

D 2012



**RESPOSTA TECIDULAR EM INTERVENÇÕES CIRÚRGICAS COM O
LASER DE ERBIUM: YTTRIUM, ALUMINIUM, GARNET (Er:YAG)**

João Manuel Lopes Alves Braga
TESE DE DOUTORAMENTO APRESENTADA
À FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO EM MAIO DE 2012
MEDICINA DENTÁRIA

FICHA TÉCNICA

Edição do autor

Título: Resposta tecidual em intervenções cirúrgicas com o Laser de Erbium: Yttrium, Aluminium, Garnet (Er:YAG)

Autor: João Manuel Lopes Alves Braga

Impressão: Clássica – Artes Gráficas, S.A.

Orientadores:

Professor Doutor António Cabral de Campos Felino

Professora Doutora Maria Helena Raposo Fernandes

À Ana, ao André, à Ana Marta e à Ana Rita

Aos meus pais, à minha irmã Natália
e à memória da minha irmã Isabel

Aos meus sobrinhos João Luís, Bernardo e Rodrigo

A toda a minha restante família

Aos meus afilhados

Ao Excelentíssimo Senhor
Professor Doutor António Cabral de Campos Felino

À Excelentíssima Senhora
Professora Doutora Maria Helena Raposo Fernandes

Aos meus Mestres

Aos docentes da
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Ao pessoal não docente da
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Aos meus alunos e ex-alunos

Aos meus amigos

Aos colegas que me acompanharam nos Órgãos Sociais
da Ordem dos Médicos Dentistas

Aos meus “antigos” colegas docentes
da Universidade Fernando Pessoa

Aos colegas que me acompanharam de perto
no meu percurso de estudante

A todos os médicos dentistas
que, diariamente, tão bem cuidam da saúde oral da população

Aos meus pacientes

Só quem experimenta, compreende!

AGRADECIMENTOS

A elaboração de uma tese de dissertação é algo que exige muita dedicação e baseia-se num trajeto pessoal, profissional e académico, no qual muitas pessoas fazem sentir a sua influência. A família, os amigos, os colegas e a maioria dos professores, desde o ensino primário ao universitário, são aqueles que mais nos influenciam no nosso trajeto de vida. Com todos eles aprendemos e nos valorizamos a cada instante. Claro está que alguns nos marcam mais e outros menos, mas todos deixam a sua contribuição positiva, mesmo que pela negativa, na nossa formação humana e académica.

Esta tese só foi possível pela participação de inúmeras pessoas que me ajudaram a superar todas as fases deste longo percurso. A todas elas quero agradecer, publicamente, a sua colaboração numa ampla série de vertentes.

Não poderia deixar de começar por agradecer à pessoa que mais marcou (e marca) o meu trajeto académico: o Senhor Prof. Doutor António Felino. Desde os tempos de estudante, nas aulas clínicas do 5º ano (ano letivo 1992/1993), que a sua presença, ensinamentos e sabedoria muito me influenciaram, como profissional e como ser humano. Recordo-me, como se tudo se tivesse desenrolado há minutos, todos os detalhes de um diálogo (quase monólogo) que mantivemos a duas semanas do final da minha licenciatura. Marcou-me na época e ainda hoje, frequentemente, me recordo do que falámos nas mais diversas situações. O seu interesse em fazer evoluir o seu aluno foi, mais uma vez, determinante para o meu futuro. Sem dúvida alguma que a forte amizade que nos une, a convivência e consequente partilha da sua riquíssima experiência muito me tem influenciado ao longo do meu percurso académico, clínico e pessoal. Agradeço-lhe toda a compreensão, estímulo e apoio desde sempre, o facto de sempre ter confiado em mim e de me ter apoiado e aconselhado, principalmente nos momentos mais difíceis. Foi ele também que me iniciou na área do *Laser*, incentivando-me sempre na procura da excelência. A sua personalidade, forma de estar perante a vida e profissão é muito peculiar e, por isso, muito tem contribuído para a ascensão da medicina dentária em geral, e da cirurgia oral em particular. Presto aqui a minha homenagem a um homem, professor, colega e amigo, a todos os níveis EXCECCIONAL, que jamais esquecerei.

AGRADECIMENTOS

À Senhora Professora Doutora Maria Helena Raposo Fernandes, coorientadora da tese, pela prontidão e simpatia com que sempre me acompanhou e por toda a compreensão e apoio face às dificuldades que foram surgindo ao longo deste percurso. Não sendo médica dentista, nota-se, contudo, o carinho que desenvolveu por esta área de conhecimento, tendo conseguido conquistar a admiração deste grupo profissional, de uma forma generalizada. Deixo aqui o meu agradecimento a uma professora por quem tenho uma forte admiração desde a época de estudante, quando me lecionou a disciplina de Farmacologia em 1990/1991 e me incutiu o interesse por esta área de estudo, tão importante para a nossa prática clínica de cirurgia oral. Foi uma enorme honra poder contar consigo.

Ao Senhor Professor Doutor João Carlos Ramos pelos conselhos e ensinamentos que me prestou a toda e qualquer hora. A sua disponibilidade, amizade e incentivo foram imprescindíveis, principalmente nos mais difíceis momentos e estados de espíritos. A constante procura da excelência, a sua capacidade de escutar, compreender e aconselhar, aliada ao seu elevado conhecimento e experiência científica nas inúmeras áreas da Medicina Dentária foram, para mim, preciosas na elaboração desta tese e na definição das linhas mestras deste trabalho. Foi nas ocasiões mais difíceis uma verdadeira âncora, conseguindo transmitir-me uma serenidade invulgar nesses momentos. Deixo aqui registada a minha enorme admiração pelo homem, professor, investigador e, acima de tudo, um grande amigo.

Ao Senhor Dr. António Reis pelo apoio prestado. Sem ele não teria sido possível a realização da parte experimental. A enorme generosidade que revelou merece ser aqui sublinhada. Pela confiança que sempre depositou em mim, pelo incentivo que sempre me deu enquanto colegas docentes na disciplina de Cirurgia e pela partilha de experiência, fica também aqui o meu agradecimento.

Ao Senhor Professor Doutor Afonso Pinhão Ferreira, Diretor da FMDUP, pelas constantes e fortes palavras de incentivo. A sua forma de estar, tenacidade e pragmatismo foram uma fonte de inspiração ao longo deste caminho. Registo aqui a minha admiração pessoal.

Ao Senhor Professor Doutor Fernando Guerra pelo apoio prestado na parte laboratorial do estudo. O elevado nível científico, espírito crítico, aconselhamento e incentivo foram muito importantes. O seu percurso académico como investigador e professor universitário é um exemplo a seguir e uma referência para os médicos dentistas.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Professor Ricardo Faria e Almeida pela partilha dos seus conhecimentos científicos e apoio sem qualquer hesitação, pelo acompanhamento e procura de soluções para os problemas ou dificuldades surgidas. O seu papel foi muito importante no desenrolar dos trabalhos de forma direta e indireta. É notável a sua capacidade de, mesmo nos momentos difíceis, aconselhar com ideias claras, simples e explícitas. O seu percurso académico exemplar é um reflexo de todas estas qualidades.

Ao Senhor Professor Doutor João F C Carvalho pelo incentivo, pelos bons conselhos que foi emanando ao longo deste período de tempo e enquanto meu professor.

À Senhora Professora Doutora Helena Figueiredo por toda a ajuda prestada, sempre com enorme entusiasmo e empenho, que espelha todo o seu amor pela ciência. O seu elevado nível científico e conhecimento que foi partilhando constituíram uma das pedras basilares do estudo histológico. Registo aqui a minha gratidão e admiração.

Ao colega e amigo Orlando Martins pelo seu incansável apoio prestado durante toda a tese. A sua ajuda, conhecimento, experiência e presença constante foram essenciais para a sua elaboração. Foi um elo muito importante na cirurgia experimental e na ligação com o laboratório e microscopia. O seu espírito de pronta colaboração e iniciativa foram fulcrais. Sem ele, tudo teria sido muito mais difícil. Muito obrigado por tudo.

Ao colega, amigo e ex-aluno Daniel Ferreira pelo apoio incansável e pela disponibilidade permanente para ajudar em tudo o que lhe solicitava. A sua prontidão e eficácia no desenvolvimento dos trabalhos da fase experimental foram fundamentais.

Ao colega João Brochado Martins pela sua disponibilidade incondicional em ajudar-me na análise histológica dos inúmeros cortes selecionados. O seu conhecimento científico numa área “mal-amada” foi de extrema importância.

Aos colegas Paulo Palma e João Cavaleiro pela preciosa ajuda na introdução à histomorfometria.

À Senhora D. Cláudia Brites, assistente técnica do Departamento de Medicina Dentária, Estomatologia e Cirurgia Maxilofacial da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra que colaborou de forma valiosa e incansável no processamento das amostras. A sua total disponibilidade, profissionalismo e simpatia foram extremamente importantes. A ciência em Portugal precisa de pessoas assim.

