

DA REPARAÇÃO ÓSSEA DE OSTEOTOMIAS
COM BROCAS E COM LASER DE ER, CR :
AGRESCIDAS OU NÃO DE TERAPIA ADJUNTA CO
M LASER DE BAIXA INTENSIDADE. ESTUDO HISTOLÓGICO
EM MODELO ANIMAL.

B0122624

U617.69 M512a 2004 ex.1

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PEDRO DANIEL FERREIRA DE MENEZES

"ANÁLISE DA REPARAÇÃO ÓSSEA DE OSTEOTOMIAS
REALIZADAS COM BROCAS E COM LASER DE Er, Cr: YSGG,
AGRESCIDAS OU NÃO DE TERAPIA ADJUNTA COM LASER EM
BAIXA INTENSIDADE. ESTUDO HISTOLÓGICO EM MODELO
ANIMAL."

São Paulo

2004

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

PEDRO DANIEL FERREIRA DE MENEZES

**“ANÁLISE DA REPARAÇÃO ÓSSEA DE OSTEOTOMIAS
REALIZADAS COM BROCAS E COM LASER DE Er,Cr:YSGG,
ACRESCIDAS OU NÃO DE TERAPIA ADJUNTA COM LASER EM
BAIXA INTENSIDADE. ESTUDO HISTOLÓGICO EM MODELO
ANIMAL.”**

São Paulo
2004

PEDRO DANIEL FERREIRA DE MENEZES

**“ANÁLISE DA REPARAÇÃO ÓSSEA DE OSTEOTOMIAS
REALIZADAS COM BROCAS E COM LASER DE Er,Cr:YSGG,
ACRESCIDAS OU NÃO DE TERAPIA ADJUNTA COM LASER EM
BAIXA INTENSIDADE. ESTUDO HISTOLÓGICO EM MODELO
ANIMAL. ”**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
da Universidade de Santo Amaro para a obtenção do
título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em
Odontologia. Área de Concentração: Implantodontia
Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk
Co-Orientador: Prof. Alberto Blay

São Paulo
2004

PEDRO DANIEL FERREIRA DE MENEZES

**“ANÁLISE DA REPARAÇÃO ÓSSEA DE OSTEOTOMIAS
REALIZADAS COM BROCAS E COM LASER DE Er,Cr:YSGG,
ACRESCIDAS OU NÃO DE TERAPIA ADJUNTA COM LASER EM
BAIXA INTENSIDADE. ESTUDO HISTOLÓGICO EM MODELO
ANIMAL. ”**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia
da Universidade de Santo Amaro para a obtenção do
título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em
Odontologia. Área de Concentração: Implantodontia
Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk
Co-Orientador: Dr. Alberto Blay

Aprovada em ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk

Doutor em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Denise Maria Zezel

Doutora em Física pela Universidad de Campinas - UNICAMP

Prof. Dr. Francisco Todescan

Doutor em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Nota: _____ Observação: _____

DEDICATÓRIA

**A MINHA MÃE
JOSELICE G. F. DE MENEZES**

que Deus me deu para acompanhar minhas vitórias e derrotas, contra tudo e todos obstáculos que se opuserem a mim. Sempre com muita sabedoria, esforço de justiça e a meu favor. Simplesmente, não teria existido sem ela.

AGRADECIMENTOS

Ao Meu Pai, Nalton E.C. de Menezes

Agradeço sua dedicação, compreensão e companheirismo durante o meu caminho.

Minha irmã, Juliana C. F. de Menezes

Por sempre me apoiar e ajudar no que for preciso, pela sua alegria e amizade.

Minha vó, Alice G. Ferreira, minha irmã Juracema S. Silva e meu afilhado João Pedro

A idade não depende dos anos, mas sim, do temperamento e da saúde: umas pessoas já nascem velhas, outras, jamais envelhecem." Tyron Edwards

Às primas Luciana Menezes , Elizete Cardoso e Márcia Martins

Tempos bons ficarão guardados para sempre, terei não como lembrança mas como aprendizado, tudo aquilo que vivemos juntos até aqui.

Ao meu padrinho Leonardo Dutra Lemos

Por sua amizade e principalmente sendo o interlocutor paciente e generoso sempre disposto a me oferecer estímulos e principalmente, a percorrer novos caminhos, merecedor do meu respeito e eterna admiração

Ao amigo Aledio Lemos

Sempre com bom humor me ajudando

À Sabrina Lopez de Moraes

Ao meu amor por ter entrado em minha vida

Ao meu orientador Prof. Dr. Wilson Roberto Sendyk

Por compartilhar comigo este trabalho, pela sua orientação, por sua amizade e pela compreensão silenciosa dos momentos difíceis pelos quais passei até aqui, muito obrigado.

Alberto Blay

Meu sincero agradecimento pela ajuda na realização deste trabalho, sempre prestativo em todos os momentos e disposto a me ajudar

Ao meu querido Prof. Dr. Nelson Villa

Ao grande mestre que é, pela sua alegria, carisma e merecedor de respeito e admiração!

Ao Prof. Dr. Alfredo Gromatzky

A quem tenho grande admiração e respeito, muito obrigado!

Prof. Dr. Zilton Andrade, Responsável pelo Laboratório da LAPEX -FIOCRUZ

Agradeço na realização da parte histológica, pela presteza sem a qual não poderia deixar de lembrá-lo, me ajudando e me ensinando.

À equipe do UNITOX e da Patologia Veterinária da UNISA, Luciene C.M. Zincaglia, Vera Lúcia S. Santos, Claudemir Duran Filho, Marconi B. Coutinho, Rodrigo Arisa, Caio Rodrigues dos Santos, Raquel Sano Pereira, Luis Henrique C. Cipoletti e Maurizio B. de Souza

Luciana Cristina Costa e Renata Santos Silva da Biblioteca da UNISA

“Emprego é o que se tem por dinheiro, trabalho é o que fazemos por amor.”

Marysarah Quinn

E vocês trabalham MUITO!!

Departamento de Implantodontia da ABO - Salvador. Prof. Mauricio Barreto, Prof. Luciano Castelluci e Prof. Paulo Vicente.

Ao Professor e amigo Fábio Bezerra,

Obrigado pela amizade, pela oportunidade e ao grande amigo que é.

Aos meus amigos da turma do Mestrado

“Aprender alguma coisa significa entrar em contato com um mundo do qual não se tem a menor idéia. É preciso ser humilde para aprender.” Paulo Coelho

ADORO VOCÊS, em especial ao Vicente Mauro Neto, André Soratto, Mauricio Montanari, Luis Fernando M. André, Marcelo de San Juan e Valdir Gonçalves.

À Secretária Juliana Selma de Oliveira

Sempre disposta a ajudar, com seu sorriso e alegria

Ao irmão Vitor Maciel dos Santos

Pelo companheirismo nos momentos de alegria e principalmente pelo apoio nas horas difíceis.

Aos amigos Eduardo Andrade de Oliva, Érico Maciel dos Santos, Marcelo Nunes Dourado Rocha, Márcio Coutinho e Marcos Vidal.

“A importância de ser e ter amigos se encontra na cumplicidade que há entre as pessoas, nessa ajuda recíproca que oferece segurança, em momentos da vida em que mais precisamos ajudando sempre a nos enfrentar situações.” Cristina Ferraresi

Jomar dos Santos

Obrigado pelo suporte técnico, pela amizade e companheirismo.

RESUMO

As técnicas convencionais de corte ósseo com uso de brocas e serras, promovem a remoção de quantidades satisfatórias de tecido ósseo, porém com frequência causam traumas mecânicos e aquecimento excessivo no osso. O laser de alta potência de Er,Cr:YSGG foi utilizado *in vitro*, para a realização de osteotomias apresentando resultados efetivos, porém o efeito de sua aplicação sobre o processo de reparação do tecido ósseo permanece desconhecido. Também existem controvérsias entre os autores do benefício real ao processo de reparação óssea, gerado pela aplicação de uma terapia com laser de baixa intensidade em áreas que sofreram intervenções cirúrgicas. O presente estudo consistiu em comparar histologicamente a reparação óssea de osteotomias realizadas com laser de Er,Cr:YSGG, taxa de repetição de 20 pulsos/ segundo, com intensidade de energia de $160\text{J}/\text{cm}^2$ na potência de 4W, 5W e osteotomias feitas com brocas convencionais. Este trabalho analisou também o efeito da terapia com laser de baixa intensidade sobre o padrão de reparação de osteotomias. O estudo foi realizado em oito coelhos sendo que foram operadas as duas tíbias de cada animal. Em cada tíbia, realizaram-se três osteotomias, uma com broca 701, outra com laser na potência de 5W e a terceira com o mesmo laser, porém na potência de 4W. Em seguida, a região que sofreu intervenção de uma das tíbias de cada animal, recebeu a terapia com laser em baixa intensidade, realizando-se uma aplicação no pós-operatório imediato e em seguida aplicações semanais. Os coelhos foram divididos em quatro grupos de 2 animais. O primeiro grupo foi sacrificado após 7 dias e os outros após 14, 21 e 28 dias da realização das cirurgias. Após os sacrifícios, as regiões submetidas às intervenções foram processadas e analisadas histologicamente. Os resultados

indicaram que o laser de Er,Cr:YSGG foi capaz de promover o corte no tecido ósseo de maneira eficaz. Em todas as amostras obtidas nos diferentes intervalos de tempo, ou seja, 7, 14, 21 e 28 dias, pode-se observar que os sítios operados com o laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W e 5W apresentaram um estado de reparação mais avançado em relação aos sítios onde a osteotomia foi realizada com broca. Não foram notadas diferenças consistentes entre a reparação das osteotomias feitas com o laser na potência de 4W e 5W. A análise dos resultados histológicos indicou que a utilização do laser em baixa intensidade estimulou a reparação óssea levando a determinar a formação, na maioria das amostras, de um tecido ósseo mais diferenciado e aparentemente em maior quantidade, em comparação aos sítios onde a LILT não foi implementada. A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que o laser de Er,Cr:YSGG é eficiente na realização de cortes precisos no tecido ósseo, e que sua utilização não promove grandes alterações nos tecidos adjacentes, vindo a determinar uma reparação da região operada acelerada em comparação ao método de corte convencional feito com broca nº 701. Em relação ao laser em baixa intensidade pode-se concluir que sua utilização promove um estímulo ao processo de reparação óssea determinando uma aceleração na neoformação óssea.

Palavras – Chaves: Osteotomia, laser, Terapia a laser de baixa Intensidade

ABSTRACT

The conventional techniques of osseous cut with drills and saws, promote the removal of satisfactory amounts of osseous tissue, however with frequency cause mechanical traumas and excessive heating of the bone.

The high potency laser Er,Cr:YSGG was used in vitro, to practice the osteotomies presenting effective results, however the effect of its application in the process of osseous tissue repair is unknown. There are also controversies among the authors about the real benefit of the osseous repair process, generated by the application of laser therapy of low intensity in the areas which suffered surgical operations. The current study consists in comparing histologically the osseous repair of osteotomies done with Er,Cr:YSGG, repetition rate 20 pulse/ sec, energy density was 160J/cm² laser in 4W, 5W power and osteotomies done with conventional drills. This work also analyzed the effect of the low intensity laser therapy on the pattern of the osteotomies reparation. The study was done in eight rabbits which had their two tibias operated. In each tibia, were done three osteotomies, one with 701 drill, other with a laser with 5W power and the third one with the same laser in 4W power. Next, the area which suffered the surgery of the one of the tibias of each animal, received the low intensity laser therapy, doing one application immediately after the surgery and after that, there were weekly applications. The rabbits were divided into four groups of 2 animals. The first group was sacrificed after 7 days and the others after 14, 21 and 28 days from the surgeries. After the sacrifices, the regions submitted to the interventions were processed and histologically analyzed. The results showed that the Er,Cr:YSGG laser

was able of promoting the cut in the osseous tissue in a efficient way. In all the samples obtained in the different spaces of time, or else, 7, 14, 21 and 28 days, it could be observed that the places operated with the Er,Cr:YSGG laser in 4W and 5W powers presented a state of reparation more advanced than the places where the osteotomy was done with drill. There were not observed consistent differences between the reparation of the osteotomies done with the laser in power of 4W and 5W. The analyses of the histological results showed that the use of the low intensity laser stimulated the osseous reparation leading to determine the formation, in most of the samples, of a osseous tissue more differentiated and apparently in major amount, comparing to the places where the LILT was not used. From the results obtained, it was concluded that the Er,Cr:YSGG laser is efficient for accurate cuts of the osseous tissue and that its use does not promote big changes in the adjacent tissues, determining a accelerated reparation of the region operated comparing to the conventional method of cutting done by the 701 drill. Concerning the low intensity laser it can be concluded that its use promotes a stimulus to the osseous reparation process determining acceleration in the osseous neoformation.

Key – Words: Osteotomy, lasers, laser therapy, low-level

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01- Laser de alta potência	56
Figuras 02a. e 02b. Laser de baixa intensidade	56
Figura 03- Campo operatório	59
Figura 04- Anestesia infiltrativa.	59
Figura 05- Incisão da pele.	60
Figura 06- Incisão tecido muscular	60
Figura 07- Exposição do tecido ósseo.	60
Figura 08- Osteotomias realizadas	61
Figura 09- Posicionamento das tachinhas	61
Figura 10- Aplicação do laser de baixa intensidade.	63
Figura 11- Início da sutura.	62
Figura 12- Sutura finalizada.	62
Figura 13 a e 13b- Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 7dias de reparação.	65
Figura 14 a Fig 14 b. Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W após 7 dias de reparação.	66
Figura 15 a e 15 b- Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W após 7 dias de reparação.	67
Figura 16 a e 16 b- Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 7dias de reparação, com a aplicação da LILT.	68

Figura 17 a e 17 b -Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 7 dias de reparação, com a aplicação da LILT.	69
Figura 18a e 18b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 7 dias de reparação, com a aplicação da LILT.	70
Figura 19a e 19 b - Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 14 dias de reparação.	71
Figura 20a e 20b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 14 dias de reparação.	72
Figura 21a e 21b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 14 dias de reparação.	73
Figura 22a e 22b - Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 14 dias de reparação, com a aplicação da LILT.	74
Figura 23 a e 23b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 14 dias de reparação, com a aplicação da LILT.	75
Figura 24a e 24b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 14 dias de reparação, com a aplicação da LILT.	76
Figura 25a e 25b - Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 21 dias de reparação.	77
Figura 26a e 26b -Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 21 dias de reparação.	78
Figura 27a e 27b Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 21 dias de reparação.	79
Figura 28a e 28b - Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 21dias de reparação, com a aplicação da LILT.	80
Figura 29a e 29b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 21 dias de reparação, com a aplicação da LILT.	81
Figura 30a e 30b - Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 21 dias de reparação com a aplicação da LILT.	82
Figura 31a e 31b - Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 28 dias de reparação.	83

- Figura 32a e 32b** Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 28 dias de reparação. 84
- Figura 33a e 33b** Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 28 dias de reparação. 85
- Figura 34a e 34b** Corte histológico de osteotomia realizada com broca, após 28 dias de reparação, com a aplicação da LILT. 86
- Figura 35a e 35b-** Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 5W, após 28 dias de reparação, com a aplicação da LILT. 87
- Figura 36a e 36b-** Corte histológico de osteotomia realizada com laser de Er,Cr:YSGG na potência de 4W, após 28 dias de reparação, com a aplicação da LILT. 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos fototérmicos da radiação laser 33

Tabela 2. Relação dos coelhos em função da LILT e do momento do sacrifício 63

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

A: Área

Al: Alumínio

Al₂O₃: óxido de alumínio

Ar: Argônio

CO₂: dióxido de carbono

°C: graus Celsius ou graus centígrados

cm: centímetro

cm²: centímetro quadrado

Ca: cálcio

Cr: cromo

DNA: Ácido desoxiribonucleico

D: Dose ou fluência

E: Energia

eV: elétron-Volt

Er: érbio

f: Freqüência

GaAs: *galium arsenide*: arseneto de gálio

GaAlAs: *galium aluminium arsenide*: arseneto de gálio e alumínio

g: grama

Hz: Hertz

H: hidrogênio

He: hélio

He-Ne: hélio e neônio

I: Intensidade

InGaAs: *indium galium arsenide*: arseneto de gálio e índio

J: joule

Kg: kilograma

LASER: *L(ight) A(mplification) by S(timulated) E(mission) of R(adiation)*: amplificação da luz por emissão estimulada de radiação

LILT: *L(ow) I(ntensity) L(aser) T(herapy)*: terapia com laser de baixa intensidade

mg: miligrama

mJ: milijoule

min: minuto

mm: milímetro

mW: miliwatt

YSGG: *Y(ttrium) S(candium) G(alium) G(arnet)*: granada de ítrio, escândio e gálio.

nm: nanômetro

Ncm – Newton / centímetro

Nd: neodímio

Ne: neônio

O: oxigênio

ON: osso neoformado

OR: osso original

P: Potência

pH: Potencial hidrogeniônico

Y: i trio

YAG: *Y(ttrium) L(ithium) G(arnet)*, granada de ítrio e alumínio; $Y_3Al_5O_{12}$: óxido de ítrio e alumínio

rpm :rotações por minuto

s: segundo

t: tempo

TC: tecido conjuntivo

UV: Ultravioleta

W: watt

λ : Comprimento de onda

μ m: micrometro

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTAS

Lista de ilustrações

Lista de tabela

Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

1. INTRODUÇÃO.....	20
2. PROPOSIÇÃO.....	24
3. REVISÃO DA LITERATURA	
3.1 TECIDO ÓSSEO.....	25
3.1.1 Generalidades.....	25
3.1.2 Cortes no tecido ósseo.....	29
3.2 LASER	32
3.2.1 Interação do laser com o tecido ósseo.....	32
3.2.2 Efeitos do laser de baixa intensidade no tecido ósseo....	34
3.2.3 Osteotomias com laser de alta potência.....	42
3.2.4 Laser de Er,Cr:YSGG.....	52
3.2.5 Osteotomias com laser de Er,Cr:YSGG.....	55

4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
5. RESULTADOS	65
6. DISCUSSÃO.....	89
7. CONCLUSÕES.....	101
8. REFERÊNCIAS	104
ANEXO.....	110

1 INTRODUÇÃO

O corte do tecido ósseo é um procedimento comum em muitas especialidades da Odontologia e da Medicina. Giraud (1991), entretanto, citou que este não é um procedimento simples, pois por tratar-se de um tecido vivo e mineralizado, o padrão de reparação dependerá diretamente das alterações nele promovidas. A forma convencional de sua realização é através do uso de brocas e de serras, o que muitas vezes torna o procedimento traumático tanto para o paciente quanto para o tecido ósseo, estimulando a busca por formas alternativas, dentre estas, o *laser* de alta potência (LEWANDROWSKI et al 1996).

O uso do *laser* na odontologia foi relatado inicialmente em 1964, por Goldman, em estudo em que analisou o impacto do *laser* de rubi sobre cáries dentais. A partir de então, aparelhos de *laser* de alta potência, Co₂, Nd:YAG, Er:YAG, Hol:YAG, Hol:YSGG dentre outros, têm sido estudados, buscando determinar os benefícios de sua utilização nas mais variadas especialidades odontológicas.

As pesquisas sobre a aplicação do *laser* para a realização de cortes no tecido ósseo, foi iniciada com os estudos de Clayman *et al.* (1978), utilizando neste trabalho o *laser* de CO₂, com o comprimento de onda de 10,6µm. Seus resultados indicaram a habilidade deste *laser* em cortar o tecido ósseo, entretanto pesquisas posteriores mostraram que a utilização deste *laser* promove a geração de um calor excessivo, promovendo uma carbonização e derretimento dos tecidos adjacentes, uma reação de corpo estranho e um conseqüente atraso na reparação das áreas

ósseas irradiadas (LI *et al.*, 1992; RAYAN *et al.*, 1992; SASAKI *et al.*, 2002; POURZARANDIAN *et al.*, 2003).

Os aparelhos de emissão de *laser* utilizados para a realização de osteotomias atualmente, têm seu mecanismo de atuação fundamentado no fenômeno da fotoablação. As características da ablação são determinadas pelas propriedades do sistema de *laser*, pelo comprimento de onda e pelo tecido alvo (NELSON *et al.* 1989). A fotoablação, em resumo, produz a separação mecânica dos tecidos calcificados permitindo uma rápida e limpa remoção dos tecidos. Desta forma, o *laser* interage de maneira diferente de acordo com a composição de cada tecido, tornando-se fundamental a adequação do tipo e das propriedades dos aparelhos de *laser* ao tipo de tecido que está sendo alvo (KIMURA *et al.*, 2001).

O maior desafio para a utilização do *laser* em cortes ósseos é determinar qual deles possui o comprimento de onda ideal para interagir com os componentes do tecido ósseo, promovendo um corte ósseo adequado sem causar alterações nocivas ao tecido ósseo adjacente. O *laser* de Er,Cr:YSGG tem sido aplicado em diversas especialidades da odontologia, como a dentística e a endodontia (EVERSOLE & RIZOIU ,1995; HOSSAIN *et al.*, 1999; KIMURA *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; GUTKNECHT *et al.*, 2001; KINOSHITA *et al.*, 2003). Porém a sua habilidade no corte do tecido ósseo *in vivo* e o seu efeito sobre a reparação destas regiões ainda não foram esclarecidos. Estudos realizados *in vitro*, têm demonstrado que o *laser* Er,Cr:YSGG (comprimento de onda de 2,78 μ m.) é capaz de promover cortes limpos e precisos, sem causar carbonização ou alterações na taxa de cálcio/ fósforo do tecido ósseo irradiado (KIMURA *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2002). Contudo são necessários estudos complementares *in vivo*, que determinem qual a potência do

laser adequada para tal procedimento e o padrão de reparação do tecido ósseo submetido à irradiação com *laser* de Er,Cr:YSGG.

Outra vertente dos estudos sobre os aparelhos de *laser* refere-se aos aparelhos de *laser* de baixa intensidade que tem seu efeito concentrado na fotoindução, fotoativação e na bioestimulação. Segundo Gutknecht & Eduardo (2004), sua ação resulta da baixa absorção de energia pelo tecido e pela ativação de processos bioquímicos no interior da célula. Os aparelhos de *laser* em baixa intensidade mais utilizados em odontologia são os de Hélio-Neônio, Argônio, Arseneto de Gálio e o Arseneto de Gálio Alumínio.

Muitos estudos sobre os efeitos da LILT (Low Intensity *Laser* Therapy- terapia com *laser* em baixa intensidade) tem sido realizados, evidenciando resultados positivos no tratamento de uma série de patologias, dentre elas estão: aceleração da reparação de feridas, melhor regeneração e remodelação óssea, atenuação de processos dolorosos e estimulação da liberação de endorfina (TRELLES & MAYAYO 1987; TAKEDA 1988; LUNGER *et al.* 1998; PINHEIRO *et al.*; UEDA & SHIMIZU 2003).

O *laser* de diodo com comprimento de onda de 680 nm, teve seu potencial bioestimulador sobre o tecido ósseo, demonstrado em trabalho realizado por Blay em 2001. Neste estudo implantes instalados em tíbias de coelhos e submetidos a LILT com este *laser*, obtiveram após 3 e 6 meses, valores maiores de torque de remoção em comparação ao grupo controle que não recebeu irradiação. Ao contrário daqueles em alta intensidade, os aparelhos de *laser* em baixa intensidade são compactos, tornando sua utilização simplificada.

Apesar de diversos estudos *in vitro* e *in vivo* demonstrarem o efeito bioestimulador da LILT no processo de reparação óssea (YAMADA, 1991; YAAKOBI

et al., 1996; SAITO, 1997; LUNGER *et al.*, 1998; FREITAS *et al.*, 2000; UEDA & SHIMIZU 2003), ainda restam dúvidas sobre aspectos como comprimento de onda, modo de aplicação, número de aplicações e intervalo entre as aplicações ideais para acelerar tal processo. Estas questões estimulam a realização de pesquisas, pois a busca pelo pleno restabelecimento dos pacientes submetidos a intervenções cirúrgicas no menor período de tempo possível representa um desafio constante para os cirurgiões.

2. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho em modelo animal, tem por objetivo:

- Verificar a efetividade da utilização do laser de Er,Cr:YSGG em osteotomias.
- Comparar histologicamente a reparação do tecido ósseo de regiões que sofreram osteotomias com broca 701, montada em peça de mão, em relação a sítios em que o corte ósseo foi realizado com *laser* de alta intensidade de Er,Cr:YSGG, com potência de 5W e sítios em que as osteotomias foram realizadas com *laser* de Er,Cr:YSGG, com potência de 4W.
- Comparar histologicamente a reparação óssea de áreas que sofreram osteotomias com brocas, com *laser* de Er,Cr:YSGG com potência de 4W, *laser* de Er,Cr:YSGG com potência 5W e receberam terapia com *laser* em baixa intensidade, em relação a áreas que sofreram as mesmas osteotomias, porém sem a aplicação da terapia com *laser* de baixa potência.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 TECIDO ÓSSEO

3.1.1 Generalidades

O tecido ósseo é o principal constituinte do esqueleto. Serve de suporte para as partes moles e protege órgãos vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano. 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. Além destas funções, os ossos funcionam como depósitos de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os ou liberando-os de maneira controlada, para manter constante a concentração desses importantes íons nos líquidos corporais (TEN CATE ,1985) .

