



## Estudo in vitro da influência da vibração ultrassônica em osteoblastos humanos

## In vitro study of the influence of ultrasonic vibration on human osteoblasts

DOI: 10.54022/shsv3n2-031

Recebimento dos originais: 03/02/2022

Aceitação para publicação: 03/03/2022

### José Ricardo Mariano

Doutor em Odontologia, Área de concentração Implantodontia  
Instituição: Centro Universitário Unieuro, (UNIEURO), Brasília, DF  
Endereço: SDN CONUNTO NACIONAL 4022 Brasília, DF CEP: 70077-900  
E-mail: mariano.josericardo@gmail.com

### Delano Torres Beckenkamp

Doutorando em Implantes Dentários  
Instituição: São Leopoldo Mandic, Campinas, SP  
Endereço: Folha 27, Qd, 18, It 06, Marabá, PA, CEP: 68503-660  
E-mail: delanotb@hotmail.com

### Hugo Eduardo de Miranda Peixoto

Doutor em Odontologia, Área de concentração Implantodontia  
Instituição: São Leopoldo Mandic, Campinas, SP  
Endereço: Rua Parintins 591, Curitiba, PR CEP: 80320-270  
E-mail: hugo.e.peixoto@hotmail.com

### Joao Paulo Lyra e Silva

Doutor em Odontologia – Área de concentração Materiais Dentários  
Universidade Estadual de Campinas, (UNICAMP), Campinas, SP  
Endereço : QNO 15, CONJ C, CA 7, Ceilândia, DF, CEP: 72215-521

### Aliin Lima Nahum

Mestrando em Odontologia, Área de concentração Periodontia  
Instituição: São Leopoldo Mandic, Campinas, SP  
Endereço: Rua D 534, Parauapebas, PA, CEP: 68515-000  
E-Mail: allin.nahum@icloud.com

### Valmon Francisco de Matos Junior

Cirurgião- Dentista  
Instituição: Centro Universitário Unieuro, (UNIEURO), Brasília, DF  
Endereço: SHIS QI 3, CONJ 7, CA 25, Lago Sul, Brasília, DF: 71680-361  
E-mail: valmonmatos1@gmail.com

**José Luiz Magnabosco**

Mestrando em Odontologia – Área de concentração Prótese dentária  
Instituição: São Leopoldo Mandic, Campinas, SP  
Endereço: Av. Castelo Branco, 1570, Marbá, PA, CEP: 68500-000  
E-mail: joseluizmagnabosco@hotmail.com

**Bruno Coelho Teixeira**

Mestrando em Odontologia, Área de concentração Periodontia  
Instituição: São Leopoldo Mandic, Campinas, SP  
Endereço: Av Tocantins 472, Marabá, PA, CEP: 68503-660  
E-Mail: brncteixeira@gmail.com

**RESUMO**

A proposta deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a influência da força de vibração sônica no processo inflamatório em cultura de células osteoblásticas humanas. Foi empregado o dispositivo AcceleDent®, que utiliza a aplicação de forças pulsantes para acelerar a movimentação dentária e a remodelação óssea a uma frequência ligeiramente inferior, de 1 a 2 Hz. Células pré-osteoblásticas (MC3T3-E1, ATCC, EUA) foram plaqueadas em uma densidade inicial de 110 células/mm<sup>2</sup> e após 24h de cultivo, o meio de cultura foi trocado para aplicação diária da força sônica, utilizando-se o aparelho AcceleDent®, durante 20 minutos, conforme recomendação do fabricante. Após 3, 7 e 10 dias de experimento, as células foram avaliadas quanto à proliferação e viabilidade celulares, utilizando-se os métodos de exclusão vital por azul de Trypan e MTT, respectivamente. Em seguida, a expressão de IL-1 e IL-17 pelas células osteoblásticas, após submetidas às forças sônicas, foi analisada pelo imunoensaio enzimático de Elisa. Como controle, um grupo de células osteoblásticas não foi submetido a qualquer tratamento. Os dados quantitativos foram submetidos à análise estatística (ANOVA *two-way*, pós-teste Tukey,  $p < 0,05$ ). Os resultados mostraram não haver diferença na proliferação celular quando da aplicação da força sônica quando comparado ao controle, em nenhum tempo experimental, sendo somente evidenciado aumento da viabilidade celular após 10 dias do experimento. A expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 e IL-17 foram significativamente superiores em relação ao grupo controle, especificamente no tempo 3 dias para a IL-1 e, no tempo 7 dias para a IL-17. Sugere-se um potencial papel para AcceleDent® em acelerar remodelação óssea, evidenciado no presente estudo pelo aumento da expressão de citocinas que estimulam reabsorção óssea.