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Professor Doutor Francisco Caramelo pela ajuda no tratamento estatístico dos dados. O seu conhecimento científico foi fundamental e imprescindível para este trabalho.

À colega Ana Messias pelos seus ensinamentos e ajuda na área da estatística.

À colega Catarina Eloy pelo estímulo, pelo apoio, e disponibilidade demonstrada. O seu elevado nível de conhecimento científico, as suas capacidades, a sua força, e a formação académica e pessoal são admiráveis e uma fonte de inspiração.

Aos meus colegas docentes nas Unidades Curriculares de Cirurgia Oral Filipe Coimbra, Inês Guerra Pereira, Pedro Sousa Gomes e João Gião Carvalho pela ajuda, pelo incentivo e pelo apoio prestado sempre que deles necessitei.

Ao colega e amigo Francisco Salvado pelas fortes palavras de incentivo, ensinamentos e estímulo, principalmente no início deste percurso.

Ao Senhor Professor Doutor José Manuel Lopes Teixeira Amarante, Diretor do Serviço de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, pela sua colaboração e prontidão no acesso a este excelente serviço. Agradeço-lhe a simpatia e a forma como me ajudou a tornar fáceis as possíveis dificuldades.

À Senhora Dr^a Maria Luísa Lourenço Lopes Guardão, Diretora do Biotério Geral da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (BGMUP) pela forma como colaborou com todos os assuntos relacionados com a cirurgia experimental. A sua experiência, conhecimentos e prestabilidade foram importantes para o desenrolar do estudo experimental.

À técnica Liliana Leite, do BGMUP, pela sua preciosa colaboração no desenvolvimento das cirurgias experimentais, sempre muito prestável e competente nas suas funções.

A todo o pessoal que trabalha no BGMUP pela sua simpatia e pronta resposta a todas as necessidades manifestadas. A eficácia e rapidez de ação foram notáveis.

À Senhora D. Delfina Alves pela ajuda pronta e eficaz em todos os assuntos relacionados com a Biblioteca da FMDUP e com a obtenção de parte da bibliografia necessária para esta tese. A sua forma de estar e conhecimentos merecem a minha admiração.

À Senhora Dr^a Carla Pinto pelo apoio e atenção sempre dispensadas enquanto Técnica Superior da Direção Científico-Pedagógica. Sempre disponível e atenta no desempenho das suas funções, é uma ajuda preciosa para os alunos de doutoramento da FMDUP. Fica aqui registada a minha gratidão pela sua preciosa ajuda e compreensão.

AGRADECIMENTOS

À Senhora D. Manuela Miranda pela constante disponibilidade, eficácia e ajuda na resolução de problemas. Incansável, prestável, amiga e sempre com boa disposição. Uma ajuda imprescindível na FMDUP.

À Senhora D. Alexandra Lopes e ao Senhor Vítor Caldas de Moura pela preciosa ajuda no dia-a-dia da Faculdade. Uma boa equipa na retaguarda evita a ocupação do espírito, libertando-nos para funções mais importantes.

Aos colegas e amigos Jorge Pereira e ao Paulo Macedo pelo seu incentivo e apoio.

Ao meu sobrinho João Luís pelos “desenhos de engenheiro”.

A todos os colegas, amigos e familiares que entenderam as minhas longas ausências. Presentes ou ausentes, todos estiveram sempre no meu pensamento e foram importantes, principalmente, nas horas mais complicadas, quando, sem o saberem, me inspiravam e ajudavam a superar esses momentos. Está aqui a explicação de muita ausência...

Às minhas assistentes de consultório Paula Ferreira e Mónica Lemos pelo apoio prestado e pela disponibilidade para me ajudarem sempre que necessário.

Ao Sr. António Teixeira, delegado comercial da empresa NSK e ao Sr. Paulo Costa (WH) por disponibilizarem uma parte dos equipamentos necessários à realização das cirurgias e pela prontidão de resposta a todas as solicitações. Assim se prestigia e dignifica, ainda mais, duas marcas de excelência na área da medicina dentária.

A todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Por fim, mas não menos importante, agradeço, do fundo do coração, à minha mulher, aos meus filhos (que incessantemente questionavam quando é que eu terminava...), aos meus pais e à minha irmã, por tudo, tudo, tudo...e para sempre...

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos.....	xvii
Índice geral.....	xxiii
Índice de ilustrações	xxxii
Índice de tabelas.....	xxxvii
Índice de gráficos.....	xxxix
Palavras-chave.....	xli
Keywords.....	xliii
Siglas, símbolos, fórmulas e abreviaturas	xliv
Resumo	xlvii
Abstract.....	li
1. Aspectos gerais.....	1
2. O <i>Laser</i>	9
2.1 Perspetiva histórica	9
2.1.1 Das teorias da luz até ao <i>Laser</i>	9
2.1.2 O início do <i>Laser</i> na medicina dentária e na cirurgia oral	17
2.2 Descrição dos <i>Lasers</i>	19
2.3 Classificação dos <i>Lasers</i>	24
2.4 Outras classificações dos <i>Lasers</i>	27
2.4.1 <i>Lasers</i> de estado sólido	28
2.4.2 <i>Lasers</i> a gás.....	33
2.4.3 <i>Lasers</i> de semiconductor	36
2.5 Modo e meios de emissão do feixe.....	37
2.5.1 Emissão contínua ou feixe contínuo	37
2.5.2 Emissão pulsada.....	37
2.6 Propriedades óticas	41

ÍNDICE GERAL

2.6.1	Comprimento de onda	41
2.6.2	Potência do feixe	41
2.6.3	Divergência e tamanho do feixe	42
2.6.4	Coerência.....	43
2.6.5	Eficiência	44
2.7	A interação com os tecidos biológicos.....	45
2.7.1	Reflexão.....	47
2.7.2	Absorção.....	47
2.7.3	Dispersão.....	48
2.7.4	Transmissão.....	49
2.8	Mecanismos biológicos de ação do <i>Laser</i>	50
2.8.1	Interação fotoquímica.....	51
2.8.2	Interação fototérmica	53
2.8.3	Interação fotomecânica e fotoionizante	55
3.	A piezocirurgia	56
3.1	Conceitos básicos	60
3.2	Mecanismos de ação	60
3.3	Aplicações em medicina dentária.....	61
4.	O osso.....	63
4.1	Aspetos gerais	63
4.2	Estrutura do tecido ósseo	66
4.2.1	Estrutura morfológica	66
4.2.2	Estrutura macroscópica	66
4.2.3	Estrutura microscópica	69
4.3	Composição do tecido ósseo.....	70
4.3.1	Células ósseas	70
4.3.2	Matriz óssea	73

ÍNDICE GERAL

4.3.3	Perióstio e endóstio	74
4.4	Osteogénese	76
4.4.1	Ossificação intramembranosa	76
4.4.2	Ossificação endocondral	77
4.5	Regeneração óssea	78
5.	Revisão da literatura	79
5.1	Estratégia de pesquisa	80
5.1.1	Bases de dados eletrónicas	80
5.2	Método de seleção	81
5.3	<i>Laser Er:YAG</i> e osteotomia.....	83
5.4	Piezocirurgia e osteotomia	97
5.4.1	Estudos Clínicos experimentais	97
5.4.2	Estudos experimentais <i>in vitro</i>	99
5.4.3	Estudos experimentais <i>in vivo</i>	100
6.	Objetivos gerais	101
7.	Materiais e métodos	103
7.1	A amostra.....	103
7.2	Os animais.....	107
7.2.1	Encomenda e transporte.....	107
7.2.2	Classificação taxonómica do rato Wistar Han	108
7.2.3	A anatomia do rato	109
7.2.4	Receção e avaliação à chegada.....	109
7.2.5	Manutenção, manipulação e bem-estar animal.....	110
7.3	O equipamento e material cirúrgico.....	112
7.3.1	O <i>Laser Er:YAG</i>	112
7.3.2	O aparelho piezocirúrgico	116
7.3.3	O motor de cirurgia.....	117

7.3.4	O instrumental cirúrgico e outro	118
7.4	O procedimento cirúrgico	119
7.4.1	Pesagem inicial	119
7.4.2	Anestesia	119
7.4.3	Protocolo pré-cirúrgico	120
7.4.4	Protocolo cirúrgico.....	122
7.4.5	Recuperação da anestesia.....	127
7.5	O pós-operatório	128
7.5.1	Medicação pós-operatória	128
7.5.2	Acompanhamento dos animais.....	128
7.6	O sacrifício dos animais	129
7.6.1	Colheita do material.....	130
7.7	O processamento histológico.....	132
7.7.1	Técnica descalcificada	132
7.8	Microscopia ótica	143
7.8.1	Análise histológica qualitativa	143
7.9	Análise histológica quantitativa (Histomorfometria)	145
7.10	Análise estatística	148
8.	Resultados	149
8.1	Períodos per e pós-operatório	149
8.1.1	Observação clínica dos animais.....	149
8.2	Análise macroscópica	150
8.3	Análise histológica qualitativa.....	151
8.3.1	Broca cirúrgica esférica de tungsténio (Baixa rotação).....	151
8.3.2	<i>Laser</i> Er:YAG (2940 nm)	161
8.3.3	Piezocirúrgico	172
8.4	Análise histológica quantitativa	181

