distração osteogênica e procedeu-se à medição do alongamento ósseo após 60 dias de pós-operatório.

As imagens tomográficas, com reconstruções 3D por MIP, com diferença de densidade óssea, evidenciaram que a ovelha 1 apresentou uma distância de 14,9mm de distração osteogênica. A medida obtida do *gap* ósseo no animal 2 foi de 13,7mm. As ovelhas 3, 4 e 5, com apenas 13 dias de maturação óssea, apresentaram contração no alongamento e o *gap* médio foi de 9,9mm, 9,9mm e 8,8mm respectivamente.

#### **4.2 Análises Físicas**

As propriedades físicas do osso mandibular, dureza e módulo de elasticidade foram avaliados na cortical externa, nos lados operado e controle (contralateral) de cada mandíbula; 34 pontos foram medidos, em cada cortical operada, e seis, em cada cortical controle.

Os resultados são apresentados, para facilitar o entendimento, com grandezas de Megapascal (MPa) para as medidas de dureza, e Gigapascal (GPa) para o módulo de elasticidade.

A ovelha 1 permaneceu com o distrator por 50 dias, LLLT aplicada durante o período de latência e ativação; apresentou, no lado operado, uma variação da dureza de 134 a 629 MPa, enquanto que o módulo de elasticidade variou de 5 a 21GPa. A dureza média foi de 360,9MPa e módulo de elasticidade médio de 11GPa.

Na ovelha 1, lado controle, a dureza variou de 530 a 768MPa e módulo de elasticidade oscilou de 17 até 19GPa. A dureza média encontrada foi de 687,3MPa e o módulo de elasticidade de 18,4GPa.

A ovelha 2, que permaneceu com o distrator por 40 dias, teve LLLT aplicada durante o período de latência e ativação; apresentou, no lado operado, uma variação da dureza de 184 a 648MPa, enquanto que o módulo de elasticidade variou de 5 a

20GPa. A dureza média foi de 347,7MPa e módulo de elasticidade média de 10,9GPa.

No lado controle, do animal 2, os valores de dureza verificados variaram entre 431 a 650MPa, enquanto o módulo de elasticidade variou entre 16 a 20GPa. A dureza média foi de 563,8MPa e o módulo de elasticidade de 18,1GPa.

A ovelha 3 permaneceu com o distrator por 33 dias, LLLT aplicada durante o período de latência e ativação; apresentou, no lado operado, uma variação da dureza de 95 a 642MPa, enquanto que o módulo de elasticidade variou de 2 a 21GPa. A dureza média encontrada foi de 308,4MPa, enquanto que o módulo de elasticidade foi de 8,7GPa.

Na ovelha 3, lado controle, a dureza variou de 496 a 842MPa e módulo de elasticidade oscilou de 16 a 22GPa. A dureza média encontrada foi de 706,8MPa e o módulo de elasticidade de 19,4GPa.

A ovelha 4 permaneceu com o distrator por 33 dias, LLLT aplicada durante o período da maturação; apresentou, no lado operado, uma variação da dureza de 145 a 861MPa, enquanto que o módulo de elasticidade variou de 3 até 25GPa. A dureza média foi de 414,4MPa e módulo de elasticidade médio foi de 12,3GPa.

Na ovelha 4, lado controle, a dureza variou de 271 a 747MPa e módulo de elasticidade oscilou de 10 a 22GPa. A dureza média encontrada foi de 603,6MPa e o módulo de elasticidade de 18,7GPa.

Na ovelha número 5, foi realizada apenas distração osteogênica, porém sem LLLT associada, permaneceu com distrator por 33 dias. Foi obtido, no lado operado, valores de dureza entre 19 a 765MPa e de módulo de elasticidade entre 2 e 22GPa. A dureza média foi de 409,3MPa e o módulo de elasticidade médio, de 12GPa.

Na ovelha 5, lado controle, as medidas de dureza oscilaram entre 397 e 726MPa e o módulo de elasticidade entre 15 e 22GPa. A dureza média encontrada foi de 610,6MPa e o módulo de elasticidade de 18,8GPa.

Para melhor visualização, são apresentadas as tabelas 2 e 3. A Tabela 2 apresenta os valores mínimos e máximos de dureza e módulo de elasticidade. A Tabela 3 apresenta as médias obtidas em cada animal, com os diferentes tipos de tratamento.

Tabela 2 - Valores mínimos e máximos encontrados para dureza e módulo de elasticidade

Ovelha	Tempo com Distrator	LLLT	Propriedades Físicas			
			Dureza (MPa)		Elasticidade (GPa)	
			Operado	Controle	Operado	Controle
1	50 dias	Latência e ativação	134-629	530-786	5-21	17-19
2	40 dias	Latência e ativação	184-648	431-650	5-20	16-20
3	33 dias	Latência e ativação	95-642	496-842	2-21	16-22
4	33 dias	Durante maturação	145-861	271-747	3-25	10-22
5	33 dias	Ausente	19-765	397-726	2-22	15-22

Tabela 3 - Médias de nanodureza e módulo de elasticidade

Ovelha	Tempo com Distrator	LLLT	Propriedades Físicas			
			Dureza (MPa)		Elasticidade (GPa)	
			Operado	Controle	Operado	Controle
1	50 dias	Latência e ativação	360,99	687,37	11,06	18,42
2	40 dias	Latência e ativação	347,79	563,87	10,92	18,10
3	33 dias	Latência e ativação	308,45	706,88	8,77	19,45
4	33 dias	Durante maturação	414,46	603,62	12,36	18,78
5	33 dias	Ausente	409,32	610,63	12,02	18,88



*Discussão*

---

## 5 DISCUSSÃO

A experimentação científica com a utilização de modelos animais não humanos constitui-se em uma etapa fundamental nas pesquisas. Para esta tese, a escolha dos ovinos, como modelo biológico, levou em consideração dar continuidade, agora com animais de médio porte, que possibilitem uma quantidade maior de material, a outros trabalhos realizados na PUCRS que utilizaram coelhos para estudo do alongamento ósseo (HUBLER *et al.*, 2010; KREISNER *ahead of print*). Além disso, outros trabalhos realizados com ovelhas demonstraram que esses animais são muito dóceis e bastante cooperativos (TAVAKOLI *et al.*, 1998; MCTAVISH *et al.*, 2000; CERQUEIRA *et al.*, 2007). Nesta pesquisa, a escolha das ovelhas pareceu ser uma decisão acertada visto que elas apresentam estrutura óssea e resistência apropriadas ao processo de distração osteogênica, tolerando facilmente o procedimento e gerando dados confiáveis. Porém, são animais que requerem uma equipe de veterinários preparados, espaço físico amplo, além de o custo ser elevado.

Como o reparo tecidual, quando da distração de fragmentos ósseos, depende da preservação de um adequado suprimento sanguíneo, procurou-se realizar os procedimentos respeitando-se os princípios fundamentais descritos por Ilizarov (1989a, 1989b, 1990). Realizou-se corticotomia com máxima preservação do periósteo e do endósteo; período de latência de cinco dias, de modo a permitir o desenvolvimento ótimo do calo reparador; ritmo de distração 1mm por dia e estabilização dos fragmentos osteotomizados.

Nesta pesquisa, optou-se usar uma técnica de distração osteogênica já bastante utilizada na literatura (Diner *et al.*, 1996; McTavish *et al.*, 2000; Mattick *et al.*, 2001; Glowacki *et al.*, 2004) com um período de latência de cinco dias, frequência de ativação de uma vez ao dia e ritmo de 1mm diário.

O ritmo de alongamento corresponde à distância que os cotos ósseos são afastados diariamente, enquanto que a frequência refere-se ao número de sessões em que o aparelho distrator é ativado até alcançar a extensão diária programada.

No presente estudo, os parâmetros técnicos utilizados de latência, ritmo e frequência possibilitaram a formação de tecido ósseo ao longo da faixa de distração, comprovados pela análise macroscópica das mandíbulas, pelas tomografias computadorizadas e pelas medidas de dureza da cortical óssea, ratificando ainda mais esse protocolo.

A extensão de 15mm foi uma escolha arbitrária e tida como suficiente para as avaliações propostas para esta investigação, visto que segundo Oda *et al.* (1998) não há limite para a quantidade de ganho tecidual.

A estabilidade dos fragmentos a serem tracionados e do distrator são importantíssimos. Quanto mais rígido é o conjunto “fragmentos ósseos/distrator”, mais eficaz é a regeneração óssea e menor é a probabilidade de se desenvolver uma pseudo-artrose (ILIZAROV, 1989a).

Após o término da distração, o período de contenção é utilizado para que o tecido regenerado adquira a resistência bioelástica necessária para resistir às forças de recidiva. Períodos com amplitude entre 2,4 a 10 semanas já foram utilizados após a DO mandibular em humanos e em modelos animais (FABER *et al.*, 2005).

A redução deste período de contenção com remoção precoce do distrator é que baseia-se fundamentalmente o aprimoramento da técnica da distração osteogênica. O tempo de contenção, que é objetivo deste estudo variou para cada animal. Nas ovelhas 1 e 2, utilizou-se tempo de consolidação já consagrados na literatura, sendo 30 dias e 20 dias, respectivamente. Nas outras três ovelhas, o tempo de consolidação foi reduzido ao máximo, de forma não encontrada na literatura para este modelo biológico, por um período de 13 dias.

