

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**ESTUDO MICROSCÓPICO DO REPARO ÓSSEO
EM ALVÉOLOS DE RATOS IRRADIADOS
COM LASER DE Er:YAG**

MÁRI ESTELA KENNER

DISSERTAÇÃO APRESENTADA COMO PARTE DOS REQUISITOS OBRIGATÓRIOS
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM CLÍNICAS ODONTOLÓGICAS,
NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA BUCO-MAXILO-FACIAIS

ORIENTADORA:

PROFA. DRA. EDELA PURICELLI

PORTO ALEGRE, AGOSTO DE 2003

À minha mãe **Angélica**,
exemplo de mulher e mestra,
por ensinar-me o valor do conhecimento.

Às minhas irmãs **Marta, Márcia e Isabela**,
pelo carinho e apoio constantes.

À toda minha **família**,
por entender as muitas ausências
destes anos de formação.

À amiga **Isabel**,
por me fazer acreditar em um sonho
e ajudar a concretizá-lo.

À colega e professora **Deise**,
pela amizade, ensinamentos e
exemplo profissional.

À colega **Lucienne**,
pela amizade construída
nestes anos de pós-graduação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
seu corpo docente e funcionários.

Ao Prof. João Julio,
pelo incentivo e amizade.

Aos colegas Carlos, Baraldi, Gustavo,
Fernanda, Patrícia, Marcel, Karen e Liane,
pelo coleguismo no convívio profissional.

Ao Instituto Puricelli & Associados
e seus funcionários,
pelo apoio sempre presente.

Aos colegas de mestrado,
pelos momentos de convívio
e trocas acadêmicas.

Ao Laboratório de Patologia
da FO-UFRGS, pela realização
do processo histológico deste trabalho.

Aos alunos e ex-alunos
do Programa de Capacitação em CTBMF
da FO-UFRGS, em especial à Adriana e Bianca,
pelo auxílio na fase experimental deste trabalho.

À Enf^a. Valentina, pela atenção.

Às Bibliotecárias
Eloísa Futuro Pfitscher
e Norma Ataíde, pela orientação.

Aos funcionários da
Disciplina de CTBMF da FO-UFRGS, em especial
ao *Seu Lopes*, *Dona Vera*, *Dona Marli* e *Eliane*,
pela presteza e disponibilidade.

Aos funcionários do Biotério da UFRGS,
em especial a *Dona Geni*, *Seu Carmona* e *Mari*,
pelos cuidados aos animais deste experimento.

Os meus mais sinceros agradecimentos.

*Para os gregos,
teckné significava ao mesmo tempo
arte e fazer. Quem faz bem, realiza arte.*

À Profa. Dra. Edela Puricelli,
por idealizar o tema deste trabalho;
pelo incentivo à minha formação;
pelo privilégio em compartilhar seus ensinamentos;
por ensinar que a excelência de um professor e cirurgião
é feita de disciplina, humildade e paixão;
por sua dedicação e respeito ao ser humano;
por seu amor incondicional à Odontologia.

Dedico este trabalho.

*“Na videira da vida os grãos se aglutinam em cachos,
segundo suas características.”*

(Profa. Dra. Edela Puricelli, 1997)

RESUMO

Proposição: avaliar a aplicação da tecnologia laser de Er:YAG em tecido ósseo alveolar. **Materiais e Método:** estudo experimental *in vivo*, com a amostragem selecionada de forma aleatória, randomizada, com um grupo teste e outro controle. Constou de 20 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, cepa *Wistar*, machos, subdivididos em quatro grupos, correspondendo aos tempos experimentais de sete, 14, 21 e 45 dias. Todos os animais foram grupo teste no lado direito e controle do lado esquerdo. Foi avaliado o efeito do uso de três pulsos de laser de Er:YAG à energia de 500 mJ/pulso e frequência de 2 Hz, conduzido por fibra ótica, no modo de entrega em contato, através da análise das fases histológicas do reparo ósseo após extração cirúrgica do primeiro molar superior dos ratos. Foram avaliadas a qualidade e a velocidade do reparo ósseo alveolar. **Resultados:** aos sete dias, observou-se intensa atividade osteoblástica no grupo teste. As trabéculas apresentaram-se dirigidas no sentido ascendente e convergente. Ao contrário, o grupo controle apresentou neoformação óssea somente aos 14 dias, com trabéculas em forma circunvolutiva e ascendente. Aos 14 dias no grupo teste e aos 21 dias no grupo controle, evidenciou-se semelhança na atividade osteoblástica-osteoclástica, em diferentes fases de neoformação e remodelação óssea. No grupo teste, aos 21 dias, encontrou-se tecido ósseo maduro. Aos 45 dias, ambos os grupos apresentaram-se com tecido ósseo lamelar maduro do tipo esponjoso. **Conclusão:** após o uso de laser de Er:YAG, nos parâmetros utilizados, não foram observadas áreas de ablação e necrose teciduais, em todos os tempos experimentais; o reparo ósseo alveolar após o uso de laser Er:YAG, nos parâmetros utilizados, ocorreu mais rapidamente em comparação ao controle, principalmente entre os sete e 21 dias pós-operatórios; não houve diferença no reparo ósseo alveolar final, aos 45 dias pós-operatórios, em relação ao controle; e o modelo de cirurgia experimental é válido para pesquisas futuras em reparo ósseo alveolar.

ABSTRACT

Aims: to assess the application of Er:YAG laser technology on alveolar bone tissue.

Methods and Materials: experimental *in vivo* study with subjects selected at random and divided in experimental and control groups. The sample consisted of 20 male *Wistar* strain rats (*Rattus norvegicus albinus*), which were subdivided in four subgroups that corresponded to the experimental times of seven, 14, 21 and 45 days. The test group was the right side of the jaw and the control was the left for all rats. The study assessed the effect of three Er:YAG laser pulses (set at 500 mJ/pulse at 2Hz) delivered by contact optic fiber by means of an analysis of the histological phases of bone repair after surgical extraction of the first upper molar of the rats. The quality and the speed of alveolar bone repair were assessed.

Results: At seven days, intense osteoblastic activity was observed in the test group. The trabecules show an upwards-converging orientation. The control group, however, displayed new bone only at 14 days, with circular trabecules oriented upwards. At 14 days in the test group and 21 days in the control group, similarity in osteoblastic-osteoclastic activity is evident in different phases of new bone formation and remodeling. In the test group, mature bone tissue was found at 21 days. Both groups displayed mature lamellar bone tissue of the spongy type at 45 days.

Conclusion: after the use of the Er:YAG laser in the settings employed, no evidence of ablation or tissue necrosis were observed at any of the times of the test; alveolar bone repair after the use of the Er:YAG laser in the settings employed was found earlier when compared with the control group, mainly between seven and 21 postoperative days; there was no difference in final alveolar bone repair at 45 postoperative days in relation to the control group; the experimental surgery model is valid for further research on alveolar bone repair.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Aparelho laser de Er:YAG KaVo KEY.....**50**
- Figura 2:** Peça de mão E 2055 e fibra nº 50/28, modo de entrega em contato.....**50**
- Figura 3:** Vista lateral do crânio de um rato adulto. Observar a área de trabalho correspondente ao primeiro molar superior (PMS)**51**
- Figura 4:** Vista oclusal da maxila de um rato adulto. Observar a área dos PMS e a divergência da raiz mesial dos mesmos (→).....**51**
- Figura 5:** Fibra nº 50/28 e vista lateral do PMS. Observar a compatibilidade entre o diâmetro da fibra e a raiz mesial do PMS.....**52**
- Figura 6:** Vista sagital do PMS. Observar a divergência da raiz mesial e sua relação volumétrica em relação às raízes distais.....**52**
- Figura 7:** Hemimaxila de rato aos 21 dias (A). Hemimaxila de rato aos 60 dias (B). Observar em A ausência clínica do terceiro molar. Não se visualiza marcada diferença dimensional na região anterior da maxila entre A e B.....**53**
- Figura 8:** Hemimaxila de rato aos 45 dias pós-exodontia do PMS. Plano para cortes histológicos (- - -), envolvendo distalmente o segundo e terceiro molares superiores, no sentido transversal do processo alveolar.....**53**
- Figura 9:** Extrator especialmente desenhado para o procedimento cirúrgico (De Puricelli). Montagem fotográfica.....**54**
- Figura 10:** Radiografia da hemimaxila esquerda, grupo controle de sete dias. Não se visualizam restos radiculares em região de PMS extraído (→).....**54**
- Figura 11:** Vista oclusal da maxila de rato. Observar área de PMS (→).....**55**
- Figura 12:** Sindesmotomia da mucosa palatina na região de PMS, lado direito, grupo teste.....**55**
- Figura 13:** Fase da luxação extrusiva total de PMS, lado direito, grupo teste.....**56**
- Figura 14:** Região de PMS extraído, lado direito, grupo teste. Observar integridade dos tecidos gengivais (→).....**56**
- Figura 15:** PMS extraído. Observar integridade radicular.....**57**

- Figura 16:** Irradiação no alvéolo mesial do PMS extraído com laser de Er:YAG, no modo de entrega em contato.....**57**
- Figura 17:** Vista oclusal pós-exodontia de PMS, lado direito e esquerdo, grupo teste e controle, respectivamente.....**58**
- Figura 18:** Estudo piloto. Aplicação de laser de Er:YAG, 12 pulsos à energia de 500mJ/pulso, frequência de 2Hz, no modo de entrega em contato, em alvéolo mesial do PMS extraído. Tempo experimental de 45 dias. Observar área de ablação tecidual (→). H.E. Aumento original 7X.....**58**
- Figura 19:** Estudo piloto. Aplicação de laser de Er:YAG, 30 pulsos à energia de 500mJ/pulso, frequência de 2Hz, no modo de entrega em contato, em alvéolo mesial do PMS extraído. Tempo experimental de 45 dias. Observar extensas áreas de ablação (→) e necrose (---) teciduais. H.E. Aumento original 7X.....**59**
- Figura 20:** Estudo piloto. Aplicação de laser de Er:YAG, 30 pulsos à energia de 500mJ/pulso, frequência de 2Hz, no modo de entrega em contato, em alvéolo mesial do PMS extraído. Tempo experimental de 45 dias. Observar área de necrose tecidual. H.E. Aumento original 100X.....**59**
- Figura 21:** Maxila de rato aos 21 dias de idade, lado esquerdo. Observar a divergência da raiz mesial do PMS (→). Terceiro molar ainda não erupcionado. H.E. Aumento original 7X.....**63**
- Figura 22:** Maxila de rato aos 60 dias de idade, lado esquerdo. Observar a acentuada divergência da raiz mesial do PMS (→). Erupção dentária finalizada. H.E. Aumento original 7X.....**63**
- Figura 23:** Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos sete dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Solução de continuidade em mucosa (→). Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (---). H.E. Aumento original 7X.....**64**
- Figura 24:** Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos sete dias. Margeando o espaço alveolar, contorno ósseo trabecular irregular. No tecido conjuntivo, discretas projeções de neoformação óssea. H.E. Aumento original 40X.....**64**
- Figura 25:** Grupo controle aos sete dias. Tecido conjuntivo (TC) com predomínio de células mesenquimais indiferenciadas, formando uma rede entrelaçada. H.E. Aumento original 200X.....**65**
- Figura 26:** Grupo controle aos sete dias. No interior do tecido conjuntivo, centros de ossificação correspondendo a osteoblastos (Ob) em fase inicial de

	secreção de osteóide. H.E. Aumento original 400X.....	65
Figura 27:	Maxila, lado direito, grupo teste aos sete dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Solução de continuidade em mucosa (→). Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (---). H.E. Aumento original 7X.....	66
Figura 28:	Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos sete dias. Intenso trabeculado ósseo, dirigido no sentido ascendente e convergente, a partir da margem óssea circundante. Predomínio de atividade osteoblástica. H.E. Aumento original 40X.....	66
Figura 29:	Grupo teste aos sete dias. Trabeculado ósseo constituído de osso imaturo (OI). Tecido conjuntivo ocupando os espaços intertrabeculares (TC). H.E. Aumento original 200X.....	67
Figura 30:	Grupo teste aos sete dias. Intensa atividade osteoblástica (Ob), a partir do endóstio. Não se observam áreas de necrose óssea, compatíveis com a ação do laser. H.E. Aumento original 400X.....	67
Figura 31:	Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos 14 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Cicatrização da mucosa bucal. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (---). H.E. Aumento original 7X.....	70
Figura 32:	Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos 14 dias. Trabeculado ósseo em formação circunvolutiva e ascendente. H.E. Aumento original 40X.....	70
Figura 33:	Grupo controle aos 14 dias. Osso imaturo, com presença de osteoblastos (Ob). Áreas de reabsorção, com lacunas contendo células osteoclásticas (Oc). Tecido conjuntivo (TC) ocupando os espaços intertrabeculares. H.E. Aumento original 200X.....	71
Figura 34:	Grupo controle aos 14 dias. Lacunas de reabsorção, contendo osteoclastos (Oc) na superfície óssea. H.E. Aumento original 400X.....	71
Figura 35:	Maxila, lado direito, grupo teste aos 14 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Cicatrização da mucosa bucal. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (---). H.E. Aumento original 7X.....	72
Figura 36:	Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos 14 dias. Osso trabecular altamente eosinófilo. Espaços intertrabeculares contendo medula óssea. H.E. Aumento original 40X.....	72
Figura 37:	Grupo teste aos 14 dias. Trabeculado ósseo contendo lacunas com osteócitos (→). Presença maciça de células osteoblásticas (Ob). Nos espaços medulares, tecido hematopoiético (TH). H.E. Aumento original 200X.....	73

- Figura 38:**Grupo teste aos 14 dias. Processo de remodelação óssea. Presença de lacuna de reabsorção contendo osteoclastos (Oc). Não se observam áreas de necrose compatíveis com a ação do laser. H.E. Aumento original 400X.....**73**
- Figura 39:**Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos 21 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS, projetado anteriormente (---). H.E. Aumento original 7X.....**76**
- Figura 40:**Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos 21 dias. Formação trabecular densa e volumosa, compatível com osso maduro. H.E. Aumento original 40X.....**76**
- Figura 41:**Grupo controle aos 21 dias. Trabeculado ósseo com áreas de neoformação, com presença de osteoblastos (Ob) e áreas em processo de reabsorção por osteoclastos (Oc). H.E. Aumento original 200X.....**77**
- Figura 42:**Grupo controle aos 21 dias. Área de remodelação óssea contendo lacuna de reabsorção e célula osteoclástica (Oc). No tecido ósseo, lacunas contendo osteócitos (→). H.E. Aumento original 400X.....**77**
- Figura 43:**Maxila, lado direito, grupo teste aos 21 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS, projetado anteriormente (---). H.E. Aumento original 7X.....**78**
- Figura 44:**Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos 21 dias. Tecido ósseo marcadamente eosinófilo, compatível com osso maduro. Presença de tecido hematopoiético nos espaços medulares. H.E. Aumento original 40X.....**78**
- Figura 45:**Grupo teste aos 21 dias. Tecido ósseo compatível com osso maduro (OM). Tecido hematopoiético (TH) nos espaços medulares. H.E. Aumento original 200X.....**79**
- Figura 46:**Grupo teste aos 21 dias. Espaço medular contendo tecido hematopoiético (TH), com predomínio de hemácias maduras. Não se observam áreas de necrose compatíveis com a ação do laser.H.E. Aumento original 400X...**79**
- Figura 47:**Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos 45 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Finalização do processo eruptivo dentário. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS (---). H.E. Aumento original 7X.....**82**
- Figura 48:**Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos 45 dias. Formação óssea maciça condensando as estruturas trabeculares. Tecido

- conjuntivo denso, com presença de vasos sangüíneos. H.E. Aumento original 40X.....82
- Figura 49:**Grupo controle aos 45 dias. Glândula salivar acessória, do tipo acinar composta, demonstrando maturação e função teciduais. H.E. Aumento original 40X.....83
- Figura 50:**Grupo controle aos 45 dias. Tecido ósseo lamelar maduro (OM) do tipo esponjoso. Presença de tecido hematopoiético (TH) nos espaços medulares. H.E. Aumento original 200X.....83
- Figura 51:**Maxila, lado direito, grupo teste aos 45 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Finalização do processo eruptivo dentário. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS (---). H.E. Aumento original 7X.....84
- Figura 52:**Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos 45 dias. Presença de osso lamelar maduro do tipo esponjoso. H.E. Aumento original 40X.....84
- Figura 53:**Grupo teste aos 45 dias. Presença de osso lamelar maduro (OM) do tipo esponjoso. Tecido hematopoiético (TH) contido nos espaços medulares. Não se observam áreas de necrose óssea compatíveis com a ação do laser H.E. Aumento original 200X.....85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ArF – Argônio-Flúor

As-Ga-Al – Arseneto de Gálio-Alumínio

Atm – atmosfera

°C – grau(s) Celsius

cm – centímetro(s)

CO₂ – dióxido de carbono

Er:YAG – Érbio: Ítrio-Alumínio-Granada

g – grama(s)

h – hora(s)

He-Ne – Hélio-Neônio

Ho:YAG – Hólmio: Ítrio-Alumínio-Granada

Hz – Hertz

J/cm² – Joule(s) por centímetro quadrado

kV – kilovolt

l – litro(s)

Laser – luz amplificada pela emissão estimulada de radiação

µm – micrometro(s)

mA – miliampere

mg – miligrama(s)

mg/kg – miligrama(s) por kilograma

mJ – milijoule(s)

mJ/pulso – milijoule(s) por pulso

ml – mililitro(s)

ml/kg – mililitro(s) por kilograma

msg – milisegundo(s)

Nd:YAG – Neodímio: Ítrio-Alumínio-Granada

PMS - primeiro molar superior

s – segundo(s)

XeCl – Xenônio-Cloro

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	02
AGRADECIMENTOS	03
EPIÍGRAFE	07
RESUMO	08
ABSTRACT	09
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	15
SUMÁRIO	16
INTRODUÇÃO	17
REVISÃO DE LITERATURA	19
1. TECIDO ÓSSEO	19
2. CICATRIZAÇÃO ÓSSEA	23
3. CICATRIZAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR	26
4. RADIAÇÃO LASER	33
5. LASER DE ER:YAG	38
PROPOSIÇÃO	42
MATERIAIS E MÉTODO	43
1. MODELO DO ESTUDO	43
2. AMOSTRA	43
3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	44
4. CONSIDERAÇÕES ÈTICAS	49
RESULTADOS	60
DISCUSSÃO	86
CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
ANEXO	102

INTRODUÇÃO

A luz laser, acrônimo de “**L**ight **A**mplification by the **S**timulated **E**mission of **R**adiation”, significa “luz amplificada pela emissão estimulada de radiação”. As suas propriedades de intensidade, monocromaticidade, colimação e coerência possibilitam a interação entre a luz laser e os tecidos biológicos, permitindo a absorção e transformação da energia em calor (MISERENDINO, PICK, 1995). A luz laser surge a partir dos postulados teóricos de Einstein, em 1917, acerca do fenômeno físico da emissão estimulada de energia. O uso do laser em odontologia deu-se na década de 60 por Maiman, com o laser de rubi. Hoje, é utilizada nas mais diversas aplicações, tanto em tecidos moles quanto em tecidos duros (WHITE, GOODISH, ROSE, 1991; BRADLEY, 1997).

O laser de Er:YAG, com comprimento de onda de $2,94\mu\text{m}$, é um sistema com grande potencial de aplicação. Seu comprimento de onda, coincidindo com o pico de maior absorção de energia pela água, resulta em boa absorção em todos os tecidos biológicos. Este laser, desenvolvido por Hibst e Keller em 1989, possui grande aplicabilidade em odontologia, uma vez que tem a capacidade de ablação de tecidos duros com ausência de danos térmicos (MISERENDINO, PICK, 1995).

KOMORI et al, 1997, consideram que o laser de Er:YAG possui uma real aplicação em tecidos duros. Ele provoca ablação e corte tecidual em camadas,

devido a sua pequena profundidade de penetração combinada a sua alta densidade de energia gerada por pulso, possibilitando uma grande precisão quando utilizado.

Propõe-se a aplicação desta tecnologia em tecido ósseo alveolar. O controle do processo cicatricial e a obtenção da qualidade óssea reparada são de grande utilidade na reabilitação buco-maxilo-facial.

REVISÃO DA LITERATURA

1. TECIDO ÓSSEO

O osso é uma forma de tecido de sustentação especializada no qual os componentes extracelulares são mineralizados, constituído de 33% de matriz orgânica, dos quais 28% são colágeno tipo I. Os restantes 5% da matriz são proteínas não colagenosas tais como osteonectina, osteocalcina, proteína morfogenética óssea, proteoglicanas ósseas e sialoproteína óssea. A matriz é permeada por cristais de hidroxiapatita, que perfazem os 67% remanescentes. Três tipos de células ósseas são descritas, cada uma com função específica: os osteoblastos, responsáveis pela síntese e secreção do componente orgânico da matriz extracelular de novo osso, denominado osteóide; os osteócitos – osteoblastos aprisionados dentro do osso, os quais juntamente com osteoblastos inativos, mantêm a matriz óssea; e os osteoclastos, que são células multinucleadas ativamente envolvidas em processos de reabsorção associados ao remodelamento contínuo do osso. Neste processo, o osteoclasto é auxiliado por macrófagos livres e citocinas, liberadas por osteoblastos vizinhos. Uma vez que os osteócitos derivam dos osteoblastos, pode-se considerar que as células ósseas originam-se de duas linhagens, uma relacionada à formação e manutenção e a outra à remodelação. Os osteoblastos e osteócitos são derivados de células mesenquimais denominadas células osteoprogenitoras. Os osteoclastos são células multinucleadas provavelmente derivadas do sistema macrófago-monócito (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994; TEN CATE, 2001a).

O tecido ósseo existe em duas formas principais: osso entrelaçado e osso lamelar. O osso entrelaçado é uma forma imatura e é caracterizado por uma organização irregular de suas fibras colágenas. Durante o desenvolvimento ósseo, o osso entrelaçado é a primeira forma de osso produzida; a seguir é remodelado para formar osso lamelar, constituindo a maior parte do esqueleto maduro. O osso lamelar é composto de camadas sucessivas, podendo ser formado por uma massa sólida, quando é descrito como osso compacto, ou pode ser disposto de forma aberta, semelhante a um esponja, descrita como osso esponjoso ou trabecular. O osso esponjoso consiste em uma rede de placas finas e irregulares, denominadas trabéculas, separadas por espaços intercomunicantes. Os espaços intertrabeculares são preenchidos por medula óssea contendo as células-tronco primitivas das quais são derivados todos os elementos celulares do sangue. A medula óssea ativa é povoada por precursores de células maduras do sangue, com predominância de hemácias maduras. As trabéculas de osso esponjoso são revestidas por uma lâmina delicada denominada endóstio, contendo células osteogênicas que são responsáveis pelo crescimento, remodelamento contínuo e reparo ósseo (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

Segundo Junqueira e Carneiro (1995), a formação de osso durante o desenvolvimento do esqueleto ocorre por ossificação intramembranosa ou por ossificação endocondral. Na ossificação intramembranosa o mineral é depositado diretamente em um tecido mesenquimal, enquanto na ossificação endocondral um modelo de cartilagem é substituído por osso.