**Palavras-chave:** ultrassom, acceleDent®, osteogênese, inflamação.

**ABSTRACT**

The objective this *in vitro* study was to evaluate the influence of sonic vibration force on the inflammatory process in osteoblasts cell cultures. The device applied on was AcceleDent®, which exerts vibration force at a low frequency from 1 up to 2 Hz for accelerating dental movement and bone modeling. The pre-osteoblastic cell (MC3T3-E1, ATCC, USA) were plated at a initial density of 110 cells/mm<sup>2</sup> and, after 24h in growth, the culture medium was exchanged for applying the AcceleDent device during 20 minutes daily according to the manufacturer's recommendations. After 3, 7 and 10 days in the culture medium, the cells were



tested for cell proliferation and viability through, respectively, the Trypan Blue Exclusion method and the MTT assays. Moreover, the expression of IL-1 and IL-17 by the cells under the sonic forces were assessed by ELISA enzymatic immunoassay. The quantitative data were submitted to two-way analysis of variance (ANOVA), followed by a Tukey post-hoc test at 5% significance level. The results showed no difference in cell proliferation when the sonic force was exerted when compared to the control. After 10 days, it was observed an increase in cell viability in the sonic force group when compared to the control. The expression of proinflammatory cytokines IL-1 and IL-17 were significantly higher than the control group when applied the sonic force, precisely at day 3 for IL-1 and at day 7 for IL-17. The results suggest that AcceleDent<sup>®</sup> has an important role in accelerating bone remodeling through increasing the expression of cytokines which induce bone reabsorption.

**Keywords:** ultrasound, acceleDent<sup>®</sup>, osteogenesis, inflammation.

## 1 INTRODUÇÃO

Desde meados do século XX, surgiram na odontologia aparelhos que geram vibrações sônicas lineares bidirecionais, conhecidos como sistemas piezoelétricos. Estes dispositivos eram utilizados inicialmente para preparo de cavidades e desgastes dentários, uma vez que a pequena vibração em baixa frequência dos aparelhos sônicos resultam na diminuição da dor e menores danos teciduais (Mesquita et al., 2006). Entretanto, em 2011, Jeremy Mao apresentou um equipamento, o AcceleDent<sup>®</sup> que aplica o conceito do uso da força de vibração sônica de baixa intensidade para acelerar a movimentação de dentes durante o tratamento ortodôntico. O aparelho usa a aplicação de forças pulsantes, para tornar a movimentação dos dentes mais rápida através de remodelação óssea acelerada. Esta ciência já tem sido aplicada em outras partes do corpo, por exemplo, para acelerar a reparação da fratura e da densidade óssea nos ossos longos.

O princípio da movimentação ortodôntica pelo aparelho de pulsação sônica de baixa intensidade é o mesmo que o utilizado pelas formas biomecânicas aplicadas na clínica, desencadeando uma reação inflamatória sob efeito de pressão gerada pelo sistema, resultando assim na reabsorção óssea e consequente, movimentação dentária (Ruellas, 2013). Esse estímulo se caracteriza pela liberação de citocinas e mediadores químicos que participam do processo de reabsorção e de remodelação óssea, essencial para a movimentação



dentária.

O estímulo primário, que corresponde à força exercida, engendra a liberação de ácido araquidônico pela membrana plasmática, que é o precursor das prostaglandinas. As prostaglandinas aumentam a permeabilidade vascular por vasodilatação e ligam-se a receptores específicos das células inflamatórias. A força aplicada na movimentação ortodôntica causa, então, compressão vascular e inflamação local, elevando a concentração de mediadores químicos indutores da quimiotaxia e da diapedese das células inflamatórias (Lee, 1990). Além desta, durante a movimentação ortodôntica, interleucinas (IL)- 1, e o fator de necrose tumoral (TNF) encontram-se aumentados e estimulam a reabsorção óssea (Başaran et al., 2006).

Assim, devido a escassez de pesquisas que elucidem o papel dos aparelhos sônicos pulsados de baixa intensidade em eventos moleculares e celulares durante a osteogênese e remodelação óssea, o objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a influência da força de vibração sônica em cultura de células osteoblásticas na expressão de IL-1 e IL-17.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

O ligamento periodontal é uma estrutura que dá sustentação a cada elemento dental, conectando-os ao osso alveolar. Ele é constituído por uma rede de fibras colágenas dispostas de forma paralela e que se inserem no cimento radicular e na lamina dura (Proffit et al., 2007). Essa estrutura de ligamentos permite a normal movimentação de cada elemento dental. Também há no ligamento periodontal uma rede de vasos sanguíneos e terminações nervosas, responsáveis pela sensação dolorosa, assim como células mesenquimais indiferenciadas, fibroblastos e osteoblastos (Proffit et al., 2007).

Segundo Moyers (1991) as células odontoblásticas e osteoclásticas são responsáveis pela remodelação da matriz óssea e colágena, remodelando assim o alvéolo ósseo e o cimento radicular, diante das forças naturais. Estas forças são o resultado das forças transmitidas através da oclusão dos dentes, deglutição, fala, mastigação e respiração, estas originadas pelos músculos. Há também forças provenientes do interior dos dentes, como a erupção. Já as forças anormais são constituídas por interposição lingual, sucção digital, disfunção oclusal



traumática, bruxismo e forças induzidas com fins terapêuticos.

Amadei et al. (2006) descreveram os fatores que influenciam a fisiologia da remodelação óssea e da movimentação ortodôntica consistindo na reabsorção pelos osteoclastos e, na conseqüente formação pela neoformação de uma nova matriz óssea pelos osteoblastos. Essa interação dos osteoblastos e osteoclastos é crucial para a renovação, tanto durante o desenvolvimento ósseo quanto durante os processos inflamatórios de remodelação óssea.