O tempo de pós-operatório dos animais e a escolha de mantê-los vivos por 60 dias ocorreu pela necessidade de ter um tempo hábil para se testar a ocorrência de recidiva e principalmente porque trabalhos da literatura, como os de Friesen *et al.* (1999); Pinheiro *et al.* (2001), utilizam esse tempo de 60 dias para avaliar cicatrização óssea. Além disso, a prática clínica de cirurgiões como Consolo *et al.* (2000); Zaffe *et al.* (2002); Pastori *et al.* (2007), estabelece 60 dias após a distração osteogênica para dar sequência nos tratamentos posteriores, como instalação dos implantes, movimentação dentária e demais terapias.

A DO envolve atividades metabólicas potencialmente passíveis de biomodulação pelo uso da LLLT e sabe-se que ela pode acelerar a cicatrização do osso neoformado auxiliando a reduzir o tempo global desta terapêutica. No entanto, são escassas as informações que relacionam a utilização da LLLT ao processo de DO (KREISNER - *ahead of print*).

Diversos estudos visando à biomodulação do tecido ósseo têm utilizado a LLLT de espectro infravermelho. De forma geral, sua utilização proporciona um pós-operatório mais confortável, além de promover benefícios no que diz respeito à cicatrização (SHAKOURI *et al.* 2010).

Nesta pesquisa, foi utilizado o laser GaAlAs (arseneto de gálio e alumínio) com comprimento de onda de 830nm (infravermelho), devido à propriedade de penetração tecidual maior que o laser vermelho. Os lasers infravermelhos possuem uma maior penetração nos tecidos subcutâneos em decorrência da sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele (PINHEIRO *et al.*, 2010).

Khadra *et al.*, (2004) afirmam que estudos com o meio ativo GaAlAs, utilizado nesta pesquisa, obteve um grande incremento nos últimos anos. Esse tipo de laser possui uma alta penetração quando comparados a outros meios ativos e mostra-se como uma excelente ferramenta na clínica diária.

No que se refere à densidade de energia, Sommer *et al.* (2001) acrescentaram que a determinação das melhores densidades de energia é um parâmetro de importância primária na otimização de efeitos biológicos positivos, tanto para resultados clínicos quanto experimentais. Karu (1989) e Schindl *et al.* (2000) relataram que a maioria das reações biológicas induzidas por LLLT situa-se com densidade energia entre 1 a 50J/cm<sup>2</sup> por dia.

A importância da escolha de um nível adequado de energia tem sido enfatizada por muitos autores (Bradley, 1997; Schindl *et al.*, 2000; Al-Watban e Zhang, 2001), mas a energia recomendada para a obtenção de uma biomodulação ideal varia muito na literatura. Nesta pesquisa, a densidade de energia aplicada foi de 15J/cm<sup>2</sup>, por sessão, subdivididos em três pontos de 5J cada, e vai ao encontro das especificações contidas no manual do fabricante para cicatrização óssea e

também em outras publicações consultadas (Cerqueira *et al.* 2007; Pinheiro *et al.* 2008), com densidade energia de 16 J/cm<sup>2</sup> por sessão.

Hall *et al.* (1994) discutiram que a potência ideal, biomoduladora positiva, da LLLT deveria situar-se entre 1 e 50mW. Neste trabalho, com base na literatura analisada - Weber *et al.* (2006); Blaya *et al.* (2008); Oliveira *et al.* (2008) - a potência empregada foi de 50mW, apesar de Basford (1995) ter recomendado que a potência não ultrapassasse 10mW.

Parece ser necessária a utilização e padronização de densidades de energia que privilegiem a biomodulação, empregando-se baixas potências, mas que não sejam por demais diminutas, a ponto de não influenciar no processo de reparo tecidual. Anneroth *et al.* (1988) irradiou os ratos de seu estudo com 0,5mW de potência, não encontrando qualquer benefício perceptível com LLLT. Seus resultados negativos poderiam ser explicados pela baixa potência empregada. Al-Watban e Zhang (1995) não encontraram alterações no processo cicatricial quando a intensidade foi variada entre 3,7 a 15,9mW.

A técnica pontual de irradiação do laser sobre os tecidos está de acordo com Nicolau *et al.* (2003). Referida técnica foi eleita para ser empregada em decorrência da possibilidade de poder aproximar a ponteira do aparelho da área lesada, exercendo leve pressão sobre os tecidos, na tentativa de minimizar a reflexão e com o objetivo de provocar um aumento mais expressivo da absorção de energia depositada na área.

O protocolo de irradiações utilizado baseou-se em trabalhos anteriormente desenvolvidos na PUCRS, nos quais a LLLT foi aplicada, nas amostras experimentais, a cada 48 horas, totalizando oito irradiações. Tal protocolo foi semelhante ao utilizado por Mendez *et al.* (2004); Weber *et al.* (2006); Rodrigo *et al.* (2009).

Desde que Mester *et al.* (1971) publicaram o estudo pioneiro sobre a biomodulação tecidual com LLLT, surgiram inúmeros trabalhos na literatura em que os efeitos biológicos da LLLT, frente ao processo inflamatório e ao reparo ósseo, têm sido extensivamente investigadas. A revista de literatura realizada por Tunér e



Christensen ([2002]), demonstrou que, na Odontologia, cerca de 90% dos artigos referidos reportam efeitos positivos, tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

Neste estudo, a análise das imagens tomográficas, possibilitou conhecer o grau de encurtamento ósseo, devido à abreviação no tempo de consolidação. As tomografias computadorizadas proporcionam informações detalhadas sobre a qualidade e a quantidade de osso nas áreas distraídas. As mensurações em TC proporcionam uma avaliação real das mudanças no crescimento e no desenvolvimento, uma vez que representam uma anatomia fidedigna (CAVALCANTI *et al.*, 2004).

A ovelha 1 permaneceu 30 dias com distrator inativo, durante a fase de maturação/consolidação óssea. No exame tomográfico, observou-se um *gap* ósseo de 14,9mm. Entende-se que a contração foi de 0,1mm da área distraída, considerada irrelevante.

A ovelha 2, 20 dias de período de maturação óssea, apresentou uma pequena instabilidade dimensional, visto que a TC mostrou um *gap* de 13,7mm. Essa contração de 1,3mm do osso distraído também pode ser considerada um viés da técnica de distração, já que as ativações foram realizadas manualmente.

Por sua vez, os animais 3, 4 e 5, nos quais se reduziu ao máximo o período de maturação óssea e removeu-se o distrator precocemente, com apenas treze dias de maturação, houve uma contração óssea de 5 a 6mm. Todos os três animais, com tempo de maturação de 13 dias, tanto laser latência/ativação, laser maturação, quanto sem laser, apresentaram recidiva do crescimento ósseo. Estes achados confirmam dados da literatura, Tavakoli *et al.* (1998); Boccaccio *et al.* (2007), na qual recomendam um período mínimo de maturação de três semanas até sete semanas.

Na aplicação clínico-cirúrgica em humanos, a retirada precoce do distrator pode ser importante, se houver qualidade óssea e estabilidade dimensional. Com base nos dados tomográficos da presente pesquisa em modelo animal não humano ovelha, tem-se como hipótese que o período de contenção, próximo de duas semanas é insuficiente. Já, de três a quatro semanas, é satisfatório para a consolidação óssea inicial, sem maiores riscos de recidivas, em casos de distração osteogênica unidirecional, tornando desnecessário prolongar esta fase da distração.

É importante ressaltar que o tempo máximo de consolidação dependerá do tipo de distração realizada, do volume ósseo, da área a ser alongada.

Outras propriedades importantes do tecido ósseo, que se podem verificar para determinar o grau de maturação óssea são dureza e módulo de elasticidade. Segundo Ni *et al.* (2006), testes de nanodureza indicam a resistência de um material à penetração e à deformação plástica. Testes de nanodureza revelam as propriedades físicas como: dureza, módulo de elasticidade aparente, deformidades e diferenças residuais nas áreas analisadas. Sabe-se que alguns fatores influenciam na dureza: tipo de ligação, defeitos, impurezas, temperatura, estrutura cristalina, tamanho e composição das estruturas.

A LLLT, segundo a literatura, Weber *et al.* (2006); Blaya *et al.* (2008), promove rapidez e melhora na qualidade da cicatrização óssea, o que resultaria em um osso com dureza e módulo de elasticidade o mais próximo possível do osso normal. No entanto, não existe consenso quanto ao protocolo de LLLT, no que diz respeito ao tipo de laser, densidade energia, momento da irradiação e tempo do tratamento. Nesse sentido, pode-se observar que, nesta pesquisa, a LLLT, com comprimento de onda infravermelho, 50mw de potência, irradiação cutânea, três pontos de 5J/cm<sup>2</sup> por sessão, foi benéfica apenas quando a irradiação dava-se no período de maturação óssea. Quando este tratamento foi aplicado no período de latência e ativação do distrator, houve uma diminuição da dureza e módulo de elasticidade, mostrando um retardo na mineralização óssea.

Em números, a LLLT aplicada durante a fase de maturação óssea, no animal 4, conforme apresentada na Tabela 2, promoveu uma dureza de 414,4MPa e módulo de elasticidade de 12,3GPa. Estes dados vão ao encontro aos achados por Cerqueira *et al.* (2007) que obtiveram resultados positivos na reparação e na neoformação óssea, em mandíbulas tratadas com DO e LLLT na fase de maturação do osso.

A ovelha 5, controle, sem laser, apresentou dureza de 409,3MPa e módulo de elasticidade 12Gpa. Essas propriedades físicas do osso foram maiores que todos os animais tratados com LLLT no período de ativação, mesmo tendo o período de maturação óssea menor que as ovelhas 1 e 2.