Segundo Kessel (1998), o tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo formado por células e material extracelular calcificado, a matriz óssea. As células que o compõe são: (1) os osteoblastos, produtores da parte orgânica e responsáveis pela mineralização da matriz; (2) os osteócitos, que se situam em cavidades ou lacunas no interior da matriz mineralizada; (3) os osteoclastos, células gigantes, móveis e multinucleadas, que reabsorvem o tecido ósseo, participando diretamente do processo de remodelação.

Os osteoblastos são as células responsáveis pela síntese da parte orgânica da matriz, formada principalmente por colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas adesivas. São capazes também de concentrar fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz. Quando estão ativos, os osteoblastos são usualmente alongados ou colunares, e o núcleo está localizado na parte da célula mais distante da matriz. Uma vez que a secreção da matriz tenha sido iniciada, a matriz óssea adicional é secretada sobre superfícies ósseas preexistentes. A matriz neoformada circunda progressivamente o osteoblasto, sendo que o destino final destes é serem englobados e aprisionados por seus produtos de secreção. No entanto, os osteoblastos sofrem uma alteração pronunciada na forma quando são cercados pela matriz óssea. Os osteoblastos que estão inativos na secreção de matriz óssea tendem a ser de forma ovalada, menores e mais achatados que os osteoblastos que estão secretando ativamente. (TEN CATE, 1985; KESSEL 1998).

As principais células do osso maduro são os osteócitos, os quais residem dentro da matriz óssea calcificada em espaços chamados de lacunas. Na medida em que os osteoblastos são circundados por matriz intercelular, estes produzem muitas extensões digitiformes longas e delgadas, que entram em contato com as dos osteócitos próximos, culminando com a formação de pequenos canais, chamados de canalículos. Desta forma, estas células não são completamente isoladas em suas lacunas. Estes canalículos se estendem por toda a matriz óssea, criando um sistema circulatório canicular que fornece nutrição aos osteócitos. Cada lacuna contém apenas um osteócito. Os osteócitos são células achatadas, que exibem pequena quantidade de retículo endoplasmático rugoso, aparelho de Golgi pequeno e núcleo com cromatina condensada. Embora estas características ultra-estruturais indiquem

uma pequena atividade sintética, os osteócitos são essenciais para a manutenção da matriz óssea e sua morte é seguida da reabsorção da matriz (KESSEL, 1998).

Os osteoclastos são grandes células multinucleadas, móveis, contendo ramificações irregulares com forma e espessura variáveis. Estão presentes nas áreas de reabsorção do tecido ósseo, residindo em depressões ou recessos chamados de lacunas de Howship ou sítios de reabsorção. Os osteoclastos multinucleados são encontrados apenas nos tecidos mineralizados. A fonte dos osteoclastos não está completamente esclarecida, mas uma possibilidade é que estes se formem pela fusão de monócitos que entram em contato com a matriz óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A parte inorgânica representa cerca de 50% do peso da matriz óssea. Os íons mais encontrados são os de fósforo e cálcio. Há também bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato em pequenas quantidades. O cálcio e o fósforo formam cristais de hidroxiapatita, com a seguinte composição: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Os íons da superfície do cristal de hidroxiapatita são hidratados, existindo, portanto, uma camada de água e íons em volta do cristal. Essa camada é denominada capa de hidratação. A capa de hidratação facilita a troca de íons entre o cristal e o líquido intersticial. A parte orgânica da matriz é formada por fibras colágenas (95%), constituídas de colágeno tipo I e por pequena quantidade de proteoglicanas e glicoproteínas adesivas. A associação de hidroxiapatita com fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência do tecido ósseo. (TEN CATE, 1985; KESSEL, 1998, JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004)

Dois tipos de tecido ósseo podem ser distinguidos macroscopicamente. O osso cortical, que parece compacto, mas na realidade, contém condutos e canais microscópicos, e o osso esponjoso ou medular, que é aquele disposto como uma

treliça ou arcabouço de espículas ou trabéculas ósseas. O osso esponjoso pode ser convertido a osso compacto, diretamente pela secreção contínua de camadas de matriz óssea pelos osteoblastos sobre a superfície do osso esponjoso. Tanto o osso cortical, quanto o esponjoso sofrem remodelação em resposta às tensões ou cargas aplicadas, ao grau de atividade ou inatividade e às influências hormonais (TEN CATE, 1985; KESSEL, 1998, JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

Nos locais de fraturas, ocorre hemorragia local pela lesão de vasos sanguíneos, destruição de matriz e morte de células ósseas. Para que a reparação se inicie, o coágulo sanguíneo e os restos celulares e da matriz devem ser removidos pelos macrófagos. O perióstio e endóstio, próximos à área fraturada, respondem com uma intensa proliferação, formando um tecido muito rico em células osteoprogenitoras, que constituem um colar em torno da fratura e penetra entre as extremidades ósseas rompidas. Nesse anel de colar conjuntivo, bem como no conjuntivo que se localiza entre as extremidades ósseas fraturadas, surge tecido ósseo imaturo (osso primário), tanto pela ossificação endocondral de pequenos pedaços de cartilagem que se formam, como também por ossificação intramembranosa. Este processo evolui de modo a aparecer após algum tempo, um calo ósseo que envolve as extremidades dos ossos fraturados. O calo ósseo é constituído por tecido ósseo imaturo que une provisoriamente, as extremidades do osso fraturado. As trações e pressões exercidas sobre o osso durante a reparação da fratura e após o retorno do paciente às suas atividades normais, causam a remodelação do calo ósseo e sua completa substituição por tecido ósseo lamelar (osso secundário). Se essas trações e pressões forem idênticas às exercidas sobre o osso antes da fratura, a estrutura do osso volta a ser a mesma que existia anteriormente (KESSEL, 1998; JUNQUEIRA; & CARNEIRO, 2004).

3.1.2 Cortes no tecido ósseo

Os cortes no tecido ósseo são uma prática comum em muitas especialidades Médicas e Odontológicas. Tradicionalmente são realizados com a utilização de brocas e serras acopladas a motores de alta rotação. Tal procedimento sempre esteve associado a um trauma tanto para o paciente como para o tecido ósseo. A principal preocupação durante a realização deste tipo de intervenção é o controle da temperatura do tecido ósseo. Segundo Abouzgia & James (1997), em 1943, Andersson & Finlayson propuseram o termo necrose asséptica por cauterização local, caracterizando a necrose ocorrida após o aquecimento excessivo do tecido ósseo após a realização osteotomias. A extensão desta necrose depende do calor gerado e da duração da osteotomia, pois como tecido ósseo possui uma baixa condutividade térmica, o calor gerado durante o corte não é rapidamente dissipado.

Krause *et al.* (1982), avaliaram a elevação de temperatura óssea em osteotomias ortopédicas em bovinos. Foram utilizadas fresas cirúrgicas a 20,000 e 100,000 rpm e duas serras reciprocantes a 20,000rpm. Foi avaliado o aumento da temperatura na cortical óssea, em função do desenho do instrumento e da profundidade de corte. Concluíram que a temperatura óssea sobe com o aumento da velocidade de rotação e que isto está dependente do tipo de desenho da fresa utilizada. Destacaram também que a irrigação é indispensável em tal procedimento pois sem a sua utilização a temperatura do osso chegou a 200 °C.

Giraud (1991), citou que o corte do tecido ósseo não é um procedimento simples, pois tratando-se de uma intervenção em um tecido vivo e mineralizado, os fenômenos de reparação serão distintos em função do grau de alterações nele

promovidos. Muitos instrumentos e técnicas, como brocas e serras, utilizados em osteotomias, ainda são muito traumáticos, podendo causar alterações nos padrões de reparação do tecido manipulado.

Wachter & Stoll (1991), investigaram o aumento da temperatura no tecido ósseo durante a realização de osteotomias com serras oscilantes. O estudo foi realizado *in vitro* e *in vivo*. Blocos de osso bovino foram utilizados para a realização dos testes *in vitro*, que serviram para analisar os métodos de avaliação. O trabalho *in vivo* foi realizado em 28 carneiros adultos. As osteotomias foram realizadas sobre constante irrigação com solução salina, sendo que 20ml de solução a uma temperatura de 20 °C, foram aplicados em média por 17 segundos. Todas as osteotomias foram realizadas com a máxima frequência de oscilação para minimizar a duração do procedimento. Nas medições *in vivo*, a média de elevação da temperatura foi de 11°C, porém houve picos de até 59 °C. Os autores concluíram que a irrigação pode reduzir a elevação da temperatura, entretanto apenas a combinação com movimentos intermitentes pode controlar este aumento, evitando danos ao tecido ósseo.

Abouzgia & James (1997), mensuraram a temperatura da cortical óssea bovina durante a realização de osteotomias. As perfurações em cortical do osso fêmur bovino, foram realizadas, utilizando fresas cirúrgicas a uma velocidade de 49,000rpm e com força de aplicação variando entre 1,5 e 9,0N, pois estas pressões são em média, as utilizadas clinicamente. Para evitar variações nas propriedades mecânicas e termofísicas, as amostras foram mantidas congeladas até o momento do trabalho. Os resultados indicaram que a duração da utilização das fresas é o fator dominante na quantidade de calor gerado no tecido ósseo.

Kondo *et al.* (2000), realizaram uma análise quantitativa do efeito de uma instrumentação intermitente associada à irrigação, no controle da temperatura durante o corte ósseo com alta rotação. Foram obtidos pedaços do osso da calota craniana de pacientes com idade entre 35 e 60 anos, submetidos a procedimentos cirúrgicos de descompressão por trauma ou controle de hipertensão cerebral. Um total de 15 pedaços com dimensões de 5 x 5cm, foram utilizados no estudo. Os cortes no tecido ósseo foram realizados com uma broca de alta rotação, associado a um sistema de irrigação, sendo que em uma amostra eram realizados de modo contínuo e em outra de modo intermitente. A irrigação também variou entre os grupos sendo, uma realizada com solução à temperatura ambiente (23°C) e em outras amostras com a solução a 8°C. A temperatura máxima obtida foi com corte contínuo sem irrigação, chegando a 82°C \pm 1.3°C, seguido de 42.5°C \pm 1.2°C, com a solução de irrigação em temperatura ambiente e 22.5 \pm 1.4 °C, quando foi utilizada a solução a 8°C. Realizando-se o corte intermitente, as temperaturas máximas foram respectivamente de 66.1 \pm 1.2 °C; 35 \pm 0.8 °C e 21.5 \pm 0.6 °C. Os autores concluíram que o corte intencionalmente intermitente associado com a irrigação, reduzem a elevação da temperatura, sendo indicados para a realização de osteotomias seguras. Embora a irrigação com solução gelada minimize a elevação da temperatura, seu efeito sobre os nervos ou outras estruturas deve ser elucidado.

3.2 LASER

3.2.1 Interação do *laser* com o tecido ósseo.

O entendimento da interação entre os diversos tipos de aparelhos *laser* e o tecido ósseo baseia-se principalmente, na compreensão dos fenômenos que podem ser induzidos neste tecido pela luz.

Além das propriedades da radiação *laser*, como seu comprimento de onda, características temporais de emissão contínua ou pulsada e a intensidade ou densidade de energia do feixe, as propriedades ópticas do tecido biológico alvo tem um papel muito importante na distribuição da luz *laser* no interior do tecido. Essas propriedades determinarão a natureza e a extensão da resposta do tecido à incidência de radiação *laser* (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998).

Os sistemas biológicos são compostos de uma grande variedade de fluidos teciduais, cada um possuindo características próprias de absorção. Como o corpo humano é constituído em sua maioria de água, a absorção da luz pela água é de fundamental importância. Os elementos dos tecidos que exibem um alto coeficiente de absorção de um certo comprimento de onda ou por uma região do espectro são chamados de cromóforos (substância fotossensível intrínseca ou extrínseca). Os principais cromóforos absorvedores do organismo são as proteínas, a hemoglobina, a melanina e no caso dos tecidos duros dentais a hidroxiapatita.

Todos esses componentes têm a capacidade de absorver luz em diferentes comprimentos de onda, e esta energia absorvida se transforma em outras

modalidades não ópticas de energia. Gutknecht & Eduardo (2004), relatam que a interação nos tecidos pode ser dividida em três grupos, de acordo com a transformação da energia absorvida, sendo eles:

1-Efeito fototérmico: consiste na absorção da luz *laser* pelo tecido e na transformação da mesma energia térmica. O tecido se aquece e reage de acordo. Depois de transformada em calor, a energia do *laser* se propaga, de acordo com as propriedades térmicas do tecido em questão. Na medida que as temperaturas aumentam, os seguintes processos podem ocorrer: Fototermólise, foto-hiperemia, fotocoagulação e fotoevaporação.

Os efeitos térmicos da radiação *laser* sobre os tecidos biológicos estão exemplificados no quadro abaixo:

Temperatura	Efeito Biológico
37°C	Normal.
42 °C	Hiperemia.
50 °C	Redução da atividade de enzimas, imobilidade celular.
60 °C	Desnaturação de proteínas e colágeno, coagulação.
80 °C	Permeabilização de Membranas
>100 °C	Vaporização, Ablação
>150 °C	Carbonização
>300 °C	Fusão

Tabela 1-Efeitos fototérmicos da Radiação *laser* (BRUGNERA; PINHEIRO, 1998)

2-Efeitos fotoquímicos: resultam da baixa absorção de energia pelo tecido e ativam processos bioquímicos no interior das células. Têm como principais exemplos a fotoindução, a fotoativação e a bioestimulação.

3-Os processos não-lineares são devidos às altas densidades de potência com pulsos de *laser* de curta duração. Neste caso, a energia é distribuída muito rapidamente e em espaço muito reduzido dentro do tecido, de modo que o

aquecimento leva à evaporação explosiva do tecido, ou seja, as moléculas de água presentes no tecido são rapidamente aquecidas a temperaturas superiores a 100 °C, em um tempo curtíssimo (10^{-12} a 10^{-15} de segundo) e explodem, levando consigo o tecido as partículas do tecido junto com o calor gerado no processo, evitando assim que o mesmo se propague e cause danos aos tecidos adjacentes. Fala-se em fotoablação quando se aproveitam as propriedades de absorção do tecido para desenvolver este processo.

Em resumo, podemos descrever os fatores que influenciam os efeitos do *laser* nos tecidos biológicos como sendo:

- Comprimento de onda; Modo de emissão; Densidade de energia; Densidade de Potência; Tempo de exposição; Propriedades ópticas e térmicas do tecido.

3.2.2 Efeitos do *Laser* de baixa intensidade no tecido ósseo.

Trelles & Mayayo (1987), propuseram analisar a velocidade de consolidação de fraturas com utilização do *laser* em baixa intensidade em ratos. Eles relatam que o objetivo de muitos estudos que vêm sendo realizados, é acelerar o processo reparador das fraturas, sendo desejável produzir uma situação favorável através de meios terapêuticos, para que seja alcançada uma consolidação óssea mais rápida. Sessenta ratos, com oito semanas de idade, foram divididos em dois grupos (A e B), sendo o grupo A utilizado como controle e o grupo B o que recebeu a terapia com *laser* em baixa intensidade. Os ratos tiveram a tíbia traseira esquerda fraturada por pressão digital. O *laser* de He-Ne (632nm) foi utilizado com potência de 4mW, a uma distância de 20 mm. O tempo de aplicação foi de 10 min por sessão, a cada 48

horas. Os ratos foram sacrificados após 24 horas, 48 horas, 8 dias e 24 dias, do início do experimento. A análise histológica na região da fratura, mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos, sendo que o grupo de ratos que foi irradiado, apresentou uma aceleração no processo de reparação das fraturas, com diferenças entre a espessura do periósteo e do trabeculado neoformado. Os autores concluíram que a aplicação do *laser* em baixa intensidade determinou uma estimulação dos osteoblastos levando a uma maior atividade de osteosíntese nos sítios que receberam LILT. As propriedades particulares do *laser* atuarão não somente sobre os osteoblastos, mas também criarão uma condição ambiental favorável na aceleração do processo de reparação de fraturas.

Takeda (1988), descreveu os efeitos histopatológicos da aplicação de *laser* semicondutores de baixa intensidade na reparação de alvéolos após a exodontia em maxilares de ratos. O autor concluiu que o efeito do GaAs (com comprimento de onda de 904nm, intensidade 25mW/cm² e densidade de energia de 20J/cm²) teve um efeito benéfico no processo inicial de reparação óssea dos alvéolos após as exodontias. Esta conclusão foi baseada nas constatações do autor de uma maior proliferação dos fibroblastos nos animais irradiados, bem como a formação mais rápida de um tecido osteóide, sugerindo uma maior atividade de ossificação.

Yamada (1991), realizou um estudo *in vitro*, sobre os efeitos da radiação *laser* em baixa intensidade sobre células ósseas clonadas da calvária (parte superior do crânio) de ratos recém-nascidos, para determinar os efeitos da radiação na proliferação, diferenciação de osteoblastos e na calcificação óssea. Esse estudo foi realizado com o intuito de saber o efeito direto da radiação *laser* em baixa intensidade (He-Ne de emissão contínua, com comprimento de onda de 632,8nm, potencia de 8,5mW e densidade de potência de 3,03mW/cm²) sobre os osteoblastos,

em razão destas células serem as maiores responsáveis pelo processo de neoformação óssea. Os resultados obtidos pelo autor incluíram o aumento da proliferação celular e síntese de DNA, só nos casos em que a irradiação foi feita na fase ativa do crescimento da cultura, assim como, um aumento na concentração de cálcio e aceleração do processo de calcificação. Essas considerações levaram o autor a concluir que a irradiação com *laser* em baixa intensidade fotoativou as células osteoblásticas, acelerando sua proliferação e aumentando a sua atividade *in vitro*, vindo a estimular desta forma a formação óssea.

Braekt *et al.* (1991), realizou um estudo sobre o efeito do *laser* de GaAlAs com comprimento de onda de 830nm, potência de 30mW e densidade de energia 1J/cm², sobre o tratamento de expansão do osso palatino em cães Beagle. Concluíram que o grupo irradiado apresentou uma resposta de neoformação óssea semelhante a observada no grupo controle, não sendo notados efeitos benéficos da ação da terapia com *laser* em baixa intensidade neste estudo.

Gordjestani *et al.* (1994), visaram analisar a influência de um *laser* que emite radiação na faixa do infra-vermelho, sobre o metabolismo ósseo. Dois defeitos de 2,7mm foram produzidos no osso parietal dos animais. O tamanho dos defeitos foi compatível com o diâmetro da ponta do *laser* que media 3mm. Os animais foram, então, divididos em dois grupos: um que sofreu aplicação do *laser* e o outro que correspondeu ao grupo controle. Foi utilizado um *laser* de arseneto de gálio (904nm), com densidade de potência de 33,3mW/cm² e densidade de energia 20J/cm². Foram feitas duas aplicações diárias, de 5 min, durante 28 dias. Depois deste período, tanto o metabolismo, quanto o defeito ósseo foram analisados por cintilografia óssea. Os autores concluíram que a aplicação do *laser* surtiu um efeito positivo sobre a

reparação óssea, levando a uma resposta acelerada em comparação aos sítios que não receberam LILT.

Yaakobi *et al.* (1996), estudaram a ação do *laser* em baixa intensidade (He-Ne) sobre o osso cortical da tíbia de ratos, através de estudos bioquímicos e radioativos, para se avaliar a atividade da fosfatase alcalina e a deposição de cálcio. Foram utilizados 292 ratos adultos que sofreram, após exposição do osso na porção proximal e medial da tíbia, perfurações de 1,6mm de diâmetro, que atravessaram a porção cortical chegando a parte medular do osso, porém sem perfurar a cortical remanescente. Foi utilizado um *laser* de He-Ne com comprimento de onda de 632nm, operado com potência de 5,3mW e tempo de exposição de 2,3 minutos, resultando em uma densidade de energia de 31J/cm². O diâmetro de ponta do *laser* era de 1,9mm. O *laser* foi aplicado sobre a área operada no quinto e sexto dia após a cirurgia, sendo feita apenas uma aplicação por dia. O grupo controle foi irradiado com uma luz vermelha (660nm, com densidade de energia de 0,4J/cm²) em lugar de um *laser*. Após diferentes intervalos (9, 10, 11, 13 e 15 dias após a cirurgia), os ratos eram sacrificados com clorofórmio, removendo-se o osso neoformado para análise. A ação do *laser* alterou a atividade dos osteoblastos na região operada, como resultado da atividade da fosfatase alcalina. É interessante notar que o pico da atividade da fosfatase durou do 9° ao 15° dia. Pode-se então afirmar que a irradiação atrasou diferenciação dos osteoblastos em osteócitos, fazendo com que os osteoblastos permanecessem ativos por um intervalo de tempo maior na área comprometida. A taxa de deposição de cálcio, medida por cálcio radioativo, foi significativamente maior para o grupo irradiado. Os autores concluíram que o processo de reparação óssea em uma perfuração causada na tíbia de ratos foi

acelerado pela irradiação direta na área da perfuração. Porém, o modo de ação deste fenômeno terá que ser esclarecido em estudos futuros.

David *et al.* (1996), investigaram de maneira radiológica, biomecânica e histológica os efeitos da radiação de um *laser* de He-Ne em fraturas de tíbia de ratos. Sessenta e dois animais tiveram suas duas tíbias fraturadas e fixadas com fio de Kirschner para ficarem mantidas em posição. Os ratos foram divididos em três grandes grupos, para serem analisados após 2, 4 e 6 semanas, e cada um destes grupos divididos em três subgrupos, cada subgrupo recebendo 0,2 e 4,0 Joules de energia. O comprimento de onda foi de 632,8nm e a potência 10mW. O tempo de exposição não foi fornecido. Os autores relatam que a densidade de energia utilizada por sessão, em cada diferente subgrupo, foi de 0,28 e 56J/cm². Segundo os autores, os exames radiológicos, histológicos e biomecânicos não demonstraram qualquer tipo de efeito estimulatório do *laser* de He-Ne, sobre o processo de reparação de osso longos de ratos, nas doses utilizadas. Com isso, os autores sugerem que novos comprimentos de onda e intensidades devam ser investigados sobre os processos de cicatrização de feridas, de preferência usando modelos animais mais desenvolvidos.

Saito (1997), realizou trabalho semelhante ao realizado em 1991, por Braekt, porém, desta vez, utilizando ratos como animais de experimentação, além de maiores potência e densidade de energia. O *laser* de diodo com comprimento de onda de 830nm, potência de 100 a 700mW e densidade de energia 35,3J/cm², foi aplicado após o procedimento cirúrgico de expansão da sutura palatina, durante sete dias. A irradiação, durante os primeiros dias após a expansão, foi mais efetiva, ao contrário dos grupos que receberam apenas uma dose, ou que foram irradiados somente a partir do quarto dia. Essas descobertas sugeriram que a radiação em

baixa intensidade, pode acelerar a regeneração óssea durante o procedimento de expansão rápida da sutura palatina, e que este efeito depende não somente da dose total da irradiação mas também do período e frequência da irradiação.

Lunger *et al.* (1998), investigaram os efeitos do *laser* em baixa intensidade, durante os estágios de proliferação celular, formação de nódulo ósseo e atividade de fosfatase alcalina, *in vitro* utilizando células da calvária de ratos. Osteoblastos foram isolados da calvária de ratos e irradiados com *laser* de GaAlAs (830nm), em vários estágios das culturas celulares, por um tempo de 10 minutos e uma densidade de energia de 3,82J/cm². A radiação, em forma de pulso, foi feita do primeiro ao 16º dia. As células foram mantidas em um incubador, contendo CO₂ por mais oito dias, sem nenhum outro tipo de tratamento. A radiação *laser* foi feita nos estágios iniciais de cultura e os resultados indicaram a formação de uma maior área de nódulos, e também uma maior diferenciação celular, resultando em um aumento no número de osteoblastos, além de um aumento na formação óssea. Ainda salientam que tanto a formação, quanto a estimulação, podem ser alcançadas, irradiando-se apenas células imaturas. Para os autores a estimulação da regeneração óssea, através do tratamento com *laser*, pode ser de grande valor para se abreviar o tempo de reparação área ósseas lesadas. Eles ressaltam por fim que a ação do *laser* não é apenas no processo de osteossíntese, mas também na criação de um ambiente favorável ao processo de reparação óssea.

Freitas *et al.* (2000), investigaram o efeito do *laser* de He-Ne em fraturas na superfície cortical da tíbia de 36 ratos. Os autores criaram defeitos de 2,0mm de diâmetro, usando fresa esférica. O tratamento com *laser* iniciou-se 24 horas após o procedimento cirúrgico. As tíbias contra-laterais, não irradiadas, serviram como controle. Os animais foram divididos em três grupos, de acordo com a densidade de

energia, em $3,15\text{J}/\text{cm}^2$, $31,5\text{J}/\text{cm}^2$ e $94,7\text{J}/\text{cm}^2$ e após aplicações diárias de 30s, 5min, ou 15min, os animais foram sacrificados no oitavo ou 15º dia pós-operatório. Avaliações por microscopias de luz e eletrônica de varredura, revelaram que o tratamento da lesão com dose de $31,5\text{J}/\text{cm}^2$ e $94,7\text{J}/\text{cm}^2$, resultou na formação de trabéculas ósseas mais espessas, o que indicou uma maior síntese de fibras colágenas e, portanto, aumento na atividade pela radiação *laser*, comparada ao grupo controle. Os efeitos da dose de $94,7\text{J}/\text{cm}^2$ foram os mais pronunciados. Já o tratamento com dose de $3,15\text{J}/\text{cm}^2$, não apresentou diferenças significativas em relação ao controle.