Os osteoblastos são células que sintetizam matriz óssea. Estes se proliferam, mediados por Fator de transformação de crescimento-beta (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento derivado de insulina (IGF-I e II), o fator de crescimento fibroblástico (FGF) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Esses fatores, além de auxiliar na formação óssea, também impedem a apoptose da célula osteoblástica. A partir desses estímulos, as células secretam fosfatase alcalina, ácido hialurônico, sulfato de condroitina, osteopontina, osteonectina, sialoproteína óssea, pró-colagenase, ativador de plasminogênio e proteína morfogenética do osso (BMP), entre outras (Kessel, 2011).

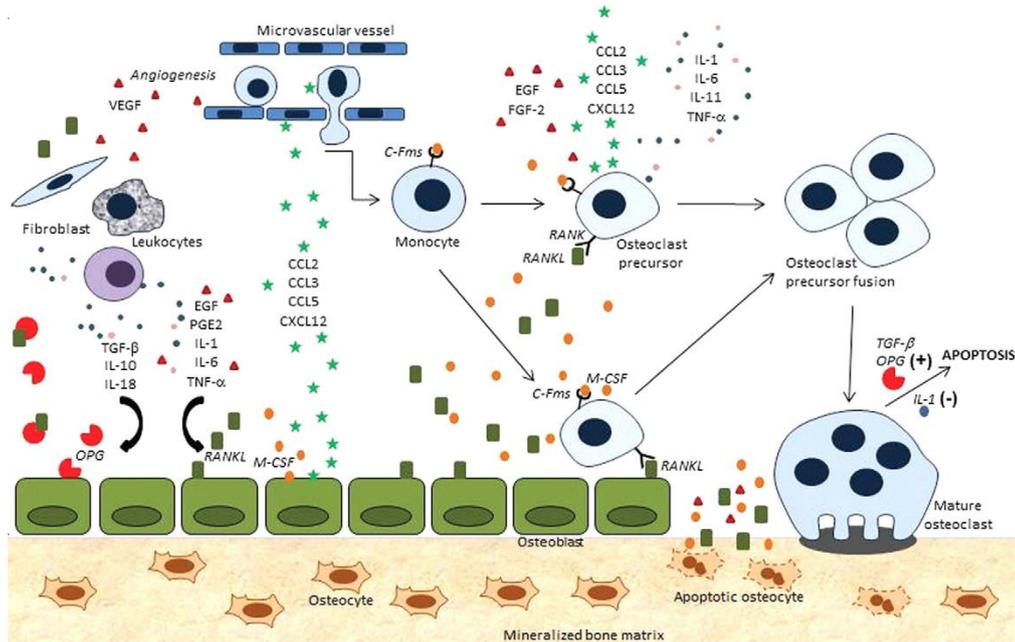
Durante o processo inflamatório, os osteoblastos sintetizam e secretam citocinas na camada osteoide não-mineralizada, as quais tem o papel de induzir e controlar a diferenciação dos osteoclastos. Os principais fatores responsáveis pela gênese de osteoclastos são osteoprotegerina (OPG), receptor ativador de fator de necrose tumoral (NF-kB [RANK]), e a citocina ligante RANK (RANKL), tendo como principal papel a inibição da apoptose destas células. Através das integrinas presentes na membrana celular, há o reconhecimento das proteínas da matriz óssea extracelular formando adesões focais, onde serão criadas as lacunas de reabsorção. Há então a estimulação dos osteoclastos por calcitrol, paratormônio (PTH), fator de necrose tumoral (TNF), prostaglandina E2, além das interleucinas (IL-) 1, 11 e 6 (Bandeira et al., 2000; Lins et al., 2007).

A reabsorção óssea pelos osteoclastos ocorre em diversas etapas, incluindo o recrutamento e a diferenciação dos precursores hematopoiéticos de linhagem dos monócitos-macrófagos em pré-osteoclastos (células mononucleares) e, sucessivamente, na fusão dos pré-osteoclastos em osteoclastos multinucleados, ou seja, osteoclastos maduros, que se caracterizam por ter uma borda repleta de invaginações na sua membrana plasmática. A

diferenciação dos osteoclastos a partir das células-tronco se dá por várias moléculas e proteínas, entre elas o MCSF (fator dos macrófagos estimulador de colônias) (Ross, Pawlina, 2012).

Segundo Ross & Pawlina (2012), após o seu recrutamento, os osteoclastos se fixam à superfície do osso, desencadeando a síntese e a expressão do RANKL pelos osteoblastos. Osteoblastos regulam positivamente a atividade dos osteoclastos ao secretarem RANKL, o ativador-chave da diferenciação dos osteoclastos, e negativamente pela expressão de osteoprotegerina (OPG), que inibe o RANKL. Este ligante se liga ao receptor ativador do fator nuclear KB (RANK), secretado pelos precursores dos osteoclastos, o qual estimula a sua diferenciação em osteoclastos maduros. Portanto, tanto o RANK como o RANKL, proteínas de superfície celular, são os reguladores essenciais para a formação e para atuação de osteoclastos.

Figura 1 – Processo de osteoclastogênese e reabsorção óssea.



Fonte: Andrade et al., 2012, p. 259.

