

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Elisabete das Graças Maibrada

ESTUDO BIOMECÂNICO DO TECIDO ÓSSEO
IRRADIADO COM LASER DE Nd:YAG

Dissertação apresentada para obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
graduação do Departamento de Odontologia da
Universidade Taubaté.

Área de Concentração: Prótese dentária

Orientador: Profa. Dra. Ana Christina Claro
Neves

Taubaté - SP
2008

ELISABETE DAS GRAÇAS MAIBRADA

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade _____

Assinatura _____

Aos meus pais João e Josephina

Pela vida, esforço e carinho na minha formação.

Pai você foi o meu maior professor, guardarei seus ensinamentos sempre em meu coração. Amo vocês.

Ao Rodrigo

Meu grande amor, companheiro e amigo.

Com você divido a minha alegria. Te amo.

À minha família

Margarete, Nelson e Carolina, por estarem sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Ana Christina Claro Neves, pelo carinho e dedicação, pelos seus ensinamentos, sempre passados com simplicidade e amor. Muito obrigada pela sua generosidade nestes anos de convívio. Você é uma grande amiga.

Ao Prof. Dr. Walter Domingos Niccoli Filho, a quem admiro pelo grande conhecimento na área de laser, por sua inestimável colaboração.

Ao Prof. Dr. Evandro Luis Nohara, do Departamento de Engenharia da Universidade de Taubaté, pelo auxílio e dedicação para a realização deste trabalho.

Aos professores da XIV turma do Curso de Mestrado em Odontologia da Universidade de Taubaté, por compartilharem seus conhecimentos com muito carinho.

Aos servidores do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté, por toda colaboração.

A CAPES pela concessão da bolsa PROSUP.

A Universidade de Taubaté pela oportunidade e ajuda financeira durante o curso.

Aos colegas do ambulatório de Prótese Buco Maxilo Facial da UNITAU e UNIVAP, pelo carinho e amizade.

A todos os meus amigos que sempre compreenderam a falta de tempo, e esperaram pela Betinha. Obrigada.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram com a elaboração deste trabalho.

“Uma boa tese não é a que, com ares de fácil, se entrega sem nenhum obstáculo ao leitor, nem tampouco é a que, misteriosa em demasia, se fecha à produção de sua compreensão. Boa tese é a que, desafiando o leitor, provoca nele a alegria de lê-la”.

Paulo Freire

Maibrada EG. *Estudo biomecânico do tecido ósseo irradiado com laser de Nd:YAG*. [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2008. 62p.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a resistência à flexão e o módulo de elasticidade (rigidez) de fêmures de ratos irradiados com laser de Neodymium: Ytrio-Aluminium-Garnet (Nd:YAG). **Método:** Quinze (*Rattus norvegicus albinos*, Wistar), machos, adultos, com noventa dias de idade e peso aproximado de trezentos gramas, foram mortos, sendo posteriormente seus fêmures dissecados e divididos em dois grupos, controle (n=15) e experimental (n=15). Os espécimes do grupo experimental tiveram a região central da diáfise submetida à irradiação com laser de Nd:YAG por contato, no modo contínuo, utilizando potência de 5W, pulso de 50Hz, energia de 100mJ, e densidade de energia de 141mJ/cm². Os espécimes do grupo controle não receberam nenhum tipo de tratamento. Em seguida, todos os fêmures foram submetidos a ensaio mecânico de flexão de três pontos, sendo os dados obtidos estatisticamente analisados com auxílio do teste T-Student para amostras independentes. **Resultados:** O grupo controle evidenciou maior resistência a flexão (14,58MPa) que o grupo experimental (6,35MPa), com diferença estatística significativa (p=0,000). Com relação ao módulo de elasticidade, embora o grupo experimental tenha revelado valor superior (2,62GPa) ao do grupo controle (2,37GPa), não foi verificada diferença estatística significativa (p=0,444). **Conclusões:** A radiação laser de Nd:YAG reduziu a resistência à flexão dos espécimes ósseos, entretanto, não provocou alteração estatisticamente significativa no módulo de elasticidade dos mesmos.

Palavras-chave: Laser; Tecido ósseo; Ensaio de flexão; Nd:YAG; Resistência óssea.

Maibrada EG. Biomechanic study of bone irradiated with Nd:YAG laser. [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia, 2008. 62p.

ABSTRACT

Aim: was to evaluate the resistance of bending and the modulus of elasticity (rigidity) of femurs of rats irradiated with Neodymium: Yttrium-Aluminium-Garnet (Nd:YAG) laser radiation. **Methods:** Fifteen (*Rattus norvegicus albinos, Wistar*), male, with ninety days of age and approximate three hundred grams of weight, were sacrificed and the femurs was removed, dissected and divided into two groups: control (n = 15) and experimental (n = 15). Specimens from the experimental group had the region of central diaphysis subjected to irradiation with Nd:YAG laser by contact, in a continuous mode, 5W of power, pulse of 50Hz, energy of 100mJ and 141mJ/cm² of density of energy. Specimens from the control group did not receive any kind of treatment. All specimens were subjected to mechanical bending tests. Data from the bending test were statistically analyzed with T-Student test for independent samples. **Results:** The control group showed high resistance to bending (14.58 MPa) in comparison with the experimental group (6.35 MPa), with statistically significant differences (p = 0000). However, the module of elasticity between the experimental group (2.62 GPa) and the control group (2.37 GPa) showed not statistically significant differences (p = 0444). **Conclusions:** The Nd:YAG laser radiation reduced the resistance to bending specimens of bone, however, did not induce change in elasticity modulus.

Keywords: Laser; Bone tissue; Bending test; Nd: YAG; Resistance bone.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Tecido Ósseo	12
2.2 Biomecânica óssea	14
2.3 Radiação laser	22
2.4 Laser de Neodímio: YAG	25
3 PROPOSIÇÃO	31
4 METODOLOGIA	32
4.1 Obtenção e armazenamento dos espécimes	32
4.2 Aplicação da radiação laser	33
4.3 Ensaio mecânico de flexão de três pontos	35
4.4 Embutimento dos espécimes e análise em microscópio	37
4.5 Análise estatística	42
5 RESULTADOS	43
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54
APÊNDICES	58
ANEXO	62

1 INTRODUÇÃO

A osteotomia é um procedimento cirúrgico de corte realizado no tecido ósseo, empregado nas diversas especialidades médicas e odontológicas. Pode ser realizado manualmente com cinzel e martelo, com brocas ou ainda com lasers de alta potência (Marzola et al., 2000; Fedeli Júnior et al., 2001). Por ser uma manobra que causa traumatismo no tecido ósseo, é imprescindível a escolha correta do instrumento a ser utilizado.

A osteotomia faz parte do tratamento de lesões intra-ósseas, sejam cistos, tumores ou ainda, ápices radiculares infectados, da correção da base óssea para adaptação de prótese total, nas cirurgias de implantes e cirurgias ortognáticas. A ressecção óssea é uma etapa cirúrgica difícil, influenciando diretamente na reparação óssea tecidual (Marzola et al., 2000).

Diversas pesquisas realizadas com o objetivo de avaliar a eficácia da radiação laser na realização de cortes ósseos, com ênfase no emprego do laser de CO₂ (dióxido de carbono), evidenciaram atraso do processo de reparação (Small et al., 1979; Gertzbein et al., 1981; Clauser, 1986).

Outros estudos, realizados com emprego de laser Nd:YAG (Neodímio:Ítrio-Alumínio-Granada), relataram sua efetividade no corte ósseo, possibilitando ao cirurgião atingir áreas de difícil acesso, promovendo corte preciso e reduzido dano térmico, além de, quando utilizado no modo sem contato, minimizar o dano mecânico sobre o tecido ósseo (Nuss et al., 1988; RizoIU & Levy, 1994).

Recentemente, Ninomiya et al. (2007), relataram aumento do volume ósseo, da espessura trabecular, da deposição mineral e da densidade em fêmures de ratos irradiados com laser Nd:YAG de nano segundos e pulsado. Este achado,

possivelmente se deva ao aumento da atividade osteoblástica e redução do número de osteoclastos. Os resultados do estudo sugerem que o tratamento do tecido ósseo com laser de Nd:YAG, pode ser útil, entre outros, na área de implantodontia, onde a estabilidade primária do implante está diretamente relacionada com a densidade do tecido ósseo.

A radiação LASER (Light Amplification by Stimulation Emission of Radiation) é produzida por um sistema que se baseia na amplificação da luz, gerando um feixe de radiação eletromagnética intensa, de uma só frequência ou comprimento de onda, que possui múltiplas aplicações no campo da odontologia. Sua chave de operação está no processo de emissão estimulada, previsto por Albert Einstein em 1917 (Brugnera Junior & Pinheiro, 1998)

Caracterizam a radiação laser:

- raios coerentes: a radiação laser caminha com paralelismo temporal e espacial;
- raios colimados: todos os raios caminham na mesma direção, permitindo que a energia concentrada seja entregue ao alvo;
- luz monocromática: a luz laser tem uma única cor, que corresponde a um determinado comprimento de onda do espectro eletromagnético. Dessa forma, existem diferentes tipos de radiação laser, dependendo do comprimento de onda.

O laser de Nd:YAG produz alta densidade de potência e seu comprimento de onda está localizado na região infravermelha (não visível) do espectro eletromagnético, tornando necessário que um laser de Hélio-Neônio seja superposto a ele para que o feixe de radiação seja visualizado (*target*). Pode ser utilizado com ou sem contato, sendo entregue ao tecido por meio de fibras de sílica ou quartzo. Adicionalmente, o laser de Nd:YAG pode atuar no modo pulsado ou contínuo (Brugnera Junior & Pinheiro, 1998).

Baseados nas propriedades extrínsecas e intrínsecas da radiação laser de Nd:YAG, de sua indicação em osteotomias, julgamos pertinente estudar as as características biomecânicas deste tecido ósseo irradiado com laser de Nd:YAG, utilizando o ensaio mecânico de flexão de três pontos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Com o objetivo de facilitar o entendimento deste trabalho, a revisão de literatura será dividida em quatro segmentos: tecido ósseo, biomecânica óssea, radiação laser e laser de Nd:YAG.

2.1 Tecido ósseo

Constituinte principal do esqueleto, o osso oferece suporte para os tecidos moles e protege órgãos vitais. Proporciona apoio aos músculos esqueléticos, transformando suas contrações em movimentos úteis e constitui um sistema de alavancas que amplia as forças geradas na contração muscular.

Segundo Junqueira & Carneiro (2004) o tecido ósseo, um dos tecidos mais resistentes e rígidos do corpo humano, é composto por uma parte inorgânica ou mineral e uma parte orgânica. A inorgânica, formada principalmente por sais de cálcio (fosfato e carbonato de cálcio), confere dureza e conseqüentemente, resistência às forças de compressão. A parte orgânica, representada em sua maior parte por fibras de colágeno tipo I, confere elasticidade ao osso, capacitando-o para suportar forças de tração. Desta forma, se a porção mineral for removida do osso, mesma maneira se mantém intacta, porém ele se torna tão flexível quanto os tendões. Da mesma forma, a destruição da parte orgânica também mantém intacta a forma óssea, mas o tecido se torna tão frágil que dificilmente pode ser manipulado sem se romper. De acordo com Kaplan et al. (1994), no tecido ósseo, destacam-se os seguintes tipos celulares:

Osteócitos: Localizam-se em cavidades ou lacunas dentro da matriz óssea. De cada lacuna projetam-se canalículos que se dirigem para outras lacunas, tornando assim a difusão de nutrientes possível graças à comunicação entre estas células. Tem papel fundamental na manutenção da integridade da matriz óssea.