ÍNDICE GERAL

8.4.1	Considerações gerais	181
8.4.2	Resultados histomorfométricos	182
8.4.3	Broca (0 dias)	184
8.4.4	<i>Laser</i> (0 dias).....	184
8.4.5	Piezocirúrgico (0 dias)	184
8.4.6	Broca (3 dias)	185
8.4.7	<i>Laser</i> (3 dias).....	185
8.4.8	Piezocirúrgico (3 dias)	185
8.4.9	Broca (7 dias)	186
8.4.10	<i>Laser</i> (7 dias).....	186
8.4.11	Piezocirúrgico (7 dias)	186
8.4.12	Broca (14 dias)	187
8.4.13	<i>Laser</i> (14 dias).....	187
8.4.14	Piezocirúrgico (14 dias)	187
8.4.15	Broca (28 dias)	188
8.4.16	<i>Laser</i> (28 dias).....	188
8.4.17	Piezocirúrgico (28 dias)	188
8.4.18	Broca (42 dias)	189
8.4.19	<i>Laser</i> (42 dias).....	189
8.4.20	Piezocirúrgico (42 dias)	189
8.4.21	Outras imagens de análise quantitativa.....	190
8.5	Tempos necessários à execução dos defeitos.....	191
8.5.1	Momento zero (<i>ex vivo</i>)	191
8.5.2	Momentos 3, 7, 14, 28 e 42 (<i>in vivo</i>)	192
8.6	Análise estatística	194
8.6.1	Descrição da amostra.....	194
8.7	Relação Novo osso formado / Volume total	195

ÍNDICE GERAL

8.7.1	Análise inferencial.....	196
8.7.2	Análise de formação de novo osso	197
8.7.3	Testes post-hoc (Mann-Whitney)	198
8.7.4	Avaliação da formação de novo osso.....	200
8.7.5	Associação entre os tempos de execução e o novo osso formado	203
8.7.6	Evolução do peso	204
8.7.7	Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial	205
8.7.8	Effect size	209
8.7.9	Hipótese nula.....	209
9.	Discussão.....	210
9.1	Modelo animal	213
9.2	Osteotomias.....	218
9.3	Metodologia.....	220
9.3.1	Os métodos de osteotomia testados.....	220
9.3.2	A anestesia, a técnica cirúrgica e a eutanásia	221
9.3.3	O processamento histológico	224
9.4	Comparação com a literatura publicada.....	225
9.5	Hipótese explicativas dos resultados obtidos.....	231
9.6	Extrapolação clínica dos resultados.....	233
9.7	Proposta de novas metodologias	235
9.8	Novas linhas de investigação	236
10.	Conclusões.....	239
11.	Aplicações comuns do <i>Laser</i>	249
11.1	Na indústria.....	249
11.2	No quotidiano	251
12.	O <i>Laser</i> em medicina dentária.....	253
12.1	Dentisteria operatória	254

ÍNDICE GERAL

12.1.1	Remoção de cáries e preparação cavitária	254
12.1.2	Hipersensibilidade dentinária.....	254
12.2	Periodontologia.....	255
12.3	Ortodontia.....	255
12.4	Endodontia.....	256
12.5	Disfunção temporo-mandibular.....	256
12.6	Odontopediatria.....	257
12.7	Cirurgia oral.....	258
13.	Outras aplicações médicas do <i>Laser</i>	259
13.1	O <i>Laser</i> em oftalmologia.....	260
13.2	O <i>Laser</i> em dermatologia.....	265
13.3	O <i>Laser</i> em urologia.....	270
13.4	O <i>Laser</i> em neurocirurgia.....	272
13.5	A segurança na utilização do <i>Laser</i>	275
13.5.1	Os perigos do <i>Laser</i>	276
14.	Bibliografia.....	281

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 1 - ESPETRO DE ABSORÇÃO DA ÁGUA, HIDROXIAPATITE, DESOXIHEMOGLOBINA, OXIHEMOGLOBINA E MELANINA	6
ILUSTRAÇÃO 2 - A: SIR ISAAC NEWTON. B: PÁGINA INICIAL DO LIVRO "OPTICKS", 1704(25).....	10
ILUSTRAÇÃO 3 - CHRISTIAAN HUYGENS(30)	11
ILUSTRAÇÃO 4 - PÁGINA INICIAL DO LIVRO "TRAITÉ DE LA LUMIÈRE"(31).....	11
ILUSTRAÇÃO 5 - INVERSÃO DA POPULAÇÃO.....	20
ILUSTRAÇÃO 6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA BÁSICA DA CÂMARA DE RESSONÂNCIA DE UM LASER	23
ILUSTRAÇÃO 7 - ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO.....	28
ILUSTRAÇÃO 8 - COMPRIMENTO E AMPLITUDE DE UMA ONDA.....	41
ILUSTRAÇÃO 9 - FEIXE DE LUZ INCOERENTE (A) VS. LUZ COERENTE (B).....	43
ILUSTRAÇÃO 10 - COMPORTAMENTO DA LUZ POLICROMÁTICA (LUZ BRANCA) VERSUS A LUZ MONOCROMÁTICA (LUZ LASER).....	44
ILUSTRAÇÃO 11 - RATO WISTAR HAN (FONTE: CRL).....	108
ILUSTRAÇÃO 12 - O SISTEMA ESQUELÉTICO DO RATO.....	109
ILUSTRAÇÃO 13 - CARACTERÍSTICAS DO FEIXE E DA LUZ GUIA.....	112
ILUSTRAÇÃO 14 - ETIQUETA IDENTIFICATIVA DO APARELHO	112
ILUSTRAÇÃO 15 - DETALHE DA PEÇA DE MÃO COLOCADA NO BRAÇO ARTICULADO	113
ILUSTRAÇÃO 16 - RESERVATÓRIO DE SORO PARA REFRIGERAÇÃO DO CAMPO OPERATÓRIO	113
ILUSTRAÇÃO 17 - PROTEÇÃO OCULAR DE ELEMENTO DA EQUIPA CIRÚRGICA	114
ILUSTRAÇÃO 18 - PROTEÇÃO OCULAR DOS ANIMAIS	114
ILUSTRAÇÃO 19 - LIGAÇÃO PARA INTERRUPTOR DE PORTA (PARTE POSTERIOR DO APARELHO).....	114
ILUSTRAÇÃO 20 - SIMBOLOGIA DE ALERTA DE USO DE LASER.....	114
ILUSTRAÇÃO 21 - BOTÃO DE ATIVAÇÃO	114
ILUSTRAÇÃO 22 - CHAVE DE SEGURANÇA.....	114
ILUSTRAÇÃO 23 - TUBOS DO SISTEMA DE REFRIGERAÇÃO DA PEÇA DE MÃO DO LASER (A- AR; W – ÁGUA)	115
ILUSTRAÇÃO 24 - PEÇA DE MÃO SEM CONTACTO R02-C.....	115
ILUSTRAÇÃO 25 - ECRÃ COM AS DEFINIÇÕES USADAS NA CIRURGIA	115
ILUSTRAÇÃO 26 - CONTRAPESO DO BRAÇO ARTICULADO DO LASER	116
ILUSTRAÇÃO 27 - PEDAL DE ATIVAÇÃO COM PROTEÇÃO (VISTA FRONTAL)	116
ILUSTRAÇÃO 28 - PEDAL DE ATIVAÇÃO COM PROTEÇÃO (VISTA SUPERIOR)	116
ILUSTRAÇÃO 29 - PONTA CIRÚRGICA ADIAMANTADA - MODELO Nº SG7D (VISTA LATERAL E VISTA FRONTAL)	116
ILUSTRAÇÃO 30 - PAINEL DE COMANDO DO APARELHO PIEZOCIRÚRGICO	116
ILUSTRAÇÃO 31 - PAINEL DE COMANDO DO MOTOR CIRÚRGICO W&H® IMPLANTMED	117
ILUSTRAÇÃO 32 - BROCA ESFÉRICA KOMET® H141A 018	117
ILUSTRAÇÃO 33 - MICROMOTOR E CONTRA-ÂNGULO W&H® COM BROCA ESFÉRICA E IRRIGAÇÃO EXTERNA	117
ILUSTRAÇÃO 34 - ASPETO DA TRICOTOMIA - PERNA DIREITA.....	120
ILUSTRAÇÃO 35 - SOLUÇÃO ANTisséTICA	120
ILUSTRAÇÃO 36 - ASPETO DA TRICOTOMIA - PERNA ESQUERDA.....	120
ILUSTRAÇÃO 37 - LÍNGUA TRACIONADA LATERALMENTE AOS INCISIVOS	121
ILUSTRAÇÃO 38 – ASPETO MAIS DETALHADO DA TRICOTOMIA	121
ILUSTRAÇÃO 39 - VISTAS DA MESA CIRÚRGICA E LUMINÁRIA OPERATÓRIA	121
ILUSTRAÇÃO 40 - CONFIRMAÇÃO DE LOCALIZAÇÃO DA INCISÃO	122