Figura 2 – Ação da IL-17 na osteoclastogênese.

Reher et al. (1997) realizaram um estudo controlado para avaliar os efeitos do ultrassom (SATA®, EUA) em diferentes intensidades durante 5 dias em calvárias de ratos e cultura de tecidos afim de serem analisados os seguintes



parâmetros: síntese de colágeno e de proteínas não colagenosas (NCP), bem como, as alterações de temperatura associadas a aplicação deste aparelho. Verificou-se que quando o ultrassom foi utilizado na potência de 0,1 W/cm<sup>2</sup>, pulsado, na frequência de 1:4,3 MHz durante 5 min, significativamente estimulou a formação óssea, representado pelo aumento da síntese de colágeno e das NCP. No entanto, ultrassom pulsado com doses mais elevadas (1,0-2,0 W/cm<sup>2</sup>) inibiu significativamente a síntese destas proteínas.

Man et al. (2012), por sua vez, pesquisaram os efeitos da migração de osteoblastos sob frequência pulsada de ultrassom de baixa intensidade – 1 MHz em culturas de MC3T3-E1 provenientes de calvárias de ratos por 30 minutos. Eles concluíram que a aplicação *in vitro* do ultrassom acelerou a proliferação e a migração osteoblástica.

O mecanismo da osteogênese induzida mecanicamente por vibração não é totalmente compreendido, de acordo com Gusmão et al. (2012). Em resposta ao estímulo mecânico, há indução da síntese de PGE-2 culminando no influxo de cálcio para o espaço intra-celular. Esta citocina pró-inflamatória é responsável por 50-90% do mecanismo indutor da osteogênese, sendo, portanto a prostaglandina mais importante no mecanismo mecanotransdutor, estando tanto relacionada ao processo da neo-formação quanto reabsorção óssea. Esta associação tem sido relacionada principalmente ao papel do cálcio, uma vez que a sua concentração intracelular, quando aumentada pelo estímulo mecânico, determina a síntese de PGE-2 (Cherian et al., 2005; Genetos et al., 2005; Li et al., 2005; Xu et al., 2007).

Suzuki et al. (2009) aplicaram 1.5 MHz de LIPUS® em cultura de células de camundongos por 7 dias. Seus resultados mostraram que a expressão de proteínas morfogenéticas ósseas (BMP-2, -4 e -7) aumentaram significativamente em relação ao grupo controle (sem aplicação de LIPUS).

Xue et al. (2013) detectaram em ensaios *in vivo* e *in vitro* que, a partir do 5º dia de aplicação de LIPUS® em tecidos de camundongo, tanto a distância do movimento ortodôntico quanto os níveis de BMP-2 e a expressão de RANKL cresceram significativamente se comparados ao grupo controle.

Maddi et al. (2006) verificaram em uma cultura de osteoblastos humanos que o uso de ultrassom terapêutico pode aumentar a regeneração óssea ao alterar a relação OPG/RANKL.



Portanto, a literatura demonstra que há uma relação direta entre o uso do aparelho de ultrassom pulsado de baixa intensidade e a osteoclastogênese.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 ENSAIO DE PROLIFERAÇÃO CELULAR

Os dados relativos ao ensaio de proliferação celular nas diferentes condições estudadas estão mostradas na tabela 1 e gráfico 1. Após 3 e 7 dias, não se observou diferença na proliferação celular quando da utilização do AcceleDent® em relação ao controle, entretanto após 10 dias, a proliferação foi significativamente maior no grupo utilizado força sônica, quando comparado ao controle.

Tabela 1 – Médias e desvios padrão da proliferação de células osteoblásticas, em função do tempo de cultura, com e sem aplicação da força sônica.

