



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

FERNANDA DE JESUS GODOLPHIM

ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO
A LASER NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE DENTES
REIMPLANTADOS DE RATOS: ESTUDO PILOTO.

ARACAJU-SE

2015

FERNANDA DE JESUS GODOLPHIM

**ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DA FOTOBIOMODULAÇÃO
A LASER NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE DENTES
REIMPLANTADOS DE RATOS: ESTUDO PILOTO.**

Projeto de Pesquisa apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe, como em cumprimento às Normas de Trabalho de Conclusão de Curso aprovada pela Resolução nº 69/2012 do CONEPE para obtenção do título de Cirurgião-dentista, sob orientação da Prof^a Dr^a. Maria Amália Ribeiro Gonzaga.

ARACAJU-SE

2015

I – Original research

TÍTULO: ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASER NO LIGAMENTO PERIODONTAL DE DENTES REIMPLANTADOS DE RATOS: ESTUDO PILOTO.

AUTORES:

Fernanda de Jesus GODOLPHIM.¹

Maria Amália Gonzaga RIBEIRO.²

1 - Acadêmica de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe - UFS, Aracaju, Brasil.

2 – Professora adjunta do Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

ENDEREÇO COMPLETO DO AUTOR CORRESPONDENTE:

Fernanda de Jesus Godolphim

Avenida Gonçalo Rolemberg Leite, 1548. Condomínio Veneza. Apartamento 901. Bairro Suíssa.

Telefone: 55 79 9853.1912

fernandagodolphim@hotmail.com

RESUMO:

Objetivo:

Observar, por meio de análise histológica, o efeito da associação de dois comprimentos de onda 808 e 660nm da fotobiomodulação a laser (FBML) na formação de vasos sanguíneos no ligamento periodontal de dentes reimplantados em ratos *Wistar*.

Materiais e Método:

Vinte ratos compuseram os grupos, estes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos (n = 5) de acordo com o tratamento antes e após o reimplante dentário, a saber: GP – exposto ao meio seco, sem FBML; GPL – exposto ao meio seco, e, FBML; GLI – conservação em leite integral, sem FBML; GLIL – conservação em leite integral e FBML. Em seguida, os canais foram preparados e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio. Os ratos foram eutanasiados 15 dias após o reimplante. A hemimaxila direita incluindo o incisivo central reimplantado foi removida, fixada em solução de formalina a 10% e processada histologicamente para coloração em hematoxilina-eosina (HE). As lâminas foram avaliadas por meio de análise descritiva comparativa, em aumento original de 100X, utilizando critérios semiquantitativos quanto à presença de vasos sanguíneos.

Resultados:

Os grupos GP e GLI tiveram menor número de vasos sanguíneos sem diferenças estatisticamente significantes entre eles. Já os grupos GPL e GLIL tiveram maior proliferação de vasos sanguíneos, porém sem diferença estatisticamente significativa entre eles. Porém, houve uma diferença bastante significativa entre os grupos GP e GPL, assim como, GLI e GLIL.

Conclusão:

Pôde-se concluir que a combinação da FBML e leite integral como meio de armazenamento permitiu uma maior formação de vasos sanguíneos no ligamento periodontal de dentes reimplantados.

Palavras-chave: Avulsão dentária; periodonto; reimplante dentário; terapia a laser.

Abstract: **Objective:** Analyze, by histological analysis, the effect of an association between two wavelengths 808 and 660 nm of laser photobiomodulation (LPBM) in blood vessel formation in periodontal ligament of reimplanted teeth in Wistar rats. **Materials and Methods:** Twenty rats composed the groups, they were divided randomly into four groups (n = 5) according to the treatment before and after tooth reimplantation , as follows: GP - exposed to the dry environment, without LPBM ; GPL - exposed to the dry environment, and LPBM ; GLI - conservation in whole milk without LPBM ; GLIL - conservation in whole milk and LPBM . Then the canals were prepared and filled with calcium hydroxide paste. The rats were euthanized 15 days after reimplantation . The right hemimaxilla including the central incisor reimplanted was removed, fixed in 10 % formalin and processed for histological hematoxylin - eosin (HE). The slides were evaluated by comparative descriptive analysis, Original magnification of 400X using semi-quantitative criteria for the presence of blood vessels. **Results:** The GP and GLI groups had fewer blood vessels without statistically significant differences between them. While GPL and GLIL groups had higher proliferation of blood vessels, however no statistically significant difference between them was found. However, there was a highly significant difference between groups GP and GPL as well as GLI and GLIL. **Conclusion:** It was concluded that the combination of FBML and whole milk as the storage allows greater formation of blood vessels in the periodontal ligament of reimplanted teeth.

Keywords: Tooth avulsion; periodontal; root resorption; tooth replantation; laser therapy;

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS	10
2.1 Exame histológico.....	14
3. RESULTADOS.....	15
3.1 Análise histológica.....	15
3.2 Análise estatística.....	16
4. DISCUSSÃO.....	17
5. CONCLUSÃO	20
6. REFERÊNCIAS	21
 ANEXOS	 25
Anexo A: Regras da revista.....	25

1. INTRODUÇÃO:

Entre todos os tipos de trauma dentoalveolar, a avulsão dentária, é caracterizada pelo deslocamento completo do dente do seu alvéolo, e também é considerada uma das mais graves, apresentando uma prevalência de 0,5% a 16% [1], estando o seu prognóstico dependente das ações tomadas no local do acidente e imediatamente após o trauma, pois a partir de uma abordagem inicial adequada e no tempo apropriado, pode-se limitar os danos sofridos pelo paciente e prevenir o surgimento de sequelas [2]. O tratamento ideal, nestes casos, é o reimplante imediato do dente avulsionado, ou seja, o reposicionamento do dente em seu alvéolo, possibilitando o restabelecimento da estética e função [3].