Os ossos longos, as vértebras, a pelve e os ossos da base do crânio são formados por ossificação endocondral. Já a maxila, a mandíbula e os ossos da calvária são formados por ossificação intramembranosa (JEE, 1988).

De acordo com Burkitt, Young, Heath (1994), a formação de osso intramembranoso ocorre dentro de "membranas" de tecido mesenquimal primitivo, condensado. As células mesenquimais diferenciam-se em osteoblastos que iniciam a síntese e secreção de osteóide em múltiplos centros de ossificação; logo segue-se a mineralização do osteóide. À medida que o osteóide é depositado, os osteoblastos são aprisionados em lacunas para tornarem-se osteócitos, e suas delicadas extensões citoplasmáticas retraem-se para formar os finos prolongamentos contidos no interior dos canalículos. As células osteoprogenitoras na superfície dos centros de ossificação sofrem divisão mitótica para produzir outros osteoblastos que depositam mais osso. A formação progressiva de osso resulta na fusão de centros de ossificação adjacentes para formar osso com aparência macroscópica trabecular. As fibras colágenas do osso em desenvolvimento são dispostas ao acaso em feixes entrelaçados, originando o termo osso entrelaçado. O osso entrelaçado não é apenas o primeiro tipo de osso a ser formado durante o desenvolvimento ósseo, mas também é o primeiro osso a ser depositado durante o processo de reparo. Ele, então, sofre remodelação progressiva através de reabsorção osteoclástica e deposição osteoblástica para formar osso trabecular ou compacto maduros. O mesênquima primitivo remanescente na rede de osso em desenvolvimento diferencia-se em medula óssea. A seguir, a reabsorção e a deposição de osso ocorrem em uma velocidade muito reduzida para acomodar modificações das tensões funcionais e para efetuar a homeostase de cálcio.

A cavidade bucal é revestida por uma túnica mucosa protetora, a mucosa bucal. O epitélio da mucosa bucal é do tipo pavimentoso estratificado que tende a ser queratinizado em áreas sujeitas a considerável atrito, como o palato. O epitélio bucal é sustentado por tecido conjuntivo denso, a lâmina própria. Em toda a mucosa bucal, numerosas pequenas glândulas salivares acessórias dos tipos seroso e mucoso são distribuídas na submucosa. Em roedores e vários outros mamíferos que tenham uma dieta mais dura, o epitélio superficial de áreas particularmente expostas é queratinizado para proteção adicional (BURKITT, YOUNG, HEATH, 1994).

A união dos dentes aos ossos maxilar e mandibular é realizada por um aparelho de suporte especializado que se compõe de osso alveolar, ligamento periodontal e cemento. Estas estruturas são protegidas pela gengiva, constituindo dessa forma uma unidade funcional. O processo alveolar é a porção da maxila ou mandíbula que sustenta as raízes dentárias. É constituído pelo osso alveolar - lâmina dura, que é compacto, com inserção de fibras de Sharpey, e pelo osso de sustentação, que é esponjoso (TEN CATE, 2001a; FIGUEIREDO, 1998).

Durante a formação dentária, na fase de campânula, o germe dentário consiste de um órgão, papila e folículo dentários, sendo o folículo constituído de uma camada fibrocelular que envolve tanto o órgão quanto a papila do dente. A partir do folículo dentário, com a diferenciação de suas raízes, é que se irão formar os tecidos de suporte do dente. Tanto as células do ligamento quanto os feixes colágenos têm origem em células derivadas também do folículo dentário. Existem ainda evidências

recentes de que o osso alveolar derive também de células que se diferenciaram do folículo dentário (TEN CATE, 2001b).

De acordo com Ten Cate (2001b), pode existir uma dependência epitélio-mesênquima que envolve os tecidos embrionários sugerindo, portanto, que uma relação similar possa existir entre tecido conjuntivo e epitélio adulto. Essa dependência poderia ser explicada pela resposta do epitélio a mudanças no seu tecido conjuntivo de suporte. Sabendo-se que o epitélio depende do conjuntivo para sua nutrição, uma vez ocorrendo traumas que envolvam proliferação tecidual, as células epiteliais mostrarão as mesmas modificações: alterações no seu metabolismo, aumento da quantidade de citoplasma, aumento do fluxo da divisão celular e aumento dos espaços intercelulares entre as células adjacentes.

2. CICATRIZAÇÃO ÓSSEA

A resposta do tecido frente a uma agressão é uma questão de graduação. Existem respostas que não envolvem, necessariamente, um processo inflamatório. Porém, uma vez que um dano é suficiente para suscitar uma resposta inflamatória, o processo de cura é iniciado, podendo o resultado do mesmo ser: a regeneração, ou seja, a completa restauração da arquitetura do tecido; ou o reparo, isto é, a restauração da continuidade do tecido através de cicatrizes e distorção da arquitetura normal (TEN CATE, 2001b).

Para Gregori (1996), um tecido lesado pode ser reparado através de dois processos distintos, denominados de regeneração e de cicatrização. Assim, reparação é a capacidade que os tecidos apresentam de poder repor as suas estruturas lesadas; regeneração é a reposição das estruturas lesadas por células com morfofuncionalidade semelhante àquela que anteriormente existiam; e cicatrização é a reposição das estruturas lesadas por um tecido conjuntivo fibroso, denominado tecido cicatricial. O autor classifica o processo de reparação de uma ferida cirúrgica em cinco fases distintas e sucessivas. Estas fases são denominadas: não-proliferativa; de ativação; proliferativa; de síntese; e de remodelação. A fase não-proliferativa inicia-se juntamente com o trauma cirúrgico, perdurando até 48 horas, no máximo. Nesta fase ocorrem os processos mais importantes da hemostasia, caracterizando a inflamação primária ou inflamação traumática local. A fase de ativação caracteriza-se pelo aumento da concentração numérica de células do tecido conjuntivo, tanto dos macrófagos quanto dos fibroblastos, nos tecidos envolvidos na ferida cirúrgica. É uma fase subclínica, inicia-se com o quadro inflamatório e dura 72 horas. A fase proliferativa é caracterizada por um significativo aumento regional na população de macrófagos e de fibroblastos. Faz-se então a estabilização definitiva do "coágulo organizado". Este evolui para o chamado tecido de granulação, estrutura bem definida que tende a unir as bordas da ferida. Esta fase dura do terceiro dia pós-operatório até o sexto dia. A fase de síntese é caracterizada pela deposição extracelular de ácido hialurônico e colágeno, substâncias essas sintetizadas pelos fibroblastos. Esta fase representa a reposição de estruturas lesadas durante o ato operatório e inicia-se no sexto dia. Perdura até que a quantidade de colágeno seja suficiente para a reposição dos tecidos lesados, tendo assim uma duração bastante variável. A fase de remodelação é de intensa

modificação em nível microscópico, não detectável clinicamente. Nesta ocorre diminuição do número de fibroblastos presentes; desaparecem os leucócitos e os macrófagos; restabelece-se a microcirculação regional pela redução do número de capilares neoformados. Sua duração está na dependência do tipo de tecido e extensão da ferida cirúrgica, entre outros.

Segundo Hupp (1996), as etapas do processo de reparo normal das feridas ósseas seguem a seqüência de inflamação, fibroplasia e remodelação.

Siqueira Jr. e Dantas (2000) consideram que o objetivo do reparo tecidual é restaurar a continuidade entre as margens da ferida, restabelecendo as características morfofuncionais do órgão ou tecido afetado. No processo de reparo, as células progenitoras indiferenciadas têm papel fundamental, pois elas determinam uma série de eventos que tenderão a conter o dano.

Toda espécie animal tem a capacidade, inerente ao ser vivo, de reposição de lesões causadas por traumas em suas estruturas orgânicas, inclusive o cirúrgico. E essa capacidade justifica a possibilidade do uso da cirurgia como modalidade terapêutica. Por isso, busca-se entender os fenômenos de reposição estrutural, e as possibilidades de controlá-lo quanto a sua velocidade, quantidade e qualidade. O estudo das alterações em nível microscópico permite afirmar que elas repetem-se durante o processo de cura de uma ferida; são variáveis em um mesmo indivíduo, numa relação direta com a intensidade do trauma; e podem ser relacionadas com aspectos clinicamente detectáveis (GREGORI, 1996).

3. CICATRIZAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR

Para Rasmusson (1998), o processo de cicatrização óssea nos maxilares assemelha-se ao da formação óssea intramembranosa. Segundo o autor, a cicatrização óssea ocorre em dois grandes estágios: inicialmente de reparo e posteriormente de remodelação. Inicialmente ocorre uma hemorragia e granulócitos, monócitos, linfócitos e células pluripotentes migram em direção à ferida óssea. Um exsudato contendo citosinas e outros mediadores inflamatórios sustenta a reação inflamatória. Macrófagos e células gigantes removem tecido necrótico e fragmentos. Vários fatores e mediadores são liberados e estimulam a proliferação e diferenciação celular, síntese de matriz colágena, formação e crescimento de vasos sanguíneos. Neste estágio inicial, o osso imaturo é rapidamente formado por osteoblastos em atividade ou diferenciados a partir de células mesenquimais. Neste osso imaturo, as fibras colágenas são orientadas de forma aleatoriamente entrelaçada. Em intervalos regulares, alguns osteoblastos param de secretar a matriz osteóide e ficam retidos nesta mesma matriz secretada por células adjacentes. Originam-se assim os osteócitos. Para o mesmo autor, a formação óssea inicia com a deposição da matriz osteóide que é posteriormente mineralizada. O intervalo entre a deposição osteóide e a mineralização no osso entrelaçado é curto, um a três dias. As propriedades biomecânicas do osso entrelaçado (imaturo) são pobres se comparadas ao osso maduro, devido ao menor grau de mineralização e organização. No segundo estágio da regeneração óssea, o osso entrelaçado será substituído por um osso ordenado e lamelar através de um processo de remodelação.

Para Ten Cate (2001b), após a extração dentária, o defeito é imediatamente preenchido por um coágulo sangüíneo – resposta hemostática. As células epiteliais que limitam o alvéolo começam a proliferar, migrando através do coágulo, que após torna-se epitelizado. No interior do coágulo, a resposta inflamatória envolve primeiramente neutrófilos e depois macrófagos. A fase proliferativa e sintetizadora difere do tecido epitelial, porque as células que invadem o coágulo são, em vez de fibroblastos, células da medula óssea adjacente com potencial osteogênico, as quais, uma vez no interior do coágulo, iniciam a formação de osso. A formação óssea começa cerca de dez dias após a extração dentária; depois de dez a 12 semanas, clinicamente o local da extração não pode mais ser identificado.

Segundo Carvalho e Okamoto (1987), denomina-se processo de reparo em feridas de extração dental, ou processo de reparo alveolar, ao conjunto de reações teciduais desencadeadas no interior do alvéolo, em seguida à exodontia. O objetivo do organismo é preencher o alvéolo dental por tecido ósseo. Basicamente, este fenômeno tem a mesma seqüência das respostas reparacionais do organismo, apresentando, no entanto, algumas particularidades locais. Morfologicamente, podem ser consideradas quatro fases fundamentais na evolução do processo de reparo alveolar: proliferação celular, desenvolvimento do tecido conjuntivo, maturação do tecido conjuntivo e diferenciação óssea ou mineralização.

Na fase de proliferação celular, o processo de reparo inicia-se imediatamente após a extração dentária. O coágulo sangüíneo é gradualmente invadido por fibroblastos originados por mitose dos fibroblastos pré-existentes e por

diferenciação de células adventícias, ambos presentes nos remanescentes do ligamento periodontal que permanece aderido às paredes alveolares. Ao mesmo tempo, ocorre a proliferação de células endoteliais, originando novos capilares (CARVALHO, OKAMOTO, 1987).

Junqueira e Carneiro (1995) explicam que o estágio inflamatório inicia-se no momento em que a lesão tecidual ocorre e dura, geralmente, de três a cinco dias. É dividido em duas fases, a vascular e a celular. Há uma vasoconstrição inicial; o coágulo é formado, e minutos após a histamina e as prostaglandinas E_1 e E_2 causam vasodilatação, possibilitando a passagem do plasma e leucócitos, através de células endoteliais. A fibrina proveniente do transudato plasmático causa obstrução linfática, acumulando-se na área da lesão, diluindo os contaminantes e provocando edema.

A fase inflamatória para Hupp (1996) é referida como uma fase de intervalo, pois é um período durante o qual não ocorre nenhum ganho na consistência da ferida, sem deposição de colágeno. O principal material contido na ferida durante a fase inflamatória é a fibrina, que possui pouca resistência.

Na fase do desenvolvimento do tecido conjuntivo, o tecido neoformado exibe uma grande quantidade de células, notadamente fibroblastos, e de capilares neoformados. Ao mesmo tempo, os fibroblastos sintetizam fibras e substância fundamental amorfa. Já na fase de maturação do tecido conjuntivo, à medida que aumenta a quantidade de fibras colágenas e diminui o número de células e de vasos

sangüíneos, caracteriza-se a maturação do tecido conjuntivo (CARVALHO, OKAMOTO, 1987).

Hupp (1996) descreve que, na fase de fibroplasia, o entrelaçamento dos fios de fibrina possibilita a precipitação de substância fundamental e tropocolágeno pelos fibroblastos. Os fibroblastos induzem as células mesenquimais indiferenciadas presentes na lesão ou na corrente sangüínea. Estas células iniciam a produção de tropocolágeno entre o terceiro e o quarto dia após a lesão tecidual. Além disso, os fibroblastos secretam fibronectina que ajuda a estabilizar a fibrina. Estes auxiliam, ainda, no reconhecimento de materiais estranhos a serem removidos pelo sistema imune, guiando macrófagos ao longo dos fios de fibrina.

Para Siqueira Jr. e Dantas (2000), a rede de fibrina acumulada extravascularmente forma um gel higroscópico. Há, então, um estímulo à migração e a proliferação de fibroblastos e células endoteliais para dentro da ferida, promovendo o repovoamento celular da área lesada.

Na fase de diferenciação óssea ou de mineralização, nas proximidades das paredes alveolares e a partir do fundo da cavidade alveolar, os osteoblastos, originados de células osteoprogenitoras, depositam matriz orgânica, formando um tecido osteóide. A seguir, com a calcificação deste último, são constituídas as trabéculas ósseas. Assim, para o autor o processo de formação do tecido de granulação e do osteóide é concêntrico, principalmente às expensas dos restos do ligamento periodontal. No homem, a neoformação óssea inicia-se por volta do sétimo dia pós-operatório; por volta do quadragésimo dia, cerca de 2/3 do alvéolo já

estão preenchidos por trabéculas ósseas. A esse tempo, as trabéculas ósseas são espessas ao nível do terço apical do alvéolo, estando em continuidade com a cortical alveolar. No alvéolo de ratos, estas fases desenvolvem-se em torno do sétimo dia após a exodontia (CARVALHO, OKAMOTO, 1987).

No homem, esse processo de reparo pode ser acompanhado radiograficamente. Imediatamente após a exodontia, evidenciam-se os limites do alvéolo por um contorno radiopaco contínuo que caracteriza a presença da lâmina dura. Em média, aos 63 dias após a extração, notam-se áreas radiopacas nas proximidades da lâmina dura e em formação centrípeta. Paralelamente, por volta do quarto dia, já se notam evidências clínicas de epitelização. A partir da gengiva marginal, o epitélio prolifera sobre o coágulo organizado e/ou tecido conjuntivo jovem, procurando ocluir o alvéolo. A fusão do epitélio, no homem, inicia-se aos dez dias (TEN CATE, 2001b) e completa-se entre o vigéssimo quarto e o trigéssimo quinto dia pós-operatórios (CARVALHO, OKAMOTO, 1987).

Considera-se completa a reparação do alvéolo quando este encontra-se totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado e a crista alveolar remodelada. Isto ocorre por volta de 21 dias pós-exodônticos no rato, 48 dias no cão e 64 dias no homem. Na etapa final do processo de reparo alveolar há um equilíbrio dinâmico osteoclástico-osteoblástico e o novo osso encontra-se em condições de suportar novos estímulos (CARVALHO, OKAMOTO, 1987).

Segundo Hupp (1996), na fase de remodelação, o osso produzido desordenadamente é reabsorvido por osteoclastos. Assim, os osteoblastos

depositam novo osso, orientado para o baixo grau de tensão que normalmente atua sobre os ossos neste momento.

Marzola (1973), ao estudar o processo de reparo alveolar pós-extração em cães observou as seguintes fases: formação do coágulo, ao primeiro dia; proliferação fibroblástica e epitelial, aos cinco dias; aparecimento de fibras colágenas e da atividade osteoblástica, aos sete dias; neo-formação óssea de metade a dois terços do alvéolo e início de formação papilar no epitélio, aos 11 dias; preenchimento quase total do alvéolo por osso considerado imaturo e com o epitélio recobrando a ferida, aos 16 dias; reconstituição epitelial e com trabeculado ósseo já perfeitamente definido, aos 28; e cura alveolar completa, aos 40 dias.

O processo de reparo ósseo alveolar tem sido estudado em diversos modelos animais, tais como: ratos; cães; macacos; e no homem. Estudos filogenéticos indicam que quanto mais evoluída biologicamente a espécie animal, maior lentidão é notada no processo de reparo. Esta assertiva justifica as diferenças no reparo entre as diferentes espécies (MARZOLA, 1973).

Okamoto e Russo (1973) realizaram estudo objetivando avaliar a reatividade histoquímica de algumas estruturas intra e extracelulares do tecido conjuntivo durante as diferentes fases do processo de reparo em feridas de extração dental. O processo de reparo foi estudado no incisivo superior direito de ratos, durante 21 dias, em intervalos de três dias. Os resultados demonstraram que o processo de reparo em feridas de extração dental se processa em fases bem distintas: período de formação do coágulo e proliferação das células do tecido

conjuntivo, onde as figuras mitóticas são mais numerosas e a reatividade citoplasmática celular é extremamente pequena; período de formação do tecido conjuntivo de reparação, onde os citoplasmas celulares apresentam granulações contendo pelo menos proteínas com elevada concentração de lisina-hidroxilina, glicoproteínas, ácido siálico, mucopolissacarídes ácidos, lípidos e ácido ribonucleico, e substância fundamental reativa ao azul de toluidina; período de ossificação, onde no início desta fase a reatividade da substância fundamental, das trabéculas ósseas neoformadas e dos citoplasmas de fibroblastos e osteoblastos é elevada e semelhante à observada no estágio anterior. Conforme a mineralização se processa, todas as estruturas intra e extracelulares tornam-se menos reativas, sugerindo uma reorganização físico-química dos colóides texturais durante a mineralização.

Alves e Okamoto (1989) realizaram estudo para analisar a influência pré e pós-exodôntica do estresse por contenção motora sobre o processo de reparo alveolar em ratos. Três grupos de 24 animais foram utilizados, sendo seus incisivos superiores direitos extraídos e o estresse aplicado em dois grupos (estresse pré e pós-operatório). Os animais foram sacrificados em períodos de três, seis, nove, 15, 21 e 24 dias pós-operatórios. Através de estudo histológico, concluíram que o estresse altera a cronologia do processo de reparo alveolar, retardando-o. Essa alteração se mostra agravada quando o estresse é aplicado no pós-operatório.

Okamoto, Yamamoto, Sonoda (1994) avaliaram, através de estudo histológico, os efeitos da osteotomia sobre o reparo ósseo com dois tipos de broca com e sem resfriamento. Foram utilizados 12 cães, onde foram preparadas, em cada animal, quatro cavidades ósseas (duas no lado direito e duas no lado esquerdo) nos

espaços inter-radiculares do terceiro pré-molar e do primeiro molar. Avaliados aos cinco, 20 e 60 dias pós-operatórios, os resultados histológicos obtidos mostraram que o aquecimento excessivo ocasionado durante a osteotomia com alta rotação provoca profundas alterações no tecido ósseo.

Pereira, Carvalho, Okamoto (1996) avaliaram os efeitos da osteotomia em mandíbulas de cães, realizadas por brocas acionadas por micromotor e por alta rotação, procedendo um estudo histológico comparativo aos dez e 40 dias pós-operatórios. Concluíram que a osteotomia realizada com emprego de micromotor com velocidade máxima e refrigeração provocou menores alterações na cronologia da reparação conjuntiva e óssea.

4. RADIAÇÃO LASER

A luz é uma forma de radiação, ou seja, energia propagada no tempo e o espaço na forma de ondas eletromagnéticas. Estas ondas caracterizam-se por possuírem um comprimento, definido como a distância entre as cristas da onda, e uma frequência, definida pelo número de repetições ao longo do período de tempo. Comprimento e frequência são, assim, determinantes das propriedades físicas de uma onda. Quanto menor o comprimento de uma onda, maior é a sua frequência e, por conseqüência, sua energia. (ROSENSHEIN, 1997).

A luz laser, acrônimo de “**L**ight **A**mplification by the **S**timulated **E**mission of **R**adiation”, pode ser traduzida por “luz amplificada pela emissão

estimulada de radiação”. O nome LASER refere-se, portanto, a um fenômeno físico de emissão e amplificação de ondas de energia luminosa, com características específicas. As suas propriedades de intensidade, monocromaticidade, colimação e coerência possibilitam a interação entre a luz laser e os tecidos biológicos, permitindo a absorção e transformação da energia em calor (MISERENDINO, PICK, 1995).

As características fundamentais do laser, derivadas dos fenômenos físicos de sua produção, são: a monocromaticidade; a coerência; o paralelismo; e o alto brilho. A monocromaticidade é alcançada porque todos os fótons têm o mesmo comprimento de onda; a coerência, visto que todas as ondas encontram-se na mesma fase ao longo do tempo; o paralelismo, pela colimação das ondas ao longo do espaço; e o alto brilho, já que toda a energia concentra-se num único feixe. Estas características diferenciam o laser da luz comum, cujas ondas possuem comprimentos diversos, orientação dispersa no espaço e desordenada no tempo, dispersando a energia em todas as direções (ROSENSHEIN, 1997).

Existem dois modos básicos de emissão de laser. No modo contínuo, a radiação é emitida continuamente durante o acionamento do aparelho, em potência constante. Os efeitos térmicos causados pela elevação da temperatura na área de aplicação são marcantes, pois não há tempo para o resfriamento do tecido. Este modo de emissão é utilizado principalmente para vaporização, corte e coagulação de tecidos moles. No modo pulsátil, o laser é emitido em pulsos cuja duração e repetição podem ser variáveis, intercalados por um período sem emissão. Isto diminui os efeitos térmicos, possibilitando especificidade e precisão na interação

entre laser e tecido alvo. Desta forma, pode-se obter a ablação de tecidos duros com danos térmicos mínimos, e a vaporização superficial de tecidos moles. Os efeitos são modulados não só pela energia por pulso aplicada, mas também pelo número, duração e repetição dos mesmos (MISERENDINO, PICK, 1995).