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 41 - PAQUÍMETRO DIGITAL FISCHER DAREX®	122
ILUSTRAÇÃO 42 - ASPETO DO PRIMEIRO TEMPO DE INCISÃO DÉRMICA – 15 MM.....	123
ILUSTRAÇÃO 43 - INCISÃO DO PLANO MUSCULAR E PERIÓSTEO	123
ILUSTRAÇÃO 44 - ASPETO DA INCISÃO FINALIZADA.....	123
ILUSTRAÇÃO 45 - EXECUÇÃO DO DEFEITO COM PONTA PIEZOCIRÚRGICA E IRRIGAÇÃO. OBSERVAR O SPRAY GERADO.	124
ILUSTRAÇÃO 46 – ASPETO FINAL DA EXECUÇÃO DO DEFEITO COM PONTA PIEZOCIRÚRGICA.....	124
ILUSTRAÇÃO 47 - EXECUÇÃO DA OSTEOTOMIA COM BROCA.....	124
ILUSTRAÇÃO 48 - ASPETO FINAL DO DEFEITO REALIZADO COM BROCA.....	124
ILUSTRAÇÃO 49 - OSTEOTOMIA COM LASER ER:YAG (OBSERVAR O DISPOSITIVO POSICIONADOR ADAPTADO E FEIXE GUIA)	124
ILUSTRAÇÃO 50 – SORO FISIOLÓGICO ESTÉRIL B BRAUN (1000 ML).....	124
ILUSTRAÇÃO 51 – SUTURA DO PLANO MUSCULAR (PASSAGEM DA AGULHA)	125
ILUSTRAÇÃO 52 - SUTURA DO PLANO MUSCULAR (CORTE DO FIO)	125
ILUSTRAÇÃO 53 - ASPETO DA TÉCNICA DE SUTURA CUTÂNEA.....	126
ILUSTRAÇÃO 54 - SUTURA FINALIZADA NAS DUAS PERNAS.....	126
ILUSTRAÇÃO 55 - FIO DE SUTURA SAFIL® (BBRAUN®).....	126
ILUSTRAÇÃO 56 - ANIMAL LOGO APÓS A CIRURGIA	127
ILUSTRAÇÃO 57 - GAIOLA COM LÂMPADA DE INFRAVERMELHOS	127
ILUSTRAÇÃO 58 - INJEÇÃO INTRAPERITONIAL	129
ILUSTRAÇÃO 59 - TESTE PARA AVERIGUAR O ESTADO ANESTÉSICO DO ANIMAL.....	129
ILUSTRAÇÃO 60 - ASPETO DA CICATRIZAÇÃO DA FERIDA OPERATÓRIA (7 DIAS)	130
ILUSTRAÇÃO 61 - ASPETO DA CICATRIZAÇÃO DA FERIDA OPERATÓRIA (7 DIAS): AMPLIAÇÃO (NA HORIZONTAL) DA PERNA DIREITA	130
ILUSTRAÇÃO 62 - SECÇÃO TRANSVERSAL DOS TECIDOS MOLES NA PARTE DISTAL DA PERNA.....	130
ILUSTRAÇÃO 63 - SECÇÃO LONGITUDINAL DOS TECIDOS MOLES AO LONGO DA PERNA.....	130
ILUSTRAÇÃO 64 - DESARTICULAÇÃO DA TÍBIA NA ARTICULAÇÃO DO JOELHO.....	131
ILUSTRAÇÃO 65 - TÍBIA APÓS COLHEITA (COM PATA E FÍBULA).....	131
ILUSTRAÇÃO 66 - TÍBIA DISSECADA (VISÃO ANTERIOR)	131
ILUSTRAÇÃO 67 - TÍBIA DISSECADA (VISÃO POSTERIOR)	131
ILUSTRAÇÃO 68 - ETIQUETA IDENTIFICATIVA DO FORMALDEÍDO 10%.....	131
ILUSTRAÇÃO 69 - FRASCOS DE COLHEITA IDENTIFICADOS	131
ILUSTRAÇÃO 70 - UNIDADE DE DESIDRATAÇÃO E INFILTRAÇÃO CONTENDO AS AMOSTRAS (VISTA FRONTAL).....	134
ILUSTRAÇÃO 71 - PAINEL DE COMANDO COM INDICAÇÃO DE Nº DE CICLOS DE AGITAÇÃO POR MINUTO	134
ILUSTRAÇÃO 72 - UNIDADE DE DESIDRATAÇÃO E INFILTRAÇÃO CONTENDO AMOSTRAS (VISTA SUPERIOR)	135
ILUSTRAÇÃO 73 - CASSETES IDENTIFICADAS DENTRO DOS RECIPIENTES COM SOLUÇÃO DE MORSE	135
ILUSTRAÇÃO 74 - ESTUFA (VISTA FRONTAL)	136
ILUSTRAÇÃO 75 - ESTUFA: PAINEL DE CONTROLO	136
ILUSTRAÇÃO 76 - PARAFINA NA ESTUFA	137
ILUSTRAÇÃO 77 - TÍBIA INCLuíDA NO BLOCO DE PARAFINA	137
ILUSTRAÇÃO 78 - MICRÓTOMO – LEICA RM 2155, LEICA - PORTUGAL	137
ILUSTRAÇÃO 79 – EXECUÇÃO DOS CORTES NO BLOCO DE PARAFINA NO MICRÓTOMO	137
ILUSTRAÇÃO 80 - SEQUÊNCIA DE CORTES OBTIDOS NO MICRÓTOMO ("TÉNIA")	138
ILUSTRAÇÃO 81 - SEQUÊNCIA DE CORTES ("TÉNIA") EM ÁLCOOL A 30%	138
ILUSTRAÇÃO 82 - BANHO-MARIA (FALC® - ITÁLIA).....	138
ILUSTRAÇÃO 83 – BANHO-MARIA (FALC® - ITÁLIA). DETALHE DO PAINEL DE COMANDO.....	138