Porém, na prática, nem sempre é possível realizar tal procedimento. Dessa forma, dois fatores devem ser considerados para favorecer o melhor prognóstico do reimplante: o meio de conservação para o dente avulsionado até o seu reimplante, o tempo em que ele permanece fora do alvéolo, sendo o fator tempo inversamente proporcional à possibilidade de sucesso [4]. Diferentes meios de conservação têm sido propostos para serem utilizados no reimplante de dentes avulsionados com o objetivo de manter a viabilidade das células presentes sobre a superfície dentária. Dentre eles, os mais indicados são Solução Balanceada de Hanks (HBSS) e o Viaspan por conterem todos os metabólitos essenciais para a manutenção celular. Porém, não se tratam de meios de conservação prontamente acessíveis [5,6]. Por sua vez, o leite bovino é amplamente aceito como meio de conservação, por apresentar baixo conteúdo bacteriano, osmolaridade fisiológica, pH neutro, alguns nutrientes e fatores de crescimento, além de ser facilmente acessível e com eficácia clínica considerada equivalente ao HBSS[7,8].

Ainda assim, mesmo respeitando as condições ideais de tempo e conservação, o sucesso do reimplante dentário é limitado nos dias atuais. Grande parte dos dentes reimplantados é perdida principalmente pela reabsorção radicular externa, o que incita a busca por outras estratégias de tratamento na tentativa de prevenir ou minimizar a reabsorção radicular externa e, conseqüentemente, manter o dente no alvéolo por um período mais longo, sendo a utilização da fotobiomodulação a laser (FBML) uma delas [9,10].

Os possíveis benefícios da laserterapia no reparo periodontal após reimplante dentário têm sido considerados. Este fenômeno ocorre por meio de efeitos fotoquímicos, não térmicos, gerados em função de moléculas com propriedades fotorreceptoras distribuídas nas células. Inicialmente, a radiação produz um efeito primário ou direto, que corresponde ao aumento do metabolismo celular; um efeito secundário ou indireto que gera aumento do fluxo sanguíneo e da drenagem linfática e, por fim, efeitos tardios ou terapêuticos gerais como a ativação do sistema imunológico, promovendo, conseqüentemente, ações de natureza analgésica, anti-inflamatória e cicatrizante [11].

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da associação de dois comprimentos de onda 808 e 660 nm da fotobiomodulação a laser em vasos sanguíneos do ligamento periodontal de incisivos reimplantados de ratos *Wistar*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

Este estudo piloto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) da Universidade Tiradentes (UNIT), com protocolo de número: 041114R. Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*, *albinus*), com idade aproximada de dois meses, pesando entre 200 e 250g. Os animais

foram acondicionados em 04 gaiolas plásticas identificadas de acordo com o grupo e período experimental, perfazendo um total de 5 animais, mantidos em sala climatizada com temperatura controlada aproximada de 22°C ($\pm$ 3°C), em regime de luz com ciclo claro-escuro de 12 horas. As gaiolas foram forradas com maravalha, sendo trocadas diariamente, e os animais receberam água *adlibitum* e dieta padrão Labina® (Purina, São Paulo, Brasil), com exceção das 12 horas pós-operatória, em que os animais receberam apenas água. Após este período, os animais foram alimentados com ração sólida triturada até completar 72 horas; após esse período, dieta normal.

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, de acordo com o tratamento antes e após o reimplante dentário, no que se refere ao meio de conservação e aplicação ou não da fotobiomodulação a laser (FBML).

A distribuição randomizada dos animais em seus respectivos grupos foi realizada por meio da seleção de um envelope lacrado, opaco e numerado de 1 a 20. Para cada numeração existiu um código arbitrário correspondente aos grupos: GP, GPL, GLI e GLIL, como descrito na tabela 1

Tabela 1: Distribuição dos grupos.

GRUPOS	TRATAMENTO	n
GP	Conservação em meio seco, sem FBML	5
GPL	Conservação em meio seco, com FBML	5
GLI	Conservação em leite integral, com FBML	5
GLIL	Conservação em leite integral, sem FBML	5

Os animais foram submetidos à anestesia geral com injeção intraperitoneal de Cloridrato de Quetamina 10% (Cetamin, Syntec, Cotia, SP, Brasil) e Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazina, Syntec, Cota, SP, Brasil), na posologia de 0,06ml/100g e 0,03ml/100g, respectivamente. Em seguida, foram posicionados em decúbito dorsal para realização da antissepsia intraoral da porção anterior da maxila com Digluconato de Clorexidina a 0,12% (FGM produtos odontológicos, Joinville, SC, Brasil). Para a extração do incisivo central superior direito de cada rato, foi utilizado um fórceps pediátrico de número 150 (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil), no qual foi confeccionado um sulco na sua parte ativa para melhor apreensão da coroa dos dentes.