Blay (2001), realizou trabalho visando avaliar o efeito da terapia com *laser* em baixa intensidade sobre o processo de osseointegração de implantes instalados na tibia de coelhos. Foram utilizados 30 animais, divididos em 3 grupos de 10. Um grupo não recebeu terapia com *laser* correspondendo ao grupo controle, o segundo recebeu dez aplicações com intervalos de 48 horas entre as aplicações com *laser* de comprimento de onda de 830nm e o terceiro recebeu o mesmo regime de aplicações com o *laser* de diodo com comprimento de onda de 680nm. Os parâmetros de avaliação utilizados foram o torque de remoção e a freqüência de ressonância avaliados após 3 e 6 semanas. Os resultados indicaram que os implantes que sofreram aplicação da terapia com *laser* em baixa intensidade, apresentaram níveis de osseointegração melhores, representados por maiores valores de torque de remoção, que o grupo controle, evidenciando o efeito bioestimulador destes aparelhos de *laser*.

Pinheiro *et al.* (2003), avaliaram histologicamente o efeito da LLLT($\lambda=830\text{nm}$) no reparo de defeitos ósseos padronizados, feitos no osso fêmur de ratos enxertados com osso inorgânico bovino, associado ou não a uma membrana de

osso cortical bovino. Os ratos foram divididos em cinco grupos em função do tratamento dado aos defeitos. Grupo I (controle); Grupo IIA (Gen-ox®); Grupo IIB (Gen-ox + LLLT); grupo IIIA (Gen-ox® + Gen-derm®) e grupo IIIB (Gen-ox® + Gen-derm® + LLLT). Os animais dos grupos tratados com LLLT, foram irradiados a cada 48hs, durante 15 dias, sendo que a primeira irradiação foi realizada logo após o procedimento cirúrgico. A dose por sessão foi de 16J/cm². Os animais foram sacrificados 15, 21 e 30 dias após os procedimentos cirúrgicos. Os resultados demonstraram evidências de um reparo acelerado nos sítios dos grupos que sofreram LLLT em comparação aos outros. O reparo nos grupos irradiados foi caracterizado tanto por um aumento na neoformação óssea, como na quantidade de fibras colágenas ao redor dos enxertos. Concluiu-se que a LLLT teve um efeito positivo no reparo ósseo de defeitos submetidos à enxertia.

Ueda & Shimizu (2003), estudaram o efeito da terapia com *laser* em baixa potência (LLLT) na formação de nódulos ósseos, a partir de células da calvária de ratos *in vitro*. Células tipo osteoblastos foram isoladas da calvária de fetos de ratos e foram irradiadas uma vez com o *laser* de baixa potência GaAlAs (830nm, 500mW, 0,48-3,84 J/cm²) em quatro modos de aplicação distintos, sendo o modo contínuo, 1-, 2- e 8-Hz. Os resultados indicaram que em todos os grupos de irradiação houve uma estimulação da proliferação celular, da formação de nódulos, da atividade da fosfatase alcalina (ALP) e da expressão gênica da ALP, em comparação aos grupos controle não irradiados. A irradiação no modo 2-Hz foi a que alcançou a maior formação de nódulo nas condições do estudo. Os autores concluíram que o *laser* pulsátil em baixa frequência estimula de maneira significativa a formação óssea *in vitro*, e que a LLLT influencia a resposta biológica na formação óssea.

3.2.3 Osteotomia com *laser* de alta potência.

As técnicas convencionais de corte ósseo com o uso de brocas e serras, apesar de promoverem a remoção de quantidades satisfatórias de tecido ósseo, com frequência, causam traumas mecânicos, aquecimento excessivo e hemorragia profusa nos sítios operados. Tais constatações estimularam a busca de novas técnicas, como a utilização do *laser* de alta potência.

Clayman *et al.* (1978), avaliaram a reparação óssea em resposta a osteotomias realizadas com *laser* de CO₂ no modo contínuo e no rápido super-pulsátil. Dez coelhos foram utilizados no trabalho, sendo produzidos defeitos ósseos em suas patas com os dois modos de *laser* de CO₂. Os coelhos foram sacrificados 0, 2, 4, 6 e 8 semanas após a realização das cirurgias. O *laser* de CO₂ foi capaz de incisar facilmente o tecido ósseo, sendo que o modo pulsátil requer menos energia para realizar o mesmo padrão de osteotomia, que o modo contínuo. Os autores concluíram que o *laser* de CO₂ é um instrumento potencial para cirurgias ósseas, especialmente quando a hemostasia é estritamente necessária. Apesar do intenso calor gerado pela energia do *laser*, os autores consideraram que existiram poucas injúrias térmicas.

Nelson *et al* (1988) estudaram o efeito da irradiação do *laser* de Er:YAG sobre osso e sobre blocos de metacrilato. Um *laser* de Er:YAG, de comprimento de onda de 2,94µm, foi focado tanto em ossos longos de coelhos, como em blocos de metacrilato. A energia por pulso do *laser* variou entre 0,1 e 0,2 J no modo simples e

0,1 a 1,0J no múltiplo tendo frequência de 5 a 7 Hz em ambos os modos. A profundidade das injúrias térmicas em função da energia por pulso, foi avaliada no osso e no metacrilato através da micrometria ocular. Os resultados do estudo sugerem que o *laser* de Er:YAG promove uma efetiva ablação óssea, através da remoção do substrato com microexplosões, com mínimas alterações térmicas na região adjacente ao corte. Um aumento da energia por pulso produz um acréscimo na largura e na profundidade das cavidades tanto no osso quanto no metacrilato, entretanto com um aumento da energia do *laser* há um acréscimo proporcional da zona de injúria maior no metacrilato do que no tecido ósseo.

Nuss *et al.* (1988), compararam as características da ablação óssea de cinco tipos de *laser* em modelo animal. Nos estudos foram utilizados 3 tipos de aparelho de *laser* pulsáteis (Nd:YAG, $\lambda = 1,064\mu\text{m}$, Hol:YSGG, $\lambda = 2,10\mu\text{m}$ e Er:YAG, $\lambda = 2,94\mu\text{m}$) e 2 aparelhos de emissão contínua (Nd:YAG, $\lambda = 1,064\mu\text{m}$ e CO₂, $\lambda = 10,6\mu\text{m}$). Todas as ablações ósseas foram realizadas *in vitro*, utilizando osso fresco da calvária de porcos. As amostras das regiões que sofreram irradiação foram processadas e a análise histológica ao microscópio óptico revelou diferentes padrões de danos ao tecido. No caso dos aparelhos *laser* de Nd:YAG e Er:YAG a zona de dano ao tecido adjacente foi de 10 a 15 μm . Já o *laser* de Hol:YSGG promoveu uma zona de dano que variou entre 20 e 90 μm . Os dois aparelhos *laser* de emissão contínua provocaram de 60 a 135 μm de danos ao tecido adjacente. Os resultados sugeriram que o *laser* de Nd:YAG e o de Er:YAG promovem a ablação óssea, com pouca ou nenhuma alteração térmica. Os outros aparelhos de emissão de *laser* causaram corte no osso pelo mecanismo de carbonização.

Clauser & Clayman (1989), realizaram dois modelos de osteotomias lineares em osso bovino cortical congelado, com um *laser* de CO₂ em modo rápido super-

pulsátil, variando a velocidade, a média de potência e a taxa de repetição de pulso. Tanto a profundidade, quanto a largura das osteotomias foram inversamente proporcionais à velocidade e diretamente a média da potência, sendo que a taxa de repetição não influenciou em nada. A profundidade / largura que são objetivos das osteotomias, foram afetadas apenas pela média da potência, definindo a forma da osteotomia.

Nelson *et al.* (1989), realizaram estudo visando determinar o efeito da osteotomia feita com *laser* na reparação óssea. No experimento, foram feitas duas osteotomias em tíbias de coelhos, sendo que uma com *laser* de Er:YAG , e outra com brocas convencionais. Após as cirurgias, o primeiro grupo foi sacrificado imediatamente e os outros após uma, duas, três, quatro, cinco e seis semanas. Nas regiões onde o *laser* foi utilizado, foram produzidos cortes sem áreas de derretimento ou queimaduras no osso adjacente. Porém, histologicamente, os autores observaram que houve um atraso no processo de reparação óssea nas osteotomias realizadas com *laser*, em relação às osteotomias convencionais, em todos os intervalos de tempo avaliados.

Stein *et al.* (1990), avaliaram em seu estudo o processo de ablação e as injúrias térmicas residuais, geradas no tecido ósseo pelo *laser* de hólmio. O estudo foi realizado em quatro coelhos, utilizando a maxila e o osso nasal para a criação dos defeitos ósseos. O *laser* de Hol:YSGG possui comprimento de onda de 2,09 μm , já o Hol:YAG tem 2,12 μm , e ambos foram utilizados no estudo. Os aparelhos de emissão de *laser* criaram cavidades de 5mm de diâmetro na parede anterior do seio maxilar esquerdo e no osso nasal. A densidade de energia aplicada variou de 100 a 300 J/cm^2 e o número de pulsos esteve entre 1 e 12/s. Os animais foram sacrificados após 8, 21, 35 e 49 dias e as áreas operadas foram processadas e

analizadas histologicamente. A análise das amostras após 8 dias, mostrou uma reação de corpo estranho com uma intensa presença de osteoclastos. Um tecido de granulação preencheu parcialmente o sítio de ablação. Entre a terceira e a quinta semana existiu a formação de um calo ósseo, caracterizando uma zona de neoformação óssea. Após a quinta semana, os sítios de ablação dificilmente eram localizados, e na sétima semana, o defeito inicial estava completamente preenchido por osso neoformado. O *laser* pulsátil de hólmio, transmitido por uma fibra de quartzo flexível, é capaz de cortar tecido ósseo. A ablação/corte é associada com hemostasia e a uma mínima injúria térmica in vivo. O *laser* de hólmio pode proporcionar uma nova opção para os procedimentos sinusais cirúrgicos.

Dressel *et al.* (1991), realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a efetividade do excimer *laser* no corte ósseo. No estudo, utilizaram-se seis coelhos machos, sendo que em cada uma das tíbias direitas, foram realizadas duas osteotomias: uma com o excimer *laser* e outra com broca. O *laser* estava regulado com uma taxa de repetição de 20Hz, duração do pulso de 300ns, energia de 50mJ e fluência de $5,4\text{J}/\text{cm}^2$. Os animais foram sacrificados após um, dois e quatro semanas da realização das cirurgias. Os autores constaram histologicamente, que após duas semanas, os sítios em que o *laser* foi utilizado, apresentava níveis similares de reparação em comparação a aqueles onde os cortes foram realizados com brocas. Em ambos os sítios podem ser observados osso neoformado assim como tecido ósseo imaturo. Após quatro semanas de reparação, os defeitos criados com brocas e com o excimer *laser*, estavam preenchidos com tecido osteóide e tecido ósseo mineralizado. No estudo, não foi observado atraso na cicatrização nos sítios operados com o *laser* em relação ao controle. Os resultados deste estudo indicam

que excimer *laser* pode ser utilizado de maneira segura e confiável para a realização de osteotomias sem que haja nenhum prejuízo ao processo de reparação tecidual.

Li *et al.*(1992) , investigaram a ablação óssea realizada com *laser* de CO₂ e *laser* de Er:YAG com comprimento de onda de 2,94µm. Foram realizadas medições quantitativas da massa removida e da profundidade de cortes realizados em crânio de gatos e fêmur de ratos. Os resultados histológicos demonstraram que a zona mínima de injúrias térmicas nas regiões submetidas ao *laser* foi de 5 - 10µm. Houve uma maior variação da temperatura nas áreas submetidas ao *laser* de CO₂, mas a amplitude do ruído produzido foi maior na utilização do *laser* de Er:YAG, variando entre 100 a 200dB, nível de ruído que o ouvido pode tolerar por pouco tempo. Os autores concluíram que o *laser* de Er:YAG pode ser um importante instrumento para a cirurgia otorrinolaringológica.

Rayan *et al.* (1992), estudaram o efeito do *laser* de CO₂ na cortical óssea. 20 coelhos machos foram utilizados na pesquisa. Dezesesseis tiveram um dos fêmures expostos e nele foi realizado um corte no osso com o *laser* de CO₂ na potência de 20 watts. Em quatro coelhos, a mesma cirurgia foi realizada sem o uso do *laser*. Os coelhos foram sacrificados após um período de quatro e seis semanas, sendo que as áreas operadas foram submetidas ao processamento e à análise histológica. Todas as regiões operadas com o *laser* demonstraram danos térmicos. Três zonas histológicas distintas puderam ser observadas: Uma zona superficial carbonizada, uma zona intermediária consistindo de osso necrótico, associada a uma área de reparação contendo focos de neoformação óssea. A zona mais profunda apresentou osso normal sem danos celulares. Os sítios controle apresentaram reparação tecidual dentro dos padrões de normalidade. O *laser* de CO₂ pode ser usado para

gerar uma zona controlada de corte ósseo, que por sua vez, pode potencialmente ser usada para cauterização das margens de tumores.

Lewandrowski *et al.* (1996), investigaram a efetividade do *laser* Er:YAG como uma alternativa à utilização de brocas em osteotomias. O estudo foi baseado na comparação da reparação de defeitos ósseos, realizados na borda inferior da mandíbula de ratos, utilizando brocas convencionais de um lado e o *laser* de Er:YAG no contra-lateral. Foi também estudada a reparação de osteotomias realizadas no osso facial, que serviram para a fixação de parafusos de estabilização de placas nos fragmentos ósseos livres. Todos os animais foram sacrificados após quatro semanas. A análise histológica não evidenciou diferenças entre a quantidade de osso neoformado nos sítios das osteotomias feitos pelo *laser* e naqueles criados por brocas. A extensão dos danos térmicos promovido pelas osteotomias, foi comparável nos dois sítios. Os autores concluíram que o *laser* de Er:YAG pode ser usado clinicamente para osteotomias de ossos finos e frágeis da região maxilofacial.

El-Montaser *et al.* (1999), instalaram parafusos de titânio em defeitos de mesmo tamanho, criados com *laser* ou brocas em calvária de ratos. Os objetivos deste estudo foram determinar se os parafusos são capazes de osseointegrar em osso preparado com *laser* e comparar o modelo de reparação óssea ao redor destes parafusos. Com o *laser* de Er:YAG, foi realizado uma cavidade de 0,7mm de diâmetro na calvária de ratos para receber um implante de titânio autorrosqueante de diâmetro de 1mm. Cada animal, também teve uma cavidade de 0,7 mm de diâmetro preparada em outra parte da calvária, com uma broca de metal convencional, que recebeu um implante autorrosqueante de 1mm diâmetro. Os ratos foram sacrificados três semanas ou três meses após a cirurgia, e as amostras foram processadas em parafina para a análise histológica. As regiões preparadas com

laser apresentaram os seguintes resultados: Após três semanas, os parafusos estavam rodeados por osso medular vital, dura-mater foi perfurada e uma alteração cística estava presente no tecido cerebral, existia uma ativa formação óssea adjacente à superfície do parafuso em continuidade a uma fina zona de necrose óssea e após três meses, os implantes estavam osseointegrados e o tecido cerebral estava cicatrizado. Nas cavidades preparadas com brocas: após três semanas, havia uma intensa remodelação ao redor do defeito preparado, dura-mater estava intacta e não existiam danos ao tecido cerebral. Após 3 meses os implantes estavam osseointegrados com osso adjacente ao parafuso. A osseointegração dos parafusos de titânio pode ser alcançada usando o Er:YAG *laser* para preparar o leito ósseo para receber os implantes.

Peavy *et al.* (1999), compararam a ablação na cortical óssea, utilizando um FEL (free electron *laser*) com comprimento de onda variando entre 2,9 e 9,2 μ m. As corticais ósseas utilizadas no estudo, eram de fêmur de cadáveres bovinos, cortados em pequenos blocos de aproximadamente 3 x 4cm. A única variação existente entre os cortes foi o comprimento de onda do *laser*, pois a intensidade de pulsação, taxa de repetição, exposição à radiação, número de pulsos e forma de condução do *laser* foram constantes. Após a ablação, as amostras foram submetidas ao processamento e análise histológica. Os parâmetros analisados foram remoção de tecido, injúrias térmicas e características dos sítios que sofreram ablação. A partir dos pontos considerados, a ablação óssea mostrou variações em função do comprimento de onda. O uso de comprimentos de ondas de 6,1 a 6,45 μ m, promoveu um corte ósseo mais eficiente e com menos injurias térmicas que o corte controle feito com serra. Este estudo confirma observações prévias de que a ablação consiste em um processo de microexplosão causado pela evaporação interna da

água confinada, e que esta mesma ablação é melhorada pela utilização de comprimentos de onda que atinjam a matriz proteica da cortical óssea.

Spencer *et al.* (1999), analisaram as mudanças morfológicas e químicas no tecido ósseo, após exposição ao FEL (free electron *laser*) com comprimento de onda de 3,0, 6,1 e 6,45 μ m. O estudo foi realizado nas tíbias de 14 coelhos adultos. As incisões com *laser* foram feitas, utilizando um programa de controle cirúrgico computadorizado, e as incisões controle foram realizadas com serras para osso. Os animais foram sacrificados após a incisão final, e as amostras foram obtidas e processadas. Os resultados revelaram que os defeitos criados com os diferentes comprimentos de ondas revelaram características semelhantes, sendo que a análise histológica indicou danos térmicos mínimos nas áreas que sofreram ablação com *laser* em comprimentos de onda de 3,0, 6,1 e 6,45 μ m .

Martins (2001), em estudo realizado em ratos, comparou a cicatrização de osteotomias realizadas com brocas e com *laser* de Er:YAG ($\lambda=2,94\mu$). Os cortes ósseos foram realizados nas mandíbulas dos ratos. O reparo ósseo das osteotomias realizadas com brocas, foi mais rápido em comparação às osteotomias feitas com o *laser* de Er:YAG, principalmente nas amostras coletadas até 45 dias após as cirurgias. O autor afirmou que o reparo ósseo nas áreas tratadas com o *laser*, ocorreu através de corredores de cicatrização, organizados em áreas de solução de continuidade nas zonas de dano térmico, tendo um padrão de cicatrização centrípeto, enquanto o reparo ósseo após osteotomias feitas com brocas tende a forma centrífuga.

Sasaki *et al.* (2002), compararam a ablação óssea promovida através de *laser* de Er:YAG e CO₂. Em um modelo animal que utilizou ratos. Em cada animal foram realizadas três osteotomias sendo uma com o *laser* de Er:YAG com uma energia de

100mJ/pulso, uma taxa de pulsação de 10Hz(1W), uma segunda realizada com o *laser* de CO₂. A terceira osteotomia foi realizada com brocas convencionais correspondendo aos sítios controle. Após isto, as amostras foram analisadas com SEM e FTIR. Os resultados mostraram que o *laser* de Er:YAG promoveu ablação, gerando buracos com dimensões similares às produzidas pela broca convencional, enquanto as áreas submetidas ao *laser* de CO₂, produziram apenas linhas com mínima redução de tecido. As observações no SEM revelaram que as crateras produzidas pelo *laser* de Er:YAG tinham paredes bem definidas. O derretimento e a carbonização produzidas pelo CO₂, não foram observados nos sítios irradiados com Er:YAG. A FTIR revelou que a composição química da superfície óssea após a ablação com Er:YAG, foi a mesma presente nos sítios onde houve o corte com brocas. A produção de substâncias tóxicas que ocorreu depois do uso do CO₂, não foi observada após o uso do Er:YAG, e do corte com brocas. Os resultados sugeriram que o uso de *laser* de Er:YAG para a ablação pode ser uma alternativa para as cirurgias ósseas orais e periodontais.

Aoki *et al.* (2003), avaliaram histologicamente o processo de reparação de defeitos ósseos, criados com *laser* de Er:YAG, em comparação a defeitos realizados com brocas convencionais. Os resultados demonstraram que o *laser* de Er:YAG foi capaz de promover a ablação do tecido ósseo com a mesma efetividade do corte ósseo, sem causar alterações térmicas severas. Os defeitos ósseos criados com *laser* de Er:YAG foram reparados por osso neoformado em um período de dois meses, quase de maneira semelhante aos sítios onde foi utilizada a broca. Os autores concluíram que o *laser* de Er:YAG pode ser aplicado em cirurgias ósseas periodontais.

Pourzarandian *et al.* (2003), compararam os eventos de reparação inicial de cortes ósseos feitos com *laser* de Er:YAG e *laser* de CO₂. O estudo foi feito em 24 ratos, sendo que em cada rato, foram realizados dois defeitos ósseos: um com *laser* de Er:YAG e um com *laser* de CO₂. Os ratos foram sacrificados em 10 min, seis e 24 horas, e três, sete, e 14 dias após a irradiação. A análise histopatológica da reparação dos sítios irradiados com Er:YAG, sugeriu que este modo de tratamento tem um padrão de reparação óssea inicial superior em comparação aos sítios operados com *laser* de CO₂. Foi observado que a proliferação de fibroblastos e osteoblastos foi mais proeminente no grupo do *laser* de Er:YAG, onde ocorreu a revascularização e a formação de um tecido osteóide. Por outro lado, grandes quantidades de tecido necrótico, com áreas de carbonização e presença de leucócitos polimorfonucleares foram os maiores achados histológicos das amostras das regiões de *laser* de CO₂. Desta forma, os autores puderam afirmar as osteotomias realizadas com de Er:YAG reparam com maior velocidade do que aquelas produzidas com *laser* de CO₂, podendo ser aplicado em cirurgias ósseas.

Rupprecht *et al.* (2003), avaliaram um novo sistema de corte ósseo com *laser*, que permite uma identificação automática de variações na qualidade do tecido através de um sensor, evitando desta forma, danos às estruturas nobres como nervos e vasos. No trabalho, foi utilizado o *laser* de Er:YAG, acompanhado de dois sensores de sinais, um piezoelétrico e um fotodiodo, que recebiam e processavam os sinais controlando desta forma, as osteotomias com *laser*. Os cortes foram realizados em fêmures de coelhos e em mandíbulas de mini-porcos e as amostras obtidas eram analisadas macroscopicamente e histologicamente. Os resultados mostraram que em média, 97,45% das amostras dos porcos e 97,83% dos coelhos tiveram cortes ósseos com precisão evidenciando a efetividade do sistema. Quando

o *laser* rompia a camada cortical e alcançava o osso medular, o *laser* era prontamente interrompido devido a extremas variações nas características dos sinais recebidos pelo sistema de sensores. Este teste *in vitro*, mostrou que este sistema de controle é um sucesso.

3.2.5 Osteotomia com *laser* de Er,Cr:YSGG

Shah *et al.* (1996), avaliaram o *laser* Er,Cr:YSGG, quando utilizado em vários procedimentos cirúrgicos no ouvido médio, incluindo mastoidectomia, aticotomia, e descompressão do nervo facial. No trabalho foram usados ossos temporais de cadáveres humanos, cadáveres de coelhos e ratos vivos, sendo que os procedimentos envolviam a remoção precisa de osso e estruturas de tecido mole no ouvido externo e médio. Um termógrafo foi inserido nas regiões adjacentes as áreas irradiadas, com o objetivo de registrar as alterações de temperatura durante a incidência do *laser*. O *laser* promoveu a remoção tanto do osso cortical, quanto medular, permitindo a mastoidectomia, aticotomia e a descompressão do nervo facial. Os autores concluíram que o *laser* de Er,Cr:YSGG permite um corte cirúrgico preciso, através da ablação, com mínimas alterações térmicas nas estruturas adjacentes.

Kimura *et al.* (2001), investigaram as mudanças morfológicas, atômicas e de temperatura em áreas irradiadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG, durante e após a irradiação e avaliaram o efeito de corte sobre o osso mandibular de cães *in vitro*. Duas mandíbulas de cães foram cortadas em pedaços de 3 a 5cm e irradiadas com

laser de Er,Cr:YSSG, com potência de 5W e frequência de 8Hz, durante 10 a 30 segundos, sempre associado a um spray de ar-água. Durante e após a irradiação com o *laser*, os aumentos de temperatura nas áreas irradiadas, foram medidas por termógrafos. As amostras foram então observadas em microscópio óptico e através de microscopia eletrônica, para determinar as mudanças morfológicas. O raio-x de energia dispersiva foi utilizado para avaliar as alterações atômicas. Cavidades ou ranhuras regulares foram produzidas, sem serem observadas zonas de derretimento ou carbonização. O máximo de aumento de temperatura foi em média, de 12,6°C para 30 segundos de irradiação, sendo que o tempo que a temperatura aumentou mais que este limite foi menor que 10 segundos. Um exame analítico atômico revelou que a taxa de cálcio: fósforo não sofreu mudanças significativas entre as áreas irradiadas e não irradiadas.($P>0,01$). Estes resultados demonstraram que o *laser* de Er,Cr:YSSG corta efetivamente a mandíbula de cães sem queimar, derreter ou alterar a taxa de cálcio: fósforo do osso irradiado.