Os lasers podem ainda ser entregues em contato ou não com o tecido alvo. Na entrega em contato dos lasers de alta potência, além do efeito específico no tecido, pode haver interação entre o instrumento de entrega do laser e este último. Isto é especialmente válido para os lasers de alta potência entregues em contato através de fibra óptica. As altas temperaturas atingidas na interface de contato entre a fibra e o tecido causam derretimento da primeira. Múltiplos tipos de pontas para entrega de lasers estão disponíveis para utilização, cada uma conduzindo a efeitos específicos e distintos, possibilitando aplicações diversas (MISERENDINO, PICK, 1995; BRADLEY, 1997).

Os lasers são classificados de acordo com seu comprimento de onda e densidade de potência. O comprimento de onda determina as propriedades do laser, enquanto a densidade de potência modula seus efeitos. O comprimento de onda é determinado especificamente pelo meio contido no interior da câmara de ressonância óptica. Este meio pode ser sólido (rubí, cristais de Nd:YAG, Er:YAG, Ho:YAG), líquido (lasers de corante, como o rodamina), ou gasoso (CO₂, lasers Excimer – ArF, XeCl) (ROSENSHEIN, 1997).

Ao atingir um tecido, a radiação laser pode ser absorvida, refletida, transmitida ou espalhada através do mesmo. Os efeitos teciduais dependem da

absorção do feixe. Os demais fenômenos determinam efeitos que o feixe laser poderia produzir em outros alvos. O risco do operador ser atingido, por exemplo, é determinado pela reflexão, entre outros. Os efeitos do laser em profundidade dependem de sua transmissão e os efeitos adjacentes ao tecido alvo do espalhamento. A quantidade de absorção é determinada pela composição físico-química do tecido e pelo comprimento de onda, potência e modo de entrega do laser. O tempo de interação entre a radiação e o alvo modula todos estes parâmetros (MISERENDINO, PICK, 1995).

Os lasers são ainda divididos em dois grupos principais: os de baixa e os de alta intensidade de energia. A célula tem um limiar de sobrevivência, segundo o tecido onde ela está localizada e segundo seu estado fisiológico. Quando trabalhamos respeitando esse limiar de determinada célula, podemos oferecer-lhe uma baixa intensidade de energia. Ao ser utilizada, irá estimular sua membrana, ou suas mitocôndrias. Dessa forma estaremos induzindo essa célula à biomodulação, ou seja, ela trabalhará buscando um estado de normalização da região afetada. Suas principais indicações são em situações onde busca-se melhor qualidade e maior rapidez do processo reparacional, como no pós-operatório, na reparação de tecido mole, ósseo e nervoso; em quadros de edema instalado, onde busca-se a mediação do processo inflamatório; ou nos quadros de dor, agudas e crônicas. Quando, ao contrário, é oferecida uma densidade tão alta de energia a ponto dela transformar-se em dano térmico e ultrapassar o limiar de sobrevivência dessa célula, estaremos utilizando o laser com indicações para termo-ablação, corte e coagulação dos tecidos (KARU, 1988; RIBEIRO, 1991; MISERENDINO, PICK, 1995, ALMEIDA-LOPES, 1999).

Quando o laser de alta potência começou a ser utilizado nas áreas da saúde, observou-se que os pacientes submetidos a esse tipo de procedimento relatavam menor desconforto pós-operatório, menor quadro de edema pós-cirúrgico e melhor cicatrização tecidual quando comparado ao método cirúrgico convencional. Levantou-se então a suspeita de que o laser poderia ter algum outro efeito adicional até então desconhecido. Oshiro e Calderhead, em 1991, propuseram chamar esse efeito de "efeito X do laser". Esses autores propuseram que a explicação para este seria a distribuição espacial de energia gaussiana que a maioria dos lasers apresenta. Na interface entre a desnaturação protéica e a ativação foto-térmica, a temperatura não ultrapassa 40 °C. Na região correspondente à ativação foto-térmica haverá um aumento de temperatura, porém não suficiente para causar mudança estrutural macroscópica no tecido, devendo somente ativá-lo. Na zona mais afastada, temos uma região denominada não foto-térmica, mas que ainda assim pode sofrer ativação. Essas duas últimas zonas não mostram alteração macroscópica na estrutura tecidual, embora os dados da literatura comprovem efeitos sobre o mesmo. Esses efeitos são conhecidos atualmente como laserterapia ou terapia com laser de baixa intensidade de energia, podendo ocorrer simultaneamente às reações foto-destrutivas do laser de alta intensidade de energia. Oshiro e Calderhead (1991) relataram esse efeito como "laserterapia simultânea". Almeida-Lopes (1999) utiliza a terminologia de "efeito residual do laser cirúrgico".

Os principais lasers de interesse à odontologia hoje são os lasers de Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ e Argônio. O laser de rubi foi abandonado devido a seus efeitos térmicos indesejáveis. Os lasers de Ho:YAG, CO₂, ArF, XeCl e os de baixa densidade de potência – HeNe e As-Ga-Al – também tiveram grande avanço em

pesquisa e aplicações clínicas nos últimos anos (CUNHA FILHO, 1997; BARALDI, 1999).

4. LASER DE Er:YAG

O laser de Er:YAG, com comprimento de onda de 2,94 μ m, localiza-se na faixa de radiação infravermelho do espectro eletromagnético. O seu comprimento de onda coincide com o pico de maior absorção de energia pela água, resultando em boa absorção em todos os tecidos biológicos. Este laser, preconizado por Hibst e Keller, em 1989, é de grande aplicação na odontologia, devido a sua capacidade de ablação de tecidos duros e ausência de danos térmicos (MISERENDINO, PICK, 1995). Ele atua produzindo uma ablação termo-mecânica, com eliminação tecidual sem aquecimento do tecido subjacente. A energia laser aplicada em brevíssimas pulsações (msg) é absorvida pela água do tecido superficial, produzindo um aquecimento da mesma até alcançar a temperatura de vaporização. Esta vaporização produz uma expansão da água no tecido, com aumento da pressão interna, explosão e eliminação da matéria sem aquecimento do tecido subjacente remanescente. O volume de tecido eliminado vai depender da porcentagem de água do mesmo e de alcançar a energia suficiente para vaporizar a água contida. Se trabalharmos com energia insuficiente para vaporizar a água, não produziremos ablação, mas somente aquecimento. Esse fenômeno é denominado de sub-ablação (SEPULCRI, LORENZO, 1990).

As características do laser de Er:YAG permitem a sua utilização sobre diversos tecidos em odontologia: osso, esmalte, dentina, polpa, mucosa, tecido nervoso (EDUARDO, GOUW-SOARES, HAYPEK, 2002; EDUARDO, TANJI, GOUW-SOARES, 2002; MYAKI, TANJI, 2002). De acordo com Li, Code e Van de Merwe (1992) o seu uso em esmalte e dentina desencadeia uma reação sobre a polpa com o estímulo de odontoblastos e formação de dentina terciária ou reacional.

Komori et al, 1997, consideram que o laser de Er:YAG possui real aplicabilidade em tecidos duros. Ao provocar ablação e corte tecidual em camadas, devido a sua pequena profundidade de penetração combinada a sua alta densidade de energia gerada por pulso, cria grande precisão quando utilizado. Estudos realizados por Keller e Hibst em 1992 indicaram que o laser de Er:YAG é um instrumento eficaz para osteotomia quando comparado com osteotomia à broca, tendo como vantagens a precisão de corte e a cicatrização rápida.

Keller e Hibst (1992) avaliaram os efeitos mecânicos da ablação óssea a laser e Er:YAG, *in vitro*. Verificaram que após cada processo de ablação, a energia que sobra além do limiar de ablação é armazenada no tecido ósseo sob a forma de calor. Observaram ainda que este calor pode ser cumulativo se o pulso seguinte ocorrer antes do tecido alvo ter alcançado a sua temperatura de repouso. Como conclusão sugerem que, sob o ponto de vista da alteração de temperatura e da praticidade, aplicar o laser com pulsos menores e com mais energia é mais benéfico do que aplicá-lo com vários pulsos fracos.

Nelson et al (1989) realizaram *in vivo* estudo comparativo de osteotomias com laser de Er:YAG e serra. Os autores verificaram atraso no processo de reparo no grupo laser, provavelmente devido ao dano térmico ou a um efeito fotomecânico provocado por uma onda de choque por expansão acústica. Entretanto, concluíram que o laser de Er:YAG pode efetuar remoção óssea rápida e precisa, podendo evoluir para diversas aplicações cirúrgicas em humanos.

El Montaser et al (1997) examinaram o padrão de reparo ósseo em calvária de ratos após a realização de defeitos ósseos com laser de Er:YAG e regeneração tecidual guiada. Concluíram que o dano térmico impossibilitou o reparo ósseo por regeneração tecidual guiada, devido à formação de compósitos minerais carbonizados durante a ablação tecidual por laser de Er:YAG.

Estudos histológicos têm demonstrado um atraso no reparo cicatricial. Martins (2001) avaliou histologicamente o reparo ósseo em corpo mandibular de ratos após osteotomias à fresa cirúrgica e a laser de Er:YAG, sem contato, utilizando como parâmetros 300, 350 e 400 mJ/6Hz. Observou que o processo cicatricial foi mais lento nos primeiros 45 dias pós-operatórios, quando usado o laser de Er:YAG comparativamente a osteotomias à broca. Todavia, a qualidade óssea cicatricial final coincidiu entre o corte com laser e à broca.

É possível fortalecer o efeito de aquecimento do laser de Er:YAG através do uso de fibras óticas. Com uma taxa de repetição de pulsos de 25 Hz, alcançam-se zonas de coagulação de até 250 μ m. A seleção dos aplicadores e dos

parâmetros do laser permite provocar efeitos diferentes, tais como ostectomia, incisões delicadas e cortes hemostáticos profundos (HIBST, 1989).

Sasaki et al (2002) estudaram o uso do laser de Er:YAG em osso parietal de ratos, comparando-os com uso de laser de CO₂ e instrumentos rotatórios. Observaram no laser de Er:YAG uma área de aproximadamente 30 µm de espessura de alteração tecidual. Os autores concluem, com este trabalho, que a principal alteração nas superfícies ósseas irradiadas com laser de Er:YAG consistiu de microfraturas, desorganização tecidual, pouca recristalização da apatita original e redução da matriz orgânica associada.

PROPOSIÇÃO

É propósito deste trabalho avaliar, através de um modelo animal:

- o efeito do uso do laser de Er:YAG à energia de 500 mJ/pulso e frequência de 2Hz, conduzido por fibra ótica, no modo de entrega em contato, através da análise das fases histológicas após extração cirúrgica do primeiro molar superior de ratos - qualidade e velocidade do reparo ósseo; e
- a indicação deste modelo de cirurgia experimental no estudo do reparo ósseo alveolar.

MATERIAIS E MÉTODO

1. MODELO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental "*in vivo*", com a amostragem selecionada de forma aleatória, randomizada, com um grupo teste e outro controle.

2. AMOSTRA

Constou de 20 ratos, da espécie *Rattus norvegicus albinus*, cepa *Wistar*, machos, selecionados de forma randomizada. No momento da cirurgia os animais contavam com 21 dias de idade e peso médio de 50g. Os mesmos foram adquiridos e tratados durante o período experimental no Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram sorteados cinco ratos para cada grupo experimental, conferindo, desta forma, a aleatoriedade de cada uma das amostras. Cada grupo foi submetido à intervenção cirúrgica em um mesmo dia.

As cirurgias foram realizadas no Laboratório de Cirurgia Experimental da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-faciais da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante todo o período do experimento, os animais foram mantidos nas dependências do Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em gaiolas de polietileno com tampas

de aço inoxidável e regularmente higienizadas, com temperatura ambiente de 23°C (mais ou menos um grau); alimentados com ração comercial¹ e água *ad libitum*.

Os ratos foram subdivididos em quatro grupos, correspondendo aos tempos experimentais de sete, 14, 21 e 45 dias. Todos os animais foram grupo teste no lado direito e controle do lado esquerdo da maxila.

Um aparelho de laser Er:YAG KaVo KEY², com comprimento de onda de 2,94 µm, peça de mão E 2055³ e fibra nº 50/28⁴, no modo de entrega em contato, foi utilizado para a irradiação a laser (Figuras 1 e 2).

3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Durante os procedimentos cirúrgicos foram mantidos os critérios de assepsia, estando os profissionais devidamente paramentados com avental cirúrgico, luvas cirúrgicas estéreis, propés, máscara, gorro, óculos de proteção cirúrgico e o específico para o laser. O instrumental cirúrgico utilizado foi individualizado em conjuntos e esterilizado em autoclave⁵ a 121°C com 1Atm de pressão durante 15 min. A peça de mão e a fibra foram esterelizadas em peróxido de hidrogênio⁶, de acordo com as instruções do fabricante.

¹ Nuzilab, Nuzital, Brasil.

² KaVo Dental GmbH Vertriebsgesellschaft, Warthausen, Germany.

³ KaVo Dental GmbH Vertriebsgesellschaft, Warthausen, Germany.

⁴ KaVo Dental GmbH Vertriebsgesellschaft, Warthausen, Germany.

⁵ AMSCO, Autoclave a vácuo. AMSCO Latin America Inc.; Division of America Sterilizer Co., USA.

⁶ STERRAD 1005, Advanced Division Sterilization Products, Johnson & Johnson, USA.

Para a anestesia do animal foi utilizado tiopental sódico⁷ na dosagem de 25 mg/Kg de peso, administrado por via subcutânea. Para analgesia foi administrado, nas primeiras 24 h pós-cirúrgicas, 500mg de paracetamol⁸ dissolvidos em 1 l de água oferecida.

Os animais, devidamente anestesiados, foram colocados individualmente em posição de decúbito-dorsal, sobre um colchão térmico, fixados em uma mesa plana de trabalho de 30X30 cm. A boca do animal foi mantida aberta de forma auto-estática, apoiando-se os incisivos superiores e os inferiores em elásticos, permitindo desta forma um campo operatório adequado.

Como anestesia infiltrativa local foi utilizada a solução de mepivacaína a 2% e adrenalina em concentração de 1:100.000⁹, não excedendo 0,9 ml/kg.

Foram efetuadas as extrações dentárias na arcada superior (Figura 3, 11). Iniciou-se pela extração dentária do primeiro molar superior direito – teste. O instrumental utilizado (Figura 9) permitiu, com delicada manipulação, manter a integridade radicular e alveolar (Figura 6, 15). A fratura radicular ou óssea-alveolar inviabilizaria a investigação. A extração cirúrgica foi realizada segundo a inclinação do eixo de inserção longitudinal da raiz mesial do primeiro molar superior no alvéolo, a qual é acentuadamente inclinada para mesial no sentido ântero-posterior (Figura 4, 5, 6). Iniciou-se pela sindesmotomia (Figura 12), seguida pela luxação extrusiva total do referido dente (Figura 13, 14).

⁷ Tiopental sódico. Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Itapira, SP, Brasil.

⁸ Cilag Farmacêutica, São Paulo, SP, Brasil.

⁹ DFL Indústria e Comércio Ltda., Barueri, RS, Brasil.

O instrumental utilizado para o procedimento cirúrgico constou de: afastadores tipo Senn Miller¹⁰, sonda exploradora¹¹ e extrator, este especialmente desenhado para tal procedimento¹² (Figura 9).

Nos grupos teste, o alvéolo correspondente à raiz mesial do PMS direito foi irradiado com três pulsos de laser de Er:YAG, à energia de 500 mJ/pulso e frequência de 2 Hz, através de fibra óptica, no modo de entrega em contato (Figura 5, 16).

Os parâmetros estabelecidos basearam-se em estudo piloto, onde foram realizadas irradiações com três, 12 e 30 pulsos, à energia de 500mJ/pulso e frequência de 2Hz, através da fibra óptica, no modo em contato. À análise histológica, verificou-se que nos animais submetidos a 12 e 30 pulsos, permaneceram zonas de ablação e necrose teciduais aos 45 dias pós-operatórios (Figura 18, 19, 20).

Imediatamente após, foi realizada no lado controle a sindesmotomia seguida da luxação extrusiva total do PMS esquerdo. Seguiu-se o mesmo procedimento de extração, mas sem a aplicação do laser de Er:YAG (Figura 17). Durante os procedimentos de extração cirúrgica foi mantida aspiração constante.

¹⁰ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹¹ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹² De Puricelli, Porto Alegre, RS, Brasil.

Os animais foram agasalhados e termicamente protegidos durante a recuperação anestésica. Após as primeiras 24 h pós-operatórias, os mesmos foram devolvidos ao biotério onde permaneceram até o êxito letal. Cada grupo foi alojado em uma mesma gaiola. Estas foram submetidas diariamente à limpeza e troca de serragem. Igualmente, foi realizada a observação e o acompanhamento dos animais durante todo o período experimental.

Para a coleta das amostras, os animais correspondentes a cada grupo foram mortos seguindo o cronograma de sete, 14, 21 e 45 dias pós-operatórios. O êxito letal foi obtido através do uso de câmara de CO₂¹³. Logo após constatada a morte, foi realizada a necropsia com a remoção da maxila do animal. Realizou-se a ostectomia maxilar bilateral, isolando ambas as regiões dentárias, mantendo-se íntegro o osso alveolar e o tecido gengival (Figura 7). Os instrumentais utilizados foram: cabo de bisturi nº 3¹⁴, lâmina de aço descartável nº 15¹⁵, pinça de Adson¹⁶, tesoura reta¹⁷ e tesoura Metzemaum¹⁸.

As peças operatórias foram colocadas imediatamente em recipientes plásticos, fixadas e conservadas em formalina a 10%¹⁹, com a finalidade de evitar as alterações *post mortem* dos tecidos. Os recipientes foram individualizados e numerados, caracterizando o lado teste e o lado controle.

¹³ Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

¹⁴ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹⁵ Lamedia Comercial e Serviços Ltda., Barueri, RS, Brasil.

¹⁶ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹⁷ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹⁸ Edlo Stainless. Indústria Gaúcha de Instrumentos Cirúrgicos Ltda., Canoas, RS, Brasil.

¹⁹ Reagen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Cada maxila foi dividida ao meio e radiografada. Com películas periapicais e um aparelho de raio X intrabucal²⁰, operando em regime elétrico de 50kV e 10mA, com tempo de exposição de 0,8s e padronização da distância fonte-objeto de 40 cm, registraram-se as imagens. Os filmes radiográficos²¹ foram colocadas de forma centralizada numa mesa, e as hemimaxilas foram então posicionadas, com seu eixo sagital paralelo ao longo eixo da película. Procederam-se duas incidências periapicais para cada animal, sendo feitas dez incidências para cada período experimental, totalizando 40 radiografias. Estas foram processadas em uma máquina automática²². As tomadas radiográficas objetivaram avaliar a efetiva extração do PMS, sem a presença de restos radiculares residuais (Figura 10), além de auxiliar na identificação das regiões de corte.

Após a fixação por 48 h, o material em estudo foi descalcificado em solução de ácido nítrico a 5%²³ (10 ml) durante aproximadamente 3 dias. Foram realizados avaliação da textura e exame macroscópico para comprovação da descalcificação da peça. Com uma lâmina de bisturi nº 20²⁴, os espécimes foram repartidos em dimensões apropriadas para o exame histológico. Em direção posterior foram incluídos o segundo e terceiros molares, e anteriormente manteve-se uma margem de segurança de 1 cm em torno da área de interesse.

As peças receberam processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Seguiram-se os cortes em micrótomo²⁵, no sentido transversal do

²⁰ Spectro II, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

²¹ Kodak Ultra-speed, Eastman Kodak, Nova Iorque, USA.

²² Dent-X 9000, Nova Iorque, USA.

²³ Nuclear, Casa do Químico, Porto Alegre, RS, Brasil.

²⁴ Lamedia Comercial e Serviços Ltda., Barueri, RS, Brasil.

²⁵ Leica, Germany.

processo alveolar, com espessura de 4 μm , até atingir a região de interesse (Figura 8). Estes foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE), e montados em bálsamo de Canadá²⁶. A leitura das lâminas realizou-se utilizando-se lupa estereomicroscópica²⁷ e um microscópio óptico²⁸ com objetivas de 40 vezes, 100 vezes, 200 vezes e 400 vezes. Foi utilizada microcâmara e monitor de TV, acoplados ao microscópio ótico, para facilitar a observação e discussão das lâminas.

Determinaram-se, de forma descritiva, as alterações teciduais ocorridas. Foram avaliadas a qualidade e a velocidade do reparo ósseo alveolar.

4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto seguiu as normas de utilização de animais em projetos de pesquisa, conforme Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA. Foi ainda submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Anexo).

²⁶ Permout®. Fischer Scientific, Fairlann, New Jersey, USA.

²⁷ Olympus SZH10, USA.

²⁸ Model Lambda LQT 2, ATTO Instruments Co., Hong Kong, China.



Figura 1: Aparelho laser de Er:YAG KaVo KEY.

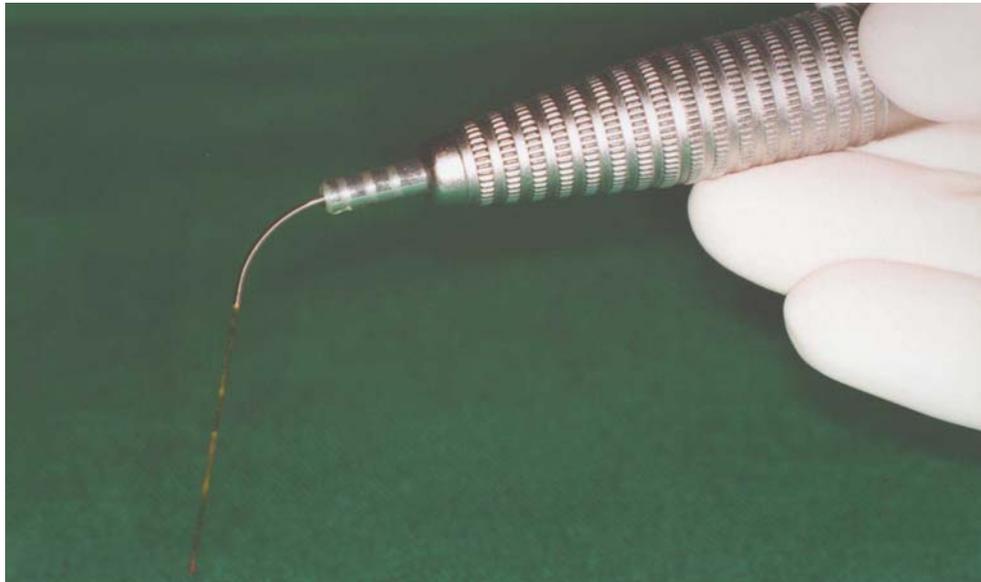


Figura 2: Peça de mão E 2055 e fibra nº 50/28, modo de entrega em contato.