Osteoblastos: Possuem sistema de comunicação intercelular semelhante à existente entre os osteócitos e, além de sintetizarem a parte orgânica da matriz óssea, concentram fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz.

Osteoclastos: células gigantes e multinucleadas, extensamente ramificadas, que participam dos processos de absorção e remodelação do tecido ósseo.

Eriksen et al. (1994) relataram que a classificação do tecido ósseo, baseada no critério histológico, admite apenas duas variantes: tecido ósseo compacto ou denso e tecido ósseo esponjoso, lacunar ou reticulado. Essas variedades apresentam o mesmo tipo de célula e de substância intercelular, diferindo entre si apenas na disposição de seus elementos e na quantidade de espaços medulares. O tecido ósseo esponjoso apresenta espaços medulares mais amplos, sendo formado por trabéculas que dão aspecto poroso ao tecido. O osso compacto praticamente não apresenta espaços medulares, no entanto, além dos canalículos apresenta um conjunto de canais, denominados canais de Volkmann e canais de Havers, que são percorridos por nervos e vasos sanguíneos. Por ser uma estrutura innervada e irrigada, os ossos apresentam grande sensibilidade e capacidade de regeneração.

O osso longo tem um corpo ou diáfise, e duas extremidades, as epífises que geralmente são articulares. As epífises dos ossos longos são comumente mais largas que o corpo, nos ossos em crescimento as epífises são inteiramente cartilaginosas ou, caso já tenha começado a ossificação epifisial, apresentam-se

separadas do corpo por discos epifisiais cartilagíneos. A parte do corpo adjacente ao disco epifisial, que contém a zona de crescimento e osso recém-formado, é chamada metáfise. No adulto, o tecido ósseo da metáfise é contínuo ao da epífise (Junqueira & Carneiro, 2004).

2.2 Biomecânica óssea

De acordo com Evans (1973), as propriedades mecânicas do tecido ósseo podem ser avaliadas utilizando membros inteiros ou amostras com tamanho e forma variados. A utilização de um osso inteiro permite seu estudo como unidade estrutural, já o uso de amostras ósseas possibilita sua avaliação como material. Para o estudo das condições físicas é mais indicado que se utilize o osso inteiro. Entretanto se o objetivo é a avaliação mecânica, é melhor que sejam utilizadas amostras do tecido ósseo, pois o formato, a área da secção transversal e as curvaturas irregulares do osso inteiro dificultam os ensaios mecânicos.

Turner & Burr (1993) relataram os testes biomecânicos realizados diretamente no tecido ósseo fornecem mais informações sobre as características mecânicas do osso que os resultados obtidos em exames de densitometria óssea. Segundo os autores, tensão é definida como força por área, podendo estar em modo compressão, cisalhamento, ou tração dependendo da direção de aplicação da carga. Estes modos de tensão podem ocorrer de forma combinada na estrutura. A relação entre a tensão aplicada e a deformação da estrutura produz uma curva que pode ser dividida em duas regiões:

Região elástica - representa a região em que a deformação aumenta aproximadamente de forma linear com a aplicação da tensão e, no momento que a

tensão é removida, o osso retorna às dimensões originais. O tecido ósseo não é capaz de retorno elástico perfeito em decorrência dos efeitos viscosos que ocorrem durante a deformação, fazendo com que parte da energia elástica seja perdida.

Região plástica - vai do início da deformação permanente até a tensão da fratura óssea. A área localizada abaixo da curva tensão-deformação (elástica e plástica) fornece a tenacidade do material, medida pela quantidade de energia necessária para que ocorra a fratura. O preparo das amostras deve ser realizado de acordo com a parte do osso a ser testada (cortical ou trabecular), idade, localização anatômica e variações de teste. Outro aspecto de extrema importância é a preservação das amostras, pois a autólise dos tecidos se inicia logo após a remoção dos ossos, causando efeitos adversos nas propriedades mecânicas dos mesmos. O melhor método descrito para conservação óssea dos fêmures até o momento dos testes mecânicos é o congelamento em temperatura de -20°C , com gaze embebida em solução salina envolvendo cada espécime. A hidratação com solução salina é importante para evitar a desidratação e conseqüente alteração dos resultados. A temperatura ideal para o teste é de 37°C , porém a temperatura ambiente em torno de 23°C não provoca alterações das propriedades mecânicas. Sendo o osso um material visco elástico, a carga utilizada para os testes deve ser controlada e constante, pois a dissipação de energia e a fricção dos componentes minerais e seus fluídos internos absorvem a carga (absorção de choque) durante o teste. Para os testes em cortical de ossos longos de ratos o mais indicado é o teste de flexão de três pontos.

Keller (1994) determinou a dependência das propriedades mecânicas compressivas do osso humano com a composição e os componentes teciduais dos mesmos. Testes mecânicos destrutivos foram realizados ao longo do eixo

superior/inferior de 496 espécimes cúbicos de osso trabecular e osso cortical de cinco indivíduos do gênero masculino, com idade entre 46 e 84 anos. Os resultados indicaram que a propriedades mecânicas do tecido ósseo tem estreita relação com a densidade e com a variedade do conteúdo mineral do osso estudado e que, tanto a densidade como o conteúdo mineral variam de acordo com a idade, nível de atividade física, nutrição e sítio biológico.

Pessan et al. (1996) avaliaram, por meio de ensaio de flexão de três pontos, o comportamento mecânico de fêmures de ratas (*Rattus Norvegicus albinus*, *Wistar*) com 25 e 79 dias de idade. Os animais foram distribuídos em quatro grupos, de acordo com a idade e a superfície de aplicação da força: grupo 1: vinte animais com 25 dias de idade e força aplicada na face convexa da diáfise; grupo 2: vinte animais com 25 dias de idade e força aplicada na face côncava da diáfise; grupo 3: vinte animais com 79 dias de idade e força aplicada na face convexa da diáfise; grupo 4: vinte animais com 79 dias de idade e força aplicada na face côncava da diáfise. Após sacrifício dos animais realizado pela inalação de éter sulfúrico, os fêmures foram removidos, envolvidos em gaze umedecida em soro fisiológico e armazenados em *freezer*, sob temperatura de -20°C . Para o ensaio mecânico os espécimes foram retirados do *freezer* com 24 horas de antecedência e transferidos para refrigerador comum. No dia do teste foram mantidos à temperatura ambiente até que entrassem em equilíbrio térmico. O teste mecânico foi realizado com velocidade de 0,15mm/minuto e registrado por célula de carga com capacidade de 200kgf. A partir dos ensaios realizados, foram construídas curvas carga x deformação e avaliadas as grandezas: tensão máxima, limite de proporcionalidade, módulo de elasticidade e energia absorvida na fase elástica. Os resultados evidenciaram que os animais de 79 dias tinham ossos mais fortes quando testados em flexão, mas quando

comparada, para a mesma idade, a resistência aplicada na face côncava e convexa da diáfise, os resultados, para todos os parâmetros estudados, não apresentaram diferença significativa.

Müller (1998) relatou que apesar da qualidade dos equipamentos utilizados para o ensaio de flexão de três pontos em tecido ósseo, os mesmos foram desenvolvidos para avaliação de materiais isotrópicos. Como o osso é anisotrópico, quando ensaiado com o teste de flexão de três pontos, os resultados obtidos nunca podem ser considerados como absolutos, mas sim, os possíveis diante da limitação do método. O autor relatou ainda que é de suma importância que o local de colocação dos apoios seja padronizado para todos os espécimes e que a carga seja aplicada em pontos eqüidistantes das extremidades.

Segundo Hastings & Ducheyne (2000), os ensaios mecânicos feitos em ossos corticais mostram que o osso se classifica como um material frágil de acordo com a curva tensão-deformação gerada nos ensaios, com deformação de 0,5% a 3% após o limite de escoamento. Além disso, o osso é um material heterogêneo, descontínuo e anisotrópico, e por isso não possui um valor único, e sim, aproximado, pois varia com a direção e modo de carregamento, microestruturas e dimensões dos espécimes.

Armstrong et al. (2000) descreveram os efeitos da suplementação com boro na dieta, as características ósseas e a concentração mineral no plasma de 96 porcos jovens, divididos em dois grupos (n=48), com 24 machos e 24 fêmeas em cada um deles. As propriedades mecânicas do tecido ósseo foram avaliadas com auxílio do teste de flexão em três pontos (American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE, 1992), realizado com velocidade constante de 10mm/min. Os

resultados mostraram que a suplementação da dieta com boro não influenciava os parâmetros avaliados neste estudo.

Segundo Cordey (2000), flexão é o efeito de uma força aplicada perpendicularmente ao longo eixo de uma viga e resulta de uma combinação de forças de tração e compressão. No ensaio de flexão de três pontos, caracterizado pelo aumento gradual de uma carga aplicada com velocidade constante, ocorre compressão máxima na superfície mais externa do lado côncavo do espécime e tração máxima na superfície convexa.

Hart et al. (2001) estudaram o efeito da prática da natação em 17 ratas (Sprague-Dawley), fêmeas ovariectomizadas, com idade de 12-14 semanas, divididas em dois grupos: controle (n=9) e natação (n=8). Após o sacrifício dos animais na 14ª semana, os fêmures foram dissecados, limpos, envolvidos em gaze umedecida em solução salina e congelados a -20°C até a realização do ensaio mecânico de três pontos, análise histomorfométrica e avaliação com absorção de energia de raios-X. O ensaio mecânico foi realizado em máquina de teste (Instron), com velocidade de 10mm/min e célula de carga de 23kgf (225N), sendo a força aplicada na porção central (L/2) dos dois apoios (L). A distância utilizada entre os apoios foi superior a 20mm, objetivando assegurar de 85 a 90% de flexão, já que o comprimento do osso não era dez vezes maior que seu diâmetro (100% de flexão) (American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE, 1992). Para calcular o modo de elasticidade (E), foi verificado o momento de inércia (I) a partir da medida do osso em corte transversal. A rigidez flexural foi calculada para cada fêmur pela fórmula ($E \times I$). Os resultados mostraram taxa de formação óssea cortical superior para o grupo natação, permitindo aos autores concluir que o exercício físico auxilia na manutenção da massa e resistência óssea.

Penha (2004) investigou o módulo de elasticidade da tíbia bovina, após congelamento e descongelamento sucessivo das amostras. Vinte pares de amostras de osso cortical medindo 2mm x 4mm x 40mm foram divididos em dois grupos experimentais: grupo A: amostras conservadas a -20°C (submetidas a congelamento e descongelamento uma vez ao dia durante cinquenta dias) e grupo B: amostras mantidas a 4°C. Os resultados obtidos não apresentaram diferença estatística significativa nas propriedades mecânicas estudadas por meio do ensaio de flexão de três pontos e do ensaio de ruptura. Segundo o autor, o congelamento e a estocagem por longos períodos, não altera as propriedades mecânicas do osso cortical.

Müller et al. (2004) relatou que embora o ensaio de flexão de três pontos não seja o melhor método para avaliar a resistência do tecido ósseo, como é realizado com baixa ou média velocidade, é mais seguro que os testes que utilizam alta velocidade, como o ensaio de impacto, pois permite resultados mais homogêneos.