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 84 – CORTES HISTOLÓGICOS EM BANHO-MARIA.....	139
ILUSTRAÇÃO 85 - COLOCAÇÃO DOS CORTES HISTOLÓGICOS NAS LÂMINAS, A PARTIR DO BANHO-MARIA	139
ILUSTRAÇÃO 86 - PROCESSO DE COLOCAÇÃO, DOS CORTES HISTOLÓGICOS NA LÂMINA, FINALIZADO.....	139
ILUSTRAÇÃO 87 - PLACA AQUECIMENTO (OTS 403040).....	139
ILUSTRAÇÃO 88 – PORMENOR DO PAINEL DE CONTROLO DA PLACA DE AQUECIMENTO, COM INDICAÇÃO DA TEMPERATURA.....	139
ILUSTRAÇÃO 89 – PORMENOR DAS LÂMINAS SOBRE A PLACA DE AQUECIMENTO	139
ILUSTRAÇÃO 90 - LÂMINAS NA ESTUFA.....	139
ILUSTRAÇÃO 91 - LÂMINA PREPARADA PARA COLORAÇÃO	139
ILUSTRAÇÃO 92 - RECIPIENTE CONTENDO HEMATOXILINA, EOSINA E ÁGUA DESTILADA	141
ILUSTRAÇÃO 93 - RECIPIENTE CONTENDO ÁLCOOL II A 100%	142
ILUSTRAÇÃO 94 - RECIPIENTE CONTENDO ÁLCOOL A 96%.....	142
ILUSTRAÇÃO 95 - MICROSCÓPIO ÓTICO NIKON®	143
ILUSTRAÇÃO 96 - MÁQUINA FOTOGRÁFICA NIKON® ADAPTADA AO MICROSCÓPIO	143
ILUSTRAÇÃO 97 - ESTEREOMICROSCÓPIO BINOCULAR NIKON®	145
ILUSTRAÇÃO 98 – CORTE HISTOLÓGICO REALIZADO LOGO APÓS A REALIZAÇÃO DO DEFEITO COM RECURSO A BROCA (2X)	151
ILUSTRAÇÃO 99 – MAIOR AMPLIAÇÃO DE REGIÃO DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR, PERMITINDO OBSERVAR COM MAIOR DETALHE O BORDO DO DEFEITO (10X)	151
ILUSTRAÇÃO 100 – DEFEITO COM 3 DIAS DE EVOLUÇÃO, MOSTRANDO GRANDES ÁREAS DE TECIDO CONJUNTIVO MUITO RICO EM CÉLULAS E A PRESENÇA DE FINAS TRABÉCULAS ÓSSEAS LOCALIZADA NA SUA ZONA MAIS PERIFÉRICA (4X).....	152
ILUSTRAÇÃO 101 – MAIOR AMPLIAÇÃO DE ZONA DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR. EVIDENCIA-SE A ATIVIDADE OSTEOGÉNICA OBSERVADA JUNTO ÀS MARGENS DO DEFEITO, REPRESENTADA POR UMA REDE DE TRABÉCULAS ÓSSEAS ORIENTADAS EM DIREÇÃO AO CENTRO, MAS SEM O ALCANÇAR. (10X)...	152
ILUSTRAÇÃO 102 - ASPETO HISTOLÓGICO DE UM DEFEITO, APÓS 7 DIAS, MOSTRANDO A ESTRUTURA E A ORGANIZAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO TRABECULAR, DE FORMAÇÃO RECENTE, QUE PREENCHE A QUASE TOTALIDADE DO DEFEITO. (4X)	153
ILUSTRAÇÃO 103 - ASPETO HISTOLÓGICO DE UM DEFEITO, APÓS 7 DIAS, IDÊNTICO AO REPRESENTADO NA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR. (4X)	154
ILUSTRAÇÃO 104 - MAIOR AMPLIAÇÃO DE ZONA DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR. OBSERVAR NUMEROSAS TRABÉCULAS ÓSSEAS SEPARADAS POR TECIDO CONJUNTIVO LAXO MUITO VASCULARIZADO E ALGUMAS ÁREAS DE MEDULA ÓSSEA. NOTÓRIA A LINHA DE SEPARAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO NEOFORMADO / ORIGINAL. (10X)	154
ILUSTRAÇÃO 105 – MAIOR DETALHE DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR, ONDE É MAIS VISÍVEL A LINHA DE SEPARAÇÃO DO TECIDO NEOFORMADO. (20X)	154
ILUSTRAÇÃO 106 - H – MEDULA ÓSSEA COM OSTEOBLASTOS CONTORNANDO AS TRABÉCULAS ÓSSEAS. (20X).....	155
ILUSTRAÇÃO 107 – PROLIFERAÇÃO DE VASOS SANGUÍNEOS (20X).....	155
ILUSTRAÇÃO 108 - TRABÉCULAS ÓSSEAS MOSTRANDO PROCESSOS DE REMODELAÇÃO CARACTERIZADOS PELA PRESENÇA DE CÉLULAS OSTEOCLÁSTICAS (40X)	155
ILUSTRAÇÃO 109 - ASPETO DE UM DEFEITO AO FIM DE 14 DIAS OBSERVANDO-SE, EM RELAÇÃO AOS PERÍODOS ANTERIORES, UM MAIOR NÚMERO DE TRABÉCULAS MUITO MAIS ESPESAS E COM MENOR QUANTIDADE DE TECIDO CONJUNTIVO A SEPARÁ-LAS, APROXIMANDO-SE MORFOLOGICAMENTE DE UM TECIDO ÓSSEO COMPACTO. (4X)	156
ILUSTRAÇÃO 110 - MAIOR AMPLIAÇÃO DE ZONA DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR PONDO EM EVIDÊNCIA A FORMAÇÃO DE NUMEROSOS SISTEMAS DE HAVERS (10X)	157
ILUSTRAÇÃO 111 – PRESENÇA DE UMA GRANDE DENSIDADE DE TRABÉCULAS ÓSSEAS, OBSERVADA AOS 14 DE EVOLUÇÃO, OCUPANDO UMA EXTENSA ÁREA ENTRE A FACE EXTERNA DO OSSO CORTICAL E O RESPECTIVO PERIÓSTEO. (4X).....	157
ILUSTRAÇÃO 112 - LINHA DE SEPARAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO NEOFORMADO / TECIDO ÓSSEO NATIVO E ESPAÇOS MEDULARES. (10X)	157
ILUSTRAÇÃO 113 - ASPETO DO PREENCHIMENTO DE UM DEFEITO AOS 28 DIAS SENDO ASSINALÁVEL A ÁREA OCUPADA POR MATRIZ ÓSSEA. (4X).....	158

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 114 - IMAGEM DA REGIÃO MAIS PERIFÉRICA DE UM DEFEITO COM 28 DIAS DE EVOLUÇÃO MOSTRANDO A PRESENÇA DE ALGUMAS ÁREAS DE TECIDO ÓSSEO IMATURO RODEADAS POR LAMELAS ÓSSEAS CONCÊNTRICAS FORMANDO SISTEMAS DE HAVERS. É TAMBÉM POSSÍVEL OBSERVAR A LINHA DE DEMARCAÇÃO COM O TECIDO ÓSSEO NATIVO, QUE CONSTITUI A PAREDE DO DEFEITO. (20X).....	158
ILUSTRAÇÃO 115 - ASPETO DE UM DEFEITO COM 42 DIAS DE EVOLUÇÃO COMEÇANDO A TORNAR-SE DIFÍCIL A IDENTIFICAÇÃO PRECISA DO SEU LIMITE. (4X).....	159
ILUSTRAÇÃO 116 - MAIOR AMPLIAÇÃO DE UMA ZONA REPRESENTADA NA FIGURA ANTERIOR PONDO EM EVIDÊNCIA A ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DO TECIDO ÓSSEO NEOFORMADO QUE SE APROXIMA JÁ DE UM TECIDO ÓSSEO COMPACTO. (10X).....	159
ILUSTRAÇÃO 117 - CORTE HISTOLÓGICO REALIZADO LOGO APÓS A CRIAÇÃO DE UM DEFEITO EFETUADO COM RECURSO A LASER. (2X).....	161
ILUSTRAÇÃO 118 - MAIOR AMPLIAÇÃO DE UMA ZONA REPRESENTADA NA FIGURA ANTERIOR PERMITINDO OBSERVAR A PRESENÇA DE UM MATERIAL AMORFO LOCALIZADO AO LONGO DO BORDO DO DEFEITO. (40 X).....	161
ILUSTRAÇÃO 119 – CORTE HISTOLÓGICO ONDE É POSSÍVEL IDENTIFICAR A FAIXA DE MATERIAL AMORFO E TECIDO DE GRANULAÇÃO. (20X).....	162
ILUSTRAÇÃO 120 – MAIOR DETALHE DO BORDO DELIMITANTE DO DEFEITO, IDENTIFICANDO-SE UMA REGIÃO INTENSAMENTE CORADA (MATERIAL AMORFO). (40X).....	162
ILUSTRAÇÃO 121 - DEFEITO EFETUADO COM LASER (4X).....	163
ILUSTRAÇÃO 122 - ASPETO HISTOLÓGICO DE UM DEFEITO, COM 7 DIAS DE EVOLUÇÃO, MOSTRANDO UMA CONSIDERÁVEL DENSIDADE DE TRABÉCULAS ÓSSEAS ESPALHADAS POR TODO O DEFEITO. (10X).....	164
ILUSTRAÇÃO 123 – ASPETO DO PERIÓSTEO COM PROLIFERAÇÃO CELULAR CARACTERÍSTICA DA FASE REPARATIVA DA REGENERAÇÃO ÓSSEA. (10X).....	164
ILUSTRAÇÃO 124 - IMAGEM DA REGIÃO MAIS PERIFÉRICA DE UM DEFEITO AO FIM DE 7 DIAS DE EVOLUÇÃO MOSTRANDO UMA ZONA DE TECIDO CONJUNTIVO PREDOMINANTEMENTE CELULAR SITUADA ENTRE A PAREDE DO DEFEITO E AS PRIMEIRAS TRABÉCULAS ÓSSEAS. (20X).....	164
ILUSTRAÇÃO 125 – MEDULA ÓSSEA (40X).....	165
ILUSTRAÇÃO 126 - PRESENÇA DE ALGUMAS CÉLULAS OSTEOCLÁSTICAS TRADUZINDO O INÍCIO DE UM PROCESSO DE REABSORÇÃO E REMODELAÇÃO ÓSSEA OBSERVÁVEL AOS 7 DIAS DE EVOLUÇÃO. (40X).....	165
ILUSTRAÇÃO 127 - PRESENÇA DE CÉLULAS OSTEOCLÁSTICAS TRADUZINDO O INÍCIO DE UM PROCESSO DE REABSORÇÃO E REMODELAÇÃO ÓSSEA. (40X).....	165
ILUSTRAÇÃO 128 - IMAGEM DA CONSTITUIÇÃO HISTOLÓGICA DAS TRABÉCULAS ÓSSEAS E SUA LIGAÇÃO COM AS MARGENS DO DEFEITO, PRESENTES AO FIM DE 14 DIAS DE EVOLUÇÃO. É JÁ VISÍVEL, NESTAS TRABÉCULAS, A PRESENÇA DE ALGUMAS ZONAS DE TECIDO ÓSSEO LAMELAR NA PERIFERIA DO TECIDO ÓSSEO IMATURO. ENCONTRAMOS TAMBÉM ENTRE AS TRABÉCULAS GRANDES ÁREAS DE TECIDO CONJUNTIVO LAXO MUITO VASCULARIZADO E MEDULA ÓSSEA. (4X).....	166
ILUSTRAÇÃO 129 – AMPLIAÇÃO DE PARTE DA IMAGEM ANTERIOR, ONDE SE PODE VISUALIZAR O DESCRITO, COM MAIOR DETALHE. (10X).....	167
ILUSTRAÇÃO 130 – MEDULA ÓSSEA (20X).....	167
ILUSTRAÇÃO 131 – OSTEOCLASTOS PARTICIPANDO NO PROCESSO DE REMODELAÇÃO ÓSSEO. (40X).....	167
ILUSTRAÇÃO 132 - ASPETO DO DEFEITO APÓS 28 DIAS DE EVOLUÇÃO OBSERVANDO-SE, PRATICAMENTE, O SEU TOTAL PREENCHIMENTO.....	168
ILUSTRAÇÃO 133 – AMPLIAÇÃO DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR. OBSERVAR O QUASE TOTAL DESAPARECIMENTO DA LINHA QUE DELIMITA O DEFEITO. (10X).....	169
ILUSTRAÇÃO 134 E ILUSTRAÇÃO 135 – PRESENÇA DE SISTEMAS HAVERS FORMADOS POR GRANDE NÚMERO DE LAMELAS ÓSSEAS CONCÊNTRICAS, OCUPANDO GRANDES ÁREAS DO DEFEITO. OBSERVAR A EXISTÊNCIA DE ZONAS DE TECIDO ÓSSEO IMATURO ENTRE O TECIDO ÓSSEO LAMELAR. (20X).....	169
ILUSTRAÇÃO 136 – TRABÉCULAS ÓSSEAS (10X).....	169
ILUSTRAÇÃO 137 - IMAGEM HISTOLÓGICA DO COMPLETO PREENCHIMENTO DE UM DEFEITO POR TECIDO ÓSSEO MAIORITARIAMENTE COMPACTO. (4X).....	170
ILUSTRAÇÃO 138 – MAIOR AMPLIAÇÃO DO BORDO DO DEFEITO ONDE SE PODE COMPARAR A ORGANIZAÇÃO E UNIÃO DO NOVO TECIDO ÓSSEO COM O TECIDO ÓSSEO NATIVO. (20X).....	170
ILUSTRAÇÃO 139 – CORTE HISTOLÓGICO APÓS A CRIAÇÃO DE UM DEFEITO (2X).....	172
ILUSTRAÇÃO 140 – CORTE HISTOLÓGICO (4 X).....	172