Nos grupos GP e GPL, após a exodontia, os dentes foram mantidos em meio seco, envolvidos por guardanapo, durante 45 minutos. Nos grupos GLI e GLIL, os dentes foram mantidos em 20 mL de leite UHT integral (Cotochés, Ribeirão das Neves, MG, Brasil). Com o objetivo de controlar o crescimento contínuo dos incisivos dos ratos e a necrose do tecido pulpar posterior à extração, decorridos 45 minutos de permanência em seus respectivos meios, a papila dentária de cada dente extraído foi removida com lâmina de bisturi número 15 (Embramac, Itapira, SP, Brasil) e a polpa extirpada via forame apical com o auxílio de uma lima Hedstroem #15 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) pré-curvada [12].

Em seguida, os canais radiculares foram irrigados com soro fisiológico, secos com pontas de papel absorventes estéreis (Tanari, Manaus, AM, Brasil) e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio, (Ultracal) utilizando Capillary Tip (roxa/0,14) através da abertura foraminal [13].

Previamente ao reimplante dos dentes em seus alvéolos, foi realizada uma nova antissepsia da região anterior da maxila com Digluconato de Clorexidina a 0,12% (FGM

produtos odontológicos, Joinville, SC, Brasil) e lavagem do alvéolo com 2 mL de soro fisiológico utilizando seringa descartável para a remoção do coágulo, sendo que nos grupos GPL e GLIL foi aplicado na superfície dentária e na entrada do alvéolo laser de Arseneto de Gálio e Alumínio – AsGaAl – 808nm (MM Optics LTDA, São Carlos, SP, Brasil). O reimplante dos incisivos em seus alvéolos foi realizado com auxílio de uma pinça clínica, com movimento lento e delicado.

Após os reimplantes, nenhuma contenção foi realizada, uma vez que a própria conformação anatômica do dente e de seu alvéolo é suficiente para mantê-lo em sua posição original [2,14,7,15]. Nos grupos GPL e GLIL foi aplicado em um ponto na mucosa vestibular e palatina dos dentes reimplantados laser de – InGaAlP - 660nm (MM Optics LTDA, São Carlos, SP, Brasil), imediatamente após o reimplante e a cada 48 horas até completar cinco sessões. Os animais receberam, ainda, dose única intramuscular de 20.000 UI de penicilina G benzatina (Megacilin Super Plus, Vansil Ind. Com. e Repr. Ltda, Descalvado, SP, Brasil) [13,15].

Para irradiação laser na superfície dentária, os dentes foram colocados em uma placa de Petri contendo gaze estéril de modo que a face proximal ficasse voltada para cima, aplicando-se a irradiação laser DMC - AsGaAl 808 nm (São Carlos, São Paulo-SP, Brasil), nas faces mesial e distal, por contato da ponteira com a superfície dentária. A área a ser irradiada deve corresponder à média do comprimento do dente (1,2 cm), calculada pela fórmula $A = \pi r^2$, dando um resultado de 1,13 cm².

Para irradiação na entrada do alvéolo, previamente ao reimplante dentário, também foi aplicado laser AsGaAl 808nm, conforme os parâmetros contidos no tabela 2. Após o procedimento de reimplante, foi aplicado laser DMC - AsGaInP 660 nm (São Carlos, São Paulo-SP, Brasil) em um ponto na mucosa vestibular e palatina dos dentes

reimplantados, a cada 48 horas até completar cinco sessões, sendo a primeira imediatamente após o reimplante. Para a realização deste procedimento, os animais foram anestesiados com a mesma substância utilizada no procedimento cirúrgico, sendo aplicado um terço da dose utilizada para a exodontia, em função da menor duração do procedimento.

Tabela 2: Protocolo da fotobiomodulação a laser.

PARÂMETROS DE IRRADIAÇÃO	ANTES DO REIMPLANTE	APÓS O REIMPLANTE
Modo de emissão	Contínuo	Contínuo
Comprimento de onda	808 nm	660 nm
Meio ativo	AsGaAl	AsGaInP
Potência óptica do laser (<i>output</i>)	100 mW	100 mW
Diâmetro do ponto do feixe	1,9 mm	1,9 mm
Densidade de potência (DP)	3,6 W/cm ²	3,6 W/cm ²
Densidade de energia (DE)	61 J/cm ²	61 J/cm ²
Tempo por ponto	17 seg.	17 seg.
Tempo total de irradiação	119 s	34 s
Energia total por ponto	1,7 J	1,7 J
Divergência do feixe perpendicular à junção	17°	17°
Ângulo da ponta	50°	50°

Os animais foram eutanasiados de acordo com o período experimental de 15 dias após reimplante em câmara de gás dióxido de Carbono. Após a constatação da morte do animal, indicada pela ausência de movimentos respiratórios, batimentos cardíacos e perda dos reflexos, a porção anterior da hemimaxila direita, incluindo o incisivo central reimplantado, foi removida com auxílio de uma lâmina de bisturi número 15 (Embramac – Itapira – SP – Brasil).

As peças cirúrgicas foram fixadas em solução de formalina a 10% por 7 dias, descalcificadas em solução de ácido nítrico a 5% durante 7 dias, incluídas em parafina e cortadas em secções histológicas longitudinais de 5µm de espessura, semisseriadas de 1/5, em micrótomo. As lâminas foram preparadas e coradas por hematoxilina-eosina (HE) para posterior análise histológica.

2.1. EXAME HISTOLÓGICO

O exame histológico foi realizado em microscopia de luz, utilizando o microscópio Olympus CX31 (Olympus Corporation, Tokyo - Japan), apenas no terço médio da face lingual das raízes, uma vez que esta região não é danificada pelos procedimentos cirúrgicos. Por outro lado, o terço cervical e apical podem ser danificados, respectivamente, pela ação do fórceps durante a extração e pela ação de corte da lâmina de bisturi durante a remoção da papila dentária.