O menor módulo de elasticidade (8,77GPa) e dureza (308,4MPa) medidos, foram na ovelha 3, distrator 33 dias e LLLT nas fases de latência e ativação. Essas evidências levantam a hipótese que o tratamento com LLLT, durante a fase de latência/ativação, nos protocolos utilizados nesta pesquisa, pode promover um atraso na consolidação óssea. Essa hipótese pode ser explicada pela marcada presença de áreas de tecido cartilaginoso e de ossificação endocondral, encontradas nos espécimes irradiados com LLLT no período de ativação relatados no trabalho de Cerqueira *et al.* (2007). Mas, diferentemente do que afirmam Miloro *et al.* (2007), que sugerem que a LLLT (820nm, GaAIs, 400mW) com irradiação de seis pontos de densidade de energia de 6J/cm<sup>2</sup>, na fase de ativação acelera o período de consolidação.

Todos os animais apresentaram dureza e módulo de elasticidade menor no lado operado quando comparados a seus respectivos controles. Levando-se como padrão ouro que a dureza e módulo de elasticidade ideais, são aqueles do osso normal, que não sofreu o procedimento, pode-se afirmar que existe a necessidade da consolidação óssea por mais de 60 dias para que o osso atinja uma maturidade semelhante ao osso normal.

Na literatura consultada, de acordo com os padrões histológicos obtidos, a distração osteogênica apresenta-se com áreas da maior mineralização nas laterais e uma zona central de osteogênese formada por tecido conjuntivo denso em atividade. Alguns especialistas ainda observaram três zonas distintas: uma de osso original, outra de neoformação óssea e uma terceira região central mais fibrosa (ZIMMERMANN, 2005).

Os Apêndices B apresentam todas as medidas obtidas ao longo de cada bloco ósseo, para o lado distraído e lado controle de cada animal.

De acordo com as 34 aferições do lado operado, pode-se perceber uma leve tendência das zonas laterais (medidas das extremidades) apresentarem maior dureza. Tais dados vão ao encontro dos padrões histológicos obtidos por Komuro *et al.* (1994), com áreas da maior mineralização nas laterais e uma zona central de osteogênese formada por tecido conjuntivo denso em atividade. Nas demais zonas, as medidas de dureza e módulo de elasticidade apresentavam-se bastante variáveis ao longo da cortical, não tendo uma área central menos dura ou menos

mineralizada. A dureza e o módulo de elasticidade são grandezas com comportamento proporcionais entre elas, ou seja, quanto mais rígido um material, maior é o seu módulo de elasticidade. Entende-se que, em distração osteogênica, o módulo de elasticidade deva ser o mais próximo possível até atingir o módulo de elasticidade do osso maduro normal. É desejável que o osso neoformado pela DO tenha um módulo de elasticidade próximo ao do osso maduro adjacente, para que todo o osso tenha a mesma capacidade de absorver impacto e distribuir as tensões sem risco de fratura em um ponto específico.

É importante enfatizar que a LLLT na fase de maturação do tecido ósseo pode ajudar no processo de remoção precoce do distrator, o que já foi constatado em pesquisa anterior da equipe (Cerqueira *et al.* 2007), visto que a ovelha tratada com LLLT, neste período, apresentou dureza e módulo de elasticidade maior que os demais animais. Porém, quando o distrator foi removido com 13 dias, houve uma instabilidade dimensional que geram uma contração do crescimento ósseo, causando recidiva. Zheng *et al.* (2008) estimam que somente na quarta semana de consolidação, haja união óssea completa e corticalização parcial no osso neoformado por DO.

A nanoindentação é um teste capaz de captar as alterações do metabolismo ósseo e, portanto, uma ferramenta adicional na avaliação da qualidade do osso em procedimentos de distração osteogênica. Neste sentido, sugere-se que novas pesquisas devam ser realizadas, com um maior número de animais e com diferentes protocolos de LLLT, visto que os testes físicos de nanodureza são instrumentos de alta precisão para se conhecer a qualidade do osso neoformado e as tomografias computadorizadas permitem aferir, após o período de maturação, a estabilidade dimensional obtida.



## *Conclusões*

---

## 6 CONCLUSÕES

O modelo experimental animal não humano ovelha escolhido, a sequência cirúrgica e os procedimentos laboratoriais adotados demonstraram êxito na obtenção das propriedades físicas do osso maduro e neoformado após distração osteogênica e LLLT, validando os testes de aferição aplicados para análise desta terapêutica. A nanoindentação é um teste capaz de captar as mínimas alterações do metabolismo ósseo e, portanto, uma importante ferramenta na aferição da qualidade do osso em procedimentos de distração osteogênica. A LLLT com comprimento de onda infravermelho (GaAIs, 830nm), 50mW de potência, irradiação cutânea com três pontos de densidade de energia de 5J/cm<sup>2</sup> por sessão, totalizando 120J/cm<sup>2</sup> ao final do tratamento, é benéfica quando aplicada no período de maturação do osso, pois promove aumento da dureza e do módulo de elasticidade. Com base nas análises tomográficas, observou-se que o período de consolidação óssea deve ser de, no mínimo, três semanas, para prevenir contração do tecido ósseo alongado.



## *Referências*

---

## REFERÊNCIAS<sup>6</sup>

- AL-WATBAN, F. A. H.; ZHANG, X. Y. Stimulative and inhibitory effects of low argon wound healing. **J Laser Therapy**, New York, v.7, n.3, p.11-18, Jan. 1995.
- AL-WATBAN, F. A. H.; ZHANG, X. Y. The Aceleration of Wound Healing is not Attributed to Laser Skin Transmition. **J Laser Therapy**, New York, v.11, n.3, p.6-11, Mar. 2001.
- ANDIA, D.C.; CERRI, P.S.; SPOLIDORIO, L.C. Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofsiológicos. **Rev de Odontologia da UNESP**, v. 35, n.2, p.191-198, 2006.
- ANGELETTI, P. *et al.* Effect of low level laser therapy (GaAlAs) on bone regeneration in midpalatal anterior suture after surgically assisted rapid maxillary expansion. **Oral Surg Oral Med Oral Phathol Radiol Endod**, v. 109, p. e38-e46, 2010.
- ANNEROOTH, G.; HALL, G.; RYDEN, H. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. **Br J Oral and Maxillofac Surg**, v.26, n.1, p.12-17, Feb. 1988.
- ARONSON, J. *et al.* Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. **Clin Orthop Relat Res**, v.250, p.43-49, Jan. 1990.
- BASFORD, J. R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers in in Surg Med**, New York, v.16, n.4, p.331-342, 1995.
- BLANDO, E. **Estudo de técnicas de indentação para avaliação de materiais na região de nano e microdureza**. 2001. 172 f. [Dissertação]. Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), 2001.
- BLANDO, E. **Estudo, desenvolvimento e caracterização de revestimentos do tipo super-rede de dureza**. 2005. 134 f. [Tese Doutorado]. Faculdade de Engenharia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (RS), 2005.
- BLAYA, D.S. *et al.* Histologic study of the effect of laser therapy on bone repair. **J of Contemporary Dental Practice**, v.9, n.6, p.1-8, Sept. 2008.
- BLOCK, M.S. *et al.* Bone response to functioning implants in dog mandibular alveolar ridges augmented with distraction osteogenesis. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.13, n.3, p.342-351, 1998.
- BLOCK, M.S.; BAUGHMAN, D.G. Reconstruction of severe anterior maxillary defects using distraction osteogenesis, bone grafts, and implants. **J of Oral and Maxillof Surg**, Philadelphia, v.63, p.291-297, 2005.
- BOCCACCIO, A. PAPPALLETTERE, C. KELLY, D.J. The influence of expansion rates on mandibular distraction osteogenesis: a computational analysis. **Ann Biomed Eng**, v.35, n.11, p.1940-1960, Nov. 2007.

---

<sup>6</sup> Referências conforme ABNT - NBR 6023 de agosto de 2002.



- BONTRAGER, K.L. **Tratado de técnica radiológica e base anatômica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003. 814p.
- BRADLEY, P.F. A Review of the use of the Neodymium YAG laser in Oral and Maxillofacial Surgery. **Br J Oral Maxillofac Surg**, Edinburgh, v.35, n.1, p.26-35, Feb. 1997.
- CALLISTER, W.D. **Materials science and engineering: an introduction**. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. 852p.
- CARNEIRO, J.; JUNQUEIRA, L.C.U. **Histologia Básica – Texto e Atlas**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, 524p.
- CATÃO, M.H.V. Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia. **Rev Brasileira de Patologia Oral**, v.3, n.4, p.214-218, 2004.
- CAVALCANTI, M.G.P.; ROCHA, S.S.; VANNIER, M.W. Craniofacial measurements based on 3D-CT volume rendering. Implications for clinical applications. **Dentomaxillofac Radiol**, London, v.33, p.170-176, Mar. 2004.
- CERQUEIRA, A. *et al.* Bone tissue microscopic findings related to the use of diode laser (830nm) in ovine mandible submitted to distraction osteogenesis. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.22, n.2, p.92-97, 2007.
- CHANG, N.K. *et al.* Size effect of indenter on determining modulus of nanowires using nanoindentation technique. **Thin Solid Films**. v.517, p.3695–3697, 2009.
- CHICOT, D. Elastic properties determination from indentation tests. **Surface and Coatings Technology**. v.81, p.269-274, 2006.
- CONSOLO U. *et al.* Clinical evaluations, radiological and histologic analysis of mandibular alveolar distraction procedures. A preliminary report. **Minerva Stomatologica**, v.49, n.10, p.475-484, Oct. 2000.
- COTRAN, R.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins: **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1251p.
- COWIN, S.C. **Bone mechanics handbook**. 2 ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2001, 980p.
- DAVID, R. *et al.* Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. **Laser in Surg and Med**, v.19, n.4, p. 458-464, 1996.
- DINER, P.A. *et al.* Intraoral distraction for mandibular lengthening: a technical innovation. **J of Cranio-Maxillof Surg**, Edinburgh, v.24, n.2, p.92-95, Apr. 1996.

