



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

LUCIANO MAYER

**ANÁLISE DO EFEITO SISTÊMICO DA LLLT EM REGIÃO
PERIMPLANTAR: ESTUDO EM COELHOS**

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

**PORTO ALEGRE
2013**

LUCIANO MAYER

**ANÁLISE DO EFEITO SISTÊMICO DA LLLT EM REGIÃO
PERIMPLANTAR: ESTUDO EM COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

PORTO ALEGRE

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M468a Mayer, Luciano

Análise do efeito sistêmico da LLLT em região
perimplantar : estudo em coelhos / Luciano Mayer. – Porto
Alegre, 2013.

143 f. : il.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Fac. de Odontologia -
PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber.

1. Odontologia. 2. Implantodontia. 3. Implantes Dentários
Osseointegrados. 4. Tireoide. 5. Laser – Odontologia.

I. Weber, João Batista Blessmann. II. Título.

CDD 617.69

**Ficha Catalográfica elaborada por
Vanessa Pinent
CRB 10/1297**

LUCIANO MAYER

**ANÁLISE DO EFEITO SISTÊMICO DA LLLT EM REGIÃO PERIMPLANTAR:
ESTUDO EM COELHOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira

Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo

Profa. Dra. Deise Ponzoni

Prof. Dr. Carlos Eduardo Baraldi

Prof. Dr. Ferdinando De Conto (Suplente)



DEDICATÓRIA

***A minha família.
Minha esposa Simone.
Meus filhos Arthur e Thales.
Meus pais Alziro e Geni.
Minha irmã Églis.***



AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha esposa **Simone** e meus filhos **Arthur** e **Thales** pelo amor verdadeiro e, principalmente, pela compreensão nos momentos de ausência.

Ao meu orientador **Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber**, a quem tenho grande respeito e admiração, agradeço pelo apoio durante toda a minha jornada nesta Universidade.

A minha eterna orientadora, **Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**, maior responsável pelo meu ingresso neste PPG, pela dedicação com que me orientou no início desse trabalho, incentivou-me e acreditou no desenvolvimento desta pesquisa. Muito obrigado por toda a paciência e colaboração. Sua história de conquistas na Odontologia e a sua determinação motivam aqueles que trabalham com pesquisa. Saiba que foi uma honra ter sido seu orientado.

Ao **Prof. Edgar Eduardo Erdmann**, grande amigo e incentivador desde a graduação, pela amizade ao longo dos últimos 15 anos.

A **Profa. Dra. Edela Puricelli** pelo apoio imprescindível para a realização deste estudo junto à Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCPA-UFRGS) e principalmente por ter acreditado e apostado no desenvolvimento desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas **Fernando Vacilotto Gomes** e **Fabício Poletto Massotti**. Amigos que compartilharam todos os momentos desta pesquisa.

Ao meu colega e grande amigo, **Frederico Mattis**. Sua ajuda nas fases preliminares deste trabalho e seu incentivo ao longo dos últimos anos foram essenciais para que eu cumprisse mais essa etapa da minha vida acadêmica. Você é uma pessoa de grande coração. Muito obrigado por tudo.

Aos meus **pais** e **irmã**, pelo apoio incondicional e por confiarem em mim e no meu trabalho.

A minha colega de consultório **Luciana Paiva**, minha secretária **Cristiane** e minha assistente **Karina** pelo inestimável apoio e pela paciência.

À Médica Veterinária do LACVet – UFRGS **Dra. Viviane Marques Guyoti**. Sua competência e profissionalismo foram determinantes para a realização dessa pesquisa.

À Médica Veterinária **Dra. Fabíola Schons Meyer** e a **Enf^a. Marta Justina Giotti Cioato** da UEA – UFRGS pelo apoio durante a fase experimental do trabalho.

Aos colegas de Pós-Graduação, **Marcus Woltmann**, **Juliana Gonçalves Göelzer**, e **Wâneza Dias Borges Hirsch**. Amigos que compartilharam esta caminhada.

Aos **Professores do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da PUCRS**, obrigado pelo empenho e dedicação ao transmitirem seus ensinamentos.

A **todos os Professores da Faculdade de Odontologia da PUCRS** que participaram direta ou indiretamente do meu aprendizado.

Ao **Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes**, Coordenador do Departamento de Estatística – PUCRS, pela contribuição na análise estatística deste trabalho.

À **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, na pessoa do Reitor, **Prof. Dr. Joaquim Clotet**.

À **Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, na pessoa do seu Diretor, **Prof. Marcos Túlio Mazzini Carvalho**.

Ao **Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da PUCRS**, **Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo**.

Aos funcionários, da Secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da PUCRS: **Ana, Davenir, Paulo, Cléber e Cláudia** pela atenção e gentileza com que sempre me atenderam.

Aos meus colegas, professores do curso de Especialização em Implantodontia da AGOR/RS, **Cláudio Chedid, Ricardo Vadenal, Renato Almeida, Felipe Volkart, Gislaine Denck, Jorge Puhl e Giancarlo Soarez** pela amizade e pelo apoio.

Aos amigos, professores e colegas que, de algum modo ou em algum momento da minha carreira, colaboraram para que eu pudesse concluir este trabalho, o meu **MUITO OBRIGADO**.



ΕΠΪΓΡΑΦΕ

***A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original.***

Albert Einstein



RESUMO

RESUMO

Este estudo é parte de um projeto que teve por objetivo avaliar o efeito da terapia com laser de baixa intensidade pós-implante dentário osseointegrável no funcionamento da glândula tireoide e, conseqüentemente, na regulação do cálcio, através da mensuração dos níveis hormonais de Triiodotironina (T_3), Tiroxina (T_4) e dos níveis de Cálcio e Albumina no soro sanguíneo de coelhos. Foi avaliado o efeito de 3 doses terapêuticas distintas de LLLT utilizadas para aceleração do processo de osseointegração de implantes dentários. Para tanto, foram utilizados 40 coelhos da ordem *Lagomorpha*, raça Nova Zelândia, machos, pesando entre 3 e 4 kg, clinicamente sadios, distribuídos aleatoriamente em cinco grupos, com oito animais cada, sendo dois grupos designados como controle: o grupo controle CI (animais não irradiados e não operados) e o grupo controle CII (animais não irradiados); e três grupos designados como experimentais: EI, EII e EIII – animais irradiados com três doses distintas de laser – grupo experimental EI (dose total - 70J/cm²), grupo experimental EII (dose total - 35J/cm²) e grupo experimental EIII (dose total - 140J/cm²). Para padronizar os experimentos, todos os animais dos grupos CII, EI, EII e EIII foram submetidos ao procedimento cirúrgico de exodontia do incisivo inferior esquerdo e colocação imediata de um implante osseointegrável com superfície nanotexturizada (*Nanotite*[®] - Biomet 3iTM) no respectivo alvéolo, criando uma condição clínica inicial de igualdade entre os quatro grupos operados. Os animais do grupo controle CI participaram da mesma rotina dos demais; no entanto, não foram submetidos a nenhum dos procedimentos clínicos/cirúrgicos, servindo como controle absoluto nos testes imunológicos para contagem de T_3 , T_4 , Cálcio e Albumina. Os animais dos grupos experimentais foram irradiados com o laser de diodo infravermelho com meio ativo GaAlAs (Arseneto de Gálio e Alumínio), com comprimento de onda de 830nm, de forma pontual, com potência de 50mW, no modo de emissão contínua, a cada 48 horas, num total de sete sessões de aplicação, durante o período de 13 dias. O protocolo de irradiação foi iniciado imediatamente após o procedimento cirúrgico. As coletas de sangue para dosagens laboratoriais de T_3 , T_4 , Cálcio e Albumina foram realizadas por meio de punção venosa da veia jugular nos cinco grupos em quatro momentos distintos: 72 horas antes do procedimento cirúrgico, imediatamente após a primeira aplicação de laser, 72 horas após a primeira aplicação de laser e 72 horas após a última aplicação de laser. Os resultados obtidos demonstraram diferenças estatisticamente significativas para os valores de T_3 e Cálcio entre os grupos estudados e para os valores de T_3 , T_4 , Cálcio e Albumina nos diferentes tempos de coleta ao longo do experimento. Conclui-se que a LLLT, no protocolo de irradiação utilizado neste estudo, apesar de ter alterado significativamente os níveis hormonais de T_3 e T_4 e os níveis de Cálcio e Albumina circulantes no soro de coelhos, não comprometeu definitivamente o funcionamento da glândula tireoide dos mesmos, pois na etapa final do controle hormonal percebe-se o restabelecimento da função glandular.

Palavras-chave¹: Glândula Tireoide; LLLT; Hormônios Tireoideos, Implantes Dentários, Laser.

¹ Descritores em Ciência da Saúde (DeCS); disponível em: <<http://decs.bvs.br/>>. Acesso em: 06 nov. 2012.



ABSTRACT

ABSTRACT

This study is part of a larger project that sought to assess the effect of low-level laser therapy (LLLT) after placement of an osseointegrated dental implant on thyroid gland function – and, consequently, calcium regulation – and its potential interference with the osseointegration process. Toward this end, circulating serum levels of triiodothyronine (T_3), thyroxine (T_4), calcium, and albumin were measured in rabbits. The effects of three therapeutic doses of LLLT, used to accelerate the dental implant osseointegration process, were assessed. Forty healthy male New Zealand rabbits (order Lagomorpha), weight 3–4 kg, were allocated randomly across five groups of eight each: two control groups, CI (no LLLT, no surgery) and CII (no LLLT), and three experimental groups, EI, EII, EIII, exposed to three different doses of laser radiation (EI, total dose 70 J/cm²; EII, total dose 35 J/cm²; and EIII, total dose 140 J/cm²). For standardization purposes, all animals in groups CII, EI, EII, and EIII underwent surgical extraction of the mandibular left incisor and immediate placement of a nanoparticle-coated osseointegrated implant (NanoTite[®] – Biomet 3i[™]) into the prepared socket, creating a condition of equality between groups at baseline. Animals in group CI were exposed to the same handling conditions, but did not undergo any clinical or surgical procedures, thus serving as an absolute control for T_3 , T_4 , calcium, and albumin measurements. Animals in the experimental groups received spot irradiation with a GaAlAs (gallium aluminium arsenide) infrared diode laser, wavelength 830 nm, power 50 mW, in continuous emission mode, over two points, every 48 hours over 13 days, for a total of seven sessions; the irradiation protocol was started immediately after the surgical procedure. Blood was collected for measurement of T_3 , T_4 , calcium, and albumin levels, by puncture of the external jugular vein, at four points in time: 72 hours before surgery, immediately after the first LLLT session, 72 hours after the first LLLT session and 72 hours after the last LLLT session. The results showed significant differences in T_3 and calcium levels between study groups, as well as significant within-group differences in T_3 , T_4 , calcium, and albumin levels over time. We conclude that, despite a significant effect on circulating serum levels of T_3 , T_4 , calcium and albumin, the LLLT protocol used in this study did not lead to impairment of thyroid function in a rabbit model, because in the final stage of the hormonal control it is noticed the reestablishment of glandular function.

Keywords²: Thyroid Gland; LLLT; Thyroid Hormones, Dental Implants, Laser.

² Medical Subject Headings (MeSH), disponível em: <<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>>. Acesso em: 06 nov. 2012.



LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO II - Figure 01. Surgical procedure: A) Local anesthesia with 0.5 mL lidocaine 2% with epinephrine 1:100,000; B) Extraction of the mandibular left incisor with #5 pediatric extraction forceps; C) Placement of a 3.25x11.5mm osseointegrated implant (NanoTite®) into the fresh extraction socket; D) Occlusal view after implant placement; E) Wound closure with 4-0 monofilament nylon sutures; F) Long axis of the implant tattooed onto skin with surgical marker to guide LLLT..... 80

ARTIGO II - Figure 02. A) Administration of LLLT. B) Collection of venous blood (3 mL) by puncture of the external jugular vein..... 80

ARTIGO II - Figure 03. Variation in triiodothyronine (T₃) levels (ng/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 162.07 ± 30.04; Time 2, 151.97 ± 15.30; Time 3, 151.89 ± 22.41; Time 4, 165.04 ± 20.43). Bars represent, respectively, control group CII (gray bar; Time 1, 143.07 ± 17.42; Time 2, 168.98 ± 23.19; Time 3, 181.57 ± 23.63; Time 4, 198.64 ± 52.62) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 163.42 ± 26.86; Time 2, 193.90 ± 28.62; Time 3, 165.68 ± 43.81; Time 4, 223.86 ± 40.26); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 144.32 ± 13.34; Time 2, 175.64 ± 25.15; Time 3, 179.23 ± 40.07; Time 4, 163.02 ± 22.85); and EIII = 140 J/cm² (yellow bar; Time 1, 166.72 ± 39.68; Time 2, 182.80 ± 19.05; Time 3, 185.94 ± 38.77; Time 4, 196.96 ± 52.35)..... 81

ARTIGO II - Figure 04. Variation in thyroxine (T₄) levels (µg/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the

standard deviation from said mean (Time 1, 2.56 ± 0.71 ; Time 2, 2.29 ± 0.35 ; Time 3, 2.98 ± 0.67 ; Time 4, 3.29 ± 0.19). Bars represent, respectively, control group CII (gray; Time 1, 2.30 ± 0.56 ; Time 2, 3.03 ± 0.56 ; Time 3, 2.69 ± 0.66 ; Time 4, 3.18 ± 0.65) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 2.40 ± 0.83 ; Time 2, 2.73 ± 0.85 ; Time 3, 2.75 ± 0.79 ; Time 4, 3.12 ± 0.84); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 2.19 ± 0.73 ; Time 2, 3.05 ± 0.79 ; Time 3, 3.29 ± 0.92 ; Time 4, 3.07 ± 0.47); and EIII = 140 J/cm² (yellow bar; Time 1, 2.75 ± 0.82 ; Time 2, 3.29 ± 0.93 ; Time 3, 3.39 ± 1.20 ; Time 4, 3.37 ± 0.71).....

82

ARTIGO II - Figure 05. Variation in calcium levels (mg/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 14.01 ± 1.02 ; Time 2, 13.82 ± 0.62 ; Time 3, 13.67 ± 0.72 ; Time 4, 13.72 ± 0.70). Bars represent, respectively, control group CII (gray bar; Time 1, 12.82 ± 0.27 ; Time 2, 13.63 ± 0.75 ; Time 3, 13.53 ± 0.19 ; Time 4, 13.65 ± 0.62) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 13.05 ± 0.32 ; Time 2, 13.95 ± 0.55 ; Time 3, 13.79 ± 0.27 ; Time 4, 14.46 ± 0.47); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 13.47 ± 0.34 ; Time 2, 14.41 ± 0.55 ; Time 3, 13.91 ± 0.31 ; Time 4, 13.59 ± 0.70); and EIII = 140 J/cm² (yellow bar; Time 1, 13.81 ± 0.26 ; Time 2, 14.39 ± 0.28 ; Time 3, 13.43 ± 0.30 ; Time 4, 13.41 ± 0.73).....

83

ARTIGO II - Figure 06. Variation in albumin levels (mg/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 42.23 ± 1.48 ; Time 2, 45.31 ± 2.61 ; Time 3, 42.36 ± 5.69 ; Time 4, 46.99 ± 3.92). Bars represent, respectively, control group CII (gray bar; Time 1, 41.46 ± 2.93 ; Time 2, 46.38 ± 2.19 ; Time 3, 45.71 ± 2.01 ; Time 4, 50.26 ± 2.16) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 41.89 ± 1.62 ; Time 2, 46.94 ± 1.80 ; Time 3, 46.13 ± 2.33 ; Time 4, 48.47 ± 2.09); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 41.31 ± 2.26 ; Time 2, 45.10 ± 2.07 ; Time 3, 46.14 ± 1.52 ; Time 4, 46.86 ± 2.82); and EIII = 140

J/cm² (yellow bar; Time 1, 41.93 ± 1.39; Time 2, 44.36 ± 2.13; Time 3, 46.43 ± 2.09; Time 4, 47.28 ± 2.51)..... 84

APÊNDICE A - Anatomia interna do coelho 140



LISTA DE QUADROS

LISTA DE QUADROS

APÊNDICE B – Resultados das dosagens hormonais de Triiodotironina (T₃) e Tiroxina (T₄) no soro sanguíneo dos coelhos.....	141
APÊNDICE C – Resultados das dosagens dos níveis de Cálcio no soro sanguíneo dos coelhos.....	142
APÊNDICE D – Resultados das dosagens dos níveis de Albumina no soro sanguíneo dos coelhos.....	143



LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I - Table 1. Studies of the effects of LLLT on bone healing.....	54
ARTIGO I - Table 2. Studies of the effects of LLLT on osseointegration.....	55
ARTIGO II - Table 01. Low-level laser therapy (LLLT) protocols used in previous studies.....	76
ARTIGO II - Table 02. Study parameters.....	77
ARTIGO II - Table 03. Statistical analysis: results of serum T ₃ , T ₄ , calcium, and albumin measurement. Baseline levels expressed as mean ± standard deviations. Means followed by different uppercase superscript letters across the same row denote significant differences. Means followed by different lowercase superscript letters across the same column denote significant differences on repeated measures. Analysis of variance (ANOVA) with Tukey's multiple comparisons test, for a significance level of 5% ($p \leq 0.05$).....	78



PUCRS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
CTBMF	Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial
DE	Densidade de energia
dL	decilitro
et al.	e colaboradores
GaAlAs	Arseneto de Gálio e Alumínio
GaAs	Arseneto de Gálio
HILT	<i>Hight Intensity Laser Treatment</i>
HLLT	<i>Hight reactive - Level Laser Treatment</i>
HeNe	Hélio-Neônio
InGaAlP	Fosfeto de Índio-Gálio-Alumínio
J	Joule
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
J/s	Joule por segundo
kg	quilograma
LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
LILT	<i>Low Intensity Level Treatment</i>
LLLT	<i>Low reactive-Level Laser Treatment</i> ou <i>Low Level Laser Therapy</i>
mg	miligrama
mg/dL	miligrama por decilitro
ml	mililitro
mm	milímetro
mW	miliwatts
mW/cm ²	miliwatts por centímetro quadrado
n°	número
ng	nanograma
ng/dL	nanograma por decilitro
nm	nanômetro

p	probabilidade de erro
P	potência
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RIE	Radioimunoensaio
rpm	Rotações por minuto
s	segundos
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
TM	do inglês <i>Trademark</i> – marca registrada
TRH	Tireotropina
TSH	Hormônio estimulador da tireoide
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
W	Watt
W/cm ²	Watts por centímetro quadrado
λ	lambda = comprimento de onda
β	beta
μg	micrograma
μg/dL	micrograma por decilitro
®	marca registrada
%	porcento, porcentagem / percentagem
≤	menor ou igual
=	igual



SUMÁRIO

SUMÁRIO

1 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA	29
2 ARTIGO I	39
3 ARTIGO II	57
4 DISCUSSÃO GERAL	86
5 CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS.....	95
ANEXO A - Protocolo da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS.....	106
ANEXO B - Protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS ..	107
ANEXO C - Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca).....	108
ANEXO D - Princípios Éticos na Pesquisa Experimental.....	113
ANEXO E - Protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (UFRGS).....	115
ANEXO F - Autorização do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVet – UFRGS) para realização da pesquisa	116
ANEXO G - Justificativa do cálculo do tamanho da amostra	117
ANEXO H – Instruções para colocação dos implantes Nanotite® – Biomet 3i® (conexão externa – HE – 3,25mm de diâmetro – 11,5mm de comprimento)	118
ANEXO I – Normas para publicação - periódico <i>Clinical Implant Dentistry and Related Research</i>	119
ANEXO J – Comprovante de submissão do artigo intitulado “ <i>Effect of low-level laser therapy on peri-implant bone healing: a review of the literature</i> ” para o periódico <i>Clinical Implant Dentistry and Related Research</i>	125
ANEXO K – Normas para publicação - periódico <i>International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery</i>	126
ANEXO L – Comprovante de submissão do artigo intitulado “ <i>Systemic effects of LLLT on thyroid function after titanium dental implant placement: an experimental rabbit model</i> ” para o periódico <i>International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery</i>	138
APÊNDICE A – Anatomia interna do coelho	140

APÊNDICE B – Resultados das dosagens hormonais de Triiodotironina (T₃) e Tiroxina (T₄) no soro sanguíneo dos coelhos.....	141
APÊNDICE C – Resultados das dosagens dos níveis de Cálcio no soro sanguíneo dos coelhos	1412
APÊNDICE D – Resultados das dosagens dos níveis de Albumina no soro sanguíneo dos coelhos	143



ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

1 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

As idéias fundamentais para o desenvolvimento do laser foram apresentadas por Albert Einstein em 1916 com a formulação da Teoria da Emissão Estimulada de Radiação, onde se discutia o relacionamento da quantidade de energia liberada pelo processo atômico. Neste estudo, Einstein discorreu sobre a interação de átomos, íons e moléculas com a radiação eletromagnética em termos de absorção e emissão espontânea de radiação e concluiu que o terceiro processo de interação, a emissão estimulada, deveria existir, e nela, a radiação eletromagnética deveria ser produzida por um processo atômico. Deste modo, Theodore H. Maiman e colaboradores construíram e apresentaram, em 16 de Maio de 1960, o primeiro equipamento capaz de amplificar a radiação eletromagnética, este ficou conhecido como Laser (FREIRE Jr.; CARVALHO NETO, 1997).

A palavra *LASER* é um acrônimo composto pelas iniciais de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, ou seja, “amplificação da luz por emissão estimulada de radiação”. (CONLAN; RAPLEY; COOB, 1996; BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

Existem diferenças marcantes entre o Laser e a luz comum; Entre elas, as principais consistem em: direção, coerência e cromaticidade. Enquanto a luz laser apresenta uma unidirecionalidade (paralelismo), a luz comum apresenta uma dispersão de seus feixes em várias direções. A luz laser é coerente, já a luz comum é incoerente, pois apresenta vários comprimentos de onda e seus fótons viajam sem sincronismo. Por fim, a luz laser é monocromática, pois apresenta um único comprimento de onda, portanto, cor pura, enquanto que a luz comum apresenta mais de um comprimento de onda (ALMEIDA-LOPES, 1998).

O Laser caracteriza-se por um sistema de seleção de comprimento de ondas que permite a obtenção de um feixe de luz monocromático, paralelo e coerente. Além de possuir essas características peculiares, é uma forma de radiação não-ionizante, altamente concentrada, que, em contato com os diferentes tecidos, resulta (de acordo com o tipo de Laser) em efeitos térmicos, fotoquímicos e não lineares (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO; 1998; SCHINDL et al., 2000). Estas propriedades permitem que o Laser seja utilizado em aplicações específicas e de grandes resultados na área biológica (NICCOLI FILHO et al., 1993).

Para entender os princípios da luz Laser, é importante entender que a luz pode ser descrita como uma onda eletromagnética e, como tal, apresenta características ondulatórias específicas que a identificam (MELLO; MELLO, 2001). Uma característica importante da radiação laser é chamada de comprimento de onda (distância medida entre dois picos consecutivos de sua trajetória). É o comprimento de onda que define a cor da luz. A unidade utilizada para a medição deste comprimento é o nanômetro (nm), uma fração do metro que equivale a 10^{-9} metro. Essa característica, juntamente com a frequência e a amplitude, define a luz dentro do espectro de ondas eletromagnéticas (DEDERICH, 1993).

Os Laseres têm sido classificados de acordo com inúmeros critérios. A mais ampla classificação é aquela que os divide em dois grandes grupos, de acordo com a intensidade de energia do feixe, podendo esta ser alta intensidade – chamados de ablativos ou *Hight Intensity Laser Treatment (HILT)* – ou baixa intensidade – denominados terapêuticos ou *Low Intensity Level Treatment (LILT)*. O comprimento de onda do laser é determinado pelo meio ativo que o nomeia, podendo, por sua vez, variar no espectro do infravermelho ao ultravioleta. O tipo de meio ativo (sólido, gasoso ou semicondutor) também determina a afinidade ou não do laser com o tecido alvo. De acordo com a reação celular, a terapia com laser é classificada em *Hight reactive-Level Laser Treatment (HLLT)* ou laser cirúrgico, usado em procedimentos cirúrgicos; e *Low reactive-Level Laser Treatment (LLLТ)* ou laser não cirúrgico, também chamado de laser terapêutico, usado em procedimentos terapêuticos clínicos (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

A vantagem da luz dos laseres, quando comparada a outros tipos de luz, é que trata-se de um feixe monocromático de alta energia, passível de ser focado e facilmente manipulado, além de ser capaz de promover efeitos fotobiológicos específicos. Parâmetros da irradiação como comprimento de onda, eixo energético, diâmetro do feixe, duração do pulso e tempo de exposição podem ser combinados com as propriedades físicas, químicas e biológicas do tecido alvo para que se obtenham resultados desejáveis (MISERENDINO; PICK, 1995).

Quando se discute a interação do laser com um tecido biológico, deve-se levar em consideração, tanto as propriedades e os parâmetros da radiação laser, quanto as propriedades ópticas dos tecidos (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004).

Segundo Lizarelli (2007), as grandezas físicas do laser, importantes para a mensuração, escolha e controle da irradiação dos tecidos a serem tratados são:

Energia: é definida como a quantidade de luz depositada no tecido tratado, sendo que a sua unidade de medida é o Joule (J).

Energia total: pode ser calculada multiplicando a potência de saída – em Watts (W) –, pelo tempo de irradiação – em segundos (s) –; ou seja, utilizar a energia total (J) apenas informa a quantidade total de energia depositada no tecido ao final da irradiação.

Fluência, Dose ou Densidade de Energia: é a quantidade de energia aplicada no tecido com relação à área sobre a qual esta energia é aplicada. Em outras palavras, é a distribuição da energia por unidade de área. A unidade, portanto, é Joule por centímetro quadrado (J/cm^2).

Potência: é a taxa com que uma quantidade de energia é transmitida ao tecido, ou seja, a relação entre a energia aplicada e o tempo que leva para que ela seja aplicada. A unidade é Watt (W ou J/s).

Irradiância, Intensidade ou Densidade de Potência: é a razão com que a potência é dissipada numa certa área do tecido ou a quantidade de energia por segundo aplicada numa certa área. A unidade utilizada é Watts por centímetro quadrado (W/cm^2).