Lirani (2004) avaliou, por análise histomorfométrica e ensaio mecânico de flexão de três pontos, as conseqüências de agentes físicos no reparo de tíbias de ratos osteotomizadas transversalmente no terço superior. Os espécimes foram divididos em três grupos (n=16), o grupo controle não recebeu tratamento, o grupo experimental 1 foi tratado com ultra-som pulsado, com sessões de 20min, cinco vezes por semana, durante 12 dias, e o grupo 2 recebeu no mesmo período, tratamento com laser de baixa intensidade de Arseneto de Gálio e Alumínio com sessões de 2,5min. Após este período, os animais foram mortos e as tíbias dissecadas para a realização dos testes. A resistência à flexão do grupo tratado com laser foi superior aos outros dois grupos, com diferença estatística significativa. Na análise histomorfométrica, o grupo laser apresentou maior volume e número de

osteoblastos e o grupo ultra-som maior superfície de reabsorção e número de osteoclastos. Segundo o autor, o ultra-som acelera o reparo ósseo por viabilizar mais rapidamente a fase de reabsorção, enquanto que a terapia laser acelera o processo de cicatrização pelo aumento de osteoclastos na superfície do tecido ósseo presente na área de reparação da fratura.

Tiveron (2005) avaliou, com auxílio do ensaio de flexão de três pontos, as alterações biomecânicas provocadas pela menopausa induzida por ooforectomia bilateral, em tibia de 64 ratas adultas. O teste de flexão foi realizado com carga aplicada à velocidade de 30mm/min e foram avaliadas a carga máxima no momento da ruptura do osso e o coeficiente de rigidez dos espécimes. Os resultados permitiram concluir que a menopausa induzida reduz a resistência e a rigidez óssea.

Mello & Gomide (2005) investigaram os efeitos da suplementação com flúor sobre as características dos ossos de ratas ovariectomizadas (castradas). Foram utilizadas 78 ratas *Wistar*, com quatro meses de idade, divididas em oito grupos: grupo basal, que gerou os parâmetros iniciais do experimento; grupo 1, formado por ratas não ovariectomizadas; e os grupos de 2 a 7, constituídos por ratas ovariectomizadas submetidas a dosagens de fluoreto de sódio (NaF) de 0, 20, 40, 60, 80 e 100mg/L em solução, respectivamente, durante dois meses. Os resultados mostraram que a ovariectomia promoveu osteopenia, observada pelos parâmetros morfométricos, físicos e químicos, provocando menor resistência biomecânica dos fêmures submetidos ao ensaio de flexão ($p < 0,05$), enquanto os ossos das ratas que ingeriram 40mg de flúor demonstraram melhores características físicas, bioquímicas e biomecânicas do que os das ratas ovariectomizadas sem tratamento e os das não ovariectomizadas.

Loffredo (2006) determinou o módulo de ruptura e o módulo de elasticidade de uma barra retangular de osso cortical bovino, utilizando o ensaio mecânico de flexão de três pontos. Os resultados mostraram que apesar do osso cortical ser um material mecanicamente resistente, com módulo de ruptura médio de 227,5MPa, ele possui nível razoavelmente baixo de tenacidade à fratura. Segundo o autor, para o estudo, foi feita a opção pelo ensaio mecânico de flexão de três pontos, pois este tipo de ensaio é aplicado em sua maioria em materiais frágeis ou de elevada dureza devido à baixa ductibilidade, como o ferro fundido, cerâmicas estruturais, aços rápidos e o tecido ósseo.

Vicentini et al. (2007) estudaram a influência da suspensão, do treinamento físico e da movimentação livre sobre as propriedades mecânicas do osso. Foram utilizados 75 ratos machos, distribuídos em cinco grupos experimentais. Dois grupos serviram como controle (grupo 1 e 2) e nos demais três grupos os animais foram mantidos suspensos por 21 dias (grupo 3), submetidos a atividade física em esteira por 21 dias (grupo 4) e à movimentação livre por 21 dias (grupo 5). A força máxima suportada pelo osso, avaliada por meio do ensaio de flexão de três pontos, foi menor para o grupo 3 ($83,89 \pm 14,36\text{N}$) quando comparada com os grupos 4 e 5 ($103,29 \pm 14,32\text{N}$ e $113,69 \pm 17,01\text{N}$, respectivamente). A rigidez óssea também foi reduzida com a suspensão ($127,2 \pm 29,88 \times 10^{-3}\text{N/m}$) quando comparada com a atividade física e a movimentação livre ($190,51 \pm 47,38 \times 10^{-3}\text{N/m}$ e $232,37 \pm 48,01 \times 10^{-3}\text{N/m}$, respectivamente). Os parâmetros biomecânicos não expressaram diferença estatisticamente significativa quando comparados os grupos atividade física e movimentação livre.

2.3 Radiação laser

A luz laser é uma radiação eletromagnética que difere da luz comum por ser coerente, monocromática e colimada, ou seja, possui apenas um comprimento de onda, propagando-se, de forma paralela e em uma única direção.

Foi Albert Einstein, em 1917, quem descreveu o processo de emissão estimulada de fótons, que constitui o fundamento da radiação laser. A importância deste conceito somente foi verificada cerca de quarenta anos depois, com o desenvolvimento de um equipamento que veio a chamar-se “LASER”.

Em 1960, foi desenvolvido por Maiman nos Estados Unidos, o primeiro laser pulsado de Rubi. Posteriormente, foram construídos em 1961 o laser de Nd:YAG, em 1964 o laser de Argônio e em 1965 o laser de CO₂. Mais tarde foram descritos os lasers de Ho:YAG (Hólmio:Ítrio-Alumínio-Granada) e Er:YAG (Érbio:Ítrio-Alumínio-Granada).

Segundo Cecchini (1995), a radiação laser é produzida quando ao receber uma fonte de energia, os elétrons dos átomos ou moléculas do meio ativo mudam de órbita ficando em um nível superior de energia, ou seja, transformando-se em um elétron excitado. Por ser um nível menos estável, rapidamente o elétron tende a voltar para o nível de energia anterior, emitindo um fóton de energia (um quantum). Este processo é denominado emissão espontânea de energia. Quando um elétron, já no estado excitado, recebe um fóton de energia, ao retornar para seu estado mais estável, libera dois quanta de energia, agindo, desta forma, como um amplificador de radiação. Este processo é a origem da emissão dos lasers e é denominado como emissão estimulada de energia.

Segundo Spencer et al. (1999), o dano térmico e os resíduos da carbonização têm limitado o uso de lasers convencionais nas cirurgias de tecido ósseo. O dano térmico pode ser minimizado pela seleção de um comprimento de onda que seja fortemente absorvido pelo tecido alvo e por meio da redução da duração do pulso. Os autores compararam as alterações morfológicas e químicas induzidas na superfície do osso irradiado com os seguintes comprimentos de onda: 3,0; 6,1 e 6,45 μm . Sob anestesia geral, foram feitas, com radiação laser, incisões na tíbia de 14 coelhos. Foram utilizados como parâmetros da radiação: energia de $22,5 \pm 2,5\text{mJ}$, frequência de 30Hz, duração do pulso de quatro microssegundos. Após a irradiação os animais foram mortos, as tíbias dissecadas e preparados os espécimes para microscopia de luz e análise espectroscópica. Os espécimes irradiados com os diferentes comprimentos de onda evidenciaram características semelhantes, ou seja, região de dano térmico menor que 10mm. Os resultados da espectroscopia mostraram camada de carbonização inferior a 6 μm de espessura.

Payne et al. (2001) relataram que a radiação laser com comprimento de onda de 6.1 μm a 6.45 μm , pulso de 4.0 microssegundos e entregue por um sistema controlado por computador realiza ablação óssea limpa, sem resíduo de carbonização e com mínimo dano térmico. Os autores compararam a reparação do tecido osteotomizado com laser (comprimento de onda de 6.1 μm) com a do tecido osteotomizado com brocas cirúrgicas. Foram utilizados 16 coelhos e suas tíbias direitas e esquerdas osteotomizadas, aleatoriamente, com radiação laser ou broca, na espessura total ou parcial, na região distal ou proximal. Os animais foram divididos em quatro grupos, sendo os do grupo 1 mortos após duas semanas do tratamento, os do grupo 2 após quatro, os do grupo 3 após seis e os do grupo 4 após oito semanas. A avaliação histológica dos sítios osteotomizados com laser

revelou reparação tecidual semelhante a do osso osteotomizado com motor cirúrgico.

Niccoli Filho et al. (2001) analisaram os efeitos da radiação laser de dióxido de carbono em tecido ósseo por meio de estudo macroscópico em tibia de ratos. Foram utilizados 12 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), divididos em três grupos. Os espécimes do grupo I foram irradiados com 1W(watt) de potência; os do grupo II com 3W e os do grupo III com 5W de potência. Os animais foram mortos após três, sete e 14 dias da irradiação. Os ossos irradiados foram dissecados e a reparação óssea analisada em lupa estereoscópica (aumento de 14, 25 e 40 vezes). Os resultados demonstraram pequeno retardo na reparação quando utilizada a potência de 1W. Quando utilizada a potência de 3W, foram evidenciadas zonas avermelhadas na área central do osso vaporizado, com comprometimento acentuado na cronologia de reparo. Os espécimes irradiados com 5W apresentaram significativa área de carbonização em toda extensão vaporizada com comprometimento acentuado da cronologia de reparo e morfologia bastante comprometida. De acordo com os autores, as potências de 1 e 3W não causaram dano clinicamente significativo ao tecido ósseo, mas a cronologia de reparo foi comprometida com as três potências estudadas, sendo mais acentuada quando usado 3 e 5W.

Os lasers podem ser de alta ou baixa potência. Entre os de alta potência podem ser citados: Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ e Argônio. Entre os de baixa potência estão o de Arseneto de Gálio e Alumínio e os de Hélio-Neônio. Com relação aos de alta potência, quando a energia laser é absorvida pelo tecido ela se transforma em energia térmica (calor) e, dependendo da temperatura alcançada, podem ocorrer: desnaturação protéica e coagulação (60 C - 100 C); vaporização, desintegração

tecidual, ablação e corte (acima de 100°C); carbonização e queima (acima de 300°C) (Eduardo et al., 2002).

A interação da radiação laser com os tecidos biológicos depende das propriedades ópticas de cada tecido e do comprimento de onda da luz laser, possibilitando que um mesmo tipo de laser atue de forma distinta em diferentes tipos de tecido (Gutknecht & Eduardo, 2004).

Souza (2006) relatou que o aparelho laser é composto pelo meio ativo (sólido, líquido ou gasoso), caixa de ressonância que contém o meio ativo, fonte de energia de ativação (energia elétrica), sistema óptico (espelhos colimadores) e fonte de transmissão da energia gerada. O meio ativo é que dá o nome ao laser, por exemplo, laser de neodímio (Nd) – meio ativo Neodímio.

Parker (2007) relatou que assim como os tecidos duros dentais, o tecido ósseo deve ser osteotomizado sem que ocorra enfraquecimento estrutural. O autor considerou a hipótese de que as gotículas de água presentes no osso absorvem a energia cinética reduzindo o tempo necessário para a realização da osteotomia com os lasers de alta potência. Segundo o autor, o colágeno (maior componente orgânico da matriz óssea) começa a se desnaturar quando a temperatura excede 74°C.