DINER, P.A. *et al.* Submerged intraoral device for mandibular lengthening. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, Edinburgh, v.25, p.116-123, 1997.

DOUGLAS, L.R.; DOUGLAS, J. B.; SMITH, P. J. Intraoral mandibular distraction osteogenesis in a patient with severe micrognathia secondary to TMJ ankylosis using a tooth and bone-anchored device (PIT Device): a case report. **J of Oral Maxillof Surg, Philadelphia**, v.58, n.12, p.1429-1433, 2000.

ENISLIDIS G. *et al.* Analysis of complications following alveolar distraction osteogenesis and implant placement in the partially edentulous mandible. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.100, p.25-30, 2005.

FABER, J.; AZEVEDO, R.B.; BÃO, S.N. Aplicações da distração osteogênica na região dentofacial: o estado da arte. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v.10, n.4, p.25-33, jul/ago. 2005.

FARHADIEH *et al.* Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties of an ovine mandible model. **Plastic and Reconstructive Surg**, Baltimore, v.105, n.3, p.889-895, Mar. 2000.

FISHER, E. *et al.* Histopathologic and biochemical changes in the muscles affected by distraction osteogenesis of the mandible. **Plastic and Reconstructive Surg**, Baltimore, v.99, n.2, p.366-371, 1997.

FELDKAMP, L.A. *et al.* The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. **J Bone Miner Res**, v.4, p.3-11, 1989.

FREDDO, A.L. *et al.* A method to obtain data on the elastic properties of tissue newly formed by osteogenic distraction for finite element analysis: preliminary report. **Rev Clín Pesq Odontol.** set./dez; v.5, n.3, p.303-308, 2009.

FRIESEN, L.R. *et al.* Laser irradiation of bone: II. Healing response following treatment by CO<sub>2</sub> and Nd:YAG lasers. **Journal of Periodontology**, Chicago, v.70, n.1, p.75-83, Jan. 1999.

FONNOF, N.R. **Reparação tecidual da mucosa bucal de ratos submetidos à frenectomia labial com luz laser CO<sub>2</sub> seguida ou não da aplicação de luz laser de As/Ga/Al: estudo aos microscópios de luz e eletrônico de varredura.** São Paulo; illus. (BR). 2002, 142p.

GAGGL, A. *et al.* Distraction implants – a new possibility for augmentative treatment of the edentulous atrophic mandible: case report. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v.37, n.6, p.481-485, 1999.

GARCIA, G.V. *et al.*, Processo de reparo em feridas de extração dental tratadas com laser em baixa intensidade (904nm), com diferentes energias de irradiação: estudo histológico em ratos. **Rev. Fac. Odont. Lins, SP**, v.14, n.2, p.27-35, jul/dez 2001.

GLOWACKI, J. *et al.* Distraction Osteogenesis of the Porcine Mandible: Histomorphometric Evaluation of Bone. **Plast Reconstr Surg**, v.113, n.2, p.566-573, Feb 2004.

HAGIWARA, T.; BELL, W. H. Effect of electrical stimulation on mandibular distraction osteogenesis. **Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surg**, Edinburg, v.28, n.1, p.12-19, Feb. 2000.

HALL, G. *et al.* Effect of low level energy laser irradiation on wound healing: an experimental study in rats. **Swedish Dental Journal**, Stockholm, v.18, n.1-2, p.29-34, 1994.

HAMDY, R.C. Effects of Osteogenic Protein-1 on Distraction Osteogenesis in Rabbits. **Bone**, v.33, p. 248-255, 2003.

HANGARTNER, T.N.; GILSANZ, V. Evaluation of cortical bone by computed tomography. **J Bone Miner Res**, v.11, p.1518 -1525, 1996.

HÜBLER, R. *et al.* Effects of low-level laser therapy on bone formed after distraction osteogenesis. **Lasers Med Sci**, v.25, p.213-219, 2010.

ILIZAROV, G.A. The tension stress effect on the genesis and growth of tissues. **Clin Orthop Relat Res**, v.238, p.249-281, 1989a.

ILIZAROV, G.A. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part 2. The influence on rate and frequency of distraction. **Clin Orthop Relat Res**. v.239, p.263-285, 1989b.

ILIZAROV, G.A. Clinical application of the tension-stress effect for limb lengthening. **Clin Orthop Relat Res**. v. 250, p.8-26, 1990.

ISO/FDIS 14577 -1. INTERNATIONAL STANDARD. **Metallic materials — Instrumented indentation test for hardness and materials parameters** - Part 1. 2002.

KARU, T.I. Photobiology of low-power laser effects. **Health Phys**, New York, v.56, n.5, p.691-701, May 1989.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V.E.C. **Histologia e embriologia oral: Texto - Atlas - Correlações Clínicas**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 372p.

KHADRA, M. *et al.*, Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. **Oral Surg., Oral Med., Oral Path., Oral Rad. Endod**, Saint Louis, v. 97, p. 693-700, 2004.

KOMURO, Y. *et al.* The histologic analysis of distraction osteogenesis of the mandible in rabbits. **Plastic and Reconstructive Surg**, Baltimore, v.94, p.152-159, 1994.

KREISNER, P.E. *et al.* Histological evaluation of the effect of low-level laser on distraction osteogenesis in rabbit mandibles. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal** - Ahead of Print.

KUCERA, P. Microhardness and mineralization of the primary bone. **Folia Morphol**. v. 13, n.4, p.362-37, 1965.

LEONG, P.L; MORGAN, E.F. Measurement of fracture callus material properties via nanoindentation. **Acta Biomater**, v.4, n5, p.1569-1575, 2008.

LIM, Y.Y.; CHAUDHRI, M.M. The effect of the indenter load on the nanohardness of ductile metals: an experimental study on polycrystalline work-hardened and annealed oxygen-free copper. **Philosophical Magazine**, v.79, n.12, p.2979-3000, 1999.

LINDH, C. *et al.* A quantitative computed tomography of trabecular bone in the mandible. **Dentomaxillofacial Radiology**, 1996 (in press).

LOPES, C.B. **Cicatrização óssea periimplantar após laserterapia em 830nm – microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia Raman no infravermelho próximo**. 2002. 86 f. Dissertação (Mestrado). Engenharia Biomédica, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos 2002.

LOPES, P.L. *et al.* Aplicação de medidas cefalométricas em 3D-TC R. **Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v.12, n.4, p. 99-106, jul/ago 2007.

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

MARQUEZ, I. M.; FISH, L. C.; STELLA, J. P. Two-years follow-up of distraction osteogenesis: its effect on mandibular ramus height in hemifacial microsomia. **American J of Orthodontics and Dentofacial Orthopaedics**, Saint Louis, v.117, n.2, p. 130-139, Feb. 2000.

MATTICK, C.R. Osteogenic distraction within the craniofacial complex. **Dental update**, v.27, n.9, p. 426-431, Nov. 2000.

MATTICK, C.R.; CHADWICK, S.M.; MORTON, M.E. Mandibular Advancement Using an Intra-Oral Osteogenic Distraction Technique: a report of three clinical cases. **Journal of Orthodontics**. v.28, n.2, p.105-114, 2001.

McCARTHY, J.G. *et al.* Lengthening the human mandible by gradual distraction. **Plastic and Reconstructive Surg**, Baltimore, v.89, n.1, p.1-10, Jan. 1992.

McTAVISH, J. *et al.* Does the sheep mandible relapse following lengthening by distraction osteogenesis? **J of Cranio-Maxillo-Facial Surg**, Edinburg, v.28, n.5, p.251-257, Oct. 2000.

MENDEZ, M.T. *et al.* Dose and wavelength of laser light have influence on the repair of cutaneous wounds. **J Clin Laser Med Surg**, v.22, n.1, p.19-25, 2004.

MESTER, E. *et al.* Effect of laser rays on wound healing. **American J of Surg**, v.122, p.532-535, 1971.

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

MEHRA,P.; FIGUEROA, R. Vector control in alveolar distraction osteogenesis. **J. of Oral and Maxillof Surg**, v.4, p.776-779, 2008.

MEYERS, A.D. Lasers and Wound Healing. **Arch Otolaryngal Head Neck Surg**, New York, v.116, n.10, p.1128-1134, Oct. 1990.

MEYER, U. *et al.* Tissue differentiation and cytokine synthesis during strain-related bone formation in distraction osteogenesis. **British J of Oral and Maxillof Surg**, Edinburg, v.39, n.1, p.22-29, Feb. 2001.

MILORO, M.; MILLER, J.J.; STONER, J.A. Low-Level laser effect on mandibular distraction osteogenesis. **J Oral Maxillofac Surg**.v.65, n.2, p.168-176, Feb. 2007.

MOFID, M.M. *et al.* Craniofacial distraction osteogenesis: a review of 3276 cases. **Plastic and Reconstructive Surg**, Baltimore, v.108, n.5, p.1103-1117, 2001.