Três secções histológicas de cada peça foram analisadas por um examinador no modelo de avaliação tipo cego, em aumento original de 100X. Foi realizada análise quantitativa de vasos sanguíneos presentes na área de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar como mostrado na fig.1. O cegamento foi realizado por meio de codificação das peças, impossibilitando a identificação das mesmas em relação ao grupo e período experimental pelo examinador.

3. RESULTADOS:

3.1. Análise histológica: Os resultados foram obtidos pela análise de dois campos por microscopia de luz, para todos os grupos experimentais, como descritos anteriormente.

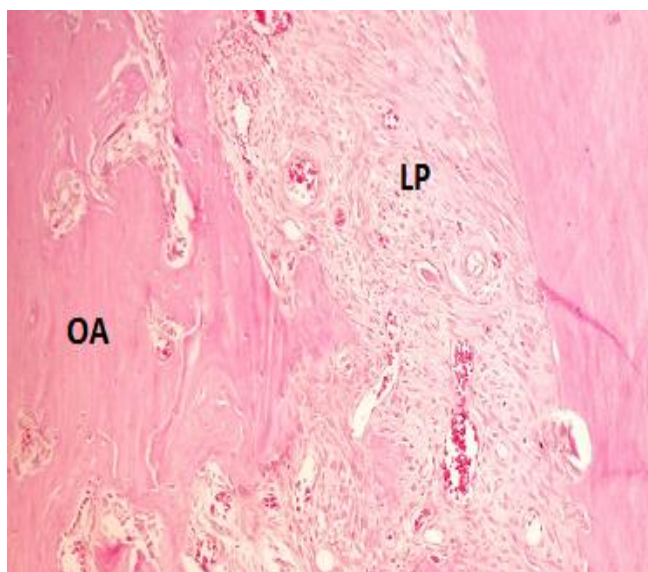


Fig. 1: Fotomicrografia do grupo experimental GPL. Observou-se grande quantidade de vasos sanguíneos em formação. Dentina (D), ligamento periodontal (LP) e Osso alveolar (OA) (Godolphim,2015).

3.2.Análise Estatística: Para análise estatística e comparação entre os grupos, o teste utilizado foi o de Tukey. Nos grupos GPL e GLIL foram observados uma maior quantidade de vasos sanguíneos quando comparado aos demais grupos. Entre os grupos GPL e GLIL não houve diferenças significativas ($p>0.05$), diferentemente dos grupos GP e GPL ($p<0,05$) como podemos observar na tabela 3.

Tabela 3: Comparação entre os grupos.

Comparação x Grupos	Diferença	q		Valor de P
GP X GPL	-7.800	4.743	*	$P<0.05$
GP X GLI	5.400	3.283	-	$P>0.05$
GP X GLIL	-10.800	6.567	**	$P<0.01$
GPL X GLI	13.200	8.026	***	$P<0.001$
GPL X GLIL	3.000	1.824	-	$P>0.05$
GLI X GLIL	-16.200	9.850	***	$P<0.001$

Foi observado que o GP foi o que mais oscilou entre o número mínimo de vasos sanguíneos e o número máximo. Diferentemente dos grupos GPL, GLI e GLIL que essa oscilação foi mínima, como pode ser observado no Gráfico 1.

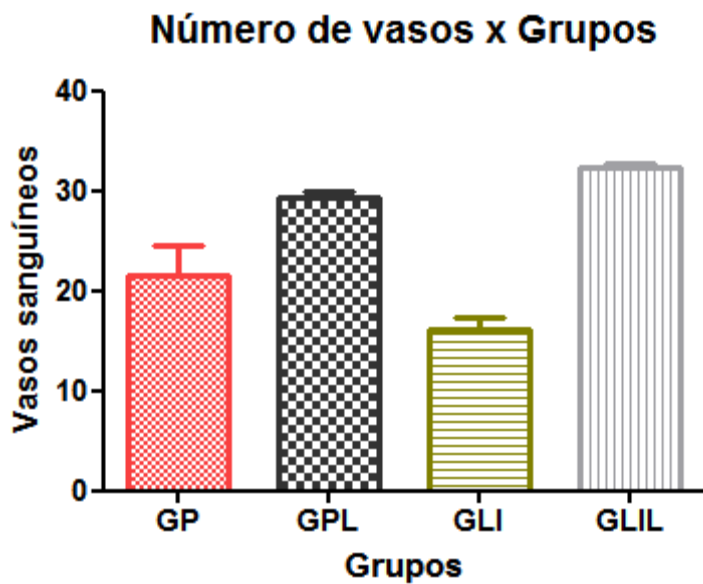


Grafico 1: Representação gráfica do número de vasos sanguíneos: comparação entre os grupos

4. DISCUSSÃO:

O trauma dental é, infelizmente, um acontecimento rotineiro atualmente, e a avulsão dentária é uma das mais graves lesões devido a danos causados no ligamento periodontal, bem como, na polpa e no osso alveolar. É geralmente aceito que o reimplante imediato fornece condições ideais para o reparo do ligamento periodontal. Porém, na prática, nem sempre é possível realizar tal procedimento, seja por conta da dimensão do trauma, que coloca a vida do paciente em risco, ou da complexidade da lesão na área e, ainda, da falta de conhecimento sobre a possibilidade de reimplante [17]. Para minimizar esse problema, tem sido indicada a utilização de soluções de armazenamento e o uso do laser.