Segundo Karu (1989), a luz laser interage com os tecidos biológicos basicamente de quatro formas: parte da luz é refletida; parte da luz pode ser espalhada dentro do tecido; parte da luz pode ser absorvida pelos componentes do tecido; e, finalmente, parte da luz pode ser transmitida através do tecido, sem atenuação podendo ocasionar interação em locais distantes da região de aplicação da luz.

A absorção e a difusão do laser no tecido resultam numa resposta fotorreativa. Esta é consequência de uma fotodestruição ou uma fotoativação tecidual, determinadas pelo efeito fotoquímico, fotoelétrico ou fototérmico do laser (OHSHIRO; FUJINO, 1993). Dentre os efeitos fotoquímicos, pode-se incluir a biomodulação tecidual, a qual corresponde a ação da luz laser sobre os processos moleculares e bioquímicos nos tecidos (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998).

A partir da penetração dos fótons no tecido, alguns fótons isolados da luz laser atravessam o tecido sem produzir nenhuma reação, processo este denominado de transmissão (KARU, 1989). A transmissão refere-se, portanto, à habilidade da energia em difundir-se por meio do tecido, sem nenhum efeito. Essa habilidade, no entanto, está diretamente relacionada com o tipo de tecido e o comprimento de

onda. A energia pode transmitir-se até alcançar um tecido específico, no qual as características de absorção ocorram. Só então, algum efeito poderá ser observado (MELLO; MELLO, 2001).

Os lasers não-cirúrgicos são usados para fins terapêuticos, desde a década de 1960, por suas características de baixa intensidade de energia e comprimento de onda capaz de penetrar nos tecidos (BRUGNERA JÚNIOR; VILLA; GENOVESE, 1991). Essa terapia tem ação biomoduladora importante no processo de reparo tecidual e é empregada amplamente nas diversas áreas da saúde, sendo a Odontologia uma das ciências que mais faz uso dessa tecnologia (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

Segundo Niccoli Filho et al. (1993), a terapia com laser de baixa intensidade na Odontologia teve início com Benedicenti, em 1982, com um aparelho laser diodo de Arseneto de Gálio (GaAs $\lambda=904$ nm). Esta terapia tem sido utilizada com grande sucesso na clínica odontológica, podendo ser empregada isoladamente ou como coadjuvante em tratamentos convencionais (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; CATÃO, 2004).

A LLLT (*Low Level Laser Therapy*) tem sido indicada para promover a regeneração tecidual, tendo como vantagens: a estimulação da cicatrização, a redução da inflamação e o controle da dor pós-operatória (PINHEIRO; FRAME, 1992). Essa terapia promove mudanças de caráter metabólico, energético e funcional nos corpos submetidos à radiação, permitindo a evolução para a cura em um curto período de tempo (BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003; CATÃO, 2004). A LLLT atua na estimulação do reparo tecidual, melhorando a regeneração e a cicatrização de tecidos, através da promoção da proliferação celular (KARU, 1989; DA SILVA; CAMILLI, 2006); da aceleração na formação de tecidos de granulação (KOLÁVORÁ; DITRICHOVÁ; WAGNER, 1999); do estímulo na síntese do colágeno, com formação das fibras pro-colágenas tipo I e tipo III (PINHEIRO; GERBI, 2006).

A compreensão do mecanismo da interação entre os lasers e os tecidos baseia-se, principalmente, no entendimento das reações que podem ser induzidas nestes tecidos pela luz laser (KARU, 1989). Alguns fatores como a dosimetria, o espectro do laser, a potência e a fase de irradiação irão influenciar na modulação das respostas biológicas (CONLAN; RAPLEY; COOB, 1996; BRUGNERA JÚNIOR et al., 2003).

A LLLT deve seguir os seguintes parâmetros: escolha do comprimento de onda, densidade de energia, 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 (CATÃO, 2004).

O comprimento de onda do laser é um dos fatores que influenciam na sua capacidade de penetração nos tecidos, uma vez que cada cromóforo tecidual possui um grau de absorção específico para cada comprimento de onda, promovendo diferentes efeitos biológicos, de acordo com o tipo de laser utilizado (THEODORO; GARCIA; MARCANTONIO JÚNIOR, 2002). Os lasers Hélio-Neônio (HeNe) com $\lambda=632,8\text{nm}$ penetram em torno de 0,5mm, os lasers com maior comprimento de onda, como os infravermelhos, podem penetrar uma maior profundidade, sendo pouco absorvidos pela epiderme e derme (SCHINDL et al., 2000).

Outro fator a ser considerado, é a densidade de energia (DE), também chamada de fluência ou dosimetria, a qual estabelece a relação entre a energia administrada por um emissor laser e a superfície de radiação do raio de luz laser ou *spot*, sendo expressa em J/cm^2 . Diversos equipamentos dispõem de cálculo direto, sendo o tempo de exposição determinado automaticamente através da inserção da DE, potência de emissão e da área do *spot* (RIGAU I MAS, 1998; ALMEIDA-LOPES; 2003).

Os lasers mais utilizados na LLLT são o Hélio-Neônio (HeNe) e os diodos (BASFORD, 1995; PINHEIRO et al., 1998). O HeNe foi o primeiro laser gasoso desenvolvido e, também, o primeiro a emitir, de forma contínua, raios com dois comprimentos de onda: $\lambda=632,8\text{ nm}$ (vermelho) e $\lambda=543,5\text{ nm}$ (verde), com potência variável de 1mW a dezenas de miliwatts (BASFORD, 1995).

Os lasers de diodo têm o seu comprimento de onda no espectro vermelho e infravermelho que variam de 620 a 1500nm determinado pelo seu meio ativo. O Arseneto de Gálio e Alumínio (GaAlAs) é o meio ativo mais utilizado na Odontologia, sendo enquadrado entre 760 e 850nm com potência variando entre 20 e 1000mW (BRUGNERA JÚNIOR; PINHEIRO, 1998; ALMEIDA-LOPES, 2003). Segundo Khadra et al. (2004), este laser possui alta capacidade de penetração em comparação a outros tipos, oferecendo ao profissional um instrumento de comprovada eficácia, especialmente para as regiões mais profundas.

De acordo com Brugnera Júnior et al. (2003), o meio ativo determina afinidade ou não do laser com o tecido alvo, o que é muito relevante, pois apenas a indicação correta do laser para determinado tecido resultará no objetivo esperado.

Os lasers de GaAIs são muito utilizados na biomodulação, sendo que 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 660 a 940nm. Os mais utilizados são os lasers com comprimento de onda de 820 a 830nm (infravermelhos) e 670nm (vermelho), os quais emitem radiação tanto no modo contínuo quanto no modo pulsado (FREDDO et al, 2009).

Os aparelhos de laser de GaAIs mais modernos são apresentados em unidades portáteis, compactas e que se mostram confiáveis. Estes foram desenvolvidos com considerações econômicas e ergonômicas, que reduziram seu custo em comparação a outros equipamentos de laser (ROMANOS; NENTWIG, 1999).

O fenômeno dos bioefeitos do laser está relacionado com a dose e a afinidade do tecido com o comprimento de onda específico (BELKIN; SCHWARTZ, 1989). Segundo Brugnera Júnior et al. (2003), não se pode definir a exata profundidade que o laser alcança nem a dose que atinge os alvos abaixo do ponto de incidência, o que dificulta o conhecimento da dosimetria correta.

Muitos benefícios estão associados à biomodulação através da terapia com laser de baixa intensidade (*Low Level Laser Therapy* – LLLT). Dependendo do efeito desejado é calculada a fluência, ou dose de energia, necessária. O limiar de exposição é específico e cada tecido responde de maneira diferente a um determinado comprimento de onda (λ). De acordo com a fluência, é possível ter estimulação ou inibição de atividades bioquímicas, fisiológicas e proliferativas. Altas doses de energias, dentro de limites específicos para cada combinação tecido-laser, podem gerar prejuízo; uma vez que os efeitos são dose-dependentes (BELKIN; SCHWARTZ, 1989).

Os efeitos fotoquímicos, fotofísicos e fotobiológicos gerados pela luz laser afetam não somente a área sob aplicação, mas também regiões mais profundas (ALMEIDA-LOPES, 2003). Sabe-se que a biomodulação promovida pelo laser em células no local de sua aplicação pode igualmente ocorrer em tecidos à distância do

ponto de irradiação (ROCHKIND et al., 1989). Portanto, quando se realiza a LLLT, pode-se atingir órgãos distantes do local de irradiação.

Estudos sugerem que o laser apresenta efeitos sistêmicos, por meio de mediadores metabólicos liberados na circulação, atingindo áreas distantes do local de aplicação (OHSHIRO, 1991; MARINO, 2003).

Embora a LLLT tenha se tornado uma prática comum nas áreas biomédicas, ainda não se tem um entendimento claro sobre seus possíveis efeitos colaterais. Estudos com relação à utilização do laser de emissão infravermelha sobre a glândula tireóide têm demonstrado um aumento na atividade mitótica de células foliculares, hiperatividade transitória em alguns folículos (PÉREZ DE VARGAS et al., 1987; PARRADO et al., 1990) e alterações dos níveis hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no soro sanguíneo (AZEVEDO et al., 2005).

A tireóide e a paratireóide são glândulas importantes do organismo humano e tem como uma das suas principais funções a produção de hormônios que regulam o metabolismo corpóreo. Quando a função dessas glândulas não é adequada, podem ocorrer repercussões no organismo em graus variáveis de severidade, desde sintomas que muitas vezes podem passar despercebidos até formas extremamente graves que podem trazer risco de vida (SONIS; FAZIO; FANG, 1996; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; GUYTON; HALL, 2006).

O controle da produção e secreção dos hormônios tireoidianos é mediado pelo hipotálamo que produz o hormônio de liberação de tireotropina (TRH) e pela adeno-hipófise que estimula a produção do hormônio estimulador da tireóide (TSH). O TSH irá estimular a produção de triiodotironina e tiroxina pela glândula tireóide. Esses hormônios podem realimentar negativamente a hipófise e o hipotálamo para interromper a secreção de TSH, mantendo o organismo com quantidades adequadas de T_3 e T_4 (SONIS; FAZIO; FANG, 1996; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Cerca de 93% dos hormônios circulantes secretados pela tireóide consistem em T_4 , e 7% em T_3 . Porém, a triiodotironina é mais potente e exerce a sua ação com maior rapidez. Em torno de 50% da quantidade de tiroxina é convertida em triiodotironina, sendo o T_3 o principal hormônio tireoidiano utilizado pelos tecidos (FISHER, 1996; GUYTON; HALL, 2006).

As concentrações dos hormônios tireoidianos no plasma sanguíneo necessárias para regulação do metabolismo corporal são muito pequenas. Os

valores variam de não mais que um picograma (bilionésimo de miligrama) por mililitro de sangue até, no máximo, alguns microgramas (milionésimos de um grama) (GUYTON; HALL, 2006).

A medida de T_3 e T_4 total inclui tanto as frações ligadas à proteínas como as frações livres. Alguns laboratórios oferecem a medida dos hormônios tireoidianos totais e outros oferecem a medida dos hormônios tireoidianos livres, porém ambas fornecem a mesma informação sobre o funcionamento normal, hipo ou hiperativo da tireóide. (CZEPIELEWSKI, 2003a, 2003b).

Nos últimos 40 anos, houve uma melhora substancial na sensibilidade e especificidade dos testes tireoidianos principalmente com o desenvolvimento dos métodos imunométricos não isotópicos. O método radioimunoensaio (RIE) foi desenvolvido para a dosagem de insulina por Yallow e Berson, em 1959, sendo posteriormente utilizado para a quantificação de vários outros hormônios (MOURA et al., 2001).

Anormalidades estruturais ou funcionais das glândulas tireóide e paratireóide podem levar a uma deficiência de produção dos hormônios (tiroxina, triiodotironina e paratormônio) afetando o metabolismo de todos os órgãos e sistemas (SONIS; FAZIO; FANG, 1996; GUYTON; HALL, 2006).

Qualquer lesão óssea (fraturas, defeitos, fixação de implantes, interrupção do suprimento sanguíneo) ativa a regeneração óssea local pela liberação de hormônios de crescimento. A formação óssea necessita de dois requisitos indispensáveis: amplo suprimento vascular e suporte mecânico (a união desses fatores irá ativar os osteoblastos na produção de tecido ósseo). Sistemicamente, a remodelagem óssea é ativada pelos hormônios de crescimento e pela tireóide e paratireóide, e inibida pela calcitonina e cortisona. Localmente, a remodelagem óssea é ativada por qualquer traumatismo ao osso, isto é, fraturas, procedimentos cirúrgicos, ou fixação de implantes (HOLLINGER et al., 1999).

O uso clínico da LLLT está fundamentado em sua capacidade de promover, a nível celular, efeitos estimuladores sobre os processos moleculares e bioquímicos que ocorrem durante os mecanismos intrínsecos do reparo tecidual. Dentre os efeitos terapêuticos podemos citar: o aumento da proliferação epitelial, fibroblástica e da síntese de colágeno, acelerando o processo cicatricial; o aumento no potencial de remodelação e reparo ósseo; o restabelecimento da função neural após injúria; a normalização da função hormonal; a regulação do sistema imunológico; a redução

da inflamação e edema; a modulação e atenuação da sintomatologia dolorosa; e a analgesia pós-operatória (TRELLES; MAYAYO, 1987; RIGAU I MAS et al., 1991; PINHEIRO; FRAME, 1992; DO NASCIMENTO et al., 2004; WEBER et al., 2006; MOHAMMED et al., 2007; SOARES et al., 2008).

O uso potencial dos lasers na biomodulação do reparo ósseo através de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas tem sido estudado por diversos pesquisadores com o objetivo de proporcionar ao paciente submetido à cirurgia uma maior rapidez na cicatrização óssea, menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual (TAKEDA, 1988).

Os protocolos para a utilização dos lasers em diversos procedimentos clínicos estão sendo investigados, pois nem todas as suas atuações e efeitos sistêmicos estão esclarecidos. A revista de literatura revela que a LLLT pode atuar nas funções endócrinas, comprovando os possíveis efeitos do laser sobre as glândulas secretoras (SMITH-AGREDA et al., 1985; PARRADO et al., 1988).

Segundo Pinheiro (2009) a dose é o parâmetro mais importante da fototerapia com laser, no entanto, um protocolo definitivo com relação à dosimetria da LLLT administrada e o uso nas diferentes situações clínicas ainda é alvo de discussões entre os pesquisadores.

Com o propósito de verificar a ação sistêmica do laser de diodo infravermelho com meio ativo GaAlAs (Arseneto de Gálio e Alumínio), com comprimento de onda de 830nm ($\lambda = 830\text{nm}$) e três diferentes doses/fluências (35J/cm^2 , 70J/cm^2 e 140J/cm^2), aplicado após inserção de implantes com superfície nanotexturizada, realizou-se esta pesquisa, a qual teve por objetivos:

- Avaliar alterações dos níveis séricos hormonais de triiodotironina (T_3), tiroxina (T_4) e dos níveis de cálcio e albumina no soro sanguíneo de coelhos que foram submetidos a irradiação por laser não ablativo (LLLT) na área de implantes imediatos colocados em alvéolos de incisivos inferiores recém extraídos.



2 ARTIGO I

O artigo a seguir intitula-se “*Effect of low-level laser therapy on peri-implant bone healing: a review of the literature*”; Foi formatado de acordo com as normas do periódico *Clinical Implant Dentistry and Related Research* (Anexo I) e submetido em 14 de novembro de 2012 (Anexo J).

Effect of low-level laser therapy on peri-implant bone healing: a review of the literature

Luciano Mayer¹ – Fernando Vacilotto Gomes² – Marília Gerhardt de Oliveira³ – João Batista Blessmann Weber⁴

¹ Specialist, Implant Dentistry; PhD Candidate, Oral and Maxillofacial Surgery and Traumatology – Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) School of Dentistry, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Specialist, Oral and Maxillofacial Surgery and Traumatology; Master's Candidate, Oral and Maxillofacial Surgery and Traumatology – Department of Surgery, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) School of Dentistry, Rio Grande do Sul, Brazil.

³ Research Fellow, National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); Oral and Maxillofacial Surgery Service, Hospital Cristo Redentor – Grupo Hospitalar Conceição (GHC), Rio Grande do Sul, Brazil.

⁴ Professor and Coordinator of the Department of Preventive Dentistry, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) School of Dentistry, Rio Grande do Sul, Brazil.

Conflict of interest: none to declare

Corresponding author:

João Batista Blessmann Weber

Faculdade de Odontologia - PUCRS

Av. Ipiranga, 6681 – Prédio 6, Partenon

90619-900

Porto Alegre, RS, Brazil

Phone: +55 51 3320-3562

Fax: + 55 51 3320-3626

jbbweber@terra.com.br

ABSTRACT

The use of low-level laser therapy (LLLT) as an adjunct to a variety of dental procedures is now a reality. In implant dentistry, LLLT has been increasingly studied and employed as an aid to bone repair and osseointegration. Research suggests that the biomodulatory action of laser can optimize bone repair and remodeling and, consequently, accelerate the osseointegration process. The aim of the present study was to conduct a review of the existing literature on LLLT and its effects on bone tissue repair and osseointegration of dental implants. The reviewed literature was consistent with wide variability in clinical use of LLLT in terms of dose, number of sessions, power, and wavelength. Nevertheless, most studies suggested positive effects of laser irradiation in their respective clinical settings. We conclude that further research on this topic is required, as is development of safe and predictable protocols to enable routine use of laser therapy in clinical implant dentistry. However, the positive biomodulatory effects of LLLT on the osseointegration process appear indisputable.

Keywords: laser therapy, low-level; dental implants; osseointegration; review.

INTRODUCTION

The advent of dental implants was a major advancement in rehabilitation of partially and fully edentulous arches. The replacement of lost teeth by implant-supported bridges has enabled improved physical and psychosocial rehabilitation for patients in whom the only option available previously was the use of removable prostheses.¹

Osseointegration implies a direct structural and functional connection between vital, organized bone and the surface of a titanium implant capable of functional loading. This phenomenon depends on a variety of factors and can be achieved with proper surgical implant installation technique. However, if osseointegration is to be maintained, the surgeon must respect the bone healing time required for adequate bone–implant integration.²

The effects of low-level laser therapy (LLLT) on the bone repair process and on peri-implant bone healing have been the object of extensive research. The aims of LLLT are to reduce postoperative discomfort, speed the peri-implant bone healing process and, potentially, exert a bactericidal effect.^{3, 4}

Dose is one of the key parameters of LLLT. However, definitive dosage protocols for LLLT in different clinical settings are still the subject of debate.⁵

Some preclinical studies have suggested that LLLT has favorable effects on bone healing,⁶⁻⁸ particularly peri-implant bone healing (osseointegration) after placement of titanium dental implants.^{3, 9-13} Investigations of the effect of laser therapy on the peri-implant bone healing process have shown greater evidence of bone maturation^{3, 10, 12-14} and greater bone-to-implant contact¹⁵ after laser irradiation than in non-irradiated control groups.

Therefore, laser therapy is believed to have potential beneficial effects on peri-implant bone repair¹⁶. These effects may be particularly useful for osseointegration of implants placed in regions with low-quality (low-density) bone tissue or of implants lacking primary stability, when used in the early stages of bone repair.^{12, 13}

Within this context, the objective of the present article was to review the literature on LLLT and the effects of its use on bone repair and osseointegration of dental implants.

LITERATURE REVIEW

Effects of LLLT on Bone Repair

Non-ablative lasers have been used for therapeutic purposes since the 1960s due to their characteristic interactions with tissues. Among other actions, low-level laser therapy has a major biomodulatory effect on the tissue healing process (Table 1). Its use is increasingly common in all areas of health care, but in the various fields of dentistry in particular. One clinical setting where laser irradiation can be beneficial is the bone tissue repair process, with good outcomes in terms of improvement in post-repair bone quality and speeding the healing process as a whole.^{6, 8, 9, 17-26}

In an experimental mouse study, scanning electron microscopy was used for histological analysis of tibial fracture repair after exposure to 632.8-nm HeNe laser at a dose of 2.4 J/cm² over one point, in a series of 12 treatments, the first shortly after fracture. The authors observed improvement in fracture healing, with an important increase in vascularization and faster formation of bone callus, with a dense trabecular net, as compared with the control group, which presented only chondroid tissue and poor vascularization consistent with the initial stage of bone consolidation. The authors believe laser might modulate osteocyte function, promoting faster metabolism and reaction of bone callus.¹⁷

Another study found that laser biomodulation of bone repair produced greater degrees of new bone formation and vertical regeneration as compared with non-irradiated controls, leading the authors to conclude that LLLT was indeed effective in promoting bone repair.²²

Application of low-level laser directly over the surgical wound is now a widely used technique. LLLT exerts a stimulatory effect on bone remodeling by dampening the initial inflammatory reaction and enabling rapid reconstitution of injured tissues. Histological assessment has shown that, after preparation of bone defects in the rat mandible, bone neoformation occurred in animals treated with LLLT and in non-irradiated controls as well, but animals in the irradiated group exhibited a more advanced tissue response compared to the control group, shortening the initial inflammatory reaction and promoting rapid bone matrix formation.²¹

In addition to facilitating the bone repair process, formation of a callus with increased density and volume, and increasing the bone mineral density of injured bone, laser therapy has been shown by some authors, using a rabbit tibial fracture model, to not only improve bone quantity and quality but also increase the speed of bone remodeling.²⁷

Effects of LLLT on Osseointegration of Dental Implants

Osseointegration has been an established fact since the 1960s studies of Per-Ingvar Brånemark, which advocated a specific protocol involving a waiting period of 4–6 months before rehabilitation with dental prosthetics, in an attempt to increase the success rate of the surgical procedure.²⁸ The search for a means of speeding the peri-implant healing process so as to decrease time between implant surgery and definitive restoration stimulated significant progress in implant dentistry, both concerning implant macrostructure and surface treatments.^{7, 9, 14, 29, 30} In view of the success of LLLT as a tool for accelerating or facilitating the bone repair process, some authors began to use this technology to aid peri-implant bone healing.^{10, 12-14, 31} The positive outcomes obtained with laser showed that it could also speed the osseointegration process, thus serving as an adjuvant therapeutic modality in oral rehabilitation with implant-supported prostheses.^{4, 9-14, 16, 32} (Table 2).

One study sought to assess the effects of low-level laser irradiation on osteocytes and bone resorption at implant sites. Five baboons were used as an animal model. Four holes were drilled in each iliac crest to receive implants. Those on the left side were irradiated with laser (690 nm, 100 mW, 1 min, 6 Joules) immediately after implant insertion. Five days after surgery, the bone was removed en bloc and evaluated histomorphometrically. The osteocyte count per unit area was higher in the irradiated group (109.8 vs. 94.8), as was osteocyte viability (41.7% vs. 34.4%). There were no between-group differences in bone resorption. The authors concluded that osteocyte viability was higher at irradiated sites in comparison with control sites. These findings suggest a positive effect on implant osseointegration.¹⁶ Another study, with similar findings, sought to evaluate the influence of LLLT on peri-implant bone healing in the tibiae of 12 rabbits. Analysis of the bone-implant contact (BIC) surface and of the bone-filled area (BA) around the implants was performed. Examination of histologic slides using the toluidine blue method showed that laser therapy increased BIC as compared with the control group, although the total bone area was similar in all groups.⁴

Another experimental study³³ using a rabbit model assessed the effects of LLLT with a GaAlAs laser (780 nm) on cylindrical hydroxyapatite implants placed into the femurs of 12 rabbits. Three and six weeks after implantation, histomorphometric and microhardness measurements were obtained, showing high affinity at the bone-implant interface. The authors also observed a significant difference in microhardness between the irradiated and control groups, which suggests that LLLT is able to enhance union at the bone-implant interface.

Other authors¹⁵ investigated the effects of LLLT with a 780-nm GaAlAs laser on peri-implant healing by using coin-shaped implants inserted into the tibiae of 12 rabbits. Histomorphometric analysis suggested a higher percentage of bone-implant contact in the irradiated group as compared with the control group. The percentages of calcium and

phosphorus were significantly higher in the irradiated group, suggesting faster bone maturation. The same authors investigated the effect of LLLT on the attachment, proliferation, differentiation and production of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) by human osteoblast-like cells. The results showed that, after exposure to LLLT, human osteoblast-like cells cultured on titanium had a tendency toward increased cellular attachment, proliferation, differentiation and production of TGF- β 1, indicating that in vitro laser therapy can modulate the activity of peri-implant cells and tissues.

Other investigations have shown that diode laser irradiation can increase bone regeneration and peri-implant bone healing after maxillary sinus grafting. One such study found a positive effect of LLLT on the osseointegration of maxillary implants, with higher bone-implant contact.¹⁰

By analyzing the effects of laser therapy on peri-implant repair in poor-quality bone and in implants with poor primary stability (that is, poor locking at the time of placement), some authors have found that LLLT can promote osseointegration of implants with poor initial stability, particularly when administered at the early stages of bone repair, usually within the first 2 weeks after surgery.¹² In another study using similar methods, in which implants were placed in the tibiae of 24 Wistar rats with poor initial stability, animals in the experimental group underwent six sessions of low-level infrared laser therapy (795 nm). Fourteen days after surgery, implant removal torque was indicative of greater bone-implant mechanical locking in the irradiated group.

DISCUSSION

The use of low-level laser therapy as an adjunct to a variety of dental procedures is now a reality. In implant dentistry, LLLT can help relieve postoperative symptoms such as

pain, edema and inflammation³⁴ providing greater comfort in the postoperative period, and can facilitate peri-implant bone healing, encouraging osseointegration.¹⁰

Analysis of the existing literature showed a lack of homogeneity in methods for LLLT irradiation,^{9, 11-14, 16, 31} mostly due to divergences in parameters such as wavelength, irradiation time, number of sessions, energy density, and power (Tables 1 and 2). Therefore, some basic protocols must be defined so as to ensure standardization of research and enable improved analysis, comparison, and reproducibility of results.

Of the various studies analyzed herein, some claim that the major effect seen in investigations of bone-implant contact occurs when primary stability is poor.^{12, 14}

Therefore, when initial stability is inadequate and thus endangers potential osseointegration of the implant during the months following surgery, laser therapy would be indicated to speed healing and prevent implant loss.