MOLINA, F.; MONASTERIO, F.O. Mandibular elongation and remodeling by distraction: a farewell to major osteotomies. **Plast Reconstr Surg**. v.96, n.4, p.825-840, 1995.

NACAO, M. Distração osteogênica – Revisão de literatura. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**. v.7, p.105-114, maio/jun. 2002.

NI *et al.* Nano-mechanics of bone and bioactive bone cement interfaces in a load-bearing model. **Biomaterials**, v.27,p.1963-1970, 2006.

NICOLAU, R.A. *et al.* Effect of low-power GaAlAs laser (660nm) on bone structure and cell activity: an experimental animal study. **Laser in Medical Science**, London, v.18, n.2, p.89-94, May. 2003.

NOSAKA, Y. *et al.* Placement of implants in distraction osteogenesis: a pilot study in dogs. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.15, n.2, p.185-192, 2000.

ODA, T. *et al.* Segmental mandibular reconstruction by distraction osteogenesis under skin flaps. **International J of Oral and Maxillof Surg**, Copenhagen, v.27, p.9-13, 1998.

OLIVEIRA, D.A.A.P. *et al.* Evaluation of Low-Level-Laser-Therapy of Osteoblastic Cells. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.26, n.4, p. 401-404, Aug. 2008.

PASTORI, C.M. *et al.* Alveolar distraction osteogenesis a clinical surgical case report. **Rev Acad Tiradentes de Odontol**. v.7, p.534-562, 2007. [http://www.actiradentes.com.br/revista/2007/textos/27RevistaATO-Distracao\\_osteogenica-2007.pdf](http://www.actiradentes.com.br/revista/2007/textos/27RevistaATO-Distracao_osteogenica-2007.pdf)

PETZOLD, R.; ZEILHOFER, H.F.; KALENDER, W.A. Rapid prototyping in medicine – basics and applications. **Computerized Medical Imaging and Graphics**, v.23, n. 5, p. 277-284, 1999.

PINHEIRO, A.L.B. *et al.* Biomodulatory effects of LLLT on bone regeneration. **Laser Therapy**, Sapporo, v.13, p.73-79, 2001.

PINHEIRO, A.L.B.; GERBI, M.E. Photo engineering of bone repair processes. **Photomedicine and Laser Surg**, v.21, n.2, p.169-178, 2006.

PINHEIRO, A.L.B. *et al.* Infrared Laser Light Further Improves Bone Healing When Associated with Bone Morphogenetic Proteins and Guided Bone Regeneration: An in

Vivo Study in a Rodent Model. **Photomedicine and Laser Surgery**. v.26, n.2, p.167-174, April. 2008.

PINHEIRO, A.L.B.; BRUGNERA JÚNIOR, A.; ZANIN, F.A.A. **Aplicação do laser na odontologia**. São Paulo: Santos, 2010, 436p.

PRETEL, H.; LAZARELLI, R.F.; RAMALHO, L.T. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. **Lasers Surg Med**. v.39, n.10, p.788-796, Dec. 2007.

RAINER, A.G.H.; CHIARI, F. M. Horizontal distraction of the anterior maxilla in combination with bilateral sinuslift operation – preliminary report. **International J of Oral and Maxillof Surg**, Copenhagen, v.34, p.37-44, 2005.

REICHEL, H. *et al*. Biomechanical and densitometric bone properties after callus distraction in sheep. **Clinical Orthopedics and Related Research**. n.357, p.237-246, Dec. 1998.

RODRIGO, S.M. *et al*. Analysis of the Systemic Effect of Red and Infrared Laser Therapy on Wound Repair. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, p. 929-935, 2009.

RÜEGSEGGER, P. *et al*. Quantification of bone mineralization using computed tomography. **Radiology**. v.121, n.1, p.93 – 97, 1976.

SAMCHUKOV, M. L.; CHERKASHIN, A. M.; COPE, J. B. Distraction osteogenesis: history and biologic basis of new bone formation In: LYNCH, S. E.; GENCO, R. J.; MARX, R. E. (Org.). **Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics**, Illinois: Quintessence, 1 ed., 1999, 131-146p.

SCHINDL, A. *et al*. Low-intensity laser therapy: a review. **J Investig Med**, v.48, n.5, p.312-326, 2000.

SEONG, W.J. *et al*. Correlations between physical properties of jawbone and dental implant initial stability. **J Prosthet Dent**, v.101, n. 5, p.306-318, May 2009.

SHAKOURI, S.K. *et al*. Effect of low-level laser therapy on the fracture healing process. **Lasers Med Sci**, v.25, p.73-77, 2010.

SHIMAZAKI, A. *et al*. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits. **J of Bone and Joint Surg (Br)**, v.82, p.1077-1082, 2000.

SNYDER C.C. *et al*. Mandibular lengthening by gradual distraction: preliminary report. **Plast Reconstr Surg**, v.51, n.5, p.506-508, May. 1973.

SOMMER, A. P. *et al*. Biostimulation window in low-intensity laser activation: Lasers, Scanners, and NASA's light-emitting diode array system. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v.19, n.1, p.29-33, Jan. 2001.

STEWART, K.J. *et al.* A quantitative analysis of the effect of insulin-like growth factor-1 infusion during mandibular distraction osteogenesis in rabbits. **British J of Plastic Surg**, v.52, n.5, p.343-350, July. 1999.

SWENNEN, G.R.J. *et al.* Assessment of the distraction regenerate using three-dimensional quantitative computer tomography. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.34, n.1, p.64-73, Jan. 2005.

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

TAVAKOLI, K. *et al.* The role of latency in mandibular osteodistraction. **J of Cranio-Maxillo-Facial Surg**, Edinburg, v.26, p.209-219, 1998.

TIPHLOVA, O.A.; KARU, T.I. Action of low-intensity laser light on transient metabolic processes in cell. **Proc. USSR acad. Sci. (Biophysics)**, v.2955, p.1002-1005, 1987.

TOTH, B.A. *et al.* Distraction osteogenesis and its application to the midface and bony orbit in craniosynostosis syndromes. **J Craniofac Surg**, v.9, n.2, p.100-113, 1998.

TURNER, C.H. *et al.* The elastic properties of trabecular and cortical bone tissues are similar: results from two microscopic measurement techniques. **J Biomech**, v.32, n.4, p.437-441, Apr. 1999.

TUNÉR, J.; CHRISTENSEN, P.H. Low level lasers in dentistry. [2002]. Disponível em: <http://www.laser-therapy.us/cold%20laser%20low%20level%20laser/Dental%5B1%5D.pdf>. Acesso em: 27 abril 2010.

URBANI, G. *et al.* Distraction osteogenesis to achieve mandibular vertical bone regeneration: a case report. **Int J Period Restor Dent**, v.19, p.321-332, 1999.

WANG X.J. *et al.* Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bovine bone measured by nanoindentation. **Trans Nonferrous Met Soc China**, v.16, p.744-748, 2006.

WATZEK, G. *et al.* A distraction abutment system for 3-dimensional distraction osteogenesis of the alveolar process: technical note. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.15, n.5, p.731-737, 2000.

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

WEIL,T.S.; VAN SICKELS, J.E.; PAYNE, J. Distraction osteogenesis for correction of transverse mandibular deficiency: a preliminary report. **Journal of Oral and Maxillofac Surg**, Philadelphia, v.55, p.953-960, 1997.

ZIMMERMANN, C.E. *et al.* Histology of the porcine mandibular distraction wound. **Int J Oral Maxillofac Surg**. v.34, n.4, p.411-419, Jun. 2005.

ZAFFE, D. *et al.* Morphofunctional and clinical study on mandibular alveolar distraction osteogenesis. **Clin oral Impl Res**, v.13, n.5, p.550–557, Oct. 2002.

ZHENG, L.W.; MA, L.; CHEUNG, L.K. Changes in blood perfusion and bone healing induced by nicotine during distraction osteogenesis. **Bone**, v.43, n.2, p.355-361, 2008.

ZYSSET, P.K. *et al.* Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur. **J Biomech**, v.32, n.10, p.1005-1012, Oct. 1999.



## APÊNDICE A

APÊNDICE A – Publicação da Equipe: **Rev. Clín. Pesq. Odontol.**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 303-308, set./dez. 2009.

ISSN 1807-5274  
Rev. Clín. Pesq. Odontol., Curitiba, v. 5, n. 3, p. 303-308, set./dez. 2009  
Licenciado sob uma Licença Creative Commons



### MÉTODO DE OBTENÇÃO DE DADOS DAS PROPRIEDADES ELÁSTICAS DO TECIDO NEOFORMADO POR DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA PARA ANÁLISE POR ELEMENTOS FINITOS: nota prévia

*A method to obtain data on the elastic properties of tissue newly formed by osteogenic distraction for finite element analysis: preliminary report*

Angelo Luiz Freddo<sup>[a]</sup>, André Marin Vargas<sup>[b]</sup>, Patrícia W. Fregapani<sup>[c]</sup>,  
Vinícius Salim Silveira<sup>[d]</sup>, Victor Velho de Castro<sup>[d]</sup>, Eliete Biasotto Hauser<sup>[e]</sup>  
Roberto Hübler<sup>[f]</sup>, Marília Gerhardt de Oliveira<sup>[g]</sup>

<sup>[a]</sup>Pesquisador Bolsista CNPq, Programa de Doutorado da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[b]</sup>Físico; Técnico do GEPSI-LMN, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (TECNOFUCRS), Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[c]</sup>Cirurgião-dentista; Especialista em CTBMF pela Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[d]</sup>Físico; Técnico do GEPSI-LMN - Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (TECNOFUCRS), Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[e]</sup>Bolsista PIBIC/CNPq, aluno de graduação em Engenharia Mecânica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[f]</sup>Professora Doutora da Faculdade de Matemática da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[g]</sup>Doutor da Faculdade de Física da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Pesquisador por Produtividade CNPq, Porto Alegre, RS - Brasil.