2.4 Laser de Neodímio:YAG

O laser de Nd:YAG, um laser de estado sólido, tem como meio ativo um cristal de ítrio, alumínio, granada, dopado com neodímio. Sua principal linha de emissão se dá em 1,064µm (infravermelho), não sendo visível a olho nu. Para sua localização e aplicação é necessária a utilização de uma luz guia, que usualmente é fornecida por um laser de Hélio-Neônio (Gutknecht & Eduardo, 2004).

A radiação laser Nd:YAG surgiu para aplicações médicas em 1964 e por ser entregue através de fibra óptica, consegue alcançar sítios de difícil acesso nos organismos vivos. Em odontologia, pode ser utilizado para ablação de esmalte, dentina e tecido ósseo, entre outros. Por interagir com tecidos biológicos por meio de efeito foto térmico, é capaz de cortar, coagular, vaporizar e evitar sangramento no campo operatório (Brugnera Junior & Pinheiro, 1998).

Nuss et al. (1988) estudaram, *in vitro*, a ablação óssea realizada com três lasers pulsados (Nd:YAG=1,064 μ m; Ho:YSGG=2,10 μ m e Er:YAG=2,94 μ m) e dois de onda contínua (Nd:YAG=1,064 μ m e CO₂=10,6 μ m), em calvária de porcos (Guinea). Após a irradiação, os animais foram sacrificados, as calvárias dissecadas, envoltas em gaze embebida com solução salina e mantidas sob refrigeração até o momento da sua utilização. Secções ósseas da região irradiada foram avaliadas em microscopia de luz. Para os lasers pulsados Nd:YAG e Er:YAG, foi observada zona de dano tecidual com extensão aproximada de 10 a 15 μ m e para o laser Ho:YSGG (Hólmio:Ítrio, Escândio, Gálio, Granada), com densidade de energia de 18J/cm² e 135J/cm², de 20 a 90 μ m, respectivamente. Os dois lasers de onda contínua provocaram dano tecidual com extensão de 60 a 135 μ m. Segundo os autores, o laser Er:YAG foi o mais efetivo para realização da ablação óssea, seguido pelo laser de Ho:YSGG.

Rizoiu & Levy (1994) avaliaram a ablação da cortical óssea realizada com laser de Nd:YAG com comprimento de onda de 1,064 μ m e como a refrigeração efetuada com spray de ar/água influenciava a taxa de calor transferida para os tecidos adjacentes. Para a realização do estudo foram utilizadas tíbias de coelho e a ablação feita com Nd:YAG operando no modo pulsado, média de repetição de 50Hz, duração de pulso de 800 μ sec e potência entre 5 e 25W. A radiação laser foi

entregue ao tecido com o auxílio de fibra óptica de 600 μ m de diâmetro para a tíbia esquerda e de 400 μ m para a tíbia direita de cada animal. As amostras irradiadas evidenciaram que a largura da cratera óssea formada pela ablação aumentava, de forma proporcional, com o aumento de densidade de energia (Figura 1) e que a refrigeração reduzia os danos térmicos.

Potência (W)	Diâmetro da fibra óptica (μ m)	Densidade de energia (J/cm^2)	Largura da cratera (mm)
18	600	127	1,59
19	600	134	1,77
20	600	141	1,92
18	400	286	1,88
19	400	302	1,72
20	400	318	1,92

Figura 1 - Dados da ablação óssea com laser

Friesen et al. (1999) avaliaram e compararam a cicatrização tecidual após osteotomias realizadas com os lasers de CO₂ e Nd:YAG, e com brocas convencionais. Foram utilizadas tíbias de 24 ratos adultos, machos, com peso aproximado de 450-500g, divididos em quatro grupos de seis animais. No grupo 1 (controle) a osteotomia foi realizada com turbina de alta rotação, sob refrigeração; no grupo 2 com laser de CO₂ e mantida intacta a camada de tecido carbonizado; no grupo 3 com laser de CO₂, sendo removida a camada de tecido carbonizado; no grupo 4 a osteotomia foi realizada com laser de Nd:YAG, sob refrigeração e mantida intacta a camada de tecido carbonizado; no grupo 5 foi utilizado o laser de Nd:YAG, sob refrigeração e removida a camada carbonizada; no grupo 6 também foi utilizado o laser de Nd:YAG, porém sem refrigeração e removida a camada de tecido carbonizado. O laser de Nd:YAG foi utilizado com duração de pulso de 0,08/s, potência de 10W e densidade de energia de 1,429J/cm² quando

aplicado sob refrigeração e de 4W de potência e densidade de energia de 571J/cm² quando aplicado sem resfriamento. A irradiação laser foi entregue ao tecido por meio de fibra de contato de 0,6mm. Devido ao tecido ósseo ser pouco pigmentado e o comprimento de onda do laser Nd:YAG ser absorvido por pigmentos, foi necessário marcar a área com lápis número dois para dar início a radiação. Os animais foram sacrificados após três, sete, 14 e 21 dias e os espécimes processados para análise em microscopia de luz. Foi observado que a osteotomia realizada com radiação laser quando comparada com a realizada com brocas, provocava atraso no processo cicatricial, provavelmente em decorrência dos resíduos de tecido carbonizado retidos no defeito ósseo.

McDavid et al. (2001) avaliaram a cicatrização de osteotomias realizadas em tibia de ratos, com laser de Nd:YAG e CO₂, sob resfriamento realizado com água e ar. Para o estudo foram utilizados 15 ratos (Sprague-Dawley) machos pesando aproximadamente 450 gramas, com idade entre três e cinco meses, divididos em três grupos. Cada tibia foi dividida em seis áreas: 1 - não tratada (controle negativo), 2 - osteotomia com brocas montadas em motor de alta rotação refrigerado por água e ar (controle positivo), 3 - osteotomia com laser de CO₂, 5W de potência, densidade de energia de 860J/cm², 4 - osteotomia com laser de CO₂, 6W de potência, densidade de energia de 1032J/cm², 5 - osteotomia com laser de Nd:YAG, 5W de potência e 714J/cm² de densidade de energia e 6 - osteotomia com laser de Nd:YAG, 7W de potência e 1000J/cm² de densidade de energia. O laser de CO₂ foi aplicado com ponta de 0,8mm no modo contínuo e o Nd:YAG por contato. Os animais do grupo 1 foram sacrificados após 21 dias, os do grupo 2 após 35 dias e os do grupo 3 após 63 dias do experimento. Os espécimes foram analisados em microscopia de luz e os resultados permitiram concluir que, sob as condições do estudo, o processo

de cicatrização foi severamente atrasado pela radiação laser de CO₂ e Nd:YAG, mesmo quando a irradiação foi realizada sob refrigeração.

Ninomiya et al. (2003) avaliaram a formação de osso trabecular na metáfise de fêmures de ratos irradiados com laser Nd:YAG. Dezoito ratos (Sprague-Dawley) foram divididos em três grupos: 1 - não irradiado (controle); 2 - irradiado 1 vez ao dia; 3 - irradiado a cada 12 horas. Todos os animais receberam “Calcein” (4mg/kg) no sétimo e no 14^o dia, e foram sacrificados no 18^o. Os fêmures foram acondicionados em solução salina por dez dias, sendo em seguida, seccionados em blocos de 1mm. A microscopia confocal com ampliação de quinhentas vezes, revelou que o volume ósseo e a taxa de deposição mineral eram maiores no grupo 3. O estudo evidenciou que a formação óssea na metáfise foi acelerada pela irradiação laser.

Ninomiya et al. (2007) estudaram o volume ósseo após irradiação laser com pulso de nano segundos. Noventa e seis ratos (Sprague-Dawley), fêmeas, com peso aproximado de 250 gramas, foram divididos em oito grupos: 1dLA, 3dLA, 5dLA e 7dLA (d= dia, LA= laser) e 1dC, 3dC, 5dC e 7dC (d=dia, C= controle). Os animais dos grupos 1dLA, 3dLA, 5dLA e 7dLA tiveram os fêmures irradiados com laser Nd:YAG (1,064µm), freqüência de 10Hz, pulso 7-9 nano segundos, aplicado com taxa de 500mW/cm² por dez minutos, duas vezes ao dia. Os animais dos grupos controle não foram irradiados. Os animais dos grupos 7dLA e 7dC receberam “Calcein” (4mgKg) no dia do experimento e seis dias após o mesmo. Após remoção, os fêmures dos animais dos grupos experimentais foram mantidos imersos em paraformaldeído a 4% para análise histoquímica e os correspondentes controles, em etanol 70% e EDTA-2Na (ph=7.4) a 10% para descalcificação por quatro semanas a 4°C. Os resultados não mostraram diferença no peso corpóreo e tamanho dos

fêmures dos animais dos dois grupos. A análise morfométrica mostrou aumento significativo do volume do trabeculado ósseo nos grupos 5dLA e 7dLA. A densidade mineral foi superior no grupo 7dLA. As células ósseas apresentaram aumento de volume, em ordem crescente, do grupo 3dLA para o grupo 7dLA. O número de osteoclastos reduziu em ordem crescente do grupo 3dLA para o grupo 7dLA. Segundo os autores, a radiação laser Nd:YAG com pulso de nano segundos, aumenta o volume ósseo trabecular e a taxa de deposição mineral, melhorando a densidade e a capacidade de absorção das forças que incidem sobre o osso. Possivelmente, este aumento de volume se deva a diminuição do número de osteoclastos e aumento da atividade osteoblástica.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar, por meio de ensaio de flexão de três pontos, a resistência à flexão e o módulo de elasticidade do tecido ósseo irradiado com laser de Nd:YAG.

4 METODOLOGIA

Após aprovação do Projeto de Pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, protocolo número 007/2006-PA/CEP (Apêndice A), foram selecionados 15 *Rattus norvegicus albinus*, Wistar, machos, adultos, com peso médio de 250 gramas e noventa dias de idade.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais no Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, recebendo ração padrão e água *ad libitum*.

4.1 Obtenção e armazenamento dos espécimes

Os animais foram submetidos à anestesia perfundida, por via intramuscular, com solução composta por 1,0mL de cloridrato de tiazina (0,02g do sal) (Rompun, Bayer SA, São Paulo/SP, Brasil) e 0,5mL de ketamina (0,05g) do sal (Dopalen, Agribands do Brasil Ltda, Jacareí/SP, Brasil), na dosagem de 0,1 mL por 100g de peso corpóreo (Niccoli Filho et al., 2001).

Comprovada a efetividade anestésica, todos os animais foram mortos por meio da secção do cajado da aorta. Em seguida, foi realizada incisão e divulsão dos tecidos moles e exposição dos fêmures, que foram removidos intactos com auxílio de lâmina de bisturi número 15 (Embramac, Empresa Brasileira de Materiais Cirúrgicos, Campinas/SP, Brasil), tesoura Metzemaum e tesoura serrilhada para osso (Quinelato, Schabell Industrial LTDA, Rio Claro/SP, Brasil). Todas as cirurgias foram realizadas de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e sob condições padrão de assepsia. Após dissecação, os fêmures foram envolvidos

em gaze umedecida com solução salina e estocados em *freezer* a -20°C. Por ocasião da irradiação, os ossos foram removidos do *freezer* e mantidos em refrigerador comum por 24 horas. Aproximadamente duas horas antes de serem testados, os espécimes foram mantidos em temperatura ambiente, até atingirem equilíbrio térmico (Mello & Gomide, 2005; Vicentini et al., 2007).