The studies analyzed in this review reported good peri-implant bone healing outcomes with LLLT in the preclinical setting. Most found positive physiological effects as determined by the use of techniques such as histomorphometric analysis, histology, and scanning electron microscopy.^{9-11, 15, 29, 31} On the other hand, few clinical studies have demonstrated the real effectiveness of laser on osseointegration, due to the ethical challenges of conducting such evaluations. One study of human subjects assessed the survival of implants placed in the posterior mandible of eight patients using a split-mouth design (one side irradiated, one side control). The implant stability quotient (ISQ) on both sides was measured during 14 days of LLLT. The authors found no macroscopic changes in stability in the control side as compared with the experimental side, and suggested that the main determinants of implant survival are good bone quality and adequate primary stability.¹⁴

Therefore, in animal models, where the methodological criteria for improvement are histological and histomorphometric (i.e. microscopic), changes are more overt, highlighting

the biomodulatory effects of laser.^{9-12, 15, 16} Conversely, in human studies, in which microscopic assessment is highly challenge and macroscopic, non-invasive assessment is required, more marked changes are not observed.¹⁴ This stresses the need for more specific assessments in human experimental models, with a view to analysis of the effects of LLLT on peri-implant bone healing at the cellular level, as these effects are positive in experimental models.

Lasers used for irradiation of bone tissue are in the infrared wavelength range, as their tissue-penetrating abilities are appropriate for this purpose. Conversely, red laser is used for treatment of more superficial structures, such as the skin, subcutaneous tissue and muscles. Another important issue is the systemic effect of LLLT, which is a subject of considerable research interest in the current literature, although many investigators still use experimental models in which one side acts as a control and the other is irradiated. Some authors have shown that local irradiation with a combination of red and infrared-range LLLT can produce systemic actions on the repair process of skin wounds produced on the back of rats, particularly during the first days of the healing process. These results strengthen the possibility that laser not only acts on the site of irradiation, but has systemic effects as well.³⁵

CONCLUSION

Several published studies have compared the use of LLLT as an adjunct to the osseointegration process. However, a specific protocol for its use in this setting has yet to be developed. Similarly, the literature is lacking in human studies of LLLT for this purpose, which would provide more concrete results on the real effect of low-level laser therapy on peri-implant bone healing. Nevertheless, the positive biomodulatory effect of LLLT on the osseointegration process appears indisputable.

REFERENCES

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Branemark PI. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg.* 1981 Dec;10(6):387-416.
2. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1977;16:1-132.
3. Shibli JA, Theodoro LH, Haypek P, Garcia VG, Marcantonio E, Jr. The effect of CO(2) laser irradiation on failed implant surfaces. *Implant Dent.* 2004 Dec;13(4):342-51.
4. Pereira CL, Sallum EA, Nociti FH, Jr., Moreira RW. The effect of low-intensity laser therapy on bone healing around titanium implants: a histometric study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009 Jan-Feb;24(1):47-51.
5. Pinheiro ALB, Oliveira MG, Martins PPM, Ramalho LMP, Oliveira MAM, Silva Junior AN, et al. Biomodulatory effects of LLLT on bone regeneration. *Laser Therapy.* 2001;13:73-9.
6. Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys.* 1989 May;56(5):691-704.
7. Pinheiro AL, Limeira Junior Fde A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA, et al. Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. *J Clin Lase Med Surg.* 2003 Oct;21(5):301-6.
8. Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg.* 2006 Feb;24(1):38-44.
9. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, Duarte J, Cristinamartins M. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a Raman spectroscopic study. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb;23(1):27-31.

10. Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res.* 2007 Aug;18(4):517-24.
11. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiyah S, Da Silva NS, Salgado MA. Infrared laser photobiomodulation (lambda 830 nm) on bone tissue around dental implants: a Raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):96-101.
12. Campanha BP, Gallina C, Geremia T, Loro RC, Valiati R, Hubler R, et al. Low-level laser therapy for implant without initial stability. *Photomed Laser Surg.* 2010 Jun;28(3):365-9.
13. Maluf AP, Maluf RP, Brito Cda R, Franca FM, de Brito RB, Jr. Mechanical evaluation of the influence of low-level laser therapy in secondary stability of implants in mice shinbones. *Lasers Med Sci.* 2010 Sep;25(5):693-8.
14. Garcia-Morales JM, Tortamano-Neto P, Todescan FF, de Andrade JC, Jr., Marotti J, Zezell DM. Stability of dental implants after irradiation with an 830-nm low-level laser: a double-blind randomized clinical study. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul;27(4):703-11.
15. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):325-32.
16. Dortbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. *Clin Oral Implants Res.* 2002 Jun;13(3):288-92.
17. Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. *Lasers Surg Med.* 1987;7(1):36-45.

18. Pinheiro AL, Limeira Junior Fde A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J.* 2003;14(3):177-81.
19. Lino MDMC, de Carvalho FB, Moraes MF, Cardoso JA, Pinheiro ALB, Ramalho LMP, editors. The effects of photobiomodulation on healing of bone defects in streptozotocin induced diabetic rats. *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE* 2011.
20. Gerbi ME, Pinheiro AL, Marzola C, Limeira Junior Fde A, Ramalho LM, Ponzi EA, et al. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. *Photomed Laser Surg.* 2005 Aug;23(4):382-8.
21. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med.* 2007 Dec;39(10):788-96.
22. Blaya DS, Guimaraes MB, Pozza DH, Weber JB, de Oliveira MG. Histologic study of the effect of laser therapy on bone repair. *J Contemp Dent Pract.* 2008;9(6):41-8.
23. Freddo AL, Rodrigo SM, Massotti FP, Etges A, de Oliveira MG. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep;24(5):721-8.
24. Kreisner PE, Blaya DS, Gaião L, Maciel-Santos ME, Etges A, Santana-Filho M, et al. Histological evaluation of the effect of low-level laser on distraction osteogenesis in rabbit mandibles. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010 Jul;15(4):e616-8.
25. Nascimento SB, Cardoso CA, Ribeiro TP, Almeida JD, Albertini R, Munin E, et al. Effect of low-level laser therapy and calcitonin on bone repair in castrated rats: a densitometric study. *Photomed Laser Surg.* 2010 Feb;28(1):45-9.

26. Korany NS, Mehanni SS, Hakam HM, El-Maghraby EM. Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (histological and morphometric studies). *Arch Oral Biol.* 2012 Jul;57(7):884-91.
27. Liu X, Lyon R, Meier HT, Thometz J, Haworth ST. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. *Photomed Laser Surg.* 2007 Dec;25(6):487-94.
28. Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969;3(2):81-100.
29. Khadra M. The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. *Swed Dent J Suppl.* 2005(172):1-63.
30. Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T, Branemark PI. Osseointegration of titanium implants. *Acta Orthop Scand.* 1986 Aug;57(4):285-9.
31. Kim YD, Kim SS, Hwang DS, Kim SG, Kwon YH, Shin SH, et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. *Lasers Surg Med.* 2007 Jun;39(5):441-50.
32. Pinheiro ALB, Sathaiiah S, Lopes CB, Duarte J, Martins MC, editors. *Laser biomodulation in bone implants: a Raman spectral study. Proceedings of SPIE; 2003; California: The International Society for Optical Engineering.*
33. Guzzardella GA, Torricelli P, Nicoli-Aldini N, Giardino R. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an in vivo comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 2003 Apr;14(2):226-32.
34. Ferrante M, Petrini M, Trentini P, Perfetti G, Spoto G. Effect of low-level laser therapy after extraction of impacted lower third molars. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul 28.

35. Rodrigo SM, Cunha A, Pozza DH, Blaya DS, Moraes JF, Weber JB, et al. Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair. *Photomed Laser Surg.* 2009 Dec;27(6):929-35.

Table 1. Studies of the effects of LLLT on bone healing.

Author	Year	Laser	Wavelength (nm)	Power (mW)	Total dose (J/cm²)	Effect on bone healing
Trelles & Mayayo ¹⁷	1987	Infrared	632	—	2,4	+
Pinheiro <i>et al.</i> ¹⁸	2003	Infrared	830	40	112	+
Gerbi <i>et al.</i> ²⁰	2005	Infrared	830	40	117	+
Lopes <i>et al.</i> ⁹	2005	Infrared	830	10	85	+
Weber <i>et al.</i> ⁸	2006	Infrared	830	50	70	+
Liu <i>et al.</i> ²⁷	2007	Infrared	830	200	40	+
Pretel <i>et al.</i> ²¹	2007	Infrared	780	35	178	+
Blaya <i>et al.</i> ²²	2008	Infrared	830	50	70	+
Freddo <i>et al.</i> ²³	2009	Infrared	830	50	70	+
Kreisner <i>et al.</i> ²⁴	2010	Infrared	830	40	70	+
Nascimento <i>et al.</i> ²⁵	2010	Infrared	830	10	20	+
Korany <i>et al.</i> ²⁶	2012	Infrared	830	75	—	+

Table 2. Studies of the effects of LLLT on osseointegration.

Author	Years	Laser	Wavelength (nm)	Power (mW)	Total dose (J/cm²)	Effect on osseointegration
Dörtbudak <i>et al.</i> ¹⁶	2002	Infrared	690	100	30	+
Pinheiro <i>et al.</i> ¹⁸	2003	Infrared	830	10	602	+
Lopes <i>et al.</i> ⁹	2005	Infrared	830	10	602	+
Jakse <i>et al.</i> ¹⁰	2007	Infrared	680	75	12	+
Kim <i>et al.</i> ³¹	2007	Infrared	830	96	40.32	+
Lopes <i>et al.</i> ¹¹	2007	Infrared	830	10	602	+
Pereira <i>et al.</i> ⁴	2009	Infrared	780	70	367.5	+
Campanha <i>et al.</i> ¹²	2010	Infrared	830	10	602	+
Maluf <i>et al.</i> ¹³	2010	Infrared	795	120	48	+
Garcia-Morales <i>et al.</i> ¹⁴	2012	Infrared	830	86	92.1	-



3 ARTIGO II

O artigo a seguir intitula-se “*Systemic effects of LLLT on thyroid function after titanium dental implant placement: an experimental rabbit model*”; Foi formatado de acordo com as normas do periódico *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* (Anexo K) e submetido em 14 de novembro de 2012 (Anexo L).

Systemic effects of LLLT on thyroid function after titanium dental implant placement: an experimental rabbit model

Luciano Mayer¹ – Fernando Vacilotto Gomes² – Carlos Eduardo Baraldi² – Fabrício Poletto Massotti² – Deise Ponzoni² – Marília Gerhardt de Oliveira³ – João Batista Blessmann Weber¹

¹ Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) School of Dentistry, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Department of Surgery, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) School of Dentistry, Rio Grande do Sul, Brazil.

³ National Council for Scientific and Technological Development (CNPq); Oral and Maxillofacial Surgery Service, Hospital Cristo Redentor - Grupo Hospitalar Conceição (GHC), Rio Grande do Sul, Brazil.

This study should be attributed to the Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) School of Dentistry, Rio Grande do Sul, Brazil

Faculdade de Odontologia - PUCRS

Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 6, Partenon

90619-900 Porto Alegre, RS, Brazil

Phone: + 55 (51) 3320-3562

Fax: +55 (51) 3320-3626

Corresponding author:

João Batista Blessmann Weber

Faculdade de Odontologia - PUCRS

Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 6, Partenon

90619-900 Porto Alegre, RS, Brazil

Phone: +55 (51) 3320-3562 / Fax: +55 (51) 3320-3626

jbbweber@terra.com.br

Keywords: Thyroid gland; laser therapy; low level; thyroid hormones; dental implant.

ABSTRACT

This study sought to assess the systemic effect of low-level laser therapy (LLLT) on thyroid function and, consequently, on calcium regulation by measurement of triiodothyronine (T_3), thyroxine (T_4), calcium, and albumin levels in rabbits. Forty male New Zealand rabbits were allocated randomly across five groups of eight each: CI (no LLLT, no surgery), CII (no LLLT), EI (70 J/cm²), EII (35 J/cm²) and EIII (140 J/cm²). In all groups except CI, animals underwent extraction of the mandibular left incisor followed by immediate placement of an osseointegrated implant. All experiment groups received infrared laser irradiation (GaAlAs, $\lambda=830$ nm, 50mW, CW) every 48h over 13 days, for a total of 7 sessions. T_3 , T_4 , calcium and albumin were measured in venous blood at four points in time (before surgery, immediately after surgery, after the first and after last LLLT sessions). Significant differences in T_3 and calcium levels were detected between study groups, as well as significant within-group differences in T_3 , T_4 , calcium, and albumin levels over time. Despite a significant effect on circulating serum levels of T_3 , T_4 , calcium and albumin, the LLLT protocol used in this study did not lead to impairment of thyroid function in a rabbit model.

INTRODUCTION

Laser-emitting devices are widely used by health professionals, mostly for therapeutic and diagnostic purposes. In dentistry in particular, the utility of lasers of different wavelengths for distinct indications in the field of oral health has enabled incorporation of laser technology into a wide range of clinical and surgical procedures.¹⁻³

Clinical use of low-level laser therapy (LLLT) is based on the ability of this treatment modality to exert stimulating effects on the molecular and biochemical processes that occur during tissue repair at the cellular level. Its therapeutic effects include increased epithelial proliferation, increased fibroblast proliferation and increased collagen synthesis, which can speed the healing process; improvement of bone remodeling and repair potential; restoration of neural function after injury; normalization of hormone function; regulation of the immune system; reduction of inflammation and edema; and modulation and relief of pain, including postoperative pain.⁴⁻¹¹

Many *in vivo* and *in vitro* studies have reported the beneficial effects of LLLT on the repair process in animal models and tissue cultures.^{10, 12-14} However, even though dose is the most important parameter of laser therapy,¹⁵ there is no definitive protocol for its application in different clinical settings; this remains a point of debate in the literature¹⁶⁻²⁵ (Table 01).

The biomodulatory effects of laser may also occur remotely from the site of irradiation.²⁶ Therefore, LLLT may lead to effects on organs far from the actual site of application (systemic effects). The literature suggests that LLLT may have repercussions on endocrine function due to potential effects on the secretory glands,²⁷ including the thyroid gland. The hormones secreted by the thyroid gland, triiodothyronine and thyroxine, play a major role in the regulation of metabolism.²⁸

Studies on the effect of infrared laser irradiation on the thyroid gland have shown increased mitotic activity in follicular cells, transient hyperactivity of some thyroid follicles,²⁹ and changes in circulating serum levels of the thyroid hormones triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄).³¹

The objective of this study was to assess the systemic effect of LLLT on thyroid gland function by measurement of circulating levels of triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), calcium and albumin in rabbit serum after low-level laser irradiation as an adjunctive therapy for osseointegration of implants placed immediately into fresh extraction sockets.

MATERIALS AND METHODS

This study sought to assess the systemic effect of LLLT on thyroid function by measurement of serum triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), calcium, and albumin levels on serially collected blood samples. Tests were carried out on samples collected at four different points in time, enabling comparison among groups. Baseline characteristics are expressed as absolute frequencies (nominal variables), means and standard deviations (Fig. 03, Fig. 04, Fig. 05 and Fig. 06). The significance level was set at 5% ($p < 0.05$) for all analyses. Animals in control group CI did not undergo any surgical procedures, those in control group CII underwent the same procedures performed on experiment group animals and neither control group (CI and CII) was exposed to LLLT. Although they did not receive laser irradiation, animals in the control groups were subjected to the same manipulation as animals in the experiment groups, as well as sham irradiation with the laser unit unpowered.

Sample

Forty New Zealand male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), aged 3 months and weighing 3–4 kg, were used. Animals were allocated randomly into five distinct groups of eight rabbits: three experiment groups, EI, EII and EIII, and two control groups, CI (no LLLT and no surgery) and CII (no LLLT). Animals were fed solid chow (Purina[®], Nestlé Purina Petcare, St. Louis, MO, USA) and water *ad libitum* throughout the experiment and were kept in a climate-controlled environment, under normal lighting, humidity, and temperature conditions. Rabbits in the experiment groups (EI, EII and EIII) and control group CII underwent surgical extraction of the mandibular left incisor and immediate placement of an osseointegrated implant, creating a condition of equality between groups at baseline. Animals in group CI did not undergo any procedures other than blood collection and sham surgery/sham irradiation, and thus served as an absolute control for triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), calcium and albumin measurements (Table 02).

Operative technique

General anesthesia was induced with ketamine hydrochloride (Dopalen[®], Ceva Santé Animale, Libourne, France) 40 mg/kg and xylazine hydrochloride (Anasedan[®], Ceva Santé Animale, Libourne, France) 3 mg/kg by intramuscular injection (IM). The mandibular left incisor region was disinfected with chlorhexidine digluconate 2% (FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brazil) and anesthetized by local infiltration of 0.5 mL lidocaine 2% with epinephrine 1:100,000 (Fig. 01-A), and the tooth extracted with the aid of #5 pediatric extraction forceps (Edlo S/A, Canoas, RS, Brazil) (Fig. 01-B). The implant socket was prepared with sequentially sized drills, according to manufacturer instructions, for placement of a nanoparticle-treated-surface osseointegrated implant (3.25ø x 11.5mm, NanoTite™, Biomet 3i, Florida, USA) into the prepared socket (Fig. 01-C and Fig. 01-D).

The surgical wound was closed with 4-0 nylon monofilament (Ethicon[®], Johnson & Johnson, Somerville, NJ, USA) (Fig. 01-E). At the end of the procedure, animals were shaved and tattooed with a surgical marker (Codman[®], Johnson & Johnson, New Jersey, USA) on the body of the mandible, over the region corresponding to the long axis of the dental implant, creating a target for laser irradiation (Fig. 01-F) and it was made a control RX to confirm the implant position (Fig. 02-A). Immediately after the procedure and 24 hours later, animals received tramadol (5 mg/kg IM) for analgesia and enrofloxacin (5 mg/kg IM, once daily for 3 days) for antibiotic prophylaxis.

Laser irradiation

Laser therapy was performed with a GaAlAs infrared diode laser, wavelength 830 nm, power 50 mW, in continuous emission mode (Thera Lase[®], DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brazil). In the experiment groups, the irradiation protocol was started immediately after extraction of the mandibular left incisor and placement of the osseointegrated implant. Non-irradiated animals (control groups CI and CII) underwent sham irradiation with the laser device unpowered. Irradiation was performed every 48 hours for a total of seven sessions over 13 days. The total dose per session was divided across two points – one medial and one lateral to the long axis of the implant as marked on the overlying skin. The laser handpiece was held perpendicular to the basal mandibular bone.

Animals in group EI received a total dose of 70 J/cm² at an energy density of 5 J/cm² per point (index dose), over an irradiation time of 101 s (irradiation time is adjusted automatically by the laser unit after the other parameters have been set), for a dose of 10 J/cm² per session. Animals in group EII received half the index dose (2.5 J/cm² per spot, irradiation time 51 s, for a total dose of 5 J/cm² per session). Animals in group EIII received

double the index dose (10 J/cm² per spot, over 201 s, for a total dose of 20 J/cm² per session) (Fig. 02-B, Table 02).

Laboratory tests

Serum levels of triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), calcium and albumin were measured in all animals at four points in time: Time 1 - 72 hours before dental extraction/implant placement, Time 2 - immediately after surgery, Time 3 - 72 hours after the first LLLT session, and Time 4 - 72 hours after the last LLLT session. Blood samples (3 mL per collection) were obtained by venipuncture of the external jugular (Fig. 02-C). Blood was collected into anticoagulant-free Vacutainer™ tubes (BD-Vacutainer®, Pediatric Systems, Becton & Dickinson Co. Franklin Lakes, NJ, USA) and sent under refrigeration to the Veterinary Clinical Chemistry Laboratory, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (LacVet - UFRGS, Porto Alegre, Brazil), for measurement of T₃ (ng/dL), T₄ (µg/dL), calcium and albumin (mg/dL).

Statistical analysis

Statistical analyses were performed in SPSS® 17.0 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and SAS® 8.0 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The level of significance was set at 5% (p≤0.05). Repeated measures analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post-hoc multiple comparisons test was used for between-subject and between-group comparison of laboratory values.

RESULTS

Separate assessment of each of the laboratory parameters of interest showed that only T_3 and calcium levels were significantly altered in relation to LLLT therapy; however, over the course of the experiment, there were significant within-group differences in albumin levels in all groups, including the control groups (CI and CII) (Table 03).

Analysis of calcium levels revealed that, in addition to within-group differences over time, statistically significant differences also occurred between the control (CI and CII) and LLLT groups at the first and last time points of assessment. Between-group comparisons showed a significant difference in calcium levels at time point 4 between LLLT groups and control groups (CI and CII), as well as significant differences between groups EI and EIII, each of which received a different dose of laser radiation (Table 03).

Significant differences in the behavior of T_3 levels were detected over time in groups CII and EI and between groups at time point 4, i.e. at the end of the experiment (72 hours after the last LLLT session) (Table 03).

Significant differences in T_4 levels over time were found in groups CI, CII, and EII. Within-group comparisons showed no statistically significant or clinically relevant changes that could be attributed to laser therapy or surgical intervention.

DISCUSSION

A rabbit model was chosen for this study, as in some previous investigations,¹⁷⁻²⁰ due to the ease of handling, surgical preparation, postoperative follow-up and, particularly, the adequate size of these animals, which enabled use of conventional implants (i.e. those available for use in humans) and collection of the blood volumes required for laboratory analysis. Rats or mice would not permit the proposed methodology because their small size¹⁶,

^{23, 24}. As for implant placement in fresh incisor extraction sockets, we chose this region instead of the more common tibia model because it provides the experimental model closest to situations encountered by dentists in clinical practice. This method is also more reliable, as the mandibular alveolar bone is subjected to forces that are quite different from those to which the rabbit tibia is subjected.³²

In accordance with the most recent literature, we used an infrared laser,¹⁶⁻²⁵ with a wavelength of 830 nm^{17, 19-24} and power of 50 mW, which was applied to two sites near (not directly over) the mandibular implant placed in the experiment group animals. Seven sessions of irradiation were performed^{17, 19, 21, 22} every 48 hours, using different doses in each group. The use of a completely unexposed control group, i.e. one that did not receive LLLT, only sham irradiation, enabled assessment of the systemic effects of laser therapy, which would not have been possible with a split-mouth design³ or a subject-as-own-control design.¹⁸

LLLT has proven efficacy and benefit in several dental procedures. However, due to its wide use by practitioners and the lack of a well-defined protocol for different treatment types, the effects of LLLT on anatomical structures and its clinical applications have been the object of extensive research interest. Among the countless indications for LLLT reported in the literature, several stand out, including irradiation of extraction sockets^{1, 4, 6} modulation of skin wound healing,^{7, 10, 13, 26, 33} regeneration of nervous tissue,^{9, 26} and enhancement of peri-implant tissue repair after implant placement.^{3, 16-24}

Some authors have reported morphological and functional changes after laser irradiation of the thyroid gland.^{29, 31, 34} These findings prompted the present study, as the thyroid is located near the mandibular region, a frequent site of irradiation in many dental procedures involving the use of laser therapy. In the experimental model used in this study, LLLT did indeed lead to changes in T₃, T₄, calcium, and albumin levels. In short, there were

significant between-group differences in T₃ and calcium levels, whereas the other parameters remained essentially similar between groups. Therefore, LLLT had an influence on thyroid hormone levels, in addition to variations occurring over time during the experiment period.

To provide an index baseline clinical condition for laser therapy in this experiment, all animals in control group CII and experiment groups EI, EII, and EIII underwent extraction of the mandibular left incisor and immediate placement of an osseointegrated implant, always performed by the same operator and using the same operative technique. Likewise, the anterior region of the mandible was chosen as the area of intervention because laser irradiation of this site could lead to indirect exposure of the thyroid gland, as laser energy applied to a well-defined area can reach deeper planes as well to exert both local and systemic effects.^{26,33,35} We chose to include group CI as an absolute control of T₃, T₄, calcium, and albumin levels, as these animals were not subjected to surgical intervention or laser therapy, only blood collection. This design decision was meant to eliminate any potential changes in laboratory values that could be attributed to surgical intervention. Although these animals did not receive any treatment, they provided a reference standard against which laboratory values from experiment group animals (operated, irradiated, and non-irradiated) could be compared.

In light of the possibility of systemic effects of LLLT^{26,33} due to photobiomodulatory action in structures remote from the application site, the sample was divided into separate, distinct control and experiment groups. In some previous animal studies which have, conversely, used a split-mouth, subject-as-own-control design^{18,25} and similar studies in humans,³ outcomes in the experimental side were similar to those of the control side. An influence of the systemic effects of laser therapy on these outcomes cannot be ruled out.

In this study, we used a GaAlAs diode laser ($\lambda=830\text{nm}$) due to its greater tissue penetration. Infrared lasers can penetrate deeper into the subcutaneous tissues due to poor absorption by water and skin pigments.^{2, 36}

Thyroid function is usually assessed by measurement of baseline serum levels of thyroid hormones. Radioimmunoassay (RIE) is one of several methods available for hormone measurement, and has been used by some investigators for determination of circulating T_3 and T_4 concentrations.^{31, 34} The RIE is based on observation of a reaction between antibodies and soluble antigens to form an antigen–antibody precipitate or an insoluble aggregate. The advantages of this technique include high sensitivity for detection of antigens at low concentrations and greater ease of batch testing, as the tubes provided in most RIE kits are coated with the specific antibody required for the assay, thus cutting down on manual operations, facilitating the separation process and reducing the odds of error.³⁷

Variations in T_3 and T_4 levels would trigger a cascade of events that would, in turn, lead to changes in circulating calcium levels, which justifies their measurement. Likewise, albumin levels are also relevant, as 50% to 80% of circulating T_3 and T_4 in rabbits and rodents is albumin-bound; the rest is free in plasma.³⁸

The statistical tests employed in this study showed significant differences in thyroid hormone levels after LLLT, differing from the findings of Lerma *et al.*,³⁴ who analyzed the effects of HeNe laser on the thyroid gland in Wistar rats and found no concrete evidence of changes in serum levels of thyroid hormones. Likewise, Fronza *et al.*³⁵ found no significant differences in serum T_3 and T_4 levels between control and experiment groups before or after LLLT, showing that laser therapy did not affect thyroid function, as measured by circulating thyroid hormone levels, in a rabbit experimental model. However, our findings do corroborate those of Azevedo *et al.*,³¹ who administered LLLT ($\lambda=780\text{ nm}$) over the thyroid gland in

Swiss mice. The authors found significant differences in T₃ and T₄ levels between the first day of laser irradiation and the seventh day after the last session.

To assess within-subject variability, each animal underwent T₃, T₄, calcium, and albumin measurement with and without laser exposure at different points in time. This method enabled comparison of values obtained before, during, and after administration of the LLLT protocol in each study group.