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 141 E ILUSTRAÇÃO 142 – MAIOR AMPLIAÇÃO DE UMA ZONA REPRESENTADA NA IMAGEM ANTERIOR EVIDENCIANDO A PRESENÇA DE UMA ESTREITA FAIXA DE MATERIAL AMORFO LOCALIZADO AO LONGO DO BORDO DO DEFEITO. (40X)	172
ILUSTRAÇÃO 143 - IMAGEM HISTOLÓGICA DA REGIÃO MAIS PERIFÉRICA DE UM DEFEITO COM 3 DIAS DE EVOLUÇÃO MOSTRANDO A PRESENÇA DE EDEMA CELULAR E CÉLULAS COM PERFIL INFLAMATÓRIO. (4X)	173
ILUSTRAÇÃO 144 - MAIOR AMPLIAÇÃO DE UMA ZONA REPRESENTADA NA FIGURA ANTERIOR. (10X).....	173
ILUSTRAÇÃO 145 - CORTE HISTOLÓGICO DE UM DEFEITO COM 7 DIAS DE EVOLUÇÃO SENDO JÁ VISÍVEL UMA CONSIDERÁVEL ATIVIDADE OSTEOGÊNICA, PARTICULARMENTE EVIDENTE JUNTO ÀS MARGENS DO DEFEITO. É TAMBÉM POSSÍVEL OBSERVAR QUE O ESPAÇO ENTRE AS TRABÉCULAS ÓSSEAS ESTÁ OCUPADO POR UM TECIDO CONJUNTIVO MUITO RICO EM CÉLULAS. (4X).....	174
ILUSTRAÇÃO 146 – TECIDO CONJUNTIVO PREDOMINANTEMENTE CELULAR COM ALGUMAS ZONAS INICIAIS DE CALCIFICAÇÃO. (4X)	175
ILUSTRAÇÃO 147 – MAIOR AMPLIAÇÃO DA ZONA CENTRAL DO DEFEITO EVIDENCIANDO O FORTE COMPONENTE CELULAR DO TECIDO CONJUNTIVO. (10X)	175
ILUSTRAÇÃO 148 – A PERIFERIA DO DEFEITO É FACILMENTE DELIMITADA, OBSERVANDO-SE, NESTA ZONA, TECIDO ÓSSEO IMATURO. (20X)	175
ILUSTRAÇÃO 149 - ASPETO DE UM DEFEITO COM 14 DIAS DE EVOLUÇÃO PONDO EM EVIDÊNCIA A PRESENÇA DE NUMEROSAS TRABÉCULAS ÓSSEAS, OCUPANDO TODO O DEFEITO, SEPARADAS POR UM TECIDO CONJUNTIVO MUITO VASCULARIZADO, E COM A PRESENÇA DE MEDULA ÓSSEA. (4X)	176
ILUSTRAÇÃO 150 - AMPLIAÇÃO DE ZONA PERIFÉRICA DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR JUNTO À LINHA DE DELIMITAÇÃO DO DEFEITO. VISUALIZAM-SE COM MAIOR PRECISÃO AS TRABÉCULAS ÓSSEAS LOCALIZADAS NA PERIFERIA DO DEFEITO. (20X)	176
ILUSTRAÇÃO 151 - IMAGEM DE UM DEFEITO COM 28 DIAS DE EVOLUÇÃO MOSTRANDO SINAIS DE FORMAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MUITOS SISTEMAS DE HAVERS OBSERVADOS, MAIORITARIAMENTE, NA PERIFERIA DO DEFEITO. (10X)	177
ILUSTRAÇÃO 152 – LIMITE DE UM DEFEITO COM 28 DIAS. É NOTÓRIA, AINDA, A LINHA DE DEMARCAÇÃO ENTRE O TECIDO ÓSSEO NEOFORMADO E O TECIDO ÓSSEO ORIGINAL. ATENTE-SE, AINDA, A FORMAÇÃO CENTRÍPETA DO NOVO TECIDO ÓSSEO, NO QUAL SE OBSERVAM DIVERSOS OSTEOCITOS. (40X)	177
ILUSTRAÇÃO 153 - IMAGEM HISTOLÓGICA DE UM DEFEITO COM 42 DIAS DE EVOLUÇÃO APRESENTANDO-SE PREENCHIDO POR UM TECIDO ÓSSEO COMPACTO COM MUITOS SISTEMAS DE HAVERS. (4X)	178
ILUSTRAÇÃO 154 – IMAGEM AMPLIADA DA ILUSTRAÇÃO ANTERIOR. (10X).....	178
ILUSTRAÇÃO 155 - ASPETO HISTOLÓGICO DO TECIDO ÓSSEO NEOFORMADO NO INTERIOR DE UM DEFEITO COM 42 DIAS DE EVOLUÇÃO SENDO DE REGISTAR A ENORME QUANTIDADE DE TECIDO ÓSSEO IMATURO AINDA PRESENTE. (20X)	179
ILUSTRAÇÃO 156 - ASPETO HISTOLÓGICO DO TECIDO ÓSSEO IMATURO AINDA PRESENTE. (20X)	179
ILUSTRAÇÃO 157 - ASPETO HISTOLÓGICO DO TECIDO ÓSSEO IMATURO AINDA PRESENTE. (20X)	179
ILUSTRAÇÃO 158 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (0 DIAS).	184
ILUSTRAÇÃO 159 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (0 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.....	184
ILUSTRAÇÃO 160 - DEFEITO EFETUADO COM LASER (0 DIAS).....	184
ILUSTRAÇÃO 161 - DEFEITO EFETUADO COM LASER (0 DIAS). ROI IRREGULAR, DEFINIDO.	184
ILUSTRAÇÃO 162 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (0 DIAS).	184
ILUSTRAÇÃO 163 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (0 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.....	184
ILUSTRAÇÃO 164 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (3 DIAS).	185
ILUSTRAÇÃO 165 - - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (3 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.	185
ILUSTRAÇÃO 166 - DEFEITO EFETUADO COM LASER (3 DIAS).....	185
ILUSTRAÇÃO 167 - DEFEITO EFETUADO COM LASER (3 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.....	185
ILUSTRAÇÃO 168 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (3 DIAS).	185
ILUSTRAÇÃO 169 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (3 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.....	185
ILUSTRAÇÃO 170 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (7 DIAS).	186
ILUSTRAÇÃO 171 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (7 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.....	186

