

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO TRAUMATOLOGIA BUCOMAXILOFACIAL**

**RODRIGO ALBERTO CENCI**

**ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA E DA ATENUAÇÃO DO FEIXE DE RAIOS X  
NOS TECIDOS MOLES, EM MANDÍBULA DE COELHOS SUBMETIDOS À  
LASERTERAPIA, DURANTE A DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA**

Porto Alegre

2012

RODRIGO ALBERTO CENCI

**ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA E DA ATENUAÇÃO DO FEIXE DE RAIOS X  
NOS TECIDOS MOLES, EM MANDÍBULA DE COELHOS SUBMETIDOS À  
LASERTERAPIA, DURANTE A DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Traumatologia Bucomaxilofacial, pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira  
Colaboradora: Profa. Dra. Helena Wilhelm de Oliveira

Porto Alegre  
2012

**C395a** Cenci, Rodrigo Alberto

Análise da densidade óssea e da atenuação do feixe de raios X nos tecidos moles, em mandíbula de coelhos submetidos à lasertarapia, durante a distração osteogênica / Rodrigo Alberto Cenci. – Porto Alegre, 2012.

84 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – PUCRS, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia.  
Área de concentração: Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

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

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helena Wilhelm de Oliveira.

1. Odontologia. 2. Cirurgia Bucomaxilofacial. 3. Laser - Terapia. 4. Osteogênese por Distração. 5. Regeneração Óssea. 6. Tomografia. 7. Coelhos – Experiências.

I. Oliveira, Marília Gerhardt de. II. Oliveira, Helena Wilhelm de. III. Título.

**CDD 617.652**

**Bibliotecária Responsável: Elisete Sales de Souza - CRB 10/1441**

Dedico este trabalho a meus pais,  
Dorival e Elisabeth,  
a meu irmão, Fabrício ,  
e a Maria Luiza,  
sem os quais não teria conquistado este objetivo.

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Doutora Marília Gerhardt de Oliveira, pela oportunidade de aprendizado, orientação durante este trabalho, dedicação, disponibilidade, respeito e carinho. Sua trajetória profissional é um exemplo a ser seguido.

À professora Doutora Helena Wilhelm de Oliveira, pela disponibilidade e ajuda durante execução deste trabalho e por toda colaboração durante a execução desta pesquisa.

À Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul, na pessoa do Magnífico Reitor Joaquim Clotet e à Faculdade de Odontologia, representada pelo Diretor, Professor Marco Túlio Mazzini de Carvalho, aos quais expresso minha admiração e respeito.

À Professora Dra. Ana Maria Marques da Silva, coordenadora do Núcleo de Pesquisa em Física Médica da PUCRS e a Professora Geisa da Silva Medeiros, pela colaboração prestada na elaboração desta dissertação.

Ao professor Doutor João Feliz de Moraes, pela valorosa contribuição estatística na construção deste trabalho.

Ao colega cirurgião Bucomaxilofacial Diego Blaya, por ter iniciado a pesquisa com os animais utilizados neste trabalho

Aos colegas de Mestrado Vinícius Salim Silveira, Leonardo Tonietto, Otávio Emmel Becker e André do Nascimento Dolzan, pela amizade e excelente convívio nestes últimos quatro anos.

Aos meus pais, Dorival Alberto Cenci e Elisabeth Maria Natter Cenci, por sempre acreditarem em mim.

Ao meu irmão Fabrício Cenci, por sempre estar ao meu lado.

À minha noiva, a cirurgiã-dentista Maria Luiza Krueger Arruda, pelo incentivo durante toda a minha formação profissional.

Aos colegas cirurgiões-dentistas: Bruno Tochetto Primo, Rafael Linard Avelar, pela amizade, ajuda e exemplo como profissionais na área da Odontologia.

A todos os professores do Curso de Especialização em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da PUCRS - meus agradecimentos por contribuírem com a minha formação.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A tomografia computadorizada do tipo Cone-beam (TCCB) fornece informações detalhadas sobre a qualidade e a quantidade de osso neoformado pela distração osteogênica (DO). Permite mensurar a densidade do osso alongado, por meio da avaliação dos tons de cinza. Desta forma, pode-se realizar uma análise quantitativa da densidade óssea, dimensionando a atenuação dos feixes de raios X pelos tecidos moles nas imagens.

**OBJETIVOS:** Avaliar, por intermédio da TCCB, o osso mandibular neoformado em mandíbulas de coelhos submetidos à DO, sob efeito biomodulatório da irradiação por laser infravermelho AsGaAl ( $\lambda=830$  nm, 40 mW), aplicado durante a fase de ativação do aparelho distrator. A área da distração é avaliada pelos níveis de cinza das imagens, observando também a influência dos tecidos moles na atenuação dos feixes de raios X.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Dez coelhos foram utilizados (dois grupos experimentais e um grupo controle). Os grupos experimentais foram submetidos à DO e à terapia a laser de baixa potência (LLLT). Os coelhos do grupo experimental A foram mortos após 11 dias do início da DO e os coelhos do grupo experimental B, mortos após 21 dias do início da DO. Os 10 coelhos foram submetidos a tomografia com tecidos moles e posteriormente dissecados e submetidos a tomografia sem tecidos moles. Assim, foi possível analisar a influência dos tecidos moles em coelhos submetidos à DO na atenuação dos feixes de raios X e, conseqüentemente, na diminuição dos valores de níveis de cinza observados na imagem tomográfica.

**RESULTADOS:** A presença dos tecidos moles aumenta a atenuação dos feixes de raios X contribuindo na diminuição dos valores de níveis de cinza, observados na imagem do tecido ósseo em 3D, na mandíbula dos 10 coelhos submetidos a tomografia, antes e após a remoção dos tecidos moles. A área das mandíbulas submetidas à distração apresentaram valores superiores de cinza, nos coelhos mortos após 21 dias do início da DO.

**CONCLUSÕES:** Com tomógrafos do tipo Cone-beam, foi possível avaliar a variação da densidade óssea em áreas submetidas à DO. A presença dos tecidos moles contribui na diminuição dos valores de níveis de cinza observados nas imagens do tecido ósseo dos 10 coelhos em 3D. Isto ocorre devido à absorção do feixe de raios X pelos tecidos moles submetidos a tomografia. Também observou-se que a densidade óssea na área da distração, visualizada na tomografia, aumenta proporcionalmente ao período de maturação óssea ocorrido após a fase de ativação da DO, conforme observação dos valores de cinza obtidos.

**Palavras Chave:** Osteogênese por Distração. Lasers. Tomografia. Efeitos de Radiação.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Cone-beam computed tomography (CBTC) provides detailed information about the amount and quality of new bone formed during distraction osteogenesis (DO). The density of the lengthened bone is measured based on different levels of gray found in the images. The use of CBTC therefore allows to perform a quantitative analysis of bone density and, thus, to measure the level of X-ray attenuation by soft tissues.

**OBJECTIVES:** To assess, via CBTC, newly formed bone in mandibles of rabbits treated with DO under the biomodulating effects of AsGaAl infrared laser radiation ( $\lambda=830$  nm, 40 mW), applied during the activation phase. The distracted area was assessed based on the gray levels shown on images and observing the influence of soft tissues on X-ray attenuation.

**MATERIALS AND METHODS:** Ten rabbits were used (two experimental groups and one control group). The two experimental groups were treated with DO and low-level laser therapy. Rabbits in experimental group A were killed 11 days after the beginning of DO, and those in experimental group B, after 21 days of DO. CBTC images were obtained from the mandibles of the ten rabbits with soft tissues and subsequently (after dissection) without soft tissues. This comparison allowed to analyze the influence of soft tissues on X-ray attenuation, and consequently on the decrease in gray levels observed in the tomographs of rabbits treated with DO.

**RESULTS:** The presence of soft tissues increased X-ray attenuation, resulting in a decrease in the levels of gray observed in three-dimensional CBCT images of mandibular bone tissue of the rabbits before and after soft tissue removal. The area of the mandibles treated with DO presented higher levels of gray in rabbits killed at 21 days.

**CONCLUSIONS:** CBCT allowed to assess bone density variation in areas treated with DO. The presence of soft tissues contributes to decrease the levels of gray in three-dimensional CBCT bone tissue images of the ten rabbits assessed. This occurs due to the absorption of X-rays by soft tissues studied by tomography. We found that bone density in the area treated with DO, as observed on tomography, increased in direct proportion to the bone maturation period after the activation phase in DO, based on the gray levels observed.

**Keywords:** Distraction Osteogenesis. Lasers. Tomography. Radiation Effects.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Projeção esquemática dos feixes de raios X na TC Cone-beam .....	16
Figura 2: Ilustração da estrutura de um tomógrafo do tipo <i>Cone-beam</i> .....	17
Figura 3: Ilustração da exposição do paciente ao feixe de raios X durante execução do exame em um tomógrafo <i>Cone-beam</i> .....	18
Figura 4: Representação das escalas de baixo e alto contrastes .....	22
Figura 5: Exemplo de uma escala de níveis de cinza com a variação de densidade, de acordo com a atenuação dos feixes de raios X. ....	23
Figura 6: O animal com tricotomia e anti-sepsia realizados .....	31
Figura 7: Corticotomia vestibular .....	32
Figura 8: Distrator osteogênico instalado da marca PROMM® .....	33
Figura 9: Sutura com fio náilon monofilamentar nº 4-0.....	33
Figura 10: Projeto do guia tomográfico com marcações em milímetros ( <i>Rhinoceros</i> 3D).....	37
Figura 11: Guia tomográfico confeccionado pela empresa Protótipos 3D® .....	38
Figura 12: Mandíbula posicionada sobre o guia tomográfico durante a aquisição das imagens .....	38
Figura 13: Aparelho TC K9000 da empresa KODAK® .....	39
Figura 14: Imagem produzida após a aquisição tomográfica da mandíbula do coelho, pelo programa Kodak <i>Dental Imaging Software</i> .....	40
Figura 15: Esquema ilustrativo demonstrando localização da reta em que foi mensurada a densidade óssea relativa .....	41
Figura 16: Escala de cinza produzida no tomógrafo TCK9000 .....	42
Figura 17: Imagem em 3D do coelho nº 1. Imagens das mandíbulas com tecidos moles (esquerda) e sem tecidos moles (direita).....	43
Figura 18: Imagem em 3D do coelho nº 4. Imagens das mandíbulas com tecidos moles (esquerda) e sem tecidos moles (direita).....	46
Figura 19: Imagem em 3D do coelho nº 8. Imagens das mandíbulas com tecidos moles (esquerda) e sem tecidos moles (direita).....	49

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Comparação entre TCCB e TCCF.....	19
Quadro 2: Divisão de grupos e subgrupos .....	35
Quadro 3: Doses de laser aplicadas .....	36
Quadro 4: Valores dos níveis de cinza em cinco pontos nos coelhos do grupo A ....	45
Quadro 5: Valores dos níveis de cinza em cinco pontos nos coelhos do grupo B ....	48
Quadro 6: Valores dos níveis de cinza em cinco pontos nos coelhos do grupo C ....	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média dos valores de cinza em cada quarto de linha dos coelhos com tecidos moles.....	55
Tabela 2: Média dos valores de cinza em cada quarto de linha dos coelhos sem tecidos moles.....	55
Tabela 3: Nível de reciclabilidade da análise entre os mesmos animais .....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 1' (coelho com tecidos moles) .....	44
Gráfico 2: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 1'' (coelho sem tecidos moles).....	44
Gráfico 3: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo A antes da remoção dos tecidos moles.....	45
Gráfico 4: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo A após a remoção dos tecidos moles.....	46
Gráfico 5: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 4' (coelho com tecidos moles) .....	47
Gráfico 6: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 4'' (coelho sem tecidos moles).....	47
Gráfico 7: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo B, antes da remoção dos tecidos moles.....	48
Gráfico 8: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo B, após a remoção dos tecidos moles.....	49
Gráfico 9: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 8' (coelho com tecidos moles) .....	50
Gráfico 10: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 8'' (coelho sem tecidos moles).....	50
Gráfico 11: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo C, antes da remoção dos tecidos moles.....	51
Gráfico 12: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo C, após a remoção dos tecidos moles.....	52
Gráfico 13: Média dos valores de cinza nas mandíbulas com tecidos moles obtidos em cada quarto dos 11,25mm .....	53
Gráfico 14: Média dos valores de cinza nas mandíbulas sem tecidos moles obtidos em cada quarto dos 11,25mm .....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS E SIGLAS

3D	- Tridimensional
AsGaAL	- Arseneto de Gálio-Alumínio
CCI	- Coeficiente de Correlação Intraclasse
CEP	- Comitê de Ética em Pesquisa
cm	- Centímetro
DICOM	- <i>Digital Imaging and Communication in Medicine</i>
DO	- Distração Osteogênica
et al	- e outros
FDM	- <i>Fused Deposition Manufacturing</i>
HeNe	- Hélio-Neônio
J	- <i>Joule</i>
kg	- Quilograma
kV	- Quilovolt
LLLT	- <i>Low Level Laser Therapy</i>
mA	- Miliampére
mm	- Milímetro
mL	- Mililitro
mW	- Miliwatt
nm	- Nanômetro
n°	- Número
Pixel	- <i>Picture Element (elemento de imagem)</i>
PUCRS	- Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RS	- Estado do Rio Grande do Sul
UFSM	- Universidade Federal de Santa Maria
TC	- Tomografia Computadorizada
TCCB	- Tomografia Computadorizada Cone-beam
TCFB	- Tomografia Computadorizada Fan-beam
UH	- Unidade Hounsfield
%	- Porcento, porcentagem, percentagem

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 REVISTA DA LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
2.1 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA CONE-BEAM .....	15
2.1.1 Propriedades e efeitos da exposição aos raios X .....	20
2.1.2 Interações do feixe de raios X com a matéria.....	20
2.1.3 Densidade e contraste radiográfico .....	21
2.2 TERAPIA A LASER (LLLT) .....	24
2.3 DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA.....	26
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>29</b>
3.1 DEFINIÇÃO CONCEITUAL.....	29
3.2 AMOSTRA .....	29
3.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA .....	29
3.4 ETAPAS TÉCNICAS DA PESQUISA.....	30
<b>3.4.1 Período Pós-Operatório</b> .....	<b>34</b>
3.4.1.1 <i>Distração Osteogênica</i> .....	34
3.4.1.1.1 Período de Latência – três dias (1 <sup>o</sup> ao 3 <sup>o</sup> ).....	34
3.4.1.1.2 Período de Ativação – sete dias (4 <sup>o</sup> ao 10 <sup>o</sup> ).....	34
3.4.1.1.3 Período de Maturação Óssea – 10 dias (11 <sup>o</sup> ao 20 <sup>o</sup> ) .....	34
3.5 GRUPOS E MORTES DOS ANIMAIS .....	35
3.6 IRRADIAÇÃO COM LASER.....	36
3.7 ANÁLISE TOMOGRÁFICA .....	37
3.7.1 Escala de cinza.....	41
3.7.2 Seleção dos pontos para análise da densidade .....	42
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....	42
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
4.1 VALORES DOS NÍVEIS DE CINZA .....	43
4.1.1 Grupo A .....	43
4.1.2 Grupo B .....	46
4.1.3 Grupo C .....	49
4.2 COMPARAÇÃO DOS VALORES DOS NÍVEIS DE CINZA ENTRE OS GRUPOS .....	52
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>57</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>61</b>

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PUCRS.....</b>	<b>70</b>
<b>ANEXO B – LEI AROUCA.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXO C - RESOLUÇÃO Nº 714, DE 20 DE JUNHO DE 2002 DO CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA.....</b>	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das maneiras de avaliar qualitativa e quantitativamente a neoformação óssea é a tomografia computadorizada (TC), exame que permite avaliar a densidade e a geometria ósseas. A literatura ortopédica a descreve como um método objetivo na avaliação do osso submetido à distração. Apesar disso, poucas pesquisas clínicas ou experimentais sobre imagem têm sido publicadas visando quantificar o processo de regeneração óssea no esqueleto craniofacial<sup>1</sup>.

As tomografias computadorizadas proporcionam informações mais detalhadas sobre a qualidade e quantidade de osso neoformado, permitindo mensurar variações de densidade do osso alongado devido à sua grande acurácia e mínimo erro<sup>1-3</sup>.

As tomografias computadorizadas do tipo *cone-beam* (TCCB) oferecem vantagens sobre as convencionais médicas para planejamento e tratamento odontológicos<sup>4</sup>. Entre essas vantagens pode-se citar a menor dose de radiação, menor custo e menor tempo nas aquisições das imagens, quando comparada com os processos realizados na tomografia computadorizada convencional. Esses tomógrafos também fornecem boa resolução, com boa visualização de detalhes. Porém, podem ser citadas algumas desvantagens associada as TCCB, dentre as quais: não possuir calibração adequada para escala de Unidade Hounsfield (UH), como nas tomografias computadorizadas do tipo Fan-beam (TCFB); por se tratar de um feixe em cone, radiação de espalhamento considerável, presença de artefatos produzidos por materiais metálicos e área limitada de exposição aos raios X<sup>4-8</sup>.

Na Odontologia, em alguns planejamentos pode ser importante avaliar-se a qualidade óssea, a altura óssea e a presença de estruturas anatômicas<sup>29</sup>. Por intermédio da avaliação dos níveis de cinza, é possível realizar uma análise quantitativa da densidade óssea relativa, por meio de um esquema para o dimensionamento dos coeficientes de atenuação nas imagens construídas em tomógrafos médicos<sup>7</sup>.

Tomografias do tipo *Cone-beam* não utilizam um sistema padrão para o dimensionamento dos níveis de cinza que representam os valores das reconstruções. Isto torna difícil interpretar os níveis de cinza para comparar os valores resultantes em equipamentos diferentes<sup>4</sup>.

Para os casos de reconstruções ósseas faciais a distração osteogênica (DO) apresenta-se como uma alternativa terapêutica, sendo utilizada em casos como deformidades congênitas, traumas ou após lesões oncológicas<sup>10,11</sup>. A DO é realizada através de aparelhos distratores implantados, externamente ou justaósseos, cujo, objetivo é, possibilitar o crescimento ósseo linear em um sítio deformado atrófico ou ressecado<sup>10,11</sup>. Em alguns casos de DO, há relatos de instabilidade e recidivas<sup>11-14</sup>. Diante disso, o processo de maturação óssea pode ser acelerado, melhorando as propriedades físicas do sítio ósseo alongado<sup>15-19</sup>.

Já para fins terapêuticos, os lasers não ablativos são utilizados por suas características de baixa intensidade de energia e comprimento de onda adequado para penetração nos tecidos<sup>20</sup>. 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 desta tecnologia<sup>20</sup>.

O emprego do laser terapêutico, de baixa intensidade ou não ablativo pode melhorar o processo reparacional em tecidos moles e ósseos. A utilização do laser pode biomodular as atividades metabólicas promovidas pela DO, reduzindo o tempo de tratamento e propiciando maior conforto aos pacientes<sup>21,22</sup>.

Diversos pesquisadores têm estudado o uso potencial dos lasers na biomodulação do reparo ósseo por meio de suas propriedades fotoquímicas e fotobiológicas. O objetivo desta terapia é 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<sup>23</sup>.

No caso de estudos relacionados com a DO, em termos de metodologias de pesquisas atuais, vários trabalhos utilizam o modelo animal para elucidar e aprofundar o processo de distração osteogênica. Dentro deste contexto, diversos autores utilizaram coelhos para pesquisar o processo de alongamento ósseo<sup>17-19,24-27</sup>, sendo que, por meio destes estudos, concluiu-se que tal processo parece ser o ideal para o estudo da cicatrização e da regeneração tecidual<sup>28</sup>.

Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar, por intermédio da TCCB, o osso mandibular neoformado em mandíbula de coelhos submetida à distração osteogênica, sob o efeito biomodulatório da irradiação por laser infravermelho AsGaAl ( $\lambda=830$  nm, 40 mW), durante as fases de ativação. Para tal, será avaliada a densidade óssea relativa na área analisada, por meio do dimensionamento dos níveis de cinza do osso mandibular neoformado. Concomitantemente, será

analisada a influência dos tecidos moles na atenuação dos feixes de raios X e, conseqüentemente, nos valores dos níveis de cinza das imagens tomográficas.

## 2 REVISTA DA LITERATURA

### 2.1 TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA CONE-BEAM

A tomografia é um termo genérico para designar qualquer técnica que gere uma imagem em corte de tecido, sendo esta técnica descrita por volta da década de 1970<sup>29</sup>. Trata-se de uma técnica especializada que registra com clareza objetos localizados dentro de um determinado plano e permite a observação da região selecionada, com pouca ou nenhuma sobreposição de estruturas<sup>30</sup>. É um método de diagnóstico de imagem que utiliza a radiação X e permite obter a reprodução de uma seção do corpo humano em qualquer um dos três planos do espaço (x, y e z)<sup>31,32</sup>.

A TC é um método complementar de diagnóstico por imagem que consiste em uma imagem que representa uma seção ou "fatia" do corpo sem qualquer sobreposição<sup>30-33</sup>.

Na TC, um sistema de detectores é utilizado para mensurar a atenuação de um feixe colimado de raios X em uma série de projeções através do paciente. Em seguida, técnicas de reconstrução matemática são empregadas para calcular um valor dentro de uma escala de níveis de cinza para cada ponto (*pixel*) do corte. Esta informação é utilizada para produzir uma imagem eletrônica<sup>32,35</sup>.

Basicamente, um tomógrafo apresenta os seguintes componentes:

- a) gerador : fornece alta tensão ao tubos de raios X;
- b) unidade de varredura: composta pelo *Gantry* e pela mesa. O *Gantry* contém o tubo de raios X, os detectores eletrônicos e o sistema de colimação que determina a espessura dos cortes tomográficos; a mesa posiciona e estabiliza o paciente durante a realização do exame;
- c) sistema de computação consiste em uma unidade central de processamento (CPU) que contém processadores e dispositivos de armazenamento de imagem;
- d) console de comando integra dispositivos que selecionam os parâmetros de aquisição da imagem e sua representação no monitor de vídeo;
- e) sistema de resfriamento que mantém o ambiente em uma temperatura estável permitindo o bom funcionamento dos sistemas informatizados<sup>32,36-</sup>

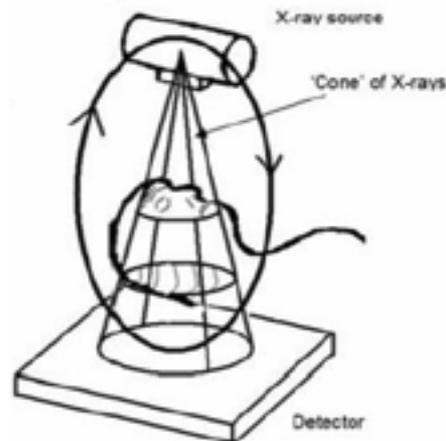


Figura 1: Projeção esquemática dos feixes de raios X na TC Cone-beam

Fonte: Adaptado de Scarfe, Farmman e Sukovic (2006)<sup>34</sup>

Na tomografia computadorizada de feixe cônico ou Cone-beam, o feixe de raios X é em forma de cone (Figura 1), cuja geometria deve ser ajustada para abranger a região de interesse<sup>29</sup>. No momento da realização do exame os fatores de exposição são determinados pela tensão do tubo (medida em kV) e pela intensidade da corrente elétrica (medida em mA), ajustados de acordo com a característica (espessura e densidade) do material a ser analisado<sup>29</sup>. Para a formação da imagem, os raios X são captados por um detector, do tipo intensificador de imagens ou um sensor sólido<sup>29</sup>.

Na TCCB, a imagem do crânio é formada como um todo pelo tomógrafo no momento da aquisição, sendo que os cortes e projeções são realizados posteriormente pelo sistema computacional do equipamento. Desta forma, obtém-se primeiramente o volume de uma região e, a partir deste, realizados computacionalmente os cortes axiais e reconstruídos em outras projeções de interesse (coronal e sagital)<sup>29</sup>.

Por se tratar de um equipamento que utiliza baixo valor de corrente elétrica, se comparado com a tomografia computadorizada convencional, esta técnica não possibilita visualização com alta resolução espacial e de contraste dos tecidos moles. Para que se tivesse uma maior diferenciação dos tecidos moles, seria necessário aumentar a corrente elétrica no momento da exposição no TCCB, o que tornaria a dose de radiação maior e proporcionalmente maior o custo do aparelho<sup>29</sup>.

O aparelho de TC de feixe cônico é muito compacto e assemelha-se ao de radiografia panorâmica. Geralmente, no momento da aquisição do exame, o paciente é posicionado sentado, mas em alguns aparelhos pode ser posicionado em decúbito dorsal. O equipamento apresenta dois componentes principais, posicionados em extremos opostos da cabeça do paciente: a fonte ou tubo de raios X, que emite um feixe em forma de cone, e um detector de raios X. O sistema tubo-detector realiza somente um giro de 360° em torno da cabeça do paciente e a cada determinado grau de giro (geralmente a cada 1 grau), o aparelho adquire uma imagem base da cabeça do paciente, muito semelhante a uma telerradiografia, sob diferentes ângulos ou perspectivas. Ao término do exame, a sequência de imagens base é reconstruída para gerar a imagem volumétrica em 3D, por meio de um *hardware* e *software* específico com um sofisticado conjunto de algoritmos, instalado em um computador convencional acoplado ao tomógrafo. O tempo de exame pode variar de 10 a 70 segundos (uma volta completa do sistema), porém o tempo de exposição efetiva aos raios X é bem menor, variando de 3 a 6 segundos<sup>31,32,34</sup>.

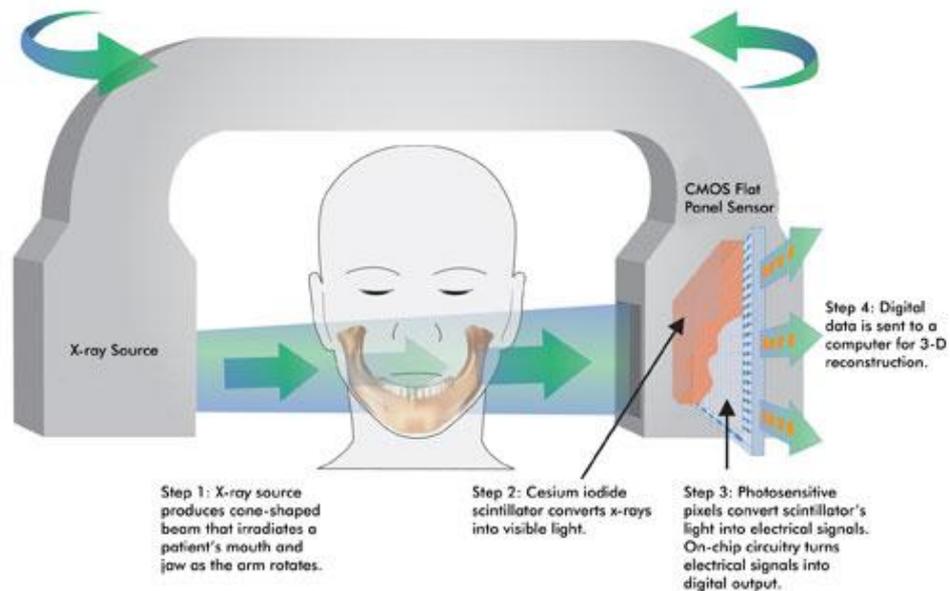


Figura 2: Ilustração da estrutura de um tomógrafo do tipo *Cone-beam*

Fonte: Gilmore, Weldon, Lares (2010)<sup>39</sup>

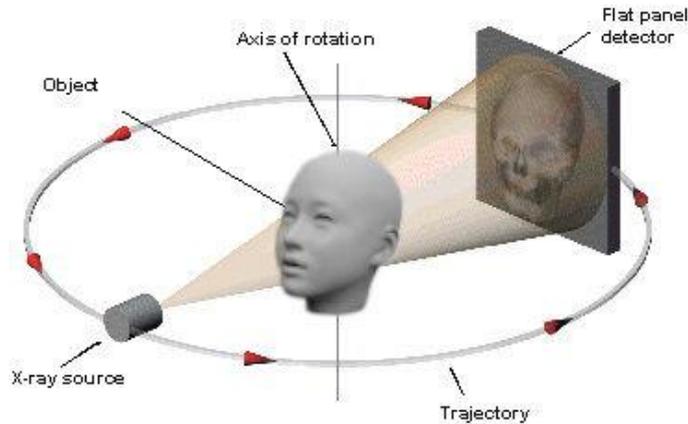


Figura 3: Ilustração da exposição do paciente ao feixe de raios X durante execução do exame em um tomógrafo *Cone-beam*.

Fonte: Spiller (2010)<sup>40</sup>

Os *softwares* computacionais de TC de feixe cônico permitem a reconstrução multiplanar do volume escaneado, ou seja, a visualização de imagens axiais, coronais, sagitais e oblíquas, assim como a reconstrução em 3D. Adicionalmente, o *software* permite gerar imagens bidimensionais, réplicas das radiografias convencionais utilizadas na Odontologia, como a panorâmica e as telerradiografias em normas lateral e frontal, função denominada reconstrução multiplanar em volume, que constitui outra importante vantagem da TC de feixe cônico<sup>4,34,41</sup>.

Os tomógrafos do tipo *Cone-beam*, se comparados aos do tipo Fan-beam, são relativamente pequenos e apresentam menor custo. São especialmente indicados na região dentomaxilofacial. Em comparação com as tomografias convencionais, a TCCB reproduz tridimensionalmente a imagem dos tecidos mineralizados maxilofaciais com mínima distorção e dose de radiação<sup>31,42,43</sup>

Hashimoto et al. (2007) investigaram a qualidade das imagens tomográficas adquiridas por aparelhos de feixe cônico e *fan-beam multislice*. Foram analisados cortes tomográficos de 2 mm de uma maxila seca, lado direito, por cinco cirurgiões-dentistas, considerando a qualidade e a reprodutibilidade das estruturas anatômicas: tecido ósseo, esmalte dentário, dentina, cavidade pulpar, espaço do ligamento periodontal e lamina dura. Para observação de todos os itens, a TCCB apresentou resultados equivalentes ou superiores a TCFB *multislice* ( $p < 0,01$ )<sup>44</sup>.

Loubele et al. (2007) avaliaram, por meio de medidas lineares, as dimensões de 25 mandíbulas humanas secas observadas em cortes de TCCB e TCFB helicoidal convencional. As mensurações diretas, na peça anatômica, foram, em

média, 0,23mm e 0,34 mm maiores em relação às medidas realizadas nas tomografias de feixe cônico e de feixe em leque, respectivamente. Os mesmos autores concluíram que para avaliação das dimensões ósseas as tomografias avaliadas apresentam resultados satisfatórios, apesar de subestimarem o tamanho real do objeto. Com relação à qualidade da imagem, a TCCB apresentou melhores resultados na visualização de pequenas estruturas, como lâmina dura e espaço do ligamento periodontal, enquanto a TCFB permitiu observação mais fiel da cortical óssea e do tecido gengival<sup>45</sup>.

	<b>TCCB</b>	<b>TCFB</b>
Custo do exame	-Baixo	- Alto
Dose de radiação	-Reduzida	- Alta
Qualidade da imagem	- Boa nitidez - Baixo contraste entre tecidos - Boa acurácia	- Boa nitidez - Bom contraste - Validação das avaliações quantitativas e qualitativas
Recursos do exame	- Reconstruções multiplanares em 3D, além de reconstruções de radiografias bidimensionais convencionais	-Reconstruções multiplanares em 3D
Produção de artefato	Pouco artefato produzido na presença de metais	- Materiais metálicos produzem muito artefato
Dimensão do equipamento	- Compacto - Permite exames da região de cabeça e pescoço	- Grande - Permite exames de todo o corpo
Protocolo de aquisição da imagem	- Uma volta do feixe de Raios-x em torno do paciente - Imagens base semelhantes a telerradiografia	- Diversas voltas do tubo de raios X em torno do paciente - Permite cortes axiais
Tempo de realização do exame	- 10 a 70 segundos de exame - 3 a 6 segundos de radiação	- 1 segundo multiplicado pela quantidade de cortes axiais necessários - Exposição ininterrupta a radiação.

Quadro 1: Comparação entre TCCB e TCCF

Fonte: Adaptado de Garib (2007)<sup>31</sup>; Scarfe (2006)<sup>34</sup>; Viegas (2008)<sup>32</sup>; Cavalcanti (2008)<sup>29</sup>

### 2.1.1 Propriedades e efeitos da exposição aos raios X

- a) apresentam curto comprimento de onda;
- b) propagam-se como ondas eletromagnéticas e não são visíveis;
- c) possuem efeito fotoquímico;
- d) penetram na matéria e nela produzem interações<sup>46</sup>.

### 2.1.2 Interações do feixe de raios X com a matéria

Durante uma exposição ao feixe de raios X, em um determinado material, ocorrem diversas interações e processos físicos relacionados aos parâmetros de exposição e composição do material em análise. Em decorrência do choque dos fótons de raios X com a matéria, ocorrerão processos de absorção e atenuação do feixe, estando estes relacionados com a densidade e espessura do material exposto<sup>5,46</sup>.

A transferência da energia do fóton original, no momento da exposição (realização do exame), ocorre em vários escalões. Atenuação ou “enfraquecimento” refere-se à transferência de energia de tais fótons para a matéria, podendo esta cessão de energia ocorrer na forma de calor ou originar partículas eletricamente carregadas devido à ionização constante<sup>46</sup>. Dentre estes processos pode-se destacar:

- a) absorção: o fóton de raio X transfere integralmente sua energia para um elétron do átomo, sendo que, dependendo da energia do fóton incidente, este elétron pode ser ejetado, gerando processos de ionização do material<sup>46</sup>;
- b) dispersão: o fóton de raio X ao atingir um elétron do átomo muda sua trajetória inicial, liberando parte de sua energia ao material<sup>46</sup>.

A capacidade de penetração dos feixes de raios X depende do comprimento de onda, e este da tensão (kV) aplicada ao tubo no momento do acionamento do equipamento. Quando se pretende radiografar objetos de maior espessura ou densidade, tem-se de levar em conta a capacidade de penetração dos raios X pelos diversos tecidos da região a ser exposta. A atenuação ocorre de acordo com o tipo de tecido a ser irradiado e, também é proporcional à sua espessura. Assim, tecidos

moles (ex. gordura) possuem pouca absorção do feixe de raios X se comparados aos tecidos duros (ex. osso)<sup>5,46</sup>.

### 2.1.3 Densidade e contraste radiográfico

Em procedimentos de radiologia odontológica, após os processos de interação dos raios X com o indivíduo exposto (no momento da técnica de imageamento), a imagem é obtida mediante utilização de um receptor de imagem (convencional ou digital). Este receptor tem a função de registrar e representar, através de uma imagem bidimensional (procedimentos em equipamentos panorâmicos e periapicais) ou de imagem tridimensional (procedimentos em equipamentos cone *beam*), a estrutura anatômica radiografada<sup>29,46-47</sup>.

Para que a imagem radiográfica seja adquirida com qualidade diagnóstica, a técnica de exposição está diretamente relacionada com características fotográficas, sendo estas a densidade e o contraste<sup>29,46-47</sup>.

A densidade radiográfica está associada ao grau de enegrecimento da imagem, encontrando-se diretamente relacionada com a quantidade de radiação que atinge o receptor de imagem após os processos de exposição. Assim, quanto maior for a quantidade de raios X atingindo o receptor, maior o grau de enegrecimento da área sensibilizada. Um alto grau de densidade radiográfica produz uma imagem escura; enquanto que a imagem clara é decorrente de baixa ou pouca densidade<sup>47</sup>.

Com relação ao contraste, este é diretamente proporcional à diferença entre as várias densidades observadas na imagem radiográfica. Matematicamente, o contraste pode ser expresso como  $D_1 - D_2$ , onde  $D_1$  é a densidade de uma área escura na imagem e  $D_2$ , a densidade de uma área branca extrema<sup>46-47</sup>.

O contraste é basicamente afetado pela tensão, determinada na técnica no momento da exposição aos raios X. Porém, também pode ser comprometido pelo tipo de receptor utilizado, pelos processos do processamento da imagem e pelo tipo de tecido irradiado (espessura, densidade e característica anatômica)<sup>29,46-47</sup>.

Quanto menor a tensão, maior será o contraste de curta escala; aumentando-se os valores de tensão, maior será o contraste de longa escala (Figura 4). Ou seja:

- a) escala de alto contraste: ocorre quando os níveis de absorção são muito altos ou muito baixos em um objeto. Isso produz zonas muito escuras ou muito claras na imagem<sup>46-47</sup>;

- b) escala de baixo contraste: ocorre em exposição a objetos com níveis de absorção intermediário. Neste caso, a imagem obtida é de baixo contraste, apresentando valores acinzentados<sup>46-47</sup>.

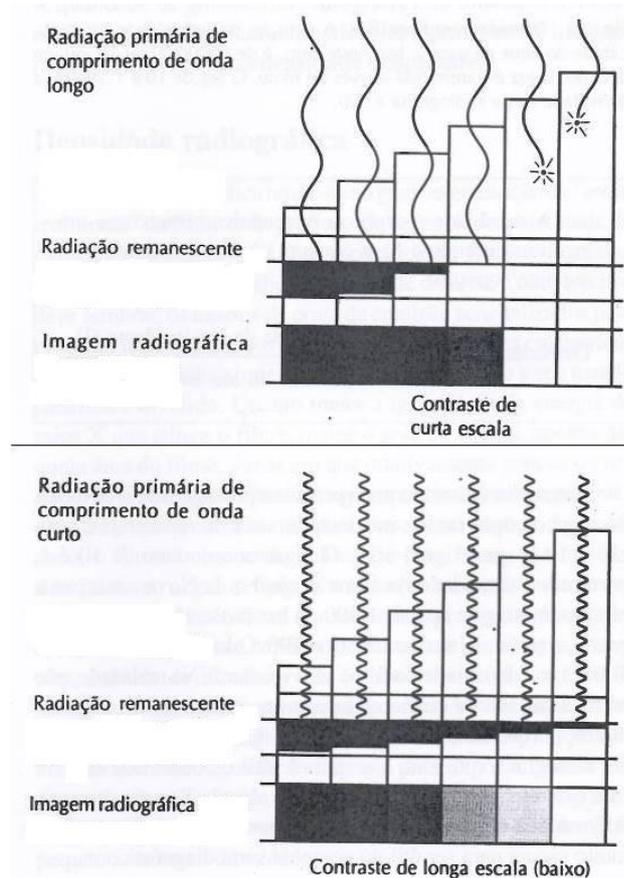


Figura 4: Representação das escalas de baixo e alto contrastes

Fonte: Langland, Langlais (2002)<sup>47</sup>

Na técnica de exposição radiográfica, a quantidade de raios X recebidos na unidade de tempo (em segundo) depende da intensidade da corrente elétrica (em mA). O produto  $mAs$  regula o escurecimento da imagem sem alterar o contraste. Alterando a tensão (kV), ocorre, também, alteração na penetração dos raios X. Ou seja, aumentando o kV, diminuirá a diferença de absorção nas diversas estruturas, diminuindo o contraste do objeto na imagem<sup>46-47</sup>.

- a) miliamperagem (mA): relaciona-se com a intensidade da corrente elétrica. Aumentando o mA, ocorre aumento na produção de elétrons e, conseqüentemente, na produção de raios X<sup>29-46</sup>;

- b) tensão (Kv): relaciona-se com a velocidade(fluxo) dos elétrons. Quanto maior o kV, maior será a velocidade e, conseqüentemente, o fluxo destes elétrons<sup>29-46</sup>.