Notably, the use of different LLLT protocols hinders interpretation of the effects of laser on thyroid gland function, as well as comparison of the values of other variables between studies. We agree with Basford,² Belkin and Schwartz,³⁹ and Schindl *et al.*⁴⁰ in their assessment that better-defined protocols are needed to improve the reliability of comparisons, thus enabling proper conduction of studies that can ascertain the true effects of laser radiation on living tissues, organs and systems.

Although the results of this study are encouraging and indicative of the viability of safe laser irradiation of regions near the thyroid gland, further studies with different sample sizes, laser dosages and power settings, and periods of irradiation are warranted to provide a better understanding of the effects of LLLT on thyroid function.

CONCLUSIONS

Despite statistically significant effects on circulating serum levels of triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), calcium and albumin, the LLLT protocol used in this study did not lead to impairment of thyroid function in rabbits. Animals in the 140 J/cm² group (experimental group EIII) exhibited behavior closest to that of non-irradiated controls.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank:

The staff at the Veterinary Clinical Chemistry Laboratory, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, particularly Dr. Viviane Marques Guyoti, DVM, and Dr. Félix H. D. González, DVM; the Animal Experimentation Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, particularly Dr. Fabíola Schons Meyer, DVM, and Marta Justina Giotti Cioato, RN; Hospital de Clínicas de Porto Alegre for financial support through its Research and Event Incentive Fund (FIPE), which made possible the experimental portion of this study; and Prof. João Feliz de Moraes, ScD, of the PUCRS School of Mathematics, for his assistance with statistical analyses.

Author Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

Ethical approval

This study was approved by the Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) Research Ethics Committee with protocol no. 0002/11 (26 January 2011) and by the PUCRS Animal Experimentation Ethics Committee with protocol no. 11/00235 (21 July 2011). All study procedures were in compliance with the Brazilian Ethical Principles for Animal Experimentation, as set forth in Law 11.794 of 8 October 2008 (the Arouca Act), and the Ethical Principles of Experimental Research described by the Brazilian Society for Laboratory Animal Science (formerly the Brazilian College of Animal Testing).

Source of Funding

CNPq (National Council for Scientific and Technological Development)

FIPE-UFRGS (Research and Event Incentive Fund)

REFERENCES

1. Kucerova H, Dostalova T, Himmlova L, Bartova J, Mazanek J. Low-level laser therapy after molar extraction. *J Clin Laser Med Surg.* 2000 Dec;18(6):309-15.
2. Basford JR. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med.* 1995;16(4):331-42.
3. Garcia-Morales JM, Tortamano-Neto P, Todescan FF, de Andrade JC, Jr., Marotti J, Zezell DM. Stability of dental implants after irradiation with an 830-nm low-level laser: a double-blind randomized clinical study. *Lasers Med Sci.* 2012 Jul;27(4):703-11.
4. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988 Dec;17(6):388-91.
5. Rigau I Mas J, al. e. Changes in fibroblast proliferation and metabolism following “in vitro” helium-neon laser irradiation. *Laser Therapy.* 1991;3:25-33.
6. Silva Junior AN, Pinheiro AL, Oliveira MG, Weismann R, Ramalho LM, Nicolau RA. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. *J Clin Laser Med Surg.* 2002 Apr;20(2):83-7.
7. do Nascimento PM, Pinheiro AL, Salgado MA, Ramalho LM. A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. *Photomed Laser Surg.* 2004 Dec;22(6):513-8.
8. Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg.* 2006 Feb;24(1):38-44.

9. Mohammed IF, Al-Mustawfi N, Kaka LN. Promotion of regenerative processes in injured peripheral nerve induced by low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):107-11.
10. Soares LP, Oliveira MG, Pinheiro AL, Fronza BR, Maciel ME. Effects of laser therapy on experimental wound healing using oxidized regenerated cellulose hemostat. *Photomed Laser Surg.* 2008 Feb;26(1):10-3.
11. Freddo AL, Rodrigo SM, Massotti FP, Etges A, de Oliveira MG. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep;24(5):721-8.
12. Azevedo LH, de Paula Eduardo F, Moreira MS, de Paula Eduardo C, Marques MM. Influence of different power densities of LILT on cultured human fibroblast growth : a pilot study. *Lasers Med Sci.* 2006 Jul;21(2):86-9.
13. Corazza AV, Jorge J, Kurachi C, Bagnato VS. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):102-6.
14. de Oliveira RF, Oliveira DA, Monteiro W, Zangaro RA, Magini M, Soares CP. Comparison between the effect of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasonic irradiation in vitro. *Photomed Laser Surg.* 2008 Feb;26(1):6-9.
15. Pinheiro AL. Advances and perspectives on tissue repair and healing. *Photomed Laser Surg.* 2009 Dec;27(6):833-6.
16. Maluf AP, Maluf RP, Brito Cda R, Franca FM, de Brito RB, Jr. Mechanical evaluation of the influence of low-level laser therapy in secondary stability of implants in mice shinbones. *Lasers Med Sci.* 2010 Sep;25(5):693-8.

17. Campanha BP, Gallina C, Geremia T, Loro RC, Valiati R, Hubler R, et al. Low-level laser therapy for implants without initial stability. *Photomed Laser Surg.* 2010 Jun;28(3):365-9.
18. Pereira CL, Sallum EA, Nociti FH, Jr., Moreira RW. The effect of low-intensity laser therapy on bone healing around titanium implants: a histometric study in rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009 Jan-Feb;24(1):47-51.
19. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, Da Silva NS, Salgado MA. Infrared laser photobiomodulation (λ 830 nm) on bone tissue around dental implants: a Raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):96-101.
20. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2004 Jun;15(3):325-32.
21. Lopes CB, Pinheiro AL, Sathaiah S, Duarte J, Cristinamartins M. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a Raman spectroscopic study. *Photomed Laser Surg.* 2005 Feb;23(1):27-31.
22. Pinheiro ALB, Sathaiah S, Lopes CB, Duarte J, Martins MC, editors. *Laser biomodulation in bone implants: a Raman spectral study.* International Congress Series; 2003.
23. Kim YD, Kim SS, Hwang DS, Kim SG, Kwon YH, Shin SH, et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. *Lasers Surg Med.* 2007 Jun;39(5):441-50.
24. Kim YD, Kim SS, Hwang DS, Kim SG, Kwon YH, Shin SH, et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of

vascular endotelial growth fator: an experimental study in rats. *Laser Phys Lett*.

2007;4(9):681-5.

25. Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res*. 2007

Aug;18(4):517-24.

26. Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. *Lasers Surg Med*. 1989;9(2):174-82.

27. Smith-Agreda V, al. e. Aportaciones al estudio de las interacciones morfoquímicas de las células adenohipofisarias tras la estimulación con laser He/Ne 632,8 nm de baja potencia. *Investigacion y Clinica Laser*. 1985;2:51-62.

28. Fisher DA. Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations. *Clin Chem*. 1996 Jan;42(1):135-9.

29. Parrado C, al. e. Quantitative study of the morphological changes in the thyroid gland following IR laser radiation. *Lasers in Medical Science*. 1990;5 (77):77-80.

30. Parrado C, Carrillo de Albornoz F, Vidal L, Perez de Vargas I. A quantitative investigation of microvascular changes in the thyroid gland after infrared (IR) laser radiation. *Histol Histopathol*. 1999 Oct;14(4):1067-71.

31. Azevedo LH, Aranha AC, Stolf SF, Eduardo Cde P, Vieira MM. Evaluation of low intensity laser effects on the thyroid gland of male mice. *Photomed Laser Surg*. 2005 Dec;23(6):567-70.

32. de Jong WC, Korfage JA, Langenbach GE. Variations in habitual bone strains in vivo: long bone versus mandible. *J Struct Biol*. 2010 Dec;172(3):311-8.

33. Rodrigo SM, Cunha A, Pozza DH, Blaya DS, Moraes JF, Weber JB, et al. Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair. *Photomed Laser Surg.* 2009 Dec;27(6):929-35.
34. Lerma E, Hevia A, Rodrigo P, Gonzalez-Campora R, Armas JR, Galera H. The effect of HeNe laser radiation on the thyroid gland of the rat. *Int J Exp Pathol.* 1991 Aug;72(4):379-85.
35. Fronza B, Somacal T, Mayer L, de Moraes J, de Oliveira M, Weber J. Assessment of the systemic effects of LLLT on thyroid hormone function in a rabbit model. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013.
36. Kolávorá H, Ditrichova D, Wagner J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. *Lasers Surg Med.* 1999;24(3):231-5.
37. Steinbeck M, Wyner L. Immunoassay and Related Principles. In: Anderson S, Cockayne S, editors. *Clinical Chemistry – Concepts and Applications*: W. B. Saunders; 1993. p. 96-9.
38. Kaneko JJ, al. e. *Clinical biochemistry of domestic animals.* 6 ed. New York: Academic; 2008.
39. Belkin M, Schwartz M. New biological phenomena associated with laser radiation. *Health Phys.* 1989 May;56(5):687-90.
40. Schindl A, Schindl M, Pernerstorfer-Schon H, Schindl L. Low-intensity laser therapy: a review. *J Investig Med.* 2000 Sep;48(5):312-26.

TABLES

Table 01. Low-level laser therapy (LLLT) protocols used in previous studies

Authors	Year	Laser type	Animal model	Sample size	Wavelength (nm)	Power (mW)	Dose per session (J/cm²)	Total dose (J/cm²)	No. of sessions
Pinheiro <i>et al.</i> ²²	2003	Infrared	Rabbit	14	830	10	86	602	7
Khadra <i>et al.</i> ²⁰	2004	Infrared	Rabbit	12	830	150	27	270	10
Lopes <i>et al.</i> ²¹	2005	Infrared	Rabbit	14	830	10	86	602	7
Jakse <i>et al.</i> ²⁵	2007	Infrared	Sheep	12	680	75	4	12	3
Kim <i>et al.</i> ²³	2007	Infrared	Rat	20	830	96	6.75	40.32	7
Kim <i>et al.</i> ²⁴	2007	Infrared	Rat	20	830	96	6.75	40.32	7
Lopes <i>et al.</i> ¹⁹	2007	Infrared	Rabbit	14	830	10	86	602	7
Pereira <i>et al.</i> ¹⁸	2009	Infrared	Rabbit	12	780	70	52.5	367.5	7
Campanha <i>et al.</i> ¹⁷	2010	Infrared	Rabbit	30	830	10	86	602	7
Maluf <i>et al.</i> ¹⁶	2010	Infrared	Rat	24	795	120	8	48	6

Table 02. Study parameters

	Control groups		Experimental groups		
	CI group	CII group	EI group	EII group	EIII group
	(n = 8)	(n = 8)	(n = 8)	(n = 8)	(n = 8)
Surgical extraction	---	Mand. left incisor	Mand. left incisor	Mand. left incisor	Mand. left incisor
Dental implant placement	---	yes	yes	yes	yes
Light source type	---	---	Laser (GaAlAs)	Laser (GaAlAs)	Laser (GaAlAs)
Average power (mW)	---	---	50	50	50
Wavelength (nm)	---	---	830	830	830
Pulse parameters	---	---	CW	CW	CW
Irradiation points	0	0	2	2	2
No. applications per point	0	0	1	1	1
Energy per point (J/cm ²)	0	0	5	2.5	10
Total energy density (J/cm ²)	0	0	10	5	20
Irradiation time per point (s)	0	0	101	51	201
Total dose (J/cm ²)	0	0	70	35	140

Table 03. Statistical analysis: results of serum T₃, T₄, calcium, and albumin measurement. Baseline levels expressed as mean ± standard deviations. Means followed by different uppercase superscript letters across the same row denote significant differences. Means followed by different lowercase superscript letters across the same column denote significant differences on repeated measures. Analysis of variance (ANOVA) with Tukey’s multiple comparisons test, for a significance level of 5% (p≤0.05).

	Group	Time point 1	Time point 2	Time point 3	Time point 4
Triiodothyronine (T ₃)	CI – 0 J/cm ²	162.07 ± 30.04 ^{A-a}	151.97 ± 15.30 ^{A-a}	151.89 ± 22.41 ^{A-a}	165.04 ± 20.43 ^{A-b}
	CII – 0 J/cm ²	143.07 ± 17.42 ^{B-a}	168.98 ± 23.19 ^{AB-a}	181.57 ± 23.63 ^{AB-a}	198.64 ± 52.62 ^{A-ab}
	EI – 70 J/cm ²	163.42 ± 26.86 ^{B-a}	193.90 ± 28.62 ^{AB-a}	165.68 ± 43.81 ^{B-a}	223.86 ± 40.26 ^{A-a}
	EII – 35 J/cm ²	144.32 ± 13.34 ^{A-a}	175.64 ± 25.15 ^{A-a}	179.23 ± 40.07 ^{A-a}	163.02 ± 22.85 ^{A-b}
	EIII – 140 J/cm ²	166.72 ± 39.68 ^{A-a}	182.80 ± 19.05 ^{A-a}	185.94 ± 38.77 ^{A-a}	196.96 ± 52.35 ^{A-ab}
Thyroxine (T ₄)	CI – 0 J/cm ²	2.56 ± 0.71 ^{AB-a}	2.29 ± 0.35 ^{B-a}	2.98 ± 0.67 ^{AB-a}	3.29 ± 0.19 ^{A-a}
	CII – 0 J/cm ²	2.30 ± 0.56 ^{B-a}	3.03 ± 0.56 ^{AB-a}	2.69 ± 0.66 ^{AB-a}	3.18 ± 0.65 ^{A-a}
	EI – 70 J/cm ²	2.40 ± 0.83 ^{A-a}	2.73 ± 0.85 ^{A-a}	2.75 ± 0.79 ^{A-a}	3.12 ± 0.84 ^{A-a}
	EII – 35 J/cm ²	2.19 ± 0.73 ^{B-a}	3.05 ± 0.79 ^{A-a}	3.29 ± 0.92 ^{A-a}	3.07 ± 0.47 ^{A-a}
	EIII – 140 J/cm ²	2.75 ± 0.82 ^{A-a}	3.29 ± 0.93 ^{A-a}	3.39 ± 1.20 ^{A-a}	3.37 ± 0.71 ^{A-a}

Calcium	CI – 0 J/cm ²	14.01 ± 1.02 ^{A-a}	13.82 ± 0.62 ^{A-a}	13.67 ± 0.72 ^{A-a}	13.72 ± 0.70 ^{A-ab}
	CII – 0 J/cm ²	12.82 ± 0.27 ^{A-b}	13.63 ± 0.75 ^{A-a}	13.53 ± 0.19 ^{A-a}	13.65 ± 0.62 ^{A-ab}
	EI – 70 J/cm ²	13.05 ± 0.32 ^{C-ab}	13.95 ± 0.55 ^{AB-a}	13.79 ± 0.27 ^{BC-a}	14.46 ± 0.47 ^{A-a}
	EII – 35 J/cm ²	13.47 ± 0.34 ^{B-ab}	14.41 ± 0.55 ^{A-a}	13.91 ± 0.31 ^{AB-a}	13.59 ± 0.70 ^{AB-ab}
	EIII – 140 J/cm ²	13.81 ± 0.26 ^{AB-ab}	14.39 ± 0.28 ^{A-a}	13.43 ± 0.30 ^{B-a}	13.41 ± 0.73 ^{B-b}
Albumin	CI – 0 J/cm ²	42.23 ± 1.48 ^{B-a}	45.31 ± 2.61 ^{AB-a}	42.36 ± 5.69 ^{B-a}	46.99 ± 3.92 ^{A-a}
	CII – 0 J/cm ²	41.46 ± 2.93 ^{B-a}	46.38 ± 2.19 ^{AB-a}	45.71 ± 2.01 ^{B-a}	50.26 ± 2.16 ^{A-a}
	EI – 70 J/cm ²	41.89 ± 1.62 ^{B-a}	46.94 ± 1.80 ^{A-a}	46.13 ± 2.33 ^{AB-a}	48.47 ± 2.09 ^{A-a}
	EII – 35 J/cm ²	41.31 ± 2.26 ^{B-a}	45.10 ± 2.07 ^{AB-a}	46.14 ± 1.52 ^{A-a}	46.86 ± 2.82 ^{A-a}
	EIII – 140 J/cm ²	41.93 ± 1.39 ^{B-a}	44.36 ± 2.13 ^{AB-a}	46.43 ± 2.09 ^{A-a}	47.28 ± 2.51 ^{A-a}

FIGURES

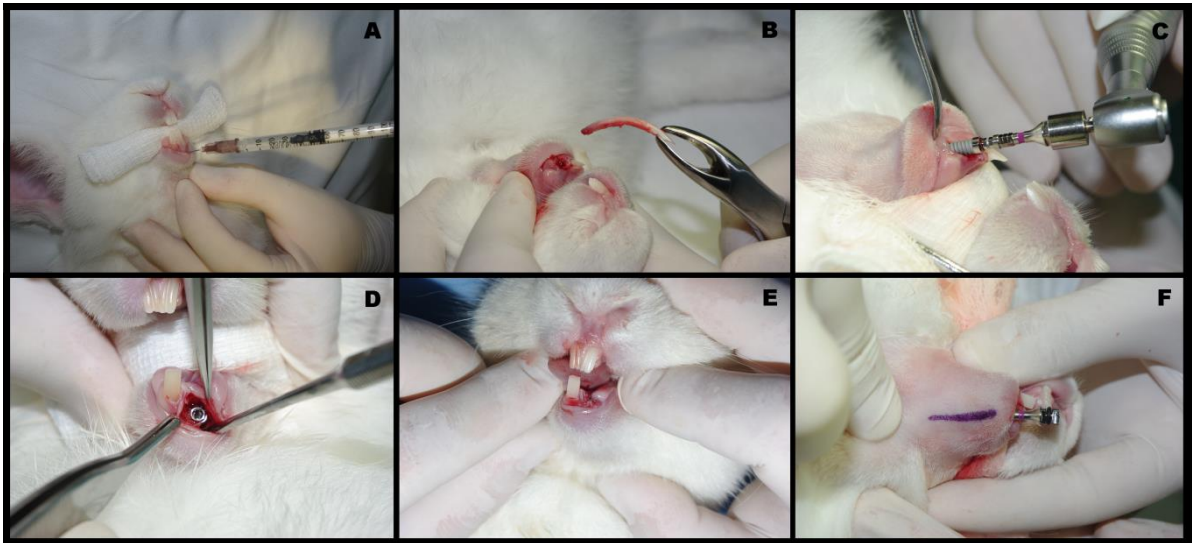


Figure 01. Surgical procedure: A) Local anesthesia with 0.5 mL lidocaine 2% with epinephrine 1:100,000; B) Extraction of the mandibular left incisor with #5 pediatric extraction forceps; C) Placement of a 3.25 \times 11.5mm osseointegrated implant (NanoTite[®]) into the fresh extraction socket; D) Occlusal view after implant placement; E) Wound closure with 4-0 monofilament nylon sutures; F) Long axis of the implant tattooed onto skin with surgical marker to guide LLLT.

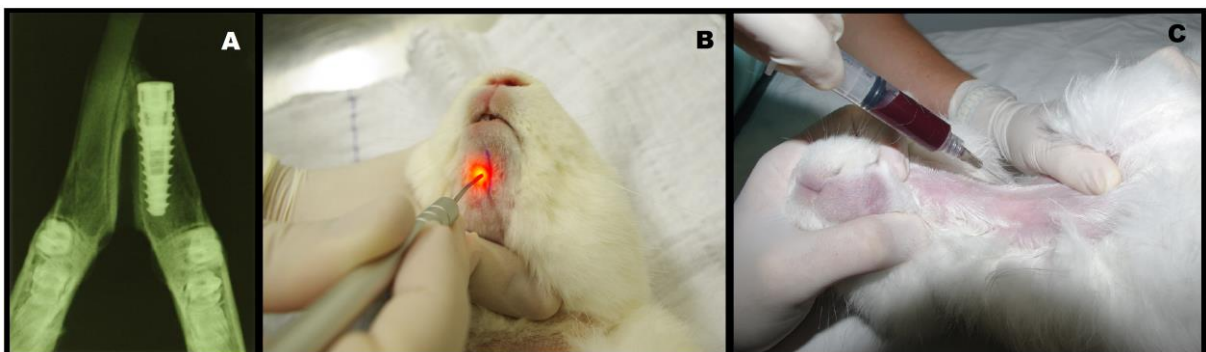


Figure 02. A) Control RX of implant position; B) Administration of LLLT; C) Collection of venous blood (3 mL) by puncture of the external jugular vein.

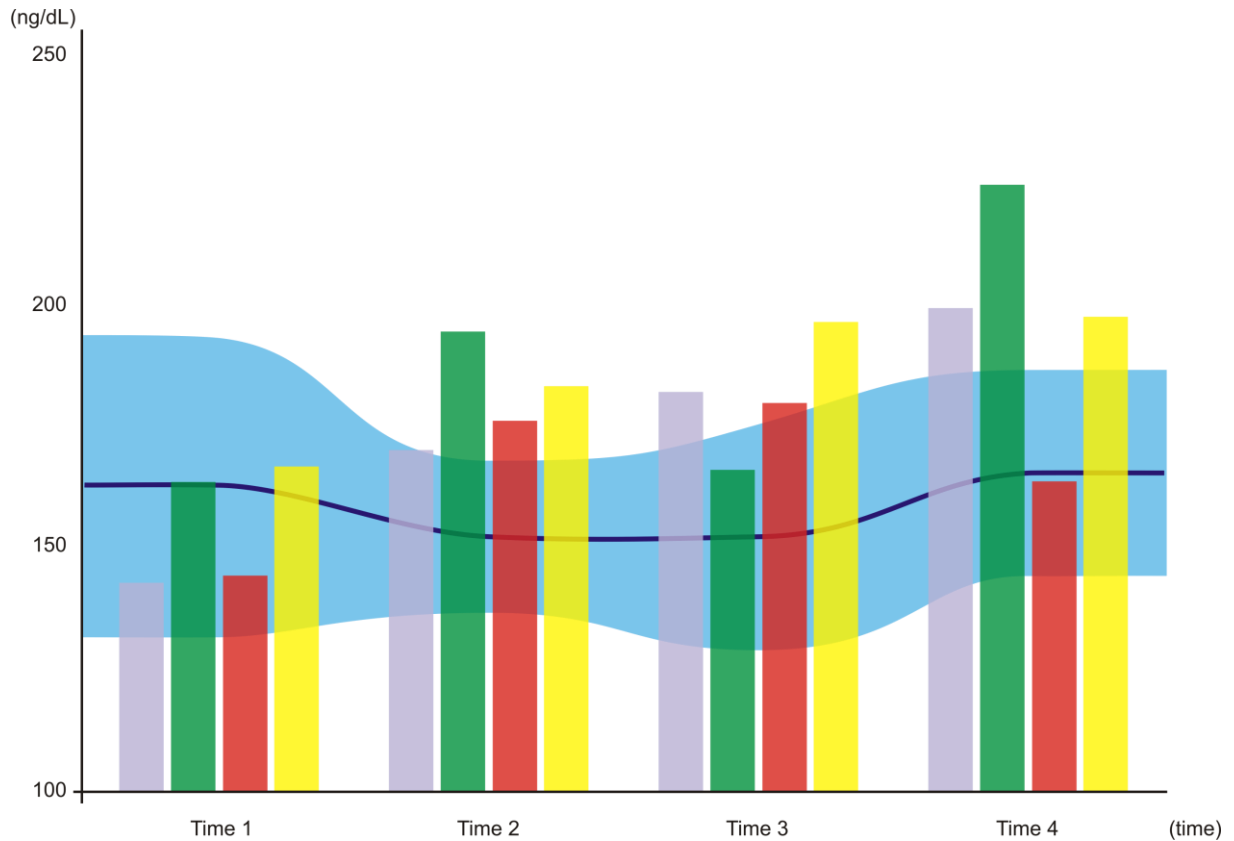


Figure 03. Variation in triiodothyronine (T₃) levels (ng/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 162.07 ± 30.04; Time 2, 151.97 ± 15.30; Time 3, 151.89 ± 22.41; Time 4, 165.04 ± 20.43). Bars represent, respectively, control group CII (gray bar; Time 1, 143.07 ± 17.42; Time 2, 168.98 ± 23.19; Time 3, 181.57 ± 23.63; Time 4, 198.64 ± 52.62) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 163.42 ± 26.86; Time 2, 193.90 ± 28.62; Time 3, 165.68 ± 43.81; Time 4, 223.86 ± 40.26); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 144.32 ± 13.34; Time 2, 175.64 ± 25.15; Time 3, 179.23 ± 40.07; Time 4, 163.02 ± 22.85); and EIII = 140 J/cm² (yellow bar; Time 1, 166.72 ± 39.68; Time 2, 182.80 ± 19.05; Time 3, 185.94 ± 38.77; Time 4, 196.96 ± 52.35).