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 172 - DEFEITO EFETUADO C/ <i>LASER</i> (7 DIAS).....	186
ILUSTRAÇÃO 173 - DEFEITO EFETUADO C/ <i>LASER</i> (7 DIAS). ROI c/ 1,6 MM DE DIÂMETRO.....	186
ILUSTRAÇÃO 174 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (7 DIAS).....	186
ILUSTRAÇÃO 175 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (7 DIAS). ROI c/ 18 MM DE DIÂMETRO.....	186
ILUSTRAÇÃO 176 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (14 DIAS).....	187
ILUSTRAÇÃO 177 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (14 DIAS). TECIDO ÓSSEO NEOFORMADO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	187
ILUSTRAÇÃO 178 - DEFEITO EFETUADO COM <i>LASER</i> (14 DIAS).....	187
ILUSTRAÇÃO 179 - DEFEITO EFETUADO COM <i>LASER</i> (14 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	187
ILUSTRAÇÃO 180 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (14 DIAS).....	187
ILUSTRAÇÃO 181 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (14 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.	187
ILUSTRAÇÃO 182 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (28 DIAS).....	188
ILUSTRAÇÃO 183 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (28 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	188
ILUSTRAÇÃO 184 - DEFEITO EFETUADO COM <i>LASER</i> (28 DIAS).....	188
ILUSTRAÇÃO 185 - DEFEITO EFETUADO COM <i>LASER</i> (28 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	188
ILUSTRAÇÃO 186 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (28 DIAS).....	188
ILUSTRAÇÃO 187 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (28 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.	188
ILUSTRAÇÃO 188 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (42 DIAS).....	189
ILUSTRAÇÃO 189 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (42 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	189
ILUSTRAÇÃO 190 - DEFEITO EFETUADO COM <i>LASER</i> (42 DIAS).....	189
ILUSTRAÇÃO 191 - DEFEITO EFETUADO COM <i>LASER</i> (42 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	189
ILUSTRAÇÃO 192 - DEFEITO EFETUADO COM PIEZOCIRÚRGICO (42 DIAS).....	189
ILUSTRAÇÃO 193 - DEFEITO EFETUADO COM BROCA (42 DIAS). AUSÊNCIA DE TECIDO ÓSSEO DELIMITADA A AZUL E PREENCHIDA A CINZENTO.....	189
ILUSTRAÇÃO 194 - <i>LASER</i> 28 DIAS. ROI DE 1,8 MM.....	190
ILUSTRAÇÃO 195 - <i>LASER</i> 28 DIAS. OSSO NEOFORMADO SELECIONADO E IDENTIFICADO A AMARELO.....	190
ILUSTRAÇÃO 196 - <i>LASER</i> 28 DIAS. AUSÊNCIA DE OSSO IDENTIFICADA A AMARELO. (INVERSÃO DA ILUSTRAÇÃO 191).....	190
ILUSTRAÇÃO 197 - <i>LASER</i> 28 DIAS. IMAGEM “TOPOGRÁFICA”.....	190
ILUSTRAÇÃO 198 – OSSO NATIVO DA CORTICAL DA TÍBIA.....	190
ILUSTRAÇÃO 199 – OSSO NATIVO DA CORTICAL DA TÍBIA.....	190
ILUSTRAÇÃO 200 - AVISO DE SEGURANÇA DO <i>LASER</i> FOTONA HT FIDELIS.....	275
ILUSTRAÇÃO 201 - ÓCULOS DE PROTEÇÃO PARA <i>LASER</i> ER:YAG.....	278

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS <i>LASERS</i> SEGUNDO A FDA E A IEC.....	25
TABELA 2 - RISCOS DA EXPOSIÇÃO À LUZ LASER EM FUNÇÃO DA SUA CLASSIFICAÇÃO IEC(93).....	26
TABELA 3 - EFEITOS DA TEMPERATURA NO TECIDO ALVO (13, 91, 93, 137-139).....	46
TABELA 4 - RESUMO DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA (<i>LASER</i> E OSTEOTOMIA).....	82
TABELA 5 - RESUMO DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA (PIEZOCIRURGIA E OSTEOTOMIA)	82
TABELA 6 - DESCRIÇÃO DO TIPO DE DEFEITOS REALIZADOS EM CADA GRUPO	104
TABELA 7 - DISTRIBUIÇÃO ALEATÓRIA DOS ANIMAIS POR SUBGRUPOS (I, II, III, IV, V E VI)	105
TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS POR SUBGRUPO (Sg), GAIOLA E DIA DA EUTANÁSIA	106
TABELA 9 - LISTA DE AGENTES TESTADOS NOS CONTROLOS DE ROTINA PARA RATOS NA CRL (FONTE: CRL).....	108
TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS DO <i>LASER</i> Er:YAG FOTONA® HT FIDELIS	113
TABELA 11 - CARACTERÍSTICAS DEFINIDAS NO <i>LASER</i> FOTONA® HT FIDELIS NO ÂMBITO DO ESTUDO EXPERIMENTAL	115
TABELA 12 - PESOS INICIAIS DOS ANIMAIS APÓS ATRIBUIÇÃO ALEATÓRIA DA NUMERAÇÃO	119
TABELA 13 - PROTOCOLO DE DESIDRATAÇÃO	135
TABELA 14 - RELAÇÃO DE VOLUME DE OSSO NEOFORMADO (NBV) / VOLUME TOTAL DO DEFEITO (TV) – 7 DIAS	182
TABELA 15 – RELAÇÃO DE VOLUME DE OSSO NEOFORMADO (NBV) / VOLUME TOTAL DO DEFEITO (TV) – 14 DIAS	183
TABELA 16 - RELAÇÃO DE VOLUME DE OSSO NEOFORMADO (NBV) / VOLUME TOTAL DO DEFEITO (TV) – 28 DIAS	183
TABELA 17 - RELAÇÃO DE VOLUME DE OSSO NEOFORMADO (NBV) / VOLUME TOTAL DO DEFEITO (TV) – 42 DIAS	183
TABELA 18 - TABELA DOS TEMPOS NECESSÁRIOS À EXECUÇÃO DOS DEFEITOS (<i>EX VIVO</i>). ORDENAÇÃO CRESCENTE. (MM:SS).....	191
TABELA 19 - TEMPOS NECESSÁRIOS À EXECUÇÃO DOS DEFEITOS (<i>IN VIVO</i>). ORDENAÇÃO CRESCENTE. (MM:SS).....	192
TABELA 20 - PESO INICIAL (#KRUSKAL-WALLIS)	194
TABELA 21- PESO FINAL (#KRUSKAL-WALLIS).....	194
TABELA 22 - PERCENTAGEM DE NOVO OSSO FORMADO (NBV/TV x 100).....	195
TABELA 23 – TESTE DE FORMAÇÃO DE VOLUME DE NOVO OSSO (NBV).....	197
TABELA 24 – ASSOCIAÇÃO ENTRE OS TEMPOS CIRÚRGICOS E O NOVO OSSO FORMADO (NBV/TV) – MÉTODO: BROCA	203
TABELA 25 – ASSOCIAÇÃO ENTRE OS TEMPOS CIRÚRGICOS E O NOVO OSSO FORMADO (NBV/TV) – MÉTODO: <i>LASER</i>	203
TABELA 26 – ASSOCIAÇÃO ENTRE OS TEMPOS CIRÚRGICOS E O NOVO OSSO FORMADO (NBV/TV) – MÉTODO: PIEZOCIRÚRGICO ..	203
TABELA 27 - DESCRIÇÃO DO TIPO DE DEFEITOS REALIZADOS EM CADA GRUPO	205
TABELA 28 - CÁLCULO DO <i>EFFECT SIZE</i> : <i>OUTPUT</i> DO G*POWER	209
TABELA 29 - RESUMO DOS PESOS (INICIAIS E FINAIS), TEMPOS DE INTERVENÇÃO E NBV/TV.....	243

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - PERCENTAGENS VOLUMÉTRICAS DA COMPOSIÇÃO DOS TECIDOS ORAIS(13).....	7
GRÁFICO 2 - GRÁFICO DOS TEMPOS NECESSÁRIOS À EXECUÇÃO DOS DEFEITOS (EX VIVO). ORDENAÇÃO CRESCENTE. (MM:SS)	191
GRÁFICO 3 - TEMPOS NECESSÁRIOS À EXECUÇÃO DOS DEFEITOS (IN VIVO). ORDENAÇÃO CRESCENTE. (MM:SS)	193
GRÁFICO 4 - TEMPOS NECESSÁRIOS À EXECUÇÃO DOS DEFEITOS (IN VIVO). ORDENAÇÃO CRONOLÓGICA. (MM:SS).....	193
GRÁFICO 5 - MÉDIA DOS VALORES NBV/TV, EM PERCENTAGEM, NOS DIFERENTES PERÍODOS, PARA OS TRÊS MÉTODOS	196
GRÁFICO 6 - RELAÇÃO NBV/TV x 100 (7, 14, 28 E 42 DIAS).....	198
GRÁFICO 7 - COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS ENTRE OS DIFERENTES TEMPOS E TABELA RESPETIVA	200
GRÁFICO 8 - COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS ENTRE OS DIFERENTES TEMPOS E TABELA CORRESPONDENTE	201
GRÁFICO 9 - COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS ENTRE OS DIFERENTES TEMPOS E TABELA CORRESPONDENTE	202
GRÁFICO 10 - CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL - SUBGRUPO I.....	206
GRÁFICO 11 - CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL - SUBGRUPO II.....	206
GRÁFICO 12 - CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL - SUBGRUPO III.....	207
GRÁFICO 13 - CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL - SUBGRUPO IV	207
GRÁFICO 14 - CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL - SUBGRUPO V	208
GRÁFICO 15 - CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL - SUBGRUPO VI	208
GRÁFICO 16 – PERCENTAGEM DE ABSORÇÃO DOS COMPONENTES DO OLHO EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA (NM)	277

PALAVRAS-CHAVE¹

Cirurgia oral ([E06.892](#))

Cirurgia óssea piezo-elétrica ([E04.943.937](#))

Histologia ([H01.158.100.656](#))

Histomorfometria

Lasers ([E07.632.490](#))

Laser Er:YAG ([E07.632.490.490](#))

Medicina dentária ([E06](#))

Osteogênese ([G07.700.320.500.325.377.625.100.729](#))

Osteotomia ([E04.555.580](#))

Piezocirurgia ([E04.943.937](#))

Ratos Wistar ([B01.050.150.900.649.865.635.505.700.900](#))

Regeneração óssea ([G16.100.856.150.150](#))

Técnica de descalcificação ([E05.200.750.288](#))

Tíbia ([A02.835.232.043.650.883](#))

¹ Nomenclatura DeCS – Descritores em Ciências da Saúde ([Código hierárquico](#)).