Para as técnicas de radiografia em equipamentos digitais, a imagem obtida compõe-se unitariamente pelo *pixel*, onde cada um deles apresenta um número que traduz a densidade tecidual ou o seu poder de atenuação da radiação<sup>31</sup>. Nos *pixels* estão representados os valores dos tons de cinza (densidade radiográfica) correspondente aos tecidos que foram radiografados<sup>46</sup>.

Dependendo do tipo de equipamento utilizado e dos parâmetros de aquisição utilizados na técnica radiográfica, com um conjunto de *pixels* na imagem, podem ser formados elementos tridimensionais (contemplando os eixos x, y e z) que correspondem aos *voxels*. Para elucidar estas características, tomando como parâmetro um dado com seis faces, um *pixel* corresponderia a uma face, enquanto que o *voxel* estaria relacionado com o volume total do dado, em três dimensões<sup>46</sup>.

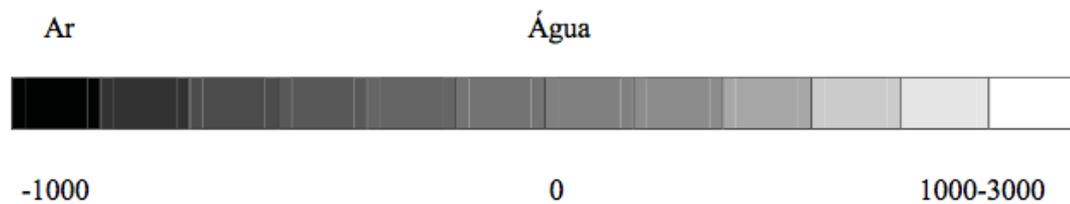


Figura 5: Exemplo de uma escala de níveis de cinza com a variação de densidade, de acordo com a atenuação dos feixes de raios X.

A densidade de cada *voxel* depende da atenuação sofrida pelos raios X que atravessaram a área correspondente a esse *voxel*. Por sua vez, o nível de atenuação dependerá da densidade da estrutura radiografada, do número atômico dos elementos químicos que as compõe e de sua espessura. Por exemplo, os ossos atenuam intensamente os raios X em virtude do cálcio neles contido<sup>34,48,49</sup>. Relacionando com a técnica tomográfica, a TC pode detectar variações de menos de 1% na densidade dos tecidos, permitindo diagnósticos precisos e precoces<sup>50</sup>.

As tomografias computadorizadas médicas fornecem um relação padronizada de avaliação do coeficiente de atenuação dos feixes dos raios X, estando relacionada com o número Hounsfield (escala em HU). Até o presente momento, os

tomógrafos odontológicos do tipo *cone-beam* não possuem estas operações matemáticas de conversão da atenuação em HU. Na ausência de tal método, torna-se difícil comparar os valores densidade radiográfica entre diferentes fabricantes dos equipamentos *cone beam*, a não ser pela análise dos níveis de cinza e avaliação do contraste nas imagens tomográficas. Atualmente, a literatura fornece poucos estudos para corrigir esta deficiência dos tomógrafos odontológicos, visto que as escalas de cinza não apresentam uma conversão para a escala HU<sup>4</sup>.

Katsumata et al. encontraram em suas pesquisas valores para a densidade relativa em TCCB convertidas para valores em HU, que variavam de -1500 até 3000 para diferentes tipos de osso. Os pesquisadores concluíram que a capacidade de avaliar a densidade ou a qualidade do osso é limitada e, em regiões de tecidos moles, as HUs variavam muito e ofereciam pouco ou nenhum dado significativo<sup>4</sup>.

## 2.2 TERAPIA A LASER (LLLT)

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<sup>51</sup>. 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<sup>42,53</sup>. A LLLT atua na estimulação do reparo tecidual, melhorando a regeneração e a cicatrização de tecidos por meio da promoção da proliferação celular<sup>54</sup>, da aceleração na formação de tecidos de granulação<sup>55</sup>, do estímulo na síntese do colágeno, com formação das fibras pró-colágenas tipos I e III<sup>51</sup>.

O uso clínico da LLLT está fundamentado em sua capacidade de promover, em âmbito celular, efeitos estimuladores sobre os processos moleculares e bioquímicos que ocorrem durante os mecanismos intrínsecos do reparo tecidual. Dentre os efeitos terapêuticos é possível destacar 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 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 e a analgesia pós-operatória<sup>51,56-61</sup>.

Diversos tipos de lasers, parâmetros e protocolos têm sido testados com o

intuito de se obterem os melhores resultados biomodulatórios, redução da dor e inflamação e estímulo ao reparo e cicatrização. Por exemplo, a utilização do laser de HeNe( $\lambda=632,8$  nm), com 4 mW de potência, no processo de consolidação de fraturas experimentais em tíbias de ratos, seguindo um protocolo de aplicação em 12 sessões, com doses de  $2,4 \text{ J/cm}^2$  a cada dois dias, aplicadas diretamente sobre os pontos de fratura a uma distância de 20 cm, demonstraram, por meio de avaliações histológicas, na primeira aplicação, a ativação de células periostais e, ao final do experimento, a formação de um calo ósseo mais organizado e maduro, com uma menor porção de tecido cartilaginoso<sup>56</sup>.

O laser de Arseneto de Gálio (904 nm), com 33,3 mW de potência e aplicado em doses diárias de  $20 \text{ J/cm}^2$  por um longo período (28 dias) não demonstrou diferença significativa no metabolismo ósseo em feridas no crânio de ratos. Para chegar a tal resultado, Gordjestani et al. utilizaram ratos albinos, com grupos controle e experimental em espécimes separados e aferiram o metabolismo ósseo por meio de cintilografia com tecnécio 99 ao final dos 28 dias<sup>62</sup>.

Da mesma forma, David et al<sup>63</sup> avaliaram radiograficamente, microscopicamente e por meio de ensaios mecânicos a ação do laser de HeNe (632,8 nm) na regeneração de fraturas ósseas experimentais em ratos. Os parâmetros utilizados pelos autores consistiram de 10 mW de potência e doses de  $2 \text{ J/cm}^2$  e  $4 \text{ J/cm}^2$ . Os autores não observaram diferenças entre os grupos irradiados e não irradiados no que diz respeito ao processo de reparação óssea<sup>63</sup>.

Pesquisando o efeito do laser de Arseneto de Gálio-Alumínio (AsGaAl), com 100 mW de potência, no processo de regeneração óssea em expansão cirúrgica de maxila, Saito e Shimizu<sup>15</sup> empregaram 76 ratos *Wistar* com um protocolo de 830 nm, 100 mW e uma ponta de fibra óptica de 0,6 mm de diâmetro. Os grupos variavam de intactos (não operados), controle (não irradiados), os que sofreram irradiação durante os sete dias por um período de três ou 10 minutos, os que sofreram irradiação nos três primeiros dias e aqueles que sofreram irradiação nos três últimos dias do experimento por um período de sete minutos. Os pesquisadores observaram por histomorfometria que a aplicação de laser nos estágios iniciais era mais efetiva quando comparada aos estágios finais e que pequenas doses por um período maior são preferíveis a uma única grande dose<sup>15</sup>.

### 2.3 DISTRAÇÃO OSTEOGÊNICA

A distração osteogênica (DO) é um processo que envolve a formação de um osso novo, entre superfícies ósseas vascularizadas, após osteotomia ou corticotomia, por meio de aparelhos funcionais<sup>64</sup>. Por intermédio da osteotomia, seguida por movimentos lentos, promovidos pelo aparelho, o “*gap*” é inicialmente preenchido por um calo ósseo, que é substituído por tecido ósseo<sup>65</sup>.

As vantagens da DO incluem a formação de osso sem a necessidade de enxerto e, portanto, de uma área doadora; não há limite para a quantidade de ganho tecidual, além dos tecidos moles acompanharem o crescimento. Por outro lado, suas desvantagens incluem um período é mais longo, o risco de infecção é maior, há necessidade de um aparelho distrator adequado e o custo do tratamento passa a ser mais elevado<sup>66,67</sup>.

O princípio ativo da distração osteogênica é que o tracionamento gradual dos tecidos provoca um estresse que estimula e mantém tanto a regeneração quanto o crescimento das estruturas<sup>68,69</sup>.

A tração gradual cria tensões que estimulam e mantêm o reparo e a atividade de crescimento da estrutura dos tecidos. As células associadas com as faces livres do osso podem se diferenciar em células osteogênicas e condrogênicas, necessárias para a neoformação e o crescimento<sup>70</sup>. A explicação atual para diferenciação de células mesenquimais em células do tecido ósseo propriamente dito e também para formação de novo tecido reside no fenômeno chamado mecanotransdução, no qual o ambiente externo, ou seja, a matriz extracelular unida à força exercida artificialmente por meio da DO sobre as células funciona como sinais capazes de serem traduzidos por estas como estímulo para divisão celular, produção de matriz e diferenciação. O aumento na expressão de quinase relacionada com sinal extracelular (ERK1/2) e proteínas morfogenéticas ósseas (BMP2/4) já foi descrito na literatura, assim como a presença de padrões de sinalização mediados pelas proteínas integrinas<sup>71,72</sup>.

Durante a DO podem ser observados quatro estágios clínicos: a cirurgia para separação dos segmentos ósseos, o período de latência, a distração propriamente dita e o período de contenção<sup>73,74</sup>. A cirurgia para separação dos segmentos pode ser realizada sob anestesia geral ou local. A maioria dos autores realiza uma osteotomia, outros sugerem a realização apenas de corticotomia para preservação

do osso medular e do endósteo e manutenção do suprimento sanguíneo<sup>75,76</sup>. Por outro lado, Karaharju-Suvanto et al., em um estudo com ovelhas, relataram que o corte do feixe vaso-nervoso não parece afetar a cicatrização óssea<sup>77</sup>. Há concordância de que deve haver uma máxima preservação do periósteo para que ocorra a neoformação óssea<sup>78</sup>.

O segundo estágio é conhecido como período de latência, sendo o tempo decorrido entre a cirurgia e a ativação do aparelho para que ocorra cicatrização do periósteo, tecidos moles, vasos sanguíneos, formação do calo ósseo e proliferação de células osteogênicas. Esse período varia de 0 a 15 dias. O método preconizado por Ilizarov sugere entre cinco e sete dias. Após esse período, o calo começa a se consolidar, tornando mais difícil a DO. Apesar disso, outros autores obtiveram sucesso em um caso de avanço de maxila com 21 dias de latência<sup>79</sup>.

A DO propriamente dita é a indução mecânica da formação de novo osso pela separação gradual dos segmentos da osteotomia. A ativação do aparelho possui um padrão e uma frequência ideal que, segundo Ilizarov, é de 1 mm por dia em quatro incrementos iguais de 0,25 mm<sup>80</sup>. Esse padrão ótimo de distração tem sido preconizado, pois uma ativação mais lenta (menos que 0,5 mm por dia) pode levar a uma ossificação prematura e fusão dos segmentos ósseos. Por outro lado, uma ativação mais rápida (mais que 1,5 mm por dia) pode provocar a formação de um tecido fibroso no lugar do tecido ósseo. Essa complicação tem particular importância em pacientes muito jovens, pois a consolidação no lugar da DO é extremamente rápida<sup>81</sup>. Durante o período de ativação do aparelho, pode-se usar uma lâmina acrílica no arco superior para permitir movimentos livres<sup>82</sup>.

Após atingir a quantidade de DO desejada, é necessário um período de fixação ou consolidação para que ocorra a cicatrização óssea. O período de consolidação não pode ser muito longo, por causar enfraquecimento da região como resultado de uma atrofia por desuso, nem muito curto, pois por levar a uma união não fibrosa, dobra ou fratura<sup>78</sup>.

Al-Sebaiei et al.<sup>83</sup>, após submeterem 25 coelhos a osteotomias mandibulares e colocação de aparelhos distratores bilaterais utilizando como protocolo três dias de latência, ativação de 0,5mm/12 horas por sete dias (consolidação de 14 dias) em apenas um lado enquanto que no outro lado o aparelho permanecia inativo. Após os períodos de observação (três, sete, 10, 17, e 24), com cinco coelhos por grupo, os resultados clínicos e histológicos definem o coelho como um modelo animal ideal

para DO mandibular, pois combina com sucesso os critérios de controle intra-animal, análise temporal, custo efetivo e bom controle biológico que servem de base para futuros estudos<sup>83</sup>.

### 3 METODOLOGIA

Esta pesquisa teve sua execução aprovada pelo CEP da PUCRS (06/03522) em 12 de março de 2007. (Anexo A)

#### 3.1 DEFINIÇÃO CONCEITUAL

*Distração Osteogênica:* técnica que visa corrigir deformidades esqueléticas, por meio do alongamento do calo ósseo produzido cirurgicamente.

*Distratores Osteogênicos:* aparelhos metálicos fixados aos cotos ósseos, com finalidade de afastá-los, produzindo o alongamento ósseo. Após o alongamento, destinam-se a estabilizar os cotos afastados como fixação rígida.

*Irradiação pelo Laser:* consiste na aplicação de laser sobre tecidos biológicos, com potencial para a biomodulação de eventos celulares, em busca de favorecimento no processo de estimulação tecidual.

#### 3.2 AMOSTRA

Para a presente investigação, realizada de acordo com a Lei Arouca (Anexo B), foram selecionadas 10 coelhos da ordem *Lagomorpha*, gênero *Oryctolagos*, espécie *Oryctolagos cuniculus*, raça Nova Zelândia, variedade branca e machos.

#### 3.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Todos os 10 animais foram selecionados por conveniência para compor a amostra, de acordo com os seguintes critérios:

- a) Ausência de malformações congênitas e feridas. Para tanto, os animais foram verificados por meio da inspeção visual. Os animais selecionados serão admitidos no Biotério Central da UFSM - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS;
- b) Os animais selecionados foram admitidos no Biotério Central da UFSM;
- c) Os espécimes selecionados foram divididos, aleatoriamente, em grupos experimentais e controle (Quadro 2);

- d) Os animais foram alojados em gaiolas individuais. Suas massas eram conferidas e identificadas por fichas nas gaiolas.

Foram critérios de inclusão: os animais serem machos, da raça Nova Zelândia, brancos (*Oryctolagus cuniculus*), com idade adulta reconhecida e peso compreendido entre 3,5kg e 4,5kg, além de saudáveis.

### 3.4 ETAPAS TÉCNICAS DA PESQUISA

Todas as etapas dos procedimentos anestésicos foram executadas por médicos veterinários, que acompanharam o pré, trans e pós-operatórios dos espécimes.

Na sala de anestesia, por injeções intramusculares, foram administrados: Cloridrato de Xilazina a 2% (Anacedan<sup>®</sup>) na dose de 0,1mg/Kg de peso, e Cloridrato de Zolazepam com Cloridrato de Tiletamina (Zoletil<sup>®</sup>) na dose de 3mg/kg de massa corpórea. Sendo o primeiro um miorelaxante e analgésico e o segundo um agente anestésico dissociativo capaz de atuar sobre o córtex cerebral, seletivamente, causando analgesia e perda da consciência, ministradas nesta sequência, com um tempo médio de indução anestésica de quatro minutos e, eventualmente, doses complementares intramusculares de manutenção, correspondendo a 1/3 da dose inicial administrada.

Após a perda da consciência dos animais, a região submandibular à esquerda de cada espécime foi tricotomizada com máquina elétrica. Os espécimes foram, então, levados à sala cirúrgica, posicionados em decúbito lateral direito, sendo fixados à mesa cirúrgica por amarrilhos (Figura 6). A seguir, realizou-se antissepsia da pele com iodoform alcoólico a 0,5%.



Figura 6: O animal com tricotomia e anti-sepsia realizados

Campos cirúrgicos estéreis isolaram a área operatória. Na região a ser incisada, procedeu-se à infiltração local de Lidocaína a 1% com Epinefrina na proporção de 1:100.000, no espaço subcutâneo, na dose aproximada de dois mililitros por animal. Foi também realizada a administração profilática de Enrofloxacina (Flotril<sup>®</sup>), por via intramuscular, em uma dose de 2ml de Flotril injetável 2,5% uma hora antes do procedimento.

Uma incisão de aproximadamente 3 cm, única e linear, foi realizada na pele com cabo de bisturi n<sup>o</sup>3 e lâmina de bisturi descartável n<sup>o</sup>15, na borda inferior direita da mandíbula, dando-se início ao acesso até o osso mandibular. A dissecação por planos foi realizada com tesoura de Matzembraum. O periósteo foi cuidadosamente descolado junto com as inserções musculares, por meio de instrumentos do tipo Molt e Seldin, nas faces lateral e inferior da mandíbula.

Reparos com fio monofilamentar de náilon n<sup>o</sup>. 4-0 foram realizados na pele e plano muscular profundo para tracioná-los, durante a instalação do distrator osteogênico, respeitando a posição natural desses componentes que foram reposicionados ao final do procedimento.

Após a exposição da região de corpo mandibular, o forame mentoniano com a emergência do nervo alveolar inferior foi identificada e dissecada. Uma osteotomia monocortical vertical realizada entre o dente pré-molar e o forame mentoniano, utilizando-se broca carbide de ponta reta (1,0 mm de diâmetro) em baixa rotação e sob irrigação constante, com solução salina de soro fisiológico a 0,9% envolvendo

toda a face vestibular mandibular. Durante este procedimento, os tecidos cutâneo e muscular foram tracionados pelos reparos (Figura 7). A cortical lingual e seu periósteo adjacente foram preservados.

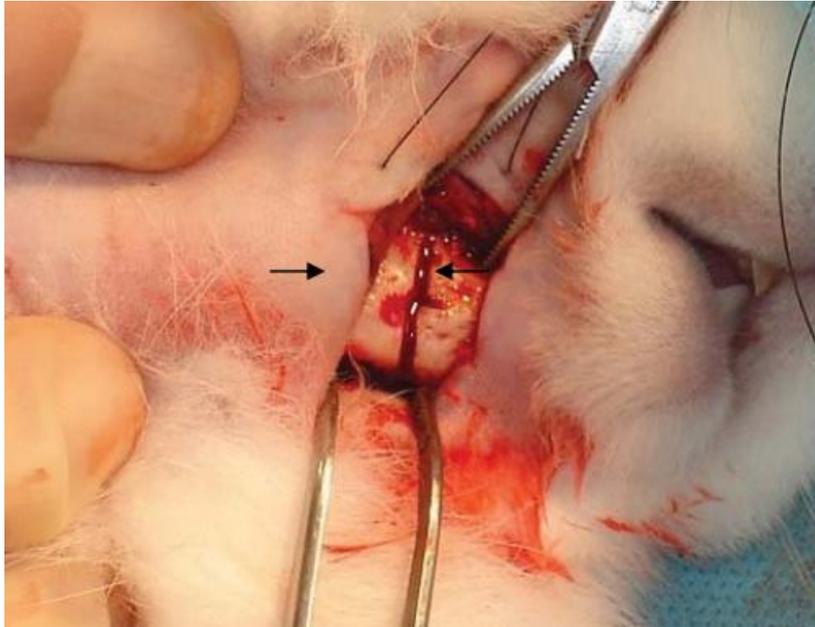


Figura 7: Corticotomia vestibular

O distrator osteogênico de titânio (produzido especificamente para esta linha de pesquisa pela PROMM<sup>®</sup>) foi instalado por meio da perfuração de três orifícios por placa e fixados com parafusos de 5mm, em cada lado da osteotomia e abaixo do forame mentoniano e raízes dentárias (Figura 8). Todos os quatro parafusos foram adaptados de forma equidistante à área da osteotomia e monocorticais. O parafuso distrator foi adaptado e ativado em duas voltas ou até que se obteve uma franca resistência à ativação, quando se realizou a fratura com movimentos de alavanca com cinzéis.