4.2 Aplicação da radiação laser

Os espécimes foram divididos em:

Grupo I ou controle – constituído por 15 espécimes que não receberam nenhum tipo de tratamento;

Grupo II – constituído por 15 espécimes que foram submetidos à irradiação com laser de Nd:YAG.

A irradiação das amostras foi realizada com o aparelho laser Pulse Master 600 IQ (American Dental Technologies, Inc., Corpus Christi/Texas, USA) (Figura 2), ajustado com pulso de 50Hz, energia de 100mJ, potência de 5W, operando no modo contínuo, com entrega através de fibra óptica de 300µm de diâmetro, resultando em densidade de energia de 141mJ/cm².

$$\text{Densidade de Energia} = \frac{\text{Energia}}{\text{Área}}$$



Figura 2 - Aparelho laser Pulse Master 600 IQ (Nd:YAG)

Para proceder à irradiação, um operador, com o cotovelo apoiado em uma mesa, manteve o espécime fixo em posição horizontal com a mesa, segurando-o pelas epífises. Um segundo operador manipulou o aparelho, irradiando por contato todo o diâmetro da região central do espécime, anteriormente demarcada (Figura 3).

Durante a utilização do aparelho foram observadas as regras de segurança, como o uso de óculos de proteção, máscaras e luvas por todos os indivíduos presentes na área de radiação. Os resíduos da degradação térmica que aderidos à ponta da fibra óptica foram removidos a cada aplicação e, durante todo o processo, os resíduos produzidos foram aspirados.



Figura 3 - Irradiação do espécime

As amostras foram novamente acondicionadas em gaze embebida em solução salina e congeladas até o momento do ensaio mecânico de flexão.

4.3 Ensaio mecânico de flexão de três pontos

Após descongelamento dos espécimes, foi realizada a medida do comprimento total dos espécimes, e do diâmetro da região central da diáfise, com auxílio de um paquímetro digital (Digimess, São Paulo, Brasil), cujo ponto médio foi marcado com uma caneta de ponta macia (Permanent Marker, Pelikan, SP, Brasil). Todos os dados foram anotados em uma planilha.

O ensaio de flexão foi realizado no Laboratório de Materiais e Ensaio do Departamento de Engenharia da Universidade de Taubaté, em máquina de ensaio

universal (Versat 2000, Panambra, São Paulo, Brasil), com célula de carga com capacidade de 500kgf.

Todos os espécimes (grupos I e II) foram posicionados sobre dois suportes cilíndricos, com 4mm de diâmetro. A distância entre os suportes foi calculada para cada espécime, obedecendo a norma “Shear and three-point bending test of animal bone” (American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE, 1992), que recomenda: “a distância entre os suportes não deve ser inferior a 80% do comprimento do espécime, de forma a garantir 85-90% de flexão”. A distância utilizada para o ensaio dos espécimes pode ser observada no Apêndice A.

A carga (ou força) foi aplicada axialmente (cilindro com 4mm de diâmetro), com velocidade constante de 10mm/m, no ponto central de cada fêmur, até a fratura do espécime (Figura 4).

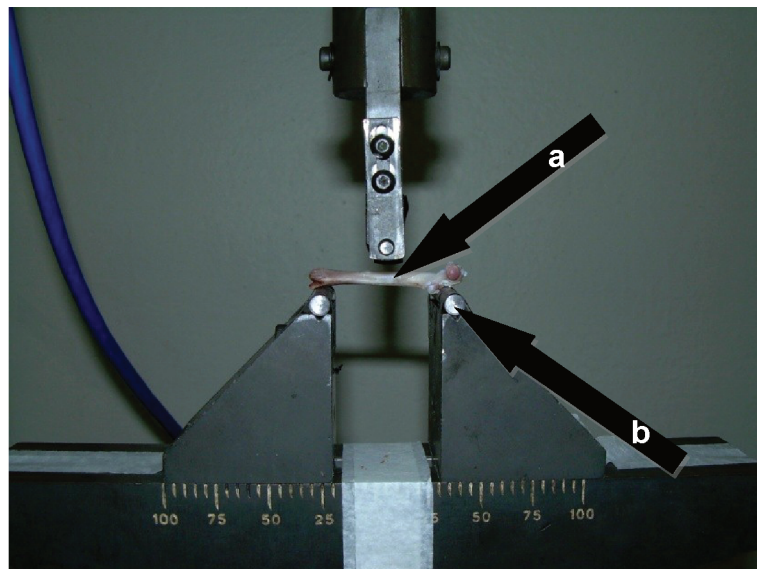


Figura 4 - a) Espécime sendo submetido a ensaio mecânico (flexão de três pontos), b) suporte cilíndrico.

A máquina de ensaio operou acoplada a um microcomputador no sistema operacional Windows 95. Utilizando o programa de informática Versat, versão 3.0, a cada incremento de carga aplicada foi registrado o deslocamento (ou deformação, como definido pela norma ANSI/ASAE, 1992) correspondente, produzindo um

gráfico carga x deslocamento

(Figura 5).

Os valores de e deslocamento cada espécime encontram-se

registrados no Apêndice B.

carga
de

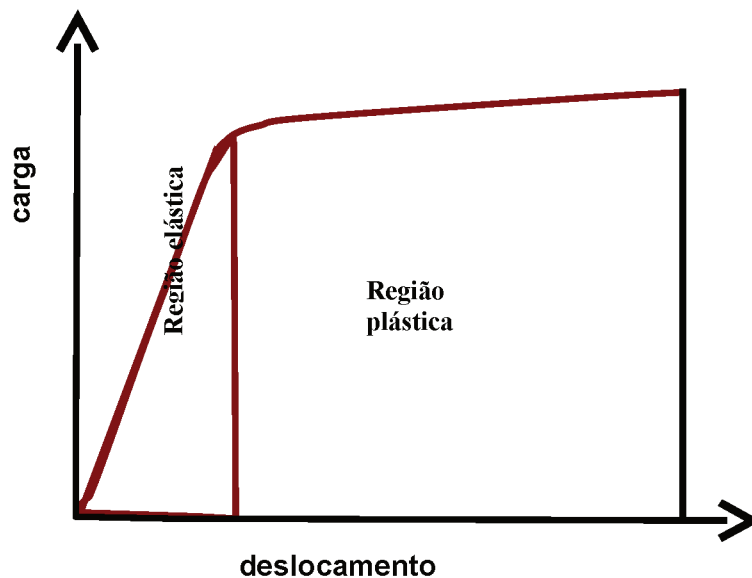


Figura 5 - Gráfico carga x deslocamento

4.4 Embutimento dos espécimes e análise em microscópio

Para o embutimento dos dois fragmentos ósseos resultantes das fraturas de cada fêmur (total de sessenta), eles foram fixados por grampos metálicos de fixação (Struers, Dinamarca), com as áreas onde fraturadas paralelas ao fundo da forma de polipropileno, com 30mm de diâmetro (Struers, Dinamarca) (Figura 6). A resina epóxi utilizada foi a EPOFIX (Struers, Dinamarca) de cura a frio, que foi preparada e vertida dentro de cada anel até total imersão do fragmento (Figura 7).



Figura 7 - Preenchimento da forma de polipropileno com resina

Após a cura da resina a frio (24 horas), as formas foram removidas e cada corpo-de-prova foi submetido à lixamento das superfícies planas na lixadeira DP-10 (Struers, Dinamarca), com auxílio das lixas de grana 320, 400, 600, 800, 1200 e 2400 (Struers, Dinamarca) (Figura 8). As lixas foram utilizadas na seqüência crescente e cada uma delas foi aplicada durante dois minutos em cada superfície. Para cada corpo-de-prova foi utilizada uma lixa nova. Em seguida, as amostras foram submetidas a polimento na politriz D-U10 (Struers, Dinamarca), com pano de polimento impregnado com partículas abrasivas de diamante, pastas DP- Paste M 6 μ m e DP- Paste M 3 μ m (Struers, Dinamarca) e discos de feltro, para a finalização do polimento dos corpos-de-prova (Figura 9).



Figura 8 - Lixamento do corpo-de-prova



Figura 9 - Corpos-de-prova lixados e polidos

Um corpo-de-prova a cada vez, foi levado ao microscópio óptico NEOPHOT 2 (Carl-Zeiss, Germany), com aumento de até 2000x, para análise. O microscópio possui resolução quantitativa máxima de $0,6\mu\text{m}$. As imagens obtidas com uma Micro-Câmera de Vídeo Digital 1/3 CCD, com objetiva acoplada direto na ocular do microscópio, fornecida com Placa de Processamento de Imagem (64 bits) acoplada em microcomputador PC (Sistema DIC PANTEC, São Paulo, Brasil). Em seguida, foram mensuradas, por meio de observação da imagem no microscópio, a maior e a menor distância entre as corticais externas, B e b, respectivamente; e a maior e a menor distância entre as corticais internas, D e d, respectivamente (Figuras 10 e 11). As medidas obtidas foram posteriormente utilizadas para o cálculo da rigidez ou

módulo de elasticidade e da resistência à flexão (ANSI/ASAE, 1992). Os valores B, b, D e d de cada espécime estão descritos no Apêndice C.

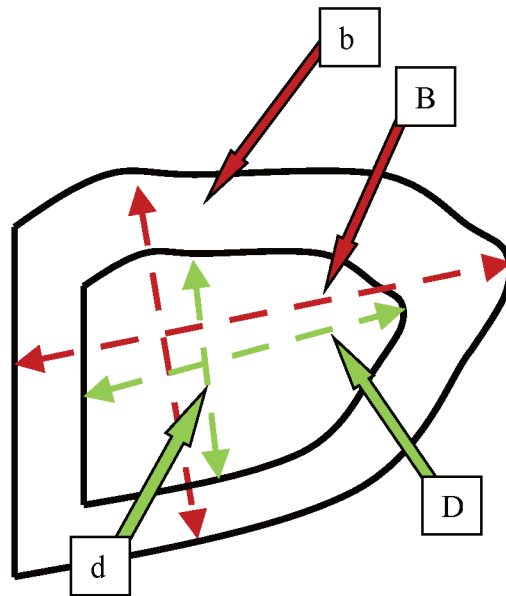


Figura 10 - Esquema do maior e menor distância entre as corticais externas e internas

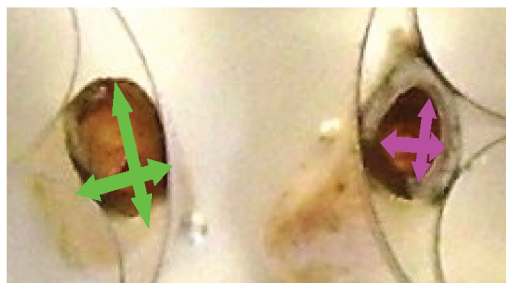


Figura 11- Maior e menor distância entre as corticais externas e internas

Para calcular o módulo de elasticidade (E) foi utilizada a seguinte fórmula:

$$E = \frac{F.L^3}{48.I.\delta}$$

Onde:

E= módulo de elasticidade (Pa)

F= força aplicada (N)

L= distância entre os suportes

I = momento de inércia – obtido pela aplicação da fórmula:

$$I = 0,00549.[(B.D^3) - (b.d^3)]$$

δ = deformação (m)

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos, após tabulados, foram submetidos ao teste T-Student para amostras independentes, com auxílio do software Minitab versão 15.0 (Minitab, São Paulo, Brasil).

5 RESULTADOS

Os dados obtidos no ensaio mecânico podem ser observados no Apêndice B.