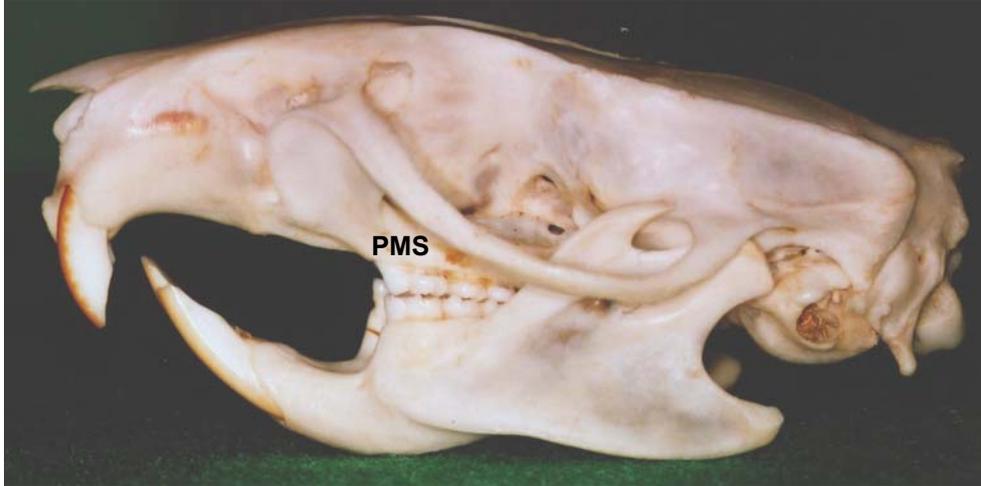


Figura 3: Vista lateral do crânio de um rato adulto. Observar a área de trabalho correspondente ao primeiro molar superior (PMS).

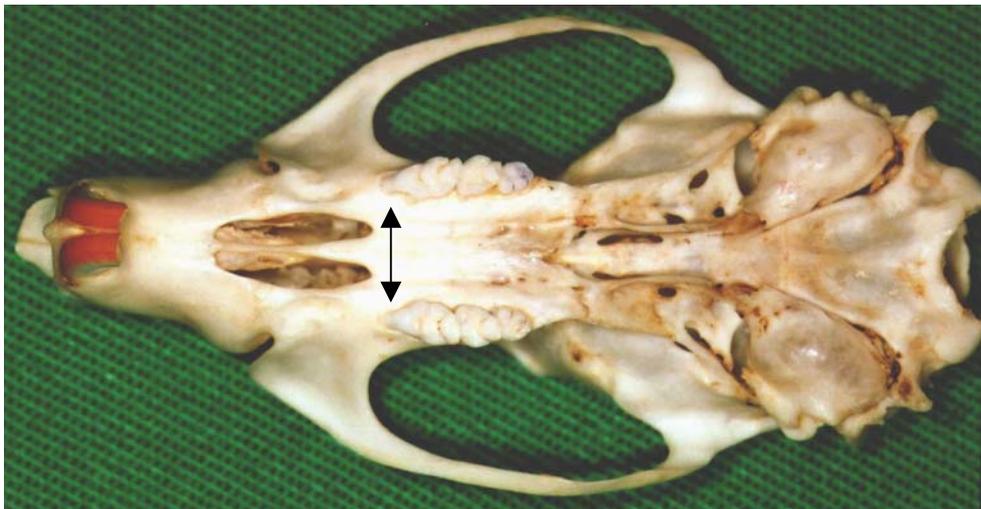


Figura 4: Vista oclusal da maxila de um rato adulto. Observar a área dos PMS e a divergência da raiz mesial dos mesmos (→).



Figura 5: Fibra nº 50/28 e vista lateral do PMS. Observar a compatibilidade entre o diâmetro da fibra e a raiz mesial do PMS.

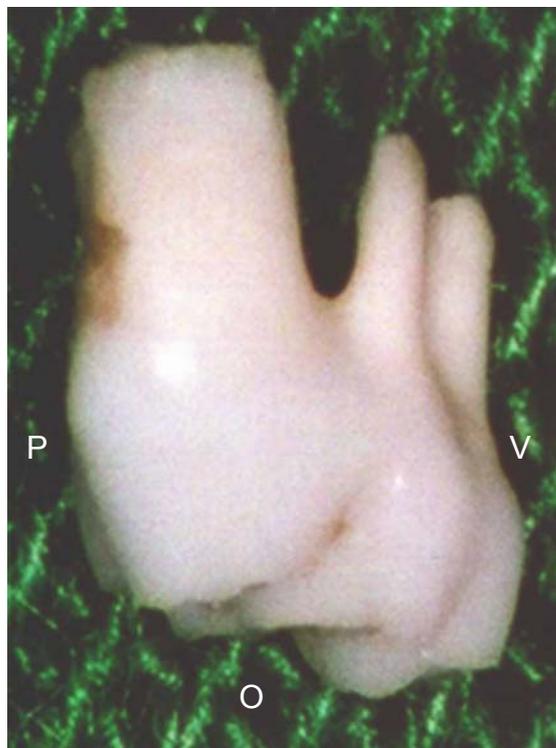


Figura 6: Vista sagital do PMS. Observar a divergência da raiz mesial e sua relação volumétrica em relação às raízes distais.

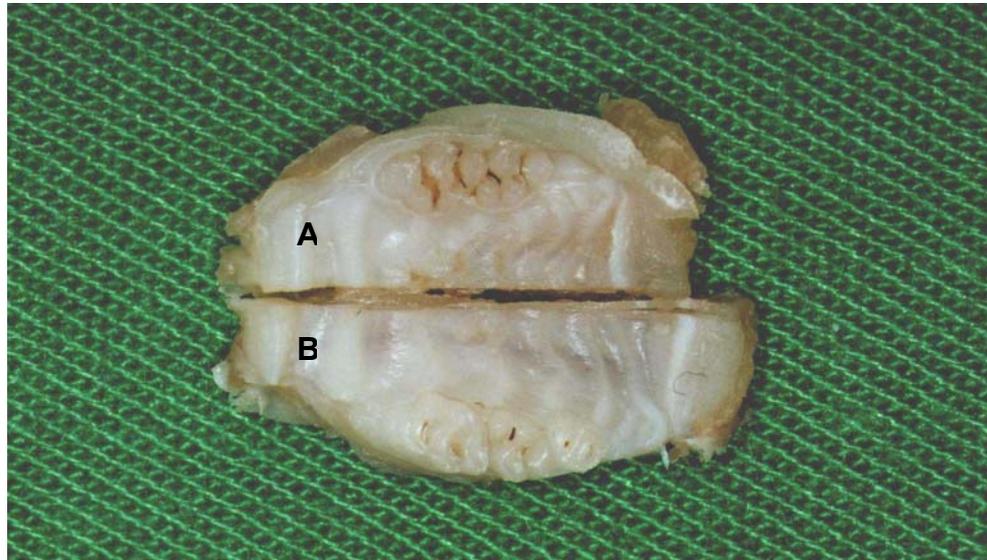


Figura 7: Hemimaxila de rato aos 21 dias (A). Hemimaxila de rato aos 60 dias (B). Observar em A ausência clínica do terceiro molar. Não se visualiza marcada diferença dimensional na região anterior da maxila entre A e B.



Figura 8: Hemimaxila de rato aos 45 dias pós-exodontia do PMS. Plano para cortes histológicos - - - , envolvendo distalmente o segundo e terceiro molares superiores, no sentido transversal do processo alveolar.

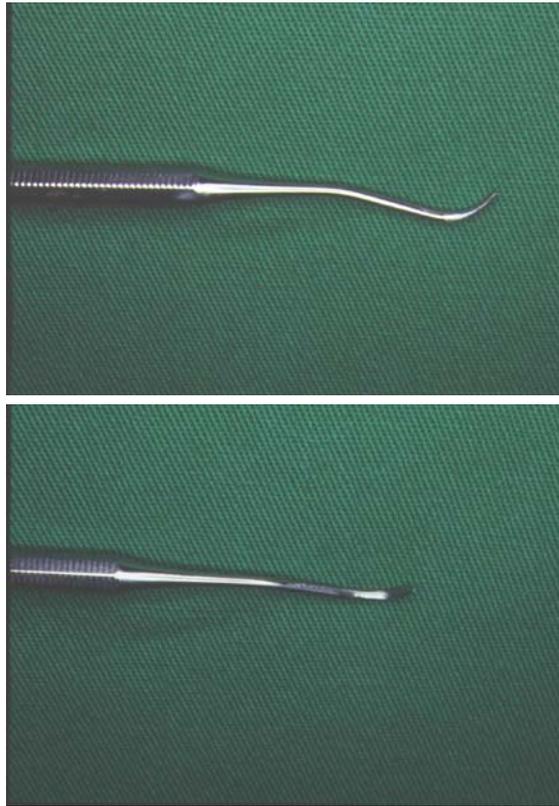


Figura 9: Extrator especialmente desenhado para o procedimento cirúrgico (De Puricelli). Montagem fotográfica.

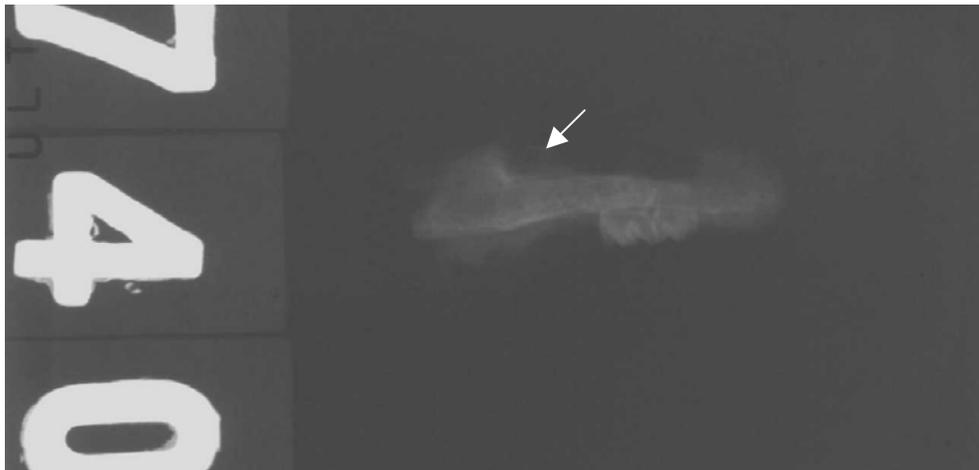


Figura 10: Radiografia da hemimaxila esquerda, grupo controle de sete dias. Não se visualizam restos radiculares em região de PMS extraído (→).

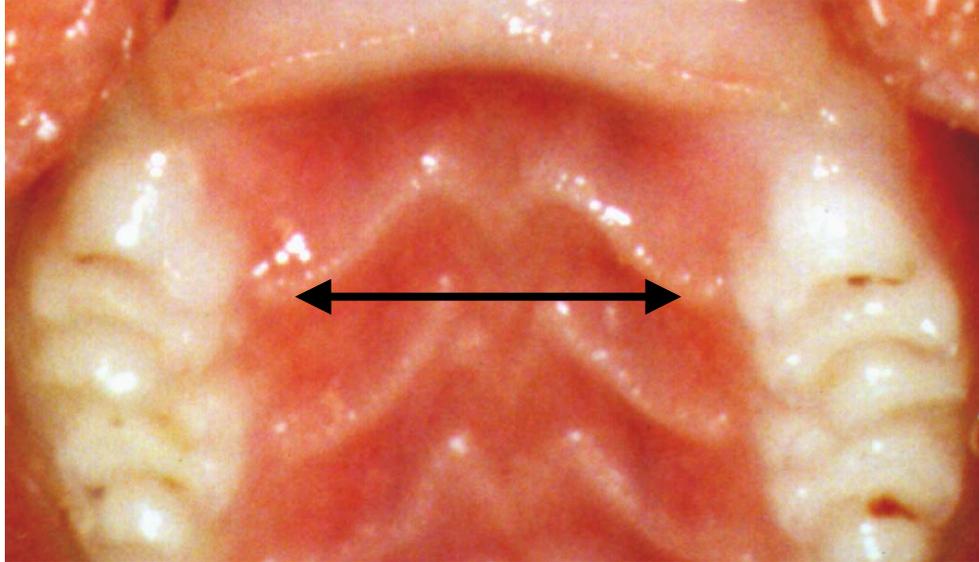


Figura 11: Vista oclusal da maxila de rato. Observar área de PMS (→).



Figura 12: Síndesmotomia da mucosa palatina na região de PMS, lado direito, grupo teste.

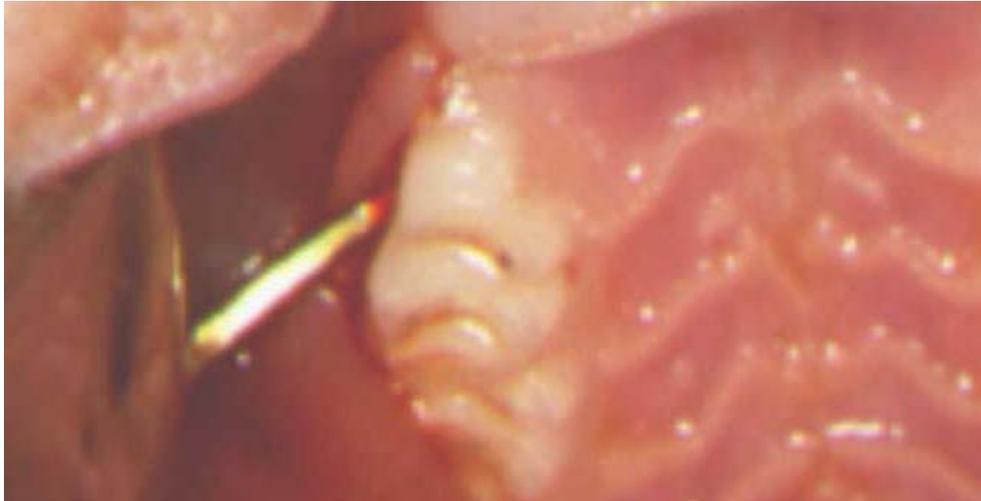


Figura 13: Fase da luxação extrusiva total de PMS, lado direito, grupo teste.

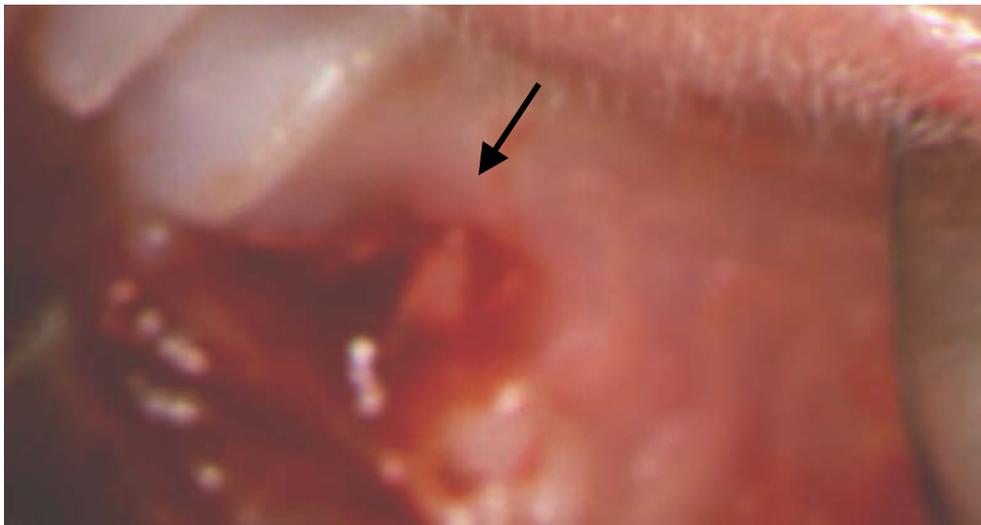


Figura 14: Região de PMS extraído, lado direito, grupo teste. Observar integridade dos tecidos gengivais (→).



Figura 15: PMS extraído. Observar integridade radicular.

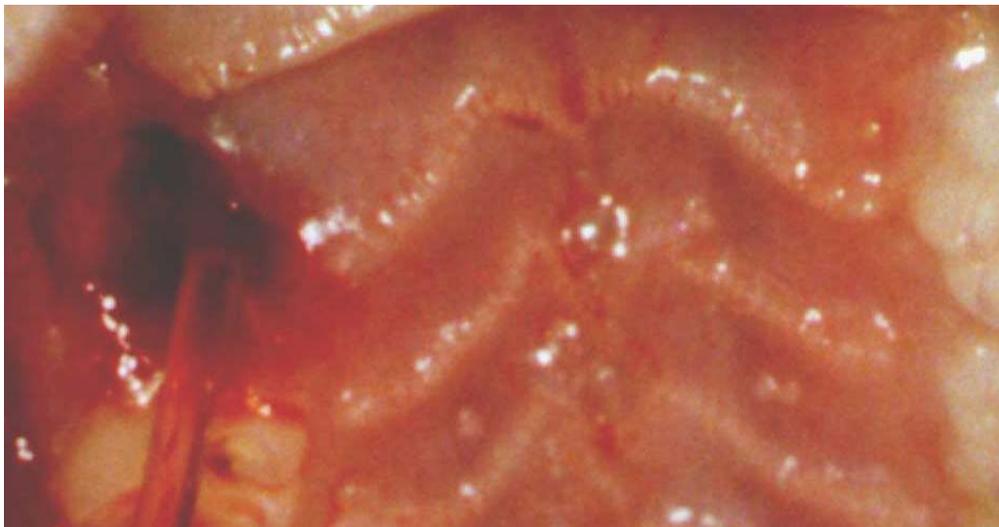


Figura 16: Irradiação no alvéolo mesial do PMS extraído com laser de Er:YAG, no modo de entrega em contato.



Figura 17: Vista oclusal pós-exodontia de PMS, lado direito e esquerdo, grupo teste e controle, respectivamente.

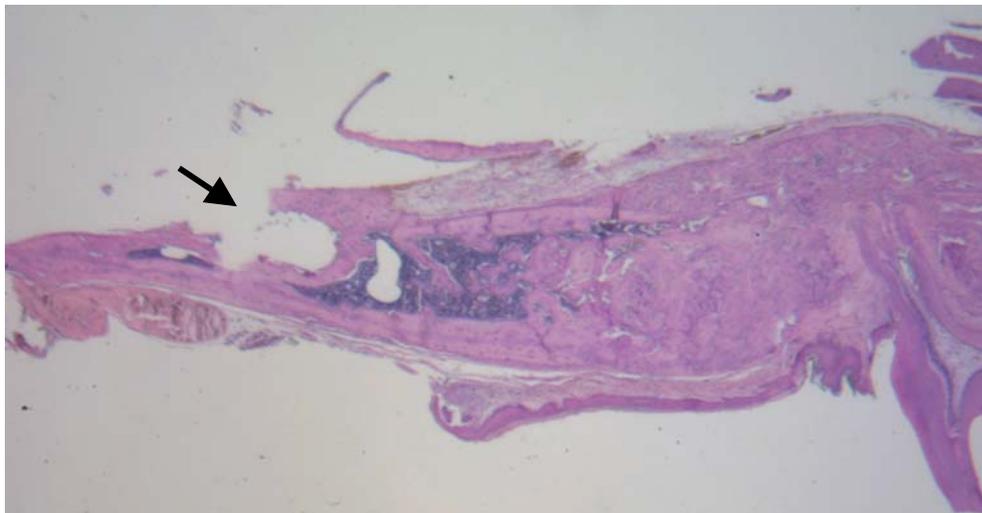


Figura 18: Estudo piloto. Aplicação de laser de Er:YAG, 12 pulsos à energia de 500mJ/pulso, frequência de 2Hz, no modo de entrega em contato, em alvéolo mesial do PMS extraído. Tempo experimental de 45 dias. Observar área de ablação tecidual (→). H.E. Aumento original 7X.

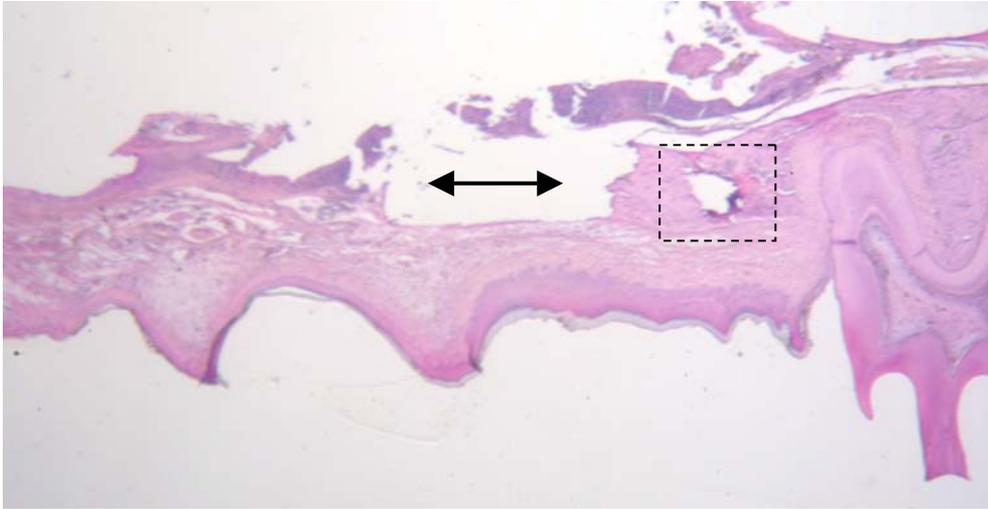


Figura 19: Estudo piloto. Aplicação de laser de Er:YAG, 30 pulsos à energia de 500mJ/pulso, frequência de 2Hz, no modo de entrega em contato, em alvéolo mesial do PMS extraído. Tempo experimental de 45 dias. Observar extensas áreas de ablação (→) e necrose - - - teciduais. H.E. Aumento original 7X.

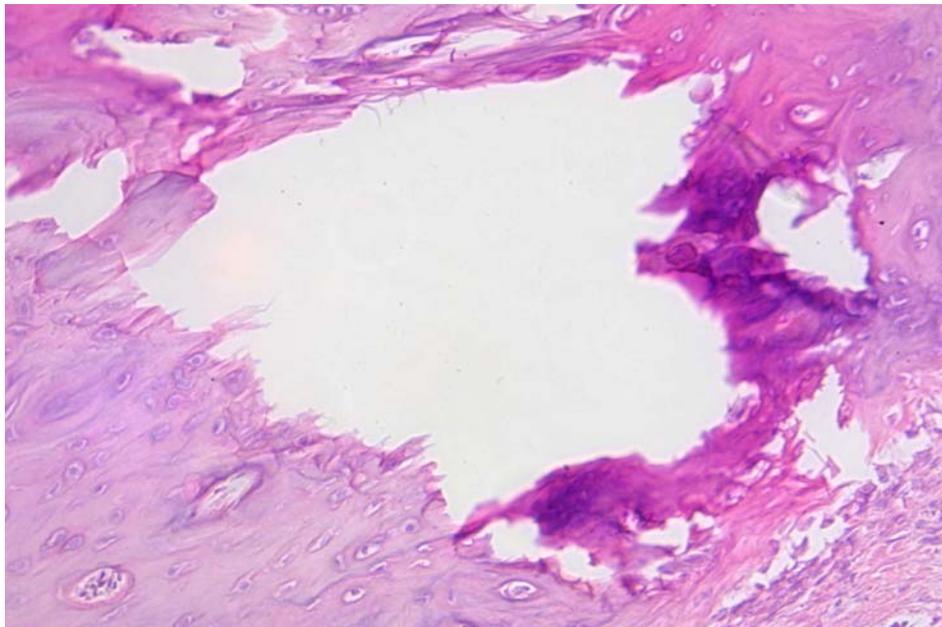


Figura 20: Estudo piloto. Aplicação de laser de Er:YAG, 30 pulsos à energia de 500mJ/pulso, frequência de 2Hz, no modo de entrega em contato, em alvéolo mesial do PMS extraído. Tempo experimental de 45 dias. Observar área de necrose tecidual. H.E. Aumento original 100X.