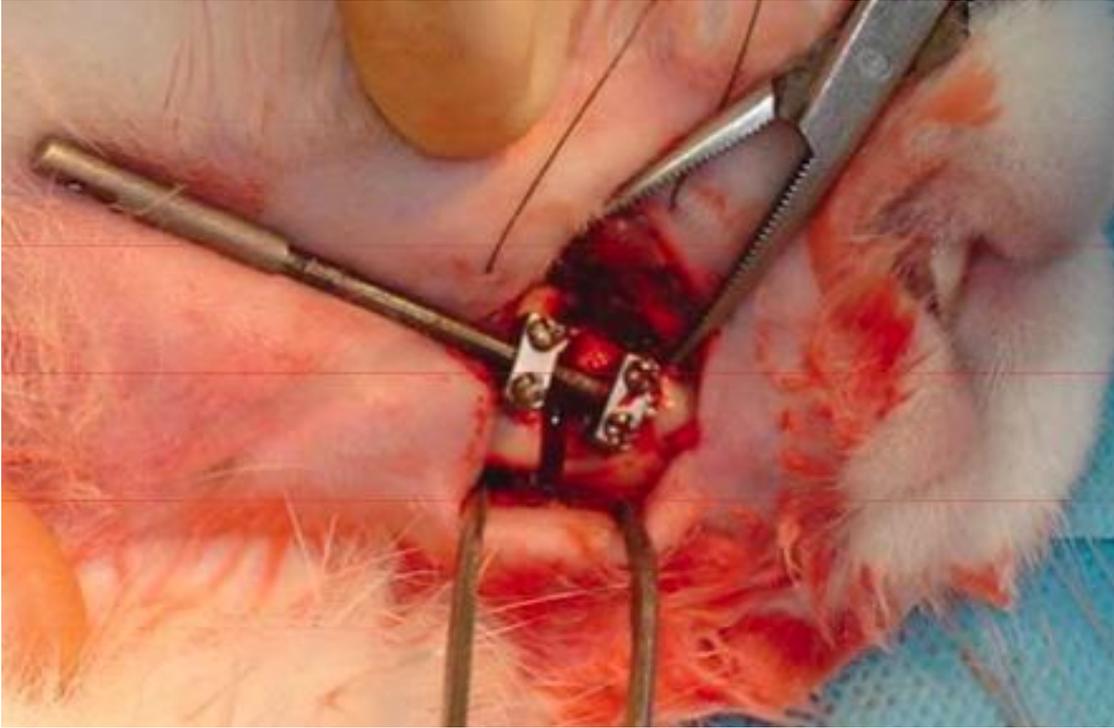


Figura 8: Distrator osteogênico instalado da marca PROMM®

Após irrigação abundante para a limpeza do leito operatório, a ferida cirúrgica foi fechada por planos com fio monofilamentar de náilon nº 4-0 em pontos isolados nos planos profundos e sutura intradérmica para a epiderme (Figura 9).



Figura 9: Sutura com fio náilon monofilamentar nº 4-0

O tempo médio para a realização dos procedimentos, excluindo-se o tempo de indução anestésica e o preparo do leito cirúrgico, foi de aproximadamente 40 minutos.

### **3.4.1 Período Pós-Operatório**

No período pós-operatório, os espécimes permaneceram no Vivário central da UFSM, sob cuidados do pesquisador e sob orientação da equipe de médicos veterinários.

Os espécimes receberam novas doses de analgésicos (Novalgina<sup>®</sup>) a uma dose de 20 gotas em um pote de 500 ml trocado diariamente durante todo o período experimental.

#### *3.4.1.1 Distração Osteogênica*

##### 3.4.1.1.1 Período de Latência – três dias (1<sup>o</sup> ao 3<sup>o</sup>)

Durante os três primeiros dias pós-operatórios, o distrator osteogênico não foi ativado, apenas inspecionado e higienizado com iodoform alcoólico a 1%. Um colar protetor foi colocado ao redor do pescoço para proteger o distrator de deslocamentos e uma dieta macia, ração triturada mais folhas verdes (capim limão e alface) foram administrados.

##### 3.4.1.1.2 Período de Ativação – sete dias (4<sup>o</sup> ao 10<sup>o</sup>)

A partir do terceiro dia pós-operatório, iniciaram-se as ativações do aparelho distrator com o ritmo de 0,8 mm de extensão por dia, até que se completaram sete dias de ativação (aproximadamente 5,6 mm de extensão).

##### 3.4.1.1.3 Período de Maturação Óssea – 10 dias (11<sup>o</sup> ao 20<sup>o</sup>)

Após os 10 dias de latência e ativação, o distrator osteogênico permaneceu instalado nos espécimes por mais 10 dias, como fixação rígida, para que a maturação óssea fosse alcançada.

### 3.5 GRUPOS E MORTES DOS ANIMAIS

Os espécimes deste estudo foram divididos em grupos experimentais e controle (Quadro 2) de acordo:

- a) **Grupo A** – mandíbula com fratura, instalação do distrator, com distração osteogênica, morte em 11 dias, com laserterapia no período de ativação;
- b) **Grupo B** – mandíbula com fratura, instalação do distrator, com distração osteogênica, morte em 21 dias, com laserterapia no período de ativação;
- c) **Grupo C** – mandíbula sem fratura, sem instalação do distrator, morte em 11 dias, sem laserterapia;

<b>Grupos e subgrupos</b>	<b>Número de animais</b>	<b>Período da laserterapia</b>	<b>Dia da morte do animal</b>
A	3	Distração	11
B	4	Distração	21
C	3	----	11

Quadro 2: Divisão de grupos e subgrupos

Os espécimes foram mortos por meio de uma anestesia profunda com os mesmos anestésicos utilizados para o procedimento cirúrgico, ocasionando morte por parada cardiorrespiratória, respeitando-se, dessa forma, o que preconiza a Resolução no. 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (Anexo C).

Após a constatação da morte dos coelhos, pelos sinais vitais, as mandíbulas foram removidas, isoladas, separadas e identificadas, com brocas e cinzéis, a fim de que os blocos ósseos fossem suficientes para que as avaliações físicas pudessem ser realizadas. Os espécimes foram congelados e após incluídos em solução de Glutaraldeído a 2%.

### 3.6 IRRADIAÇÃO COM LASER

Para a irradiação pelo laser terapêutico, foi utilizado uma unidade de *LaserImplanTek laser* (DMC equipamentos, São Carlos, SP). Por ser indolor, este procedimento não necessitou do uso de sedação ou anestésicos.

Os espécimes pertencentes ao grupo experimental receberam doses pontuais de  $4 \text{ J/cm}^2$  de laser, diretamente sobre o sítio ósseo submetido à distração osteogênica, nos períodos propostos, respeitando-se intervalos de 48 horas. A aplicação foi feita em três pontos ao longo da osteotomia, ficando, no sentido ântero-posterior, um ponto em cada limite da região distraída e outro bem no meio dessa região em uma posição equidistante aos outros dois pontos. Os três pontos foram localizados bem no meio da área distraída no sentido súpero-inferior, totalizando  $12 \text{ J/cm}^2$  por sessão<sup>39</sup>. As doses totais estão descritas a seguir (Quadro 3).

Grupos e subgrupos	Período da laserterapia	Dose por sessão de laserterapia	Dose total aplicada
A	Ativação * (4°,6°,8°,10° dias)	$12 \text{ J/cm}^2$	$48 \text{ J/cm}^2$
B	Ativação ** (4°,6°,8°,10° dias)	$12 \text{ J/cm}^2$	$48 \text{ J/cm}^2$
C	---	---	---

Quadro 3: Doses de laser aplicadas

Legenda:

\*morte após ativação.

\*\*morte após maturação.

O laser utilizado foi o *ImplanTek laser* (DMC) com os seguintes parâmetros:

- Comprimento de onda =  $830 \text{ nm}$  (AsGaAl);
- Potência =  $100 \text{ mW}$ ;
- Modo = contínuo;
- Secção transversal da ponteira =  $0,002827 \text{ cm}^2$ .

### 3.7 ANÁLISE TOMOGRÁFICA

Neste estudo analisou-se a variação da densidade óssea relativa por meio da escala de níveis de cinza, nas mandíbulas dos 10 coelhos, antes e após a dissecação dos tecidos moles.

Cada um dos 10 coelhos foram submetidos a tomografia com e sem tecidos moles. Para auxílio durante as tomadas, foi confeccionado um guia tomográfico. As mandíbulas dos coelhos foram colocadas sobre um guia prototipado, feito especialmente para este fim, milimetrado no sentido coronal, com indicador para linha média dos coelhos no sentido longitudinal, para que o feixe luminoso localizador do TC tivesse a mesma inclinação sobre todas as peças. Foi confeccionado um posicionador para os incisivos centrais inferiores dos coelhos no guia, onde o feixe luminoso era direcionado de forma a passar entre estes dois dentes, proporcionando assim uma maior uniformidade no posicionamento das mandíbulas na aquisição das imagens. O programa utilizado no planejamento do guia foi o *software Rhinoceros 3D* (Robert McNeel & Associates), a confecção na máquina *Insight (Stratasys – FDM 300)*, e produzido pela tecnologia *Fused Deposition Manufacturing - FDM*. O guia tomográfico foi produzido pela empresa Protótipos 3D® (Tecnopuc - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil).

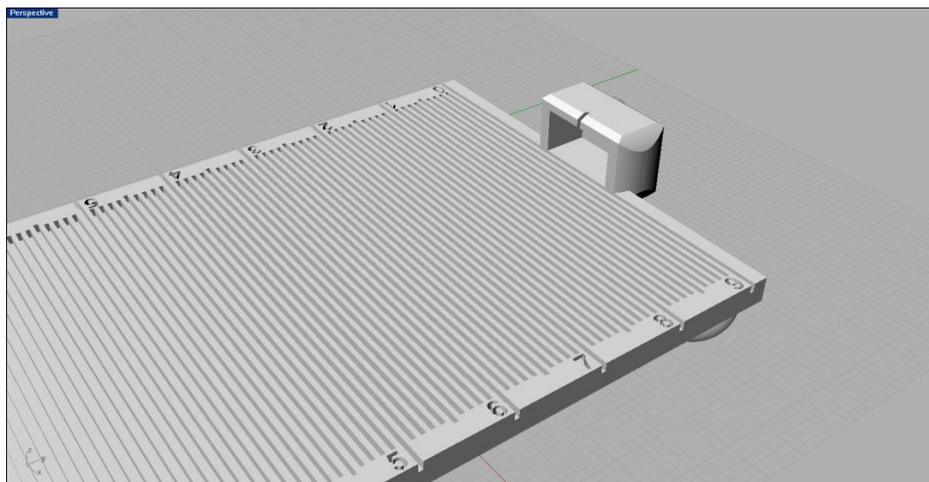


Figura 10: Projeto do guia tomográfico com marcações em milímetros  
(*Rhinoceros 3D*)

As tomografias foram realizadas na Clínica Radiológica FACIEM 3D em Porto Alegre, RS.

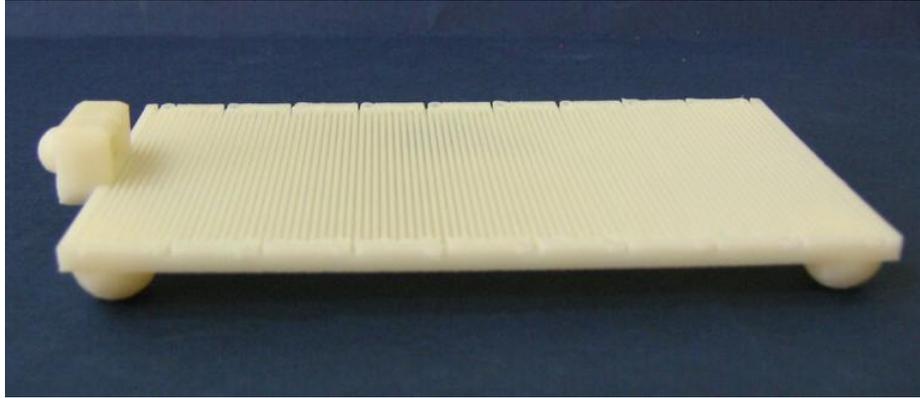


Figura 11 : Guia Tomográfico da confeccionado pela empresa Protótipos 3D®



Figura 12: Mandíbula posicionada sobre o guia tomográfico durante a aquisição das imagens

O equipamento utilizado nas aquisições das imagens foi o TC K9000 *Cone Beam CT Scanner* da marca KODAK®. Para tal, realizou-se um protocolo de aquisição axial e helicoidal, *head filter*, matriz 512x512, espaçamento entre os cortes 0.765 mm, tamanho do *pixel* de 0.332, resolução de 13.072 *pixels/mm*, 60 kV e 20 mA, FOV de 10 cm e tamanho do voxel de 0.08 x 0.08 x 0.08 mm.



Figura 13: Aparelho TC K9000 da empresa KODAK®

As imagens foram armazenadas no formato *Digital Imaging and Communications in Medicine* (DICOM) e, posteriormente, reconstruídas no *software* KODAK *Dental Imaging Software*®, da empresa KODAK®. Com a utilização deste *software* foi possível o processamento tridimensional da imagem, permitindo também estabelecer os níveis de cinza apropriados para visualização do resultado da atenuação do feixe de raios X.

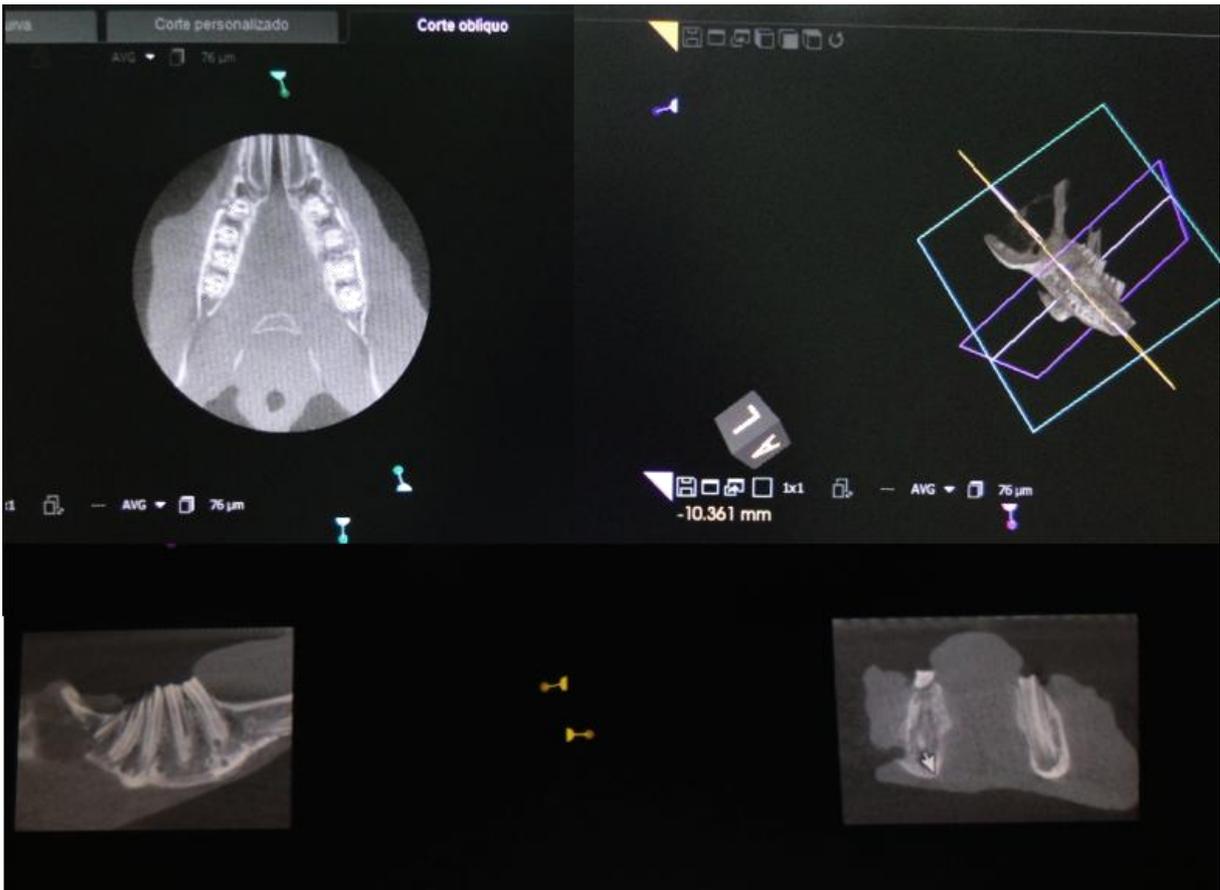


Figura 14: Imagem produzida após a aquisição tomográfica da mandíbula do coelho, pelo programa Kodak *Dental Imaging Software*

Para análise das imagens e para a obtenção da medida da densidade óssea relativa na área distraída, foi utilizado o *software Image J*, *freeware*, desenvolvido pelo *National Institute of Health*. Com este *software* foi possível analisar a densidade óssea relativa, relacionando os valores dos níveis de cinza aos limites de atenuação dos feixes de raios X na área submetida à distração osteogênica, dos coelhos operados e no corpo da mandíbula dos espécimes no grupo controle. Os valores obtidos eram transportados em forma de tabela com o programa Excel para Windows®.

Foram analisados 147 pontos dispostos em uma reta, localizada na região basilar da mandíbula dos 10 coelhos antes e após a remoção dos tecidos moles. Nos grupos experimentais, o início e o final da reta localizava-se fora da área da distração osteogênica, sendo que a mesma passava obrigatoriamente pela área distraída. No grupo controle, optou-se por localização similar, em que o início da reta iniciava anteriormente ao primeiro pré-molar do coelho. A análise foi realizada na imagens das mandíbulas em 3D.

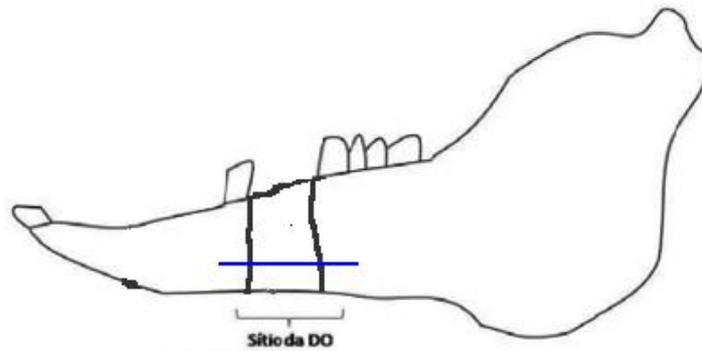


Figura 15: Esquema ilustrativo demonstrando localização da reta em que foi mensurada a densidade óssea relativa

### 3.7.1 Escala de cinza

Como as tomografias foram realizadas em tomógrafo do tipo *cone-beam*, para realizar os processamento no *software* ImageJ, as imagens foram convertidas para 8 *bits* (256 níveis de cinza). Definindo uma escala de 0 a 255 em cada imagem, onde 0 representa valores escuros dentre os níveis de cinza da imagem (correspondente a menor atenuação dos feixes de raios X no momento da exposição), e 255 representa valores claros a brancos dentre os níveis de cinza (maior atenuação dos feixes de raios X), dependendo do tipo do tecido irradiado.