<sup>[h]</sup>Professora Doutora da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Pesquisadora por Produtividade CNPq, Porto Alegre, RS - Brasil, e-mail. mogerhardt@yahoo.com.br

### INTRODUÇÃO

A distração osteogênica (DO) é uma alternativa promissora e já bem sedimentada nas reconstruções ósseas faciais, podendo ser empregada nos casos de deformidades congênitas, traumas, após cirurgias oncológicas e nas reabilitações

bucomaxilofaciais com implantes osseointegrados. A DO utiliza aparelhos distratores implantados, externamente ou justa-ósseos, com a finalidade de permitir crescimento ósseo em local deformado, estimulando os mecanismos reparadores do próprio organismo para reconstrução de tecidos moles e duros (1, 2). A estabilidade a longo prazo dos resultados obtidos pela DO ainda não está bem

documentada, existindo relatos de instabilidade e recidivas. Diante disso, objetiva-se acelerar o processo de maturação óssea e melhorar as propriedades físicas do sítio ósseo alongado (3, 4).

A utilização da LLLT (*Low Level Laser Therapy*) tem usado amplas faixas do espectro de luz visível e infravermelha para melhorar o processo de cicatrização, pelas suas qualidades de estímulo à vascularização, à proliferação de fibroblastos e à deposição de colágeno (5). Estuda-se a utilização do *laser* na biomodulação do processo inflamatório e do reparo ósseo, por suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas na suposição de que proporciona maior rapidez na cicatrização óssea, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual ao paciente submetido à cirurgia (6, 7).

A análise pelo método dos elementos finitos foi inicialmente desenvolvida nos anos 60 do século XX para resolver problemas estruturais na indústria aeroespacial. Desde então, suas aplicações tem sido estendidas para resolução de problemas que envolvam tensões de força e suas respectivas interações (8, 9). Este método preconiza a divisão da estrutura a ser analisada em pequenos elementos (cujas reações de força são mais facilmente calculadas) com o objetivo de viabilizar o cálculo da reação da estrutura inteira, por meio da combinação das reações de cada elemento (10).

O objetivo desta comunicação preliminar é descrever a técnica cirúrgica e a sequência laboratorial utilizados na obtenção de dados de nanodureza e módulo de elasticidade, representando propriedades do osso e servindo como dados de entrada para avaliar, por meio da análise de elementos finitos, a neoformação tecidual após distração osteogênica e LLLT em modelo experimental animal.

## MATERIAL E MÉTODO

1. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul;
2. Amostra: cinco ovelhas fêmeas, com idade de 2 anos e peso compreendido entre 40 e 45 quilos;

3. Anestesia geral e medicação pré e pós-operatória, de acordo com protocolo veterinário da PUCRS;
4. Preparo e acesso cirúrgico na região submandibular esquerda;
5. Corticotomias com serra recíprocante, pelas faces medial e lateral da mandíbula, delimitadas a partir do ponto cefalométrico Gônio, em direção à região do triângulo retomolar, unidas pela basilar e crista alveolar, na região do ângulo mandibular.
6. Instalação do aparelho distrator, fixado por parafusos; perfurações com motor rotação; brocas com 2,0 mm de diâmetro, sob refrigeração abundante com solução salina. Após a instalação do distrator, as osteotomias são concluídas com o uso de cinzeis retos para completar a separação mandibular (Figura 1).
7. Síntese com fio de *nylon* monofilamento, 4-0, pontos isolados. Sutures removidas aos sete dias.
8. Irradiação com aparelho Thera Laser™, meio ativo GaAl (arseneto de Gálio e Alumínio), com 830 nm, devidamente calibrado. Aplicou-se irradiação inicial logo após o término da sutura e a cada 48 horas, totalizando oito aplicações. Adotou-se por rotina três pontos de aplicação de 5 J/cm<sup>2</sup>, totalizando 15 J/cm<sup>2</sup>, na potência de 35mW, em modo contínuo, tempo de 2,23 minutos (Figura 2).



FIGURA 1 - Aparelho distrator instalado



FIGURA 2 - Aplicação de laser

### Preparo dos espécimes

Seccionaram-se as peças ao meio, utilizando-se um mini-motor de corte (Proxxon™ 50HZ; 1,0 A; 40W), dividindo a mandíbula em hemiarçadas. Em seguida, osteotomizou-se no sentido vertical a região do osso neoformado e uma parte do osso antigo das demais áreas. Procedeu-se da mesma forma no lado contralateral, obtendo-se duas partes ósseas de interesse (lado operado e o lado controle). Incluíram-se os espécimes em formas quadradas pré-moldadas de PVC com resina de fibra de vidro (10.228, *fiberglass* incolor). Após tomada de presa, foram cortadas axialmente com serra-fita (St1101, Starrett™) em três blocos, que foram devidamente como lado controle ou lado operado; partes superior, medial ou inferior (Figura 3).

### Protocolo para a distração osteogênica

- a) Período de latência – cinco dias (1º ao 5º): distrator osteogênico inativo, apenas inspecionado e higienizado com Iodofor alcoólico a 1%;
- b) Período de ativação – 15 dias (6º ao 20º): primeira ativação do aparelho no 5º dia; avanço de 1 mm por dia até 15 mm de extensão, ao final do experimento;
- c) Período de maturação óssea – 30 dias (21º ao 50º): após o período de alongamento, manteve-se o aparelho distrator em “silêncio” por 30 dias, com o objetivo de consolidação óssea. Decorrido o tempo de maturação óssea, removeu-se o dispositivo sob anestesia local.

Após 60 dias do procedimento cirúrgico, os animais foram mortos por meio de anestesia profunda. As peças foram dissecadas e conservadas em glutaraldeído. Na sequência, obtiveram-se imagens das mandíbulas (tomografias computadorizadas), cortes axiais, com fatias de 0,5 mm; após, foram analisadas no laboratório de Materiais e Nanociências – Grupo de Estudos de Propriedades de Superfícies e Interfaces (GEPSE-LMN) do Centro de P&D em Física do TECNOPUC.

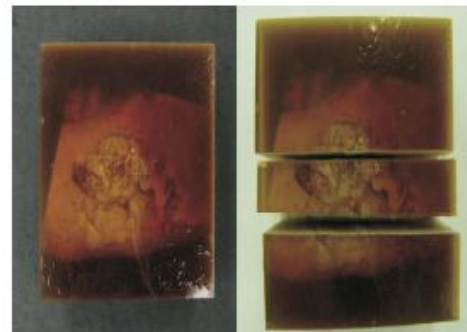


FIGURA 3 - Inclusão em resina de fibra de vidro e segmentos axiais

Para obter as superfícies perfeitamente planas e polidas exigidas no teste de nanoindentação, submetem-se os blocos ósseos a polimento sequencial de oito lixas d'água (80, 150, 320, 400, 600, 1200, 2400 e 4000); nos intervalos, submergiram-se as amostras em água altamente deionizada, em aparelho de ultrassom, durante aproximadamente cinco minutos. O polimento com as lixas 600, 1200, 2400 e 4000 foi sob uma mistura, (1:1), de propilenoglicol e álcool isopropílico. A secagem foi com gás nitrogênio. Entre cada troca de lixa, controlou-se a amostra no microscópio óptico (Olympus BX 60™), verificando a direção dos traços do polimento e a uniformidade entre eles. Ao final, poliram-se os espécimes com pasta de diamante

(DPPaste; Struers™) de  $9\ \mu\text{m}$ ,  $1\ \mu\text{m}$  e  $\frac{1}{4}\ \mu\text{m}$  e finalmente com solução de carboneto de sílica e água em poltriz metalográfica. Fotografaram-se todas as peças ósseas em microscópio óptico ( $50\times$ ). Realizou-se um mapeamento nas imagens, identificando as regiões a serem medidas com um nanodurômetro (Figura 4).



FIGURA 4 - Fotomicrografia e demarcação da área de nanoindentação

#### Avaliação elástica e morfológica do osso neoformado

As propriedades mecânicas do osso neoformado foram analisadas por medidas de nanodureza e módulo de elasticidade, utilizando-se um penetrador com geometria Berkovich e um equipamento dinamicamente controlado (HV100 – Fisherscope™) com resolução de  $2\ \text{K}\eta\text{m}$  em profundidade e  $20\ \text{N}$  em carga. Padronizou-se a aplicação da carga de  $50\ \text{mN}$ , a cada  $250\ \text{K}\eta\text{m}$ , numa linha sobre a cortical externa e interna, iniciando  $0,5\ \text{mm}$  antes e até  $0,5\ \text{mm}$  após a região neoformada, permitindo mensurar as propriedades elásticas desde o osso que sofreu a distração osteogênica até o osso maduro normal da mandíbula (Figura 5).



FIGURA 5 - Modelo para teste de nanoindentação

Os dados obtidos por ensaio de nanodureza, como dureza universal e módulo de elasticidade, forneceram propriedades do osso para a construção da malha de elementos finitos.