Entre os diversos meios de armazenamento prontamente acessíveis, o leite bovino integral tem se destacado [16]. Por conter fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento transformante beta (TGF- β), fator de crescimento derivados de plaquetas (PDGF), fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1) e fator de

crescimento de fibroblastos (FGF) que promovem a proliferação e diferenciação das células do ligamento periodontal e regeneração periodontal. Neste estudo, observou-se que, não houve maior proliferação de vasos sanguíneos no grupo GI em relação ao grupo GP, o que pode ser justificado como uma resposta adaptativa local por meio de um mecanismo fisiológico de compensação à deficiência nutricional [17], visto que o leite integral fornece nutrientes, tais como: aminoácidos, hidratos de carbono e vitaminas [18]. Estudos comprovam que o leite integral é o meio de armazenamento mais indicado para dentes avulsionados, visto que, além de proporcionar o aumento vascular, também evita a reabsorção radicular externa e anquilose, pois, devido a características citadas anteriormente, o leite integral prolonga a viabilidade das células, aumentando assim, as chances para um prognóstico favorável ao reimplante dentário [24].

Estudos anteriores demonstram que, a utilização do laser vem crescendo e se aprimorando devido a inúmeros benefícios que esta tecnologia pode trazer para o organismo humano, tais como: melhor resposta a inflamação, redução de edema, minimização da sintomatologia dolorosa e bioestimulação celular [25,26,27]. Por esse motivo, a terapia a laser apresenta-se como uma alternativa para processos que apresentem reação inflamatória, dor e necessidade de regeneração tecidual, como é o caso dos reimplantes dentários.

No presente estudo, foi utilizado laser com comprimento de onda de 808 nm nas faces mesial e distal da superfície radicular por possuir maior poder de penetração, sendo indicado para tecidos mais profundos como os tecidos periodontais. Já o laser com comprimento de onda 660 nm foi utilizado na entrada do alvéolo e na mucosa vestibular e palatina dos dentes reimplantados, pois este comprimento de onda tem

potencial de ação anti-inflamatória e acelerador de reparo em tecidos mais superficiais [19].

De acordo com estudos anteriores, fica clara a importância da análise quantitativa de vasos sanguíneos no processo de reparo. Visto que, tais achados sugerem uma maior velocidade no processo de reparo tecidual, traduzida por um aumento da proliferação de células e neovascularização [20], geradas a partir de mediadores químicos e fatores de crescimento, como: TGF- β s, MCP-1, IL-8, CTGF, CYR61, GM-CFS, FGF2, VEGF-A, PLGF, HGF, Angiopoetinas, GRO-a e IP-10 [28]. Tendo em vista que a nova formação de vasos foi mais evidente nos grupos em que houve aplicação da laserterapia.

Com base nos resultados deste trabalho, em 15 dias após reimplante dentário, pôde-se observar neoformação vascular significativamente maior nos grupos irradiados com laser de baixa potência (GPL e GLIL). Corroborando este resultado, Ruthineia et al [19] afirma que em nível vascular o laser de baixa potência estimula a proliferação das células endoteliais, resultando na formação de muitos vasos sanguíneos e na produção de tecido de granulação, estimulando o relaxamento da musculatura vascular lisa, o que contribui para os efeitos analgésicos da terapia a laser. A nova formação vascular ou angiogênese serviria como fonte de nutrientes e oxigênio, além de meio de condução de células fibroblásticas, contribuindo para o processo cicatricial [19].

Os presentes resultados demonstram que a o leite integral pode ser usado como meio de armazenamento para dentes avulsionados e que ação da laserterapia potencializa e acelera os efeitos de reparo e cicatrização aumentando o número de vasos sanguíneos.

A partir dos resultados obtidos, tornam-se necessários novos estudos no que se refere à reabsorção radicular, anquilose, reação inflamatória em diferentes períodos de observação, para avaliar as vantagens e desvantagens dos materiais e técnicas utilizados no reimplante dentário, para posterior aplicação clínica.

5. CONCLUSÃO:

Em conjunto, os resultados sugerem que a associação de dois comprimentos de onda da FBML em dentes reimplantados, aumentou o número de vasos sanguíneos na região de ligamento periodontal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Baginska J, Wilczynska-Borawska M (2012) First-aid algorithms in dental avulsion. *Journal of school nursing* 28(2): 90-94.
2. Petrovic B, Markovic D, Peric T, Blagojevic D (2010). Factors related to treatment and outcomes of avulsed teeth. *Dental Traumatology* 26(1): 52-59.
3. Andersson L, Andreassen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, Diangelis AJ, et al (2012) International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental Traumatology* 28(2): 88-96.
4. Petrovic B, Markovic D, Peric T, Blagojevic D (2010). Factors related to treatment and outcomes of avulsed teeth. *Dental Traumatology* 26(1): 52-59.
5. Udoyce CI, Jafarzadeh H, Abbott PV (2012) Transport media for avulsed teeth: A review. *Australian Endodontic Journal* 38(3): 129-136.
6. Malhotra N. (2011) Current developments in interim transport (storage) media in dentistry: an update. *British Dental Journal* 211(1): 29-33.