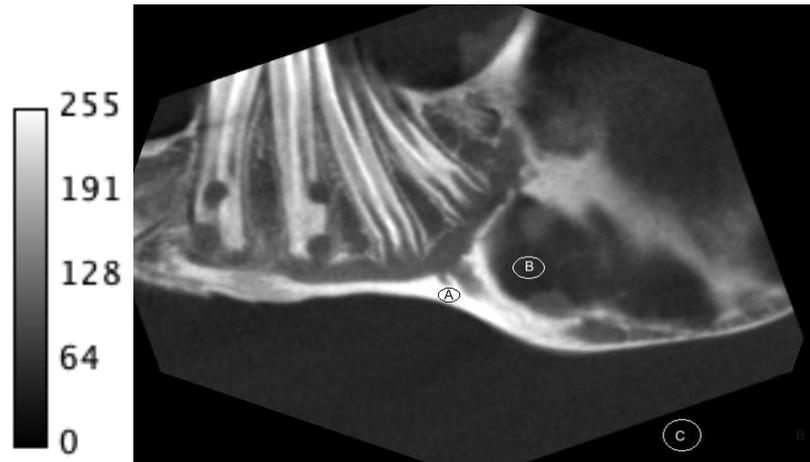


Figura 16: Escala de cinza produzida no tomógrafo TCK9000

Ponto A – Valores de cinza iguais a 255.

Ponto B – Valores de cinza compreendidos entre 60 e 70.

Ponto C – Valores de cinza iguais a zero.

### 3.7.2 Seleção dos pontos para análise da densidade

Com o *software* ImageJ foram construídas representações lineares de análise para determinar a densidade óssea na imagem em 3D. Tais linhas, que possuíam 11,25 mm de comprimento, reproduziram 147 pontos, que serviram para a análise da atenuação dos feixes de raios X nos 10 coelhos. Após a obtenção dos valores dos níveis de cinza nos 147 pontos, foi possível comparar a densidade óssea nos grupos A, B e C, antes e após a remoção dos tecidos moles.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para avaliação dos valores de cinza obtidos dos coelhos tomografados, nos grupos A, B e C, antes e após a remoção dos tecidos moles, foi utilizado o *software* Biostat 5.0, para avaliar o coeficiente de replicabilidade intraclassa (CCI).

A concordância entre as medidas obtidas entre os coelhos com tecidos moles e sem tecidos moles, com relação aos valores obtidos de cinza, foi avaliado pelo teste de Fleiss J.L (1986), segundo BioEstat 5.0.

O teste Anova foi utilizado para avaliação da média dos valores de cinza, obtidos em cada quarto da reta, dentro de um mesmo grupo. Para tal fim, foi usado o *software* SPSS<sup>®</sup>.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 VALORES DOS NÍVEIS DE CINZA

Realizou-se esta análise com o *software* ImageJ. Os 10 coelhos foram divididos em grupos e tomografados primeiramente com tecido mole e a seguir sem tecido mole.

#### 4.1.1 Grupo A

Neste grupo os animais foram mortos 11 dias após o início da distração osteogênica. A laserterapia ocorreu no período de ativação do aparelho distrator. Nele foi comparada a densidade óssea relativa, por meio dos níveis de cinza, dos coelhos números: 1, 2 e 3, antes e após a remoção dos tecidos moles.

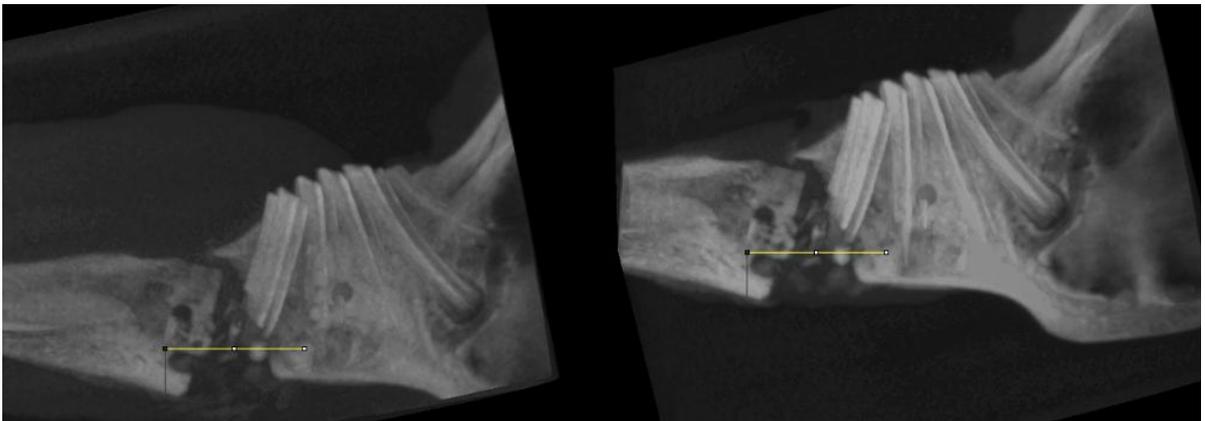


Figura 17: Imagem em 3D do coelho nº 1. Imagens das mandíbulas com tecidos moles (esquerda) e sem tecidos moles (direita)

A construção da reta permite avaliar o valor dos níveis de cinza obtidos em 147 pontos, na região basilar em cada mandíbula. Estes pontos distribuía-se através de um gráfico montado pelo *software* ImageJ (gráficos 1 e 2).

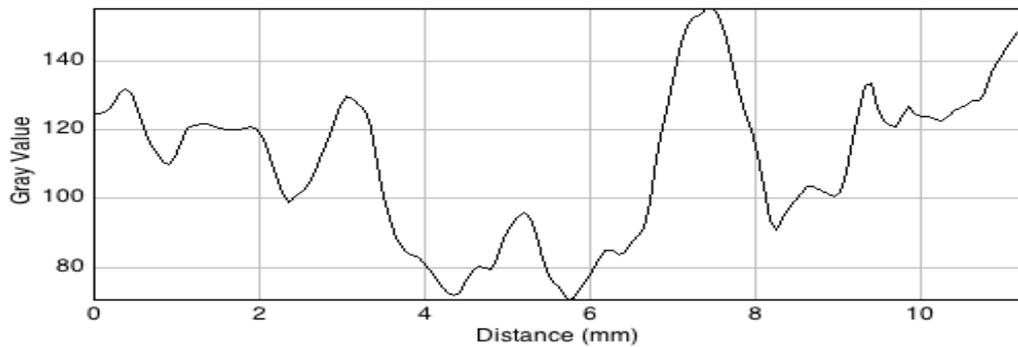


Gráfico 1: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 1' (coelho com tecidos moles)

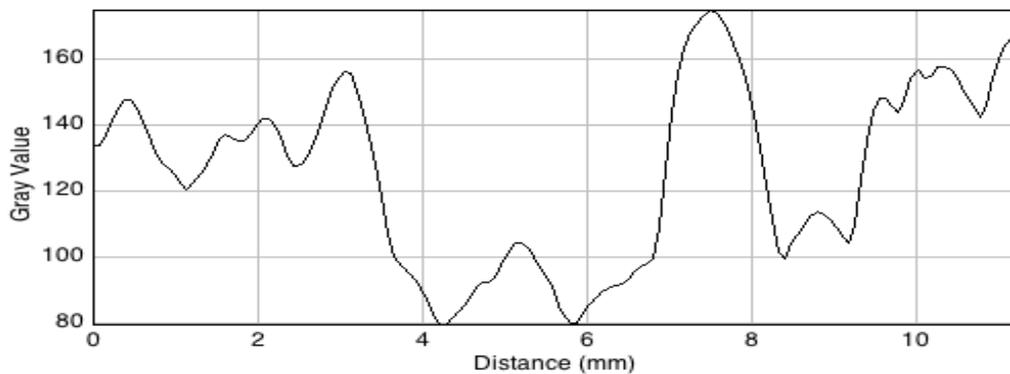


Gráfico 2: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 1'' (coelho sem tecidos moles)

O valor dos 147 pontos foi transferido para o programa Excel para Windows<sup>®</sup>. Foram escolhidos cinco pontos deste gráfico, nos quais pôde-se observar a atenuação do feixe de raios X, por meio dos níveis de cinza obtidos, devido à presença dos tecidos moles, nos coelhos do grupo A, durante a execução da tomografia. A distância de 4,66 mm; 5,89 mm e 6,65 mm correspondem aos valores de níveis de cinza na área da distração. Os valores de nível de cinza nas distâncias de 0,53 mm e 9,86 mm estão localizados fora da área de distração.

<b>DISTÂNCIAS</b>	<b>0,53 mm</b>	<b>4,66mm</b>	<b>5,89mm</b>	<b>6,65 mm</b>	<b>9,86mm</b>
Coelho 1'	126	80	74	91	127
Coelho 1''	145	91	80	97	148
Coelho 2'	150	124	75	86	168
Coelho 2''	190	149	88	91	188
Coelho 3'	136	129	127	147	125
Coelho 3''	163	141	148	164	153

Quadro 4: Valores dos níveis de cinza em cinco pontos nos coelhos do grupo A

Nota:

Os coelhos 1', 2', 3', são os coelhos 1, 2 e 3 com tecidos moles.

Os coelhos 1'', 2'', 3'', são os coelhos 1, 2 e 3 sem tecidos moles.

Com estes 5 pontos em cada coelho, através do *software* Excel para Windows®, analisou-se o gráfico dos coelhos do grupo A, com tecidos moles, com os mesmos coelhos do grupo A, sem tecidos moles (gráficos 3 e 4).

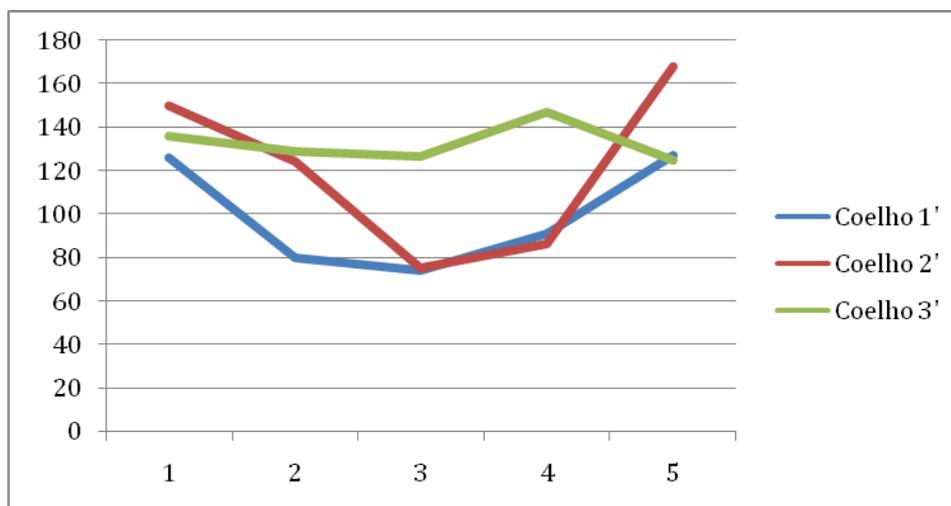


Gráfico 3: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo A antes da remoção dos tecidos moles

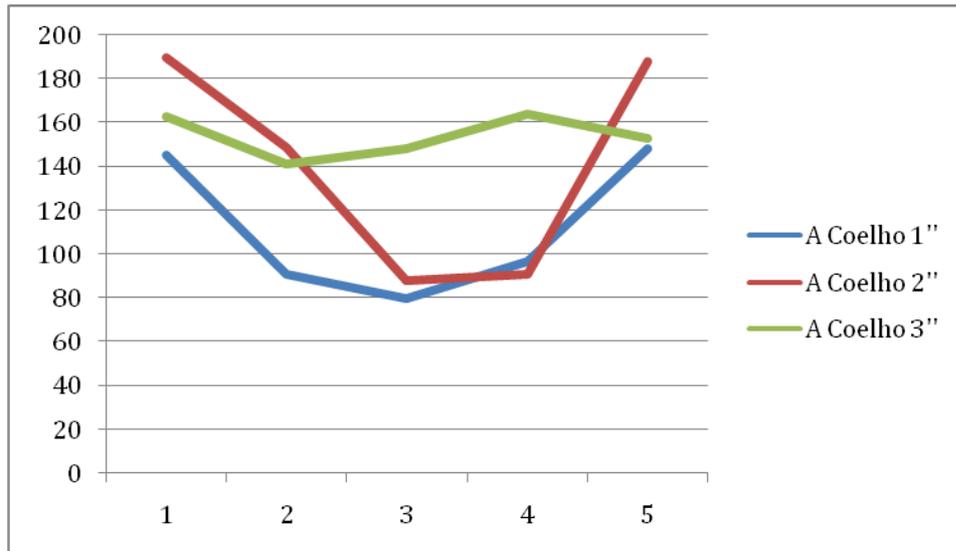


Gráfico 4: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo A após a remoção dos tecidos moles

#### 4.1.2 Grupo B

Neste grupo, os animais foram mortos 21 dias após o início da distração osteogênica. A laserterapia ocorreu no período de ativação do aparelho distrator. Nele comparou-se a densidade óssea relativa, por intermédio dos níveis de cinza obtidos nos coelhos nos. 4, 5, 6 e 7, antes e após a remoção dos tecidos moles.

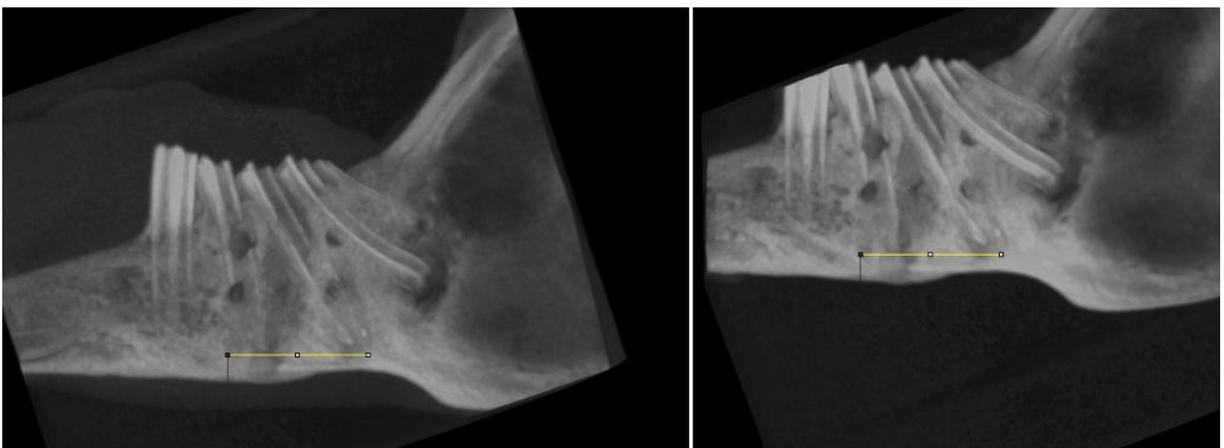


Figura 18: Imagem em 3D do coelho nº 4. Imagens das mandíbulas com tecidos moles (esquerda) e sem tecidos moles (direita)

A construção da reta permite avaliar o valor dos níveis de cinza obtidos em 147 pontos, na região basilar em cada mandíbula. Estes pontos distribuíam-se em um gráfico montado pelo *software* ImageJ (Gráficos 5 e 6).

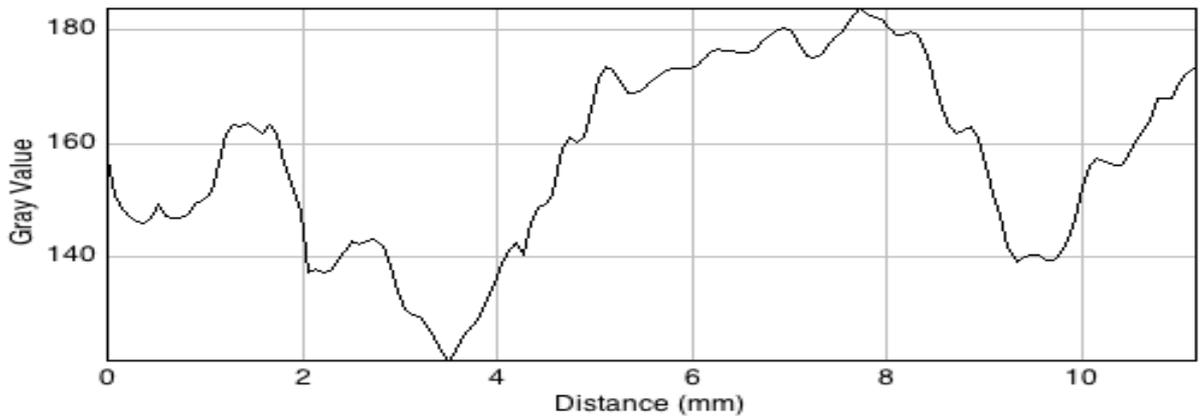


Gráfico 5: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 4' (coelho com tecidos moles)

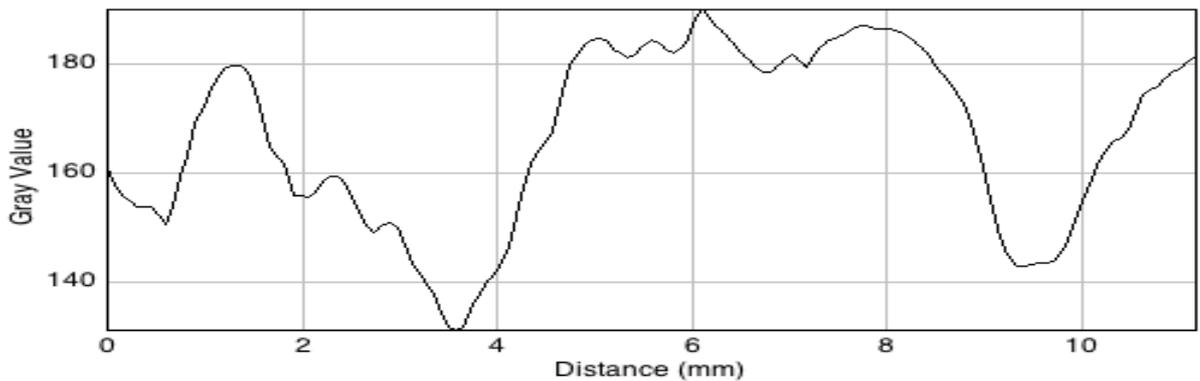


Gráfico 6: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 4'' (coelho sem tecidos moles)

O valor dos 147 pontos foi transferido do programa Excel para Windows<sup>®</sup>. Escolheram-se cinco pontos deste gráfico, nos quais é possível observar a atenuação do feixe de raios X, através dos níveis de cinza obtidos, em decorrência da presença dos tecidos moles, nos coelhos do grupo B, durante a execução da tomografia. A distância de 4,66mm, 5,89mm e 6,65mm correspondem aos valores de níveis de cinza na área da distração. Os valores de nível de cinza nas distâncias de 0,53mm e 9,86mm estão localizados fora da área de distração.

<b>Distâncias</b>	<b>0,53 mm</b>	<b>4,66mm</b>	<b>5,89mm</b>	<b>6,65 mm</b>	<b>9,86mm</b>
Coelho 4'	149	159	173	176	143
Coelho 4''	152	175	183	179	147
Coelho 5'	159	128	113	119	129
Coelho 5''	172	157	134	122	149
Coelho 6'	151	129	123	130	154
Coelho 6''	184	167	157	153	196
Coelho 7'	164	109	103	107	165
Coelho 7''	170	120	106	110	172

Quadro 5: Valores dos níveis de cinza em cinco pontos nos coelhos do grupo B

Nota:

Coelhos 4', 5', 6' e 7', são os coelhos 4, 5, 6 e 7 com tecidos moles.

Coelhos 4'', 5'', 6'' e 7'' são os coelhos 4, 5, 6 e 7 sem tecidos moles.

Com estes cinco pontos em cada coelho, através do *software* Excel para Windows<sup>®</sup>, foi analisado o gráfico dos coelhos do grupo A, com tecidos moles, com os mesmos coelhos do grupo A, sem tecidos moles (gráficos 7 e 8).