Wang *et al.* (2002), investigaram as mudanças morfológicas do osso mandibular acompanhado da irradiação com *laser* de Er,Cr:YSSG, em diferentes métodos *in vitro*. Uma mandíbula de um bovino adulto foi cortada em 24 pequenos pedaços, de comprimento entre 3 e 4cm. Os parâmetros de irradiação do *laser* foram: comprimento de onda de 2,78 micrômetros, duração de pulsação entre 140-200 μ m por segundo, taxa de repetição de 20 pulsos por segundo, potência de 4 W, tamanho de lâmpada de 1, 26x10-3mm² e densidade de energia de 160J/cm². Os 24 pedaços foram divididos em quatro grupos iguais. Os métodos de irradiação foram diferentes nos quatro grupos sendo: grupo A, posição fixa do *laser* e em contato com o osso; grupo B, ponto fixo e sem contato; grupo C, sem posição fixa e em contato; e grupo D sem posição fixa e sem contato. Os resultados demonstraram que a

ablação foi significativamente maior no grupo A (posição fixa do *laser* em contato com o osso) comparado ao grupo B (ponto fixo do *laser* sem contato), contudo no grupo A, houve uma aparente variação térmica. No grupo B,C e D as variações térmicas foram mínimas. Baseados nos resultados, os autores concluíram que o *laser* Er,Cr: YSGG permite a ablação e um corte ósseo preciso, com mínimas alterações térmicas nos tecidos adjacentes. Os diferentes métodos de irradiação podem promover diferentes taxas de ablação e de variações térmicas. Os autores citam ainda, que o mecanismo de ablação deste tipo de *laser* ainda não está claro. De acordo com relatos prévios, existem duas teorias. Na primeira, os efeitos térmicos do *laser* causam a vaporização do tecido ósseo diretamente. Na segunda, sabe-se que o *laser* de Er,Cr:YSGG tem uma grande absorção pela água (coeficiente de absorção de $\alpha=7,700\text{cm}^{-1}$), devido ao seu comprimento de onda. Então, a absorção da irradiação do *laser* e a sua conversão em energia térmica, causam uma concentração local de calor, desta forma, a água aquece até o seu ponto de ebulição determinando uma vaporização por explosão. Os resultados deste trabalho mostram que ambos mecanismos podem ocorrer. A carbonização e o derretimento do tecido ósseo demonstram o efeito térmico direto, enquanto as margens irregulares da camada necrótica transparente suportam a teoria da microexplosão.

De acordo com o que foi descrito nesta revisão de literária, concluímos que ainda restam dúvidas a respeito dos protocolos adequados para a realização de osteotomias com o *laser* de Er,Cr:YSGG, e de seu efeito na reparação do tecido ósseo. Não está claro também o efeito da aplicação de *laser* de baixa intensidade, na reparação óssea. Deste modo, resolvemos pesquisar essas situações em modelo animal, a fim de verificar a segurança e a eficácia destes procedimentos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Animais experimentais

O presente estudo contou com 8 coelhos New Zealand machos, com massa variando entre 4.5 e 5.5 Kg e idade entre 10 e 14 meses. Os coelhos devidamente identificados através de numerações tatuadas em suas orelhas, foram divididos em quatro grupos de dois animais, em função do momento de sacrifício.

4.1.2 Aparelhos de emissão de *laser*.

4.1.2.1 *Laser* de alta potência

Laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase®, Bio*laser* Technology Inc, San Clemente, USA)

Especificações do *laser*: Comprimento de onda de 2.78 μ m, taxa de repetição de 20 pulsos/ segundo, intensidade de energia de 160J/cm² na potência de 4W, 5W.

Nível máximo de spray ar-água.



Fig.1 Laser de alta potência.

4.1.2. Aparelho de laser em baixa intensidade.

Laser diodo (Minilaser 2075 F Dent®, Helbo, Áustria)

Comprimento de onda: 680nm

Potência: 75mW

Modo de operação: pontual

Modo de aplicação: varredura

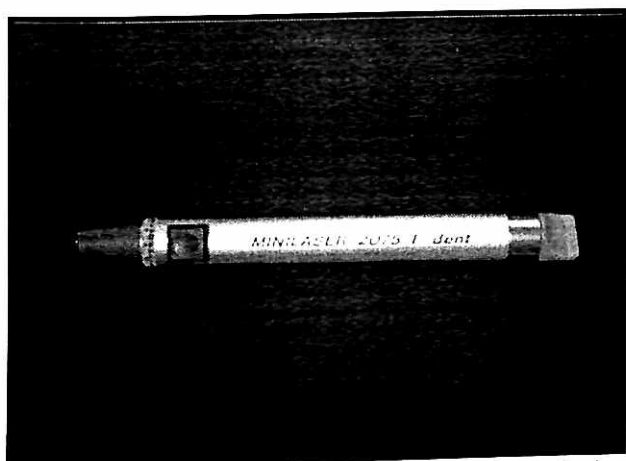


Fig. 2a. Aparelho de emissão do laser em baixa intensidade.

Fig. 2b. Imagem ressaltando a forma compacta de apresentação do laser.

4.2 Método

4.2.1 Metodologia

A pesquisa foi realizada de acordo com os princípios éticos de experimentação animal elaborados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), entidade filiada ao International Council of Laboratory Animal Science (ICLAS), com base em normas internacionais, que visam o aprimoramento de condutas na experimentação animal baseadas em três princípios elementares: sensibilidade, bom senso e boa ciência. O presente estudo também foi aprovado Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santo Amaro (CEP), tendo o parecer de nº 130/2004.

Os animais foram mantidos em uma área do biotério Unitox especialmente adaptada para esta pesquisa, pois se sabe que os coelhos são animais extremamente sensíveis e, portanto, necessitam de ambiente adequado, principalmente em estudos envolvendo procedimentos cirúrgicos, nos quais se esperam resultados a longo prazo. Um sistema especial de ventilação e exaustão foi instalado de maneira a garantir 12 trocas completas de ar a cada hora, pois a urina dos coelhos é rica em amônia que, em alta concentração, pode causar sérios problemas pulmonares nos animais, podendo levá-los a morte. O duto responsável pela entrada de ar na sala possuía um sistema de resistências elétricas acopladas a um termostato, mantendo-se a temperatura ambiente em $20 \pm 1^\circ\text{C}$, pois os animais também são sensíveis a extremos de temperatura. Os animais foram mantidos

nesse biotério por um período de 15 dias antes do início das cirurgias, para adequação ambiental e avaliação das suas condições de saúde. Sua alimentação, durante todo o estudo, consistiu basicamente em ração com teor protéico de 17%, sendo fornecida em abundância, assim como o suprimento de água. Uma vez por semana era colocado na água suplemento vitamínico a uma proporção de 1 ml por litro. Em 1/3 do piso das gaiolas foi colocada uma tábua de madeira para que eles exercessem os hábitos naturais de qualquer roedor. Abaixo do piso das gaiolas, uma bandeja removível era forrada com maravalha para garantir uma maior absorção da urina e fezes. A bandeja era trocada a cada 48 horas. Uma vez por semana os coelhos eram removidos das gaiolas e estas eram lavadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.

Durante o período de 15 dias, que antecedeu às cirurgias, foi realizado condicionamento dos animais, para que estes se acostumassem a serem retirados das gaiolas para o tratamento. No pré-operatório, foi mensurada a massa corporal de cada animal em balança digital aferida pelo Inmetro, para que fossem estabelecidas as doses ideais de anestésico e medicação para cada animal.

A anestesia foi a base quetamina (Vetaset®, Fort Dodge Inc, Fort dodge Iowa, EUA) na dose de 20mg/kg. Essa medicamento é indicada para intervenções cirúrgicas que requerem sedação profunda, diminuindo assim, os efeitos colaterais indesejáveis dos compostos aplicados, reduzindo a necessidade de grandes doses e equilibrando os efeitos específicos. Como a quetamina pode induzir vômitos após sua administração, o animal foi deixado em jejum por um período de 2 horas (BLAY; 2001) No pré-operatório, foram realizadas as tricotomias das áreas que seriam operadas.

Uma vez sedados, os animais tiveram suas patas traseiras e pele escovadas, com escovas embebidas com solução de iodo-povidine e em seguida lavadas com solução de digluconato de clorexidina a 2%, sendo então a região isolada através de um campo cirúrgico estéril.

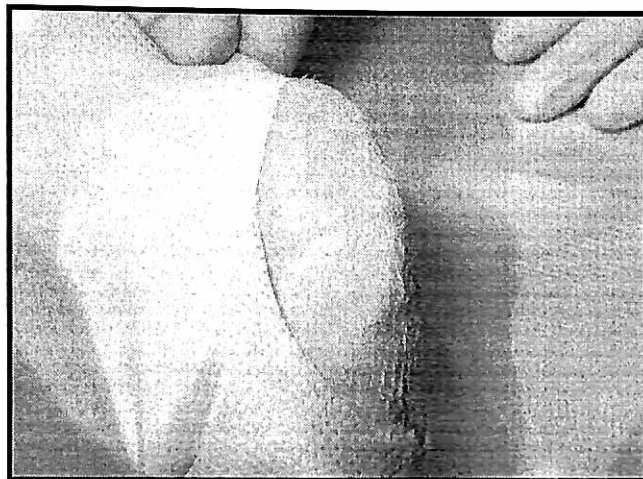


Fig. 3. Campo operatório

Na região da eminência anterior da metáfise proximal das tíbias, nos locais das osteotomias foi injetado em média 1 ml de anestésico local com Xilocaína a 5 % (Fig 5).

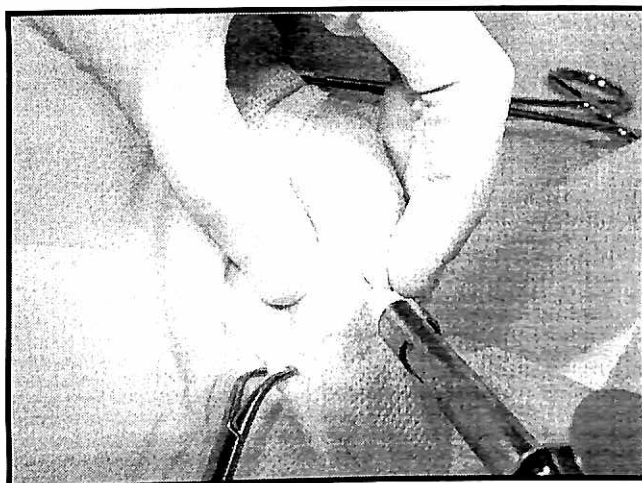


Fig.4 Anestesia infiltrativa.

A técnica cirúrgica para realização das osteotomias nas tíbias se inicia com incisão em camadas da pele, tecido muscular e periósteo com lâmina de bisturi nº 15 (Figs 6 e 7), deixando o tecido ósseo exposto.

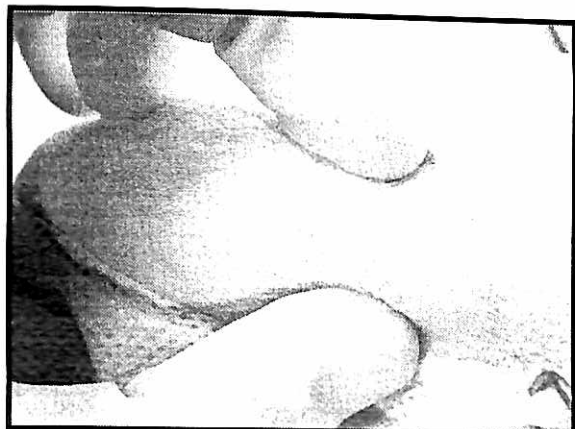


Fig. 5. Incisão inicial.



Fig. 6. Segunda incisão.

Uma vez o osso exposto, iniciou-se a seqüência de realização das três osteotomias. A primeira feita na parte mais anterior da região mesial da metáfise proximal de cada tibia, foi realizada com a broca nº 701, montada em peça de mão com velocidade de 1200rpm, sempre sob irrigação profusa com soro fisiológico a 0,9%.

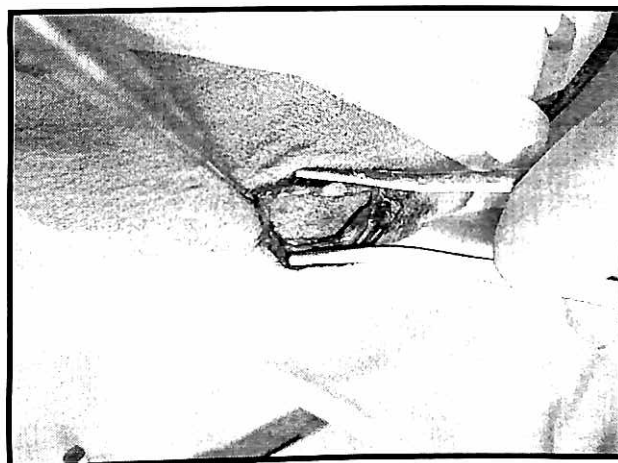


Fig. 7. Exposição do tecido ósseo.

A uma distância de 5 mm da primeira osteotomia, era realizada a segunda com o *laser* de Er,Cr:YSGG na potência de 5W e em seguida executava-se a última osteotomia com o mesmo *laser* porém na potência de 4W, também a uma distância de 5 mm do segundo corte. Todos os cortes foram realizados até que a cortical óssea fosse rompida e alcançando-se a região medular. Entre as osteotomias foram colocadas tachinhas para facilitar a localização dos cortes após o período de reparação.

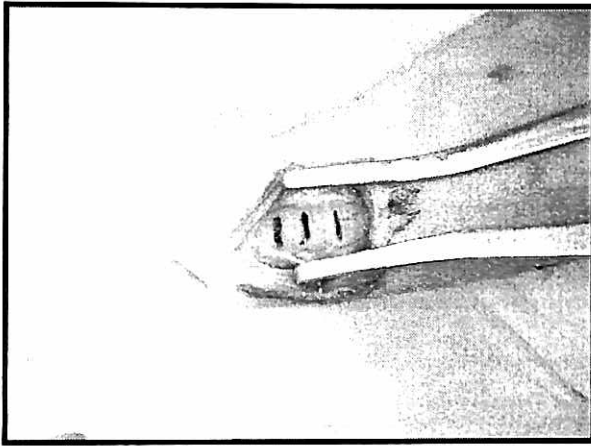


Fig. 8. Osteotomias realizadas.

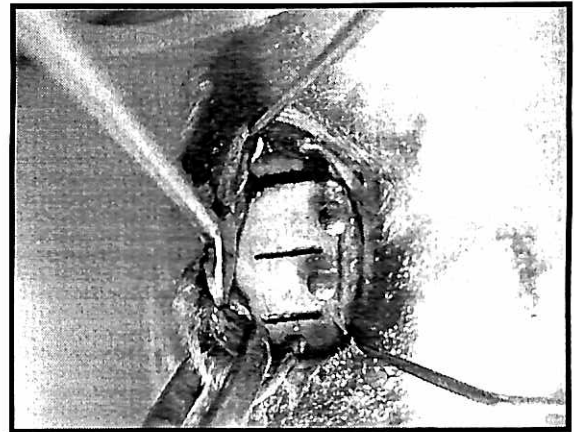


Fig.9. Tachinhas posicionadas.

Os mesmos procedimentos foram realizados nas tíbias contra-laterais, sendo que ao final das osteotomias era aplicado o *laser* em baixa intensidade em uma das regiões operadas. A terapia com *laser* em baixa intensidade estabelecida neste trabalho, constou da aplicação do *laser* de diodo, com comprimento de onda de 680nm, potência de 75mW, durante dois minutos, aplicado em forma de varredura, totalizando uma densidade de energia de $8\text{J}/\text{cm}^2$ em cada aplicação. Como foram formados grupos com dois animais, a LILT foi aplicada na pata direita de um deles e na esquerda do outro (Tabela 2).

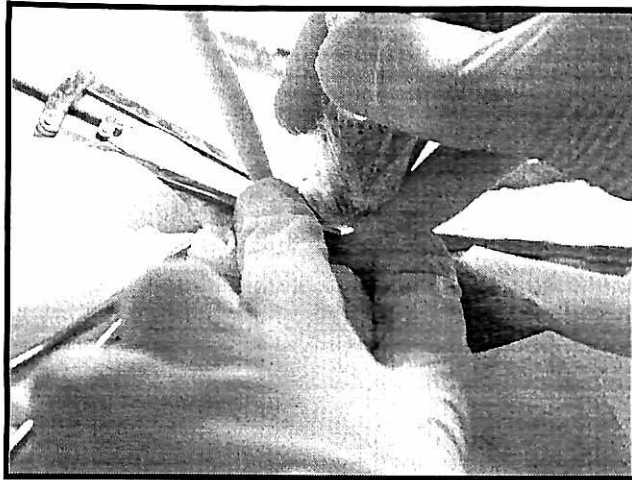


Fig. 10. Aplicação do *laser* em baixa intensidade.

Nas patas submetidas ao tratamento com *laser* em baixa intensidade, a primeira sessão foi realizada logo após a realização das osteotomias, com o tecido ósseo ainda exposto, sendo que as sessões subseqüentes foram feitas a cada 7 dias. Em seguida era realizada a sutura em planos, com fio de nylon nº 5,0



Fig. 11 Primeiro plano de sutura.

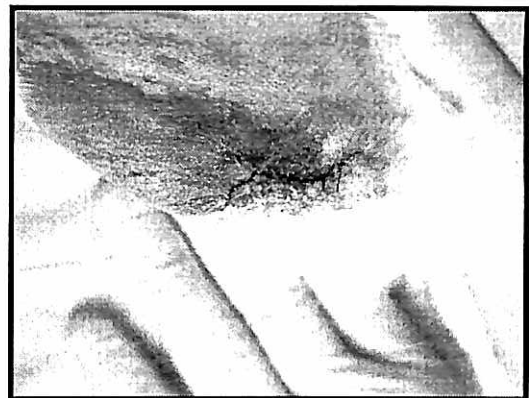


Fig. 12 Sutura finalizada.

Os 8 coelhos operados foram divididos em quatro grupos de dois animais, em função do momento do sacrifício. O primeiro grupo foi sacrificado 7 dias após a cirurgia e os outros após 14, 21 e 28 dias.

A relação dos coelhos utilizados no trabalho, assim como a pata em que foi aplicado o *laser* em baixa intensidade e o momento do sacrifício, são mostrados na tabela abaixo:

Nº Coelho	Pata irradiada com LILT	Momento sacrificio
236	Direita	7 dias
604	Esquerda	7 dias
509	Direita	14 dias
171	Esquerda	14 dias
361	Esquerda	21 dias
562	Direita	21 dias
411	Esquerda	28 dias
124	Direita	28 dias

Tabela 2- Relação dos coelhos em função da LILT e do momento do sacrifício.

4.2.2 Processamento histológico

Após os sacrifícios dos animais, que ocorreu depois de 7, 14, 21 e 28 dias da realização das cirurgias, iniciou-se a preparação histológica das amostras. Inicialmente, as três osteotomias feitas em cada tíbia, foram separadas sendo condicionadas individualmente em um recipiente contendo formol tamponado durante três dias, correspondendo ao período de fixação do material. Em seguida as amostras foram colocadas sob água corrente por 2 horas, para a remoção total do formol e submetidas a imersão em uma solução salina onde permaneceram por 24 horas. A partir daí iniciou-se a descalcificação das peças através da utilização de EDTA a 5%, o que durou um período de 10 a 15 dias variando em função de características individuais do tecido ósseo de cada coelho. Os fragmentos ósseos já descalcificados, foram incluídos em parafina histológica e cortados em um micrótomo obtendo-se cortes com espessura média de 10 μm , que por sua vez foram corados pelo método da hematoxilina-eosina.

5 RESULTADOS

Para facilitar o entendimento dos resultados obtidos vamos subdividi-los por um critério de tempo de reparação.

5.1 Resultados após 7 dias.

5.1.1 Osteotomia realizada com broca, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

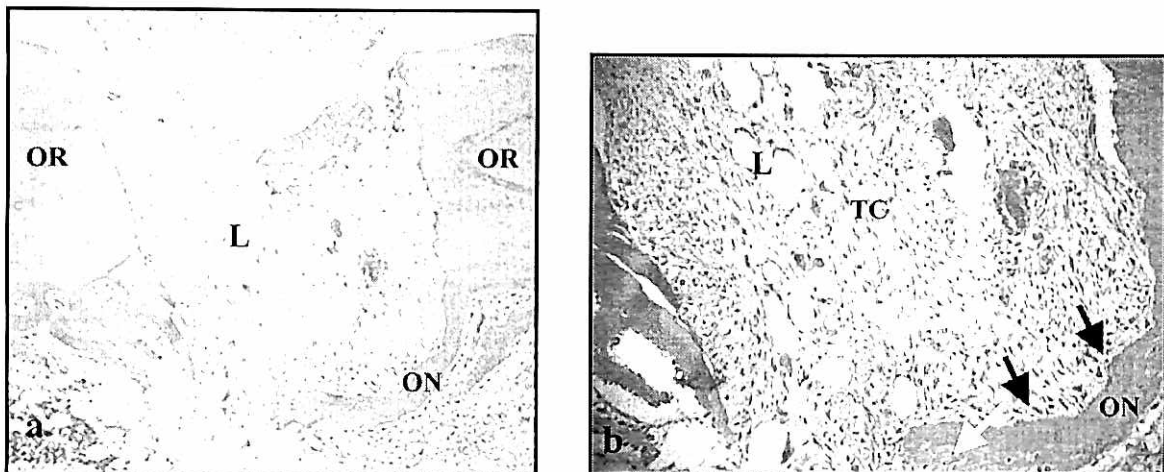


Fig. 13a. Corte longitudinal de região operada com broca, com magnificação original de 40 X, destacando o osso original (OR), osso neoformado (ON) e lipócitos (L)

Fig.13b. Corte longitudinal de região operada com broca, com magnificação original de 100X, mostrando os osteoblastos alinhados (setas preta), osteócitos (seta branca), o osso neoformado (ON), tecido conjuntivo (TC) e lipócitos(L)

É possível observar que a loja óssea apresenta-se parcialmente preenchida com um tecido conjuntivo frouxo tendendo a denso, com uma predominância de fibroblastos e fibras colágenas em várias direções. Nota-se também a presença de vasos sanguíneos (neoformação capilar) e também uma intensa presença de espaços vazios correspondentes a células gordurosas(lipócitos)

Na porção inferior, próxima a medula, já se nota a presença de pequenas trabéculas ósseas recém formadas. Na superfície destas trabéculas, há a presença

de osteoblastos com características de atividade secretora, e no interior destas trabéculas neoformadas já se encontram alguns osteócitos.

5.1.2 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

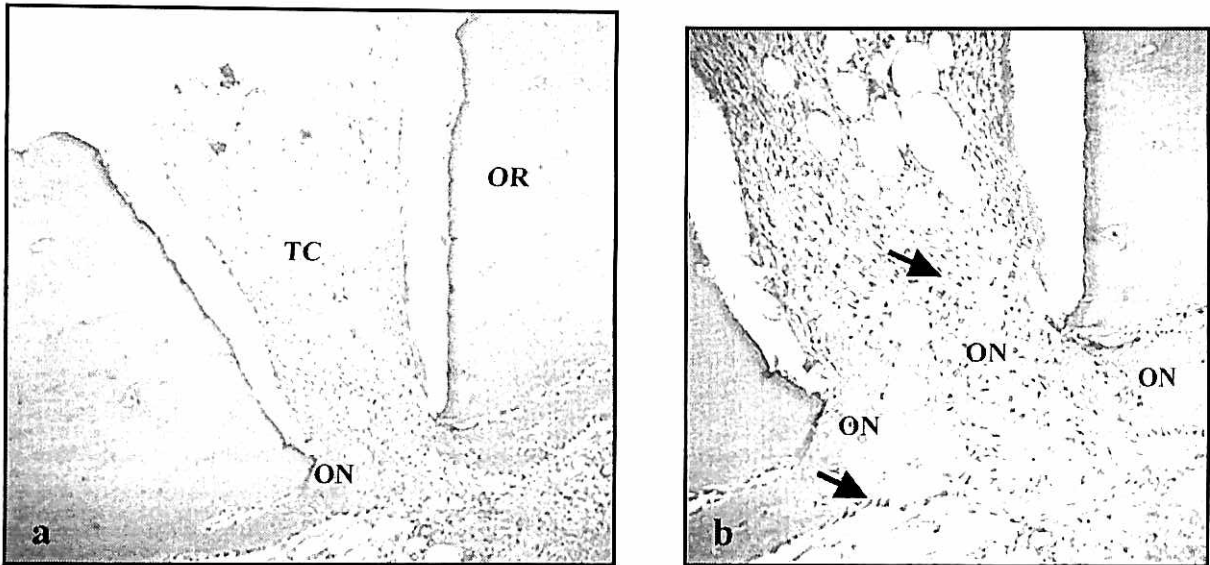


Fig. 14a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG potência de 5W, com magnificação original de 40x, mostrando o osso original (OR), o tecido conjuntivo(TC) e o osso neoformado (ON).

Fig. 14b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG potência de 5W, com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (seta pretas) e os osteócitos (setas brancas).

A loja criada com o uso do *laser* de 5W encontra-se preenchida com tecido conjuntivo denso altamente vascularizado com a presença de fibroblastos e fibras colágenas em várias direções. Observa-se com certa propriedade a presença de pequenas trabéculas ósseas em formação na porção inferior da cavidade.

Na região próxima à medula, existem trabéculas ósseas diferenciadas, isto é, com presença de osteoblastos em toda sua periferia e osteócitos em seu interior. Não é notada a presença de osteoclastos.