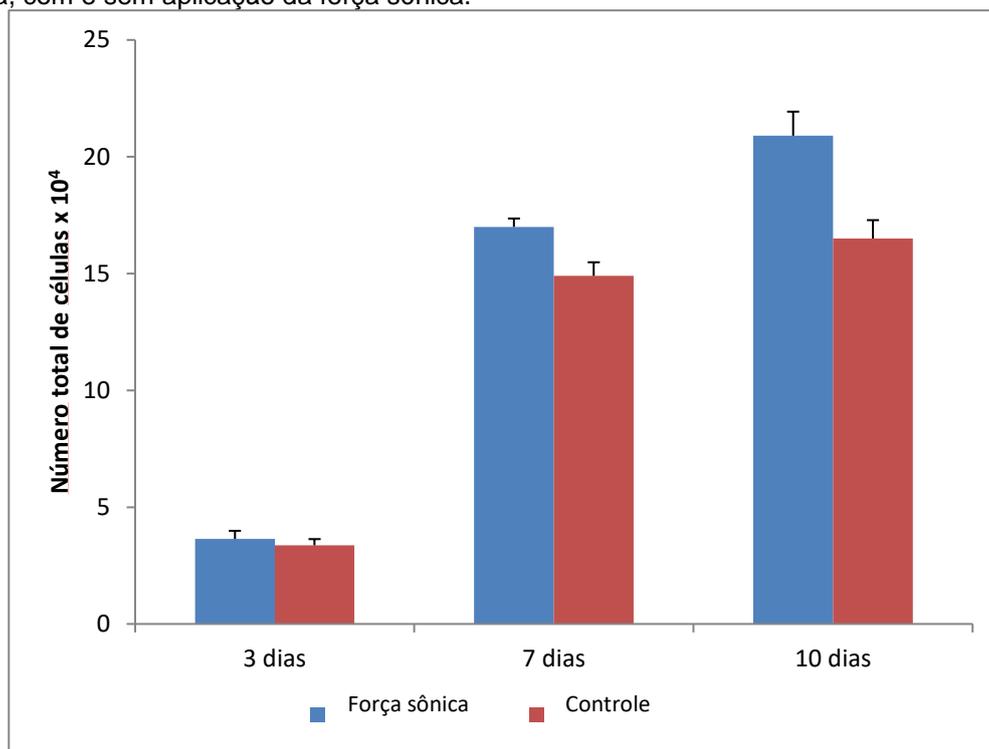
Condição	Tempo (dias)		
	3	7	10
Força sônica	3,64X10 <sup>4</sup> <b>Aa</b> (0,346X10 <sup>4</sup> )	17X10 <sup>4</sup> <b>Ab</b> (0,357X10 <sup>4</sup> )	20X10 <sup>4</sup> <b>Bb</b> (0,103X10 <sup>4</sup> )
Controle	3,37X10 <sup>4</sup> <b>Aa</b> (0,263X10 <sup>4</sup> )	14,9X10 <sup>4</sup> <b>Ab</b> (0,584X10 <sup>4</sup> )	16,5X10 <sup>4</sup> <b>Ab</b> (0,787X10 <sup>4</sup> )

Legenda: Desvios padrão entre parênteses. Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as condições com e sem força sônica. Médias seguidas por letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre tempo de cultura, considerando-se individualmente o uso ou não do da força sônica (linhas horizontais).

Fonte : Autoria própria.



Gráfico 1 – Valores médios da proliferação de células osteoblásticas em função do tempo de cultura, com e sem aplicação da força sônica.



Legenda: Linhas verticais sobre as colunas indicam desvios padrão.

Fonte: Autoria própria.

### 3.2 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR

Os dados relativos ao ensaio de viabilidade celular nas diferentes condições estudadas estão mostradas na tabela 2 e gráfico 2. Não se observou diferença na viabilidade celular ( $p > 0,05$ ) quando da utilização do AcceleDent® quando comparado ao controle, em nenhum dos tempos avaliados.

Tabela 2 – Médias e desvios padrão da viabilidade de células osteoblásticas, em função do tempo de cultura, com e sem aplicação da força sônica.

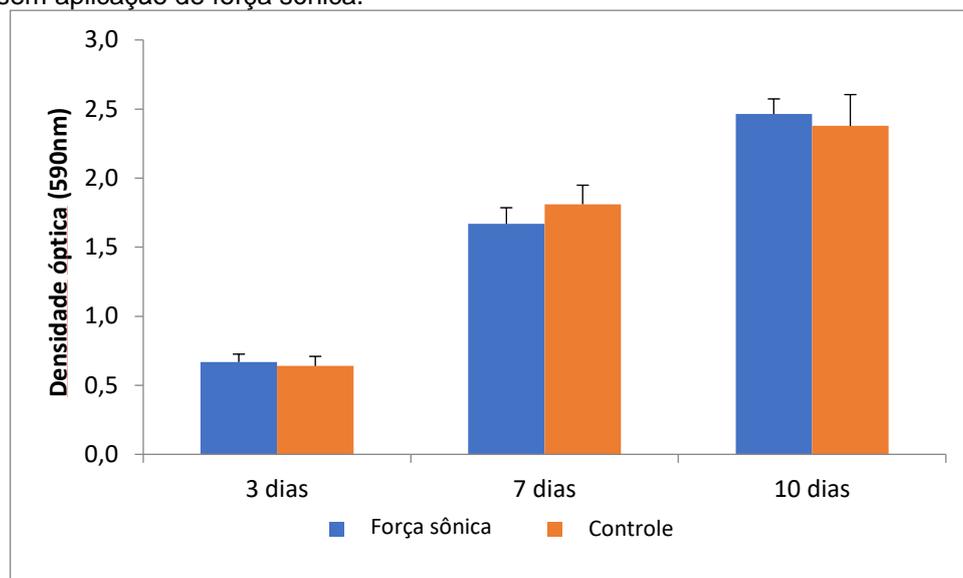
Condição	Tempo (dias)		
	3	7	10
Força sônica	0,67 <b>A,a</b> (0,06)	1,67 <b>A,b</b> (0,12)	2,46 <b>A,c</b> (0,11)
Controle	0,64 <b>A,a</b> (0,07)	1,81 <b>A,b</b> (0,14)	2,38 <b>A,c</b> (0,23)

Legenda: Desvios padrão entre parênteses. Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as condições com e sem força sônica. Médias seguidas por letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre tempo de cultura, considerando-se individualmente o uso ou não do da força sônica (linhas horizontais).

Fonte : Autoria própria.



Gráfico 2 – Valores médios da viabilidade de células osteoblásticas em função do tempo de cultura, com e sem aplicação de força sônica.



Legenda: Linhas verticais sobre as colunas indicam desvios padrão.