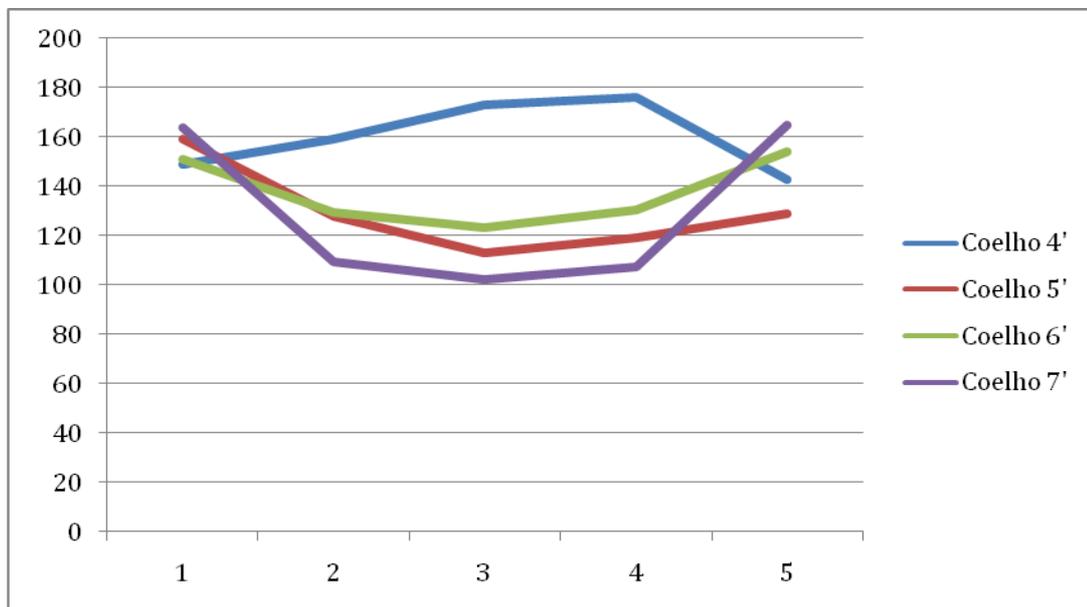


Gráfico 7: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo B, antes da remoção dos tecidos moles

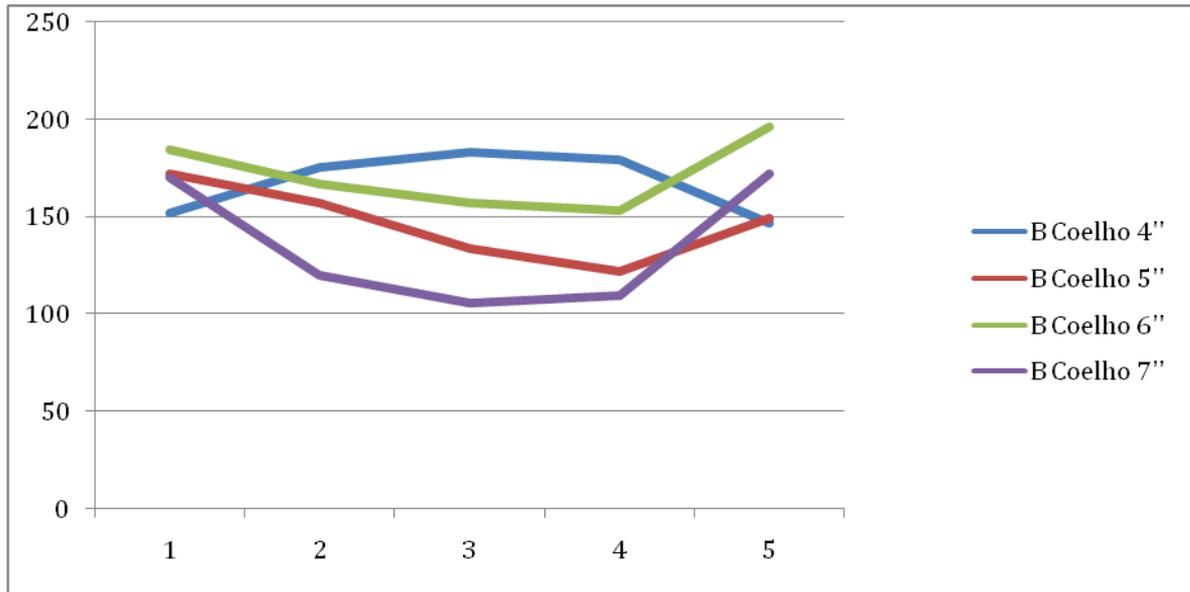


Gráfico 8: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo B, após a remoção dos tecidos moles

#### 4.1.3 Grupo C

Grupo controle. Neste grupo não foi realizada a distração osteogênica e também não ocorreu a aplicação do laser. Nele comparou-se a densidade óssea, por meio da escala dos níveis de cinza, nos coelhos n°s 8; 9 e 10, antes e após a remoção dos tecidos moles.

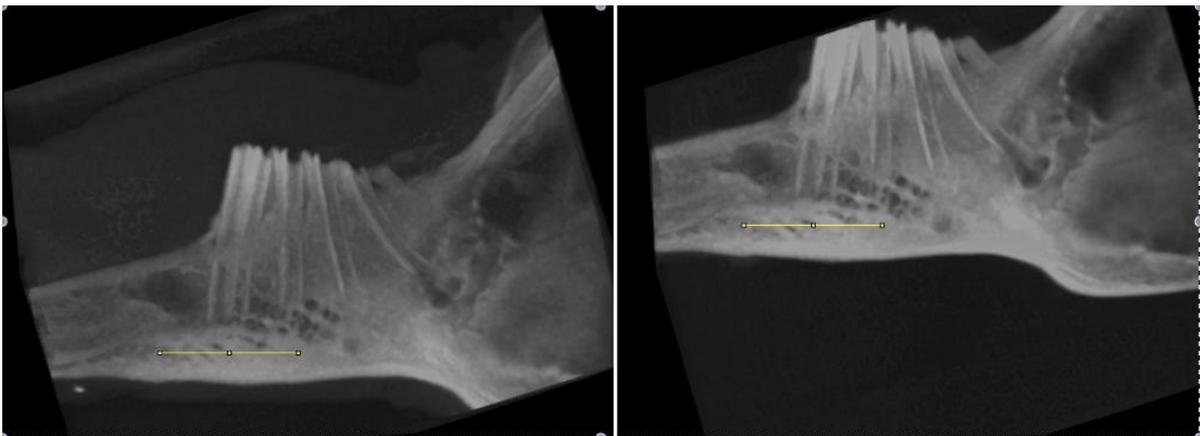


Figura 19: Imagem em 3D do coelho nº 8. Imagens das mandíbulas com tecidos moles (esquerda) e sem tecidos moles (direita)

Por intermédio de uma linha com 11, 25mm de comprimento, avaliaram-se níveis de cinza, nos coelhos do grupo C, em 147 pontos na imagem da tomografia da mandíbula em 3D.

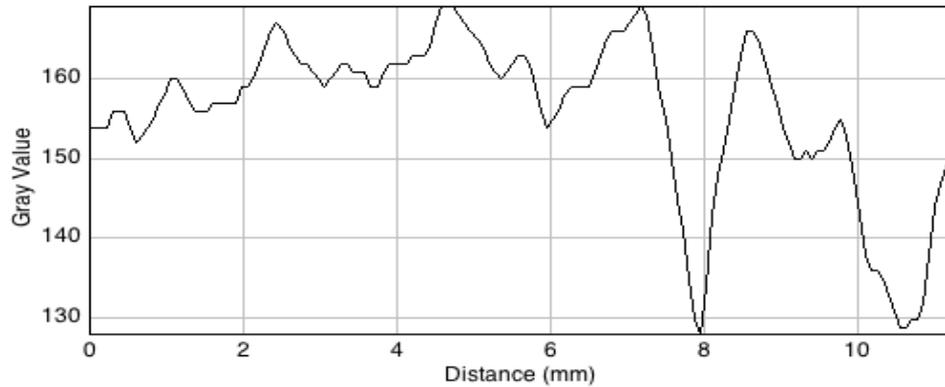


Gráfico 9: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 8' (coelho com tecidos moles)

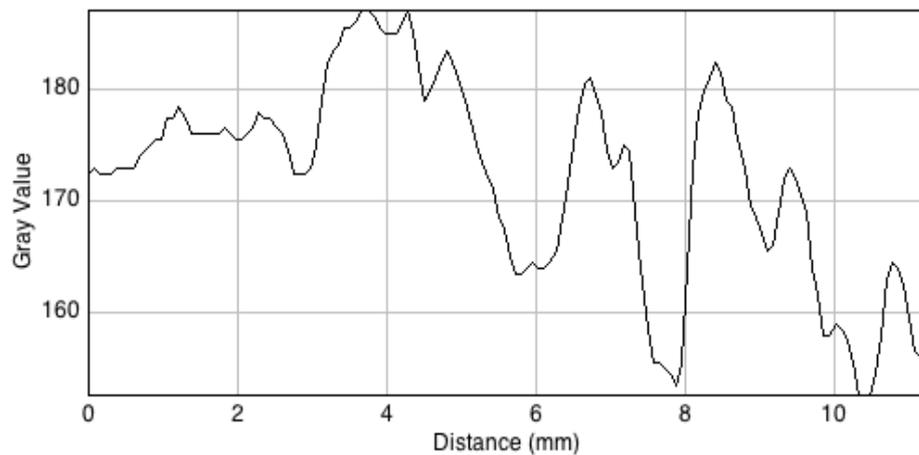


Gráfico 10: Valores dos níveis de cinza sobre a linha obtida na mandíbula do coelho nº 8'' (coelho sem tecidos moles)

O valor dos 147 pontos foi transferido para o programa Excel para Windows®. Escolheram-se cinco pontos deste gráfico, nos quais é possível observar a atenuação do feixe de raios X, através dos níveis de cinza obtidos, graças à presença dos tecidos moles, nos coelhos do grupo C, durante a execução da tomografia.

<b>DISTÂNCIAS</b>	<b>0,53 mm</b>	<b>4,66mm</b>	<b>5,89mm</b>	<b>6,65 mm</b>	<b>9,86mm</b>
Coelho 8'	154	169	156	163	153
Coelho 8''	173	181	164	180	158
Coelho 9'	155	155	154	158	141
Coelho 9''	158	165	168	169	165
Coelho 10'	157	177	170	167	161
Coelho 10''	175	183	176	188	161

Quadro 6: Valores dos níveis de cinza em cinco pontos nos coelhos do grupo C

Nota:

Coelhos 8', 9' e 10', são os coelhos 8, 9 e 10 com tecidos moles.

Coelhos 8'', 9'' e 10'' são os coelhos 8, 9 e 10 sem tecidos moles.

Com estes cinco pontos em cada coelho, através do *software* Excel para Windows®, analisou-se o gráfico dos coelhos do grupo C, com tecidos moles, com os mesmos coelhos do grupo C, sem tecidos moles (gráficos 11 e 12).

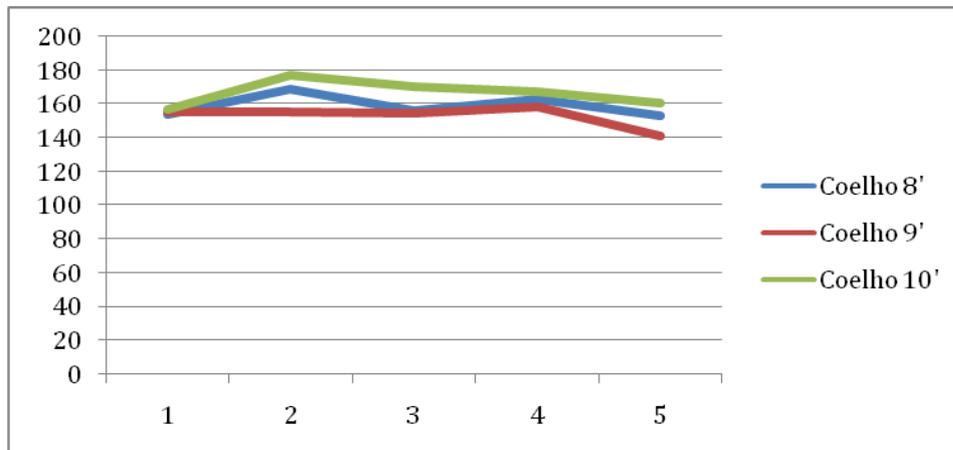


Gráfico 11: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo C, antes da remoção dos tecidos moles

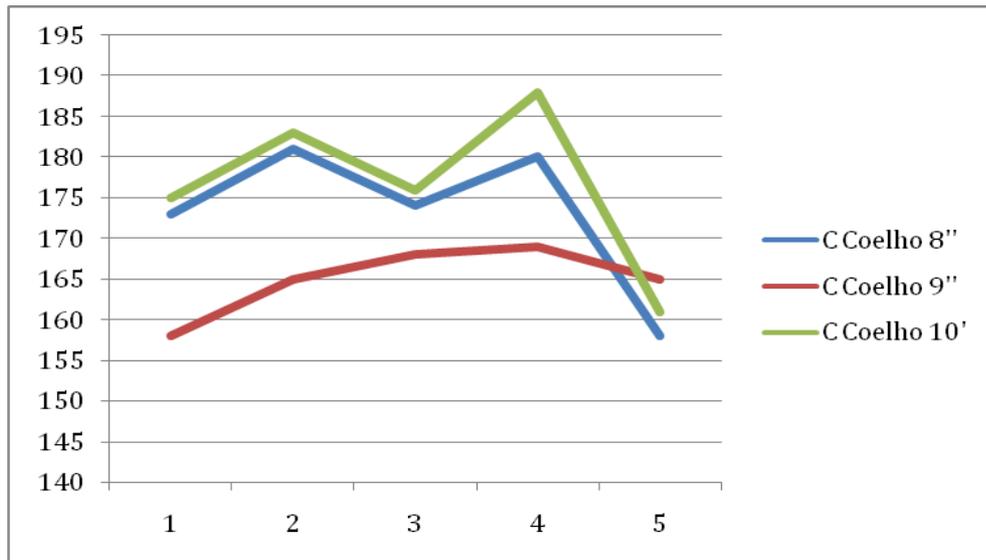


Gráfico 12: Valores dos níveis de cinza nos coelhos do grupo C, após a remoção dos tecidos moles

#### 4.2 COMPARAÇÃO DOS VALORES DOS NÍVEIS DE CINZA ENTRE OS GRUPOS

Com o *software* SPSS® para Windows®, foram comparados os valores dos níveis de cinza entre os grupos A, B e C nos coelhos com tecidos moles (gráfico 13) e naqueles sem tecidos moles (gráfico 14). Para tanto, dividiu-se a linha de 11,25 mm de comprimento, obtida em cada coelho, em quatro partes iguais. A linha azul (gráficos 13 e 14) representa o grupo A, no qual o primeiro ponto é o valor médio dos níveis de cinza no primeiro quarto da linha nos coelhos n.ºs. 1, 2 e 3. O segundo ponto da linha azul, é o valor médio dos níveis de cinza, no segundo quarto da linha nos coelhos n.ºs. 1, 2 e 3. O terceiro ponto da linha azul é o valor médio dos níveis de cinza, no terceiro quarto da linha nos coelhos n.ºs. 1, 2 e 3. O quarto ponto da linha azul é o valor médio dos níveis de cinza, na quarta parte da linha nos coelhos n.ºs. 1, 2 e 3. Os quatro pontos na linha verde (gráficos 13 e 14) são os valores médios dos níveis de cinza, obtidos em cada quarto da linha, nos coelhos n.ºs. 4; 5; 6 e 7. Os quatro pontos na linha amarela (gráficos 13 e 14) são os valores médios dos níveis de cinza, obtidos em cada quarto da linha, nos coelhos n.ºs. 8; 9 e 10.

Nesta análise, foi comparada a neoformação óssea, na área de distração osteogênica, por meio dos valores dos níveis de cinza, nos coelhos mortos 11 dias após o início da distração, mortos 21 dias após o início da distração e no grupo

controle. O segundo e o terceiro pontos da linha azul e da linha verde, nos gráficos 13 e 14, são a média dos níveis de cinza na área da distração osteogênica.

Nos grupos A e B, nos gráficos 13 e 14, é observada diminuição dos valores médios dos níveis de cinza nos pontos 2 e 3 quando comparados aos pontos 1 e 4. Os coelhos com tecidos moles (gráfico 13) apresentam valores médios dos níveis de cinza inferiores aos mesmos coelhos sem tecidos moles (gráfico 14).

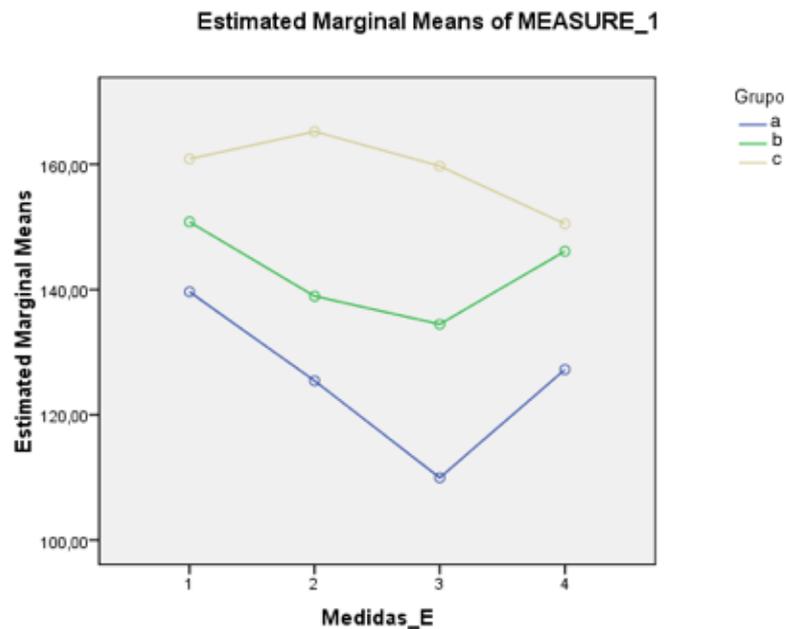


Gráfico 13: Média dos valores de cinza nas mandíbulas com tecidos moles obtidos em cada quarto dos 11,25mm

Nota:

Cálculo realizado com o *software* SPSS®.

Cada ponto no gráfico representa os valores médios de cinza em cada quarto das linhas, nos grupos A, B e C.

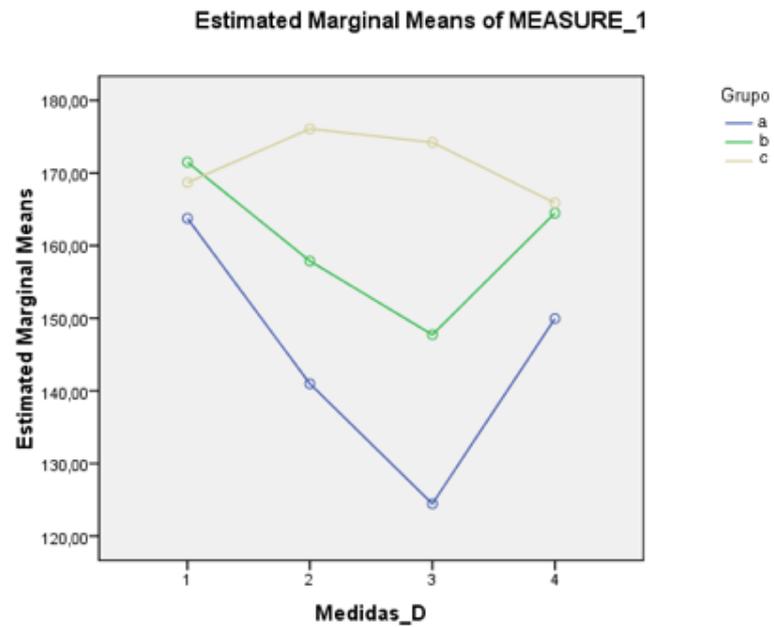


Gráfico 14: Média dos valores de cinza nas mandíbulas sem tecidos moles obtidos em cada quarto dos 11,25mm

Nota:

Cálculo realizado com o software SPSS®.