RESULTADOS

Os resultados histológicos encontrados na leitura das lâminas estão descritos em ordem crescente dos períodos experimentais: sete, 14, 21 e 45 dias. A descrição destes segue a seqüência: grupo controle - maxila lado esquerdo; grupo teste - maxila lado direito. Para orientação quanto à região de análise, foram realizados cortes histológicos com a presença do primeiro molar superior (PMS), em rato, aos 21 e 60 dias de idade (Figura 21,22).

SETE DIAS

Grupo Controle

Observou-se o componente maxilar organizado na forma de estruturas dentárias, representando o segundo e terceiros molares superiores, acastados à estrutura óssea alveolar da maxila. O espaço alveolar esvaziado corresponde à localização do PMS extraído. A mucosa bucal típica, revestindo as regiões correspondentes, permite localizar solução de continuidade resultante da manobra de extração do PMS. Nesta padronização anatômica, deve-se salientar a localização do espaço alveolar da raiz mesial do PMS, foco da pesquisa (Figura 23).

No espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, pode-se salientar o contorno ósseo trabecular irregular margeando o espaço alveolar, contendo tecido conjuntivo. A partir do endóstio, verificaram-se discretas projeções

de neoformação óssea para o interior da loja alveolar. A neoformação óssea no interior da margem alveolar poderá em parte corresponder ao compasso de crescimento próprio da estrutura óssea. A proteção epitelial da área, do tipo pavimentoso estratificado, demonstra atividade celular compatível com função e crescimento (Figura 24).

O tecido conjuntivo apresenta-se altamente celularizado, com predomínio de células mesenquimais indiferenciadas, fusiformes, formando uma rede entrelaçada em todo o tecido. O material extracelular consiste basicamente de substância fundamental (Figura 25).

No interior do tecido conjuntivo, visualizam-se cordões celulares correspondendo a osteoblastos em fase inicial de síntese e secreção de osteóide, em múltiplos centros de ossificação (Figura 26).

Grupo Teste

Os cortes examinados revelaram o componente maxilar organizado na forma de estruturas dentárias, representando o segundo e terceiros molares superiores, junto à estrutura óssea alveolar da maxila. O espaço alveolar esvaziado corresponde à localização do primeiro molar superior (PMS) extraído. Revestindo as regiões correspondentes, encontrou-se mucosa bucal típica, onde localiza-se solução de continuidade resultante da manobra de extração do PMS. O objeto da pesquisa corresponde ao espaço alveolar da raiz mesial do PMS (Figura 27).

Neste tempo experimental, no espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, observa-se predomínio da atividade de neoformação óssea. Verifica-se intenso trabeculado ósseo, organizadamente dirigido no sentido ascendente e convergente, a partir da margem óssea circundante (Figura 28).

O trabeculado ósseo é constituído por osso imaturo com alta celularidade e tecido conjuntivo ocupando os espaços intertrabeculares. A estruturação trabecular da loja alveolar apresentou-se circundada por tecido conjuntivo com intensa atividade osteoblástica (Figura 29).

No endóstio, visualiza-se o predomínio de osteoblastos ativos, em processo de deposição de componentes orgânicos da matriz óssea. Mesmo em maior aumento, não se observaram áreas de necrose óssea compatíveis com a ação do laser (Figura 30).

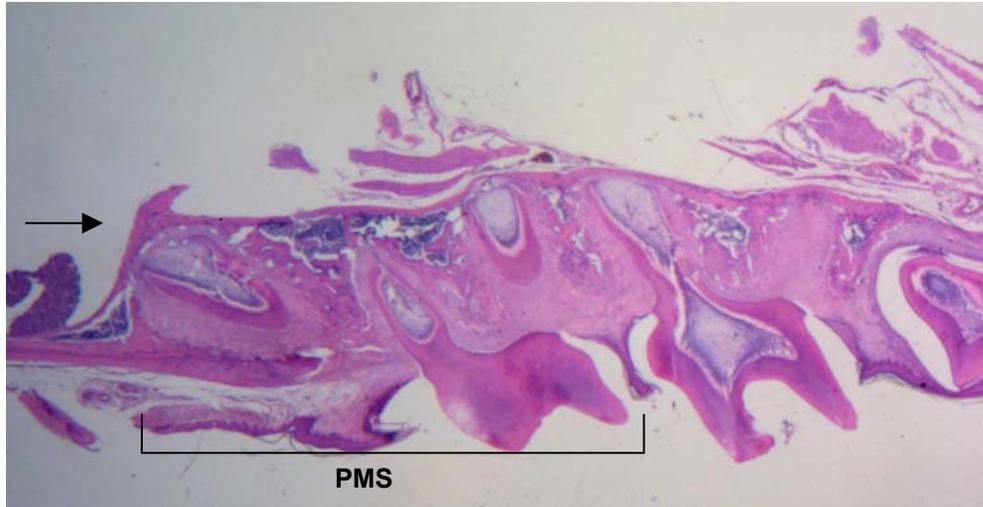


Figura 21: Maxila de rato aos 21 dias de idade, lado esquerdo. Observar a divergência da raiz mesial do PMS (→). Terceiro molar ainda não erupcionado. H.E. Aumento original 7X.

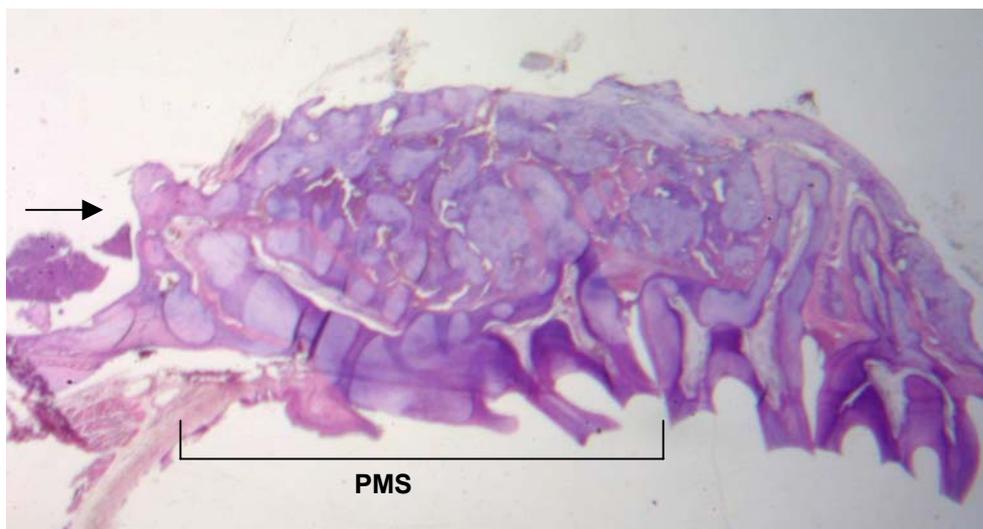


Figura 22: Maxila de rato aos 60 dias de idade, lado esquerdo. Observar a acentuada divergência da raiz mesial do PMS (→). Erupção dentária finalizada. H.E. Aumento original 7X.



Figura 23: Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos sete dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Solução de continuidade em mucosa (→). Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (). H.E. Aumento original 7X.

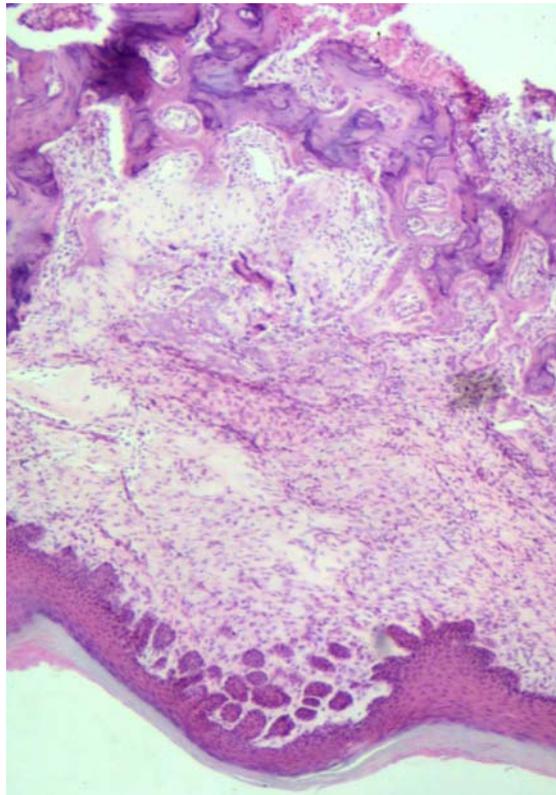


Figura 24: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos sete dias. Margeando o espaço alveolar, contorno ósseo trabecular irregular. No tecido conjuntivo, discretas projeções de neoformação óssea. H.E. Aumento original 40X.

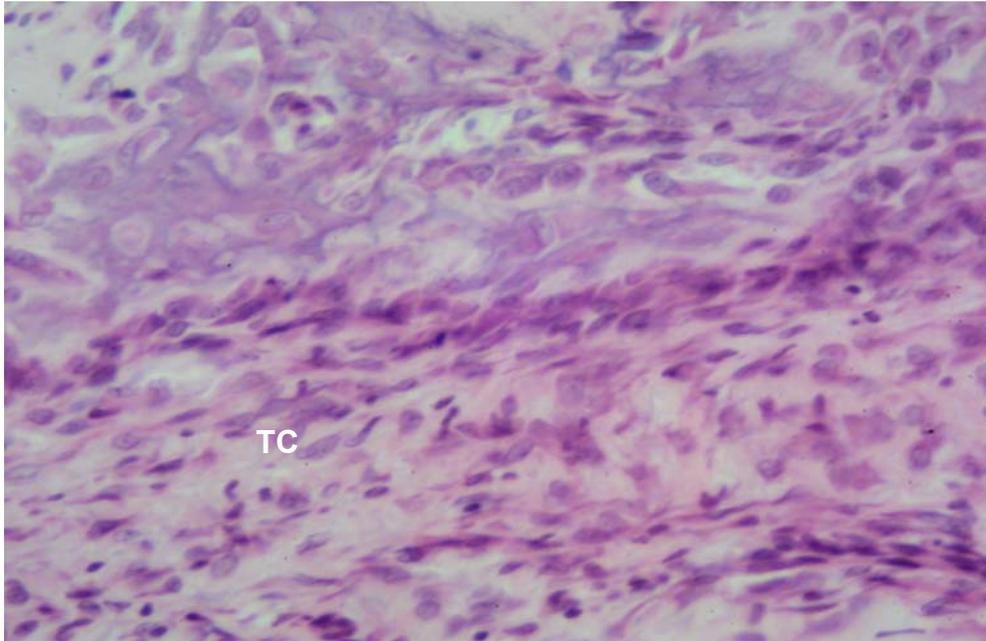


Figura 25: Grupo controle aos sete dias. Tecido conjuntivo (TC) com predomínio de células mesenquimais indiferenciadas, formando uma rede entrelaçada. H.E. Aumento original 200X.

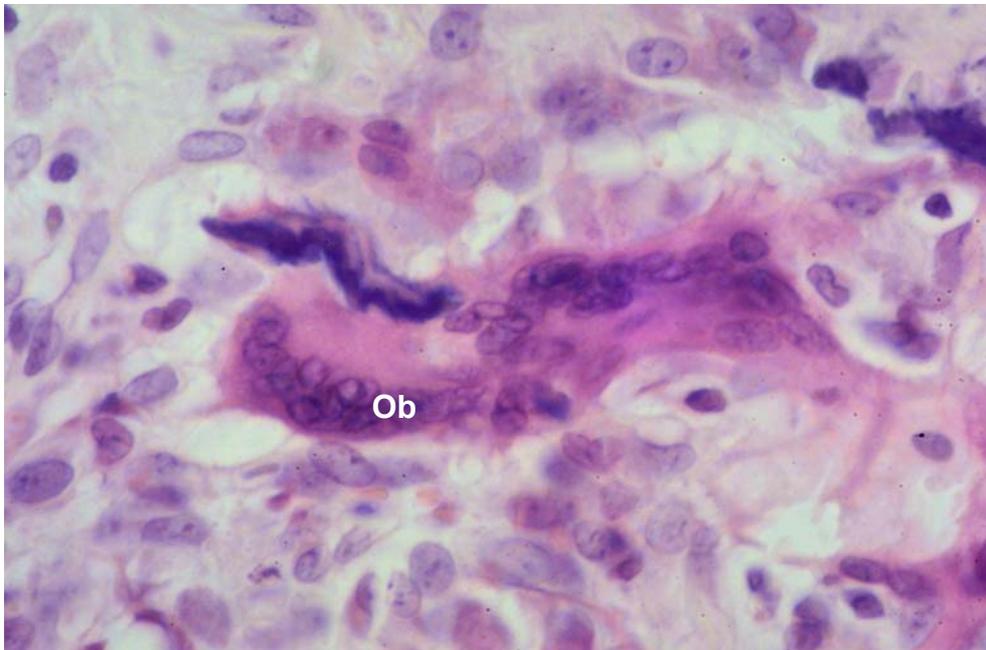


Figura 26: Grupo controle aos sete dias. No interior do tecido conjuntivo, centros de ossificação correspondendo a osteoblastos (Ob) em fase inicial de secreção de osteóide. H.E. Aumento original 400X.

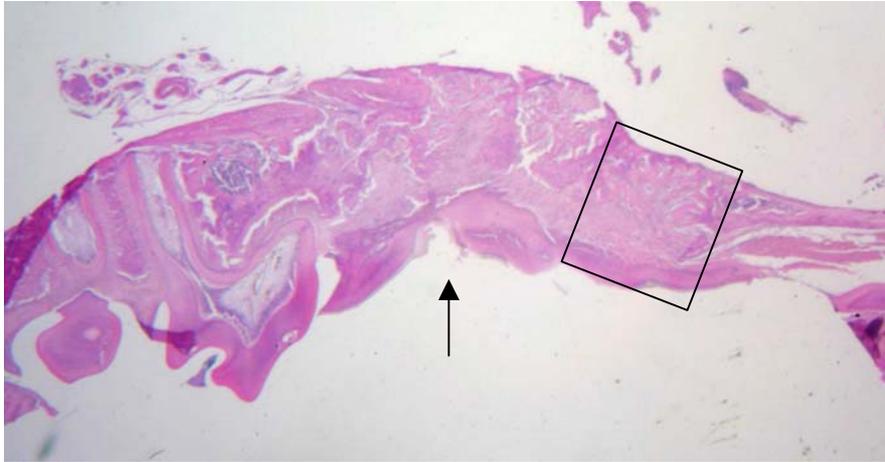


Figura 27: Maxila, lado direito, grupo teste aos sete dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Solução de continuidade em mucosa (→). Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído. (). H.E. Aumento original 7X.

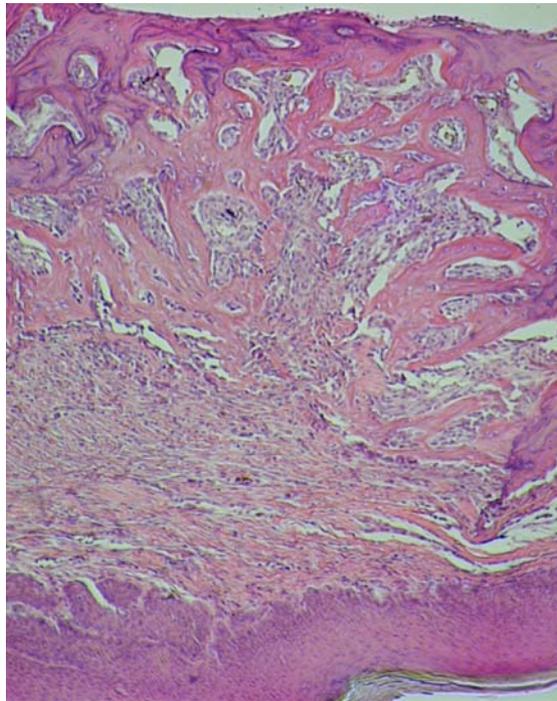


Figura 28: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos sete dias. Intenso trabeculado ósseo, dirigido no sentido ascendente e convergente, a partir da margem óssea circundante. Predomínio de atividade osteoblástica. H.E. Aumento original 40X.

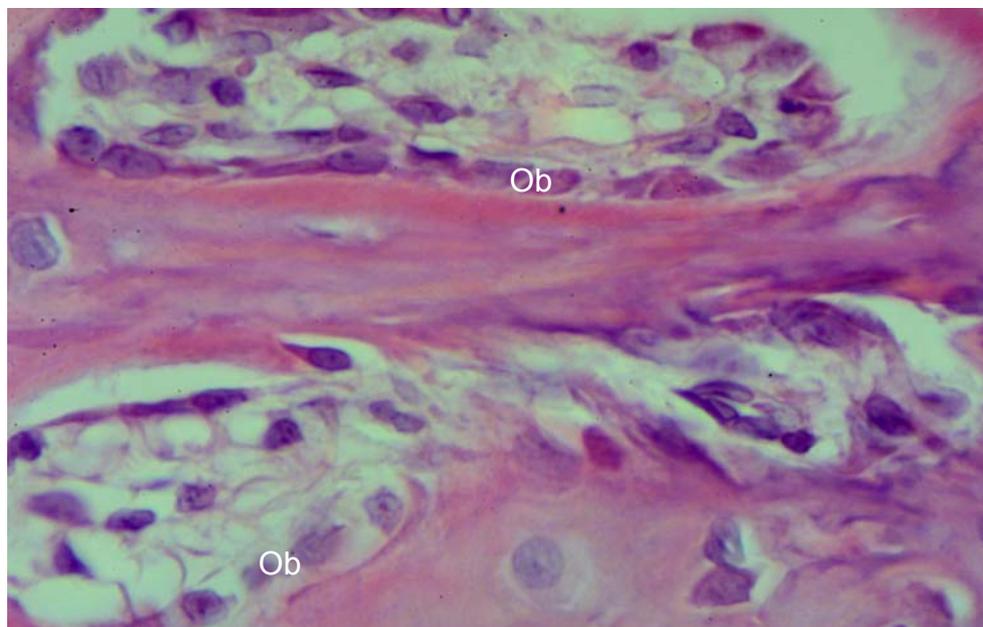
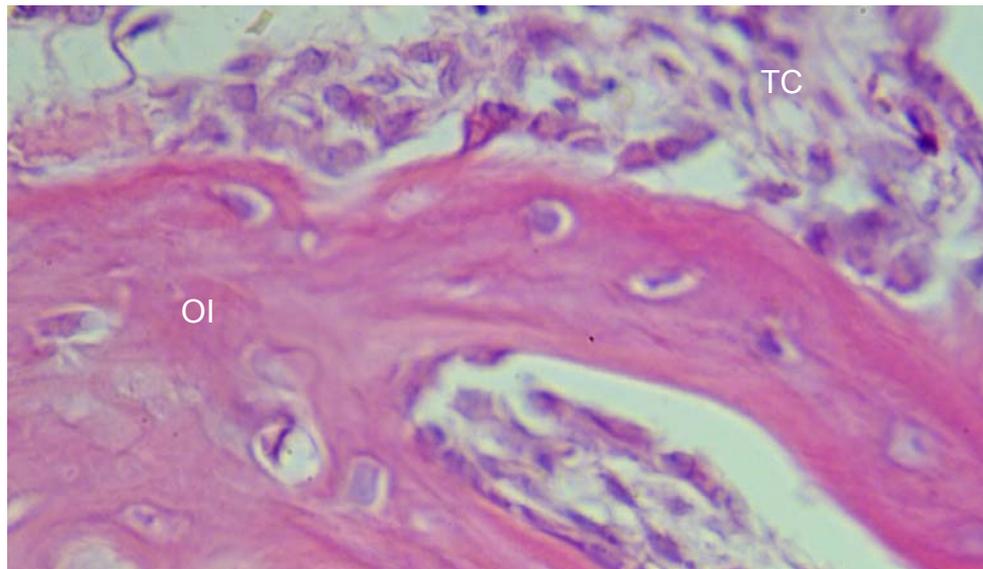


Figura 30: Grupo teste aos sete dias. Intensa atividade osteoblástica (Ob), a partir do endóstio. Não se observam áreas de necrose óssea compatíveis com a ação do laser. H.E. Aumento original 400X.

14 DIAS

Grupo Controle

Observou-se importante desenvolvimento da estrutura óssea com maior nível de erupção dentária no segundo e terceiro molares superiores. Houve reorganização cicatricial da mucosa bucal, acompanhada de atividade no osso alveolar da ferida cirúrgica (Figura 31).

No espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, originado do endóstio, houve formação de trabeculado ósseo de forma circunvolutiva e ascendente, repetindo o movimento da margem óssea. Este apresentou como característica uma menor eosinofilia e grande quantidade de células no seu interior (Figura 32).

O trabeculado ósseo corresponde a descrição de osso imaturo, delimitado em sua superfície por células osteoblásticas. Há presença de tecido conjuntivo ocupando os espaços intertrabeculares. (Figura 33).

Em maior aumento de área restrita, há formação de baías de reabsorção óssea, correspondendo à lacuna de Howship. Em aposição ao osso, osetoclastos destacados da superfície óssea (Figura 34).

Grupo Teste

O desenvolvimento da estrutura óssea é visualizado através da continuidade eruptiva do segundo e terceiro molares superiores. Observou-se atividade cicatricial do osso alveolar na ferida cirúrgica. Chama a atenção a menor expansão da área em ossificação junto ao alvéolo do PMS extraído (Figura 35).

Neste tempo experimental, o espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS encontra-se ocupado por osso trabecular composto de uma rede de trabéculas ósseas compactadas, altamente eosinófilas, separadas por um labirinto de espaços interconectados contendo medula óssea (Figura 36).

As trabéculas, compostas de lamelas irregulares de osso, apresentam-se com lacunas contendo osteócitos. Encontram-se revestidas por uma camada delicada de tecido, o endóstio, contendo células osteoprogenitoras, osteoblastos e osteoclastos. Nos espaços medulares, o tecido conjuntivo está sendo substituído por tecido hematopoiético, com predomínio de hemácias maduras (Figura 37).