5.1.3 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

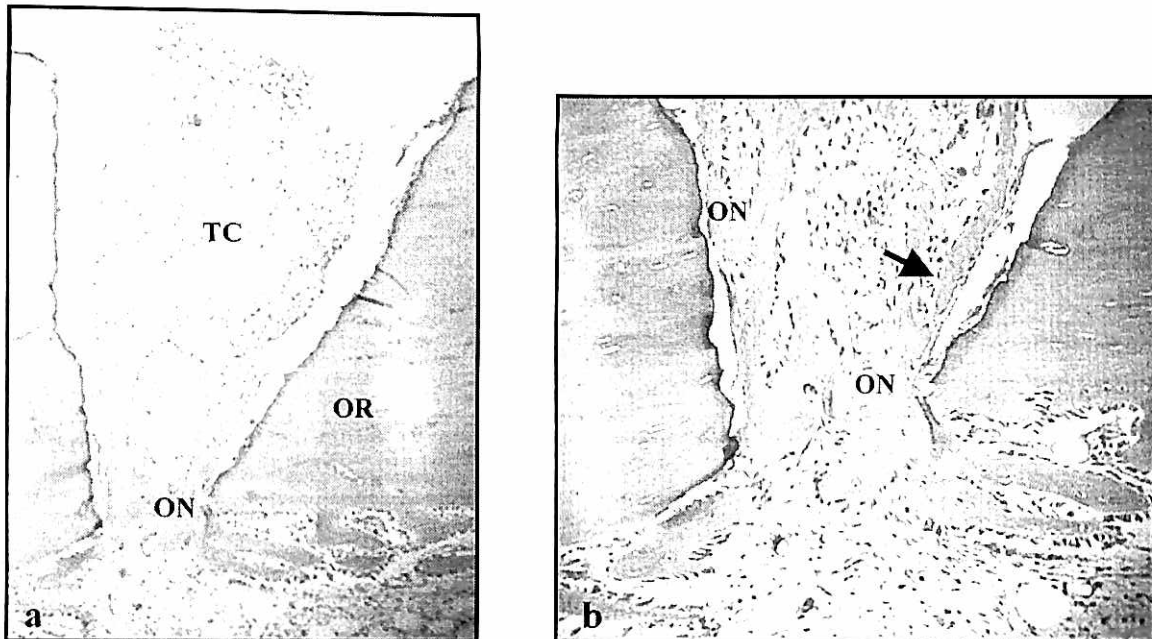


Fig. 15a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG potência de 4W, com magnificação original de 40x, mostrando o tecido conjuntivo (TC), o osso original (OR) e o osso neoformado (ON).

Fig. 15b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG potência de 4W, com magnificação de 100x destacando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

A cavidade obtida com a utilização do *laser* de 4W, encontra-se parcialmente preenchida com tecido conjuntivo denso altamente vascularizado com a presença de fibroblastos e fibras colágenas em várias direções. Observa-se com certa propriedade a presença de trabéculas ósseas em formação indo da porção inferior até a porção média da cavidade.

A porção inferior da loja é tamponada com trabéculas ósseas diferenciadas, apresentando osteoblastos em toda sua periferia e osteócitos em seu interior. Não se verifica a presença de osteoclastos.

5.1.4 Osteotomia realizada com broca, e submetida a LILT.

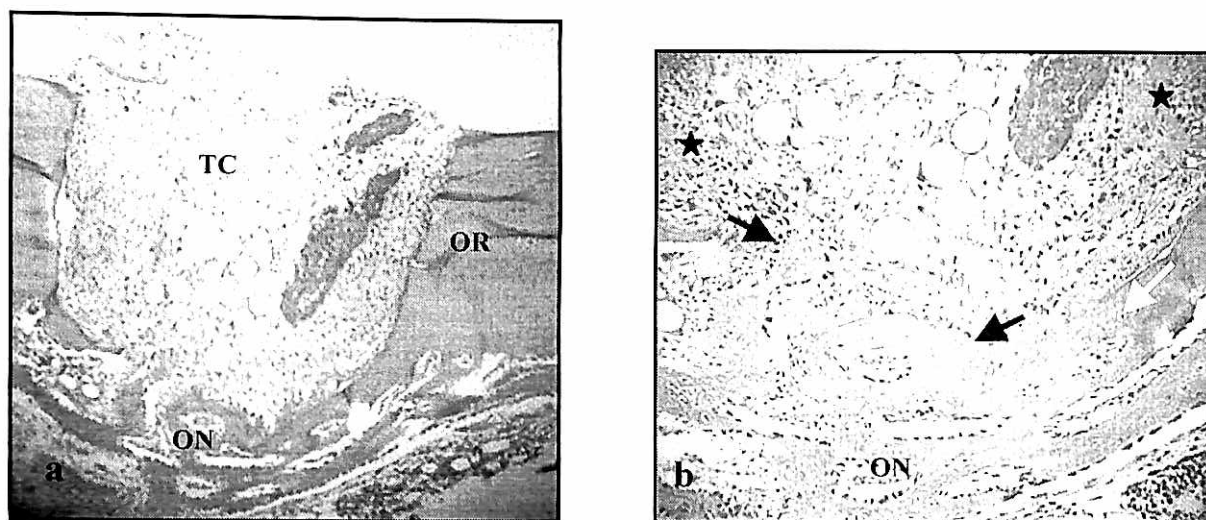


Fig. 16a. Corte longitudinal de área operado com broca e submetida a LILT, com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC), e o osso original (OR). **Fig. 16b.** Corte longitudinal de área operado com broca e submetida a LILT, com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e tecido osteóide (estrela preta).

Analisando a amostra onde foi utilizada broca e aplicado o *laser* em baixa intensidade, observa-se que a loja óssea apresenta-se preenchida com um tecido conjuntivo frouxo tendendo a denso, com uma predominância de fibroblastos e fibras colágenas em várias direções. Nota-se também a presença de vasos sanguíneos (neoformação capilar).

Na porção inferior, próxima a medula, já se nota a presença de trabéculas ósseas quase obliterando a porção inferior da cavidade. Na superfície destas trabéculas há a presença de osteoblastos com características de atividade secretora, e no interior vários osteócitos. Estas trabéculas formam pequenas cavidades preenchidas com tecido conjuntivo frouxo. É digno de nota a presença de um tecido osteóide, em algumas regiões da parte interna da cavidade.

5.1.5 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, submetida a LILT.

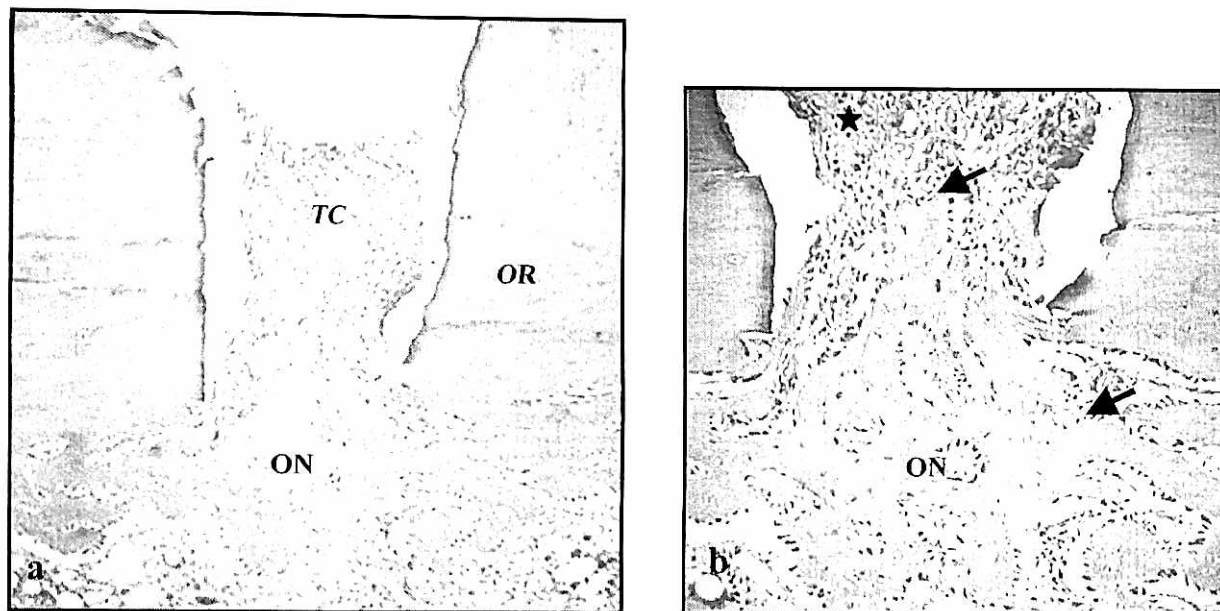


Fig. 17a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetido a LILT, com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 17b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetido a LILT, com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e um tecido osteóide (estrela preta).

Analisando-se a loja óssea obtida pela aplicação do *laser* de 5 W e onde foi utilizado o *laser* em baixa intensidade, nota-se um preenchimento com um tecido conjuntivo frouxo tendendo a denso, com uma predominância de fibroblastos e fibras colágenas em várias direções. Nota-se também a presença de vasos sanguíneos (neoformação capilar).

Originando-se a partir da porção inferior, próxima a medula, indo até aproximadamente o meio da cavidade já se nota a presença de trabéculas ósseas recém formadas. Na superfície destas trabéculas há a presença uma grande quantidade de osteoblastos com características de atividade secretora.

Já na porção inferior as trabéculas apresentam aspectos histológicos que indicam um grau mais avançado de maturação, caracterizado pela presença de

osteócitos. É digno de nota a presença de um tecido osteóide, em algumas regiões da parte interna da cavidade.

5.1.6 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, submetida a LILT.

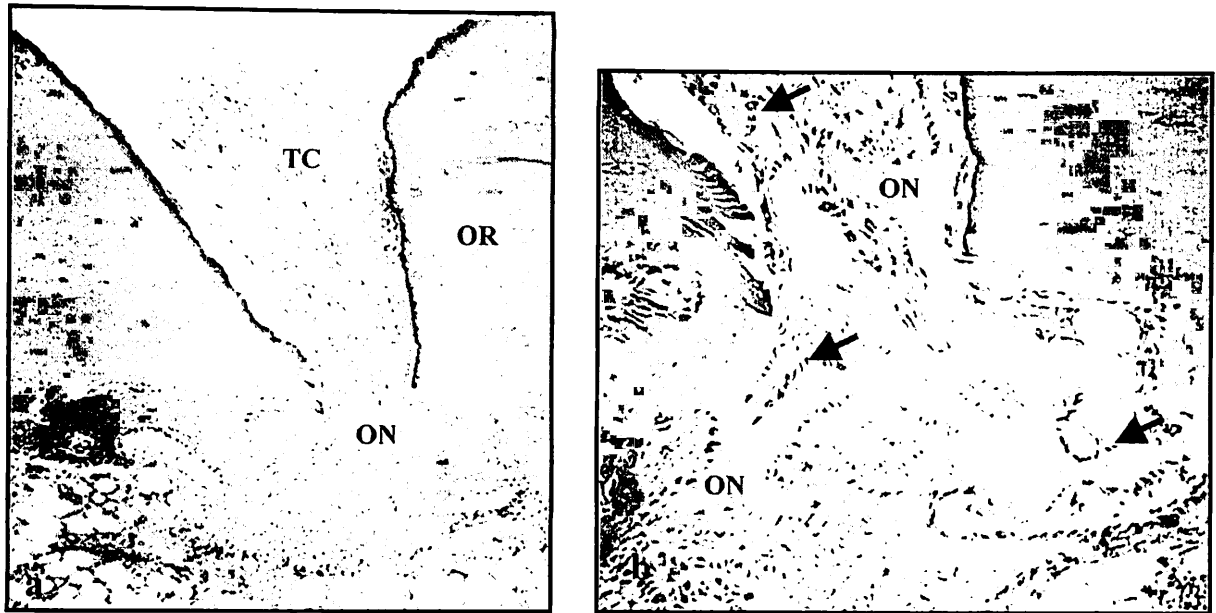


Fig. 18a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de ErCr:YSGG, potência de 4W, e submetido a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 18b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de ErCr:YSGG, potência de 4W, e submetido a LILT com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

Na loja óssea feita com o *laser* de 4W e onde foi aplicado o *laser* em baixa potência, foi verificado um preenchimento desta com tecido conjuntivo denso altamente vascularizado, apresentando fibroblastos e fibras colágenas em várias direções. Observa-se com certa propriedade a presença de algumas trabéculas ósseas em formação partindo da parte inferior indo até a porção média da loja.

A porção inferior da loja é quase tamponada com trabéculas ósseas diferenciadas, isto é, com presença de osteoblastos em toda sua periferia e osteócitos em seu interior. É digno de nota, a presença de um tecido osteóide em algumas regiões da parte interna da cavidade. Não se verifica a presença de osteoclastos.

5.2 Resultados após 14 dias.

5.2.1 Osteotomia realizada com broca, sem a utilização do *laser* em baixa intensidade.

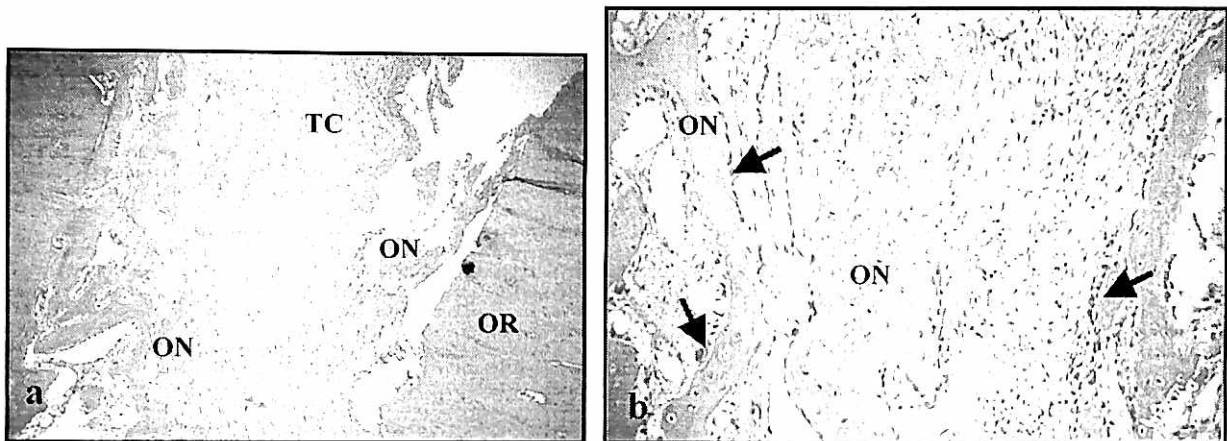


Fig. 19a Corte longitudinal de área operado com broca com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC), e o osso original (OR).

Fig. 19b. Corte longitudinal de área operado com broca com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclasto (seta vinho).

A loja óssea realizada com broca nº 701, apresentou no seu interior, trabéculas ósseas neoformadas espalhadas quase que por toda sua extensão, porém concentrando-se ainda com maior intensidade na porção inferior. Observa-se que o tecido conjuntivo frouxo que preencheu a loja no tempo anterior já começa a ser substituído por osso primário. Entre as trabéculas ósseas no interior da loja observa-se um tecido conjuntivo chamado de preenchimento. A maior parte do tecido ósseo que preenche a loja caracteriza-se como um tecido recém diferenciado.

Na porção inferior da loja já se nota a presença de um tecido ósseo esponjoso formado por trabéculas de osso diferenciado com a presença de osteoblastos e osteócitos.

5.2.2 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

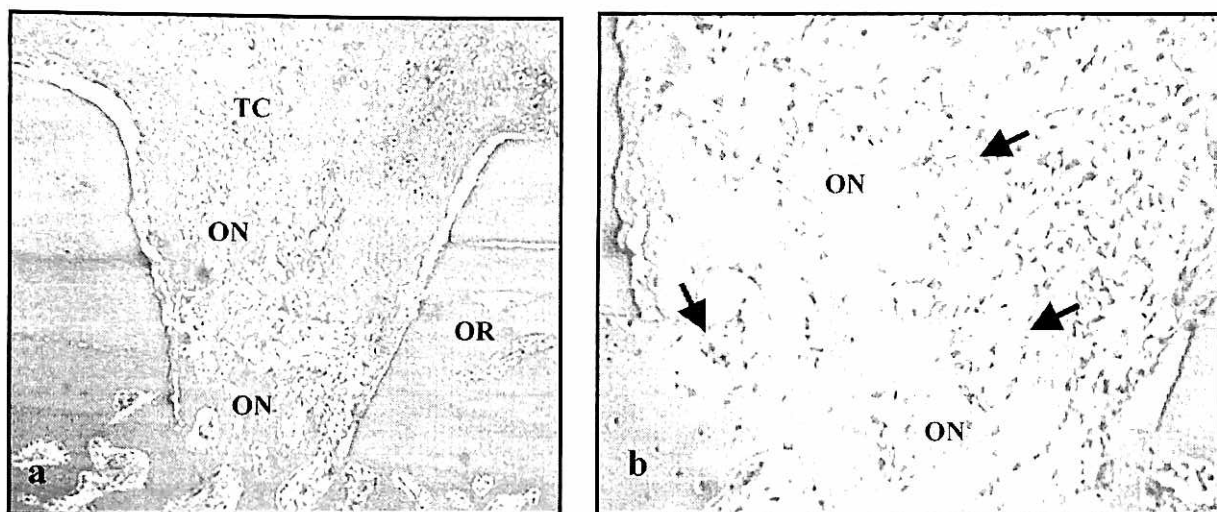


Fig. 20a Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 20b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclastos (seta vinho)

A loja óssea criada com o *laser* de 5W, apresenta-se com grande quantidade de trabéculas ósseas neoformadas, representadas por um osso diferenciado com numerosos osteoblastos e osteócitos, concentrando-se mais na região inferior da cavidade, porém estando presente quase toda a cavidade. As trabéculas ósseas estão rodeadas por um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado com predominância de fibroblastos e presença de fibras colágenas em várias direções.

Na porção inferior da cavidade há presença de um tecido ósseo formado por osso diferenciado. Vale ressaltar também a presença de osteoclastos, indicando o processo de remodelação óssea.

5.2.3 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

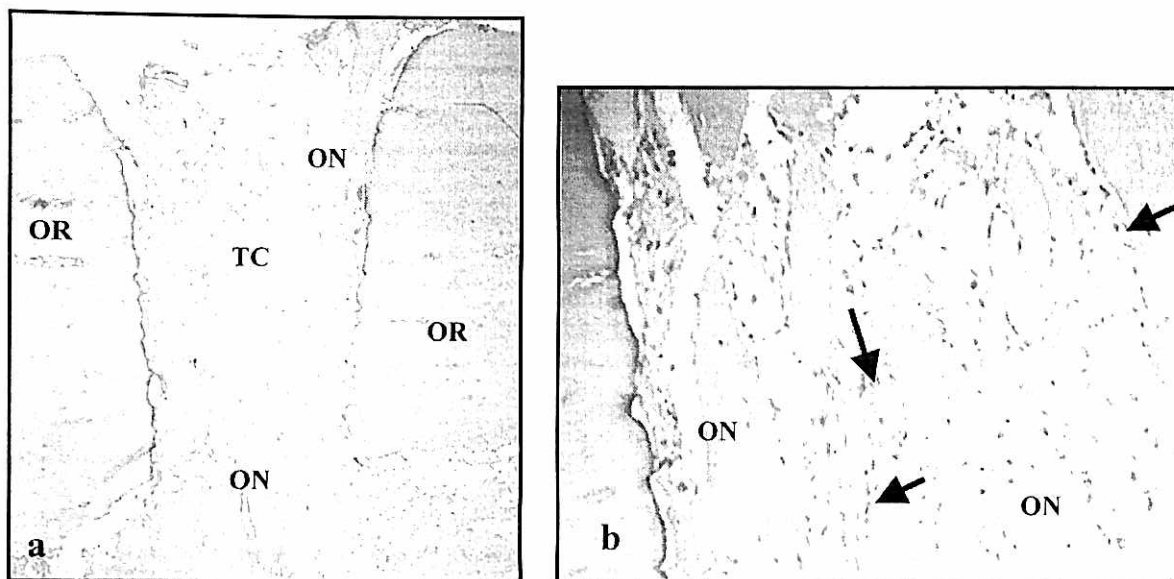


Fig. 21a Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 21b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

A loja óssea obtida com a utilização do *laser* de 4W apresenta-se preenchida em sua totalidade por um tecido ósseo neoformado e por um tecido conjuntivo. As trabéculas ósseas neoformadas apresentam numerosos osteoblastos em sua superfície e osteócitos em seu interior.

A região que apresenta uma neoformação mais intensa é a inferior onde se verifica a presença de um osso histologicamente diferenciado (osso adulto), com evidentes osteoblastos e osteócitos nas trabéculas ósseas. É digno de nota a presença de osteoclastos indicando o processo de remodelação óssea.

5.2.4 Osteotomia realizada com broca, submetida a LILT.

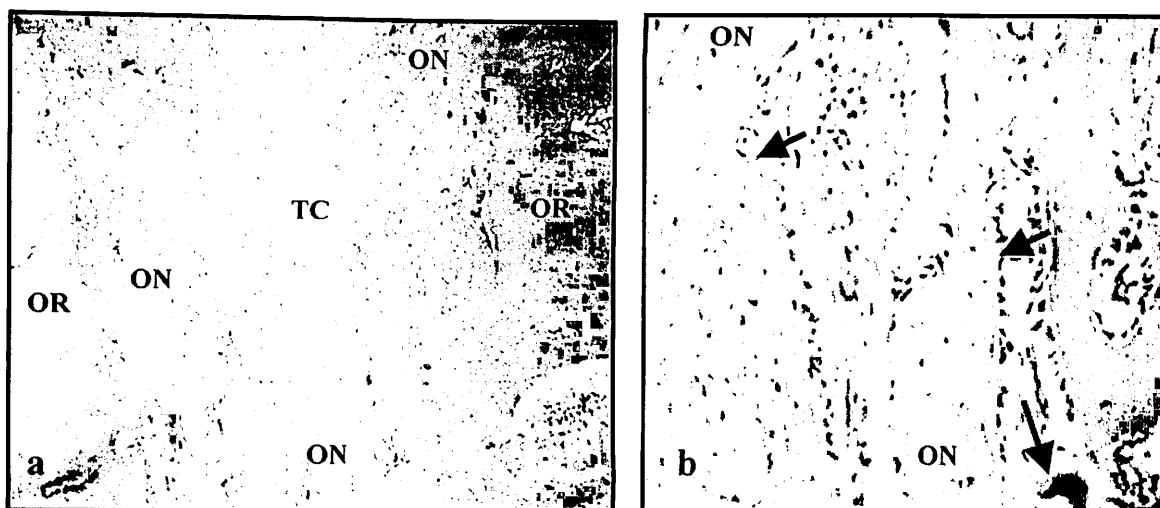


Fig. 22a. Corte longitudinal de área operada com broca e submetida a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC), e o osso original (OR).

Fig. 22b. Corte longitudinal de área operada com broca e submetida a LILT com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e o osteoclastos (seta vinho).

A loja óssea referente a osteotomia realizada broca nº 701 e submetida ao *laser* de baixa potência, apresenta no seu interior trabéculas ósseas neoformadas e tecido osso diferenciado, distribuídas de maneira uniforme em toda a cavidade. Vale ressaltar a presença de osteoblastos em toda a extensão das trabéculas e de osteócitos em seu interior. Observa-se que o tecido conjuntivo frouxo que preencheu a loja no tempo anterior já começa a ser substituído por osso primário. Entre as trabéculas ósseas no interior da loja observa-se um tecido conjuntivo chamado de preenchimento.

Na porção inferior da loja já se nota a presença de um tecido ósseo, formado por trabéculas de osso diferenciado. Vale ressaltar a presença de osteoclastos indicando o processo de remodelação óssea.

5.2.5 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, submetida a LILT.

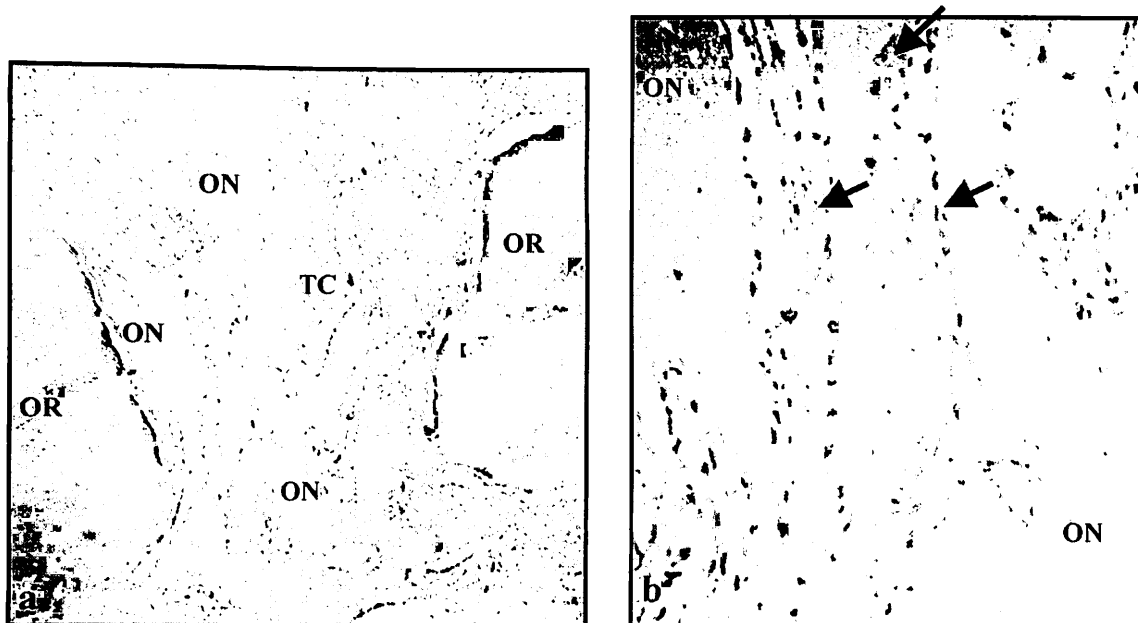


Fig. 23a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetida a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 23b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetida a LILT com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclastos (seta vinho).