Fonte: Autoria própria.

### 3.3 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO QUANTIFICAÇÃO IL-1 E IL-17 (ELISA)

Os dados relativos à secreção de IL-1 e IL-17 nas células osteoblásticas submetidas ou não força sônica estão mostrados na tabela 3 e gráficos 3 e 4.

Com relação à interleucina IL-1, observou-se em todos os tempos de cultura, maior secreção de IL-1 quando utilizado a força sônica em relação controle ( $p = 0,022$ ), sem diferença para os diferentes tempos de cultura ( $p = 0,348$ ) para cada condição estudada (tabela 3 e gráfico 3).

Tabela 3 - Médias e desvios padrão da concentração das interleucinas IL-1 e IL-17 quando da utilização ou não da força sônica, em função do tempo de cultura.

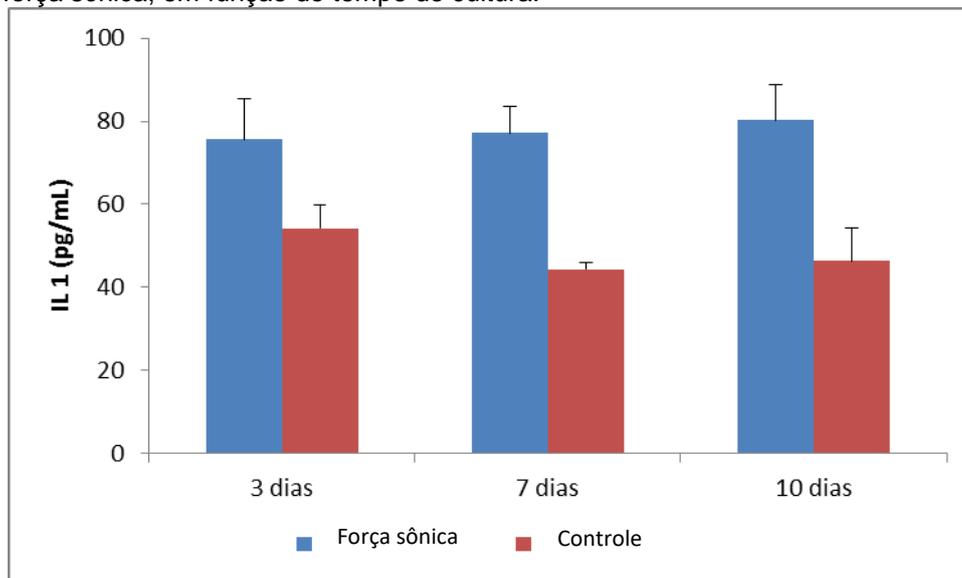
Condição		Tempo (dias)		
		3	7	10
IL-1	Força sônica	75,66 <b>Aa</b> (9,60)	77,21 <b>Aa</b> (6,26)	80,30 <b>Aa</b> (8,51)
	Controle	54,13 <b>Ba</b> (5,82)	44,39 <b>Ba</b> (1,42)	46,39 <b>Ba</b> (8,00)
IL-17	Força sônica	49,19 <b>Aa</b> (4,07)	77,68 <b>Bb</b> (3,82)	79,21 <b>Bb</b> (10,14)
	Controle	49,45 <b>Aa</b> (7,44)	32,57 <b>Aa</b> (7,31)	47,01 <b>Aa</b> (6,37)

Legenda: Desvios padrão entre parênteses. Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre as condições com e sem força sônica. Médias seguidas por letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre tempo de cultura, considerando-se individualmente o uso ou não da força sônica (linhas horizontais).

Fonte: Autoria própria.



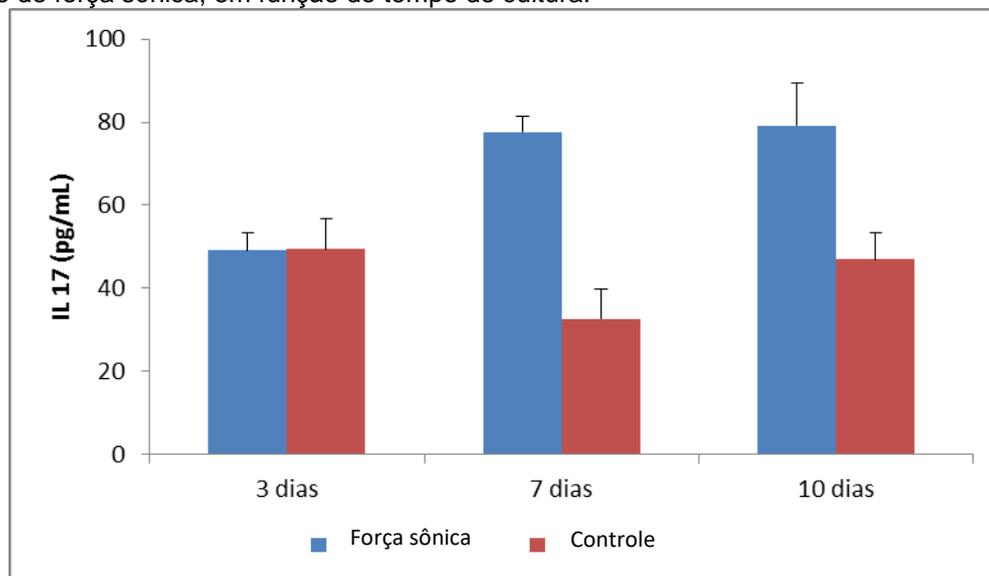
Gráfico 3 – Diagrama de colunas dos valores médios da concentração de IL-1 após a utilização ou não da força sônica, em função do tempo de cultura.