Em maior aumento, lacuna de reabsorção contendo osteoclastos, correspondendo ao processo de remodelação óssea. Não se observaram áreas de necrose óssea compatíveis com a ação do laser (Figura 38).

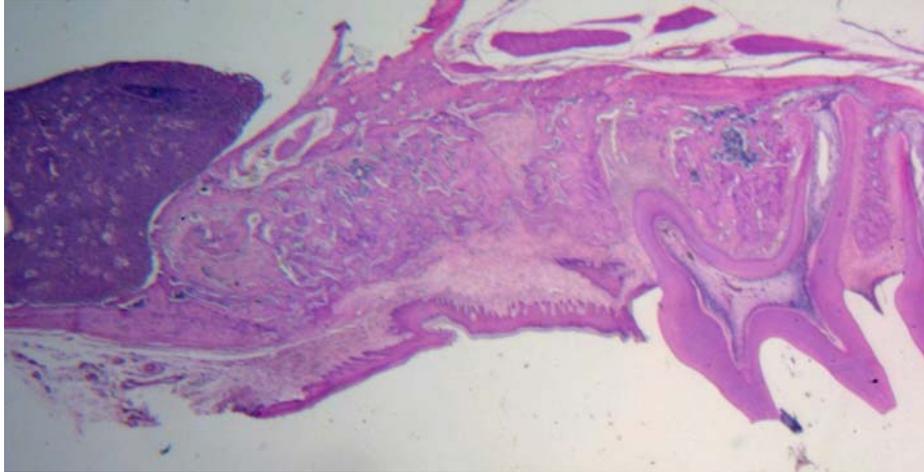


Figura 31: Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos 14 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Cicatrização da mucosa bucal. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (---). H.E. Aumento original 7X.

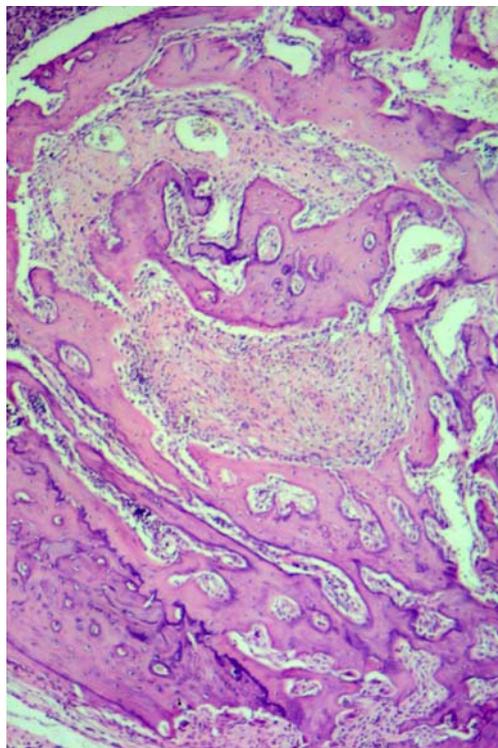


Figura 32: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos 14 dias. Trabeculado ósseo em formação circunvolutiva e ascendente. H.E. Aumento original 40X.

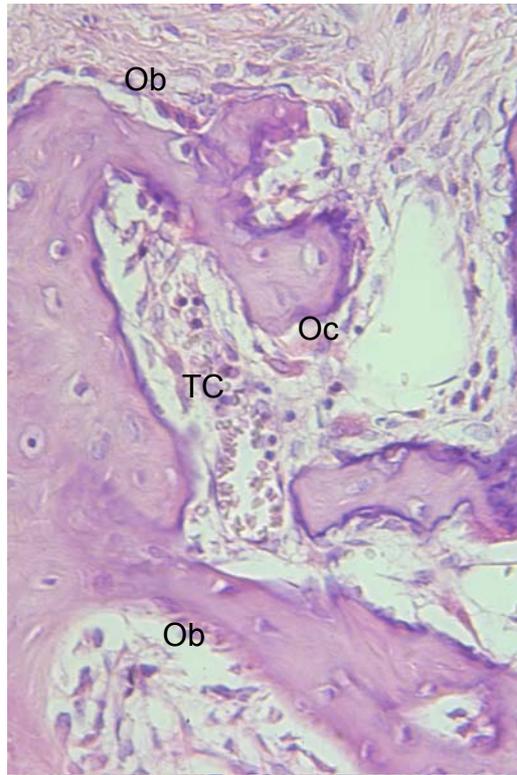


Figura 33: Grupo controle aos 14 dias. Osso imaturo, com presença de osteoblastos (Ob). Áreas de reabsorção, com lacunas contendo células osteoclásticas (Oc). Tecido conjuntivo (TC) ocupando os espaços intertrabeculares. H.E. Aumento original 200X.

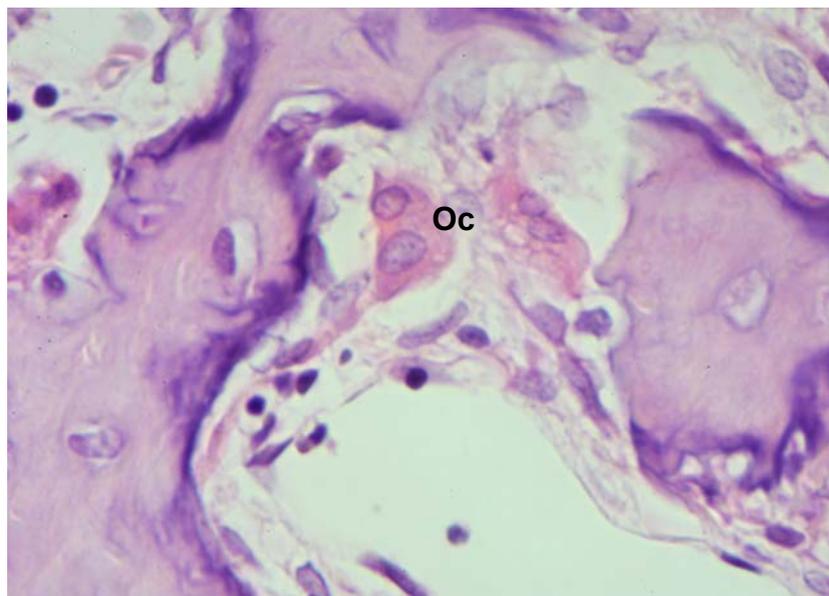


Figura 34: Grupo controle aos 14 dias. Lacunas de reabsorção, contendo osteoclastos (Oc) na superfície óssea. H.E. Aumento original 400X.

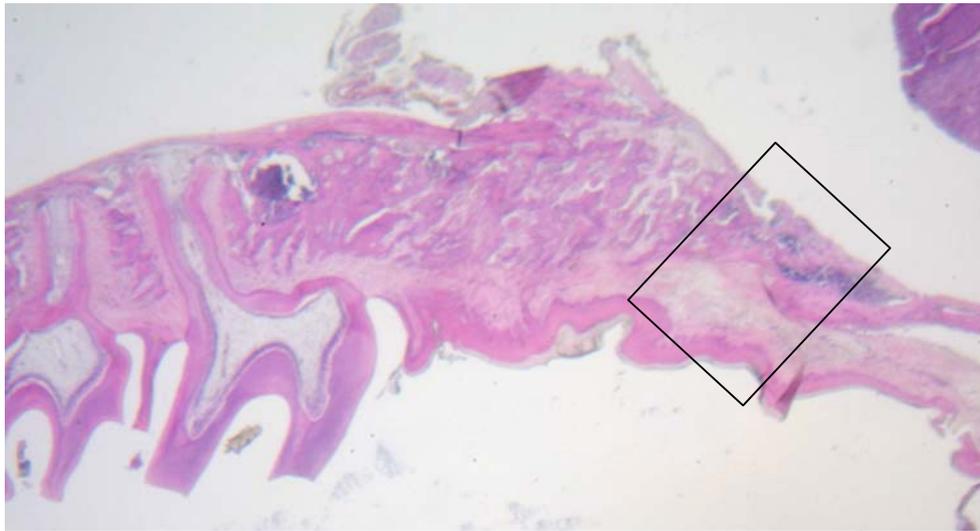


Figura 35: Maxila, lado direito, grupo teste aos 14 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Cicatrização da mucosa bucal. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS extraído (◇). H.E. Aumento original 7X.

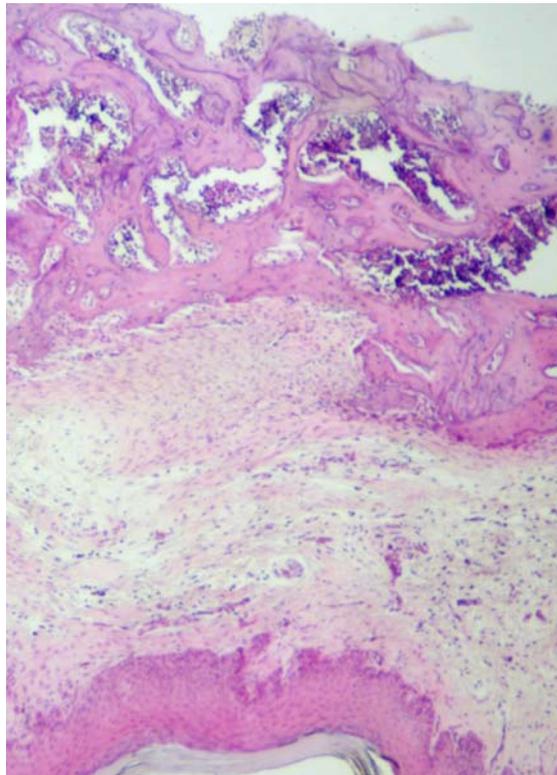


Figura 36: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos 14 dias. Osso trabecular altamente eosinófilo. Espaços intertrabeculares contendo medula óssea. H.E. Aumento original 40X.

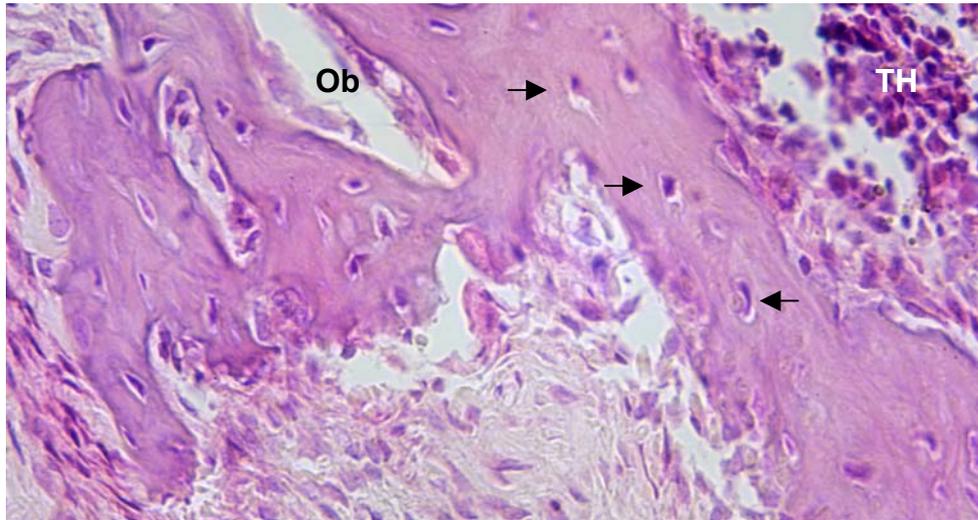
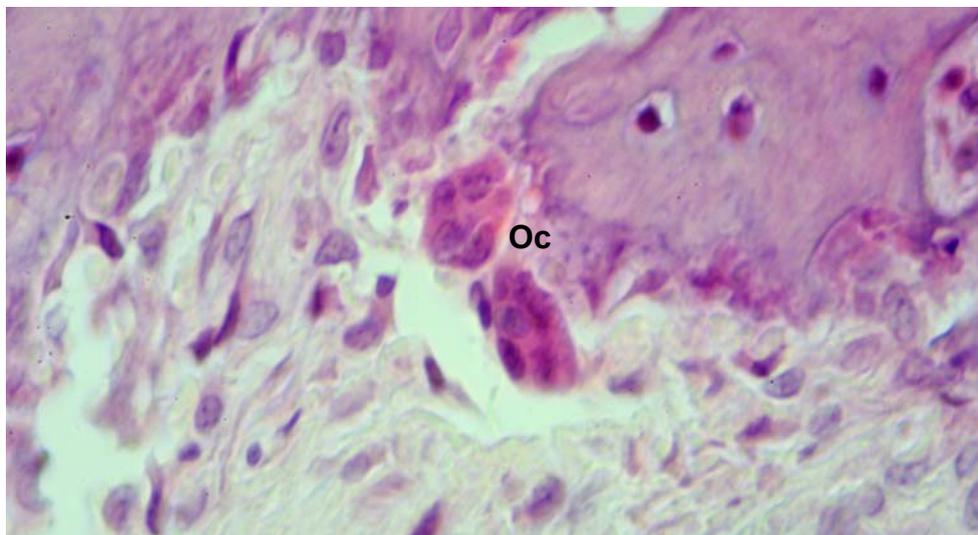


Figura 37: Grupo teste aos 14 dias. Trabeculado ósseo contendo lacunas com osteócitos (→). Presença maciça de células osteoblásticas (Ob). Nos espaços medulares, tecido hematopoiético (TH). H.E. Aumento original 200X.



Grupo teste aos 14 dias. Processo de remodelação óssea. Presença de lacuna de reabsorção contendo osteoclastos (Oc). Não se visualizam áreas de necrose compatíveis com a ação do laser. H.E. Aumento original 400X.

21 DIAS

Grupo Controle

Manteve-se o crescimento e desenvolvimento da maxila com projeção anterior da área alveolar em estudo, com possível perda da extensão vertical da maxila na área edentada (Figura 39).

No espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, em direção ascendente, observa-se a formação trabecular. O tecido ósseo apresentou-se com trabéculas densas e volumosas. As trabéculas apresentaram-se com coloração róseo-intenso, característica do tecido ósseo maduro (Figura 40).

Os contornos sinuosos do trabeculado ósseo marcam áreas de neoformação óssea delimitadas em sua superfície por deposição osteoblástica e áreas em processo de reabsorção por osteoclastos. A grande atividade blástica-clástica indica visível formação óssea acestando tecidos de calcificação em períodos distintos (Figura 41).

Em maior aumento, área de remodelação óssea contendo lacuna de reabsorção e célula osteoclástica. No interior do tecido ósseo, lacunas contendo osteócitos (Figura 42).

Grupo Teste

O crescimento e desenvolvimento maxilar segue-se com a perda em extensão vertical da área desdentada e projeção anterior da área alveolar analisada (Figura 43).

Neste tempo experimental, no espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS observou-se diminuição dos espaços medulares intertrabeculares em relação ao período anterior. Chama a atenção o paralelismo da aposição óssea. (Figura 44)

O tecido ósseo encontra-se marcadamente eosinófilo, compatível com osso maduro. Há presença de tecido hematopoiético nos espaços medulares (Figura 45).

Em maior aumento, espaço medular contendo tecido hematopoiético, com predomínio de hemáceas, indicando a atividade tecidual local. Não se observaram áreas de necrose óssea compatíveis com a ação do laser (Figura 46).

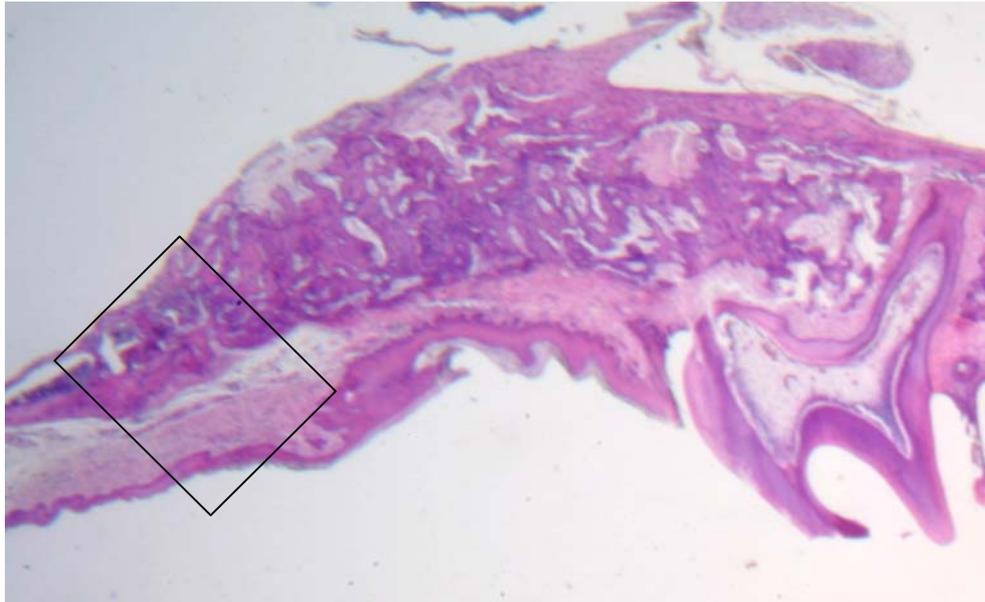


Figura 39: Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos 21 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS, projetado anteriormente (___). H.E. Aumento original 7X.

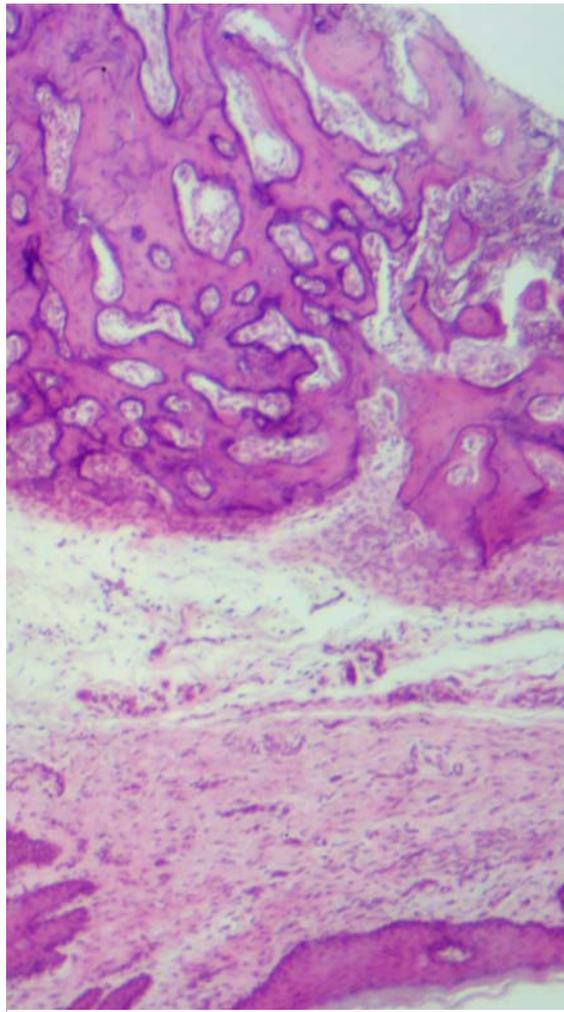


Figura 40: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos 21 dias. Formação trabecular densa e volumosa, compatível com osso maduro. H.E. Aumento original 40X.

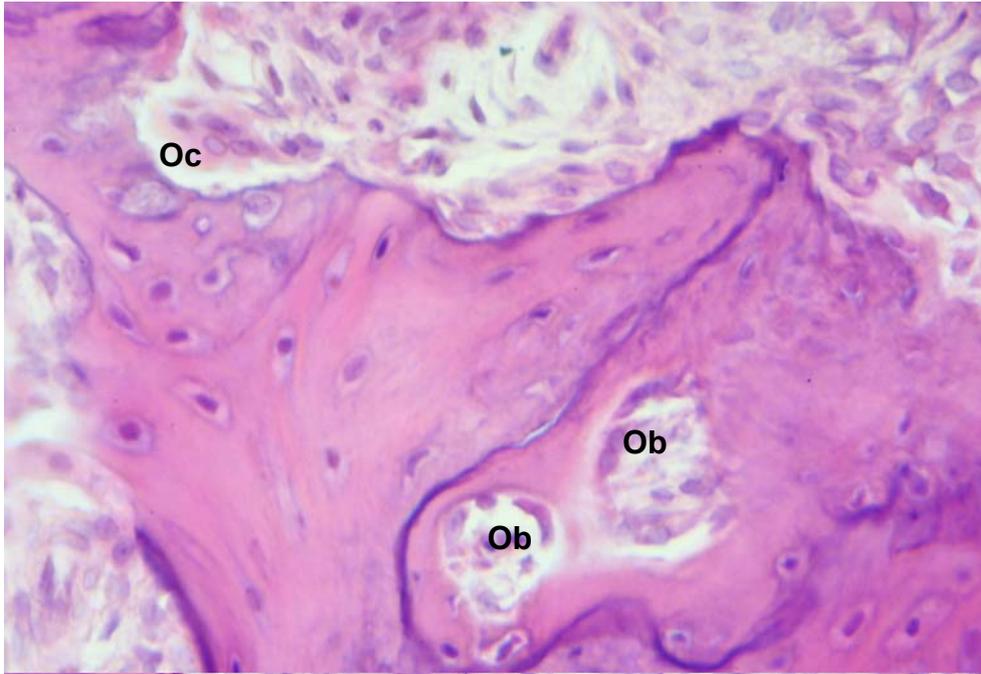


Figura 41: Grupo controle aos 21 dias. Trabeculado ósseo com áreas de neoformação, com presença de osteoblastos (Ob) e áreas em processo de reabsorção por osteoclastos (Oc). H.E. Aumento original 200X.

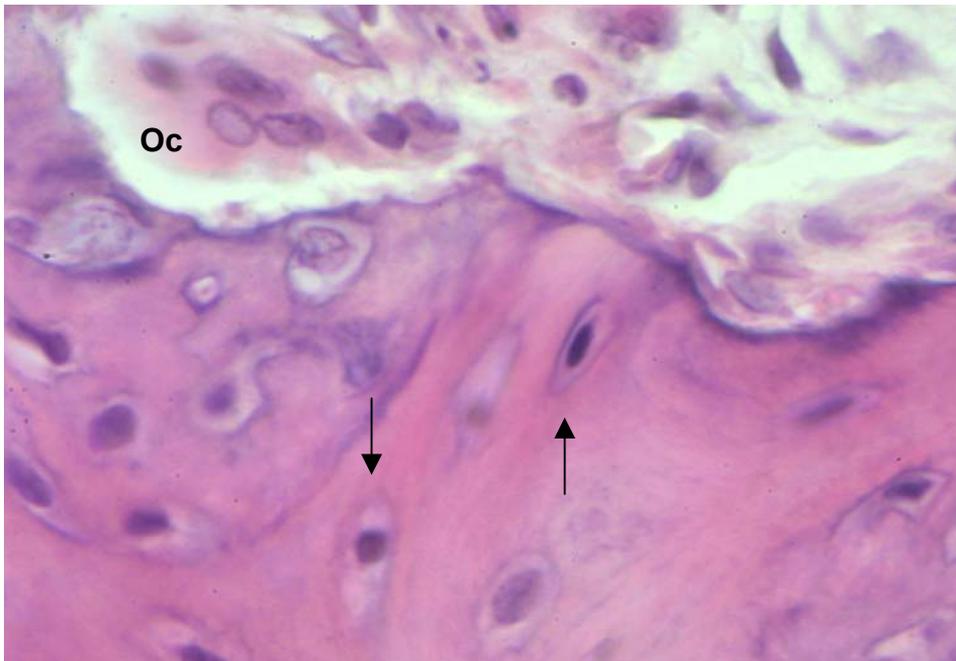


Figura 42: Grupo controle aos 21 dias. Área de remodelação óssea contendo lacuna de reabsorção e célula osteoclástica (Oc). No tecido ósseo, lacunas contendo osteócitos (→). H.E. Aumento original 400X.