7. Santos CL, Sonoda CK, Poi WR, Panzarini SR, Sundefeld ML, Negri MR (2009) Delayed replantation of rat teeth after use of reconstituted powdered milk as a storage medium. *Dental Traumatology* 25(1): 51-57.
8. Souza BDM, Luckemeyer DD, Felipe WT, Alves AMH, Simões CMO, Felipe MCS (2012) Effect of milk renewal on human periodontal ligament fibroblast viability in vitro. *Dental Traumatology* 28(3): 214-216.
9. Hecova H, Tzigkounakis V, Merglova V, Netolicky J (2010) A retrospective study of 889 injured permanent teeth. *Dental Traumatology* 26(6): 466-475.
10. Vilela RG, Gjerde K, Frigo L, Leal Junior ECP, Lopes-Martins RAB, Kleine BM, et al (2012) Histomorphometric analysis of inflammatory response and necrosis in re-implanted central incisor of rats treated with low-level laser therapy. *Lasers in Medical Science* 27(3): 551-557.
11. Almeida-Lopes L, Lopes A (2006) Técnica da drenagem linfática ativada por laserterapia. In: Dib LL, Saddy MS (Org.). *Atualização Clínica em Odontologia*. Sao Paulo: Artes Medicas,, cap. 14.
12. Saito CTMH, Gulinelli JL, Panzarini RS, Garcia VG, Okamoto R, Okamoto T, et al (2011) Effect of low-level laser therapy on the healing process after tooth replantation: a histomorphometrical and immunohistochemical analysis. *Dental Traumatology* 27(1): 30-39.
13. Gulinelli JL, Panzarini SR, Fattah CMRS, Poi WR, Sonoda CK, Negri MR, et al (2008) Effect of root surface treatment with propolis and fluoride in delayed tooth replantation in rats. *Dental Traumatology* 24(6): 651-657.
14. Ricieri CB, Sonoda CK, Aranega AM, Panzarini SR, Poi WR, Sundefeld MLMM, et al (2009) Healing process of incisor teeth of diabetic rats replanted after storage in milk. *Dental Traumatology* 25(3): 284-289.

15. Mori GG, Nunes DC, Castilho LR, Moraes IG, Poi WR (2010) Propolis as storage media for avulsed teeth: microscopic and morphometric analysis in rats. *Dental Traumatology* 26(1): 80-85.
16. Moura CCG, Soares PBF, Reis MVP, Fernandes J, Barbosa DZ, Soares CJ (2013) Pontial of oconut wter and soy milk for use as storage media to preserve the viability of periodontal ligament cells: na in vitro study 30:22-26
17. Flores AJ, Lavernia CJ, Owens PW (2000) Anatomy and physiology of peripheral nerve injury and repair. *The American Journal of Orthopedics* 167-173,.
18. Marino TG, West LA, Liewehr FR et al. (2000) Determination of periodontal ligament cell viability in long shelf-life milk. *J Endod.* Dec 26(12):699-702.
19. Lins RDAU, Lucena KCR, Garcia AFG, Dantas EM, Catão MHCV, Carvalho LG (2011) Effect of low-level laser therapy on the healing process after tooth replantation: a histomorphometrical and immunohistochemical analysis. *Dental Traumatology* 27:30-39.
20. Rocha AM, Andrade LCF, Oliveira RG, Aarestrup Fm, Farias RE (2006) Modulação da proliferação fibroblástica e da resposta inflamatória pela terapia a laser de baixa intensidade no processo de repro tecidual. *Anais Brasileiro de dermatologia* 81(2):150-6
21. Bolton P, Young S, Dyson M (1995) The direct effect of 860 nm light on cell proliferation and on succinic dehydrogenase activity of human fibroblasts in vitro. *Laser Ther* 7:55- 60.
22. Walsh LJ (1997) The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Austr Dental J.*42:247-54.
23. Maegawa, Y, Itoh, T, Hosokawa T, et al (2000) Effects of nearinfrared low-level laser irradiation on microcirculation. *Lasers Surg. Med.* 27, 427–437.

24. Silva, EJNL, Rolemberg CB, COUTINHO TS, Krebs RL, Zaia AA Use of soymilk as a storage for avulsed teeth (2013). *Acta Odontologica Scandinavica* 71:1101-1104.
25. Morais M, Ribeiro MAG, Conti P, Stuginski-barbosa J, Porporatt A L, Costa YM., Bonjardim, LR. (2014). Evaluation of low-level laser therapy effectiveness on the pain and masticatory performance of patients with myofascial pain. *Lasers in Medical Science*, v. 29, p. 29-35.
26. Maia LGM, Alves AVF; Bastos TS; Moromizato LS, Lima-verde IB, Ribeiro, MAG ; Gandini LGJ ; Albuquerque-júnior RLC (2014). Histological analysis of the periodontal ligament and alveolar bone during dental movement in diabetic rats subjected to low-level laser therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology JCR*, v. 135, p. 65-74.
27. Santana WA, Cardoso, JC ; Ribeiro, MAG, Albuquerque, RLC (2014) Effect of combined application of dressing films based on mucous secretion of *achatinafulica* and low level laser therapy on wound. *american international journal of contemporary research (print)*, v. 4, p. 17-27.
28. Balbino CA, Pereira LM, Curi L Mechanisms involved in wound healing: a revision (2005). *Rev. Bras. Cienc. Farm.* Vol. 41 n 1

ANEXOS

Anexo A – Normas da revista.



INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Photomedicine and Laser Surgery provides rapid publication of new and cutting-edge techniques and research in phototherapy, low level laser therapy (LLLT), and laser medicine and surgery.

Book reviews are published as space permits.