Os valores médios e o desvio-padrão da carga máxima aplicada (em MPa) nos espécimes de cada grupo estudado durante o ensaio mecânico de flexão de três pontos estão representados nas Figuras 12 e 13.

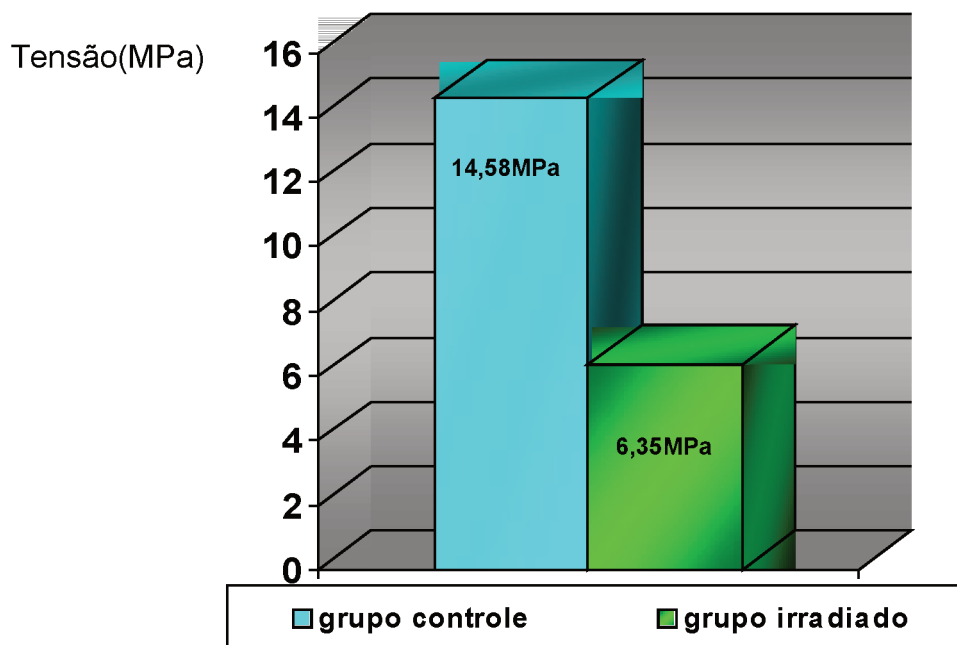


Figura 12 - Valor médio da carga máxima aplicada nos espécimes do grupo controle e do grupo irradiado

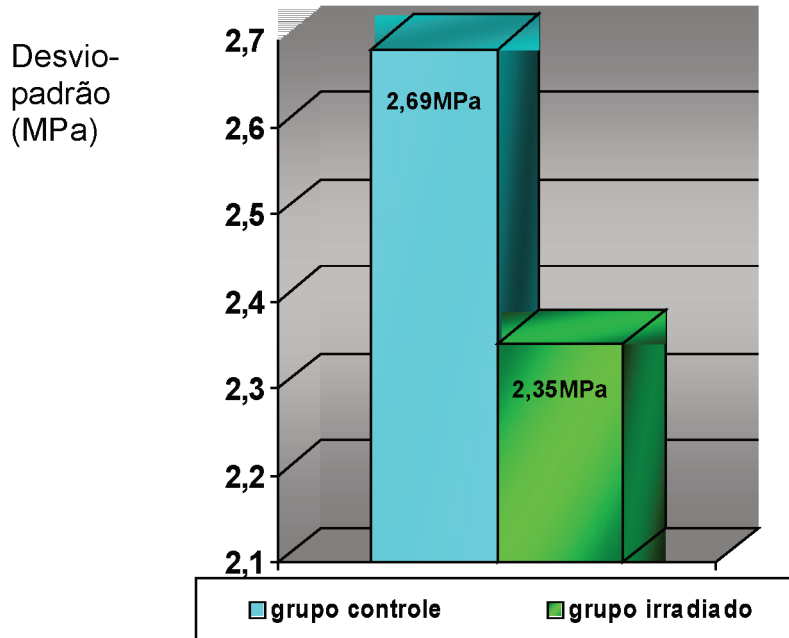


Figura 13 - Desvio-padrão da carga máxima aplicada nos espécimes do grupo controle e do grupo irradiado

Os valores médios e o desvio-padrão do módulo de elasticidade (em GPa) dos espécimes de cada grupo avaliado durante o ensaio mecânico de flexão de três pontos estão representados nas Figuras 14 e 15.

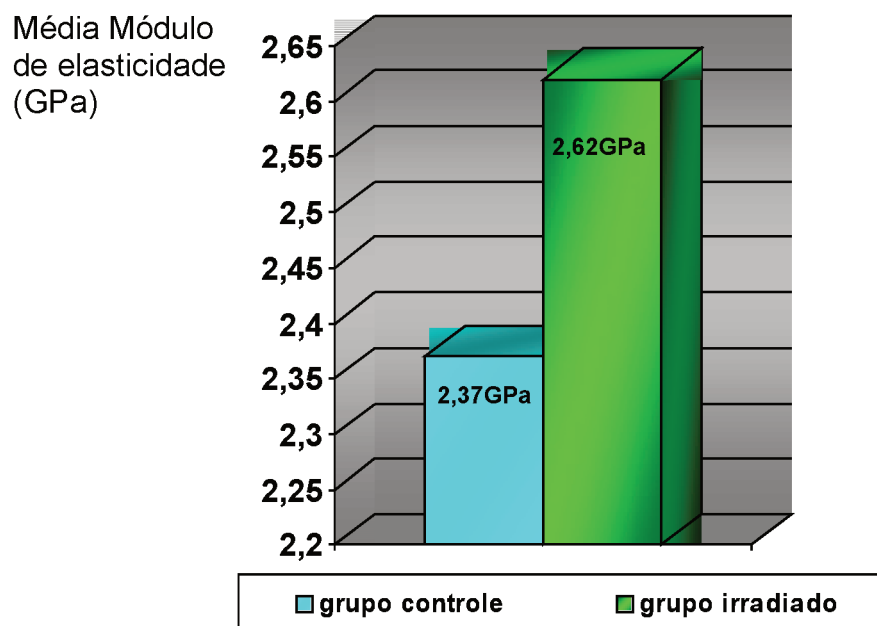


Figura 14 - Média do módulo de elasticidade dos espécimes do grupo controle e do grupo irradiado

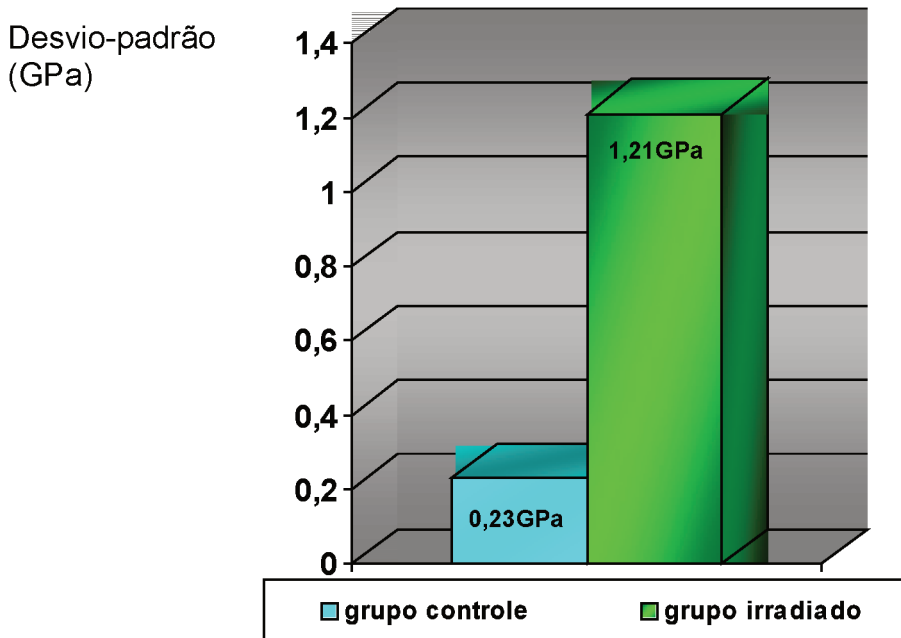


Figura 15 - Desvio-padrão do módulo de elasticidade dos espécimes do grupo controle e do grupo irradiado

Por meio da análise estatística (teste T de Student para amostras independentes) foi possível comparar os dados dos diferentes grupos.

A média da carga máxima aplicada nos espécimes do grupo irradiado com laser (6,35MPa) foi significativamente menor que a do grupo controle (14,58MPa), com nível de significância de $p < 0,05$ ($p=0,00$).

Com relação à média do módulo de elasticidade dos espécimes do grupo irradiado com laser (2,62GPa), quando comparada com a média dos espécimes do grupo controle (2,37GPa), não foi evidenciada diferença estatística significativa ($p=0,444$).

Foram observadas no tecido ósseo trincas e resíduo de carbonização nas secções transversais dos espécimes irradiados analisados no microscópio (Figuras 16 e 17).

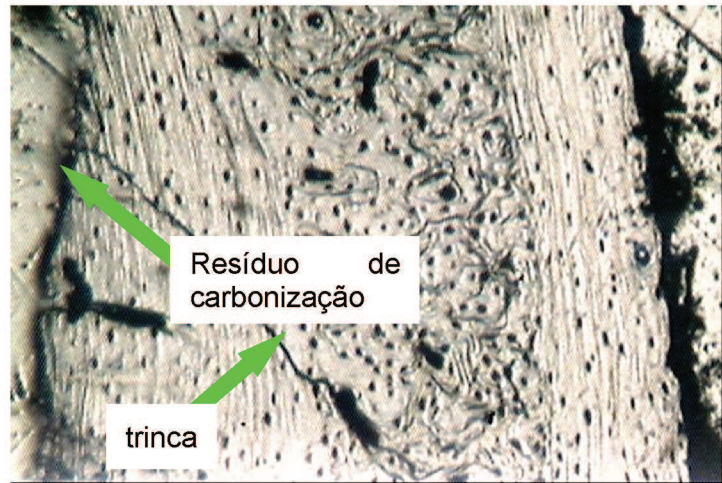


Figura 16 - Trinca e resíduo de carbonização

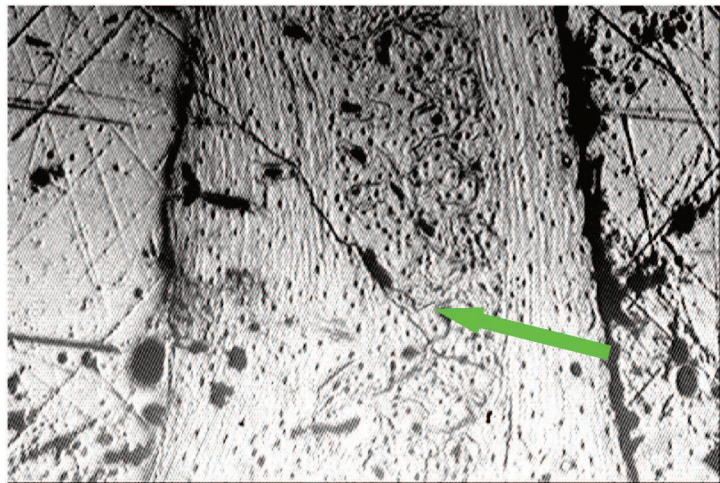


Figura 17 - Propagação da trinca pela cortical

6 DISCUSSÃO

O interesse pela ação dos diversos tipos de laser no tecido ósseo não é recente e vários pesquisadores já se dedicaram ao seu estudo. Sendo assim, as vantagens, desvantagens e limitações do uso da radiação laser na área da saúde, têm sido relatadas por diversos pesquisadores (Nuss et al., 1988; Niccoli Filho et al., 2001; Payne et al., 2001; Ninomiya et al., 2003; Parker, 2007).