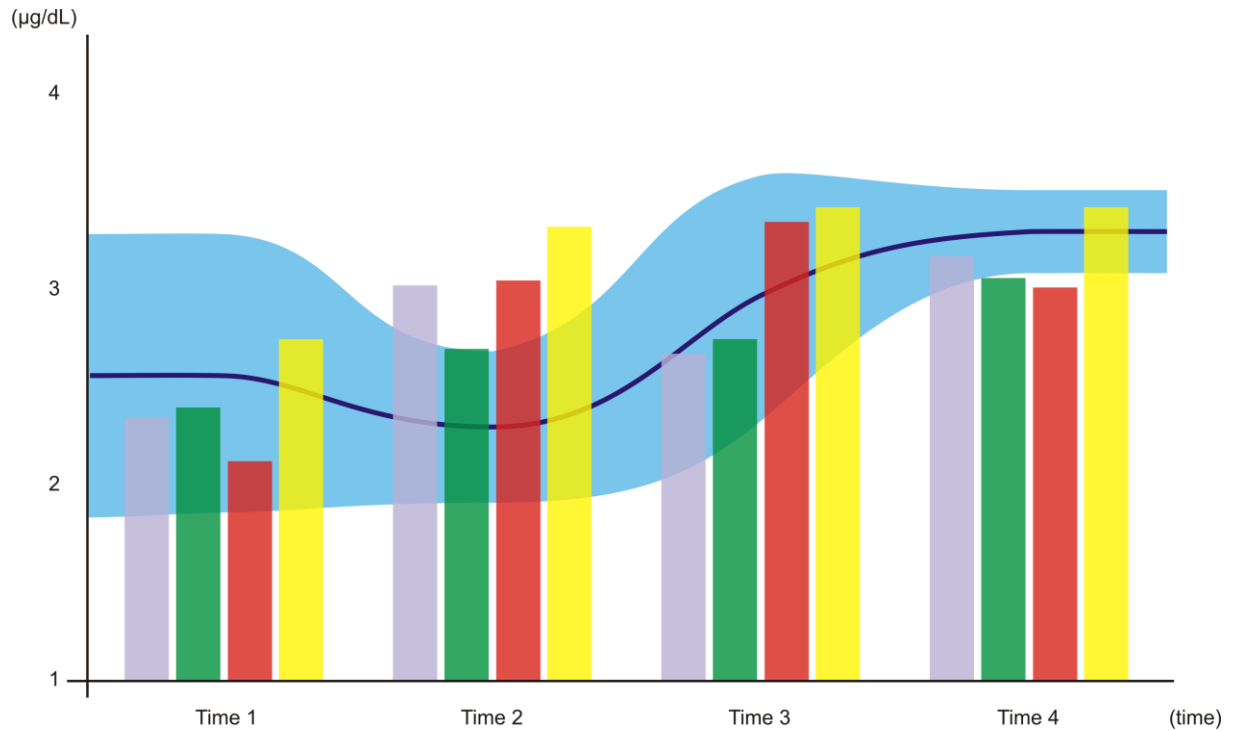


Figure 04. Variation in thyroxine (T_4) levels ($\mu\text{g/dL}$) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 2.56 ± 0.71 ; Time 2, 2.29 ± 0.35 ; Time 3, 2.98 ± 0.67 ; Time 4, 3.29 ± 0.19). Bars represent, respectively, control group CII (gray; Time 1, 2.30 ± 0.56 ; Time 2, 3.03 ± 0.56 ; Time 3, 2.69 ± 0.66 ; Time 4, 3.18 ± 0.65) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm^2 (green bar; Time 1, 2.40 ± 0.83 ; Time 2, 2.73 ± 0.85 ; Time 3, 2.75 ± 0.79 ; Time 4, 3.12 ± 0.84); EII = 35 J/cm^2 (red bar; Time 1, 2.19 ± 0.73 ; Time 2, 3.05 ± 0.79 ; Time 3, 3.29 ± 0.92 ; Time 4, 3.07 ± 0.47); and EIII = 140 J/cm^2 (yellow bar; Time 1, 2.75 ± 0.82 ; Time 2, 3.29 ± 0.93 ; Time 3, 3.39 ± 1.20 ; Time 4, 3.37 ± 0.71).

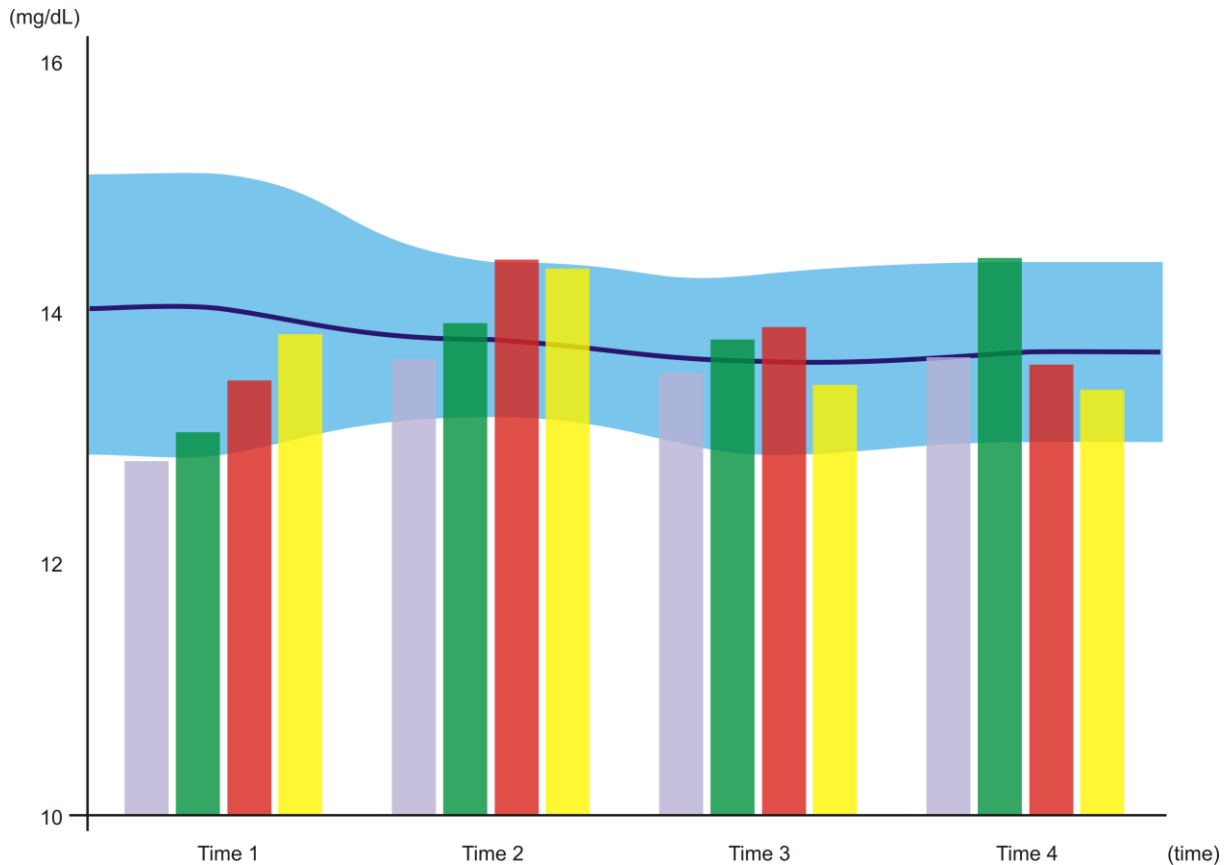


Figure 05. Variation in calcium levels (mg/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 14.01 ± 1.02 ; Time 2, 13.82 ± 0.62 ; Time 3, 13.67 ± 0.72 ; Time 4, 13.72 ± 0.70). Bars represent, respectively, control group CII (gray bar; Time 1, 12.82 ± 0.27 ; Time 2, 13.63 ± 0.75 ; Time 3, 13.53 ± 0.19 ; Time 4, 13.65 ± 0.62) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 13.05 ± 0.32 ; Time 2, 13.95 ± 0.55 ; Time 3, 13.79 ± 0.27 ; Time 4, 14.46 ± 0.47); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 13.47 ± 0.34 ; Time 2, 14.41 ± 0.55 ; Time 3, 13.91 ± 0.31 ; Time 4, 13.59 ± 0.70); and EIII = 140 J/cm² (yellow bar; Time 1, 13.81 ± 0.26 ; Time 2, 14.39 ± 0.28 ; Time 3, 13.43 ± 0.30 ; Time 4, 13.41 ± 0.73).

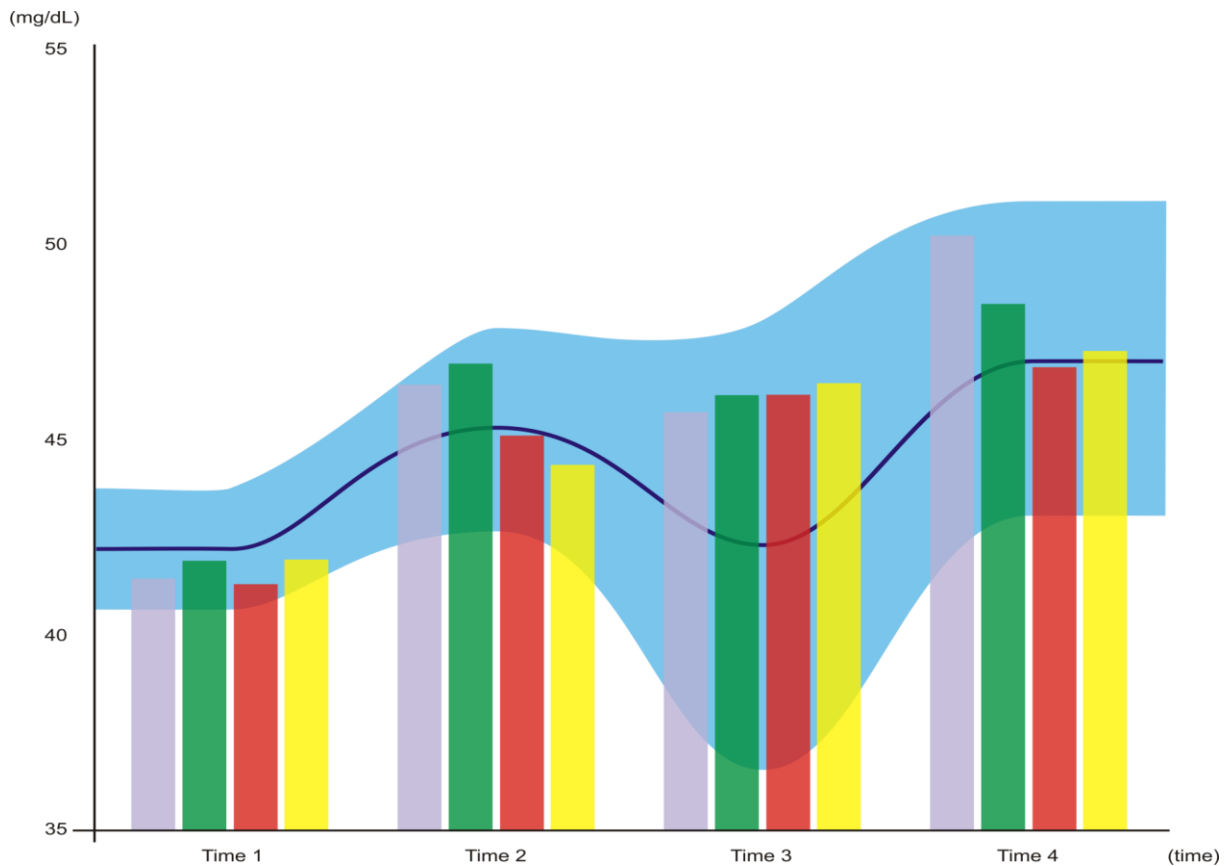


Figure 06. Variation in albumin levels (mg/dL) over time. The blue-shaded horizontal area represents control group CI, with the central line corresponding to the mean and the shaded area itself representing the standard deviation from said mean (Time 1, 42.23 ± 1.48 ; Time 2, 45.31 ± 2.61 ; Time 3, 42.36 ± 5.69 ; Time 4, 46.99 ± 3.92). Bars represent, respectively, control group CII (gray bar; Time 1, 41.46 ± 2.93 ; Time 2, 46.38 ± 2.19 ; Time 3, 45.71 ± 2.01 ; Time 4, 50.26 ± 2.16) and each of the experiment groups: EI = 70 J/cm² (green bar; Time 1, 41.89 ± 1.62 ; Time 2, 46.94 ± 1.80 ; Time 3, 46.13 ± 2.33 ; Time 4, 48.47 ± 2.09); EII = 35 J/cm² (red bar; Time 1, 41.31 ± 2.26 ; Time 2, 45.10 ± 2.07 ; Time 3, 46.14 ± 1.52 ; Time 4, 46.86 ± 2.82); and EIII = 140 J/cm² (yellow bar; Time 1, 41.93 ± 1.39 ; Time 2, 44.36 ± 2.13 ; Time 3, 46.43 ± 2.09 ; Time 4, 47.28 ± 2.51).



DISCUSSÃO GERAL

4 DISCUSSÃO GERAL

A terapia com laser de baixa intensidade (LLLT) é uma realidade nos mais diversos tratamentos na área da saúde. Os equipamentos emissores da radiação laser são muito utilizados, principalmente para fins terapêuticos e de diagnóstico complementar. Em especial, na Odontologia, o uso do laser com diferentes comprimentos de onda possibilitou a aplicação desta tecnologia nos mais diversos procedimentos clínicos (KUCEROVÁ, 2000; BASFORD, 1995; GARCÍA-MORALES *et al.*, 2012]. Na Implantodontia, a LLLT pode favorecer a redução da sintomatologia pós-cirúrgica como dor, edema e inflamação (FERRANTE *et al.*, 2012), proporcionando um pós-operatório mais confortável, além de beneficiar o processo de osseointegração, facilitando o reparo ósseo perimplantar (JAKSE *et al.*, 2007).

O uso clínico da LLLT (*Low-level Laser Therapy*) está fundamentado em sua capacidade de promover, a nível celular, efeitos estimuladores sobre os processos moleculares e bioquímicos que ocorrem durante os mecanismos intrínsecos do reparo tecidual. Dentre os efeitos terapêuticos, podemos citar o aumento da proliferação epitelial, da proliferação fibroblástica e da síntese de colágeno, o que possibilita a aceleração do processo cicatricial; o aumento no potencial de remodelação e de reparo ósseo; o restabelecimento da função neural após lesão; a normalização da função hormonal; a regulação do sistema imunológico; a redução da inflamação e do edema; a modulação e a atenuação da sintomatologia dolorosa; além da analgesia pós-operatória (TAKEDA, 1988; RIGAU I MAS *et al.*, 1991; SILVA JÚNIOR *et al.*, 2002; DO NASCIMENTO *et al.*, 2004; WEBER *et al.*, 2006; MOHAMMED *et al.*, 2007; SOARES *et al.*, 2008; FREDDO *et al.*, 2012). A literatura apresenta diversos trabalhos *in vivo* e *in vitro* que relatam os efeitos benéficos da LLLT no processo de reparo em modelos experimentais animais e meios de cultura tecidual (AZEVEDO *et al.*, 2006; CORAZZA *et al.*, 2007; SOARES *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008). No entanto, mesmo sendo a dose o parâmetro mais importante da terapia com laser (PINHEIRO, 2009), ainda não existe um protocolo definitivo para uso em diferentes situações clínicas, sendo essa ainda uma questão de discussão na literatura (DÖRTBUDAK *et al.*, 2002; PINHEIRO *et al.*, 2003;

KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; KIM et al., 2007a; JAKSE et al., 2007; KIM et al., 2007b; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; MALUF et al., 2010; CAMPANHA et al., 2010).

A LLLT tem se mostrado um meio efetivo e benéfico em diversos tratamentos odontológicos. Contudo, em virtude da ampla utilização do laser pelos profissionais e da falta de um protocolo bem definido para os diferentes tipos de tratamento, os efeitos da LLLT nas estruturas anatômicas e suas aplicações clínicas tem sido objeto de estudo pelos pesquisadores. Dentre as inúmeras indicações da LLLT relatadas na literatura, destacam-se a utilização em alvéolos pós-extração (TAKEDA et al., 1988; KUCEROVÁ et al., 2000; SILVA JÚNIOR et al., 2002) a utilização na cicatrização de feridas em tecido cutâneo (ROCHKIND et al., 1989; DO NASCIMENTO et al., 2004; CORAZZA et al., 2007; SOARES et al., 2008; RODRIGO et al., 2009), a regeneração de tecido nervoso (ROCHKIND et al., 1989; MOHAMMED et al., 2007) e a utilização no reparo perimplantar após inserção de implantes osseointegráveis (DÖRTBUDAK et al., 2002; PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; KIM et al., 2007a; KIM et al., 2007b; JAKSE et al., 2007; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; MALUF et al., 2010; CAMPANHA et al., 2010; GARCÍA-MORALES et al., 2012).

Nos estudos avaliando a associação da laserterapia de baixa intensidade com o reparo perimplantar, notou-se a falta de homogeneidade nas metodologias de aplicação da LLLT (CAMPANHA et al., 2010; DÖRTBUDAK et al., 2002; GARCÍA-MORALES et al., 2012; KIM et al., 2007; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; MALUF et al., 2010), devido, principalmente, à diversidade nos parâmetros como comprimento de onda, tempo, número de aplicações, densidade de energia e potência. Percebe-se, pois, a necessidade da definição de alguns protocolos básicos, a fim de se obter uma padronização das pesquisas e possibilitar melhor análise, comparação e reprodutibilidade dos trabalhos.

A fim de se obter uma condição clínica inicial para o uso do laser neste experimento, realizou-se a extração do incisivo inferior esquerdo e a inserção de um implante osseointegrável nos animais do grupo controle CII e dos grupos experimentais EI, EII e EIII com a mesma técnica cirúrgica e pelo mesmo operador. Da mesma forma, a escolha da região anterior da mandíbula baseou-se no fato de que o laser, ao ser aplicado neste local, poderia incidir indiretamente sobre a

glândula tireoide, visto que a aplicação do laser em uma área bem definida pode atingir regiões mais profundas, apresentando tanto um efeito local quanto sistêmico (ROCHKIND et al., 1989; RODRIGO et al., 2009; FRONZA et al., 2012). Optou-se pela inclusão do grupo CI para controle absoluto dos níveis hormonais (T_3 e T_4), como, também, dos níveis séricos de Cálcio e Albumina, pois estes animais não foram submetidos a qualquer intervenção cirúrgica ou laserterapia, apenas fizeram parte das coletas de sangue. Esta proposta teve por objetivo estabelecer um controle sobre possíveis alterações dos exames hematológicos causadas pelo procedimento cirúrgico. Muito embora não recebam qualquer tratamento, estes animais serviram para garantir valores referenciais dos dados sorológicos, fato este que permitiu a comparação desses valores com os dos grupos operados, dos grupos irradiados com LLLT e dos grupos não irradiados com LLLT.

Este estudo utilizou o coelho como modelo experimental animal, assim como observado em outros (PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004; PEREIRA et al., 2009; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; CAMPANHA et al., 2010), pela facilidade do manuseio dos animais, do preparo cirúrgico, do controle pós-operatório e, principalmente, pelo tamanho adequado dos animais, que possibilitou a inserção de implantes convencionais (os mesmos utilizados em seres humanos) e possibilitou a coleta do volume de sangue necessário para as análises laboratoriais, diferentemente do rato ou camundongo (KIM et al., 2007a; Kim et al., 2007b; MALUF et al., 2010), que, devido ao seu pequeno porte, dificultariam a metodologia proposta. Azevedo et al. (2005) relataram dificuldades na obtenção do soro sanguíneo para mensuração dos hormônios tireoidianos, quando da utilização de animais de porte inferior, como ratos, em virtude da pequena amostra de sangue obtida. Quanto à colocação do implante na região do alvéolo do incisivo recém-extraído, optou-se por essa região, em detrimento à tíbia, para que tivéssemos o mais próximo possível de uma situação clínica. Além disso, esse método possibilitou maior confiabilidade, pois o osso mandibular alveolar sofre uma carga diferente da tíbia dos coelhos (DE JONG et al., 2010). Da mesma forma, em concordância com os trabalhos mais recentes, utilizamos a LLLT no espectro infravermelho (DÖRTBUDAK et al., 2002; PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; KIM et al., 2007a; JAKSE et al., 2007; KIM et al., 2007b; LOPES et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; MALUF et al., 2010; CAMPANHA et al., 2010), com

comprimento de onda de 830nm (PINHEIRO et al., 2003; KHADRA et al., 2004; LOPES et al., 2005; KIM et al., 2007a; KIM et al., 2007b; LOPES et al., 2007; CAMPANHA et al., 2010), potência de 50 mW, com 2 pontos de aplicação da ponteira do laser próximo aos implantes dentários (sem sobreposição aos mesmos) inseridos na mandíbula desses animais. Foram realizadas um total de sete sessões de LLLT, como proposto por diversos autores (PINHEIRO et al., 2003; LOPES et al., 2005; LOPES et al., 2007; CAMPANHA et al., 2010), com intervalos a cada 48 horas e com diferentes doses para cada grupo experimental. A utilização de um grupo controle que não recebeu qualquer dose de LLLT, apenas a simulação desta, foi a forma escolhida para avaliar os efeitos sistêmicos do laser, não sendo possível tal avaliação em estudos que utilizam lado controle e experimental no mesmo animal (DÖRTBUDAK et al., 2002; JAKSE et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; GARCÍA-MORALES et al., 2012).

Neste estudo, empregou-se o laser diodo GaAlAs ($\lambda=830\text{nm}$), pela sua propriedade de penetração tecidual maior que o laser HeNe, o qual trabalha com uma comprimento de onda na faixa de 632,8 nm. Laseres infravermelhos possuem uma maior penetração nos tecidos subcutâneos devido à sua baixa absorção na água ou nos pigmentos da pele (BASFORD, 1995; KOLÁVORÁ; DITRICHOVÁ; WAGNER, 1999). Em concordância com Romanos e Nentwig (1999), ainda podemos ressaltar que estes aparelhos são de fácil manuseio, apresentam-se disponíveis no mercado e possuem baixo custo em relação a outros tipos de lasers desta categoria. Ao avaliar o efeito da LLLT na região da glândula tireoide de camundongos, Azevedo et al. (2005) também utilizaram um laser diodo infravermelho, porém com um comprimento de onda de 780nm.

Alguns autores relatam que, após a irradiação laser sobre a glândula tireoide, promovem-se algumas alterações morfológicas e funcionais (PÉREZ DE VARGAS et al., 1987; PARRADO et al., 1990; LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005). Estes achados impulsionaram a realização desta pesquisa, uma vez que a tireoide está localizada próxima à região mandibular, sendo potencialmente irradiada em muitos dos procedimentos odontológicos.

A função da glândula tireoide é normalmente avaliada pela mensuração da concentração sérica basal de seus hormônios (LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005; GUYTON; HALL, 2006). Os testes T_4 total e T_3 total foram realizados, nesta

pesquisa, em virtude de que tecnicamente é mais fácil mensurar as concentrações totais dos hormônios tireoidianos do que as frações não ligadas às proteínas (MOURA et al., 2001). O radioimunoensaio (RIE) é um dos métodos empregados para dosagem hormonal que tem sido utilizado por pesquisadores para mensuração da quantidade de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) circulantes no soro sanguíneo (LERMA et al., 1991; AZEVEDO et al., 2005). O RIE é baseado na observação da reação entre anticorpos e antígenos solúveis, formando um precipitado de antígeno-anticorpo ou um agregado insolúvel. Dentre as suas vantagens, estão a alta sensibilidade para detectar antígenos em concentrações pequenas e a praticidade, quando muitas amostras são testadas em conjunto, diminuindo assim, a quantidade de operações manuais a serem realizadas, facilitando o processo de separação e diminuindo as chances de erro (STEINBECK, WYNER, 1993).

Variações hormonais de triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4) acarretariam uma cascata de eventos que alterariam os níveis de Cálcio circulantes, fato que torna necessária a sua mensuração. Da mesma forma, a aferição dos níveis de Albumina também é um fator relevante, pois nos coelhos e nos roedores, o T_3 e o T_4 após liberados na circulação sanguínea, são transportados pela albumina, sendo esta responsável por 50 a 80% dos hormônios circulantes, deixando o restante livre no plasma (KANEKO et al., 2008).

Os resultados deste estudo demonstraram diferenças significativas nos níveis hormonais da glândula tireoide após a aplicação da LLLT, diferindo dos achados de Lerma et al. que, ao analisarem os efeitos do laser HeNe sobre a glândula tireoide de ratos *Wistar*, não encontraram evidências concretas de alterações nos níveis séricos dos hormônios tireoidianos. Da mesma forma, Fronza et al. (2012) demonstraram, em coelhos, não haver diferença significativa entre os grupos controle e experimental pré e pós-irradiação por LLLT nos valores sanguíneos de T_3 e T_4 . Nossos resultados, entretanto, corroboram os achados de Azevedo et al. (2005), que realizaram a aplicação da LLLT ($\lambda=780$ nm) sobre a glândula tireoide de camundongos *Swiss*. Os autores também observaram diferenças significativas nos níveis hormonais de T_3 e T_4 entre o primeiro dia de aplicação do laser e o sétimo dia após a última aplicação.

A fim de verificar a variabilidade individual do espécime estudado, o mesmo animal foi submetido aos testes laboratoriais de T_3 , T_4 , Cálcio e Albumina, com e

sem a terapia laser, em quatro momentos distintos ao longo do experimento. Tal metodologia possibilitou a comparação dos valores obtidos antes, durante e após o protocolo de aplicação do laser de baixa potência para cada grupo estudado.

No presente estudo, merece especial atenção que os resultados obtidos com a dose de 140 J/cm^2 são os mais aproximados ao comportamento dos grupos controle CI e CII. Diferentes protocolos utilizados na LLLT dificultam a interpretação do efeito do laser no funcionamento da glândula tireoide, bem como a comparação dos resultados de outras variáveis entre os estudos. Concorda-se com Basford (1995), Belkin e Schwartz (1989) e Schindl et al. (2000), os quais apontam a necessidade de se empregar protocolos melhor definidos na metodologia dos trabalhos para que comparações mais fidedignas ocorram, proporcionando, assim, a realização de estudos que verifiquem a real atuação do laser sobre os tecidos, órgãos e sistemas. Com base nestas assertivas, utilizaremos a dose de 140 J/cm^2 em nosso próximo experimento e avaliaremos também os resultados a partir de microtomografias e análises histológicas e imuno-histo-químicas diversas no intuito de melhor conhecer os efeitos da LLLT no funcionamento desta glândula. Consideramos também relevante esta dose ser maior do que a média das mais empregadas na literatura consultada, o que nos motiva a utilizar o laser de baixa potência com segurança em regiões próximas à glândula tireoide.



CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Pôde-se verificar que, no formato como esta pesquisa foi realizada, com base nos resultados obtidos e nos parâmetros do laser utilizado, a LLLT alterou de forma sistêmica as concentrações de T₃, T₄, Cálcio e Albumina ao longo do experimento.

Essencialmente, as contagens de Triiodotironina (T₃) e de Cálcio apresentaram variações significativas, quando levada em conta a terapia com laser de baixa potência (LLLT), sendo que as demais grandezas permaneceram sem alterações significativas intergrupos.

Ao longo do experimento, para os diferentes tempos de coleta analisados (intragrupo), identificaram-se alterações significativas nas contagens individuais de T₃, T₄, Cálcio e Albumina.

Observou-se, portanto, que houve influência da ação da LLLT sobre os valores hormonais tireoidianos, assim como ao longo do tempo transcorrido do experimento, mesmo que na etapa final do controle hormonal perceba-se um restabelecimento da função glandular.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS³

ADELL, R. et al. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. **Int J Oral Surg**, v. 10, n. 6, p. 387-416, 1981.

ALBREKTSSON, T.; JOHANSSON, C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. **Eur Spine J**. v. 10 (suppl 2), p. 96-101, 2001.