Legenda: Linhas verticais sobre as colunas indicam desvios padrão.  
Fonte: Autoria própria.

Para a interleucina IL-17, observou-se que após 7 e 10 dias, a concentração de IL-17 foi significativamente mais elevada quando do uso da força sônica em relação controle ( $p < 0,05$ ). Além disso, ao se utilizar a força sônica, a concentração de IL-17 foi significativamente menor no tempo 3 dias em relação aos tempos 7 e 10 dias, os quais não diferiram significativamente entre si, conforme indicam a tabela 3 e o gráfico 4.

Gráfico 4 – Diagrama de colunas dos valores médios da concentração de IL-17 após a utilização ou não de força sônica, em função do tempo de cultura.



Legenda: Linhas verticais sobre as colunas indicam desvios padrão.  
Fonte: Autoria própria.



Os resultados apresentados e discutidos acima permitem as seguintes conclusões que as células pré-osteoblásticas submetidas às forças sônicas do AcceleDent® apresentaram após 10 dias de avaliação, proliferação celular significativamente superior ao grupo controle e a aplicação da força sônica pelo AcceleDent® não afetou a viabilidade celular.



## REFERÊNCIAS

- Al-Daghreer S, Doschak M, Sloan AJ, Major PW, Heo G, Scurtescu C, et al. Long term effect of low intensity pulsed ultrasound on a human tooth slice organ culture. *Arch Oral Biol.* 2012 Jun;57(6):760-8.
- Amadei SU, Silveira VAS, Pereira AC, Carvalho YR, Rocha RF. A influência da deficiência estrogênica no processo de remodelação e reparação óssea. *Bras Patol Med Lab.* 2006 fev.;42(1):5-12.
- Andrade Jr I, Taddei SRA, Souza PEA. Inflammation and Tooth Movement: The Role of Cytokines, Chemokines, and Growth Factors. *Sem Orthod.* 2012 Dec;18(4):257-69.
- Angle SR, Sena K, Summer DR, Viridi AS. Osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells by various intensities of low-intensity pulsed ultrasound. *Ultrasonics.* 2011 Apr;51(3):281-8.
- Appleford MR, Oh S, Cole JA, Protivínský J, Ong JL. Ultrasound effect on osteoblast precursor cells in trabecular calcium phosphate scaffolds. *Biomaterials.* 2007 Nov;28(32):4788-94.
- Bandeira F, Macedo G, Caldas G, Griz L, Faria M. Osteoporose. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.
- Başaran G, Ozer T, Kaya FA, Kaplan A, Hamamci O. Interleukine-1beta and tumor necrosis factor-alpha levels in the human gingival sulcus during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2006 Sep;76(5):830-6.
- Cherian PP, Siller-Jackson AJ, Gu S, Wang X, Bonewald LF, Sprague E, et al. Mechanical strain opens connexin 43 hemichannels in osteocytes: a novel mechanism for the release of prostaglandin. *Mol Biol Cell.* 2005 Jul;16(7):3100-6.
- Cruz DR, Kohara EK, Ribeiro MS, Wetter NU. Effects of low-intensity laser therapy on the orthodontic movement velocity of human teeth: a preliminary study. *Lasers Surg Med.* 2004;35:117-20.
- Dinarelli CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood.* 1996 Mar 15;87(6):2095-147.
- Espindula A. Efeitos da piezoelectricidade na movimentação ortodôntica [trabalho de conclusão de curso]. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina; 2014.
- Fathimani M, Melenka GW, Romanyk DL, Toogood RW, Heo G, Carey JP, et al. Development of a standardized testing system for orthodontic sliding mechanics. *Prog Orthod.* 2015;16:14.
- Genetos DC, Geist DJ, Liu D, Donahue HJ, Duncan RL. Fluid shear-induced ATP secretion mediates prostaglandin release in MC3T3-E1 osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 2005 Jan;20(1):41-9.
- Gusmão CVB, Mariolani JRL, Belangero WD. Mechanotransduction and Osteogenesis. In: Lin Y. *Osteogenesis.* Croácia: InTech; 2012.
- Heller IJ, Nanda R. Effect of metabolic alteration of periodontal fibers on orthodontics tooth movement. *Am J Orthod.* 1979;75(3):239-58.
- Ikeda K, Takayama T, Suzuki N, Shimada K, Otsuka K, Ito K. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on the differentiation of C2C12 cells. *Life Sci.* 2006 Oct 12;79(20):1936-43.
- Kau CH, Kantarci A, Shaughnessy T, Vachiramou A, Santiwong P, de la Fuente A, et al. Photobiomodulation accelerates orthodontic alignment in the early phase of treatment. *Prog Orthod.* 2013;14:30
- Kau CH. A radiographic analysis of tooth morphology following the use of a novel