Cirurgias realizadas com auxílio da radiação laser têm apresentado crescimento expressivo na última década e, atualmente, determinados procedimentos médicos-cirúrgicos não são possíveis de serem realizados sem a precisão que esta tecnologia permite.

O laser de CO₂ é um dos mais utilizado para cirurgias bucais de tecidos moles, e lasers com outros comprimentos de onda, como o Nd:YAG (comprimento de onda = 1,064nm) ou diodo (comprimento de onda = 810nm), além das cirurgias de tecido mole, podem ser efetivos nas cirurgias ósseas (McDavid et al., 2001; Niccoli Filho et al., 2001).

Diversos estudos sobre a reparação e as alterações ultra-estruturais do tecido ósseo irradiado com laser Nd:YAG já foram descritos na literatura (Spencer et al., 1999; Ninomiya et al., 2007), entretanto nenhum deles avaliou a ação desta radiação sobre as propriedades mecânicas do osso. Desta forma, este trabalho foi desenvolvido em função do nosso interesse em conhecer o mecanismo biológico pelo qual a força é transferida ao tecido ósseo, após serem irradiados especificamente com o laser de Nd:YAG.

O mecanismo de ablação do tecido ósseo com laser depende da característica de absorção da radiação de cada componente do osso em relação ao comprimento de onda, duração do pulso e potência nele aplicados (Nuss et al., 1988). Entretanto, se utilizados parâmetros corretos, possivelmente será reduzido o trauma físico, os efeitos térmicos e a contaminação bacteriana, além de ser mantido intacto o potencial osteogênico, conduzindo a um processo de cicatrização mais simples quando comparado ao procedimento convencional que utiliza brocas cirúrgicas em turbinas odontológicas de alta rotação (Parker, 2007).

Neste estudo, os espécimes foram irradiados com laser de Nd:YAG no modo contínuo, por contato, utilizando potência de 5W (Nuss et al., 1988; McDavid et al., 2001), frequência de 50Hz (Rizoiu & Levy, 1994), energia de 100J e densidade de energia de 141J/ cm².

A densidade de energia (quantidade de energia entregue em uma determinada área) está intimamente relacionada com o diâmetro da fibra. Assim como neste estudo, Rizoiu & Levy, (1994), também trabalharam com o laser Nd:YAG no modo contínuo, com a mesma densidade de energia e frequência, entretanto a potência foi de 20W e a fibra de 600µm de diâmetro, enquanto no nosso estudo foi utilizada a fibra óptica de 300µm de diâmetro.

Como a conservação do tecido ósseo é muito importante na manutenção de suas propriedades mecânicas estruturais (Turner & Burr, 1993; Armstrong et al., 2000; Hart et al., 2001), o armazenamento dos espécimes durante todo o experimento, foi realizado em *freezer* com temperatura de -20°C, estando os mesmos envoltos por gaze embebida em solução salina (American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE, 1992). A manutenção dos espécimes da forma descrita é necessária em decorrência da autólise do tecido se iniciar poucas horas

após a remoção do osso de seu sítio anatômico, conseqüentemente alterando estas propriedades (Turner & Burr, 1993).

A biomecânica, ciência que estuda a estrutura e a função dos sistemas biológicos por meio de métodos da engenharia mecânica (ANSI/ASAE, 1992; Turner & Burr, 1993; Armstrong et al., 2000; Hart et al., 2001), foi utilizada neste estudo como forma de determinar as propriedades mecânicas dos espécimes ósseos irradiados com laser Nd:YAG e submetidos a ensaio de flexão.

Em razão das normas existentes para materiais como metais, polímeros, cerâmicas e compósitos, não serem adequadas para o tecido ósseo e não havendo consenso entre os autores sobre os parâmetros que devem ser utilizados para o ensaio de flexão de três pontos em tecido ósseo (Pessan et al., 1996; Cordey, 2000; Penha, 2004; Tiveron, 2005), optamos por utilizar os parâmetros descritos na norma "Shear and three-point bending test of animal bone" (American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE, 1992).

O ensaio de flexão de três pontos consiste na aplicação de uma carga (F) por meio de um cilindro e com velocidade constante, no centro de um espécime apoiado sobre dois cilindros distanciados entre si por uma distância L (Armstrong et al., 2000; Hart et al., 2001). O ensaio deve ser realizado em máquinas com capacidade de medir a força aplicada com precisão até o valor da resistência máxima da estrutura em teste, já que a força aplicada começa com valor inicial igual a zero e aumenta progressivamente até a ruptura do espécime. A aplicação da carga durante o ensaio mecânico faz com que a energia absorvida pelo material em teste seja dissipada pela estrutura do material, pois o osso é um material viscoelástico e à medida que sofre flexão, seus componentes fluídos internos vão sendo friccionados e o choque vai sendo absorvido. As propriedades mecânicas do

material são obtidas por meio da curva carga-deslocamento (American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE, 1992; Turner & Burr, 1993).

Nesta pesquisa foram utilizados fêmures de ratos que haviam sido sacrificados, em face das mínimas diferenças existentes entre o comportamento biomecânico do osso proveniente de um animal morto e de um animal vivo. O tecido ósseo é composto principalmente por materiais não biológicos, como fibras colágenas, cristais inorgânicos, água e a interface matriz-osteon, sendo apenas uma pequena porção de todo o material constituído por células, vasos sanguíneos, sangue e nervos (Evans, 1993), o que o caracteriza como um material estático, com poucas mudanças comportamentais após ser retirado do organismo vivo (Hastings & Ducheyne, 2000).

Foi calculada a carga máxima aplicada sobre os espécimes até o ponto de falência completa, e o módulo de elasticidade ou rigidez. Os dados da força máxima (carga) e do deslocamento foram fornecidos pelo software acoplado à máquina de ensaios. O módulo de elasticidade (rigidez) foi calculado após as secções transversais terem sido medidas em microscópio, como descrito no capítulo Método.

Existem três possíveis mecanismos de ação dos lasers (com comprimento de onda no infravermelho) no tecido ósseo: 1 - absorção da energia laser pelas moléculas de água, presente nos componentes (orgânicos e inorgânicos) do tecido ósseo indicando mecanismo de ablação térmica, 2 - absorção da energia laser pelo colágeno da parte orgânica da matriz e/ou pelos sais de cálcio da parte inorgânica (também por mecanismo térmico) e 3 - desestruturação e remoção de tecido ósseo por fenômenos físicos (Nuss et al., 1988). A dissipação da energia laser dentro dos tecidos ocorre quando os componentes deste tecido absorvem a radiação, que é convertida em energia térmica, resultando em aumento da temperatura no tecido

alvo (Rizoiu & Levy, 1994). A água contida na matriz óssea, tanto na porção orgânica como na inorgânica, corresponde a 10% de sua composição e absorve a radiação infravermelha (IR) no limite entre 2,0 e 10 μ m, e as proteínas entre 5,9 e 6,6 μ m (Spencer et al., 1999; McDavid et al., 2001).

Os resultados do ensaio biomecânico dos fêmures de ratos irradiados com laser Nd:YAG (grupo 2) quando comparados com os resultados dos fêmures não tratados (grupo 1), evidenciaram diferença estatística significativa para os valores de resistência à flexão ($p=0,000$), sendo a queda da resistência entre o grupo controle (14,58MPa) e irradiado (6,35MPa) de aproximadamente 56%. Estes resultados talvez tenham sido observados em decorrência de a radiação laser ter introduzido uma região de concentração de tensões no tecido ósseo a partir do local onde o laser foi aplicado, possibilitando a formação e propagação de trincas. A região de concentração de tensões alterou a forma como ocorreu a fratura do material em relação ao grupo controle (sem laser), ou seja, a radiação criou uma região que facilitou a ruptura do material, uma vez que as trincas iniciaram-se nesse ponto e depois se propagaram ao longo da estrutura. De forma distinta, no grupo controle, para que ocorresse a ruptura do material foi preciso gerar uma quantidade maior de trincas, justamente por não ter nos fêmures deste grupo a região de concentrações de tensões que foi produzida pela radiação no grupo experimental.

As propriedades mecânicas dos espécimes ósseos são dependentes da composição mineral e orgânica do tecido (Keller, 1994). Desta forma, Hart et al. (2001), quando compararam a resistência à flexão de fêmures de animais submetidos a exercícios físicos com fêmures de animais não submetidos a exercícios físicos, não encontraram diferença estatística significativa entre os valores de carga máxima aplicada ($p=0,06$), entretanto foi evidenciada diferença estatística

significativa para o módulo de elasticidade ($p < 0,05$). Possivelmente, o exercício físico aumentou a massa e a densidade do tecido ósseo, com conseqüente aumento da rigidez, o que justifica os resultados encontrados.

Com relação ao módulo de elasticidade, não foi observada diferença estatística significativa entre o grupo controle e experimental ($p = 0,44$). Sabendo que o módulo de elasticidade é a quantidade de tensão que deve ser aplicada para o material sofrer uma determinada deformação (na região elástica), uma alteração significativa entre os dois grupos ocorreria somente se a radiação atingisse profundidade suficiente para provocar alteração química na estrutura do osso ou o danificasse extensivamente. Entretanto, como a radiação laser nos parâmetros utilizados, provavelmente só tenha atingido a superfície dos espécimes, a porção mais profunda do tecido ósseo permaneceu intacta, impedindo uma alteração significativa da rigidez dos espécimes, pois ainda havia material suficiente para suportar a carga aplicada. Alteração significativa na rigidez do material só seria observada se houvesse uma alteração mais profunda na estrutura óssea, como por exemplo, se o osso tivesse sido submetido a ciclos intensos de fadiga.

Entretanto, embora o grupo controle tenha apresentado menor valor do módulo de elasticidade (2,37GPa) em relação ao grupo experimental (2,62GPa), sem diferença estatística significativa, os respectivos desvio-padrão foram de 0,23 e 1,21, permitindo inferir que os danos provocados no tecido ósseo pela radiação não foi tão desprezível.

Constitui objetivo futuro a análise microscópica das fraturas presentes nos espécimes .

7 CONCLUSÕES

Para os parâmetros analisados neste trabalho, a radiação laser de Nd:YAG reduziu a resistência à flexão dos espécimes ósseos sem, entretanto, provocar alteração no módulo de elasticidade dos mesmos.