ALMEIDA-LOPES, L. Aplicações clínicas do laser não-cirúrgico. In: BRUGNERA, A.Jr.; PINHEIRO, A. L. B. *Laseres na Odontologia Moderna*. São Paulo: Pancast, p.99-120, 1998.

_____. Laserterapia na odontologia. **Clínica Odontológica Integrada**, Bauru, v. 1, n. 1, p.10-88, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: **Informação e Documentação**: Referências – Elaboração da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Rio de Janeiro – RJ, 2002.

AZEVEDO, L. H. et al. Evaluation of low intensity laser effects on thyroid gland of male mice. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 23, n. 6, p. 567-570, 2005.

AZEVEDO, L. H. et al. Influence of different power of LILT on cultured human fibroblast growth. **Lasers Med Sci**, London, v. 21, p. 86-89, 2006.

BASFORD, J. R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers Surg Med**, New York, v. 16, p. 331-342, 1995.

BELKIN, M.; SCHWARTZ, M. New biological phenomena associated with laser radiation. **Health Phys**, Hagerstown, v. 56, n. 5, p. 687-690, 1989.

BLAYA, D. S. et al. Histologic study of the effect of laser therapy on bone repair. **J Contemp Dent Pract**, v. 9, n. 6, p. 41-48, 2008.

³ De acordo com NBR 6023: Informação e Documentação – Referências-Elaboração, de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Rio de Janeiro – RJ.

BRANEMARK, P. I. et al. Intraosseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. **Scand J Plast Reconstr Surg**, v. 3, n. 2, p. 81-100, 1969.

BRANEMARK, P. I. et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. **Scand J Plast Reconstr Surg Suppl**, v. 16, p. 1-132, 1977.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. **Lasers na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998.

BRUGNERA JÚNIOR, A.; VILLA, R. G.; GENOVESE, W. J. **Laser na odontologia**. São Paulo: Pancast, 1991.

BRUGNERA JÚNIOR, A. et al. **Laserterapia aplicada à clínica odontológica**. São Paulo: Santos, 2003.

CAMPANHA, B.P. et al. Low-level laser therapy for implants without initial stability. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 28, n. 3, p. 365-369, 2010.

CARLSSON, L. et al. Osseointegration of titanium implants. **Acta Orthop Scand**, v. 57, n. 4, p. 285-289, 1986.

CATÃO, M. H. C. V. Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia. **Revista Brasileira de Patologia Oral**, Natal, v. 3, n. 4, p. 214-218, 2004.

CORAZZA, A. V. et al. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 25, n. 2, p. 102-106, 2007.

CZEPIELEWSKI, M. A. **Teste do hormônio da Tireóide – T3**. [S.I.]: ABC da Saúde Informações Médicas, 2003a. Disponível em: <<http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?407>>. Acesso em: 21 fevereiro 2012.

_____. **Teste do Hormônio da Tireóide – T4**. [S.I.]: ABC da Saúde Informações Médicas, 2003b. Disponível em: <<http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?408>>. Acesso em: 21 fevereiro 2012.

- CONLAN, M. J.; RAPLEY, J. W.; COBB, C. M. Biostimulation of wound Healing by Low-energy Laser Irradiation. A Review. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 23, n. 5, p. 492-496, 1996.
- DA SILVA, R. V.; CAMILLI, J.A. Repair of bone defects treated with autogenous bone graft and low-power laser. **J Craniofac Surg**, v. 17, n. 2, p. 297-301, 2006.
- DAVIES, J.E. Mechanisms of endosseous integration. **Int J Prosthodont**. v. 11, p. 391-401, 1998.
- DE JONG, W. C.; KORFAGE, J. A.; LANGENBACH, G. E. Variations in habitual bone strains in vivo: long bone versus mandible. **J Struct Biol**. v. 172, n. 3, p. 311-318, 2010.
- DEDERICH, N. Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? **J Am Dent Assoc**. v. 124, n. 2, p. 57-61, 1993.
- DO NASCIMENTO, P. M. et al. A preliminary report on the effect of laser therapy on the healing of cutaneous surgical wounds as a consequence of an inversely proportional relationship between wavelength and intensity: histological study in rats. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 22, n. 6, p. 513-518, 2004.
- DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; MAILATH-POKORNY, G. Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. **Clin Oral Implants Res**, v. 13, n. 3, p. 288-292, 2002.
- FERRANTE, M. et al. Effect of low-level laser therapy after extraction of impacted lower third molars. **Lasers Med Sci**, DOI 10.1007/s10103-012-1174-4, 2012.
- FISHER, D. A. Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations. **Clin Chem**, Washington, v. 42, n. 1, p. 135-139, 1996.
- FREDDO, A. L. et al. Effect of low-level laser therapy after implantation of poly-L-lactic/polyglycolic acid in the femurs of rats. **Lasers Med Sci**, v. 24, n. 5, p. 721-728, 2009.
- FREIRE JR, O.; CARVALHO NETO, R. A. **O Universo dos Quanta: uma breve história da física moderna**. São Paulo: FTD; 1997.

FRONZA, B. et al. Assessment of the systemic effects of LLLT on thyroid hormone function in a rabbit model. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 42, n. 1, p. 26-30, 2013.

GARCÍA-MORALES, J.M. et al. Stability of dental implants after irradiation with an 830-nm low-level laser: a double-blind randomized clinical study. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 4, p. 703-711, 2012.

GERBI, M. E. M. et al. Assessment of bone repair associated with the use of organic bovine bone and membrane irradiated at 830 nm. **Photomed Laser Surg**, v. 23, n. 4, p. 382-388, 2005.

GUTKNECHT, N; EDUARDO, C. P. **A odontologia e o laser: atuação do laser na especialidade odontológica**. Berlin: Quintessence, 2004. p. 25-43.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. In: _____. **Hormônios Metabólicos da Tireóide**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 931-943.

GUZZARDELLA, G. A. et al. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an in vivo comparative study. **Clin Oral Implants Res**, v. 14, n. 2, p. 226-232, 2003.

HOLLINGER, J. O.; BUCK, D. C.; BRUDER, S. P. **Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy**. In: LYNCH, S. E.; GENCO, J. R.; MARX, R. E. Tissue Engineering. Chicago, Quintessence, 17-54, 1999.

JAKSE, N. et al. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. **Clin Oral Implants Res**. v. 18, n. 4, p. 517-524, ago 2007.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. In: _____. **Glândulas endócrinas**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 390-414.

KANEKO, J.J. et al. Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. New York: Academic, 2008. 896p.

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

KHADRA, M. The effect of low level laser irradiation on implant-tissue interaction. In vivo and in vitro studies. **Swed Dent J Suppl**, n. 172, p. 1-63, 2005.

KHADRA, M. et al. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. **Clin Oral Implants Res**. v. 15, n. 3, p. 325-32, 2004.

KIM, Y. D. et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor: an experimental study in rats. **Laser Phys Lett**. v. 4, n. 9, p. 681-685, 2007a.

_____. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. **Lasers Surg Med**, New York, v. 39, n. 5, p. 441-50, 2007b.

KOLÁVORÁ, H.; DITRICOVÁ, D.; WAGNER, J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. **Lasers Surg Med**, New York, v. 24, n. 3, p. 231-235, 1999.

KORANY, N. S. et al. Evaluation of socket healing in irradiated rats after diode laser exposure (histological and morphometric studies). **Arch Oral Biol**, v. 57, n. 7, p. 884-891, 2012.

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**, v. 15, n. 4, p. 616-618, 2010.

KUCEROVÁ, H. et al. Low level laser therapy after molar extraction. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v. 18, n. 6, p. 309-315, 2000.

LERMA, E. et al. The effect of HeNe laser radiation on thyroid gland of the rat. **Int J Exp Pathol**, Oxford, v. 72, p. 379-385, 1991.

LINO M.D.M.C.A. et al. The effects of photobiomodulation on healing of bone defects in streptozotocin induced diabetic rats. **Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE. Anais**. Disponível em:
<<http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?articleid=1348479> >
Acesso em: 21 fevereiro 2012.

LIU, X. et al. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. **Photomed Laser Surg**, v. 25, n. 6, p. 487-494, 2007.

LIZARELLI, R. **Protocolos Clínicos Odontológicos**. Uso do Laser de Baixa intensidade. 3 ed.; p. 43-45; São Carlos: MM Optics Ltda., 2007.

LOPES, C.B. et al. Infrared laser light reduces loading time of dental implants: a Raman spectroscopic study. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 23, n. 1, p. 27-31, 2005.

LOPES, C.B. et al. Infrared laser photobiomodulation (λ 830 nm) on bone tissue around dental implants: a Raman spectroscopy and scanning electronic microscopy study in rabbits. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 25, n. 2, p. 96-101, 2007.

MALUF, A.P. et al. Mechanical evaluation of the influence of low-level laser therapy in secondary stability of implants in mice shinbones. **Lasers Med Sci**, London, v. 25, n. 5, p. 693-698, 2010.

MARINO, J. A. M. **Efeito do laser terapêutico de baixa potência sobre o processo de reparação óssea em tibia de rato**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações e dos Materiais) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

MELLO, J.B.; MELLO, G.P.S. **Laser em odontologia**. São Paulo: Santos; 2001.

MISERENDINO, L. J.; PICK, R. M. **Laser in dentistry**. Chicago: Quintessence, 1995.

MOHAMMED, I. F. R. et al. Promotion of regenerative processes in injured peripheral nerve induced by low level laser therapy. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 25, n. 2, p. 107-111, 2007.

MOURA, R. A. et al. **Técnicas de laboratório**. 3. ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2001.

NASCIMENTO, S. B. et al. Effect of low-level laser therapy and calcitonin on bone repair in castrated rats: a densitometric study. **Photomed Laser Surg**, v. 28, n. 1, p. 45-49, 2010.

NICOLLI FILHO, W. D. et al. Efeitos da radiação laser do tipo hélio-neônio verde (550nm) no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. **Revista de Odontologia da UNESP**, São Paulo, v. 2, n. 22, p. 213-221, 1993.

OHSHIRO, T. **Low reactive-level laser therapy practical application**. Chichester: John Wiley & Sons, 1991.

OHSHIRO, T.; FUJINO, T. Laser applications in plastic and reconstructive surgery. **Keio J Med**, Tokyo, v. 42, n. 4, p. 191-195, 1993.

OLIVEIRA, R. F. et al. Comparison between the effect of low level laser therapy and low intensity pulsed ultrasonic irradiation *in vitro*. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 26, n. 1, p. 6-9, 2008.

PARRADO, C. et al. Estudio morfométrico de la glándula tiroides sometida a irradiación láser IR II. Densidad de volumen epitelial e inverso del índice de activación. **Histologia Medica**, v. 4, p. 93-98, 1988.

_____. Quantitative study of the morphological changes in thyroid gland following IR laser irradiation. **Lasers Med Sci**, London, v. 5, n. 77, p. 77-80, 1990.

PARRADO, C. et al. A quantitative investigation of microvascular changes in thyroid gland after infrared (IR) laser radiation. **Histol Histopathol**, Murcia, v. 14, p. 1067-1071, 1999.

PEREIRA, C.L. et al. The effect of low-intensity laser therapy on bone healing around titanium implants: a histometric study in rabbits. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 24, n. 1, p. 47-51, 2009.

PÉREZ DE VARGAS, I. et al. Acción del láser IR sobre la glándula tiroides. **Histologia Medica**, v. 3, n. 1, p. 117-126, 1987.

PINHEIRO, A. L. B. Advances and perspectives on tissue repair and healing. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 27, n. 6, p. 833-836, 2009.

PINHEIRO, A. L. B. et al. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. **Braz Dent J**, v. 14, n. 3, p. 177-181, 2003.

PINHEIRO, A. L. B. et al. Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. **J Clin Laser Med Surg**, v. 21, n. 5, p. 301-306, 2003.

PINHEIRO, A. L. B. et al. Laser biomodulation in bone implants: a Raman spectral study. **International Congress Series**. 1248: 449-451; 2003.

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

PINHEIRO, A. L. B. et al. Low-level laser therapy in an important tool to trat disorders of the maxillofacial region. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v. 16, n. 4, p. 223-226, 1998.

PINHEIRO, A. L. B.; FRAME, J. W. Laser em odontologia: seu uso atual e perspectivas futuras. **Rev Gaucha Odontol**, Porto Alegre, v. 40, n. 5, p. 327-332, set./out. 1992.

PINHEIRO, A. L. B.; GERBI, M. E. Photoengineering of bone repair processes. **Photomed and Laser Surg**. v. 24, n. 2, p. 169-178, 2006.

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

RIGAU I MAS, J. Bioenergia e Propriedades ópticas dos Tecidos. In: BRUGNERA JÚNIOR, A.; PINHEIRO, A. L. B. (Org.). **Lasers na odontologia moderna**. São Paulo: Pancast, 1998. p. 65-78.

RIGAU I MAS, J. et al. Changes in fibroblast proliferation and metabolism following "in vitro" helium-neon laser irradiation. **Laser Therapy**, v. 3, p. 25-33, 1991.

ROCHKIND, S. et al. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds, and burns. **Lasers Surg Med**, New York, v. 9, n. 2, p. 174-182, 1989.

RODRIGO, S. M. et al. Analysis of the systemic effect of red and infrared laser therapy on wound repair. **Photomed and Laser Surg**. v. 27, n. 6, p. 929-935, dez 2009.

ROMANOS, G.; NENTWIG, G. Diode Laser (980nm) in Oral and maxillofacial Surgical Procedures. Clinical Observations Based on Clinical Applications. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v. 17, n. 5, p. 193-197, 1999.

SCHINDL, A. et al. Low-Intensity laser therapy: a review. **Journal of Investigate Medicine**, Thorofare, NJ, v. 48, n. 5, p. 312-326, Sept. 2000.

SHIBLI, J. A. et al. The effect of CO(2) laser irradiation on failed implant surfaces. **Implant Dent**, v. 13, n. 4, p. 342-351, 2004.

SILVA JÚNIOR, A. N. et al. Computerized morphometric assessment of the effect of low-level laser therapy on bone repair: an experimental animal study. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v. 20, n. 2, p. 83-87, 2002.

SMITH-AGREDA, V. et al. Aportaciones al estudio de las interacciones morfoquímicas de las células adenohipofisarias tras la estimulación com laser He/Ne 632,8 nm de baja potencia. **Investigacion y Clinica Laser**, v. 2, p. 51-62, 1985.

SOARES, L. P. et al. Effects of laser therapy on experimental wound healing using oxidized regenerated cellulose hemostat. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, NY, v. 26, n. 1, p. 10-13, 2008.

SONIS, S. T.; FAZIO, R. C.; FANG, L. Princípios e Prática de Medicina Oral. In: _____. **Distúrbios da tireóide**. 2. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1996. p. 137-143.

STEINBECK, M. J.; WYNER, L. R. Immunoassay and Related Principles. In: ANDERSON, S. C.; COCKAYNE, S. **Clin Chem: concepts and applications**. Philadelphia: HBJ International Edition; W. B. Saunders, 1993. p. 96-99.

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

TIXIER, A.; GAELLARD, J.M. **Anatomie animale et dissection**. 1. ed. Paris: Vigot Frères Éditeurs, 1957. 375 p.

THEODORO, L. H.; GARCIA, V. G.; MARCANTONIO JÚNIOR, E. Lasers em implantodontia. **Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia**, Curitiba, v. 9, n. 33, p. 74-78, 2002.

TRELLES, M. A.; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates master with Low-power laser. **Lasers Surg Med**, New York, v. 7, p. 36-45, 1987.

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



ANEXO**ANEXO A - Protocolo da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS**

*Comissão Científica e de Ética
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

Porto Alegre 26 de Janeiro de 2011

O Projeto de: Pesquisa

Protocolado sob n°: 0002/11
Intitulado: Análise do efeito local e sistêmico da LLLT em reparo tecidual perimplantar: estudo em coelhos
Pesquisador Responsável: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber
Pesquisadores Associados
Nível: Pesquisa / Doutorado

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 26 de Janeiro de 2011.

Este projeto deverá ser imediatamente encaminhado ao CEUA/PUCRS

Profa. Dra. Ana Maria Spohr
Presidente da Comissão Científica e de Ética da
Faculdade de Odontologia da PUCRS

ANEXO B - Protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da PUCRS

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Ofício 092/11 – CEUA

Porto Alegre, 21 de julho de 2011.

Senhor Pesquisador:

A Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 11/00235 intitulado: **"Análise do efeito local e sistêmico da LLT em reparo tecidual perimplantar: estudo em coelhos"**.

Sua investigação está autorizada a partir da presente data.

Atenciosamente,


Profa. Dra. Anamaria Gonçalves Feijó
Coordenadora da CEUA/PUCRS

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. João Batista Weber
Nesta Universidade

PUCRS

Campus Central
Av. Ipiranga, 6690 – Prédio 60, sala 314
CEP: 90610-000
Fone/Fax: (51) 3320-3345
E-mail: ceua@pucrs.br

ANEXO C - Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca)⁴



Presidência da República Casa Civil Subchefia para Assuntos Jurídicos

LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008.

Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

CAPÍTULO I DAS DISPOSIÇÕES PRELIMINARES

Art. 1º A criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional, obedece aos critérios estabelecidos nesta Lei.

§ 1º A utilização de animais em atividades educacionais fica restrita a:

I – estabelecimentos de ensino superior;

II – estabelecimentos de educação profissional técnica de nível médio da área biomédica.

§ 2º São consideradas como atividades de pesquisa científica todas aquelas relacionadas com ciência básica, ciência aplicada, desenvolvimento tecnológico, produção e controle da qualidade de drogas, medicamentos, alimentos, imunobiológicos, instrumentos, ou quaisquer outros testados em animais, conforme definido em regulamento próprio.

§ 3º Não são consideradas como atividades de pesquisa as práticas zootécnicas relacionadas à agropecuária.

Art. 2º O disposto nesta Lei aplica-se aos animais das espécies classificadas como filo **Chordata**, subfilo **Vertebrata**, observada a legislação ambiental.

Art. 3º Para as finalidades desta Lei entende-se por:

I – filo **Chordata**: animais que possuem, como características exclusivas, ao menos na fase embrionária, a presença de notocorda, fendas branquiais na faringe e tubo nervoso dorsal único;

II – subfilo **Vertebrata**: animais cordados que têm, como características exclusivas, um encéfalo grande encerrado numa caixa craniana e uma coluna vertebral;

III – experimentos: procedimentos efetuados em animais vivos, visando à elucidação de fenômenos fisiológicos ou patológicos, mediante técnicas específicas e preestabelecidas;

IV – morte por meios humanitários: a morte de um animal em condições que envolvam, segundo as espécies, um mínimo de sofrimento físico ou mental.

Parágrafo único. Não se considera experimento:

I – a profilaxia e o tratamento veterinário do animal que deles necessite;

⁴ BRASIL. Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11794.htm>. Acesso em: 07 novembro 2012.

- II – o anilhamento, a tatuagem, a marcação ou a aplicação de outro método com finalidade de identificação do animal, desde que cause apenas dor ou aflição momentânea ou dano passageiro;
- III – as intervenções não-experimentais relacionadas às práticas agropecuárias.

CAPÍTULO II

DO CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA

Art. 4º Fica criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

Art. 5º Compete ao CONCEA:

- I – formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais com finalidade de ensino e pesquisa científica;
- II – credenciar instituições para criação ou utilização de animais em ensino e pesquisa científica;
- III – monitorar e avaliar a introdução de técnicas alternativas que substituam a utilização de animais em ensino e pesquisa;
- IV – estabelecer e rever, periodicamente, as normas para uso e cuidados com animais para ensino e pesquisa, em consonância com as convenções internacionais das quais o Brasil seja signatário;
- V – estabelecer e rever, periodicamente, normas técnicas para instalação e funcionamento de centros de criação, de biotérios e de laboratórios de experimentação animal, bem como sobre as condições de trabalho em tais instalações;
- VI – estabelecer e rever, periodicamente, normas para credenciamento de instituições que criem ou utilizem animais para ensino e pesquisa;
- VII – manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados ou em andamento no País, assim como dos pesquisadores, a partir de informações remetidas pelas Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUAs, de que trata o art. 8º desta Lei;
- VIII – apreciar e decidir recursos interpostos contra decisões das CEUAs;
- IX – elaborar e submeter ao Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, para aprovação, o seu regimento interno;
- X – assessorar o Poder Executivo a respeito das atividades de ensino e pesquisa tratadas nesta Lei.

Art. 6º O CONCEA é constituído por:

- I – Plenário;
- II – Câmaras Permanentes e Temporárias;
- III – Secretaria-Executiva.

§ 1º As Câmaras Permanentes e Temporárias do CONCEA serão definidas no regimento interno.

§ 2º A Secretaria-Executiva é responsável pelo expediente do CONCEA e terá o apoio administrativo do Ministério da Ciência e Tecnologia.

§ 3º O CONCEA poderá valer-se de consultores **ad hoc** de reconhecida competência técnica e científica, para instruir quaisquer processos de sua pauta de trabalhos.

Art. 7º O CONCEA será presidido pelo Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia e integrado por:

I – 1 (um) representante de cada órgão e entidade a seguir indicados:

- a) Ministério da Ciência e Tecnologia;
- b) Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq;
- c) Ministério da Educação;
- d) Ministério do Meio Ambiente;
- e) Ministério da Saúde;
- f) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
- g) Conselho de Reitores das Universidades do Brasil – CRUB;
- h) Academia Brasileira de Ciências;
- i) Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência;
- j) Federação das Sociedades de Biologia Experimental;
- l) Colégio Brasileiro de Experimentação Animal;
- m) Federação Nacional da Indústria Farmacêutica;

II – 2 (dois) representantes das sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País.

§ 1º Nos seus impedimentos, o Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia será substituído, na Presidência do CONCEA, pelo Secretário-Executivo do respectivo Ministério.

§ 2º O Presidente do CONCEA terá o voto de qualidade.

§ 3º Os membros do CONCEA não serão remunerados, sendo os serviços por eles prestados considerados, para todos os efeitos, de relevante serviço público.

CAPÍTULO III

DAS COMISSÕES DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUAs

Art. 8º É condição indispensável para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs.

Art. 9º As CEUAs são integradas por:

I – médicos veterinários e biólogos;

II – docentes e pesquisadores na área específica;

III – 1 (um) representante de sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País, na forma do Regulamento.

Art. 10. Compete às CEUAs:

I – cumprir e fazer cumprir, no âmbito de suas atribuições, o disposto nesta Lei e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais para ensino e pesquisa, especialmente nas resoluções do CONCEA;

II – examinar previamente os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados na instituição à qual esteja vinculada, para determinar sua compatibilidade com a legislação aplicável;

III – manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados, ou em andamento, na instituição, enviando cópia ao CONCEA;

IV – manter cadastro dos pesquisadores que realizem procedimentos de ensino e pesquisa, enviando cópia ao CONCEA;

V – expedir, no âmbito de suas atribuições, certificados que se fizerem necessários perante órgãos de financiamento de pesquisa, periódicos científicos ou outros;

VI – notificar imediatamente ao CONCEA e às autoridades sanitárias a ocorrência de qualquer acidente com os animais nas instituições credenciadas, fornecendo informações que permitam ações saneadoras.

§ 1º Constatado qualquer procedimento em descumprimento às disposições desta Lei na execução de atividade de ensino e pesquisa, a respectiva CEUA determinará a paralisação de sua execução, até que a irregularidade seja sanada, sem prejuízo da aplicação de outras sanções cabíveis.

§ 2º Quando se configurar a hipótese prevista no § 1º deste artigo, a omissão da CEUA acarretará sanções à instituição, nos termos dos arts. 17 e 20 desta Lei.

§ 3º Das decisões proferidas pelas CEUAs cabe recurso, sem efeito suspensivo, ao CONCEA.

§ 4º Os membros das CEUAs responderão pelos prejuízos que, por dolo, causarem às pesquisas em andamento.

§ 5º Os membros das CEUAs estão obrigados a resguardar o segredo industrial, sob pena de responsabilidade.

CAPÍTULO IV

DAS CONDIÇÕES DE CRIAÇÃO E USO DE ANIMAIS PARA ENSINO E PESQUISA CIENTÍFICA

Art. 11. Compete ao Ministério da Ciência e Tecnologia licenciar as atividades destinadas à criação de animais, ao ensino e à pesquisa científica de que trata esta Lei.

§ 1º (VETADO)

§ 2º (VETADO)

§ 3º (VETADO)

Art. 12. A criação ou a utilização de animais para pesquisa ficam restritas, exclusivamente, às instituições credenciadas no CONCEA.

Art. 13. Qualquer instituição legalmente estabelecida em território nacional que crie ou utilize animais para ensino e pesquisa deverá requerer credenciamento no CONCEA, para uso de animais, desde que, previamente, crie a CEUA.

§ 1º A critério da instituição e mediante autorização do CONCEA, é admitida a criação de mais de uma CEUA por instituição.

§ 2º Na hipótese prevista no § 1º deste artigo, cada CEUA definirá os laboratórios de experimentação animal, biotérios e centros de criação sob seu controle.

Art. 14. O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos dos experimentos que constituem a pesquisa ou programa de aprendizado quando, antes, durante e após o experimento, receber cuidados especiais, conforme estabelecido pelo CONCEA.

§ 1º O animal será submetido a eutanásia, sob estrita obediência às prescrições pertinentes a cada espécie, conforme as diretrizes do Ministério da Ciência e Tecnologia, sempre que, encerrado o experimento ou em qualquer de suas fases, for tecnicamente recomendado aquele procedimento ou quando ocorrer intenso sofrimento.

§ 2º Excepcionalmente, quando os animais utilizados em experiências ou demonstrações não forem submetidos a eutanásia, poderão sair do biotério após a intervenção, ouvida a respectiva CEUA quanto aos critérios vigentes de segurança, desde que destinados a pessoas idôneas ou entidades protetoras de animais devidamente legalizadas, que por eles queiram responsabilizar-se.

§ 3º Sempre que possível, as práticas de ensino deverão ser fotografadas, filmadas ou gravadas, de forma a permitir sua reprodução para ilustração de práticas futuras, evitando-se a repetição desnecessária de procedimentos didáticos com animais.

§ 4º O número de animais a serem utilizados para a execução de um projeto e o tempo de duração de cada experimento será o mínimo indispensável para produzir o resultado conclusivo, poupando-se, ao máximo, o animal de sofrimento.