EXCLUSIVE PUBLICATION

Manuscripts should be submitted with the understanding that they have neither been published, nor are under consideration for publication elsewhere, except in the form of an abstract. Prior abstract publications should be described in the form of a footnote to the title. Published manuscripts become the sole property of the Journal and will be copyrighted by Mary Ann Liebert, Inc. By submitting a manuscript to the Journal, the author(s) agree(s) to each of these conditions. In addition, the author(s) explicitly assign(s) any copyrighted ownership he/she (they) may have in such manuscript to the Journal.

USE OF ENGLISH LANGUAGE

All submissions must be in English. Appropriate use of the English language is a requirement for review and publication in ***Photomedicine and Laser Surgery***. For authors whose native language is not English, we suggest using a service that can aid in the translation and rewriting of material into correct and proper English usage. The Publisher offers this service with a subsidy

from the author prior to official submission. It is important to note that employing the use of the Publisher's service does not guarantee acceptance of any paper. All submissions are subject to peer review.

NOTE: Plagiarism Detection

All accepted manuscripts will be processed through plagiarism detection software, and any notice of acceptance is considered conditional, pending the review and verification of the plagiarism detection report. If the report detects a high incidence of overlap in text, the Editor-in-Chief reserves the right to rescind the decision to accept the paper.

Text "Recycling"

Text recycling may be discovered in a submitted manuscript by editors and/or reviewers, or by the use of plagiarism-detection software. If any discovered overlap is considered minor, action may not be necessary, or the authors may be asked to rewrite the overlapping sections and cite their previous article(s) if they have not already done so.

More significant overlap may result in immediate rejection, or rescinding of a decision to accept.

Please follow the requested style to avoid any delays in publication. Consult a current issue of the journal for the exact format.

We endorse the "Uniform Requirements of Manuscripts Submitted to Biomedical Journals."

Prepare manuscripts double spaced throughout. Please submit text of manuscripts in Microsoft Word. The title page should include the title of the manuscript, all authors' names and complete affiliations, the source of a work or study (if any), and a running title of about 45 characters. The corresponding author should also be designated on the title page. The second page should consist of a structured abstract of no more than 250 words which should be self-explanatory without reference to the text. The structured format for the abstract consists of 1) the objective of one or two sentences; 2) the background data is a short paragraph describing the present status of the field; 3) methods is a statement of the plan and/or methods used in the study; 4) the results is a concise summary of the essential features verified by the data; and 5) the conclusions is a brief description of the objective findings of the study. References are not permitted in the abstract.

Manuscripts should follow this format: abstract, introduction, materials and methods, results, discussion, conclusion and summary, acknowledgments, author disclosure(s), and a complete list of cited references, prepared in the proper journal style (see <http://endnote.com/downloads/style/photomedicine-and-laser-surgery>). Number pages consecutively. At the end of the paper, give the name and address of the individual to whom reprint requests should be directed. Authors are encouraged to suggest the names of appropriate reviewers.

GUIDELINES ON LENGTH

Manuscript length varies according to the type of paper, subject matter and authors' judgment. Original research papers are generally less than 3000 words; review papers may be longer (up to 6000 words and should have a 150-word abstract); only rare, novel, or exceptional Case Reports of up to 1500 words will be considered; Short Reports should be less than 1000 words with no more than one table or illustration and up to 10 references. We are happy to entertain unsolicited editorials of up to 1000 words, which will be externally peer reviewed. Letters to the Editor should be no longer than 500 words with no more than 5 references except in exceptional circumstances when the argument for this should be laid out in an accompanying letter. One table or illustration may accompany letters. Personal view papers, drug/therapy/intervention reports, critical review and debate and reports drawing attention to potential clinical problems are welcomed.

PARAMETERS

All submitted manuscripts must include a detailed description of the treatment (light or energy delivery) as well as the device used in performing such treatment (light or energy delivery). A description of the device must include the name of the manufacturer, the manufacturer's geographical location, the equipment model, power output, the wavelength of the light source, including a description of the source, e.g., solid state, gas, laser diode, light-emitting diode, etc., and the shape, size and type of treatment applicator (delivery system or device) used in delivering treatment. Similarly, a detailed description of treatment parameters is necessary; and should at minimum include:

- The irradiance or power density measured in W/cm^2 ,
- The dose in the form of energy density or fluence measured in J/cm^2 ,
- The duration of each treatment session, preferably measured in seconds,
- The frequency of treatment (i.e., the number of times treatment was done per week), and
- The cumulative dose given, i.e., the individual doses multiplied by the number of treatment sessions.

It is highly recommended that the parameters used be provided in the form of a table in addition to their inclusion in the text of the Materials and Methods section of the manuscript.

Please refer to the following references for additional information and guidance in the reporting of parameters prior to submission of manuscripts:

1. Enwemeka CS. Standard parameters in laser phototherapy. *Photomed Laser Surg* 2008;26:411-412.
2. Enwemeka CS. Intricacies of dose in laser phototherapy for tissue repair and pain relief. *Photomed Laser Surg* 2009;27:387-393.
3. Huang YY, Chen ACH, Carroll JD, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose Response* 2009;7:358-383.
4. Jenkins PA, Carroll JD. How to report low-level laser therapy (LLLT)/ Photomedicine dose and beam parameters in clinical and laboratory studies. *Photomed Laser Surg* 2001;29:785-787.
5. WALT. Standards for the design and conduct of systematic reviews with low-level laser therapy for musculoskeletal pain and disorders. *Photomed Laser Surg* 2006;24:759-760.
6. WALT recommended treatment doses for low level laser therapy:
<http://waltza.co.za/documentation-links/recommendations/>

TABLES

Tables should be submitted in Microsoft Word and provided in one separate file from the main text of the manuscript. Tables should be cited in the text in order and identified as Table 1, Table 2, etc. Along with the table number, each table should have a title.