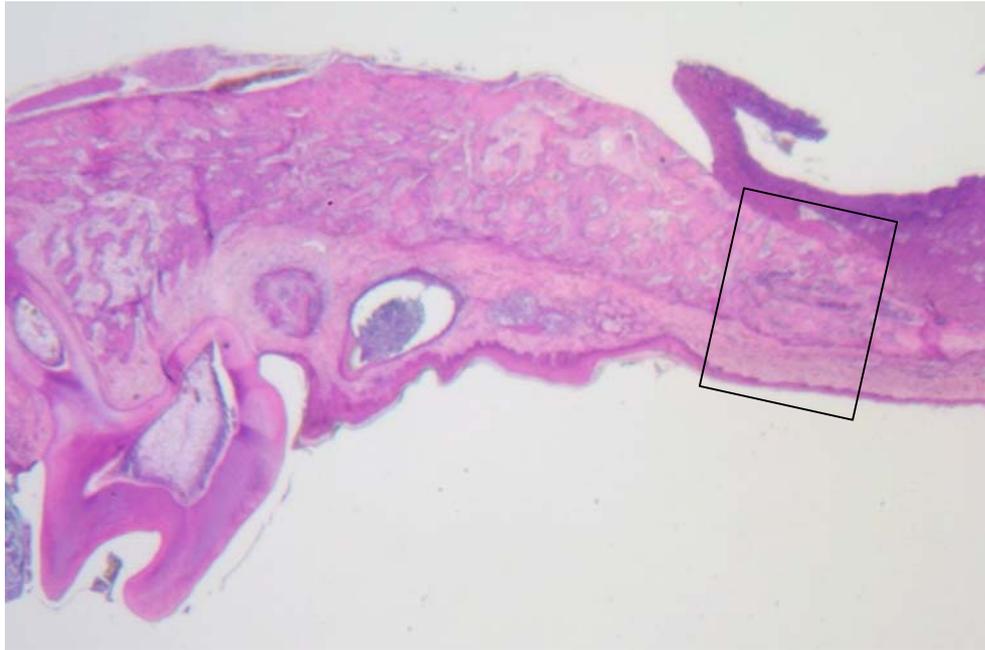


Figura 43: Maxila, lado direito, grupo teste aos 21 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS, projetado anteriormente (---). H.E. Aumento original 7X.

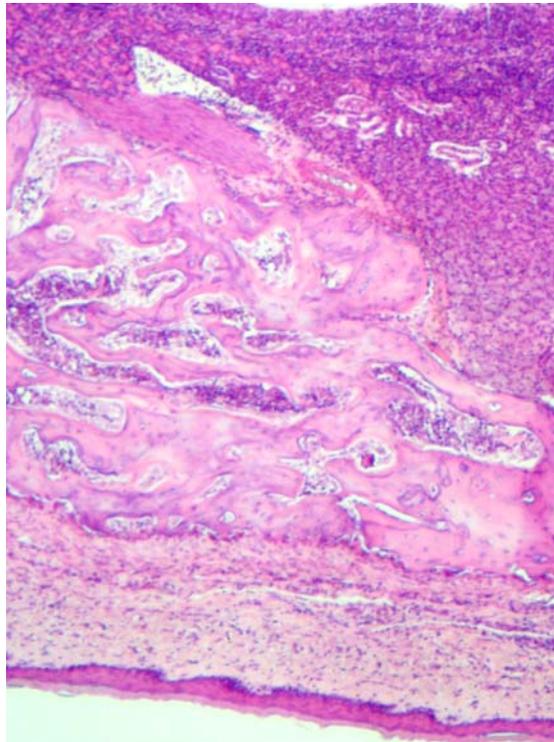


Figura 44: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado direito, grupo teste aos 21 dias. Tecido ósseo marcadamente eosinófilo, compatível com osso maduro. Presença de tecido hematopoiético nos espaços medulares. H.E. Aumento original 40X.

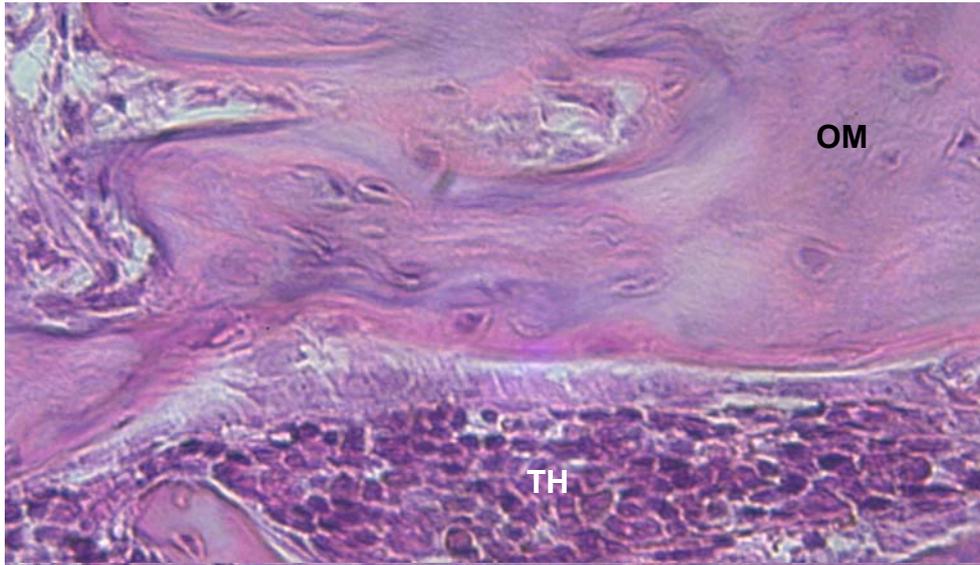


Figura 45: Grupo teste aos 21 dias. Tecido ósseo compatível com osso maduro (OM). Tecido hematopoiético (TH) nos espaços medulares. H.E. Aumento original 200X.

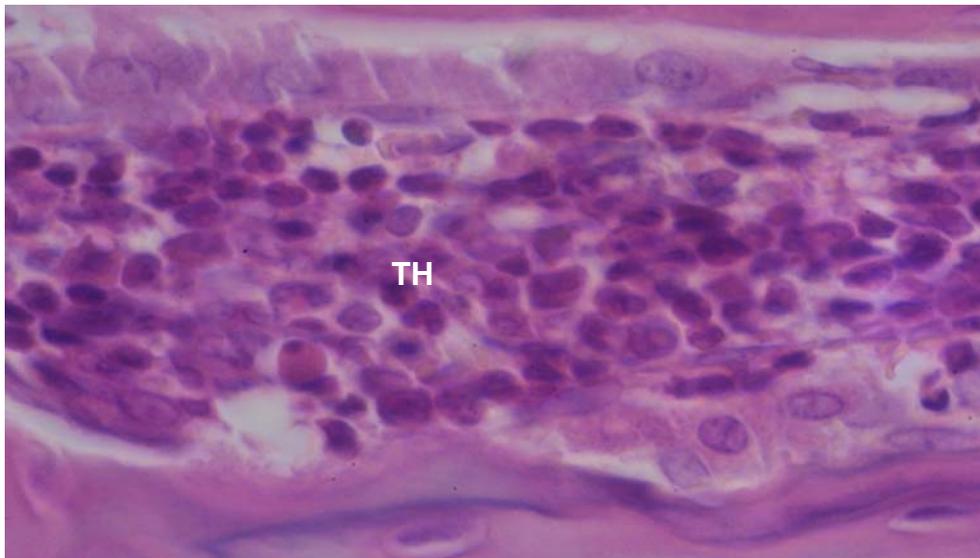


Figura 46: Grupo teste aos 21 dias. Espaço medular contendo tecido hematopoiético (TH), com predomínio de hemácias maduras. Não se observam áreas de necrose compatíveis com a ação do laser. H.E. Aumento original 400X.

45 DIAS

Grupo Controle

Os cortes revelaram finalização do processo eruptivo dentário fisiológico. Mesmo em crescimento, não se observou marcada alteração das dimensões da maxila (Figura 47).

No espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, observou-se maciça formação óssea condensando as estruturas trabeculares. O limite ósseo alveolar encontra-se perfeitamente adaptado à função da área. O tecido conjuntivo apresenta-se denso, contendo vasos sangüíneos (Figura 48).

Destaca-se, ainda, a presença glândulas salivares acessórias do tipo acinar composta, compatíveis com a maturação e função teciduais (Figura 49).

Visualiza-se presença de osso lamelar maduro do tipo esponjoso, correspondendo à estrutura alveolar normal. Nos espaços medulares, foi possível identificar tecido hematopoiético (Figura 50).

Grupo Teste

O processo eruptivo dentário fisiológico encontra-se finalizado. Não se observou marcada alteração das dimensões maxilares (Figura 51).

Neste tempo experimental, no espaço correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, observa-se diminuição da atividade de neoformação óssea e ausência de reabsorção óssea expressiva. A aposição óssea caracteriza-se pelo paralelismo na superfície, com a presença de osso lamelar maduro do tipo esponjoso, compatível com estrutura alveolar normal (Figura 52).

Os espaços medulares encontram-se ocupados por tecido hematopoiético. Não se observaram áreas de necrose óssea compatíveis com a ação do laser (Figura 53).

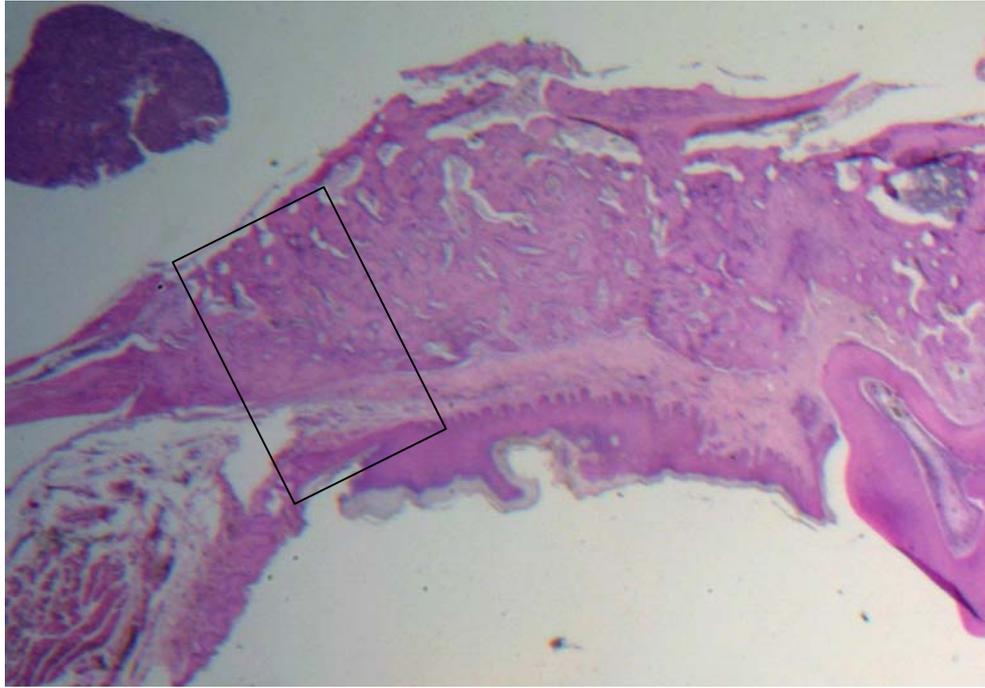


Figura 47: Maxila, lado esquerdo, grupo controle aos 45 dias. Espaço alveolar correspondente ao PMS extraído. Finalização do processo eruptivo dentário. Demarcação do espaço alveolar da raiz mesial do PMS (---). H.E. Aumento original 7X.

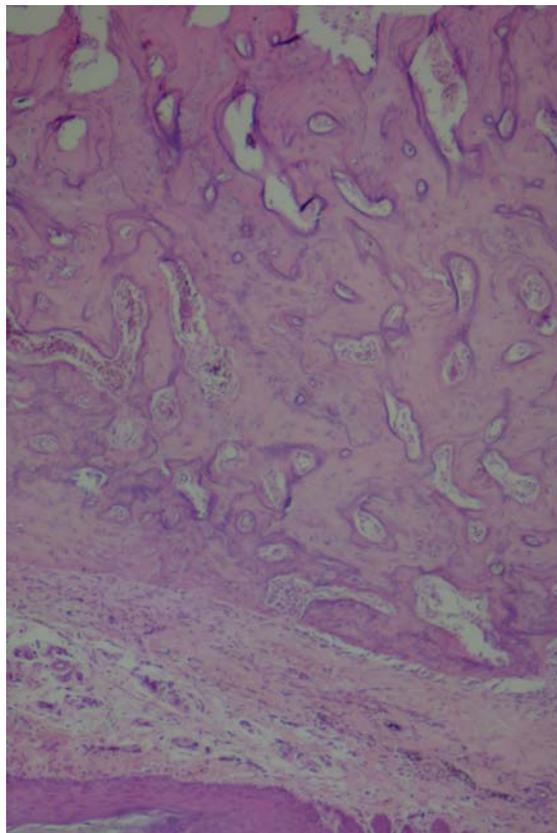


Figura 48: Alvéolo da raiz mesial do PMS, lado esquerdo, grupo controle aos 45 dias. Formação óssea maciça condensando as estruturas trabeculares. Tecido conjuntivo denso, com presença de vasos sanguíneos. H.E. Aumento original 40X.

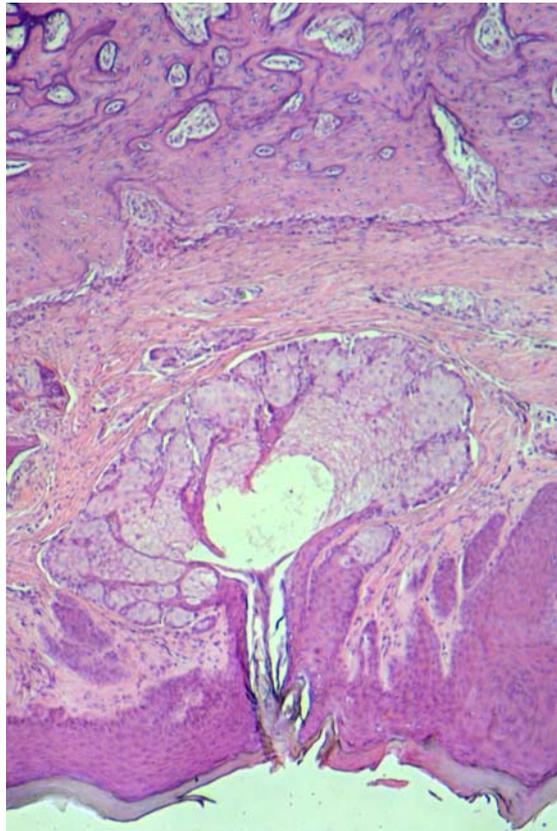


Figura 49: Grupo controle aos 45 dias. Glândula salivar acessória, do tipo acinar composta, demonstrando maturação e função teciduais. H.E. Aumento original 40X.

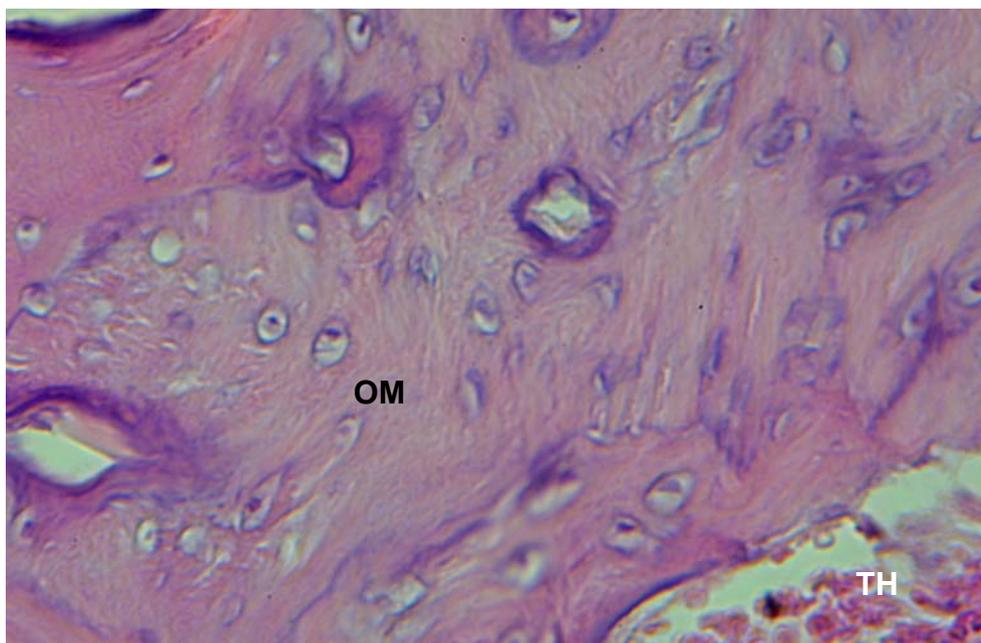


Figura 50: Grupo controle aos 45 dias. Tecido ósseo lamelar maduro (OM) do tipo esponjoso. Presença de tecido hematopoiético (TH) nos espaços medulares. H.E. Aumento original 200X.

DISCUSSÃO

Atualmente, o laser tem sido usado nas mais diversas aplicações, tanto em tecidos moles como tecidos duros (WHITE, GOODISH, ROSE, 1991; BRADLEY, 1997). O laser de Er:YAG, com comprimento de onda de 2,94 μ m, é um sistema com grande potencial de aplicação, uma vez que o seu comprimento de onda coincide com o pico de maior absorção de energia pela água, resultando com boa atuação em todos os tecidos biológicos. Este laser, preconizado por Hibst e Keller em 1989, é de grande aplicação na odontologia, sendo sua indicação inicial para ablação de tecidos duros dentários (KELLER e HIBST, 1992; MISERENDINO, PICK, 1995). Desde então, tem sido estudada sua aplicação tanto em tecidos moles (HIBST, 2002), como também em tecido ósseo (NELSON et al, 1989; EI MONTASER et al, 1997; MARTINS, 2001; SASAKI, 2002).

Em tecido ósseo, nos modelos experimentais, foram pesquisadas áreas no crânio e na mandíbula. Estes estudos buscaram avaliar principalmente a propriedade de corte do laser e as características do tecido ósseo irradiado com Er:YAG (NELSON et al, 1989; EI MONTASER et al, 1997; MARTINS, 2001; SASAKI, 2002). Os efeitos do laser de Er:YAG em mandíbula foi estudado por Martins (2001). Contudo, o modelo de reparo ósseo alveolar após extrações dentárias com o uso de laser de Er:YAG ainda não havia sido estudado. O controle e avaliação do processo cicatricial, juntamente com a obtenção da qualidade óssea reparada, são atributos perseguidos em diferentes pesquisas, devido a sua necessidade diária nas intervenções e reabilitações buco-maxilo-faciais.

Os efeitos do laser de Er:YAG podem ainda variar de acordo com a composição físico-química do tecido (MISERINDINO E PICK, 1995). A escolha em estudar os efeitos da irradiação e do controle no mesmo espécime visa minimizar esta variação. Acreditamos que uma maior consistência nos resultados pôde ser obtida, uma vez que a variação entre os espécimes foi minimizada.

O laser de baixa intensidade (He-Ne, As-Ga-Al) vem sendo aplicado em analgesia, controle do processo inflamatório e para estimular o processo cicatricial (ABERGEL et al, 1984; LAM, 1986; BARUSHKA, YAAKOBI, ORON, 1995; CONLAN, RAPLEY, COBB, 1996; DAVID, 1996; LUGER et al, 1998; ALMEIDA-LOPES, 1999; KUCEROVA, 2000; GUZZARDELLA et al, 2001a; GUZZARDELLA et al, 2001b; GUZZARDELLA et al, 2002; SILVA Jr et al, 2002; GARAVELLO-FREITAS et al, 2003). Em tecido ósseo, além do laser de Er:YAG, outros comprimentos de onda vêm sendo estudados, como o laser de Nd:YAG, Ho:YAG e o de CO₂, com finalidade cirúrgica de ablação, corte e coagulação teciduais (BAILIN, WHEELAND, 1985; JAMES, WILEY, SCHNEIDER, 1986; McKEE, 1993; BUCHELT et al, 1994; CORSAIR, 1997; KRAUSE, 1997; FRIESEN et al, 1999; McDAVID et al, 2001). No entanto, não encontramos na literatura estudos utilizando o laser de Er:YAG em tecido ósseo, e mais especificamente o alveolar, com a finalidade de estimular o reparo ósseo.

Nos parâmetros utilizados nesta pesquisa foi alcançada uma densidade de energia sub-ablativa (KAVO, 1999b). Em todos os tempos experimentais, não foram observados danos térmicos no tecido ósseo irradiado. Desta forma,

acreditamos que a densidade de energia aplicada possibilitou, entre outros, um efeito tecidual sub-ablativo (SEPULCRI, LORENZO, 1990; ALMEIDA-LOPES, 1999). No entanto, não encontramos na literatura trabalhos que estudaram a possibilidade de uso de energia sub-ablativa com laser de Er:YAG visando acelerar o processo cicatricial ósseo.

Evidências demonstraram que o efeito do laser é modificado pela dosimetria energética empregada (MISERINDINO E PICK, 1995). Utilizou-se um parâmetro de irradiação a partir dos resultados obtidos com o estudo piloto. Todavia, fazem-se necessários experimentos com outros parâmetros, verificando possíveis variações nos resultados. Em se utilizando diferentes parâmetros, pode-se determinar quais são os passíveis de serem empregados para cada aplicação, e quão sensível à variação dos mesmos é o efeito estudado.