§ 5º Experimentos que possam causar dor ou angústia desenvolver-se-ão sob sedação, analgesia ou anestesia adequadas.

§ 6º Experimentos cujo objetivo seja o estudo dos processos relacionados à dor e à angústia exigem autorização específica da CEUA, em obediência a normas estabelecidas pelo CONCEA.

§ 7º É vedado o uso de bloqueadores neuromusculares ou de relaxantes musculares em substituição a substâncias sedativas, analgésicas ou anestésicas.

§ 8º É vedada a reutilização do mesmo animal depois de alcançado o objetivo principal do projeto de pesquisa.

§ 9º Em programa de ensino, sempre que forem empregados procedimentos traumáticos, vários procedimentos poderão ser realizados num mesmo animal, desde que todos sejam executados durante a vigência de um único anestésico e que o animal seja sacrificado antes de recobrar a consciência.

§ 10. Para a realização de trabalhos de criação e experimentação de animais em sistemas fechados, serão consideradas as condições e normas de segurança recomendadas pelos organismos internacionais aos quais o Brasil se vincula.

Art. 15. O CONCEA, levando em conta a relação entre o nível de sofrimento para o animal e os resultados práticos que se esperam obter, poderá restringir ou proibir experimentos que importem em elevado grau de agressão.

Art. 16. Todo projeto de pesquisa científica ou atividade de ensino será supervisionado por profissional de nível superior, graduado ou pós-graduado na área biomédica, vinculado a entidade de ensino ou pesquisa credenciada pelo CONCEA.

CAPÍTULO V DAS PENALIDADES

Art. 17. As instituições que executem atividades reguladas por esta Lei estão sujeitas, em caso de transgressão às suas disposições e ao seu regulamento, às penalidades administrativas de:

- I – advertência;
- II – multa de R\$ 5.000,00 (cinco mil reais) a R\$ 20.000,00 (vinte mil reais);
- III – interdição temporária;
- IV – suspensão de financiamentos provenientes de fontes oficiais de crédito e fomento científico;
- V – interdição definitiva.

Parágrafo único. A interdição por prazo superior a 30 (trinta) dias somente poderá ser determinada em ato do Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, ouvido o CONCEA.

Art. 18. Qualquer pessoa que execute de forma indevida atividades reguladas por esta Lei ou participe de procedimentos não autorizados pelo CONCEA será passível das seguintes penalidades administrativas:

- I – advertência;
- II – multa de R\$ 1.000,00 (mil reais) a R\$ 5.000,00 (cinco mil reais);
- III – suspensão temporária;
- IV – interdição definitiva para o exercício da atividade regulada nesta Lei.

Art. 19. As penalidades previstas nos arts. 17 e 18 desta Lei serão aplicadas de acordo com a gravidade da infração, os danos que dela provierem, as circunstâncias agravantes ou atenuantes e os antecedentes do infrator.

Art. 20. As sanções previstas nos arts. 17 e 18 desta Lei serão aplicadas pelo CONCEA, sem prejuízo de correspondente responsabilidade penal.

Art. 21. A fiscalização das atividades reguladas por esta Lei fica a cargo dos órgãos dos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, da Saúde, da Educação, da Ciência e Tecnologia e do Meio Ambiente, nas respectivas áreas de competência.

CAPÍTULO VI DISPOSIÇÕES GERAIS E TRANSITÓRIAS

Art. 22. As instituições que criem ou utilizem animais para ensino ou pesquisa existentes no País antes da data de vigência desta Lei deverão:

- I – criar a CEUA, no prazo máximo de 90 (noventa) dias, após a regulamentação referida no art. 25 desta Lei;
- II – compatibilizar suas instalações físicas, no prazo máximo de 5 (cinco) anos, a partir da entrada em vigor das normas estabelecidas pelo CONCEA, com base no inciso V do **caput** do art. 5º desta Lei.

Art. 23. O CONCEA, mediante resolução, recomendará às agências de amparo e fomento à pesquisa científica o indeferimento de projetos por qualquer dos seguintes motivos:

- I – que estejam sendo realizados sem a aprovação da CEUA;
- II – cuja realização tenha sido suspensa pela CEUA.

Art. 24. Os recursos orçamentários necessários ao funcionamento do CONCEA serão previstos nas dotações do Ministério da Ciência e Tecnologia.

Art. 25. Esta Lei será regulamentada no prazo de 180 (cento e oitenta) dias.

Art. 26. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 27. Revoga-se a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979.

Brasília, 8 de outubro de 2008; 187º da Independência e 120º da República.

LUIZ INÁCIO LULA DA SILVA

Tarso Genro

Reinhold Stephanes

José Gomes Temporão

Miguel Jorge

Luiz Antonio Rodrigues Elias

Carlos Minc

ANEXO D - Princípios Éticos na Pesquisa Experimental⁵

Art. I – Todas as pessoas que pratiquem a experimentação biológica devem tomar consciência de que o animal é dotado de sensibilidade, de memória e que sofre sem poder escapar a dor;

Art. II – O experimentador é, moralmente responsável por suas escolhas e por seus atos na experimentação animal;

Art. III – Procedimentos que envolvam animais devem prever e se desenvolver considerando-se sua relevância para a saúde humana o animal, a aquisição de conhecimentos ou o bem da sociedade;

Art. IV – Os animais selecionados para um experimento devem ser de espécie e qualidade apropriadas a apresentar boas condições de saúde, utilizando-se o número mínimo necessário para se obter resultados válidos. Ter em mente a utilização de métodos alternativos tais como modelos matemáticos, simulação por computador e sistemas biológicos “*In vitro*”;

Art. V – É imperativo que se utilizem os animais de maneira adequada, incluindo ai evitar o desconforto, angústia e dor. Os investigadores devem considerar que os processos determinantes de dor ou angústia em seres humanos causam o mesmo em outras espécies, a não ser que o contrário tenha se demonstrado;

Art. VI – Todos os procedimentos com animais, que possam causar dor ou angústia, precisam se desenvolver com sedação, analgesia ou anestesia adequadas. Atos cirúrgicos ou outros atos dolorosos não podem se realizados em animais não anestesiados e que estejam apenas paralisados por agentes químicos e/ou físicos;

Art. VII – Os animais que sofram dor ou angústia intensa ou crônica, que não possam se aliviar e os que não serão utilizados devem ser sacrificados por método indolor e que não cause estresse;

Art. VIII – O uso de animais em procedimentos didáticos e experimentais pressupõe a disponibilidade de alojamento que proporcione condições de vida adequada às espécies,

⁵ Princípios Éticos na Pesquisa Experimental determinados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

contribuindo para sua saúde e conforto. O transporte, a acomodação, a alimentação e os cuidados com os animais criados ou usados para fins biomédicos devem ser dispensados por técnico qualificado;

Art. IX – Os investigadores e funcionários devem ter qualificação e experiência adequadas para exercer procedimentos em animais vivos. Deve-se criar condições para seu treinamento no trabalho, incluindo aspectos de trato e uso humanitário dos animais de laboratório.

ANEXO E - Protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (UFRGS)



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A Comissão Científica e a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/HCPA) analisaram o projeto:

Projeto: 110449

Data da Versão do Projeto: 14/10/2011

Pesquisadores:

EDELA PURICELLI

LUCIANO MAYER

MARÍLIA GERHARDT DE OLIVEIRA

JOÃO BATISTA BLESSMANN WEBER

FABRÍCIO POLETTI MASSOTTI

FERNANDO VACILOTTO GOMES

DEISE PONZONI

Título: ANÁLISE DO EFEITO LOCAL E SISTÊMICO DA LLLT EM REPARO TECIDUAL PERIMPLANTAR: ESTUDO EM COELHOS

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08/10/2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais.

- Os membros da CEUA/HCPA não participaram do processo de avaliação de projetos onde constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada à CEUA/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.

Porto Alegre, 21 de dezembro de 2011.

Dr. Alessandro Bersch Osvaldt
Coordenador da CEUA/HCPA

ANEXO F - Autorização do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVet – UFRGS) para realização da pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias

Av. Bento Gonçalves, 9090 Porto Alegre - RS Brasil 91540-000
E-mail: lavet.lacvet@ufrgs.br Fone: (+55-51) 3308-8033; Fax: (+55-51) 3308-7305
Página web: <http://www6.ufrgs.br/lavet/lacvet/>



Porto Alegre, 22 de janeiro de 2011

Ao Comitê de Ética para o Uso de Animais
(CEUA-PUCRS)
Porto Alegre

Prezados Senhores

Vimos, pelo presente, manifestar a nossa anuência ao apoio solicitado pelo Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber, orientador do doutorando Luciano Mayer, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PPGAd/PUCRS) - área de Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial - para a realização de uma das etapas do trabalho intitulado "Análise do efeito sistêmico de LLLT no reparo tecidual periimplantar: estudo em coelhos". O pesquisador enviará amostras de soro dos animais a este Laboratório, que realizará os testes bioquímicos e encaminhará amostras para dosagens hormonais em outros laboratórios.

Atenciosamente,

Félix H. D. González
Coordenador LACVET / UFRGS

ANEXO G - Justificativa do cálculo do tamanho da amostra

Cálculo amostral

Durante o planejamento e a elaboração do projeto de pesquisa, uma das principais dúvidas é saber o valor do "n" (tamanho da amostra) necessário para o estudo. Apesar desta pergunta ser muito freqüente, as dificuldades em se obter um cálculo adequado são muitas e raramente encontra-se uma resposta precisa.

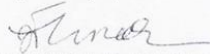
É preciso fornecer informações que dependam de estudos anteriores, dados de literatura e do conhecimento sobre o fenômeno que será estudado. Um bom pesquisador deve saber que um cálculo de amostra não depende apenas de "parâmetros estatísticos", tais como o nível de significância α e o poder do teste $(1 - \beta)$. Mais importantes do que estes parâmetros são as informações que devem ser fornecidas com base no conhecimento clínico, como por exemplo, estimativas sobre a variabilidade da medida de interesse e a diferença considerada clinicamente relevante que se deseja detectar (muitas vezes chamada de "tamanho do efeito").

Convém refletir sobre a real necessidade de um cálculo que utiliza apenas teoria estatística sem levar em conta outras questões importantes, tais como dificuldades logísticas na obtenção dos dados. Nem sempre o cálculo baseado em alfas, betas, etc. é possível ou imprescindível.

O tamanho da amostra deve ser justificado com base em outros estudos, pois o cálculo por meio de fórmulas exige informações referentes à variabilidade da variável de interesse e sobre qual a diferença entre os parâmetros com relevância clínica.

Quando se utiliza testes não paramétricos, há uma dificuldade na determinação do tamanho das amostras, pois os mesmos são aplicados para distribuições livres (não normais), podendo ter alta variabilidade e amostras pequenas.

Portanto, para determinação do tamanho da amostra deste estudo com modelo experimental com coelho, optou-se por determinar o "n" em 06 para cada grupo, baseando-se nos estudos de Khadra et al. (2004), Lopes et al. (2005), Lopes et al. (2007), Li et al. (2009), Bae et al. (2009) e Pereira et al. (2009), nos quais o "n" dos grupos, seja teste ou controle, ficou sempre entre 05 e 08. Estas pesquisas foram realizadas para estudar a cicatrização do tecido ósseo em coelhos com a associação da LLLT (em sua maioria na região perimplantar) apresentando resultados estatisticamente significativos.



Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes
Coordenador do Deptº de Estatística
de Faculdade de Matemática de PUCRS

Prof. Dr. João Feliz Duarte de Moraes
Coordenador do Departamento de Estatística
Faculdade de Matemática - PUCRS
Av. Ipiranga, 6681 - Predio 30 - Bloco C - sala 104
Tel.:(051)3320-3531 Ramal 4214 ou 33534214
E-mail: jfmoraes@pucrs.br

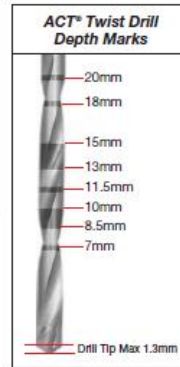
ANEXO H – Instruções para colocação dos implantes Nanotite® – Biomet 3i® (conexão externa – HE – 3,25mm de diâmetro – 11,5mm de comprimento)

Quick Reference Surgical Protocol

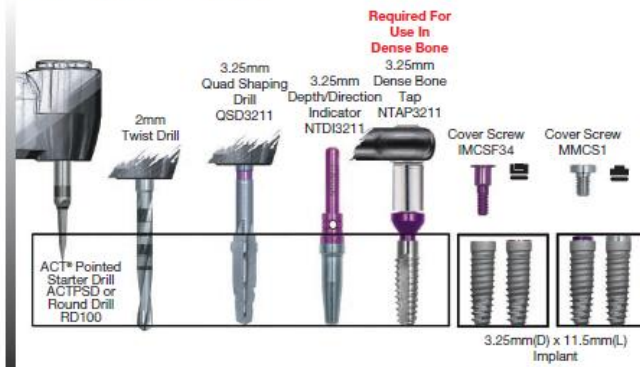
NOTE:

- The recommended drill speed for all drills is 1200–1500rpm.
- The Quad Shaping Drills must be used without pumping actions.
- The recommended implant placement speed is 15–20rpm.
- The implant placement torque may exceed 50Ncm.
- Tapping is required for implant placement in dense bone (Type I).
- Undersizing the osteotomy by one shaping drill diameter is recommended for implant placement in soft bone (Type IV).
- Hand ratcheting may be necessary to fully seat the implant in the osteotomy.

D = Diameter
C = Collar
P = Platform
L = Length

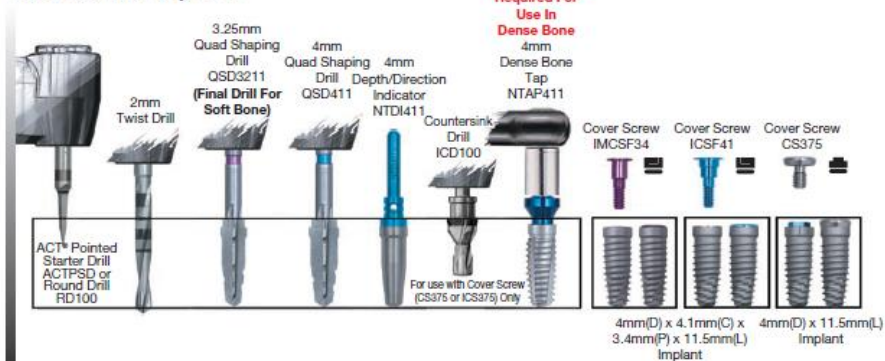


Tapered Certain® Internal And External Hex Connection 3.25mm Diameter Implants



See page 18 for detailed instructions.

Tapered Certain® PREVAIL® 4/3mm, Tapered Certain® Internal And External Hex Connection 4mm Diameter Implants



See page 20 for detailed instructions.



ANEXO I – Normas para publicação - periódico *Clinical Implant Dentistry and Related Research*

Author Guidelines

The goal of *Clinical Implant Dentistry and Related Research* is to advance the scientific and technical aspects relating to dental implants and related scientific subjects. Dissemination of new and evolving information related to dental implants and the related science is the primary goal of our journal. The range of topics covered by the journals will include but be not limited to:

- New scientific developments relating to bone
- Implant surfaces and their relationship to the surrounding tissues
- Computer aided implant designs
- Computer aided prosthetic designs
- Immediate implant loading
- Immediate implant placement
- Materials relating to bone induction and conduction
- New surgical methods relating to implant placement
- New materials and methods relating to implant restorations
- Methods for determining implant stability

A primary focus of the journal is publication of evidenced based articles evaluating to new dental implants, techniques, multicenter studies, and prospective studies reporting long term outcomes for dental implants. In addition, basic science research relating to wound healing and osseointegration are an important focus for the journal.

Clinical Implant Dentistry and Related Research welcomes authors to submit original articles and review articles relating to research, clinical studies, and practical applications of methods and materials relating to dental implants. Related research, including original case reports and short communications, will be considered for publication if it offers a unique perspective that has not previously been introduced into the literature. We welcome the opportunity to provide timely supplements or special issues relating to new technology or treatment.

Effective immediately, case reports will be given the lowest priority in terms of publication in *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. All submissions are subject to review and will be reviewed by a minimum of three separate reviewers.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell Author Services: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for further information on the preparation and submission of articles and figures.

General questions about the submission or peer-review process can be directed to the Managing Editor, Rachel Yehl, at cid-admin@wiley.com.

Questions about a submission from North America, South America, and Asia should be addressed to:

William Becker, DDS, MSD, ODhc Editor-in-Chief
Wilmot Dental Center
801 North Wilmot, Suite B-2
Tucson, AZ 85711 USA
Tel: (520) 745- 5558
Fax: (520) 745-9966
e-mail: branebill@comcast.net

Questions about a submission from Europe, Australia, and Africa should be addressed to:

Lars Sennerby, DDS, PhD Editor-in-Chief
Department of Biomaterials/Handicap Research Institute for Surgical Sciences
Gothenburg University
P.O. Box 412
SE 405 30 Gothenburg
Sweden
Tel: +46 31 7732950
Fax: +46 31 7732941
e-mail: lars.sennerby@telia.com

MANUSCRIPT PREPARATION and SUBMISSION

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/cid>

The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below.

Please Note: If you are submitting a revised manuscript, please make sure all changes are underlined or highlighted in blue or yellow in the manuscript document.

Getting Started

- Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/cid>
- Log-in or click the "Create Account" option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account. - After clicking on "Create Account", enter your name and e-mail information and click "Next". Your e-mail information is very important. - Enter your institution and address information as appropriate, and then click "Next." - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click "Finish". • If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/cid> and enter your email address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select "Author Center"

Submitting Your Manuscript

- After you have logged in, click the "Submit a Manuscript" link in the menu bar.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the "Next" button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files. - Click on the "Browse" button and locate the file on your computer. - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button. - When you have selected all files you wish to upload, click the "Upload Files" button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before sending to the Journal. Click the "Submit" button when you are finished reviewing.

Title Page (first page): The title page must include all authors' full names, highest degrees, and academic affiliations. A corresponding author must be designated, with name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address. Please also include a conflict of interest statement for all authors. (If authors have no conflict of interest relevant to the content of the submission, please state "no conflict of interest").

Abstract (second page): A structured abstract of 150-200 words must be provided; should stand alone as an accurate summary of the paper; and should include the headings: statements of problem, method of study, results, and conclusions. Footnotes and references are not used in the abstract.

References: References must be listed, double-spaced, in consecutive numerical order (the order of citation in the manuscript, not alphabetically). All references must be cited in text or tables by superscript numbers. References to journal articles must include: (1) author(s) name(s) with initials (list all authors up to six; otherwise, list three authors followed by et al.); (2) article title; (3) journal title as abbreviated in Index Medicus; (4) year of publication; (5) volume number; and (6) opening and closing page numbers. (e.g., Scherer W, Boylan R, Bhatt S. Vital bleaching agents and oral antiseptic: effect on anaerobic bacteria. *J Esthet Dent* 1992; 4:82-85.)

References to books should include: (1) author(s) name(s) with initials; (2) title of chapter (if applicable); (3) editor(s) name(s) with initials; (4) title of book and edition; (5) place of publication; (6) publisher; (7) year of publication; and (8) opening and closing page numbers. (e.g., Wright JM, Taylor PP. Infections of the oral cavity. In: Nelson JD, ed. *Current therapy in pediatric infectious disease-2*. Philadelphia: BC Decker, 1988:23-27.) The author is responsible for the accuracy and completeness of the references and for their correct citation.

Tables: Each table should be typed on a separate sheet of paper with its caption. Each table should contain all necessary information in order that it may stand alone, independent of text, and no table should contain data that could be included in the text in several sentences.

Illustration Preparation: Submit one set of original illustrations in electronic form only. Do not send glossy prints or images embedded in word processing files. Color photographs must be saved in CMYK as TIF or JPG files at 300dpi at 5 inches (12.5cm) in width. Black and white photographs must be saved in greyscale as TIF files at 300dpi at 5 inches (12.5cm) in width. Line drawings can be prepared in Microsoft Word, PowerPoint, or Adobe Illustrator but without embedded images from other sources. Existing line drawings must be scanned at 1200dpi at a minimum of 12.5cm (5in) in width and saved as EPS files (flow charts must not exceed 7 inches [18cm] in width). *Clinical Implant Dentistry and Related Research* is a full color publication.

Permissions: Illustrations, tables, etc. that have previously appeared elsewhere must be submitted with a legal release from the holder of their copyrights, usually the publisher. The author is responsible for obtaining all necessary permissions.

Conflict of Interest: Authors are required to disclose any possible conflict of interest. These include financial (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee). Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) will be published under a separate heading entitled Disclosure. The form is available under the "Instructions and Forms" tab in Manuscript Central.

Source of Funding: Authors are required to specify the source of funding for their research when submitting a paper. Suppliers of materials should be named and their location (town,

state/county, country) included. The information will be disclosed in the published article.

Ethical Approvals: All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

Plagiarism: CIDRR employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works. Plagiarism is any instance where another person's, or one's own previously published, thoughts, words, or ideas are used without appropriate attribution.

Copyright Assignment : Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere.

The Contributor assigns to Wiley-Blackwell, during the full term of copyright and any extensions or renewals, all copyright in and to the Contribution, and all rights therein, including but not limited to the right to publish, republish, transmit, sell, distribute and otherwise use the Contribution in whole or in part in electronic and print editions of the Journal and in derivative works throughout the world, in all languages and in all media of expression now known or later developed, and to license or permit others to do so.

Upon acceptance of a paper, authors are required to sign the Copyright Transfer Agreement and submit it to the editorial office.

Proofs and Reprints: Page proofs are sent to the corresponding author for proofreading text, tables, legends, and references. Important factual changes and printer errors are the only allowable corrections. Extensive changes should be avoided as they delay publication of the article. Reprint prices and order forms will accompany proofs. Orders should be returned to the publisher at the time proofs are returned. Each lead author will receive a free PDF of their article.

Early View Publication Prior to Print: *Clinical Implant Dentistry and Related Research* is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

NEW: Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors

can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript.

Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

ANEXO J – Comprovante de submissão do artigo intitulado “*Effect of low-level laser therapy on peri-implant bone healing: a review of the literature*” para o periódico *Clinical Implant Dentistry and Related Research*



CLINICAL IMPLANT DENTISTRY
and Related Research

Effect of low-level laser therapy on peri-implant bone healing: a review of the literature

Journal:	<i>Clinical Implant Dentistry and Related Research</i>
Manuscript ID:	CID-12-357
Manuscript Type:	Review
Date Submitted by the Author:	14-Nov-2012
Complete List of Authors:	Mayer, Luciano; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia Gomes, Fernando; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia Gerhardt-Oliveira, Marília; Hospital Cristo Redentor, Oral and Maxillofacial Surgery Service Weber, João; Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia
Keywords:	laser therapy, dental implants, osseointegration, review, low-level

SCHOLARONE™
Manuscripts

ANEXO K – Normas para publicação - periódico *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*

Guide for Authors

Would authors please note that the reference style for the journal has now changed. Please pay special attention to the guidelines under the heading "References" below

Authors wishing to submit their work to the journal are urged to read this detailed guide for authors and comply with all the requirements, particularly those relating to manuscript length and format. This will speed up the reviewing process and reduce the time taken to publish a paper following acceptance.

Online Submission

Submission and peer-review of all papers is now conducted entirely online, increasing efficiency for editors, authors, and reviewers, and enhancing publication speed. Authors requiring further information on online submission are strongly encouraged to view the system, including a tutorial, at <http://ees.elsevier.com/ijoms>

A comprehensive Author Support service is available to answer additional enquiries at authorsupport@elsevier.com. Once a paper has been submitted, all subsequent correspondence between the Editorial Office (ijoms@elsevier.com) and the corresponding author will be by e-mail.

Editorial Policy

A paper is accepted for publication on the understanding that it has not been submitted simultaneously to another journal, has been read and approved by all authors, and that the work has not been published before. The Editors reserve the right to make editorial and literary corrections. Any opinions expressed or policies advocated do not necessarily reflect the opinions and policies of the Editors.

Declarations

Upon submission you will be required to complete and upload this form ([pdf version](#) or [word version](#)) to declare funding, conflict of interest and to indicate whether ethical approval was

sought. This information must also be inserted into your manuscript under the acknowledgements section with the headings below. If you have no declaration to make please insert the following statements into your manuscript:

Funding: None

Competing interests: None declared

Ethical approval: Not required

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data

(2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content

(3) final approval of the version to be submitted.

Normally one or two, and no more than three, authors should appear on a short communication, technical note or interesting case/lesson learnt. Full length articles may contain as many authors as appropriate. Minor contributors and non-contributory clinicians who have allowed their patients to be used in the paper should be acknowledged at the end of the text and before the references.

The corresponding author is responsible for ensuring that all authors are aware of their obligations.

Before a paper is accepted all the authors of the paper must sign the Confirmation of Authorship form. This form confirms that all the named authors agree to publication if the paper is accepted and that each has had significant input into the paper. Please download the form and send it to the Editorial Office. ([pdf version](#) or [word version](#)) It is advisable that to prevent delay this form is submitted early in the editorial process.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a

person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Conflict of interest

At the end of the main text, all authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organisations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If an author has no conflict of interest to declare, this should be stated.

Role of the funding source

All sources of funding should be declared as an acknowledgement at the end of the text. Authors should declare the role of study sponsors, if any, in the study design, in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the manuscript; and in the decision to submit the manuscript for publication. If the study sponsors had no such involvement, the authors should so state.

Open access

This journal offers you the option of making your article freely available to all via the ScienceDirect platform. To prevent any conflict of interest, you can only make this choice after receiving notification that your article has been accepted for publication. The fee of \$3,000 excludes taxes and other potential author fees such as color charges. In some cases, institutions and funding bodies have entered into agreement with Elsevier to meet these fees on behalf of their authors. Details of these agreements are available at <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. Authors of accepted articles, who wish to take advantage of this option, should complete and submit the order form (available at <http://www.elsevier.com/locate/openaccessform.pdf>). Whatever access option you choose, you retain many rights as an author, including the right to post a revised personal version of your article on your own website. More information can be found here: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Ethics

Work on human beings that is submitted to the International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki (Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, the 35th World Medical Assembly, Venice, Italy, October 1983, and the 41st World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989). The manuscript should contain a statement that the work has been approved by the appropriate ethical committees related to the institution(s) in which it was performed and that subjects gave informed consent to the work. Studies involving experiments with animals must state that their care was in accordance with institution guidelines. Patients' and volunteers' names, initials, and hospital numbers should not be used.