A amostra onde o corte foi realizado com *laser* 5W e que foi submetida ao *laser* em baixa potência, apresentou uma grande quantidade de trabéculas ósseas neoformadas, com osso diferenciado contendo numerosos osteoblastos e osteócitos distribuídas em toda a cavidade. As trabéculas ósseas estão rodeadas por um tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado. Na parte superior é notada a presença de um tecido osteóide formando o calo ósseo.

Na porção inferior da cavidade há presença de um tecido ósseo neoformado quase obliterando a cavidade, com grande quantidade de osteoblastos e osteócitos. Vale ressaltar também a presença de osteoclastos, denotando o processo de remodelação óssea.

5.2.6 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, submetida a LILT.

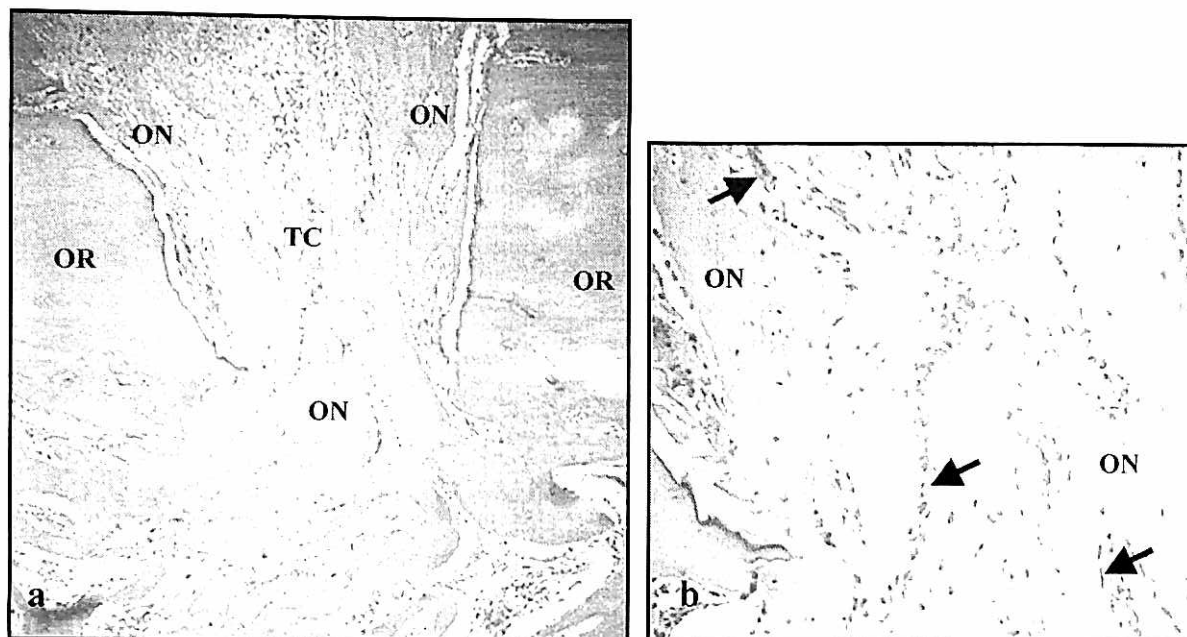


Fig. 24a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W e submetido a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original (OR) e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 24b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W e submetido a LILT com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclastos (seta vinho).

Já na loja óssea realizada com *laser* de 4W e submetida ao *laser* em baixa intensidade, nota-se a presença de um tecido ósseo esponjoso e de um tecido conjuntivo preenchendo as cavidades entre as trabéculas em toda extensão da cavidade. As trabéculas ósseas apresentam osteoblastos e osteócitos no seu interior. Uma característica importante é ressaltar é que a formação óssea inicia-se no interior da cavidade chegando até a superfície externa da mesma onde nota-se a presença de um tecido osteóide tamponando a superfície da mesma.

Verifica-se a presença de osteoclastos indicando o processo de remodelação óssea.

5.3 Resultados após 21 dias.

5.3.1 Osteotomia realizada com broca, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

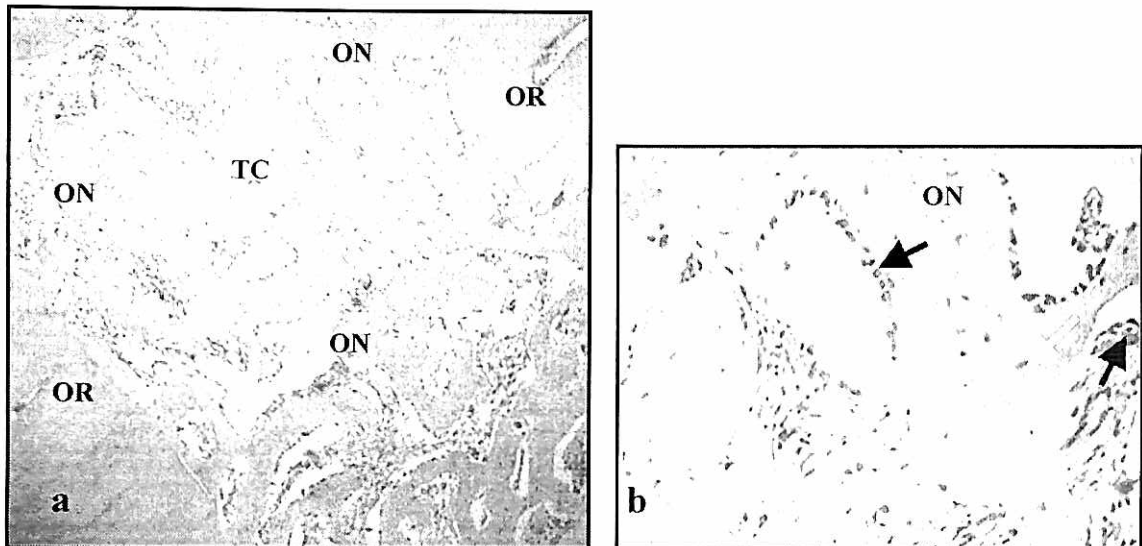


Fig. 25a. Corte longitudinal de área operada com broca com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC), o osso original (OR).

Fig. 25b. Corte longitudinal de área operada com broca com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteocitos (seta vinho).

Analisando a amostra onde a cavidade foi realizada a broca nº 701, nota-se que esta se encontra recomposta por trabéculas ósseas, constituídas por osso diferenciado. Entretanto, existem de muitas cavidades entre estas trabéculas, preenchidas por um tecido conjuntivo frouxo, formado principalmente por fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas. Observa-se a presença de osteoclastos, que participam do processo de remodelação óssea.

5.3.2 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

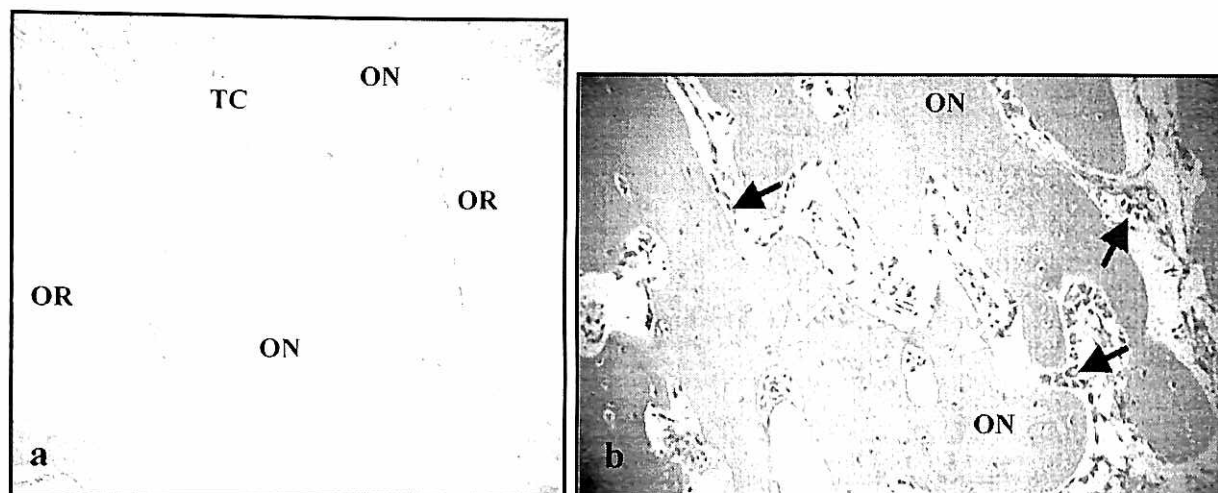


Fig. 26a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 26b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) osteócitos (setas branca) e osteoclasto (seta vinho).

A loja criada com o *laser* na potência de 5W, apresenta-se preenchida de osso neoformado, notando-se claramente a presença de cavidades entre as trabéculas, preenchidas por um tecido conjuntivo.

A parte inferior apresenta uma intensa neoformação óssea contendo numerosos osteoblastos e osteócitos. Nota-se também a presença de osteoclastos sugerindo um ativo processo de remodelação óssea.

Já no tecido ósseo que oblitera a parte superior da cavidade, há presença de um osso neoformado diferenciado com osteoblastos e osteócitos, entretanto com uma maior quantidade de cavidades entre as trabéculas. Verifica-se também presença de osteoclastos nesta região.

5.3.3 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

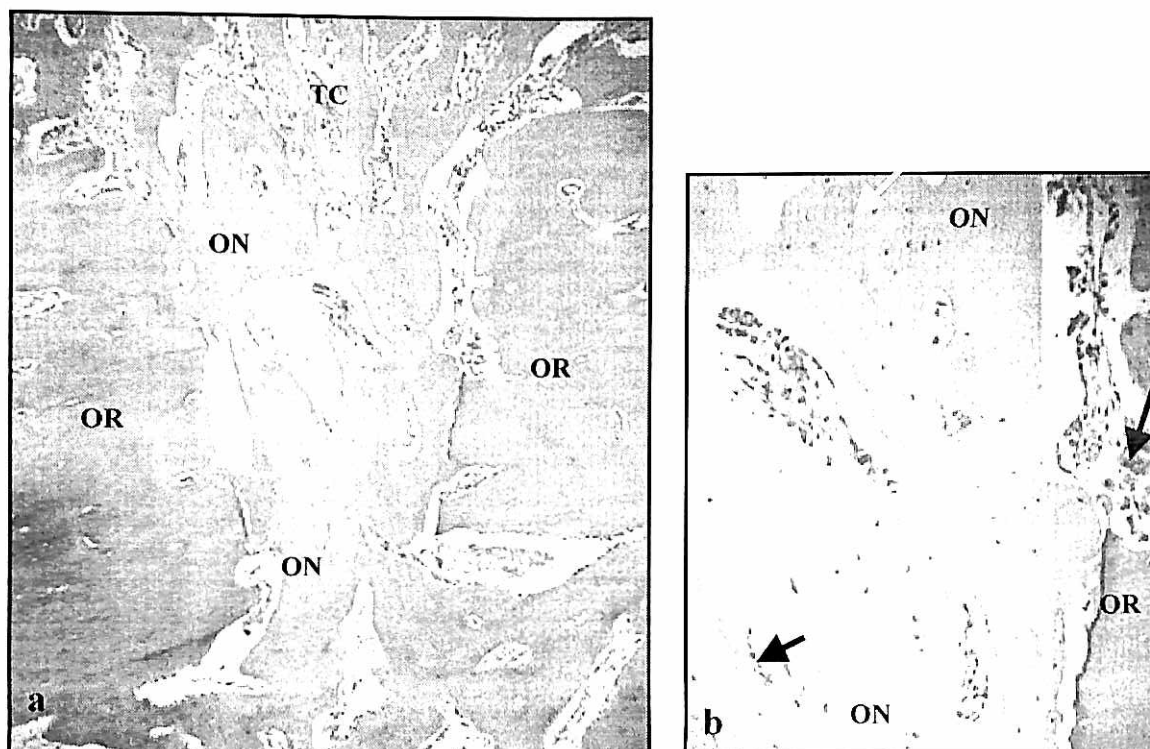


Fig. 27a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original(OR) e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 27b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osso original(OR), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclasto (seta vinho)

A cavidade realizada com o *laser* na potência de 4W, encontra-se totalmente preenchida por osso neoformado apresentando osteoblastos e osteócitos. Entre as trabéculas ósseas existem lacunas preenchidas por um tecido conjuntivo altamente vascularizado. Na porção inferior da loja nota-se a presença de um tecido ósseo obliterando a cavidade. Na porção superior da cavidade óssea observa-se a presença da formação de um tecido ósseo, com uma grande quantidade de lacunas, obliterando a mesma. É digno de nota a presença de osteoclastos neste tecido ósseo indicando atividade de remodelação óssea.

5.3.4 Osteotomia realizada com broca, submetida a LILT .

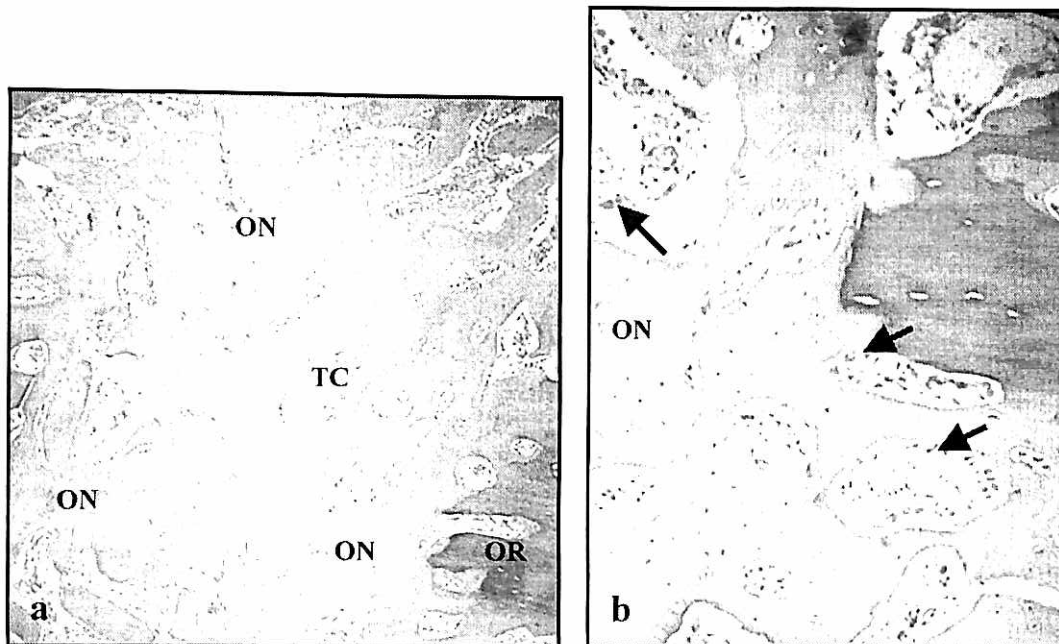


Fig. 28a. Corte longitudinal de área operada com broca e submetida a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC), e o osso original (OR).

Fig. 28b. Corte longitudinal de área operada com broca e submetida a LILT com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclastos (seta vinho).

Analisando o material onde o corte ósseo foi realizado com broca nº 701 e que se aplicou o *laser* de baixa intensidade, nota-se que a cavidade já está totalmente composta por trabéculas ósseas, constituídas por osso diferenciado apresentando grande quantidade de osteoblastos e osteócitos. Entre estas trabéculas formaram-se cavidades preenchidas por um tecido conjuntivo frouxo, com fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas.

Nessa fase do experimento observa-se com um certo destaque a formação de um tecido ósseo fechando a superfície externa da loja. Verifica-se com certa propriedade entre o tecido ósseo localizado na porção inferior da loja a presença marcante de osteoclastos.

5.3.5 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, submetida a LILT.

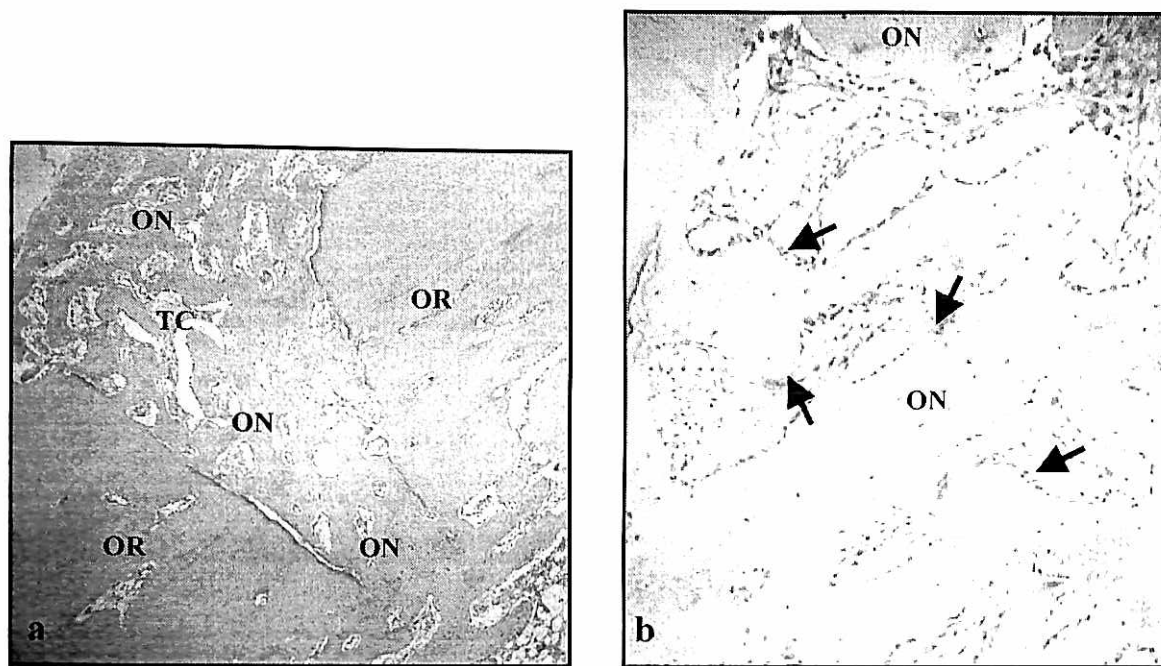


Fig. 29a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetida a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 29b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetida a LILT com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclastos (setas vinhos).

A loja óssea produzida com o *laser* de 5W e onde se aplicou o *laser* em baixa intensidade, apresenta-se preenchida de osso neoformado altamente diferenciado histologicamente. Em toda a sua extensão observa-se a presença de osteoblastos na superfície das trabéculas e inúmeros osteócitos em seu interior. As cavidades formadas entre estas trabéculas encontram-se preenchidas com tecido conjuntivo.

Vale ressaltar também a presença de osteoclastos sugerindo um ativo processo de remodelação óssea. Já no tecido ósseo que oblitera a parte superior da cavidade há presença de um tecido ósseo diferenciado, porém com maior quantidade de lacunas, notando-se também a presença de osteoclastos.

5.3.6 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, submetida a LILT.

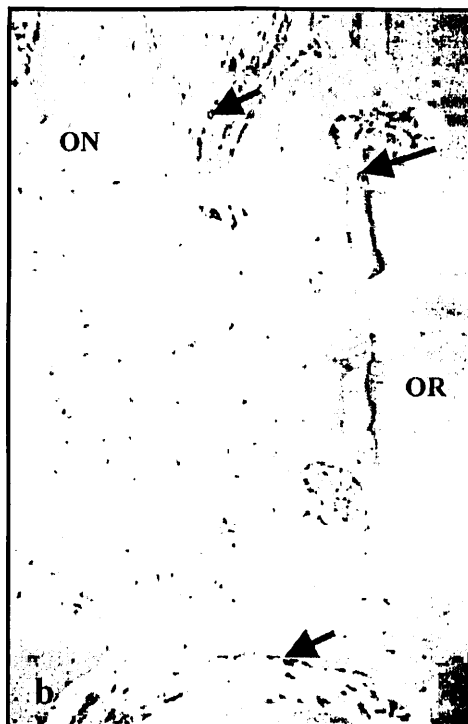
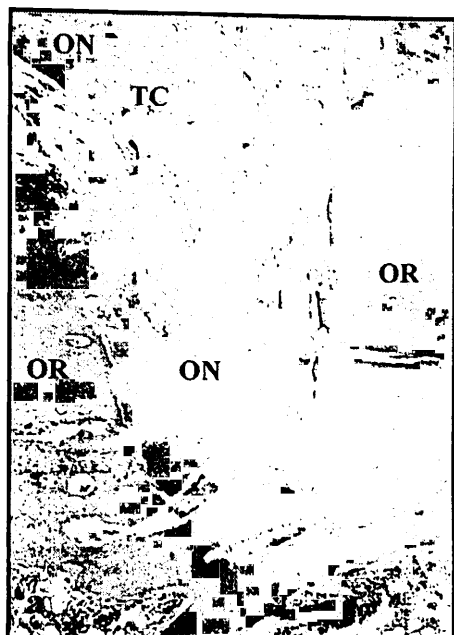


Fig. 30a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W e submetido a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 30b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W e submetido a LILT com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclasto (seta vinho).

A loja óssea obtida com a utilização do *laser* de 4W e submetido a LILT, encontra-se totalmente preenchida por osso neoformado, cujos espaços entre as trabéculas encontram-se compostos por um tecido conjuntivo altamente vascularizado. As trabéculas apresentam osteoblastos e osteócitos.

Na porção inferior da loja nota-se a presença de um tecido ósseo neoformado compacto obliterando a cavidade, com características semelhantes ao osso original. Na porção superior da cavidade óssea observa-se a presença da formação de um tecido ósseo obliterando a mesma, entretanto este tecido apresenta uma maior quantidade de espaços medulares. Vale ressaltar a presença de osteoclastos neste tecido ósseo, indicando atividade de remodelação óssea.

5.4 Resultados após 28 dias.

5.4.1. Osteotomia realizada com broca, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

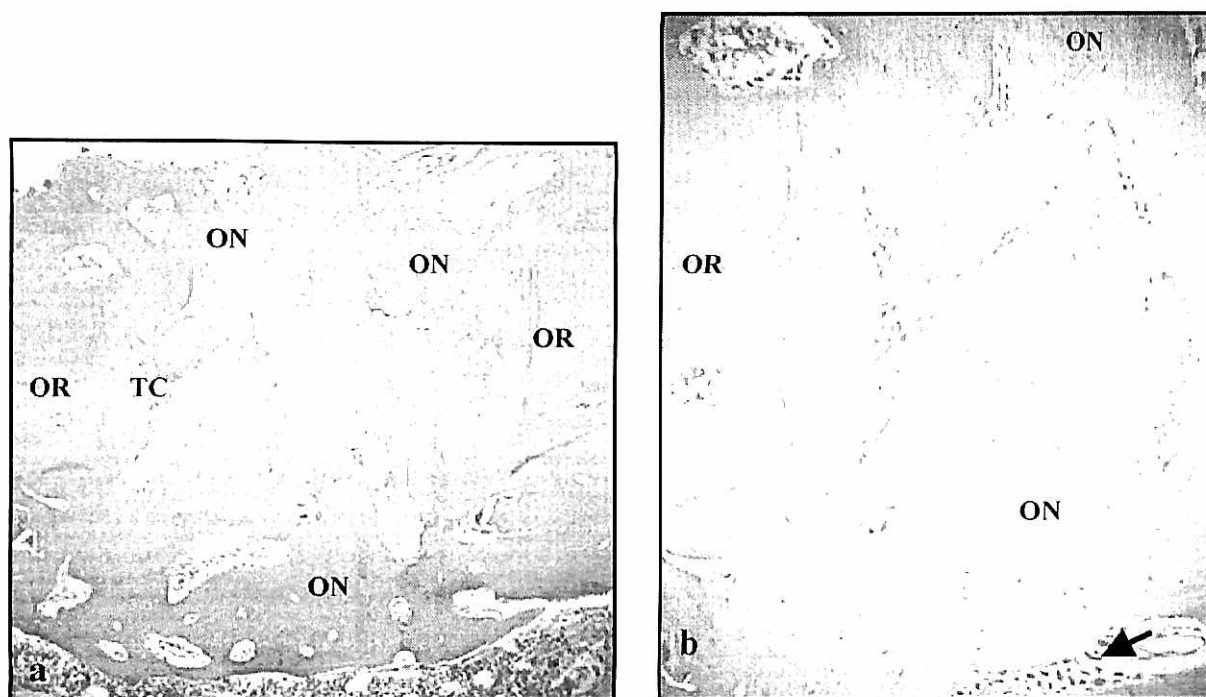


Fig. 31a Corte longitudinal de área operada com broca com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC), e o osso original (OR).

Fig. 31b. Corte longitudinal de área operada com broca, com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas),

A loja óssea criada com a broca nº 701, encontra-se totalmente preenchida por osso neoformado, entretanto verifica-se a existência de muitas lacunas entre as trabéculas. As trabéculas apresentam alguns osteoblastos e muitos osteócitos, e os espaços entre as elas encontram-se ocupado por um tecido conjuntivo altamente vascularizado. Histologicamente, as características deste tecido indicam um intenso processo de diferenciação.