Cada ponto no gráfico representa os valores médios de cinza em cada quarto das linhas, nos grupos A, B e C.

Quadrante	n	média	desvio padrão	erro padrão	limite inferior	limite superior	mínimo	máximo	
1	1	3	139,67	21,595	12,468	86,02	193,31	117	160
	2	4	151,00	1,155	,577	149,16	152,84	150	152
	3	3	160,67	7,371	4,256	142,36	178,98	155	169
	Total	10	150,50	13,778	4,357	140,64	160,36	117	169
2	1	3	125,67	28,361	16,374	55,21	196,12	93	144
	2	4	138,75	10,178	5,089	122,56	154,94	124	146
	3	3	165,33	7,767	4,485	146,04	184,63	159	174
	Total	10	142,80	22,385	7,079	126,79	158,81	93	174
3	1	3	110,00	26,514	15,308	44,14	175,86	84	137
	2	4	134,50	29,861	14,930	86,98	182,02	107	177
	3	3	159,67	8,145	4,702	139,43	179,90	154	169
	Total	10	134,70	29,654	9,377	113,49	155,91	84	177
4	1	3	127,33	5,033	2,906	114,83	139,84	122	132
	2	4	146,25	9,743	4,871	130,75	161,75	133	156
	3	3	150,33	8,505	4,910	129,21	171,46	144	160
	Total	10	141,80	12,497	3,952	132,86	150,74	122	160

Tabela 1: Média dos valores de cinza em cada quarto de linha dos coelhos com tecidos moles

Quadrante	n	média	desvio padrão	erro padrão	limite inferior	limite superior	mínimo	máximo	
1	1	3	163,67	27,574	15,920	95,17	232,16	135	190
	2	4	171,50	9,000	4,500	157,18	185,82	161	183
	3	3	168,67	10,970	6,333	141,42	195,92	156	175
	Total	10	168,30	15,312	4,842	157,35	179,25	135	190
2	1	3	141,00	29,866	17,243	66,81	215,19	107	163
	2	4	157,75	18,446	9,223	128,40	187,10	134	179
	3	3	176,33	8,145	4,702	156,10	196,57	167	182
	Total	10	158,30	23,123	7,312	141,76	174,84	107	182
3	1	3	124,33	29,569	17,072	50,88	197,79	96	155
	2	4	147,75	30,401	15,201	99,37	196,13	112	184
	3	3	174,00	8,718	5,033	152,34	195,66	168	184
	Total	10	148,60	30,511	9,648	126,77	170,43	96	184
4	1	3	150,00	12,000	6,928	120,19	179,81	138	162
	2	4	164,25	12,285	6,142	144,70	183,80	154	182
	3	3	165,67	2,082	1,202	160,50	170,84	164	168
	Total	10	160,40	11,626	3,676	152,08	168,72	138	182

Tabela 2: Média dos valores de cinza em cada quarto de linha dos coelhos sem tecidos moles

Os valores obtidos de cinza nas 20 imagens tomográficas foram comparados em cada coelho com tecidos moles e sem tecidos moles, de acordo com Fleiss (1986). Esta análise demonstrou concordância entre as medidas dos coelhos com e sem tecidos moles, apresentando  $p < 0,0001$  e indicando um alto índice replicabilidade no presente estudo.

Coelho	Coefficiente de correlação intraclassa (CCI)	Valor – p	Replicabilidade (Fleiss, J. L. 1986, segundo BioEstat 5.0)
C1	0,9863	$P < 0,0001$	Excelente
C2	0,9862	$P < 0,0001$	Excelente
C3	0,9842	$P < 0,0001$	Excelente
C4	0,9862	$P < 0,0001$	Excelente
C5	0,9889	$P < 0,0001$	Excelente
C6	0,9723	$P < 0,0001$	Excelente
C7	0,9932	$P < 0,0001$	Excelente
C8	0,9942	$P < 0,0001$	Excelente
C9	0,9979	$P < 0,0001$	Excelente
C10	0,9976	$P < 0,0001$	Excelente

Tabela 3: Nível de replicabilidade da análise entre os mesmos animais

Todos os 10 coelhos apresentaram  $p < 0,0001$ , indicando alta replicabilidade da análise entre os mesmos animais.

## 5 DISCUSSÃO

O modelo animal escolhido para esta pesquisa foi o coelho, submetido a DO de mandíbula. Trata-se de um modelo que já foi amplamente utilizado em estudos sobre alongamento e regeneração de tecido ósseo<sup>16,18-19,24-27</sup>. Por ser um animal de pequeno porte, permite praticidade e rapidez na realização de imagens radiológicas, além de menor custo<sup>84,85</sup>.

Com a tomografia computadorizada foi possível avaliar o processo de neoformação óssea ocorrida após a distração osteogênica. Poucos estudos utilizam a densidade óssea para avaliar esta neoformação. Empregou-se a tomografia computadorizada nesta avaliação, pois a mesma fornece informações detalhadas sobre a qualidade e a quantidade de osso nas áreas neoformadas, permitindo mensurar a densidade e suas variações no osso alongado<sup>85</sup>.

Nas últimas décadas, ocorreu grande avanço no diagnóstico por imagem nas ciências biomédicas. A literatura tem destacado cada vez mais a utilização de aparelhos de feixe cônico ou *Cone-beam*<sup>34,42,43,45</sup>. Resultados de pesquisas demonstraram a capacidade de reprodução adequada dos tecidos dentários e ósseos nas imagem obtidas por TCCB, quando comparadas às imagens observadas em tomografias computadorizadas de feixe em leque ou *Fan-beam*<sup>42,43,45</sup>. Diante da qualidade da imagem observada e do crescente interesse dos profissionais de Odontologia neste tipo de TC, a de seleção nesta pesquisa foi a de feixe cônico<sup>38</sup>.

Existem diversas vantagens na aquisição por imagens com o tomógrafo de feixe cônico quando comparado a TCFB, tais como a menor dose de radiação; o menor custo; o menor tempo nas aquisições das imagens. Ademais, estes tomógrafos também fornecem adequada resolução com boa visualização de detalhes<sup>23-28</sup>.

Os tomógrafos do tipo *cone-beam* fornecem uma escala que não é baseada em UHs. As diferentes marcas de tomógrafos (TCCB) não utilizam escala padrão para os valores de cinza, o que dificulta a comparação destes valores entre diferentes máquinas<sup>86</sup>.

A extensão de 5,6 mm foi uma escolha suficiente para estudar a neoformação óssea ocorrida na distração osteogênica, durante o exame de tomografia computadorizada.

Para a preservação de um adequado suprimento sanguíneo durante a distração, tendo em vista o objetivo da neoformação óssea que foi observada nas imagens da tomografia computadorizada, foram respeitados alguns princípios descritos por Ilizarov<sup>80</sup>. Realizou-se a corticotomia com a máxima preservação de perióstio e endóstio; período de latência de três dias, de modo a permitir desenvolvimento do calo ósseo reparador; ritmo de distração de 0,8 mm por dia e frequência de ativação de uma vez ao dia.

O ritmo de alongamento ósseo corresponde à distância que os cotos ósseos são afastados diariamente, enquanto que a frequência refere-se ao número de sessões em que o aparelho distrator é ativado até alcançar a extensão diária programada<sup>87</sup>.

Os parâmetros técnicos latência, ritmo e frequência, possibilitaram a formação de tecido ósseo ao longo da faixa de distração, comprovados pela análise macroscópica das mandíbulas e pelas tomografias computadorizadas, ratificando este protocolo<sup>87</sup>.

A LLLT pode acelerar a cicatrização do osso neoformado, auxiliando na redução do tempo global dos procedimentos que envolvem a distração osteogênica<sup>85,87</sup>.

A utilização da LLLT para biomodular o processo de reparo durante a DO proporciona um pós-operatório mais confortável, além de promover benefícios no que diz respeito à cicatrização<sup>87,88</sup>.

Hübler et al, observou que num grupo de cinco coelhos submetidos a DO, onde três coelhos foram submetidos a LLLT com laser de Arseneto de Gálio-Alumínio durante o estágio de consolidação, na análise da composição química com Cálcio e Fósforo, a mineralização foi maior no grupos submetido a LLLT, mostrando que a LLLT fornece um efeito positivo na biomodulação do osso neoformado<sup>89</sup>.

Com o objetivo de acelerar a regeneração tecidual, optou-se pela utilização do laser com comprimento de onda infravermelho, pois as pesquisas já realizadas demonstram que com tal comprimento de onda são obtidos os melhores resultados no que se refere à biomodulação positiva em tecido ósseo<sup>59,88,90</sup>.

A LLLT, segundo a literatura consultada, promove rapidez e melhora na qualidade da cicatrização óssea, o que resultaria em um osso com dureza e módulo de elasticidade o mais próximo possível do osso normal<sup>59,90</sup>.

Os animais do grupo A foram mortos após o período de distração osteogênica. Já com relação aos do grupo B, optou-se por 10 dias após o término da distração. Este tempo para consolidação é mais curto em relação às demais pesquisas<sup>2,68,92</sup> que utilizaram períodos de fixação de duas a seis semanas. Com isto, foi possível avaliar, nesta pesquisa, através de imagens tomográficas, os estágios iniciais de formação óssea, a partir de um modelo experimental animal não humano coelho. Esta metodologia é sustentada por resultados de pesquisas em que se observou neoformação óssea em cinco coelhos (de um total de seis) com período de consolidação de somente oito dias<sup>84</sup>. Acredita-se que, para a finalidade deste estudo, o tempo de consolidação óssea tenha sido o ideal, pois estima-se que, na quarta semana, ocorra união óssea completa e corticalização parcial do osso neoformado por DO, em modelo experimental não humano coelho<sup>68</sup>.

Com relação aos coelhos do grupo A, os mesmos sofreram fratura e foram alongados pelo processo de distração osteogênica. Os animais foram mortos após 11 dias da instalação do distrator. Na análise tomográfica observaram-se variações de densidade de 72 a 172 nos coelhos com tecidos moles, enquanto que a variação foi de 78 a 196 nos mesmos coelhos dissecados. A densidade óssea observada na imagem em 3D foi menor nos coelhos com tecidos moles, devido à atenuação dos feixes de raio X, por este tipo de tecido, durante a execução da tomografia.

A densidade medida na área da distração apresentou valores menores que na área do osso hígido, conforme os valores de cinza obtidos na pesquisa de Katsumata et al. (2007)<sup>86</sup>. O valor máximo da densidade nesta escala é de 255 e corresponde à atenuação máxima dos feixes de raio X. O valor mínimo nesta escala é de 0 e na imagem tomográfica corresponde à densidade do ar<sup>86</sup>.

No grupo B, as mandíbulas dos coelhos foram fraturadas, o osso foi alongado do terceiro ao 10º. dia e os animais foram mortos após o 21º. dia da instalação do aparelho distrator. Neste grupo, nas imagens dos coelhos com os tecidos moles, o menor valor de cinza encontrado foi 100 e o valor máximo foi 183. Nas imagens dos coelhos dissecados, o valor mínimo foi 106 e o máximo 199. Neste grupo, a presença dos tecidos moles durante a execução da TC também contribuiu para a diminuição dos valores de cinza o que mostra maior atenuação dos feixes de raios X. Foi observado no gráfico produzido pelo *software* ImageJ diminuição dos valores de cinza na área da distração.

No grupo C, os animais foram mortos com o mesmo tempo de vida dos animais do grupo A. Neste grupo, os valores de cinza para as imagens dos coelhos com tecidos moles variava de 128 a 181. Após a remoção dos tecidos moles, os mesmos coelhos passaram a apresentar valores compreendidos entre 149 e 190. Isto demonstra que os tecidos moles promovem a atenuação dos feixes de raios X e, conseqüentemente, diminuem os valores dos níveis de cinza observados nas imagens após a execução da TC.

Os valores médios de cinza foram maiores, na área da distração osteogênica, nos coelhos do grupo B em comparação aos do grupo A. Durante a consolidação, a densidade óssea aumenta progressivamente até a quarta semana, estabilizando-se entre a sexta e a oitava semanas<sup>93</sup>.

Esta pesquisa mostra que os tecidos moles promovem uma diminuição dos valores de cinza nas imagens porque os tecidos moles atenuam os feixes de raios. Katsumata et al. (2007)<sup>86</sup>, correlacionam a atenuação dos feixes de raios X à densidade e à espessura da matéria. Neste estudo foi possível observar que nos três grupos ocorreu diminuição dos valores de cinza nas imagens das mandíbulas dos coelhos com tecidos moles.

O grupo B mostra uma aproximação dos valores de cinza na área da distração osteogênica em relação aos pontos medidos fora da área da distração em comparação ao A devido ao período de maturação proposto para este grupo (mortos 10 dias após o término o período de ativação do distrator), fato também observado no trabalho de Smith et al. (1998)<sup>93</sup>. A maturação óssea contribui com o aumento da atenuação dos feixes de raios X e, neste caso, ocorre aumento nos valores dos níveis de cinza obtidos na imagem.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados do presente estudo e nas condições em que foram obtidos é possível concluir que:

- Podemos avaliar e medir a diferença de densidade óssea, em áreas submetidas à DO, nas imagens obtidas através de tomógrafos do tipo *Cone-beam*;
- A presença dos tecidos moles durante a execução da tomografia contribui na diminuição do valor dos níveis de cinza, observados na imagem do tecido ósseo em 3D. Isto ocorre pela atenuação dos feixes de raios X ao entrar em contato com os tecidos moles, durante a realização do exame. Tal atenuação faz com que o feixe de raio X seja menor ao atingir o tecido ósseo, por isso o menor valor de cinza obtido nos coelhos com tecidos moles;
- A densidade óssea na área da DO, visualizada na imagem da mandibular em 3D, aumenta proporcionalmente ao período de maturação óssea ocorrido após a DO.

## REFERÊNCIAS

1. Swennen GR, Eulzer C, Schutyser F, Hüttmann C, Schliephake H. Assessment of the distraction regenerate using three-dimensional quantitative computer tomography. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34(1):64-73.
2. Aronson J, Good B, Stewart C, Harrison B, Harp J. Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 1990;(250):43-9.
3. Zimmermann CE, Harris G, Thurmüller P, Troulis MJ, Perrott DH, Rahn B, et al. Assessment of bone formation in a porcine mandibular distraction wound by computed tomography. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33(6):569-74.
4. Mah P, Reeves TE, McDavid DW. Deriving Hounsfield units using grey levels in cone beam computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2010;39(6):323-35.
5. Katsumata A, Hirukawa A, Noujeim M, Okumura S, Naitoh M, Fujishita M, et al. Image artifact in dental cone-beam CT. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 652–657.
6. Ning R, Chen B, Yu R, Conover D, Tang X, Ning Y. Flat panel detector-based cone beam volume CT angiography imaging: system evaluation. *IEEE Trans Med Im.* 2000;19:949-63.
7. Norton MR, Gamble C. Bone classification: an objective scale of bone density using the computerized tomography scan. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(1):79-84.
8. Siewerdsen JH, Jaffray DA. A ghost story: spatio-temporal response characteristics of an indirect-detection flat-panel imager. *Med Phys* 1999;26:1624-41.
9. Shapurian T, Damoulis PD, Reiser GM, Griffin TJ, Rand WM. Quantitative evaluation of bone density using the Hounsfield index. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006;21(2):290-7.
10. Samchukov ML, Cherkashin AM, Cope JB. Distraction osteogenesis: history and biologic basis of new bone formation. In: Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, editors. *Tissue engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics.* Chicago: Quintessence, 1999. p.131-46.
11. Mofid MM, Manson PN, Robertson BC, Tufaro AP, Elias JJ, Vander Kolk CA. Craniofacial distraction osteogenesis: a review of 3278 cases. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108(5):1103-14; discussion 1115-7.
12. McCarthy JG, Schreiber J, Karp N, Thorne CH, Grayson BH. Lengthening the human mandible by gradual distraction. *Plastic Reconstr Surg.* 1992;89(1)1-8; discussion 9-10.

13. Douglas LR, Douglass JB, Smith PJ. Intraoral mandibular distraction osteogenesis in a patient with severe micrognathia secondary to TMJ ankylosis using a tooth and bone-anchored device (PIT Device): a case report. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(12):1429-33.
14. Marquez IM, Fish LC, Stella JP. Two-years follow-up of distraction osteogenesis: its effect on mandibular ramus height in hemifacial microsomia. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2000;117(2):130-9.
15. Saito S, Shimizu N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1997;111(5):525-32.
16. Stewart KJ, Weyand B, van't Hof RJ, White SA, Lvoff GO, Maffulli N, et al. A quantitative analysis of the effect of insulin-like growth factor-1 infusion during mandibular distraction osteogenesis in rabbits. *Br J Plast Surg.* 1999;52(5):343-50.
17. Farhadieh RD, Gianoutsos MP, Dickinson R, Walsh WR. Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties of an ovine mandible model. *Plast Reconstr Surg.* 2000;105(3):889-95.
18. Hagiwara T, Bell WH. Effect of electrical stimulation on mandibular distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2000;28(1):12-9.
19. Shimazaki A, Inui K, Azuma Y, Nishimura N, Yamano Y. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone maturation in distraction osteogenesis in rabbits. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(7):1077-82.
20. Brugnera Júnior A, Santos AEC, Bologna ED, Ladalardo TCCGP. Atlas de laserterapia aplicada à clínica odontológica. São Paulo: Santos, 2003.
21. Mester E, Spiry T, Szende B, Tota JG. Effect of laser rays on wound healing. *Am J Surg.* 1971;122(4):532-5.
22. 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.* 2001;20(2):83-7.
23. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction: experimental study in rats. *Intl J Oral Maxillofac Surg.* 1988;17(6):388-91.
24. Stewart KJ, Lvoff GO, White SA, Bonar SF, Walsh WR, Smart RC, et al. Mandibular distraction osteogenesis: a comparison of distraction rates in a rabbit model. *J Craniomaxillofac Surg.* 1998;26(1):43-9.
25. Meyer U, Meyer T, Wiesmann HP, Stratmann U, Kruse-Lösler B, Maas H, et al. The effect of magnitude and frequency of interfragmentary strain on the tissue

- response to distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57(11):1331-9; discussion 1340-1.
26. Al Ruhaimi, KA. Comparison of different distraction rates in the mandible: an experimental investigation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001;30(3)220-7.
  27. Miloro M, Miller JJ, Stonner JA. Low-Level laser effect on mandibular distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(2)168-76.
  28. Komuro Y, Takato T, Harii K, Yonemara Y. The histologic analysis of distraction osteogenesis of the mandible in rabbits. *Plast Reconstr Surg.* 1994 Jul;94(1)152-9.
  29. Cavalcanti M. Diagnóstico por imagem da face. São Paulo: Santos; 2008.
  30. Whaites E. Princípios de radiologia odontológica. Porto Alegre: Artmed; 2003.
  31. Garib DG, Raymundo Júnior. R, Raymundo MV, Raymundo DV, Ferreira SN. Tomografia computadorizada de feixe cônico (Cone beam): entendendo este novo método de diagnóstico por imagem com promissora aplicabilidade na ortodontia. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2007;12(2):139-56.
  32. Viegas VN. Avaliação das variações da transferência do planejamento virtual e sobre protótipos biomédicos para a instalação de implantes dentários pela técnica da cirurgia guiada [tese]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2008.
  33. Parks ET. Computed tomography applications for dentistry. *Dent Clin North Am.* 2000;44(2):371-94.
  34. Scarfe WC, Farman AG, Sukovic P. Clinical applications of cone beam computed tomography in dental practice. *J Can Dent Assoc.* 2006;72(1):75-80.
  35. Stimac GK, Kelsey, CA. Técnicas avançadas de imagem diagnóstica. In: Stimac GK. Introdução ao diagnóstico por imagens. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1992. p.1-25.
  36. Abecasis F. Tomografia computadorizada. In: Pisco, JM, Souza LA. Noções fundamentais de imagiologia. Lisboa: Lidel; 1999. p.67-73.
  37. Bontrager K. Anatomia e posicionamento radiológicos de tomografia computadorizada do crânio. In: Bontrager K. Tratado de técnica radiológica e base anatômica. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.633-58.
  38. Ibrahim D. Análise dimensional dos biomodelos de sinterização seletiva a laser, impressão tridimensional e polyjet na reprodução da anatomia mandibular [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2006.
  39. Gilmore J, Weldon J, Lares M. CMOS technology for digital dental imaging.