REFERÊNCIAS

1. Marzola C, Pinheiro ALB, Freitas AC, Alves M, Pinheiro T, Bastos F. Osteotomias como devem ser encaradas. *Revista Odonto Ciência* 2000; 30:59-83.
2. Fedeli Junior A, Phillipi J, Girardi D, Brandi R. Reparação óssea após osteotomias. *RGO* 2001; 49(4): 223-229.
3. Small IA, Osborn TP, Fuller T, Hussain M, Kobernick S. Observation of carbon dioxide laser and bone bur in the osteotomy of the rabbit tibia. *J Oral Surg* 1979;37(3):159-166.
4. Gertzbein SD, Demeter D, Cruickshank B, Kapasouri A. The effect of laser osteotomy on bone healing. *Laser Surg Med* 1981; 1(4):361-373.
5. Clauser C. Comparison of depth and profile of osteotomies by rapid super pulsed and continuos-wave CO₂ laser beams at high power output. *J Oral Maxillofac Surg* 1986; 44(6):425-430.
6. Nuss RC, Fabian RL, Sarkar R, Puliafito C. Infrared laser bone ablation. *Lasers Surg Med* 1988; 8(4):381-391.
7. RizoIU MI, Levy GC. The efficiency of bone ablation with an Nd:YAG laser beam delivered with a cooling spray: an in vitro study. *Compendium* 1994; 15(1):106-112.
8. Ninomiya T, Hosoya A, Nakamura H, Sano K, Nishisaka T, Ozawa H. Increase of bone volume by a nanosecond pulsed laser irradiation is caused by a decreased osteoclast number and an activated osteoblasts. *Bone* 2007; 40(1):140-148.
9. Brugnera Junior A, Pinheiro ALB. *Lasers na odontologia moderna*. São Paulo: Pancast; 1998.
10. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.542.
11. Kaplan FS, Hayes WC, Keaveny TM, Boskey A, Einhorn TA, Iannotti JP. *Form and function of bone*. In: Simon SR. Orthopaedic basic science. Ohio: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1994. p. 284-293.
12. Eriksen EF, Axelrod DW, Melsen F. Bone histomorphometry. New York: Raven Press; 1994. p.13-22.
13. Evans EA. New membrane concept applied to the analysis of fluid shear-and micropipette-deformed red blood cells. *Biophys J* 1973; 13(9):941-954.

Referências elaboradas de acordo com o modelo Vancouver.

14. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone* 1993; 14(4):595-608.
15. Keller ST. Predicting the compressive mechanical behavior of bone. *J Biomech* 1994; 27(9):1159-1168.
16. Pessan V, Volpon JB, Shimano AC. Ensaio mecânico de flexão nas faces côncava e convexa da diáfise do fêmur de ratas. *Rev Bras Ortop* 1996; 31(7): 600-604.
17. Müller SS. *Análise comparativa das propriedades mecânicas do ligamento da patela e do tendão calcâneo* [Tese de doutorado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina, 1998. 119p.
18. Hastings GW, Ducheyne P. *Natural and living biomaterials*. Florida: CRC Press; 2000.
19. Armstrong KJ, Shaw JM, Vajda E, Hegsted M, Miller SC. Boron supplementation of purified diet for weanling pigs improves feed efficiency and bone strength characteristics and alters plasma lipid metabolites. *J Nutr* 2000; 130(10): 2575-2581.
20. Cordey J. Introduction: basic concepts and definitions in mechanics. *Injury* 2000; 31(2): p. 1-13, 72, 76, 80, 84.
21. Hart KJ, Shaw JM, Vajda E, Hegsted M, Miller SC. Swim-trained rats have greater bone mass, density, strength, and dynamics. *J Appl Physiol* 2001; 91(4): 1663-1668.
22. Penha VTBB. *Efeitos do congelamento e descongelamento sucessivo nas propriedades mecânicas em ossos corticais* [Dissertação de mestrado]. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, 2004. 117p.
23. Müller SS, Curcelli EC, Sandenberg T, Zucconia A, De Crudis Júnior JL, Padovani CR. Análise clínica e biomecânica do efeito do diclofenaco sódico na consolidação da fratura da tíbia no rato. *Acta Ortop Bras* 2004; 4:197-204.
24. Lirani APR. *Estudo comparativo dos efeitos do ultra-som e do laser de baixa intensidade no reparo ósseo de tíbia de rato* [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/Instituto de Química de São Carlos, 2004. 109p.
25. Tiveron MB. *Estudo clínico, biomecânico e histológico do efeito da menopausa induzida por ooforectomia no tecido ósseo: modelo experimental em ratas* [Dissertação de mestrado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina, 2005. 90p.

26. Mello LCP, Gomide LB. Respostas físicas, químicas e biomecânicas do osso de ratas ovariectomizadas submetidas a diversas ingestões de flúor suplementar. *Rev Nutr* 2005; 18(5):593-600.
27. Loffredo MCM. *Resistência mecânica e tenacidade à fratura do osso cortical bovino* [Dissertação de mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica; 2006. 101p.
28. Vicentini RC, Rosa RAC, Ciarlini LDRP, Santos PH, Louzada MJQ. Análise biomecânica em fêmures de ratos submetidos à ausência de carga e atividade física em esteira. *Vet e Zootec* 2007; 14(1):62-71.
29. Cecchini SCM. *Estudo in vitro das aplicações do laser de Hólmio: YLF em esmalte e dentina, visando à realização de cirurgia de acesso endodôntico e preparo cavitário* [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 1995. 148p.
30. Spencer P, Payne JM, Coob CM, Reinisch L, Drummer DD, David LS, et al. Effective laser Ablation of bone based on the absorption characteristics of water and proteins. *J Periodontol* 1999; 70(1): 68-74.
31. Payne T, Peavy GM, Rinisch L, Van Sickle DC. Cortical bone healing following laser osteotomy using 6.1 μm wavelength. *Lasers Surg Med* 2001; 29(1):38-43.
32. Niccoli Filho W, Sampaio TA, Guimarães Filho R. Efeitos da radiação laser dióxido de carbono em tecido ósseo: estudo macroscópico em ratos. *Pesq odontol Bras* 2001; 15(2):127-132.
33. Eduardo CP, Gouws-Soares SC, Haypec P. *Utilização clínica dos lasers*. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. *Dentística/Laser*. São Paulo: Artes Médicas; 2002. p. 520.
34. Gutknecht N, Eduardo CP. *A odontologia e o laser*. São Paulo: Quintessence; 2004. p.320.
35. Souza EB. *Avaliação da desinfecção da dentina radicular em profundidade provocada pela irradiação laser de diodo de alta potência* [Dissertação de mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, 2006. 84p.
36. Parker S. Surgical lasers and hard dental tissue. *Br Dent J* 2007; 202(8):445-454.
37. Friesen LR, Cobb CM, Rapley JW, Forgas-Brockman L, Spencer P. Laser irradiation of bone:II.Healing response following treatment by CO2 e Nd:YAG lasers. *J Periodontal* 1999; 7(1):75-83.
38. McDavid VG, Coob CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. Laser irradiation of bone: III. Long-term healing following treatment by CO2 e Nd:YAG lasers. *J Periodontol* 2001; 72(2):174-182.

39. Ninomiya T, Miyamoto Y, Ito T, Yamashita A, Wakita M. High-intensity pulsed laser irradiation accelerates bone formation in metaphyseal trabecular bone in rat femur. *J Bone Miner Metab* 2003; 21(2):67-73.

40. American Society of Agricultural Engineers ANSI/ASAE Standard S 459. Shear and three-point bending test of animal bone. *ASAE* 1992; p.669-671.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Comprimento dos espécimes e distância entre os apoios utilizados no ensaio de flexão

espécime	Grupo controle		Grupo irradiado	
	Comprimento (mm)	80% comprimento (mm)	Comprimento (mm)	80% comprimento (mm)
1	36,0	28,8	34,0	27,2
2	38,0	30,4	35,0	28,0
3	38,0	30,4	32,0	25,6
4	38,0	30,4	38,0	30,4
5	36,6	29,3	34,0	27,2
6	36,0	28,8	32,0	25,6
7	35,0	28,0	32,0	25,6
8	35,0	28,0	32,5	26,0
9	38,5	30,8	36,0	28,8
10	40,0	32,0	36,0	28,8
11	37,5	30,0	34,0	27,2
12	38,0	30,4	34,0	27,2
13	39,0	31,2	35,0	28,0
14	38,0	30,4	35,0	28,0
15	34,0	27,2	34,0	27,2

APÊNDICE B - Valores da força máxima aplicada aos espécimes do grupo controle e grupo irradiado e valores de deformação

espécime	Grupo controle		Grupo irradiado	
	Força ou Carga (Kgf)	Deformação	Força ou Carga (Kgf)	Deformação
1	8,55	0,00201	2,55	0,00034
2	7,85	0,0019	1,7	0,00078
3	9,2	0,00284	2,65	0,0009
4	7,15	0,00208	2,5	0,00031
5	9,05	0,00259	3,7	0,00067
6	8,95	0,0023	3,75	0,0012
7	8,85	0,00236	1,9	0,00089
8	8,75	0,00256	6,8	0,00108
9	9,4	0,0023	3,75	0,00099
10	10,2	0,0023	2,4	0,00124
11	9,65	0,0023	3,7	0,0007
12	7,1	0,00208	5,1	0,00065
13	7,7	0,0023	3,3	0,00116
14	8	0,0023	2,5	0,00136
15	9,2	0,00228	5,5	0,00085

APÊNDICE C- Maior e menor distância entre as corticais externas (B e b); maior e menor distância entre as corticais internas (D e d) no grupo controle

espécime	Grupo controle			
	B (m)	b (m)	D (m)	d (m)
1	0,004588	0,002852	0,003397	0,002232
2	0,005046	0,003124	0,003583	0,002256
3	0,004414	0,002777	0,003558	0,002281
4	0,004464	0,003124	0,003298	0,001984
5	0,004612	0,003149	0,003199	0,002108
6	0,004674	0,002901	0,003211	0,001897
7	0,004513	0,003199	0,003112	0,002058
8	0,004327	0,003075	0,003236	0,002008
9	0,004674	0,003008	0,003521	0,002256
10	0,004836	0,003298	0,003534	0,002356
11	0,005009	0,003447	0,003596	0,002356
12	0,004898	0,003186	0,003534	0,002294
13	0,005084	0,003670	0,004042	0,002331
14	0,004860	0,003174	0,003385	0,002182
15	0,004538	0,003050	0,003410	0,002219

APÊNDICE D - Maior e menor distância entre as corticais externas (B e b); maior e menor distância entre as corticais internas (D e d) no grupo controle

espécime	Grupo irradiado			
	B (m)	b (m)	D (m)	d (m)
1	0,004327	0,002976	0,003385	0,002083
2	0,004513	0,003224	0,003162	0,001959
3	0,004625	0,003360	0,003224	0,002083
4	0,004724	0,003472	0,003199	0,002132
5	0,004488	0,003385	0,003137	0,002070
6	0,004712	0,003038	0,003261	0,002021
7	0,004513	0,003323	0,002804	0,001649
8	0,004302	0,002951	0,003348	0,002046
9	0,004364	0,002938	0,003000	0,001946
10	0,004526	0,003348	0,003025	0,001897
11	0,004154	0,003112	0,003000	0,001934
12	0,004625	0,003174	0,003335	0,002256
13	0,004761	0,003100	0,003670	0,002356
14	0,004488	0,003348	0,003298	0,002108

15	0,004774	0,003397	0,003298	0,002033
----	----------	----------	----------	----------



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
 Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
 CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028
 Fax (12) 3947-9010 / sucly@fosjo.unesp.br


CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa-Local

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº **007/2006-PA/CEP**, sobre **“Análise do grau de resistência à flexão em fêmures de ratos irradiados com laser de Nd:YAG, vapor de Cobre e Holmium”**, sob a responsabilidade de **WALTER DOMINGOS NICCOLI FILHO**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 31 de março de 2006.



Profa. Dra. Suely Carvalho Mutti Naressi
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-Local