Vale ressaltar a presença de osteoclastos neste tecido ósseo indicando atividade de remodelação óssea.

5.4.2 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, sem aplicação do *laser* em baixa intensidade.

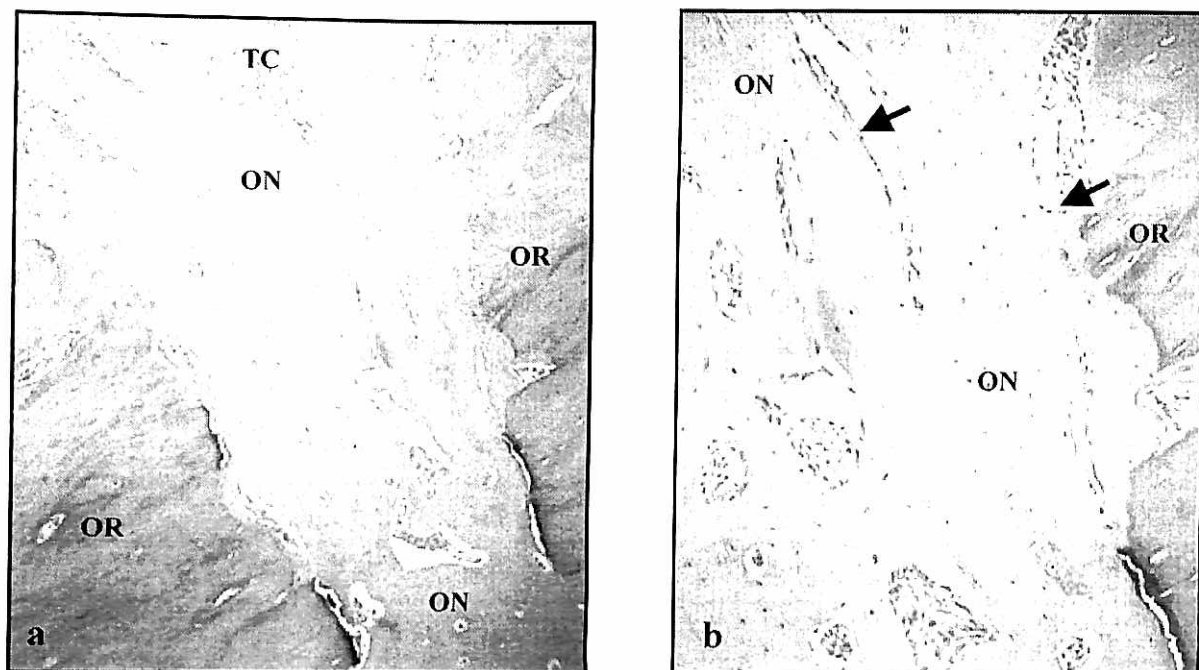


Fig. 32a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 32b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

No sítio onde foi realizada a osteotomia com *laser* de 5W, observa-se que a loja óssea esta completamente preenchida com o tecido ósseo neoformado. Verifica-se a presença de alguns espaços entre as trabéculas no terço médio e principalmente na porção superior do osso neoformado. Na superfície destas trabéculas verifica-se a presença de osteoblastos e no seu interior numerosos osteócitos.

Da porção média à parte inferior a loja, verifica-se a presença de um tecido neoformado altamente diferenciado, com a presença de poucas cavidades no osso recém formado, vindo este a se assemelhar ao tecido original.

5.4.3 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, sem a aplicação do *laser* em baixa intensidade.

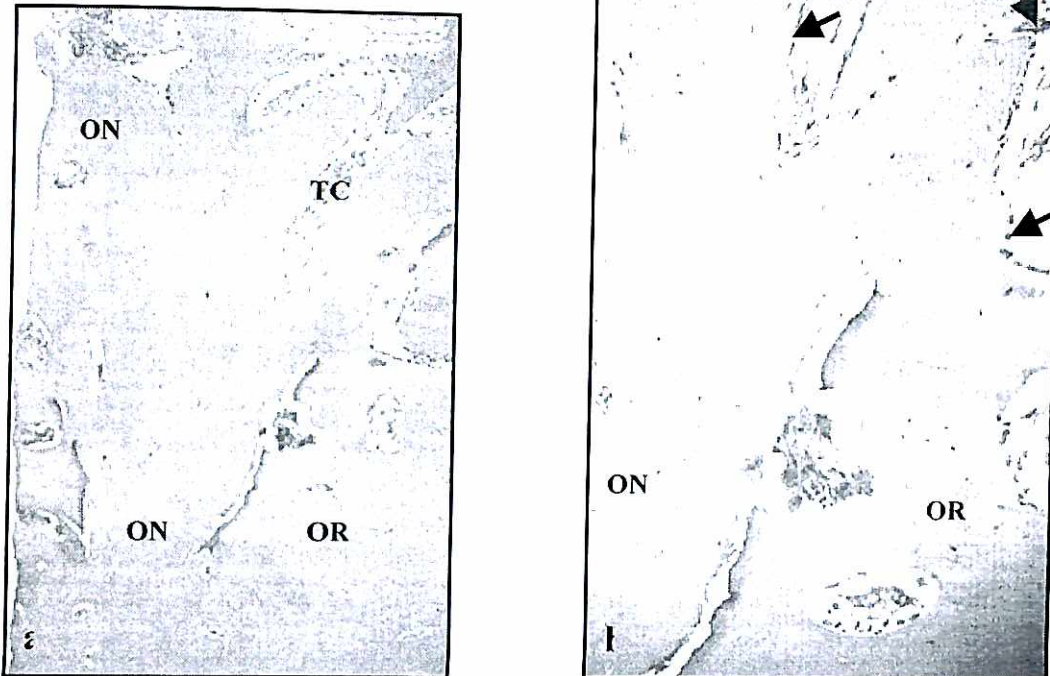


Fig. 33a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original (OR) e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 33b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas), osteócitos (setas brancas) e osteoclasto (seta vinho).

No sitio onde foi realizada a osteotomia com *laser* de 4W, observa-se que a loja óssea esta completamente preenchida com o tecido ósseo neoformado. Verifica-se a presença de alguns espaços entre as trabéculas no terço médio e principalmente na porção superior do osso neoformado. Na superfície destas trabéculas verifica-se a presença de alguns osteoblastos e no seu interior muitos osteócitos. Da porção média à parte inferior a loja, verifica-se a presença de um

tecido neoformado altamente diferenciado, com a presença de poucas cavidades no osso recém formado, vindo este a se assemelhar ao tecido original.

5.4.4 Osteotomia realizada com broca, submetida a LILT.

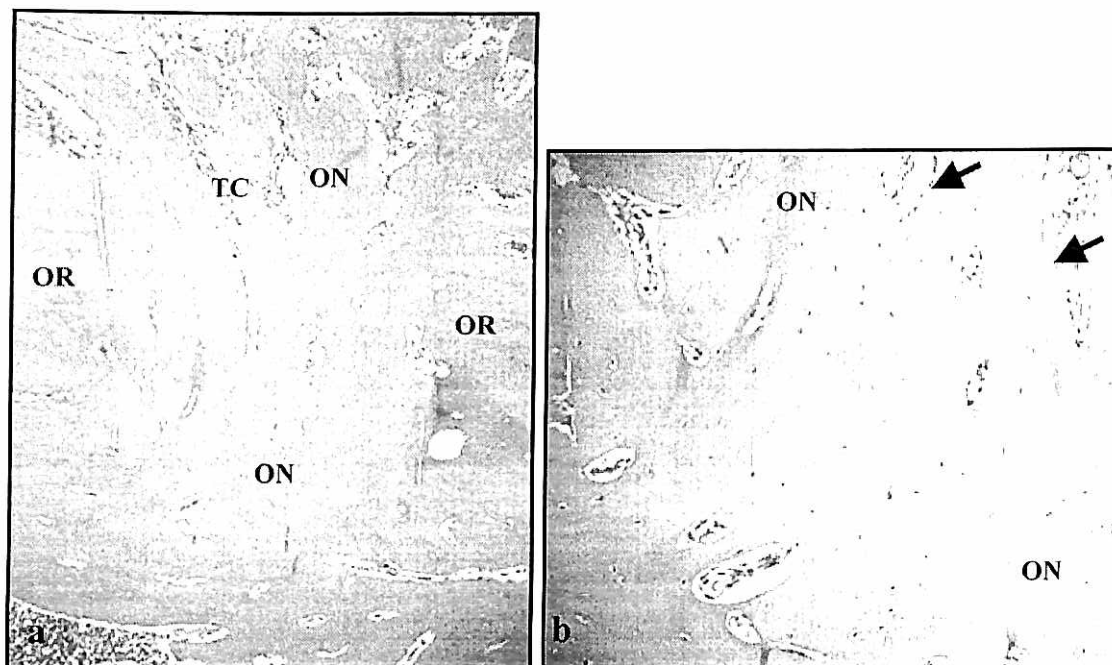


Fig. 34a. Corte longitudinal de área operada com broca e submetida a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o tecido conjuntivo (TC) e o osso original (OR).

Fig. 34b. Corte longitudinal de área operada com broca e submetida a LILT com magnificação de 100x, ressaltando o osso neoformado (ON), os osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

No sítio onde foi realizada a osteotomia broca e submetida a LILT, observa-se que a loja óssea esta completamente preenchida com o tecido ósseo neoformado. Verifica-se a presença de alguns espaços entre as trabéculas no terço médio e principalmente na porção superior do osso neoformado. Entretanto, na maior parte das regiões de osso neoformado, este possui características semelhantes ao osso original. Na superfície destas trabéculas verifica-se a presença de alguns osteoblastos e no seu interior muitos osteócitos.

5.4.5 Osteotomia com *laser* na potência de 5W, submetida a LILT.

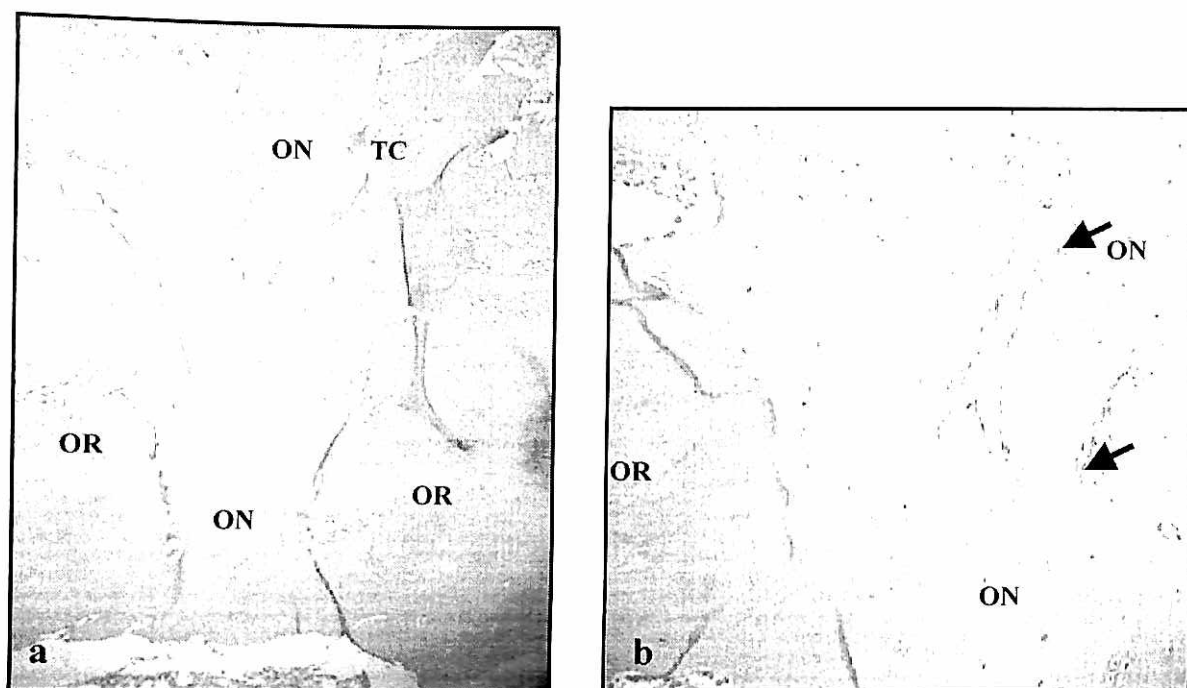


Fig. 35a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetido a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original (OR) e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 35b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 5W e submetido a LILT com magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

No sítio onde foi realizada a osteotomia com *laser* de 5W e onde foi aplicado o *laser* em baixa intensidade, observa-se que a loja óssea esta completamente preenchida com o tecido ósseo neoformado, com pouca quantidade de cavidades entre as trabéculas ósseas. O tecido que oblitera a cavidade superiormente também se apresenta com poucas cavidades medulares.

Na parte inferior a loja esta completamente preenchida pelo tecido ósseo, onde se nota a presença de alguns osteoblastos e de muitos osteócitos caracterizando um osso altamente diferenciado, semelhante ao osso original.

5.4.6 Osteotomia com *laser* na potência de 4W, submetida a LILT.

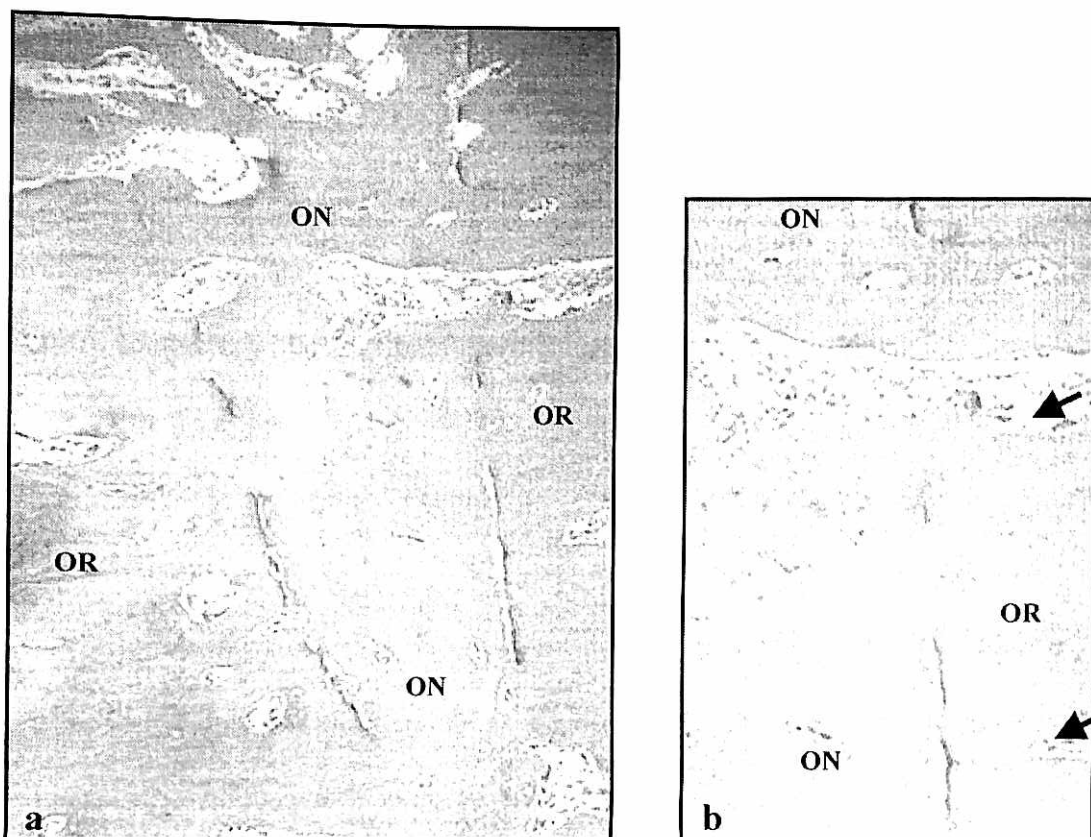


Fig 36a. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W e submetido a LILT com magnificação original de 40x, destacando o osso neoformado (ON), o osso original (OR) e o tecido conjuntivo (TC).

Fig. 36b. Corte longitudinal de região operada com *laser* de Er,Cr:YSGG, potência de 4W e submetido a LILT magnificação original de 100x, evidenciando o osso neoformado (ON), osteoblastos (setas pretas) e osteócitos (setas brancas).

No sítio onde foi realizada a osteotomia com *laser* de 4W e onde foi aplicado o *laser* em baixa intensidade, observa-se que a loja óssea esta completamente preenchida com o tecido ósseo neoformado, com poucas de cavidades entre as trabéculas ósseas.

A loja esta completamente preenchida pelo tecido ósseo, onde se nota a presença de alguns osteoblastos e de muitos osteócitos, caracterizando um osso altamente diferenciado, semelhante ao osso original.

6 DISCUSSÃO

A realização de osteotomias representa um procedimento rotineiro em muitas especialidades odontológicas e médicas. Uma das principais preocupações ao executarmos tal procedimento, está relacionada com o aumento da temperatura nas regiões adjacentes ao corte ósseo, pois a geração de calor excessivo trará prejuízos à reparação da região. Este fato foi comprovado por Ericksson & Albrektsson em 1983, através de estudo histológico estabeleceu que quando a temperatura no tecido ósseo vai além de 47°C por um minuto, durante as osteotomias ocorre a necrose óssea. A extensão desta necrose é proporcional à intensidade do calor e da duração da osteotomia, pois o tecido ósseo possui uma baixa condutividade térmica e o calor gerado durante o corte não é rapidamente dissipado.

Estudos como os de Krause *et al.* (1982) e Wachter & Stoll (1991), mostraram que durante osteotomias com brocas e serras este limite muitas vezes, é ultrapassado, sendo pertinente a preocupação com o aumento da temperatura durante a realização de osteotomias.

Portanto, sabendo que as técnicas convencionais de corte ósseo com o uso de brocas e serras, apesar de promoverem a remoção de quantidades satisfatórias de tecido ósseo, podem vir a causar traumas mecânicos, aquecimento excessivo e hemorragia profusa nos sítios operados, torna-se pertinente a busca por novas maneiras de realizar-se osteotomias, incluindo dentre elas, a utilização de aparelhos de *laser* de alta potência.

Assim sendo, Clayman em 1978 iniciou os estudos da utilização do *laser* em osteotomias, realizando uma pesquisa com o *laser* de CO₂, Seus resultados

revelaram a capacidade deste *laser* em cortar o tecido ósseo e em promover uma hemostasia intra-operatória, através do selamento de vasos menores que 1mm. Entretanto, pesquisas posteriores mostraram que este *laser* promove o corte do tecido ósseo, através do mecanismo de carbonização, o que determina uma agressão excessiva aos tecidos adjacentes, levando a um consequente atraso no processo de reparação tecidual. (LI *et al.*, 1992; RAYAN *et al.*, 1992; SASAKI *et al.*, 2002; POURZARANDIAN *et al.*, 2003).

Os principais aparelhos de *laser* de alta potência que tem sendo estudados para promover o corte do tecido ósseo são os de Nd:YAG ($\lambda=1,064\mu\text{m}$), Hol:YSGG ($\lambda=2,10\mu\text{m}$), Erb:YAG ($\lambda=2,94\mu\text{m}$), Nd:YAG ($\lambda=1,064\mu\text{m}$), e mais recentemente o Er,Cr:YSGG ($\lambda=2,78\mu\text{m}$), sendo este último o utilizado em nosso estudo.

No caso específico do tecido ósseo, o grande desafio é elucidar qual o comprimento de onda e, conseqüentemente, qual o tipo de *laser* é o ideal para interagir com o tecido promovendo o corte do mesmo, sem causar alterações térmicas nocivas nos tecidos adjacentes

Trabalhos como o de Nelson *et al.* (1989) e Martins (2001) mostraram que o *laser* de Er:YAG($\lambda =2,94\mu\text{m}$) promove a ablação óssea, porém nos dois estudos, a utilização do *laser* para osteotomia determinou um atraso na reparação em comparação aos sítios controle, onde o corte do tecido ósseo foi realizado com brocas convencionais

Já em seu trabalho de avaliação histológica de áreas que sofreram osteotomias com *laser* de Er:YAG e com brocas Lewandrowisk *et al.* (1996), não constatou diferenças entre as quantidades de osso neoformado nas amostras. As extensões dos danos térmicos nos sítios de osteotomias foram similares.

O *laser* de alta potência utilizado em nosso estudo foi o Er,Cr: YSGG, com comprimento de onda de 2,78 μ m. A sua efetividade para a promoção do corte ósseo, tem sido alvo de constantes pesquisas. Shah *et al.* (1996), concluíram a partir de trabalho realizado *in vitro*, que o *laser* Er,Cr:YSGG promoveu a remoção tanto do osso cortical, quanto medular com mínimas alterações térmicas nas estruturas adjacentes, permitindo a mastoidectomia, a atticotomia e a descompressão do nervo facial. Já Kimura *et al.* (2001), demonstraram em estudo *in vitro*, que o *laser* de Er,Cr,YSSG na potência de 5W, corta efetivamente a mandíbula de cães sem queimar, derreter ou alterar a taxa de cálcio: fósforo do osso irradiado. Por sua vez, Wang *et al.* (2002), concluíram que o *laser* Er,Cr: YSGG na potência de 4W permite a ablação e um corte ósseo preciso com mínimas alterações térmicas nos tecidos adjacentes. Ainda de acordo com Wang (2002), o método de aplicação do *laser* sem contato e sem posição fixa, promove a fotoablação sem provocar alterações térmicas, sendo esta a metodologia aplicada em nosso trabalho.

Os resultados apresentados por estes estudos, nos estimularam a investigar a utilização do *laser* de Er,Cr:YSGG para a realização de osteotomias *in vivo*. O aparelho de *laser* de Er,Cr:YSGG permite uma regulação da potência que se deseja utilizar. Como os trabalhos presentes na literatura também não determinam qual a melhor potência para a realização de cortes no tecido ósseo, utilizamos o *laser* nas potências de 4W e 5W, afim de verificar possíveis diferenças no padrão do corte e na reparação das áreas operadas. Desta forma, foram realizadas três osteotomias em cada tíbia dos coelhos sendo duas osteotomias com o *laser* (potência de 4W e 5W) e uma outra com broca cirúrgica nº 701. A broca cirúrgica nº 701 foi escolhida para fazer parte da nossa pesquisa por ser um instrumento utilizado com muita freqüência em cirurgias ósseas. Os cortes com esta broca foram feitos sempre de

acordo com os protocolos preconizados para prevenir alterações e danos ao tecido ósseo, que de acordo com Wachter & Stoll (1991) e Kondo *et al.*(2000) incluem irrigação profusa e a realização de movimentos intermitentes

Na literatura não constam trabalhos de acompanhamento do processo de reparação de defeitos em tecido ósseo criados com o *laser* de Er,Cr:YSGG, sendo esta a principal motivação para elaboração do presente estudo.

Mesmo sabendo que a formalidade de uma discussão dispensa o uso de fotografias, tomamos a liberdade de inserir algumas figuras já mostradas nos resultados, lado a lado, com o intuito de facilitar a comparação e o entendimento do texto.

A análise das amostras, indicou que as osteotomias realizadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG são mais delicadas e conservadoras em comparação às realizadas com brocas, evitando, desta maneira, a remoção desnecessária de tecido ósseo. Devido também a estas características apresentadas pelas osteotomias obtidas com *laser* de Er,Cr:YSGG, este torna-se habilitado a ser utilizado também, em estruturas ósseas frágeis e diminutas, como muitas existentes na região bucomaxilofacial e de muitos sítios manipulados pelos otorrinolaringologistas, como citou Shah *et al.* (1996)

Os resultados obtidos nos tempos de reparação de sete, 14 e 21 dias, mostraram que os sítios operados com o *laser* de Er,Cr:YSGG apresentaram uma estágio mais avançado de reparação das osteotomias em comparação aos sítios onde a broca foi utilizada. Em todos os intervalos de tempo, não foi possível identificar uma diferença consistente entre o padrão de reparação das osteotomias realizadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG nas diferentes potências utilizadas.

As amostras obtidas após o período final de reparação utilizado no estudo, ou seja, 28 dias, mostraram a reparação total de todos os defeitos criados tanto com broca quanto com *laser*. Os sítios que foram operados com o *laser* de Er,Cr:YSGG puderam ser distinguidos dos que foram criados com brocas por apresentarem um tecido ósseo mais compacto e com menos cavidades indicando um estágio mais avançado no processo de reparação tecidual (Figs. 31a, 32a, 33a).

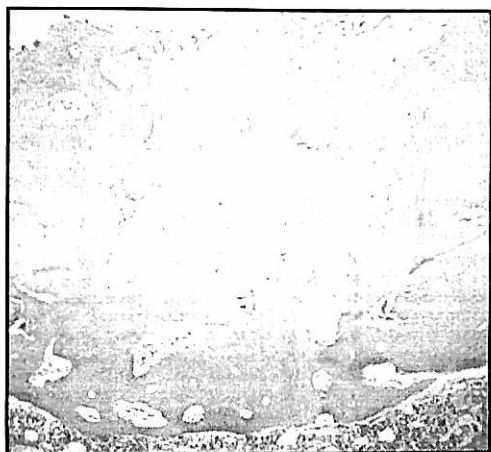


Fig 31a. Broca, 28 dias.