Em relação ao tecido ósseo, a elevação de temperatura e o dano térmico por ela causado é de grande importância, tendo em vista as áreas periablaçadas. Keller e Hibst (1992) estudaram a relação da quantidade de energia por pulso e frequência para ablação óssea a laser de Er:YAG. Em seu trabalho, verificaram a produção e dissipação do calor e os efeitos mecânicos nesta estrutura tecidual. Concluiu que, como o calor se acumula no tecido ósseo, a frequência tem papel muito importante na quantificação do dano térmico. O autor concluiu que do ponto de vista do dano térmico, pulsos menores com energias maiores são menos danosos que vários pulsos fracos. No presente estudo, foi utilizada a maior energia por pulso permitida pelo aparelho (500 mJ), na menor frequência possível (2Hz), buscando minimizar o dano térmico. Uma vez que a forma

de entrega foi através de fibra ótica, em contato, houve a dissipação de parte da energia ao longo da fibra (fator de redução 0,45) (KAVO, 1999a). Matematicamente, isto implicou na redução final da energia aplicada, que foi de 225 mJ/pulso. A dissipação da energia ao longo da fibra, produzindo um efeito sub-ablativo nos tecidos remanescentes do alvéolo irradiado, no nosso estudo, parece ter induzido a um estímulo proliferativo osteoblástico. Isto coincide com os resultados obtidos aos sete dias no grupo teste, onde houve uma maior atividade óssea, comparado ao controle.

Neste trabalho, a densidade de energia aplicada na região foi de 40 J/cm², o que coincide na literatura com densidades de energia aplicadas no condicionamento de dentina. Estudos indicam que o uso do laser de Er: YAG em tecidos duros dentários – esmalte e dentina, induzem à formação de dentina terciária ou reparadora (SEPULCRI; LORENZO, 1990; LI, CODE, VAN DER MERWE, 1992). Pode-se fazer, desta forma, uma correlação entre indução de odontoblastos na polpa dental, e osteoblastos em tecido ósseo alveolar.

Outros estudos ainda avaliaram o reparo ósseo após o uso de instrumentos cortantes rotatórios e pós-exodontia. Por tal, foram realizados em tecido ósseo de origem intramembranosa que forma o arcabouço estrutural da cavidade bucal (OKAMOTO, RUSSO, 1973; CARVALHO, OKAMOTO, 1987; ALVES, OKAMOTO, 1989; OKAMOTO, YAMAMOTO, SONODA, 1994; PEREIRA, PERRI de CARVALHO, OKAMOTO, 1996). Nos estudos de reparo ósseo pós-exodontia, o dente utilizado foi o incisivo central superior de ratos. No nosso trabalho, foi extraído o primeiro molar superior. Estudos de Hernández (1996) e

Cardoso (1998) utilizaram este dente em avaliações do epitélio juncional na luxação extrusiva parcial e no reimplante dentário, respectivamente. Acreditamos ser um dente favorável à exodontia, sem implicar em perda da função mastigatória posterior. Além disso, a característica de ter o eixo de inserção longitudinal da raiz mesial no alvéolo, a qual é acentuadamente inclinada para mesial no sentido ântero-posterior, possibilitou um campo de trabalho adequado para o uso da fibra ótica, no modo de entrega em contato.

O modelo experimental estudado neste trabalho é proposto pela primeira vez. Tecnicamente pode apresentar dificuldade na identificação na região a ser analisada, sendo necessário atentar-se ao fato da correta identificação da região correspondente ao alvéolo da raiz mesial do PMS, inclinada mesialmente no sentido ântero-posterior. Além disso, o crescimento dos animais alterou as regiões de análise nos diferentes tempos experimentais, projetando-a anteriormente na maxila. Entretanto, tal fator não criou dificuldades técnicas. Como referência para a identificação correta das regiões a serem analisadas microscopicamente, tomou-se a posição do segundo e terceiros molares superiores e os controles radiográficos.

Os tempos de análise pós-operatória utilizados coincidem com os trabalhos de Marzola (1973); Okamoto, Russo (1973); Carvalho, Okamoto (1987); Alves, Okamoto (1989); Okamoto, Yamamoto, Sonoda (1994); Pereira, Perri de Carvalho, Okamoto (1996). Esses autores verificaram em modelos animais que a cicatrização óssea alveolar final ocorre aproximadamente aos 45 dias pós-operatórios, o que coincide com os resultados deste trabalho, no grupo controle. No

grupo teste, o efeito do uso do laser de Er:YAG possibilitou a aceleração deste processo, concluído já aos 21 dias pós-operatórios.

No presente estudo não se verificou processo inflamatório, aos sete dias, em ambos grupos. Isto concorda com a literatura, que estabelece o estágio inflamatório num período entre três a cinco dias pós-operatórios (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995).

Concordamos com Burkitt, Young e Heath (1994), ao afirmar que a função óssea leva à regularização da superfície, perfazendo o estágio da remodelação óssea. Salientamos como resultado a progressiva regularização já discutida pelo autor com detalhes. Observou-se, aos sete dias, no grupo teste, matriz óssea com intensa atividade, caracterizada por um tecido osteóide imaturo. Aos 14 dias, foram visualizadas áreas de remodelação óssea com características importantes de reorganização e presença de espaços medulares. Aos 21 dias, a remodelação e a modelação óssea caracterizaram um tecido ósseo maduro e paralelismo da aposição óssea. Aos 45 dias, observaram-se camadas ósseas irregulares circunvolutivas que revelam um crescimento aposicional, com áreas de modelação óssea.

Os resultados deste estudo sugerem que o processo de reparo ósseo foi acelerado. No grupo teste, só foi encontrado tecido ósseo maduro aos 21 dias. No entanto, aos 45 dias pós-operatórios, não houve diferença no reparo ósseo alveolar, apresentando-se semelhantes em ambos os grupos, teste e controle. No

entanto, mais estudos são necessários para avaliar se os efeitos aqui descritos tem ou não significado clínico.

A utilização de modelos animais para experimentação científica é etapa fundamental dentro do processo da pesquisa. O processo de reparo ósseo alveolar tem sido estudado em diversos modelos animais, como macacos, cães e ratos, sendo o último o mais utilizado (OKAMOTO, RUSSO, 1973; CARVALHO, OKAMOTO, 1987; ALVES, OKAMOTO, 1989; OKAMOTO, YAMAMOTO, SONODA, 1994; PEREIRA, PERRI de CARVALHO, OKAMOTO, 1996). O estudo do laser de Er:YAG tem sido realizado tanto *in vitro* (KELLER E HIBST, 1992), quanto *in vivo*. Nestes, os modelos experimentais mais utilizados são os ratos (EI MONTASER et al AL, 1997, MARTINS, 2001, SASAKI, 2002). Essa escolha justifica-se, de um modo prático e consensual por poderem ser oriundos de uma mesma matriz; facilmente disponíveis; de fácil manipulação, manutenção e alimentação; e produzidos de forma razoavelmente barata.

O modelo experimental utilizado justifica-se uma vez que inexistem alternativas não-animais para a verificação deste tipo de pesquisa, concordando com os conceitos atuais de bioética da pesquisa em animais (GOLDIM, 2003; GOLDIM, RAYMUNDO; 2003a; GOLDIM, RAYMUNDO, 2003b). Desta forma, foram selecionados apenas animais nascidos e criados em cativeiro laboratorial. Usou-se um número reduzido de animais para o experimento, sem haver prejuízo quanto à validação científica do mesmo. Foi providenciada a melhor qualidade possível quanto ao alojamento, fornecimento de água e alimento ofertados aos animais, assegurando o preenchimento das necessidades básicas dos mesmos. Os animais

tiveram acompanhamento médico veterinário no pré, trans e pós-operatório. Usou-se anestesia em quantia e forma de aplicação ideais (FANTONI, CORTOPASSI, 1996). O êxito letal dos animais foi obtido através do uso de câmara de CO₂, obedecendo a Resolução Normativa 04/97, da Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde/GPPG/HCPA. O projeto foi também submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Desta forma, pode ser considerada uma pesquisa bioeticamente aceitável.

CONCLUSÃO

Segundo a metodologia empregada neste estudo experimental, concluímos que:

- após o uso do laser de Er:YAG, nos parâmetros utilizados, não foram observadas áreas de ablação e necrose teciduais, em todos os tempos experimentais;
- o reparo ósseo alveolar após o uso do laser Er:YAG, nos parâmetros utilizados, ocorreu mais rapidamente em comparação ao controle, principalmente entre os sete e 21 dias pós-operatórios;
- não houve diferença no reparo ósseo alveolar final, aos 45 dias pós-operatórios, em relação ao controle;
- o modelo de cirurgia experimental aqui proposto é único, sendo válido para pesquisas futuras em reparo ósseo alveolar;
- fazem-se necessários mais estudos para determinar parâmetros de irradiação passíveis de serem empregados clinicamente no reparo ósseo alveolar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS²⁹

ABERGEL, R. et al. Low Energy Lasers Simulate Collagen Production in Human Skin Fibroblast Cultures. **Clin. Res.**, Thorofare, NJ, v. 32, no. 1, p. 16A, Feb. 1984.

ALMEIDA-LOPES, L. **Análise In Vitro da Proliferação Celular de Fibroblastos de Gengiva Humana Tratados com Laser de Baixa Potência**. 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos. Disponível em: <<http://www.forp.usp.br/restauradora/laser/Luciana/fibroblasto.html>>. Acesso em: 29 set. 2001.

ALVES, M.C.R.; OKAMOTO, T. Influência do “Stress” no Processo de Reparo em Fendas de Extração Dental. Estudo Histológico em Ratos. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, v. 18, n. 1/2, p. 119-130, 1989.

BAILIN, P.L.; WHEELAND, R.G. Carbon Dioxide (CO₂) Laser Perforation of Exposed Cranial Bone to Stimulate Granulation Tissue. **Plast. Reconstr. Surg.**, Hagerstown, MD, v. 75, no. 6, p. 898-902, June 1985.

BARALDI, C.E.E. **Estudo In Vitro das Alterações Morfológicas de Superfície de Raízes Submetidas à Apicectomia e Irradiadas com Laser de Nd:YAG**. 1999. 91 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BARUSHKA, O.; YAAKOBI, T.; ORON, U. Effect of Low-Energy Laser (He-Ne) Irradiation on the Process of Bone Repair in the Rat Tibia. **Bone**, New York, v. 16, no. 1, p. 47-55, Jan. 1995.

BRADLEY, P.F. A Review of the Use of the Neodymium YAG Laser in Oral and Maxillofacial Surgery. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, Edinburgh, v. 35, no. 1, p. 26-35, Feb. 1997.

BUCHELT, M. et al. Erb:YAG and Hol:YAG Laser Osteotomy: The Effect of Laser Ablation on Bone Healing. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 15, no. 4, p. 373-381, 1994.

²⁹ De acordo com NBR6023: Informação e Documentação – Referências – Elaboração, de 2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas, e abreviaturas dos títulos dos periódicos segundo Medline.

BURKITT, H.G.; YOUNG, B.; HEATH, J.W. **Wheater Histologia Funcional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 409 p.

CARDOSO, C.F.R. **Avaliação Histológica da Junção Dento-Gengival Frente ao Uso de Cianocrilato na Luxação Extrusiva Parcial, em Dentes de Ratos**. 1998. 83 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. Reparação do Alvéolo Dental. In: _____. **Cirurgia Bucal: Fundamentos Experimentais Aplicados à Clínica**. São Paulo: Panamericana, 1987. Cap. 5, p. 55-80.

CONLAN, M.J.; RAPLEY, J.W.; COBB, C.N. Bioestimulation of Wound Healing by Low-Energy Laser Irradiation. A Review. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 23, no. 5, p. 492-496, May 1996.

CORSAIR, A. The Effects of a CO2 Laser on the Healing of a Bone Defect. **Dent. Today**, Montclair, NJ, v. 16, no. 3, p. 66-69, Mar 1997.

CUNHA FILHO, J.J. **Análise de alterações morfológicas na região cementária apical de dentes humanos unirradulares irradiados com a luz laser de Nd:YAG: um estudo "in vitro", através da microscopia eletrônica de varredura**. 1997. 104 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

DAVID, R. et al. Effect of Low-Power He-Ne Laser on Fracture Healing in Rats. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 19, no. 4, p. 458-464, 1996.

EDUARDO, C.P.; GOUW-SOARES, S.; HAYPEK, P. Utilização Clínica dos Lasers. In: CARDOSO, R.J.A.; GONÇALVES, E.A.N. (Coord.). **Dentística/Laser**. São Paulo: Artes Médicas, 2002. (Odontologia: Arte, Ciência e Técnica, v. 1). Cap. 23, p. 442-461.

EDUARDO, C.P.; TANJI, E.Y.; GOUW-SOARES, S. A Odontologia e o Laser. In: VANZILLOTTA, P.S.; SALGADO, L.P.S.; GONÇALVES, A.R. (Coord.). **Odontologia Integrada: Atualização Multidisciplinar para o Clínico e o Especialista**. Rio de Janeiro: Pedro Primeiro, 2002. Cap. 15, p. 403-425.

EL MONTASER, M. A. et al. Pattern of Healing of Calvarial Bone in the Rat Following Application of the Erbium:YAG Laser. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 21, no. 3, p. 255-261, 1997.

FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S.R.G. Técnicas Anestésicas em Animais de Laboratório. In: DE LUCA, R.R.; ALEXANDRE, S.R.; MARQUES, T. (Ed.). **Manual para Técnicos em Bioterismo**. 2. ed. São Paulo: Winer Graph, 1996. p. 157-164.

FIGUEIREDO, J.A.P. Características Histológicas do Primeiro Molar Permanente. In: PURICELLI, E. (Coord.). **Primeiro Molar Permanente: Uma Biografia da Odontologia**. São Paulo: Artes Médicas, 1998. Cap. 2., p. 5-8.

FRIESEN, L.R. et al. Laser Irradiation of Bone: II. Healing Response Following Treatment by CO₂ and Nd:YAG Lasers. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 70, no. 1, p. 75-83, Jan. 1999.

GARAVELLO-FREITAS, I. et al. Low-Power Laser Irradiation Improves Histomorphometrical Parameters and Bone Matrix Organization During Tibia Wound Healing in Rats. **J. Photochem. Photobiol. B**, Lausanne, v. 70, no. 2, p. 81-89, June 2003.

GOLDIM, J.R. **Avaliação da Pesquisa em Animais**. 2002. Disponível em: <<http://www.bioetica.ufrgs.br/jusani.htm>>. Acesso em: 13 jun. 2003.

GOLDIM, J.R.; RAYMUNDO, M.M. **Pesquisa em Animais**. 2003. Disponível em: <<http://www.bioetica.ufrgs.br/animrt.htm>>. Acesso em: 13 jun. 2003.

GOLDIM, J.R.; RAYMUNDO, M.M. **Princípios Gerais da Pesquisa em Animais**. 1997. Disponível em: <<http://www.bioetica.ufrgs.br/animprin.htm>>. Acesso em: 13 ago. 2003.

GREGORI, C. Reparação Tecidual. In: _____. **Cirurgia Buco-Dento-Alveolar**. São Paulo: Savier, 1996. Cap. 11, p. 104-108.

GUZZARDELLA, G.A. et al. Laser Stimulation on Bone Defect Healing: An In Vitro Study. **Lasers Med. Sci.**, London, v. 17, no. 3, p. 216-220, 2002.

GUZZARDELLA, G.A. et al. Laser Technology in Orthopedics: Preliminary Study on Low Power Laser Therapy to Improve the Bone-Biomaterial Interface. **Int. J. Artif. Organs**, Milano, v. 24, no. 12, p. 898-902, Dec. 2001a.

GUZZARDELLA, G.A. et al. Low-Power Diode Laser Stimulation of Surgical Osteochondral Defects: Results after 24 Weeks. **Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.**, New York, v. 29, no. 3, p. 235-244, May 2001b.

HERNÁNDEZ, P.A.G. **Avaliação da Ação do Colagel^R na Migração do Epitélio Juncional em Dentes Reimplantados**: Estudo Histológico em Ratos. 1996. 114 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

HIBST, R.; KELLER, U. Experimental Studies of the Application of the Er:YAG Laser on Dental Hard Substances: I. Measurement of the Ablation Rate. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 9, no. 4, p. 338-344, 1989.

HUPP, J.R. Reparação das Feridas. In: PETERSON, L.J. et al. (Ed.) **Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. Cap. 4, p. 54-62.

JAMES, H.E.; WILEY, C.A.; SCHNEIDER, S. The Effect of Carbon Dioxide Laser Irradiation on Cranial Bone Healing. An Experimental Study. **Childs Nerv. Syst.**, Berlin, v. 2, no. 5, p. 248-251, 1986.

JEE, W. The Skeletal Tissues. In: WEISS, L. (Ed.). **Cell and Tissue Biology: A Textbook of Histology**. Baltimore: Urban & Schwarzenberg Inc., 1988. P. 218-247.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433 p.

KARU, T.I. Molecular Mechanism of the Therapeutic Effect of Low-Intensity Laser Radiation. **Lasers Life Sci.**, Philadelphia, v. 2, no. 1, p. 53-74, 1988.

KAVO. **Gebrauchs-, Wartungs- und Montageanweisung=Instrucciones para el uso, de mantenimiento y de montaje**: Handstück E 2055, Handstück P 2056. 2. Aufl. Biberach, 1999a. 27 p.

KAVO. **Zahnmedizinisches Applikationshandbuch=Manual de aplicación odontológica**: K.E.Y. Laser. 6. Aufl. Biberach, 1999b. Paginação irregular.

KELLER, U.; HIBST, R. Effects of Erbium:YAG Laser Osteotomy. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, 3., 1992, Salt Lake. **Proceedings of the ISLD...** Utah: ISLD, 1992. P. 239-240.

KOMORI, T. et al. Erbium:YAG and Holmium:YAG Laser Root Resection of Extracted Human Teeth. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v. 15, no. 1, p. 9-13, Feb. 1997.

KRAUSE, L.S. et al. Laser Irradiation of Bone. I. An In Vitro Study Concerning the Effects of the CO₂ Laser on Oral Mucosa and Subjacent Bone. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 68, no. 9, p. 872-880, Sept. 1997.

KUCEROVA, H. et al. Low-Level Laser Therapy after Molar Extraction. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v. 18, no. 6, p. 309-315, Dec. 2000.

LAM, T. et al. Laser Stimulation of Collagen Synthesis in Human Skin Fibroblast Cultures. **Lasers Life Sci.**, Philadelphia, v. 1, no. 1, p. 61-77, 1986.

LI, Z.Z.; CODE, J.E.; VAN DE MERWE, W.P. Er:YAG Laser Ablation of Enamel and Dentin of Human Teeth: Determination of Ablation Rates at Various Fluences and Pulse Repetition Rates. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 12, no. 6, p. 625-630, 1992.

LUGER, E.J. 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, no. 2, p. 97-102, 1998.

MARTINS, G.L. **Estudo Microscópico do Reparo Ósseo na Mandíbula de Ratos Submetida a Ostectomias a Fresa Cirúrgica e Laser de Er:YAG**. 2001. 137 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARZOLA, C. Ferida Cirúrgica: Regeneração e Reparação: Processo de Reparo Alveolar. In: _____. **Manual de Cirurgia: Manobras Fundamentais na Cirurgia Oral**. Bauru: [s.n.], 1973. V. 2, cap. 4, p. 55-66.

McDAVID, V.G. et al. Laser Irradiation of Bone: III. Long-Term Healing Following Treatment by CO₂ and Nd:YAG Lasers. **J. Periodontol.**, Chicago, v. 72, no. 2, p. 174-182, Feb. 2001.

McKEE, M.D. Effects of CO₂ Laser Irradiation In Vivo on Rat Alveolar Bone and Incisor Enamel, Dentin, and Pulp. **J. Dent. Res.**, Alexandria, VA, v. 72, no. 10, p. 1406-1417, Oct. 1993.

MISERENDINO, L.J.; PICK, R.M. (Ed.). **Lasers in Dentistry**. Chicago: Quintessence, 1995. 341 p.

MYAKI, S.I.; TANJI, E.Y. Métodos de Preparos Cavitários Atraumáticos no Tratamento da Doença Cárie: O Uso do Laser. In: CARDOSO, R.J.A.;

GONÇALVES, E.A.N. (Coord.). **Dentística/Laser**. São Paulo: Artes Médicas, 2002. (Odontologia: Arte, Ciência e Técnica, v. 1). Cap. 24, p. 463-475.

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, no. 4, p. 362-374, 1989.

OHSHIRO, T; CALDERHEAD, R.G. Development of Low Reactive-Level Laser Therapy and its Present Status. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v. 9, no. 4, p. 267-275, Aug. 1991.

OKAMOTO, T.; RUSSO, M.C. Wound Healing Following Tooth Extraction. Histochemical Study in Rats. **Rev. Fac. Odontol. Araçatuba**, Araçatuba, v. 2, n. 2, p. 153-169, 1973.

OKAMOTO, T.; YAMAMOTO, M.E.; SONODA, C.K. Processo de Reparação Óssea após Osteotomia com Instrumentos Rotatórios de Alta Rotação. Estudo Histológico em Cães após Emprego de Dois Tipos de Broca com e sem Resfriamento. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 1, p. 21-25, jan./fev. 1994.

PEREIRA, J.A.; CARVALHO, A.C.P.; OKAMOTO, T. Osteotomia com Brocas Acionadas por Micromotor e Alta Rotação em Mandíbulas de Cães: Estudo Histológico Comparativo. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 9-18, jan./jun. 1996.

RASMUSSEN, I. **On Implant Integration in Membrane-Induced and Grafted Bone**. 1998. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Institute for Surgical Sciences, Göteborg University, Göteborg.

RIBEIRO, M.S. **Estudo Teórico-Experimental dos Efeitos Não Térmicos da Radiação Laser Polarizada em Tecidos Vivos**. 1991. 110 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo.

ROSENSHEIN, J.S. The Physics of Surgical Lasers. **Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 9, no. 1, p. 33-47, Feb. 1997.

SASAKI, K.M. et al. Ultrastructural Analysis of Bone Tissue Irradiated by Er:YAG Laser. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 31, no. 5, p. 322-332, 2002.

SEPULCRI, M.V.; LORENZO, B.O. Laser Erbium-YAG: principios físicos y aplicaciones en odontología. In: KAVO DO BRASIL. **KaVo Key Laser 2: A Tecnologia que Satisfaz a Todos**. Joinville, [1990?]. Não Paginado.

SILVA Jr., A.N. et al. Computerized Morphometric Assessment of the Effect of Low-Level Laser Therapy on Bone Repair: An Experimental Animal Study. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, New York, v. 20, no. 2, p. 83-87, Apr. 2002.

SIQUEIRA Jr., J.F.; DANTAS, C.J.S. Reparação Tecidual: Aspectos Biodinâmicos. In: _____. **Mecanismos Celulares e Moleculares da Inflamação**. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. Cap. 17, p. 197-225.

TEN CATE, A.R. Osso. In: _____. **Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001a. Cap. 7, p. 101-122.

TEN CATE, A.R. Reparo e Regeneração do Tecido Dentário. In: _____. **Histologia Bucal: Desenvolvimento, Estrutura e Função**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001b. Cap. 18, p. 379-392.

WHITE, J.M.; GOODISH, H.E.; ROSE, C.L. Use of the Pulsed Nd:YAG Laser for Intraoral Soft Tissue Surgery. **Lasers Surg. Med.**, New York, v. 11, no. 5, p. 455-461, 1991.