Para a análise por elementos finitos, a sequência técnica descrita, utilizada neste trabalho, propõe gerar modelos tridimensionais (biomodelos) a partir de imagens tomográficas, DICOM, no software Invesalius™ 2.0 (Figura 6). A seguir, exporta-se para o software Rhinocerus™ em formato compatível (.stl) e realiza-se a etapa de reconstrução de superfície com ferramentas específicas de engenharia reversa (Figura 7). Utiliza-se as ferramentas CAD/CAM/CAE do Pro/ENGINEER™ Wildfire 4.0 para análises por elementos finitos.



FIGURA 6 - Reconstrução 3D das mandíbulas de ovelhas

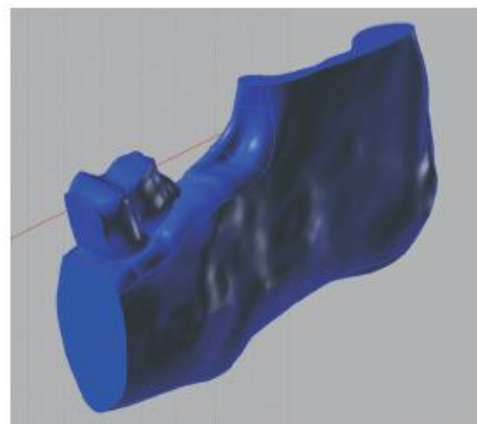


FIGURA 7 - Modelagem da mandíbula

## DISCUSSÃO

Segundo Ni et al. (11), a nanodureza indica a resistência de um material à penetração e à deformação plástica. Experimentos empregando nanodureza revelam as propriedades mecânicas como: módulo de elasticidade aparente, deformidades e diferenças residuais nas áreas analisadas. Sabe-se que alguns fatores influenciam na dureza: tipo de ligação, defeitos, impurezas, temperatura, estrutura cristalina e tamanho (12). Para Mehra e Figueroa (1), a distração osteogênica (DO) é uma técnica cirúrgica que utiliza os mecanismos reparativos do próprio corpo para reconstrução de tecidos moles e duros.

A estabilidade a longo prazo dos resultados obtidos pela DO ainda não está bem documentada, existindo relatos de instabilidade e recidivas (2). Diante disso, alguns autores buscam acelerar o processo de maturação óssea e melhorar as propriedades físicas do sítio ósseo alongado (13).

A determinação das propriedades elásticas do osso e das tensões mecânicas desenvolvidas nesta estrutura é importante, já que diversos trabalhos de investigação científica têm evidenciado falhas no processo de regeneração óssea. Em substituição a determinação de tensões mecânicas *in vivo*, tem se tornado cada vez mais frequente o emprego de métodos computacionais comumente utilizados na Engenharia, como o Método dos elementos finitos (MEF), para determinação da distribuição de tensões que ocorrem na estrutura óssea.

O método dos elementos finitos atualmente é aplicado em cálculo de distribuição de tensões, forças, deformações, principalmente em superfícies complexas. Neste sentido, a nanobiotecnologia é campo emergente da Ciência que tem o potencial para transformar a sociedade através dos novos conhecimentos; neste caso, possibilita uma MEF fidedigna, pois se testa e obtêm-se dados de entrada sem recorrer a padrões da literatura.

## AGRADECIMENTOS

Dr. Cláiton Heitz, Fernando V. Gomes e Fabrício P. Massotti.

## REFERÊNCIAS

1. Mehra P, Figueroa R. Vector control in alveolar distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66(4):776-9.
2. Mofid MM, Manson PN, Robertson BC, Tufaro AP, Elias JJ, Vander Kolk CA. Craniofacial distraction osteogenesis: a review of 3278 cases. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108(5):1103-14.
3. Douglas LR, Douglass JB, Smith PJ. Intraoral mandibular distraction osteogenesis in a patient with severe micrognathia secondary to TMJ ankylosis using a tooth and bone-anchored device (PIT device): a case report. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(12):1429-33.
4. Stewart KJ, Weyand B, van't Hof RJ, White SA, Lvoff GO, Maffulli N, et al. A quantitative analysis of the effect of insulin-like growth factor-1 infusion during mandibular distraction osteogenesis in rabbits. *Br J Plast Surg.* 1999;52(5):343-50.
5. Freddo ALF, Rodrigo SM, Massotti FP, Etges A, Gerhardt de Oliveira M. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. *Lasers in Medical Science.* 2009;24(5):721-28.
6. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on rat submandibular salivary gland. *J Oral Pathol.* 1988;17(2):91-4.
7. Hübler R, Blando E, Gaião L, Kreisner PE, Post LK, Xavier CB, et al. Effects of low-level laser therapy on bone formed after distraction osteogenesis. *Lasers in Medical Science* 2009. [cited 2009 Aug 15]. Available from URL: [http://www.springerlink.com/content/102825?Content+Status=Accepted&sort=p\\_OnlineDate&sortorder=desc&v=condensed&co=30](http://www.springerlink.com/content/102825?Content+Status=Accepted&sort=p_OnlineDate&sortorder=desc&v=condensed&co=30)
8. Geng JP, Tan KB, Liu GR. Application of finite element analysis in implant dentistry: a review of the literature. *J ProsthetDent.* 2001;85:585-98.
9. Akca K, Iplikcioglu H. Finite element stress analysis of the influence of staggered versus straight placement of dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16:722-30.

10. Akagawa Y, Sato Y, Teixeira ER, Shindoi N, Wadamoto M. A mimic osseointegrated implant model for threedimensional finite element analysis. *J Oral Rehabil.* 2003;30(1):41-5.
11. Ni GX, Choy YS, Lu WW, Ngan AH, Chiu KY, Li ZY, et al. Nano-mechanics of bone and bioactive bone cement interfaces in a load-bearing model. *Biomaterials.* 2006;(9): 1963-70.
12. LIM YY, Chaudhri MM. The effect of the indenter load on the nanohardness of ductile metals: an experimental study on polycrystalline work-hardened and annealed oxygen-free copper. *Philosophical Magazine A.* 1999;79(12):2979-3000.
13. Shimazaki A, Inui K, Azuma Y, Nishimura N, Yamano Y. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(7):1077-82.

Recebido: 30/08/2009  
*Received:* 08/30/2009

Aceito: 29/09/2009  
*Accepted:* 09/29/2009

Revisado: 26/11/2009  
*Reviewed:* 11/26/2009

**APÊNDICE B**

APÊNDICE B – Escores aferidos durante os testes de nanodureza.

<b>OVELHA 1</b>				
	<b>OPERADO</b>		<b>CONTROLE</b>	
	<b>Dureza (MPa)</b>	<b>Módulo Elasticidade (GPa)</b>	<b>Dureza (MPa)</b>	<b>Módulo Elasticidade (GPa)</b>
1	578,8	15,0	671,4	18,2
2	629,5	11,5	716,5	17,5
3	327,6	7,6	634,5	17,5
4	277,7	8,1	786,3	21,0
5	382,7	10,0	784,7	19,2
6	389,7	7,7	530,8	17,1
7	421,5	9,4		
8	302,4	6,6		
9	203,9	5,9		
10	284,2	8,4		
11	227,3	6,3		
12	238,0	8,7		
13	159,1	8,0		
14	372,8	11,2		
15	286,8	9,4		
16	200,6	8,3		
17	134,0	5,8		
18	292,5	9,5		
19	280,0	10,0		
20	301,4	10,8		
21	575,6	19,2		
22	539,6	17,6		
23	561,5	18,4		
24	581,8	19,3		
25	548,6	17,0		
26	376,8	13,0		
27	257,2	7,7		
28	360,0	10,5		
29	556,2	21,1		
30	218,6	12,0		
31	302,7	7,2		
32	296,9	8,3		
33	303,4	9,0		
34	504,3	17,6		
<b>Média</b>	<b>360,99</b>	<b>11,06</b>	<b>687,37</b>	<b>18,42</b>

## APÊNDICE B

OVELHA 2				
	OPERADO		CONTROLE	
	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)
1	637,8	17,8	431,8	16
2	654,5	20,2	457	16,8
3	314,9	10,2	650,2	20,6
4	286,2	10,6	586	17,8
5	226	9	668,70	18,90
6	260,4	8,9	589,5	18,5
7	477,4	14		
8	290,4	10,7		
9	316,3	10,1		
10	334,6	11,3		
11	218,1	7,3		
12	361,3	11,8		
13	184	6,7		
14	467,7	13,4		
15	324,5	9,9		
16	236	8,1		
17	357,5	12,3		
18	315,6	10,6		
19	277,8	8,3		
20	507,7	13,6		
21	335	10,1		
22	485,8	13,2		
23	253,4	7,8		
24	412	10,2		
25	283,1	5,7		
26	294	10		
27	282,3	9,4		
28	202,3	6,3		
29	374,3	10,3		
30	242,9	9,5		
31	267,9	9,9		
32	351	12,6		
33	343,3	12,8		
34	648,7	18,8		
<b>Média</b>	<b>347,79</b>	<b>10,92</b>	<b>563,87</b>	<b>18,1</b>