Fig 32a. *Laser* Er,Cr:YSGG 5W, 28 dias.



Fig 33a. *Laser* de Er,Cr:YSGG 4W, 28 dias.

Essas constatações mostraram que realmente o *laser* de Er,Cr:YSGG regulado na potência de 4W e 5W, é capazes de promover o corte do tecido ósseo

sem gerar alterações térmicas nocivas ao tecido ósseo, que trariam prejuízos no processo de reparação das áreas cirúrgicas e estariam evidenciadas por áreas de necrose e pela formação de um tecido cicatricial. Estes resultados confirmam estudos realizados *iv vitro*, que já sinalizavam a efetividade deste *laser* para a realização de cortes no tecido ósseo, sem promover danos ao tecido (SHAH *et al.*, 1996; KIMURA *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2002)

Uma observação importante em relação ao corte produzido com o *laser* de Er,Cr:YSGG, foi sua forma. Através da análise histológica pudemos constatar que a medida que o corte ia se aprofundando, o *laser* removeu quantidades menores de tecido ósseo. Embora em todas as regiões operadas em nosso trabalho o *laser* tenha conseguido romper a cortical do tecido ósseo, não sabemos seu comportamento diante de corticais mais espessas. Pesquisas complementares sobre este assunto devem ser realizadas, para que se tornem precisas as indicações para a utilização deste *laser*.

Nas pesquisas em que foram realizadas análises comparativas da reparação de defeitos ósseos criados por brocas e com *laser* de alta potência, os resultados predominantes indicaram que a utilização de aparelhos de *laser* como o de CO₂, Er:YAG e HO:YAG determinaram um atraso no processo de reparação em comparação aos sítios onde foram utilizados os métodos convencionais (NUSS *et al.*, 1988; NELSON *et al.*, 1989; LI *et al.*, 1992; RAYAN *et al.*, 1992; MARTINS, 2001; SASAKI *et al.*, 2002; POURZARANDIAN *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos a partir da análise histológica da amostra de oito coelhos, utilizada em nosso estudo, representam um avanço na consolidação de uma alternativa às técnicas convencionais de realização de osteotomias. Pois, além da utilização do *laser* de Er,Cr:YSGG, na potência de 4W e 5W, mostrar-se eficiente

para a realização de cortes no tecido ósseo, sem provocar atraso no processo de reparação em comparação aos sítios onde se utilizou broca, os sítios operados com ele, mostraram uma melhor reparação tecidual em todos os intervalos de tempo observados, sempre em comparação aos sítios preparados com broca.

Existem pesquisas que também demonstram uma equiparação da reparação de osteotomias realizadas com outros aparelhos de *laser* e com brocas (DRESSEL *et al*, 1991; LEWANDROWSKI *et al*.1996; AOKI *et al*. 2003), sendo que a realização de estudos comparativos entre o *laser* de Er,Cr:YSGG e estes com diferentes comprimentos de onda, é indispensável para a determinação de qual deles promove o corte ósseo de maneira mais efetiva.

Mais estudos em modelos animais e posteriormente em seres humanos, são recomendados para que os resultados obtidos em nosso trabalho possam ser ratificados e desta maneira, a aplicação do *laser* de Er,Cr:YSGG para a realização de osteotomias, venha a se tornar uma realidade para a realização de cortes no tecido ósseo.

Outra parte da nossa pesquisa teve como objetivo investigar a aplicação da terapia com *laser* em baixa intensidade sobre o processo de reparação do tecido ósseo. Considerando que a busca pelo pleno restabelecimento dos pacientes submetidos a intervenções cirúrgicas no menor período de tempo possível é um desafio constante para os cirurgiões, a terapia com o *laser* em baixa intensidade pode representar um importante aliado em tal processo. De acordo com Pinheiro (2004), lesões no tecido ósseo são reparadas através do processo biológico natural, sendo que a extensão e a velocidade de reparação são influenciadas pela localização anatômica, do agente etiológico, da dimensão da lesão e das características individuais de cada indivíduo. Assim sendo, longos períodos podem

ser necessários para que o processo de reparação seja completo, expondo o paciente a riscos e a desconfortos desnecessários.

Trabalhos como o de Trelles e Mayayao (1987) e Takeda (1998), mostraram uma fotoativação dos osteoblastos pela aplicação da terapia com *laser* em baixa intensidade, promovendo um aumento atividade de osteosíntese e aumento da vascularização através da ação antiinflamatória do *laser*. Já Yamada (1991) em estudo *in vitro*, concluiu que a utilização do *laser* de He-Ne promoveu uma fotoativação dos osteoblastos determinando um aumento na concentração de cálcio assim como aceleração no processo de calcificação. Enquanto, Ueda & Shimizu (2003) concluíram a partir de estudo *in vitro* realizado com osteoblastos que uma única aplicação de *laser* em baixa intensidade promoveu uma estimulação da proliferação celular, da formação de nódulos, da atividade da fosfatase alcalina, vindo desta forma, a influenciar no a resposta biológica no processo de neoformação óssea. Desta forma, a literatura nos proporciona subsídios para acreditar no benefício da utilização da LILT no processo de reparação de regiões óssea manipuladas cirurgicamente Entretanto não há uma definição de fatores importantes, como comprimento de onda e protocolo terapêutico de aplicação da LILT ideal para acelerar a reparação óssea.

Em nosso estudo, uma das principais preocupações, foi o desenvolvimento de uma metodologia de utilização do *laser* em baixa intensidade que refletisse a realidade de acompanhamento pós-operatório dos pacientes na rotina clínica. Desta maneira, as aplicações foram realizadas a cada sete dias sendo a primeira sessão feita logo após a realização das osteotomias, ainda com o tecido ósseo exposto.

O *laser* eleito para nosso estudo foi o de diodo semiconductor, com comprimento de onda de 680nm. Este aparelho possui as vantagens de ser

compacto e de ter seu método de aplicação simplificado, cabendo ao operador apenas estabelecer o tempo de aplicação que irá determinar a densidade de energia aplicada. Este *laser* com comprimento de onda de 680nm já se mostrou efetivo na estimulação óssea em trabalho realizado por Blay em 2001, pois a sua aplicação sobre implantes instalados em tíbias de coelhos, gerou maiores valores de torque de remoção e valores mais altos de frequência de ressonância, em comparação ao sítio controle onde ele não foi aplicado.

Da mesma forma já citada na página 93, tomamos a liberdade de apresentar figuras lado a lado, visando colaborar com a análise e compreensão do texto.

Podemos verificar a partir da análise das amostras, que os sítios onde o *laser* de baixa intensidade foi aplicado, apresentaram em todos os intervalos de tempo analisados, uma formação óssea mais consistente representada por mais trabéculas óssea neoformadas, no estágio inicial da reparação e por um tecido lamelar mais compacto nos estágios mais avançados. Utilizando o exemplo da reparação após 7 dias, pudemos constatar que os sítios onde foi estabelecida a terapia com *laser* em baixa intensidade (Fig 16a), apresentaram uma consistente neoformação óssea quase obliterando a região inferior da cavidade, podendo-se notar ainda, em alguns pontos, o início da substituição do tecido conjuntivo, por um tecido osteóide no interior da cavidade. Enquanto isso, os sítios onde não foi estabelecida a LILT (Fig 13a), foi verificada uma apenas pequena formação óssea restrita a uma parte da região inferior da cavidade, sendo que a porção interna da loja óssea permaneceu preenchida por tecido conjuntivo. Estes achados demonstram o efeito benéfico do *laser* de baixa intensidade nas fases iniciais do processo de reparação do tecido ósseo



Fig 13a. Broca, 7 dias sem LILT.

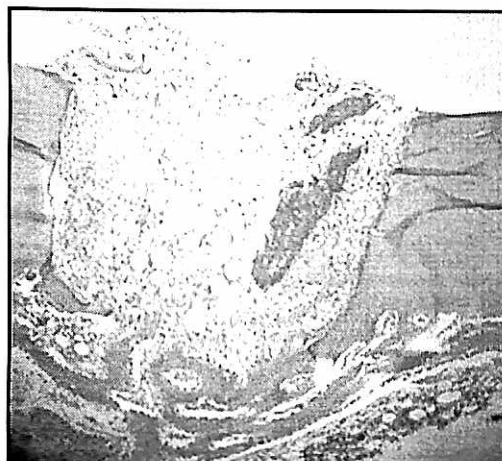


Fig 16a. Broca, 7 dias com LILT.

Nas amostras de 14 e 21 dias, também pudemos verificar que a reparação óssea sempre apresentou um padrão superior nos sítios submetidos à LILT. Após 28 dias, período máximo de reparação em nosso estudo, observou-se um completo preenchimento tanto dos defeitos produzidos por broca como os criados com o *laser* de Er,Cr:YSGG, por tecido ósseo neoformado. Nesta fase, as regiões onde foi aplicado o *laser* em baixa intensidade (Fig. 31a), puderam ser diferenciadas das demais (Fig. 34a), por apresentarem um arranjo lamelar mais compacto, ou seja, com menos cavidades entre as trabéculas ósseas, indicando um estágio superior no processo de diferenciação do tecido ósseo, em comparação aos sítios onde não se aplicou a LILT.



Fig 31 a. Broca 28 dias, sem LILT.

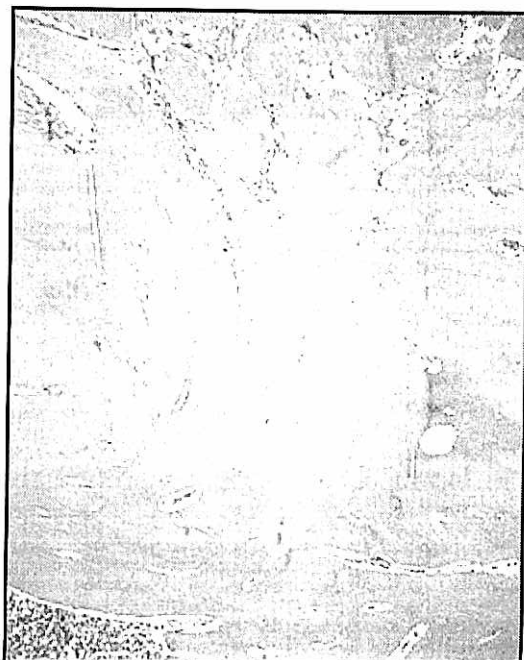


Fig 34a. Broca 28 dias com LILT.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam uma ação favorável da aplicação do *laser* em baixa intensidade, no processo de reparação de áreas ósseas submetidas a procedimentos cirúrgicos. Nossos achados *in vivo*, confirmam os resultados obtidos por diversos trabalhos presentes na literatura, que demonstraram o efeito bioestimulador da terapia com *laser* em baixa intensidade sobre células envolvidas no processo de reparação do tecido ósseo.(TAKEDA, 1988; GORDJESTANI, 1994; YAAKOBI, 1996; SAITO, 1997)

Da mesma maneira, estudos como os de Freitas *et al.* (2000), Blay (2001), Pinheiro *et al.*(2003), realizados *in vivo*, chegaram a resultados próximos aos nossos em relação ao efeito de bioestimulação do processo de regeneração óssea, gerado pela aplicação do *laser* em baixa intensidade.

Uma questão que ainda tem que ser elucidada é até que fase da reparação a aplicação da LILT proporciona resultados efetivos. Trabalhos como os de Yamada (1991) e Lunguer *et al.* (1998) indicam que a LILT traz efeitos benéficos ao processo de reparação quando aplicado nas fases iniciais do processo de reparação

tanto promovendo a estimulação da proliferação e ativação celular como fornecendo um ambiente favorável para a reparação óssea. Em nosso trabalho a LILT foi aplicada até com 21 dias de reparação, sendo que não existem subsídios para determinar se esta aplicação acrescentou, em alguma região dos sítios operados, algum efeito positivo ao processo de reparação.

Os trabalhos que não demonstraram efeitos benéficos com a utilização da LILT para acelerar o processo de reparação do tecido ósseo como o de Braekt *et al.* (1991) e David *et al.* (1996), utilizaram protocolos de irradiação inadequados, isto pode ser evidenciado por Saito(1997), que utilizou o mesmo *laser* que Braekt *et al.*(1991), entretanto variando a potência e a densidade de energia, vindo concluir que a LILT realmente acelera o processo de reparação do tecido ósseo.

A metodologia de aplicação da terapia com *laser* de baixa intensidade utilizada em nosso estudo, buscou uma aproximação com a realidade clínica dos cirurgiões dentistas. Apesar de terem sido obtidos resultados positivos, as pesquisas devem prosseguir de maneira a determinar qual o melhor comprimento de onda e o protocolo ideal de aplicação da terapia LILT, para acelerar ao máximo o processo de reparação do ósseo.

7 CONCLUSÕES

A análise e discussão dos resultados obtidos a partir da amostra e metodologia utilizadas no presente trabalho permitiram concluir que:

- A utilização do *laser* de Er,Cr:YSGG para a realização de osteotomias, não determinou um atraso no processo de reparação óssea em comparação ao método convencional com a utilização de brocas nº 701.
- Os sítios operados com o *laser* de Er,Cr:YSGG tanto na potência de 4W, quanto na potência de 5W, apresentaram após sete, 14, 21, e 28 dias de cicatrização, um grau superior na reparação da região operada, em comparação aos sítios onde se utilizou broca nº 701.
- Não existiram diferenças significativas no processo de reparação óssea das regiões operadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG na potência de 5W e 4W.
- A aplicação do *laser* de baixa intensidade tanto nos sítios operados com broca como naqueles onde foi utilizado o *laser* de Er,Cr:YSGG na potência de 4W e 5W, determinou uma aceleração no processo de reparação óssea em todos os períodos de tempo avaliados.

Lista de Materiais

8 coelhos *New Zealand* albinos;

Laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase®, Biolaser Technology Inc, San Clemente, USA);

MINILASER 2075 F dent-680nm-Dental Model(HELBO-Austria);

Peça de mão Dabi Atlante;

Broca cirúrgica nº 701;

Óculos de proteção;

Tricotomizador (Ambassador-EUA);

Escovas estéreis com iodo-povidine;

Solução alcoólica de clorexidina;

Kit de paramentação estéril;

Seringa carpule;

Anestésico local;

Anestésico IM(Vetaset®)

Soro fisiológico a 0.9%;

Cabo de bisturi;

Lâmina de bisturi nº15;

Descolador muco periostal P24G(Hu-friedy);

Afastador de ALM;

Pinça Bakaus;

Kit de tachinhas Friadent;

Porta agulha;

Fio de sutura Nylon 5.0;

Sugador cirúrgico estéril;

Compressas de gaze estéreis;

Antibiótico(ENROPET®);

Analgésico (BANAMINE®);

Ração Purina para coelhos;

Solução de gluconato de clorexidina a 2%;

Solução de hipoclorito de sódio a 0.5%.

REFERÊNCIAS ¹

- ABOUZGIA, M.B.; JAMES, D.F. Temperature rise during drilling through bone. **Int. J. Oral Maxillofac Implants**, Lombard, v.12, p.342-353, 1997.
- AOKI, A. et al. Comparative study of Er:YAG laser and rotating bur for bone ablation. **Int Congress Series**, 1248, p. 389-391, 2003.
- BLAY, A. Efeitos da radiação laser em baixa intensidade no mecanismo de osseointegração de implantes: Estudo "in vivo". Tese(Mestrado). IPEN, São Paulo , 2001.
- BRAEKT IN DE M.M.H. et al. The effect of low-level laser treatment on maxillary arch dimensions after palatal surgery on beagle dogs. **J. Dent. Res.**, Washington, v.70, n.11, p.1467-1470, 1991.
- BRUGNERA JÚNIOR, A. ; PINHEIRO, A.L.B.(Org). Laser na odontologia moderna. São Paulo: Pancast, 1998.
- CLAUSER, C.; CLAYMAN, L. Effects of exposure time and pulse parameters on CO₂ laser osteotomies. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.9, p.22-29, 1989.
- CLAYMAN, L.; FULLER, T.; BECKMAN, H. Healing of continuous-wave and superpulsed, carbon dioxide laser-induced bone defects. **J. Oral Surg.**, Chiacago, v.36, p.932-937, 1978.
- DAVID, R.; et al. Effect of low-power He-Ne laser on fracture healing in rats. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 19, p.458-464, 1996.
- DRESSEL, M. et al. Studies in fiber guided excimer laser surgery for cutting and drilling bone and meniscus. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.11, p.569-579, 1991.
- EDUARDO, C.P.; CECCHINI, S.C.M.; CECCHINI, R.C.M. Benefits of low power lasers on oral soft tissues. In: **Lasers in Dentistry II**, H. A. Wigdor, J.D.B. Featherstone, J.M.White, J. Neeve, eds.; Proc.SPIE,2672, p.27-33, 1996.
- EL-MONTASER, M. et al. Osseointegration of titanium metal implants in Erbium-YAG laser-prepared bone. **Implant Dentistry**, Baltimore, v.8, p.79-85, 1999.
- ERIKSSON, R.A.; ALBREKTSSON, T. Temperature threshold levels for heat induced bone tissue injury. A vital microscopic study in rabbit. **J. Prosthet. Dent.**, St Louis, v.50, p.101-107, 1983.

EVERSOLE, L.R.; RIZOIU, I.M. Preliminary investigations on the utility of an erbium, chromium YSGG laser. **J Calif. Dent. Assoc**, Sacramento, v.23, p.41-47, 1995.

FREITAS, I. G. F; BARANAUSKAS, V.; CRUZ-HOFLING, M. A . Laser effects on osteogenesis. **Appl Surf Sci**, p.548-554, 2000.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. Atlas de histologia. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, c.4, p.56-67, 1993.

GIRAUD, J.Y.; Bone cutting. **Clin. Phys. Physiol. Meas.**, Bristol, v.12, n.1, p.1-19, 1991.

GOLDMAN, L.; HORNBY, P.; MEYER, R.; GOLDMAN, B . Impact of the laser on dental caries. **Nature**, London, v.203, p.417, 1964.

GORDJESTANI, M.; DERMAUT, L.; THIERENS, H. Infrared laser and bone metabolism: A pilot study. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Lombard, v. 23, p.54-56, 1994.

GUTKNECHT, N. et al. Microleakage of composite fillings in Er,Cr:YSGG laser-prepared class II cavities. **Lasers. Surg. Med.**, New York, v.28, p.371-374, 2001.

HIBST, R.; KELLER, U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances : II. Light microscopic and SEM investigations. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.9, p.345-351, 1989.

HOSSAIN, M. et al. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: Ablation and morphological studies. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v.17, n.4, p.155-159, 1999.

IZATT, J.A. et al. Wavelength dependence of pulsed laser ablation of calcified tissue. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.11, n. 3, p.238-249, 1991.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c.8, p.111-128, 1995.

KARU, T. et al. Effect of irradiation with monochromatic visible light on cAMP content in chinese hamster fibroblasts. **Il Nuovo Cimento D**. v.9, p.1245-1252, 1987.

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

KESSEL, R.G. Histologia médica básica. c.7, p.129-145, 1998.

KIMURA, Y. et al. Effects of Erbium ,Chromium: YSSG laser irradiation on canine mandibular bone. **J. Periodontol**, Indianapolis, v.72, n.9, Sept, p.1178-1182, 2001.

KIMURA, Y.; WILDER-SMITH, P.; MATSUMOTO, K. Lasers in endodontics: a review. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.33, n. 3, May, p.173-185, 2000.

KINOSHITA, J.I.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. Comparative study of carious dentin removal by Er,Cr:YSSG laser and carisolv. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v.21, n.5, p.307-315, 2003.

KONDO, S. et al. Thermological study of drilling bone tissue with a high-speed drill. **Neurosurgery**, Baltimore, v.46, p.1162-1168, 2000.

KUBASOVA, T. et al. Biological effect of He-Ne laser: investigations on functional and micromorphological alterations of cell membranes, "in vitro". **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 4, n.4, p.381-388, 1994.

LEE,P.;KIM, K. Effects of low incident energy levels of infrared laser irradiation on healing of infected open skin wound in rats. **Laser Ther**,v.5, p.59-64, 1993.

LEWANDROWSKI, K.U. et al. Use of the Er:YAG laser for improved plating in maxillofacial surgery: Comparison of bone healing in laser and drill osteotomies. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.19, p.40-45, 1996.

LI, Z.Z.; REINISCH, L.; VAN DE MERVE, W.P. Bone ablation with Er:YAG and CO₂ laser: Study of thermal and acoustic effects. **Lasers Surg. Med.**, .New York, v.12; p.79-85, 1992.

LUBART, R. et al. Effects of visible and near infrared laser on cell cultures. **J. Photochem Photobiol B.**, Lausanne, v.12, p.305-310, 1992.

LUNGER, E. et al. Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.22, p.97-100, 1998.

MARTINS, G.L. Estudo microscópico do reparo ósseo na mandíbula de ratos submetida a ostectomias a fresa cirúrgica e laser de Er:YAG. Tese (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.135, 2001.

TRELLES, M.A; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. **Laser Surg Med**, v.7, p.36-45, 1987.

MESTER, E. et al. Effect of laser rays on wound healing. **Am. J. Surg**, New York, v.122, n.4, p. 532-535, oct. 1971.

NELSON, J.S. et al. Mid-infrared Erbium:YAG laser ablation of bone : The effect of laser osteotomy on bone healing. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.9, p.362-374, 1989.

NELSON, J.S. et al. Ablation of bone and methacrylate by a prototype mid-infrared Er:YAG laser. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.8, p.494-500, 1988.

NUSS, R.C. et al. Infrared laser bone ablation. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.8, p.381-391, n.4, 1988.

OZAWA, Y. et al. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvaria. **Bone**, New York, v.22, p.347-354, n.4, Apr. 1998.

PEAVY, G.M. et al. Comparison of cortical bone ablations by using infrared laser wavelengths 2.9 a 9.2 μ m. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.25, n.5, p.421-434, 1999.

PINHEIRO, A.L.B. et al. Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v.21, n.6 p.383-388, Dec, 2003.

POURZARANDIAN, A. et al. Comparison of early healing process of bone tissue after irradiation by Er:YAG, laser and CO₂ laser. **Int Congress Series**, 1248, p.385-387, 2003.

RAYAN, G.M. et al. Effects of rapid pulsed CO₂ laser beam on cortical bone in vivo. **Lasers Surg. Med.**, New York, n.12, n.6, p.615-620, 1992.

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

RUPPRECHT, S. et al. Er:YAG laser osteotomy directed by sensor controlled systems. **J. Cranio Maxillofac Surg.**, Stuttgart, v.31, n.6, p. 337-342, Dec, 2003.

SAITO, S.; SHIMIZU, N. Stimulatory effects of low-power laser irradiation on bone regeneration in midpalatal suture during expansion in the rat. **Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.**, St. Louis, v.111 n.5, p.525-532, May. 1997.

SASAKI, K.M. et al. Scanning electron microscopy and fourier transformed infrared spectroscopy analysis of bone removal using Er:YAG and CO₂ lasers. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v.73 n.6, p.643-652, June, 2002.

SHAH, U.K.; POE, D.S.; REBIEZ, E.E.; Erbium laser in middle ear surgery: in vitro and in vivo animal study. **Laryngoscope**, St. Louis, v.106, n. 4, p.418-422, Apr. 1996.

SMITH, K. The photobiological basis of low level laser radiation therapy. **Laser Ther**, v.3, p.19-24, 1991.

SPENCER, P. et al. Effective laser ablation of bone based on the absorption characteristics of water and proteins. **J. Periodontol.**, Indianapolis, v.70, n.1, p.68-74, Jan. 1999.

STEIN, E. et al. Acute e chronic effects of bone ablation with a pulsed holmium laser. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.10, n.4, p.384-388, 1990.

STEVENS, A.J.; LOWEE, J.S. *Histologia*. Editora Manole, São Paulo, 1995

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. **Int. J. Oral Maxillofac Surg.**, Copenhagen, v.17, n. 6, p.388-391, Dec, 1988.

TEN CATE, A.R. *Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função*. 2 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, cap.8, p.95-112, 1985.

TRELLES, M.A.; MAYAYO, E. Bone fracture consolidates faster with low-power laser. **Lasers Surg. Med.**, New York, v.7, n.1, p. 36-45, 1988.

UEDA, Y; SHIMIZU, N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy(LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v.21, n.5, p. 271-277, Oct, 2003.

VISURI, S.R.; WALSH, J.T.; WIGDOR, A.H. Erbium laser ablation of dental hard tissue:effect of water cooling. **Lasers in Surg. Med.** New York, v.8, n.3, p.294-300, 1996.

WACHTER, R.; STOLL, P. Increase of temperature during osteotomy. In vitro e in vivo investigations. **Int. J. Oral Maxillofac Surg.**, Copenhagen, v.20, n.4, p.245-249, 1991.

WANG, X. et al. Morphological bone irradiated by Er,Cr:YSGG laser: An *in vitro* study. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v.20, n.5, p.245-250, oct. 2002.

YAAKOBI, T.; MALTZ, L.; ORON, U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne) irradiation. **Calcif. Tissue Int.**, Berlim, v.59, n.4, p.297-300, Oct. 1996.

YAMADA, K. Biological effects of low power irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). **Nippon Seikeigka Gakkai Zasshi**, Tokyo, v.65, n.9, p.787-799, Sept. 1991.

YU, D.G. et al. Morphological and atomic analytical studies on enamel and dentin irradiated by an Erbium, Chromium:YSGG laser. **J.Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v.18, n.3, p.139-143, June, 2000.