FIGURES

Please follow these instructions for submitting illustrations:

- Do not embed figures in the Microsoft Word text files.
- Do not prepare any figures in Microsoft Word.
- Prepare figures in either .tiff or .eps format.

- Line illustrations must be submitted at 900 DPI.
- Black and white halftones and color art must be submitted at 300 DPI.
- PowerPoint and Excel files cannot be uploaded.
- Color art must be saved as CMYK—not RGB.
- **Please name your artwork files with the submitting author's name**, followed by the figure number (e.g., SmithFig1).

FIGURE LEGENDS

Legends for illustrations with numbers corresponding to the figures should be uploaded as a separate file.

ABBREVIATIONS

Abbreviations of journal titles should follow the style of *Medline* or the Council of Biology Editors Style Manual (Arlington, VA, American Institute of Biological Sciences). The first time an uncommon abbreviation appears, it should be preceded by the full name for which it stands.

DISCLOSURE STATEMENT

Immediately following the Acknowledgments section, include a section entitled "Author Disclosure Statement." In this portion of the paper, authors must disclose any commercial associations that might create a conflict of interest in connection with submitted manuscripts. This statement should include appropriate information for EACH author, thereby representing that competing financial interests of all authors have been appropriately disclosed according to the policy of the Journal. It is important that all conflicts of interest, whether they are actual or potential, be disclosed. This information will remain confidential while the paper is being reviewed and will not influence the editorial decision. Please see the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at <http://www.icmje.org> for further guidance. If no conflicts exist, the authors must state "No competing financial interests exist."

REFERENCES

The reference section must be typed double spaced and references cited within text should be numbered consecutively as they appear. Those appearing for the first time in tables and figures must be numbered in sequence with those cited in the text where the table or figure is mentioned. All numbered in-text citations should be superscript with no parentheses. List all the authors when there are six or fewer. When there are seven or more, list the first three, then "et al." Sample references are:

1. Lahita R, Liuger J, Drayer DE, Koffler D, Reidenberg MM. Antibodies to nuclear antigens in patients treated with procainamide. *J Cardiovasc Ultrason* 1982;1:12-20.
2. Bearns AG. Wilson's disease. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. JB Stanbury, JB Wynnegaarden, DS Frederickson (eds.). New York: McGraw-Hill, 1972; pp. 1033-1050.

References to government publications should include the department, bureau or office, title, location of publisher, publisher, year, pages cited, and most important, the publication series, report, or monograph number.

Numbered references to personal communications, unpublished data and manuscripts either "in preparation" or "submitted for publications" are unacceptable. If essential, such material may be incorporated in the appropriate place in the text.

IMPORTANT:

Please upload individual files of all manuscript material — do NOT upload a single PDF file containing all text, figure, and table files of your paper. Once all individual files are uploaded on to Manuscript Central, the system will automatically create a single PDF proof for you and the

peer-review process.

COPYRIGHT

Upon acceptance of any manuscript processed through Manuscript Central, all authors will receive a follow-up email with instructions on completing our online Copyright Agreement form. **Each author will receive individualized links to their copyright form. Authors will not be permitted to “share” or forward these individualized links as they are unique to each author. Therefore, it is critical to ensure the accuracy of ALL authors’ email addresses when uploading submissions to ensure the proper delivery of each copyright form, and any other pertinent email communications.**

To complete the pending copyright form, please log on to the system using the author’s credentials. Enter your Author Center and complete the forms located under “Manuscripts I Have Coauthored,” or “Manuscripts with Decisions” if you are listed as the corresponding author on the paper.

The corresponding author is responsible for communicating with coauthors to ensure they have completed the online copyright form. Authors not permitted to release copyright must still return the form acknowledging the statement of the reason for not releasing the copyright.

Failure by all authors to submit this form will result in a delay in publication.

CORRESPONDING AUTHORSHIP

It is the Journal’s policy that **a manuscript has only ONE corresponding author** listed on a paper. This designation should be determined at the time of submission. Additions to corresponding authors are not permitted after acceptance or in page proofs.

PATIENT RELEASE INFORMATION

If applicable, it is incumbent upon the author(s) to obtain patient release statements of permission to reproduce any identifiable images of patients. The submitting author should provide written confirmation of this critical information. Acceptable forms of consent statements are emails or letters. The Journal does not provide a generic patient release form.

The written consent must contain specific information about the patient's name, age, and if pertinent, conservatorship -- as well as stated permission -- granting the Journal the rights to publish the photograph within its pages (which includes the name of the Journal and article title).

PERMISSIONS

Materials taken from other sources must be accompanied by a written statement from both author and publisher giving permission for reproduction. If clearances are required by the author’s institution, statements concerning such clearance should be provided in the manuscript. Obtain and submit written permission from authors to cite unpublished data or papers still in press.

PAGE PROOFS

Page proofs will be sent to the (one) corresponding author as designated when the manuscript was uploaded to Manuscript Central. It is the corresponding author’s responsibility to share the page proofs with co-authors and to coordinate all authors’ corrections into one proof. The Publisher will not accept corrections from multiple authors.

Changes in authorship in page proofs are NOT permitted under any circumstance.

REPRINTS

Reprints may be ordered by following the special instructions that will accompany page proofs, and should be ordered at the time the corresponding author returns the corrected page proofs to the Publisher. Reprints ordered after an issue is printed will be charged at a substantially higher rate.