- cyclical force device in orthodontics. *Head Face Med.* 2011 Aug 9;7:14.
- Kessel RG. *Histologia médica básica: a biologia das células, tecidos e órgãos.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011. cap. 7. Tecido conjuntivo: osso e formação óssea. p. 129-45.
- Lee WC. Experimental study of the effect of prostaglandin administration on tooth movement--with particular emphasis on the relationship to the method of PGE1 administration. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1990 Sep;98(3):231-41.
- Lee Y. The role of interleukin-17 in bone metabolism and inflammatory skeletal diseases. *BMB Rep.* 2013 Oct;46(10):479-83.
- Li M, Healy DR, Li Y, Simmons HA, Crawford DT, Ke HZ, et al. Osteopenia and impaired fracture healing in aged EP4 receptor knockout mice. *Bone.* 2005 Jul;37(1):46-54.
- Lins RDAU, Pequeno MT, Melo JPLC, Ferreira RCQ, Silveira EJD, Dantas EM. Atividade ósteo-reabsortiva na doença periodontal: o papel das citocinas e prostaglandinas. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac.* 2007 abr-jun;7(2):29-36.
- Maddi A, Hai H, Ong ST, Sharp L, Harris M, Meghji S. Long wave ultrasound may enhance bone regeneration by altering OPG/RANKL ratio in human osteoblast-like cells. *Bone.* 2006 Aug;39(2):283-8.
- Man J, Shelton RM, Cooper PR, Landini G, Scheven BA. Low intensity ultrasound stimulates osteoblast migration at different frequencies. *J Bone Miner Metab.* 2012 Sep;30(5):602-7.
- McGorray SP, Dolce C, Kramer S, Stewart D, Wheeler TT. A randomized, placebo-controlled clinical trial on the effects of recombinant human relaxin on tooth movement and short-term stability. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012;141:196-203.
- Mesquita E, Lobato MR, Martins AB. Os efeitos biológicos do uso do ultra-som em odontologia. In: Mesquita E, Kunert IR]. *O ultrassom na prática odontológica.* Porto Alegre: Artmed, 2006. cap. 3. p. 58-65.
- Moyers RE. *Ortodontia.* 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991.
- Mukai S, Ito H, Nakagawa Y, Akiyama H, Miyamoto M, Nakamura T. Transforming growth factor-beta1 mediates the effects of low-intensity pulsed ultrasound in chondrocytes. *Ultrasound Med Biol.* 2005 Dec;31(12):1713-21.
- Pasachoff N. *Marie Curie and the Science of radioactivity.* [online]. 1996. Oxford: Oxford University Press. [cited 2016 set 28]. Available from: <https://www.aip.org/history/exhibits/curie/download.htm>
- Proffit WR, Fields Junior HW, Sarver DM. *Ortodontia contemporânea.* 4a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.
- Reher P, Elbeshir el-NI, Harvey W, Meghji S, Harris M. The stimulation of bone formation in vitro by therapeutic ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 1997;23(8):1251-8.
- Ren C, Li JM, Lin X. LIPUS enhance elongation of neurites in rat cortical neurons through inhibition of GSK-3beta. *Biomed Environ Sci.* 2010 Jun;23(3):244-9.
- Ross MH, Pawlina W. *Histologia: em correlação com biologia celular e molecular.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012.
- Ruellas AC. *Biomecânica aplicada à clínica.* Maringá: Dental Press; 2013.
- Severino VO, Napimoga MH, de Lima Pereira SA. Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-8 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Arch Oral Biol.* 2011 Aug;56(8):823-8.
- Suzuki A, Takayama T, Suzuki N, Kojima T, Ota N, Asano S, et al. Daily low-intensity pulsed ultrasound stimulate production of bone morphogenetic protein in



- ROS 17/2.8 cells. *J Oral Sci.* 2009 Mar;51(1):29-36.
- Takayama T, Suzuki N, Ikeda K, Shimada T, Suzuki A, Maeno M, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic differentiation in ROS 17/2.8 cells. *Life Sci.* 2007 Feb 13;80(10):965-71.
- Tanabe N, Maeno M, Suzuki N, Fujisaki K, Tanaka H, Ogiso B, et al. IL-1 alpha stimulates the formation of osteoclast-like cells by increasing M-CSF and PGE2 production and decreasing OPG production by osteoblasts. *Life Sci.* 2005 Jun 24;77(6):615-26.
- Wang JH, Thampatty BP. An introductory review of cell mechanobiology. *Biomech Model Mechanobiol.* 2006 Mar;5(1):1-16.
- Xiong H, Wei L, Peng B. IL-17 stimulates the production of the inflammatory chemokines IL-6 and IL-8 in human dental pulp fibroblasts. *Int Endod J.* 2015 Jun;48(6):505-11.
- Xu Z, Choudhary S, Okada Y, Voznesensky O, Alander C, Raisz L, et al. Cyclooxygenase-2 gene disruption promotes proliferation of murine calvarial osteoblasts in vitro. *Bone.* 2007 Jul;41(1):68-76.
- Xue H, Zheng J, Cui Z, Bai X, Li G, Zhang C, et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates tooth movement via activation of the BMP-2 signaling pathway. *PLoS One.* 2013 Jul 23;8(7):e68926.