Language Editing Services

Papers will only be accepted when they are written in an acceptable standard of English. Authors, particularly those whose first language is not English, who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission should visit <http://www.elsevier.com/wps/find/authorshome.authors/languagepolishing> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note, Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms and Conditions http://www.elsevier.com/wps/find/termsconditions.cws_home/termsconditions.

Article Types

The following contributions will be accepted for publication. *Please take careful note of the maximum length where applicable.* Overlength articles will be returned to the authors without peer review:

- editorials (commissioned by the editor)
- clinical papers: no more than 5000 words and 30 references
- research papers: no more than 6000 words and 40 references
- review papers - no limit on length or number of references
- technical notes (surgical techniques, new instruments, technical innovations) - no more than

2000 words, 10 references and 4 figures

- case reports - no more than 2000 words, 10 references and 4 figures
- book reviews
- letters to the editor - please see detailed guidelines provided at the end of the main guide for authors
- IAOMS announcements
- general announcements.

Please note: Case reports will be considered for publication only if they add new information to the existing body of knowledge or present new points of view on known diseases.

All authors must have contributed to the paper, not necessarily the patient treatment.

Technical notes and case reports are limited to a maximum of 4 authors, in exceptional circumstances, 5.

Criteria for Publication

Papers that will be considered for publication should be: • focused

- based on a sound hypothesis and an adequate investigation method analysing a statistically relevant series, leading to relevant results that back the conclusion
- well written in simple, scientific English grammar and style
- presented with a clear message and containing new information that is relevant for the readership of the journal
- Note the comment above relating to case reports.

Following peer-review, authors are required to resubmit their revised paper within **3 months**; in exceptional circumstances, this timeline may be extended at the editor's discretion.

Presentation of Manuscripts

General points

Papers should be submitted in journal style. Failure to do so will result in the paper being immediately returned to the author and may lead to significant delays in publication. Spelling may follow British or American usage, but not a mixture of the two. Papers should be double-

spaced with a margin of at least 3 cm all round.

Format

Papers should be set out as follows, with each section beginning on a separate page: • title page

- abstract
- text
- acknowledgements
- references
- tables
- captions to illustrations.

Please note that the qualifications of the authors will not be included in the published paper and should not be listed anywhere on the manuscript.

Title page

The title page should give the following information: • title of the article

- full name of each author
- name and address of the department or institution to which the work should be attributed
- name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author responsible for correspondence and to whom requests for offprints should be sent
- sources of support in the form of grants
- key words.

If the title is longer than 40 characters (including spaces), a short title should be supplied for use in the running heads.

Abstract

200 words maximum. Do not use subheadings or abbreviations; write as a continuous paragraph. Must contain all relevant information, including results and conclusion.

Text

Please ensure that the text of your paper conforms to the following structure: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion. There is no separate Conclusion section. There should be no mention of the institution where the work was carried out, especially in the

Materials and Methods section.

Introduction

- Present first the nature and scope of the problem investigated
- Review briefly the pertinent literature
- State the rationale for the study
- Explain the purpose in writing the paper
- State the method of investigation and the reasons for the choice of a particular method
- ; Should be written in the present tense

Materials and Methods

- Give the full details, limit references• Should be written in the past tense• Include exact technical specifications, quantities and generic names• Limit the number of subheadings, and use the same in the results section• Mention statistical method• Do not include results in this section

Results

- Do not describe methods
- Present results in the past tense
- Present representations rather than endlessly repetitive data
- Use tables where appropriate, and do not repeat information in the text

Discussion

- Discuss - do not recapitulate results• Point out exceptions and lack of correlations. Do not try to cover up or 'fudge' data• Show how results agree/contrast with previous work• Discuss the implications of your findings • State your conclusions very clearly

Headings: Headings enhance readability but should be appropriate to the nature of the paper. They should be kept to a minimum and may be removed by the Editors. Normally only two categories of headings should be used: major ones should be typed in capital letters; minor ones should be typed in lower case (with an initial capital letter) at the left hand margin.

Quantitative analysis: If any statistical methods are used, the text should state the test or other

analytical method applied, basic descriptive statistics, critical value obtained, degrees of freedom, and significance level, e.g. (ANOVA, $F=2.34$; $df=3,46$; $P<0.001$). If a computer data analysis was involved, the software package should be mentioned. Descriptive statistics may be presented in the form of a table, or included in the text.

Abbreviations, symbols, and nomenclature: Only standardized terms, which have been generally accepted, should be used. Unfamiliar abbreviations must be defined when first used. For further details concerning abbreviations, see Baron DN, ed. Units, symbols, and abbreviations. A guide for biological and medical editors and authors, London, Royal Society of Medicine, 1988 (available from The Royal Society of Medicine Services, 1 Wimpole Street, London W1M 8AE, UK).

The minus sign should be -.

If a special designation for teeth is used, a note should explain the symbols. Scientific names of organisms should be binomials, the generic name only with a capital, and should be italicised in the typescript. Microorganisms should be named according to the latest edition of the Manual of Clinical Microbiology, American Society of Microbiology.

Drugs: use only generic (non-proprietary) names in the text. Suppliers of drugs used may be named in the Acknowledgments section. Do not use 'he', 'his' etc where the sex of the person is unknown; say 'the patient' etc. Avoid inelegant alternatives such as 'he/she'. Patients should not be automatically designated as 'she', and doctors as 'he'.

References

The journal's reference style has changed. References should be numbered consecutively throughout the article, beginning with 1 for the first-cited reference. References should be listed at the end of the paper in the order in which they appear in the text (not listed alphabetically by author and numbered as previously).

The accuracy of references is the responsibility of the author. References in the text should be numbered with superscript numerals inside punctuation: for example "Kenneth and Cohen¹⁴ showed..."; "each technique has advantages and disadvantages⁵⁻¹³." Citations in the text to papers with more than two authors should give the name of the first author followed by "et al."; for example: "Wang et al³⁷ identified..."

All references cited in the text must be included in the list of references at the end of the paper. Each reference listed must include the names of all authors. Please see section "Article Types" for guidance on the maximum number of reference for each type of article.

Titles of journals should be abbreviated according to Index Medicus (see www.nlm.nih.gov.uk) . When citing papers from monographs and books, give the author, title of chapter, editor of book, title of book, publisher, place and year of publication, first and last page numbers. Internet pages and online resources may be included within the text and should state as a minimum the author(s), title and full URL. The date of access should be supplied and all URLs should be checked again at proof stage.

Examples:

Journal article: Halsband ER, Hirshberg YA, Berg LI. Ketamine hydrochloride in outpatient oral surgery. *J Oral Surg* 1971; 29: 472-476.

When citing a paper which has a Digital Object Identifier (DOI), use the following style:
Toschka H, Feifel H. Aesthetic and functional results of harvesting radial forearm flap. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001; 30: 45-51. doi: 10.1054/ijom.2000.0005

Book/monograph: Costich ER, White RP. *Fundamentals of oral surgery*. Philadelphia: WB Saunders, 1971: 201-220.

Book chapter: Hodge HC, Smith FA. Biological properties of inorganic fluorides. In: Simons JH, ed.: *Fluorine chemistry*. New York: Academic Press, 1965: 135.

Internet resource: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. <http://www.icmje.org> [Accessibility verified March 21, 2008]

Tables

Tables should be used only to clarify important points. Double documentation in the form of tables and figures is not acceptable. Tables should be numbered consecutively with Arabic numerals. They should be double spaced on separate pages and contain only horizontal rules. Do not submit tables as photographs. A short descriptive title should appear above each table, with any footnotes suitably identified below. Care must be taken to ensure that all units are included. Ensure that each table is cited in the text.

Figures

All illustrations (e.g. graphs, drawings or photographs) are considered to be figures, and should be numbered in sequence with Arabic numerals. Each figure should have a caption, typed double-spaced on a separate page and numbered correspondingly. **The minimum resolution for electronically generated figures is 300 dpi.**

Line illustrations: All line illustrations should present a crisp black image on an even white background (127 x 178 mm (5 x 7 in), or no larger than 203 x 254 mm (8 x 10 in). The size of the lettering should be appropriate, taking into account the necessary size reduction.

Photographs and radiographs: Photomicrographs should show magnification and details of any staining techniques used. **The area(s) of interest must be clearly indicated with arrows or other symbols.**

Colour images are encouraged, but the decision whether an illustration is accepted for reproduction in colour in the printed journal lies with the editor-in-chief. Figures supplied in colour will appear in colour in the online version of the journal.

Size of photographs: The final size of photographs will be: (a) single column width (53 mm), (b) double column width (110 mm), (c) full page width (170 mm). Photographs should ideally be submitted at the final reproduction size based on the above figures.

Patient confidentiality: Where illustrations must include recognizable individuals, living or dead, great care must be taken to ensure that consent for publication has been obtained. If identifiable features are not essential to the illustration, please indicate where the illustration can be cropped. In cases where consent has not been obtained and recognizable features may appear, it will be necessary to retouch the illustration to mask the eyes or otherwise render the individual unrecognizable.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as

conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author, which they are requested to correct and return within **48 hours**. Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author will be provided, at no cost, with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

Accepted Articles

For the facility to track accepted articles and set email alerts to inform you of when an

article's status has changed, visit: <http://authors.elsevier.com/TrackPaper.html> There are also detailed artwork guidelines, copyright information, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those related to proofs, are provided after registration of an article for publication.

Instructions for Letters to the Editor

The IJOMS welcomes Letters to the Editor. To facilitate submission of the highest quality of Letters to the Editor, the following guidelines should be followed:

1. Letters are meant to be focus pieces and, therefore, are limited to no more than 600 words and 6 references. One reference should include a reference to the IJOMS article being addressed.
2. It is recommended that you limit your letter to one or two important and critical points to which you wish to provide a clear and precise discussion regarding the previously published article.
3. One should support all assertion by peer review literature which should be a primary research or large clinical studies rather than a case report.
4. Please include any financial disclosures at the end of the letter. This would include the potential conflicts of interest not just related to the specific content of your letter but also the content of the IJOMS article and other related areas.
5. Please recognize that letters that are essentially in agreement with the author's findings and offer no additional insights provide little new information for publication. Likewise, letters that highlight the writer's own research or are otherwise self promotional will receive a low publication priority.
6. There may be a need for additional editing. Should editing be required the letter will be sent back to the author for final approval of the edited version.
7. It is important to use civil and professional discourse. It is not advisable that one adopt a tone that may be misconstrued to be in anyway insulting.
8. Finally, it is not advisable to provide a letter that is anecdotal. While personal experiences can have great value in patient care, it is generally not strong evidence to be placed in a letter to the editor.

ANEXO L – Comprovante de submissão do artigo intitulado “*Systemic effects of LLLT on thyroid function after titanium dental implant placement: an experimental rabbit model*” para o periódico *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*

Elsevier Editorial System(tm) for International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery
Manuscript Draft

Manuscript Number: IJOMS-D-12-00881

Title: Systemic effects of LLLT on thyroid function after titanium dental implant placement: an experimental rabbit model

Article Type: Research Paper

Keywords: Thyroid gland; laser therapy; low level; thyroid hormones; dental implant.

Corresponding Author: Dr. João Batista Blessmann Weber, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: PUCRS

First Author: Luciano Mayer

Order of Authors: Luciano Mayer; Fernando V Gomes; Carlos E Baraldi; Fabrício P Massotti; Deise Ponzoni; Marília Gerhardt-Oliveira; João Batista Blessmann Weber, Ph.D.

Abstract: This study sought to assess the systemic effect of low-level laser therapy (LLLT) on thyroid function and, consequently, on calcium regulation by measurement of triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), calcium, and albumin levels in rabbits. Forty male New Zealand rabbits were allocated randomly across five groups of eight each: CI (no LLLT, no surgery), CII (no LLLT), EI (70 J/cm²), EII (35 J/cm²) and EIII (140 J/cm²). In all groups except CI, animals underwent extraction of the mandibular left incisor followed by immediate placement of an osseointegrated implant. All experiment groups received infrared laser irradiation [GaAlAs, $\lambda=830$ nm, 50mW, CW] every 48h over 13 days, for a total of 7 sessions. T3, T4, calcium and albumin were measured in venous blood at four points in time (before surgery, immediately after surgery, after the first and after last LLLT sessions). Significant differences in T3 and calcium levels were detected between study groups, as well as significant within-group differences in T3, T4, calcium, and albumin levels over time. Despite a significant effect on circulating serum levels of T3, T4, calcium and albumin, the LLLT protocol used in this study did not lead to impairment of thyroid function in a rabbit model.



APÊNDICE

APÊNDICE A – Anatomia interna do coelho

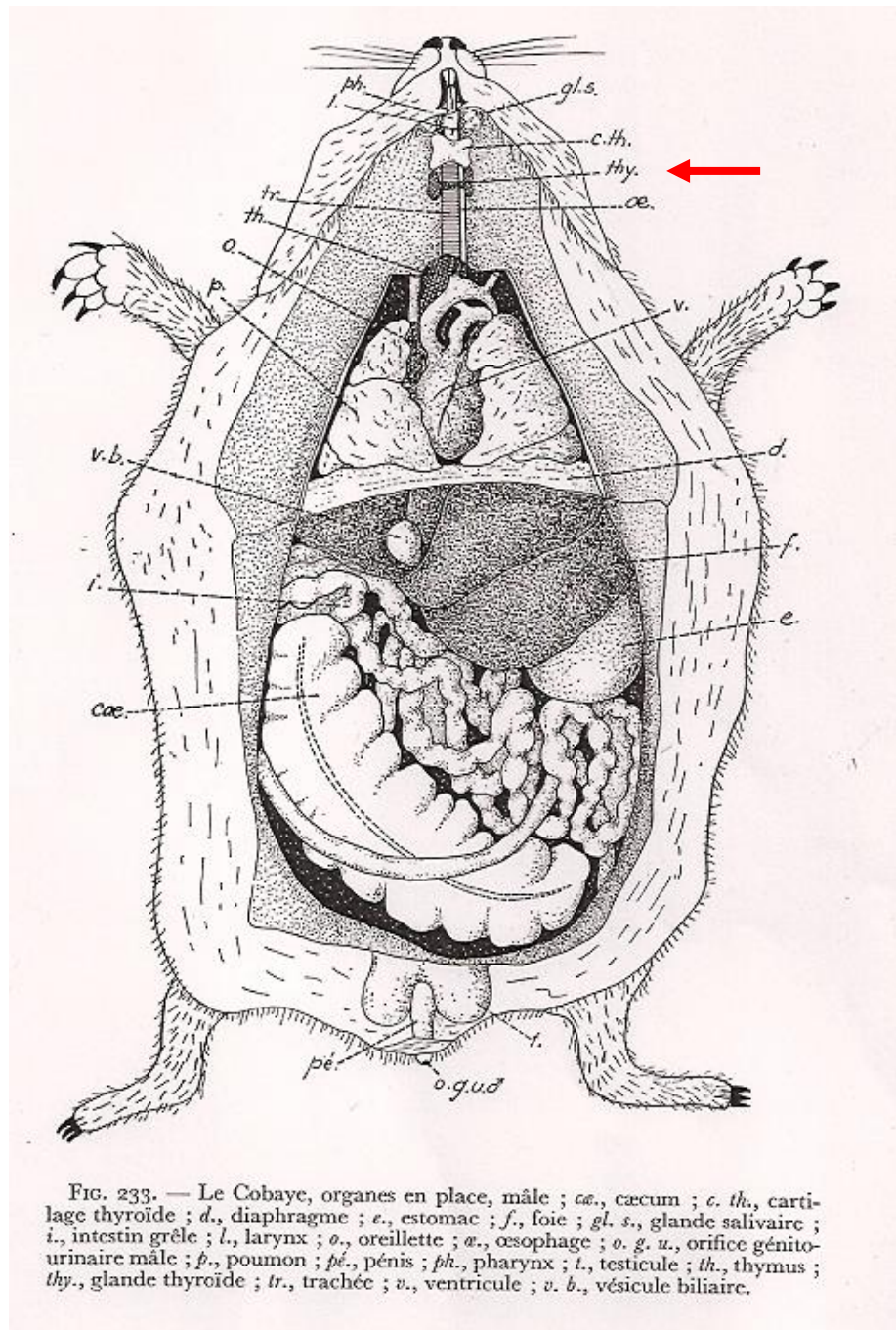


FIG. 233. — Le Cobaye, organes en place, mâle ; *cae.*, cæcum ; *c. th.*, cartilage thyroïde ; *d.*, diaphragme ; *e.*, estomac ; *f.*, foie ; *gl. s.*, glande salivaire ; *i.*, intestin grêle ; *l.*, larynx ; *o.*, oreillette ; *o.*, œsophage ; *o. g. u.*, orifice génito-urinaire mâle ; *p.*, poulmon ; *pé.*, pénis ; *ph.*, pharynx ; *t.*, testicule ; *th.*, thymus ; *thy.*, glande thyroïde ; *tr.*, trachée ; *v.*, ventricule ; *v. b.*, vésicule biliaire.

Fonte: TIXIER, A.; GAELLARD, J.M. Anatomie animale et dissection. 1. ed. Paris: Vigot Frères Éditeurs, 1957. 375 p.

APÊNDICE B – Resultados das dosagens hormonais de Triiodotironina (T₃) e Tiroxina (T₄) no soro sanguíneo dos coelhos

	Hormônios - Coleta 1		Hormônios - Coleta 2		Hormônios - Coleta 3		Hormônios - Coleta 4	
	T3 (ng/dL)	T4 (µg/dL)	T3 (ng/dL)	T4 (µg/dL)	T3 (ng/dL)	T4 (µg/dL)	T3 (ng/dL)	T4 (µg/dL)
C I - 1	165,02	2,94	141,17	2,46	135,45	2,52	191,01	3,70
C I - 2	169,76	2,38	167,64	1,94	168,88	2,54	188,40	3,08
C I - 3	173,56	2,47	134,86	2,58	169,35	2,91	159,22	3,36
C I - 4	154,50	1,18	159,40	2,91	168,50	1,92	135,12	3,38
C I - 5	209,46	2,81	144,47	2,00	158,17	2,82	144,05	3,26
C I - 6	119,34	3,71	139,35	1,92	167,00	3,76	153,06	3,12
C I - 7	182,52	2,75	150,24	2,44	107,45	3,75	174,26	3,18
C I - 8	122,40	2,26	178,63	2,14	140,33	3,64	175,22	3,29
C II - 1	136,86	1,79	163,95	3,41	158,73	2,71	192,26	2,92
C II - 2	133,68	2,31	155,14	3,46	143,90	2,07	121,22	3,13
C II - 3	143,47	3,46	138,37	3,69	200,51	3,59	266,32	4,69
C II - 4	125,56	1,93	141,05	2,03	175,76	1,73	168,63	2,58
C II - 5	157,62	1,95	197,64	2,35	195,73	2,51	200,68	2,72
C II - 6	174,60	2,06	194,02	3,13	194,78	2,45	243,10	3,34
C II - 7	150,45	2,83	187,94	3,15	169,24	2,94	252,74	3,14
C II - 8	122,32	2,08	173,79	3,02	213,98	3,58	144,19	2,97
E I - 1	165,45	2,72	176,78	2,43	175,76	3,53	250,52	3,33
E I - 2	120,39	1,12	167,23	1,81	144,55	1,89	241,40	2,40
E I - 3	156,43	1,50	171,92	1,81	152,66	1,47	268,81	2,21
E I - 4	180,97	3,08	194,02	3,05	253,18	3,70	264,12	3,27
E I - 5	190,34	2,82	218,31	3,36	188,51	2,90	215,89	3,01
E I - 6	200,70	3,43	242,23	3,81	173,93	3,26	215,12	4,27
E I - 7	137,66	1,73	164,95	1,92	120,48	2,33	157,42	2,18
E I - 8	155,49	2,82	215,77	3,72	116,39	2,93	177,67	4,31
E II - 1	128,70	1,85	173,25	2,38	122,34	2,10	161,85	3,16
E II - 2	157,38	2,17	175,96	3,13	180,89	3,74	141,68	3,07
E II - 3	155,26	2,58	229,65	3,79	257,69	4,10	190,21	3,13
E II - 4	164,95	2,59	189,74	4,32	472,99	4,13	171,70	3,29
E II - 5	137,06	3,67	160,50	3,69	187,84	3,79	179,28	3,48
E II - 6	142,62	1,62	166,72	2,32	153,63	3,11	179,38	3,70
E II - 7	138,26	1,52	146,91	2,27	202,48	1,69	120,09	2,60
E II - 8	130,40	1,57	162,46	2,57	156,02	3,66	160,02	2,20
E III - 1	128,89	2,78	157,85	3,52	154,33	3,67	230,54	4,12
E III - 2	140,74	1,85	195,27	3,14	238,85	2,78	106,65	3,30
E III - 3	149,34	2,17	190,95	2,43	223,69	2,29	169,24	2,70
E III - 4	180,40	4,36	174,87	4,45	223,30	5,67	262,73	4,50
E III - 5	179,28	2,28	163,45	2,69	142,98	2,57	205,76	2,55
E III - 6	245,20	3,31	193,71	4,77	192,95	4,12	221,32	3,86
E III - 7	185,28	3,13	214,69	3,27	165,32	3,99	234,66	3,27
E III - 8	124,65	2,19	171,66	2,08	146,11	2,04	144,82	2,73

Fonte: Dados da pesquisa (CEUA-PUCRS 11/00235).

APÊNDICE C – Resultados das dosagens dos níveis de Cálcio no soro sanguíneo dos coelhos

	Cálcio - Coleta 1 (mg/dL)	Cálcio - Coleta 2 (mg/dL)	Cálcio - Coleta 3 (mg/dL)	Cálcio - Coleta 4 (mg/dL)
C I - 1	13,75	13,01	13,90	13,97
C I - 2	14,60	13,93	14,28	13,92
C I - 3	15,21	14,21	14,36	13,32
C I - 4	11,83	14,77	12,17	12,71
C I - 5	14,55	13,99	13,81	12,93
C I - 6	13,99	13,71	13,37	13,93
C I - 7	14,54	12,90	13,32	14,89
C I - 8	13,62	14,11	14,21	14,12
C II - 1	12,50	12,68	13,29	12,90
C II - 2	12,88	14,08	13,42	14,26
C II - 3	12,92	14,69	13,36	13,82
C II - 4	12,60	12,89	13,75	13,36
C II - 5	13,23	13,77	13,75	14,43
C II - 6	12,64	13,60	13,49	13,65
C II - 7	13,19	14,44	13,77	14,10
C II - 8	12,61	12,94	13,41	12,71
E I - 1	12,44	13,96	13,37	13,63
E I - 2	12,82	13,07	13,95	14,62
E I - 3	13,31	14,71	14,30	15,36
E I - 4	13,06	13,66	13,80	14,52
E I - 5	13,24	14,26	13,89	14,60
E I - 6	13,45	14,31	13,70	14,27
E I - 7	12,94	13,36	13,55	14,42
E I - 8	13,20	14,28	13,79	14,30
E II - 1	13,82	14,70	13,88	14,45
E II - 2	12,86	13,53	13,59	12,30
E II - 3	13,21	15,10	14,23	13,94
E II - 4	13,38	14,00	14,14	13,07
E II - 5	13,77	13,99	13,39	14,00
E II - 6	13,64	14,42	14,10	13,26
E II - 7	13,84	15,12	14,25	13,48
E II - 8	13,29	14,41	13,75	14,23
E III - 1	13,25	14,41	13,53	14,25
E III - 2	13,70	14,61	13,46	14,28
E III - 3	14,02	13,81	13,34	13,85
E III - 4	14,05	14,18	13,22	13,64
E III - 5	13,92	14,63	13,86	12,35
E III - 6	13,76	14,66	12,93	13,39
E III - 7	13,97	14,36	13,84	13,04
E III - 8	13,85	14,52	13,34	12,53

Fonte: Dados da pesquisa (CEUA-PUCRS 11/00235).

APÊNDICE D – Resultados das dosagens dos níveis de Albumina no soro sanguíneo dos coelhos

	Albumina - Coleta 1 (mg/dL)	Albumina - Coleta 2 (mg/dL)	Albumina - Coleta 3 (mg/dL)	Albumina - Coleta 4 (mg/dL)
C I - 1	43,85	42,64	44,15	48,38
C I - 2	43,34	46,47	47,78	47,28
C I - 3	42,44	45,76	42,13	45,46
C I - 4	42,34	49,49	29,13	39,11
C I - 5	42,74	47,38	45,76	48,18
C I - 6	39,92	41,29	41,43	49,8
C I - 7	43,24	44,15	44,15	52,42
C I - 8	40,02	45,36	44,35	45,36
C II - 1	44,55	47,58	47,58	49,29
C II - 2	42,84	44,25	43,84	51
C II - 3	41,93	46,97	45,76	50,6
C II - 4	40,82	42,74	47,28	46,67
C II - 5	45,26	49,39	46,87	53,32
C II - 6	40,62	47,28	46,27	52,52
C II - 7	39,72	47,88	46,47	50,4
C II - 8	35,99	44,96	41,63	48,28
E I - 1	42,64	49,49	42,34	47,28
E I - 2	42,03	47,07	47,49	49,49
E I - 3	42,03	48,08	47,78	51,11
E I - 4	42,94	46,47	45,76	45,96
E I - 5	41,73	47,88	46,97	49,49
E I - 6	44,35	46,87	49,59	48,89
E I - 7	38,91	43,24	45,36	50,3
E I - 8	40,52	46,47	43,75	45,26
E II - 1	42,13	44,35	44,86	44,25
E II - 2	41,13	42,94	45,06	43,24
E II - 3	45,46	46,87	44,25	48,49
E II - 4	40,64	44,15	48,18	43,85
E II - 5	42,84	43,44	47,88	47,68
E II - 6	38,1	46,07	47,58	50,3
E II - 7	41,13	49,09	45,96	50,3
E II - 8	39,11	43,95	45,36	46,77
E III - 1	40,82	44,55	50,4	49,19
E III - 2	40,22	46,27	47,58	49,49
E III - 3	40,72	42,94	46,57	44,55
E III - 4	44,15	42,34	47,58	45,36
E III - 5	42,94	42,03	44,86	44,65
E III - 6	43,04	43,44	43,65	45,66
E III - 7	42,44	48,28	45,46	48,38
E III - 8	41,13	45,06	45,36	51

Fonte: Dados da pesquisa (CEUA-PUCRS 11/00235).