- BioPhotonics. [periódico online]. 2010 Apr; [capturado em 2011 Ago 20]. [3 telas] Disponível em: <http://www.photonics.com/Article.aspx?AID=42008>
40. Spiller MS. Cone beams. [monografia na internet]. Herndon (VA): Academy of Dental Learning; 2010 [capturado em 2011 Ago 25]. Disponível em: [http://www.dentalllearning.org/course/AdvancedRadiography/DoctorSpiller/cone\\_beams.htm](http://www.dentalllearning.org/course/AdvancedRadiography/DoctorSpiller/cone_beams.htm)
  41. Maki K, Inou N, Takanishi A, Miller AJ. Computer-assisted simulations in orthodontic diagnosis and the application of a new cone beam X-ray computed tomography. *Orthod Craniofac Res.* 2003;6 Suppl 1:95-101.
  42. Hashimoto K, Kawashima S, Kameoka S, Akiyama Y, Honjaya T, Ejima K, et al. Comparison of image validity between cone-beam computed tomography for dental use and multidetector row helical computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2007;36(8):465-71.
  43. Suomalainen, A. et al. Accuracy of linear measurements using dental cone beam and conventional multislice computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2008; 37(1):10-7.
  44. Hashimoto K, Arai Y, Iwai K, Araki M, Kawashima S, Terakado M. A comparison of a new limited cone beam computed tomography machine for dental use with a multidetector row helical CT machine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(3):371-7.
  45. Loubele M, Guerrero ME, Jacobs R, Suetens P, van Steenberghe D. A comparison of jaw dimensional and quality assessments of bone characteristics with cone-beam CT, spiral tomography, and multi-slice spiral CT. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2007;22(3):446-54.
  46. Pasler, FA. *Radiologia odontológica*. Rio de Janeiro: Medsi; 1999.
  47. Langland OE, Langlais RP. Aparelho de raio X: atenuação e registro das imagens radiográficas. In: Langland OE, Langlais RP. *Princípios do diagnóstico por imagem em odontologia*. São Paulo: Santos; 2002. p. 31-50.
  48. Soares MG, Tanaka JLO, David SMN, David AF, Moraes MEL, Medici Filho E. Tomografia convencional, computadorizada e computadorizada volumétrica com tecnologia cone beam. *Espelho Clin.* 2007;63:7-11.
  49. Bazan O. Usinagem de próteses para cranioplastia a partir de imagens tomográficas [dissertação]. Curitiba(PR): Universidade Federal do Paraná; 2004.
  50. Bontrager KL. Tomografia computadorizada. In: Bontrager KL. *Tratado de técnica radiológica e base anatômica*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan 2003. p.699-724.
  51. Pinheiro ALB, Frame JW. *Laser em odontologia: seu uso atual e perspectivas*

- futuras. RGO Rev Gaúcha Odontol. 1992;40(5):327-332.
52. Brugnera Júnior A, Villa RG, Genovese, WJ. Laser na odontologia. São Paulo: Pancast; 1991.
  53. Catão, MHCV. Os benefícios do laser de baixa intensidade na clínica odontológica na estomatologia. Rev Bras Patol Oral. 2004;3(4):214-8.
  54. Karu T. Photobiology of low-power laser effects. Health Phys. 1989;56(5):691-704.
  55. Kolávora H, Ditrichová D, Wagner J. Penetration of the laser light into the skin in vitro. Lasers Surg Med. 1999;24(3):231-5.
  56. Trelles MA, Mayayo E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. Lasers Surg Med. 1987;7(1):36-45.
  57. Rigau J, Trelles M, Calderhead R, Mayayo E. Changes in fibroblast proliferation and metabolism following "in vitro" helium-neon laser irradiation. Laser Therapy. 1991;3(1)25-34.
  58. 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;22(6)513-8.
  59. 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;24(1)38-44.
  60. 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;25(2)107-11.
  61. 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;26(1)10-3.
  62. Gordjetani M, Dermaut L, Thierens H. Infrared laser and bone metabolism: a pilot study. Int J Oral Maxillofac Surg, 1994;23(1):54-6.
  63. David R, Nissan M, Cohen I, Soudry M. Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. Lasers Surg Med. 1996;19(4)458-64.
  64. Watzek G, Zechner W, Crismani A, Zauza K. A distraction abutment system for 3-dimensional distraction osteogenesis of the alveolar process: technical note. Int J Oral Maxillofac Implants. 2000;15(5):731-7.
  65. Gaggl A, Schultes G, Kärcher H. Distraction implants: a new possibility for

- augmentative treatment of the edentulous atrophic mandible : case report. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1999;37(6):481-5.
66. Oda T, Sawaki Y, Fukuta K, Ueda M. Segmental mandibular reconstruction by distraction osteogenesis under skin flaps. *Int J Oral Maxillof Surg.* 1998;27(1):9-13.
  67. Nosaka Y, Tsunokuma M, Hayashi H, Kakudo K. Placement of implants in distraction osteogenesis: a pilot study in dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(2):185-92.
  68. Zheng LW, Ma L, Cheung LK. Changes in blood perfusion and bone healing induced by nicotine during distraction osteogenesis. *Bone.* 2008;43(2):355-61. Epub 2008 Apr 16.
  69. Elshat A, Inoue N, Marti G, Safe I, Manson P, Vanderkolk C. Role of guided bone regeneration principle in preventing fibrous healing in distraction osteogenesis at high speed: experimental study in rabbit mandibles. *J Craniofac Surg.* 2004;15(6):916-21.
  70. Tehranchi A, Behnia H. Treatment of mandibular asymmetry by distraction osteogenesis and orthodontics: a report of four cases. *Angle Orthod.* 2000;70(2):165-74.
  71. Rhee ST, Buchman SR. Colocalization of c-Src (pp60src) and bone morphogenetic protein 2/4 expression during mandibular distraction osteogenesis: in vivo evidence of their role within an integrin-mediated mechanotransduction pathway. *Ann Plast Surg.* 2005;55(2):207-15.
  72. Rhee ST, El-Bassiony L, Buchman SR. Extracellular signal-related kinase and bone morphogenetic protein expression during distraction osteogenesis of the mandible: in vivo evidence of a mechanotransduction mechanism for differentiation and osteogenesis by mesenchymal precursor cells. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):2243-9.
  73. Davies J, Turner S, Sandy JR. Distraction osteogenesis: a review. *Br Dent J.* 1998;185(9):462-7.
  74. Nacao M, Domínguez-Rodríguez GC, Soares MM. Distração osteogênica: revisão da literatura. *Rev Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 2002;7(3):105-14.
  75. Rachmiel A, Levy M, Laufer D. Lengthening of the mandible by distraction osteogenesis: report of cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53(7):838-46.
  76. Califano L, Cortese A, Zupi A, Tajana G. Mandibular lengthening by external distraction: an experimental study in the rabbit. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994;52(11):1179-83; discussion 1183-4.
  77. Karaharju-Suvanto T, Peltonen J, Kahri A, Karaharju EO. Distraction osteogenesis of the mandible: an experimental study on sheep. *Int J Oral*

- Maxillofac Surg. 1992;21(2):118-21.
78. Bertoli FMP, Gil LM, Izquierdo PNP. Distração osteogênica: uma revisão de literatura. *Perspect Oral Sci.* 2010;2(1):49-54.
  79. Uckan S, Buchbinder D, Orhan M, Mutlu N. Management of early relapse after a sagittal split ramus osteotomy by gradual callus distraction: a case report. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(2):220-3.
  80. Ilizarov GA. The principles of the Ilizarov method. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst.* 1988;48(1):1-11.
  81. Chin M, Toth BA. Distraction osteogenesis in maxillofacial surgery using internal devices: review of five cases. *J Oral Maxillofac Surg* 1996;54(1):45-53; discussion 54.
  82. van Strijen PJ, Perdijk FB, Becking AG, Breuning KH. Distraction osteogenesis for mandibular advancement. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2000;29(2):81-5.
  83. Al-Sebaiei MO, Gagari E, Papageorge M. Mandibular distraction osteogenesis: a rabbit model using a novel experimental design. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(5):664-72.
  84. Zimmerman CE, Thurmüller P, Troulis MJ, Perrott DH, Rahn B, Kaban LB. Histology of the porcine mandibular distraction wound. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34(4):411-9.
  85. 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;15:e616-8.
  86. Katsumata A, Hirukawa A, Okumura S, Naitoh M, Fujishita M, Arijji E, et al. Effects of image artifacts on gray-value density in limited-volume cone-beam computerized tomography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104(6):829-36. Epub 2007 Apr 20.
  87. Freddo AL, et al. A preliminar study of hardness and modulus of elasticity in sheep mandibles submitted to distraction osteogenesis and low-level laser therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2012 Jan 1;17(1):e102-7.
  88. Kazem Shakouri S, Soleimanpour J, Salekzamani Y, Oskuie MR. Effects of low-level laser therapy on the fracture healing process. *Lasers Med Sci.* 2010;25(1):73-7. Epub 2009 Apr 28.
  89. Blaya DS, Guimarães 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.

90. Hübler R, Blando E, Gaião L, Kreisner PE, Post LK, Xavier CB, et al. Effects of low-level laser therapy on bone formed after distraction osteogenesis. *Lasers Med Sci.* 2010;25:213-9
91. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med.* 2007;39(10):788-96.
92. Djasim UM, Mathot BJ, Wolvius EB, van Neck JW, van der Wal KG. Histomorphometric comparison between continuous and discontinuous distraction osteogenesis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2009;37(7):398-404. Epub 2009 May 19.
93. Smith SW, Sachdeva RC, Cope JB. Evaluation of the consolidation period during osteodistraction using computed tomography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999;116(3):254-63.

## ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA PUCRS



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

Ofício 0219/07-CEP

Porto Alegre, 12 de março de 2007.

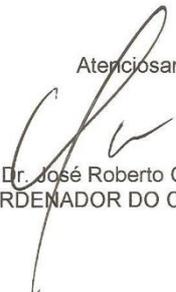
Senhor(a) Pesquisador(a):

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

Sua investigação está autorizada a partir da  
presente data.

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

Atenciosamente,

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

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

**PUCRS**

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

## ANEXO B – LEI AROUCA

### 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;

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 C - RESOLUÇÃO Nº 714, DE 20 DE JUNHO DE 2002 DO CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA

### RESOLUÇÃO Nº 714, DE 20 DE JUNHO DE 2002

*Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências.*

O CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA - CFMV, no uso da atribuição que lhe são conferidas pelo art. 16, alínea "f" da Lei no 5.517, de 23 de outubro de 1968 e, considerando a crescente preocupação da sociedade quanto à eutanásia dos animais e a necessidade de uniformização de metodologias junto à classe médico-veterinária; considerando a diversidade de espécies envolvidas e a multiplicidade de métodos aplicados; considerando que a eutanásia é um procedimento amplamente utilizado e necessário, e que sua aplicação pressupõe a observância de parâmetros éticos específicos,

R E S O L V E:

**Art. 1o** Instituir normas reguladoras de procedimentos relativos à eutanásia em animais.

#### CAPÍTULO I - DAS NORMAS GERAIS

**Art. 2o** A eutanásia deve ser indicada quando o bem-estar do animal estiver ameaçado, sendo um meio de eliminar a dor, o distresse ou o sofrimento dos animais, os quais não podem ser aliviados por meio de analgésicos, de sedativos ou de outros tratamentos, ou, ainda, quando o animal constituir ameaça à saúde pública ou animal, ou for objeto de ensino ou pesquisa.

Parágrafo único. É obrigatória a participação do médico veterinário como responsável pela eutanásia em todas as pesquisas que envolvam animais.

**Art. 3o** O médico veterinário responsável pela eutanásia deverá: I – possuir prontuário com o(s) métodos(s) e técnica(s) empregados,

mantendo estas informações disponíveis para utilização dos CRMVs;

II – atentar para os riscos inerentes ao método escolhido para a eutanásia;

III – pressupor a necessidade de um rodízio profissional, quando houver rotina de procedimentos de eutanásia, com a finalidade de evitar o desgaste emocional decorrente destes procedimentos;

IV – permitir que o proprietário do animal assista à eutanásia, sempre que este assim o desejar.

**Art. 4o** Os animais deverão ser submetidos à eutanásia em ambiente tranquilo e adequado, longe de outros animais e do alojamento dos mesmos.

**Art. 5o** A eutanásia deverá ser realizada segundo legislação municipal, estadual e federal, no que se refere à compra e armazenamento de drogas, saúde ocupacional e a eliminação de cadáveres e carcaças.

**Art. 6o** Quando forem utilizadas substâncias químicas que deixem ou possam deixar resíduos é terminantemente proibida a utilização da carcaça para alimentação.

**Art. 7o** Os procedimentos de eutanásia, se mal empregados, estão sujeitos à legislação federal de crimes ambientais.

## **CAPÍTULO II - DOS PROCEDIMENTOS**

**Art. 8o** A escolha do método dependerá da espécie animal envolvida, dos meios disponíveis para a contenção dos animais, da habilidade técnica do executor, do número de animais e, no caso de experimentação animal, do protocolo de estudo, devendo ainda o método ser:

I – compatível com os fins desejados;

II – seguro para quem o executa, causando o mínimo de estresse no operador, no observador e no animal;

III – realizado com o maior grau de confiabilidade possível, comprovando-se sempre a morte do animal, com a declaração do óbito pelo médico veterinário.

**Art. 9o** Em situações onde se fizer necessária a indicação da eutanásia de um número significativo de animais, como por exemplo, rebanhos, Centros de Controle de Zoonoses, seja por questões de saúde pública ou por questões adversas aqui não contempladas, a prática da eutanásia deverá adaptar-se a esta condição, seguindo sempre os métodos indicados para a espécie em questão.

**Art. 10.** Os procedimentos de eutanásia são de exclusiva responsabilidade do médico veterinário.

**Art. 11.** Nas situações em que o objeto da eutanásia for o ovo embrionado, a morte do embrião deverá ser comprovada antes da manipulação ou eliminação do mesmo.

## **CAPÍTULO III - DOS MÉTODOS RECOMENDADOS**

**Art. 12.** Os agentes e métodos de eutanásia, recomendados e aceitos sob restrição, seguem as recomendações propostas e atualizadas de diversas linhas de trabalho consultadas, entre elas a Associação Americana de Medicina Veterinária (AVMA), estando adequados à realidade nacional, e encontram-se listados, por espécie, no anexo I desta Resolução.

§ 1o Métodos recomendados são aqueles que produzem consistentemente uma morte humanitária, quando usados como métodos únicos de eutanásia.

§ 2o Métodos aceitos sob restrição são aqueles que, por sua natureza técnica ou por possuírem um maior potencial de erro por parte do executor ou por apresentarem problemas de segurança, podem não produzir consistentemente uma morte humanitária, ou ainda por se constituírem em métodos não bem documentados na literatura científica. Tais métodos devem ser empregados somente diante da total impossibilidade do uso dos métodos recomendados constantes do anexo I desta Resolução.

**Art. 13.** Outros métodos de eutanásia não contemplados no ANEXO I poderão ser permitidos, desde que realizados sob autorização do CRMV ou CFMV.

**Art. 14.** São considerados métodos inaceitáveis: I - Embolia Gasosa; II - Traumatismo Craniano; III - Incineração in vivo;

IV - Hidrato de Cloral (para pequenos animais); V – Clorofórmio; VI - Gás Cianídrico e Cianuretos; VII – Descompressão;

VIII – Afogamento;

IX - Exsanguinação (sem sedação prévia);

X - Imersão em Formol;

XI - Bloqueadores Neuromusculares (uso isolado de nicotina, sulfato de magnésio, cloreto de potássio e todos os curarizantes);

XII - Estricnina.

Parágrafo único. A utilização dos métodos deste artigo constitui-se em infração ética.

**Art. 15.** Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação, revogadas as disposições em contrário.

Méd.Vet. Benedito Fortes de Arruda Presidente CRMV/GO no 0272

Méd.Vet. José Euclides Vieira Severo Secretário-Geral CRMV/RS no 1622

Publicada no DOU de 21-06-2002, Seção 1, pág. 201.

ANEXO I <sup>(1)</sup>

<b>Espécie</b>	<b>Recomendados</b>	<b>Aceitos sob restrição</b>
Anfíbios (de acordo com a espécie)	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, halotano, isofluorano, sulfonato de tricaina (tms, ms222), hidroclorato de benzocaína	Pistola de ar comprimido, pistola, atordoamento e decapitação
Animais selvagens de vida livre (de acordo com a espécie)	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, halotano, isofluorano, sevofluorano	CO <sub>2</sub> , pistola de ar comprimido, pistola, armadilhas (testadas cientificamente)
Animais de zoológicos (de acordo com a espécie)	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, halotano, isofluorano, sevofluorano	CO <sub>2</sub> , pistola de ar comprimido, pistola
Aves (de acordo com a espécie)	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, anestésicos inaláveis, pistola de ar comprimido	CO <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , argônio, deslocamento cervical, decapitação, percussão
Cães	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*	Pistola, pistola de ar comprimido, halotano, isofluorano, sevofluorano, barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis seguido de anestésico local na cisterna magna
Eqüídeos	Barbitúricos* associados ou não ao éter glicérol guaiacol e/ou sulfato de magnésio	Pistola, pistola de ar comprimido, barbitúricos seguidos de anestésico local na cisterna magna
Coelhos	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, halotano, isofluorano, sevofluorano	deslocamento cervical (<1kg), decapitação

(1) O anexo I está com a redação dada pelo art. 6º da Resolução nº 876, de 15-02-2008, publicada no DOU de 25-02-2008, Seção I, pág. 100.

Gatos	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*	Halotano, isofluorano, sevofluorano
Mamíferos marinhos	Barbitúricos, hidroclorato de etorfina	Pistola (cetáceos <4m de comprimento)
Peixes (de acordo com a espécie)	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, halotano, isofluorano, sevofluorano, tricafina, hidroclorato de benzocaína	Decapitação, secção da medula espinhal, deslocamento cervical, percussão
Primatas não-humanos	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*	Halotano, isofluorano, sevofluorano
Répteis (de acordo com a espécie)	Barbitúricos ou outros anestésicos injetáveis	Pistola de ar comprimido, pistola, decapitação e secção da medula espinhal, percussão
Roedores e outros pequenos mamíferos	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*, halotano, isofluorano, sevofluorano	Deslocamento cervical (ratos <200g), percussão, decapitação, CO <sub>2</sub>
Ruminantes	Barbitúricos* associados ou não à éter glicérol guaicol e/ou sulfato de magnésio*	Pistola, pistola de ar comprimido, barbitúricos seguidos de anestésico local na cisterna magna
Suínos	Barbitúricos ou outros anestésicos gerais injetáveis*	Pistola, pistola de ar comprimido
Visões, raposas, e outros mamíferos criados para extração de pele e anexos	Barbitúricos ou outros anestésicos injetáveis*	Halotano, isofluorano, sevofluorano

\* Em todos os casos, para todas as espécies, os barbitúricos ou anestésicos gerais devem ser administrados por via intravenosa e apenas na impossibilidade desta, por via intraperitoneal, em dose suficiente para produzir a ausência do reflexo corneal. Após a ausência do reflexo corneal, pode-se complementar com o cloreto de potássio associado ou não ao bloqueador neuromuscular, ambos por via intravenosa.