## APÊNDICE B

OVELHA 3				
	OPERADO		CONTROLE	
	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)
1	373,6	8,8	616,7	16,8
2	519,7	11,2	496,4	18,1
3	423,4	9,2	818,4	22,9
4	285,5	5,8	654,3	16,9
5	337,2	8,5	842,1	22,9
6	274,5	6,9	813,4	19,1
7	267,5	7,1		
8	366,3	7,6		
9	144,2	4,8		
10	225,5	6,4		
11	176,5	6,1		
12	274,5	7,6		
13	146,5	4		
14	215,6	6,2		
15	95,6	2,5		
16	139,6	3,5		
17	385,8	9,8		
18	144,8	6,6		
19	128	3,2		
20	267,6	9,8		
21	260,1	11		
22	533,8	14,6		
23	642,1	16,2		
24	560,7	15,7		
25	302,3	10,1		
26	350,4	10,6		
27	177	6,4		
28	325,1	11,4		
29	233,4	5,2		
30	154,4	3,9		
31	211,9	4,6		
32	403,7	14,1		
33	631,5	21,7		
34	508,9	17		
<b>Média</b>	<b>308,45</b>	<b>8,77</b>	<b>706,88</b>	<b>19,45</b>

## APÊNDICE B

OVELHA 4				
	OPERADO		CONTROLE	
	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)
1	479,4	14	538,5	16,4
2	498,6	15	271,2	10,4
3	275,4	9,6	705	22,3
4	312,4	9,2	747,6	22,4
5	257,1	8,3	626,6	18,4
6	341,7	9,4	732,8	22,8
7	415,2	13,1		
8	625,5	18,7		
9	461,7	13		
10	156,6	7,4		
11	203,7	7,4		
12	145,2	3,1		
13	320,3	10,8		
14	453,3	12,3		
15	230,7	7		
16	377,5	10,8		
17	233,2	8,4		
18	148,6	5,8		
19	480,4	12,3		
20	225,7	7,5		
21	320,9	8,5		
22	355,3	9,3		
23	231,2	8,8		
24	495,3	16,5		
25	625,5	19,1		
26	382,3	11,8		
27	737,9	20,8		
28	268,8	9,5		
29	351,4	10,6		
30	861,9	25,2		
31	475,5	13,3		
32	788,7	20,6		
33	738,7	18,3		
34	815,9	24,8		
<b>Média</b>	<b>414,46</b>	<b>12,36</b>	<b>603,62</b>	<b>18,78</b>

## APÊNDICE B

OVELHA 5				
	OPERADO		CONTROLE	
	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)	Dureza (MPa)	Módulo Elasticidade (GPa)
1	443,2	13,5	614,8	15,3
2	19,8	3,1	695,4	20,2
3	128,6	5,9	563,5	19,1
4	273,1	9,6	726,6	22,5
5	99,5	3,1	397,4	15,6
6	206,1	4,1	666,1	20,6
7	473,7	12,5		
8	402,8	10		
9	67,6	2,1		
10	363,3	10		
11	574,1	14,4		
12	151,7	2,8		
13	271,5	8,4		
14	390,7	10,1		
15	464,8	12,6		
16	415,6	10		
17	326,3	11,5		
18	160,2	6,8		
19	378,2	11,6		
20	199,8	9,1		
21	471,5	13,6		
22	471,2	14,1		
23	443,3	11		
24	456,8	12,7		
25	390,60	14,8		
26	794	22,3		
27	509,1	18,8		
28	744,2	18,7		
29	730,1	19,7		
30	685,2	19,1		
31	513,2	16,7		
32	765,4	20,6		
33	427,6	15,9		
34	704	19,5		
<b>Média</b>	<b>409,32</b>	<b>12,02</b>	<b>610,63</b>	<b>18,88</b>

**ANEXO A**

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Ofício 0219/07-CEP

Porto Alegre, 12 de março de 2007.

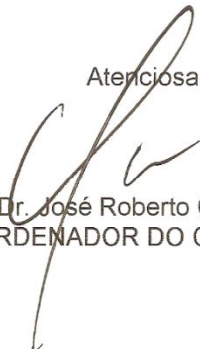
Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa registro CEP 06/03522, intitulado: **“Análise dimensional e molecular da ação do laser na distração osteogênica em ovelhas”**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios parciais e final da pesquisa devem ser entregues a este CEP.

Atenciosamente,



Prof. Dr. José Roberto Goldim  
COORDENADOR DO CEP-PUCRS

Ilmo(a) Sr(a)  
Dr(a) Marília Gerhardt de Oliveira  
N/Universidade

**PUCRS**

**Campus Central**  
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar – CEP: 90610-000  
Fone/Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [cep@pucrs.br](mailto:cep@pucrs.br)  
[www.pucrs.br/prppg/cep](http://www.pucrs.br/prppg/cep)

**ANEXO B**

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS

Ofício 075/08-CEUA

Porto Alegre, 23 de outubro de 2008.

Senhor Pesquisador:

O Comitê de Ética para o Uso de Animais apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 08/00040, intitulado: **"Avaliação por nanodureza, xrf e xrd do osso mandibular de ovelhas submetidas à distração osteogênica"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Relatórios do andamento do projeto devem ser entregues a este Comitê.

Atenciosamente,

Profa. Dr. Anamaria Feijó  
Coordenadora do CEUA – PUCRS

Ilmo. Sr.  
Prof. Dr. Roberto Hübler  
Laboratório GEPSI - TECNOPUC  
N/Universidade

**PUCRS**

**Campus Central**  
Av. Ipiranga, 6690 – 3º andar sala 314- CEP: 90610-000  
Fone/Fax: (51) 3320-3345  
E-mail: [ceua@pucrs.br](mailto:ceua@pucrs.br)

## ANEXO C



LABORATÓRIO DE IRRADIAÇÃO E RADIOMETRIA  
GRUPO DE FÍSICA DAS RADIAÇÕES – GFR  
NÚCLEO DE PESQUISA EM INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA  
CENTRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM FÍSICA - PUCRS

1/3



Relatório Espectrorradiométrico

Nº 0006IEI/05 - GFR

Data 13/09/05

## MEDIDA DE IRRADIÂNCIA ESPECTRAL E IRRADIÂNCIA

## 1. REQUERENTE

**Razão Social/Nome:** Faculdade de Odontologia da PUCRS – Marília Gerhardt de Oliveira  
**Endereço:** Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 6  
**Cep:** 90619-900  
**Cidade:** Porto Alegre – RS  
**Telefone:** 3320-3538

2. DESCRIÇÃO DOS ITENS ENSAIADOS <sup>[1]</sup>

A tabela 2.1 identifica as duas fontes lasers ensaiadas do seguinte equipamento:

- **Marca:** DMC.
- **Modelo:** Thera Laser.
- **Tensão:** 127 V.
- **Número de série:** TLSR0391.

2.1 Tabela de Identificação:

Código	Tipo	Potência	Obs.
0006IEI/05 – 01	Fonte Laser Vis	35 mW	---
0006IEI/05 – 02	Fonte Laser IR	100 mW	---

[1] Informações fornecidas pelo requerente.

## 3. INSTRUMENTO DE MEDIDA

- Espectrorradiômetro: Detecção espectral entre 250-1100 nm em intervalos de 1 nm, com largura de banda não excedendo a 2,5 nm.
- Certificado de Calibração nº 506074717 de 07/06/05.

## 4. MÉTODO DE MEDIDA

Método realizado de acordo com o Procedimento Técnico Interno de Medida de Irradiância Espectral Difusa.

- Distância fonte - detector:  $(2,5 \pm 0,1)$  cm.
- Intervalos de medida: 400 - 800 nm e 750 - 1100 nm.

Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 96A / 104  
CEP 90619-900 - Porto Alegre - RS - Brasil  
Home-page: www.pucrs.br/gfr E-mail: gfr@pucrs.br

Fone: (51) 3320-3682  
Fax: (51) 3320-3616  
CNPJ 88630413/0002-81



## Relatório Espectrorradiométrico

Nº 0006IEI/05 - GFR

Continuação

Data 13/09/05

### 5. RESULTADO DAS MEDIDAS <sup>[2]</sup>

Tabela com Valores da Irradiância Difusa e Espectros das fontes identificadas pelo código da Tabela 2.1.

5.1 Tabela de Irradiância Difusa e Comprimento de Onda:

Código	Comprimento de Onda	Irradiância Difusa
0006IEI/05 – 01	683 nm	2,87 Wm <sup>-2</sup>
0006IEI/05 – 02	829 nm	13,22 Wm <sup>-2</sup>

5.2 Anexo I: Espectros da Irradiância Espectral Difusa x Comprimento de Onda, para as fontes de radiação identificada pelo código da Tabela 2.1.

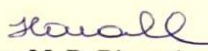
[2] Observações:

- Incerteza das medidas: 251-400 nm : ± 4.0 %; 400-900nm: ± 3.3 %; 900-1000: ± 5.1%; 1000-1100: ± 8.0%.
- Para as medidas de irradiância de barreiras (filtros, óculos, tecidos, entre outros) será acrescida ao código da fonte empregada a seguinte identificação: letra A para a primeira barreira, letra B para segunda e assim, sucessivamente.
- Esse relatório espectrorradiométrico é válido exclusivamente para as amostras identificadas na Tabela 2.1, não sendo extensivo a quaisquer lotes, mesmo que similares.
- O relatório espectrorradiométrico não deve ser reproduzido sem prévia autorização.

Esclarecimento:

O presente Relatório Espectrorradiométrico nº 0006IEI/05 – GFR está inserido na rede de convênio-cooperação desse Laboratório com o solicitante desse serviço. Como consequência toda divulgação dessas medidas deverá ser acompanhada com a descrição: “Resultados concedidos pelo Grupo de Física das Radiações (GFR-PUCRS)”.

Porto Alegre, 13 de setembro de 2005.

  
**Dra. M. R. Rizzatti**  
Coordenadora do GFR-PUCRS



## ANEXO I (3/3)