Fonte: Biblioteca Virtual em Saúde (www.decs.bvs.br)

KEYWORDS²

Bone regeneration ([G16.100.856.150.150](#))

Decalcification Technique ([E05.200.750.288](#))

Dentistry ([E06](#))

Er: YAG Lasers ([E07.632.490.490](#))

Histology ([H01.158.100.656](#))

Histomorphometry

Lasers ([E07.632.490](#))

Osteogenesis ([G07.700.320.500.325.377.625.100.729](#))

Osteotomy ([E04.555.580](#))

Piezo-electric bone surgery ([E04.943.937](#))

Piezosurgery ([E04.943.937](#))

Rats, Wistar ([B01.050.150.900.649.865.635.505.700.900](#))

Surgery, oral ([E06.892](#))

Tibiae ([A02.835.232.043.650.883](#))

² Nomenclatura MeSH Heading – Medical Subject Heading (Tree Number)

Fonte: U.S. National Library of Medicine (www.nlm.nih.gov/mesh)

SIGLAS, SÍMBOLOS, FÓRMULAS E ABREVIATURAS

® – Marca registada

∅ – Diâmetro

Ad libitum – expressão em latim que significa “à vontade”

ANSI – American National Standards Institute (Instituto Americano de Normalização)

ARNm – Ácido Ribonucleico mensageiro

BGFMUP – Biotério Geral da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

CRL – Charles River Laboratories

DGV – Direção Geral de Veterinária

Dif. – Diferença

DPX – Distyrene, Plasticizer and Xylene

EN – Norma Europeia

EPI – Equipamento de proteção individual

Er:YAG – Erbium: Ytrium, Aluminium, Garnet (Érbio: Ítrio, Alumínio, Granada)

FA – Fosfatase alcalina

FDA – Food and Drug Administration

FELASA – Federation of European Laboratory Animal Science Associations

(Federação Europeia de Ciência de Animais de Laboratório)

fs – Femtossegundo (10^{-15} s)

g – Grama

Ga-As – Gálio-Arsénio

GHz – Giga hertz (10^9 Hz)

HE – Hematoxilina Eosina

He-Ne – Hélio - Néon

HILT – High intensity *Laser* treatment

Ho: YAG – Holmium: Ytrium, Aluminium, Garnet (Hólmio: Ítrio, Alumínio, Granada)

Hz – Hertz (s^{-1})

IEC – International Electrotechnical Commission

ISI – Institute for Scientific Information

J – Joule

K – Kelvin

SIGLAS, SÍMBOLOS, FÓRMULAS E ABREVIATURAS

Laser – Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation

LASIK – *Laser Assisted in situ Keratomileusis*

LLLT – Low Level *Laser* Therapy (Laserterapia de baixa intensidade)

λ – “Lambda” - Comprimento de onda.

m – Metro

mJ – Milijoule (10^{-3} J)

mm – Milímetro (10^{-3} m)

ms – Milissegundo (10^{-3} s)

μ m – Micrómetro (10^{-6} m)

μ s – Microsegundo (10^{-6} s)

Maser – Microwave Amplification by the Stimulated Emission of Radiation

NBV – New Bone Volume (Volume de novo osso formado)

nm – Nanómetro (10^{-9} m)

ns – Nanossegundo (10^{-9} s)

OB – Osteoblasto

OC – Osteoclasto

PDGF – Fatores de crescimento derivados das plaquetas

ps – Picossegundo (10^{-12} s)

Rpm – Rotações por minuto

RER – Retículo endoplasmático rugoso

ROI – Region of interest (Região de interesse)

s – segundo (unidade de tempo do Sistema Internacional)

Sg – Subgrupo

SPF – Specific Pathogen Free (Livre de agentes patogénicos específicos)

TIFF – Tagged Image File Format

TRT – Tempo de Relaxamento Térmico

TV – Total Volume (Volume total do defeito criado)

VSP – Variable Square Pulse

W – Watt

RESUMO

Diversos atos clínicos no âmbito da Cirurgia Oral envolvem procedimentos em tecidos duros, nomeadamente em tecido ósseo. São inúmeros os métodos pelos quais a osteotomia pode ser realizada. Desde os finais dos anos 90 que o *Laser* e a piezocirurgia (ou cirurgia óssea piezoelétrica) têm assumido maior relevância nesta área. No entanto os estudos são, ainda, escassos, os resultados muito díspares e, na maior parte das vezes, impossíveis de comparar e inferir resultados.

O objetivo primordial deste estudo foi efetuar uma análise histológica, qualitativa e quantitativa, comparativa da regeneração óssea (sem qualquer tipo de biomaterial), após a realização de um defeito não crítico em cada uma das tíbias de ratos Wistar Han com os seguintes métodos:

- *Laser* de Erbium: Ytrium, Aluminium, Garnet (Er:YAG) ($\lambda = 2940$ nm);
- Aparelho piezocirúrgico;
- Broca cirúrgica esférica de tungsténio montada em contra-ângulo 1:1.

Foram utilizados 60 ratos albinos Wistar Han (Charles River Laboratories), com cerca de 12 semanas de vida e peso médio de $345 \text{ g} \pm 45 \text{ g}$.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: Broca (B), *Laser* (L) e Piezocirúrgico (P). Para uniformizar a distribuição dos defeitos pelos animais, e pela tíbia direita ou esquerda de cada um deles, constituíram-se 6 subgrupos (I a VI) consoante o método a usar para a osteotomia (B, P ou L) e a tíbia (direita ou esquerda) onde iria ser realizado o defeito, com base no programa informático QuickCalcs® Web da GraphPad Software:

	Tíbia direita	Tíbia esquerda
SUBGRUPO I	<i>Laser</i> Er:YAG	Piezocirurgia
SUBGRUPO II	<i>Laser</i> Er:YAG	Broca
SUBGRUPO III	Piezocirurgia	<i>Laser</i> Er:YAG
SUBGRUPO IV	Piezocirurgia	Broca
SUBGRUPO V	Broca	<i>Laser</i> Er:YAG
SUBGRUPO VI	Broca	Piezocirurgia

RESUMO

A broca de cirúrgica esférica foi montada num contra-ângulo 1:1 em motor de cirurgia (Implantmed® – W&H) a baixa rotação (1500 rpm), a peça de mão (R02-C), sem contacto, no *Laser Er:YAG* em modo “Super Short Pulse” (50 µs), energia: 300 mJ, frequência: 20 Hz, potência: 6 W, fluência: 11,79 J/cm² (Fotona® HT Fidelis) e a ponta esférica adiamantada SG7D no piezocirúrgico (VarioSurg® - NSK, programa: cirurgia; potência: 100%). O volume de solução irrigante foi de 60 ml/min de soro fisiológico em todos os aparelhos. A duração de cada um dos diferentes passos da cirurgia foi cronometrada e registada individualmente.

Todos os animais tiveram um pós-operatório normal, sem ocorrências dignas de registo, que puderam ser, posteriormente, confirmadas por análise estatística da evolução do peso dos animais, que não revelou qualquer diferença em relação à tabela de crescimento da espécie.

Aos 3, 7, 14, 28 e 42 dias foram eutanasiados dois animais de cada subgrupo (I a VI), sob anestesia geral, obtendo-se 8 amostras por cada um dos três diferentes métodos de osteotomia aqui comparados (B, L e P), correspondendo a quatro defeitos na tibia esquerda e quatro na direita para cada um dos métodos (n=8). Nas tíbias recolhidas nos dias 3 e 7 foram efetuados, aleatoriamente, os 24 defeitos, *ex vivo*, correspondentes ao momento zero de cada um dos diferentes tipos de osteotomia (B, L e P). Foram seleccionadas zonas distantes do primeiro defeito para evitar interferência, nomeadamente de fatores térmicos.

Depois de fixadas e devidamente preparadas, as amostras foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE), observadas em microscopia ótica (ampliações de 20X, 40X, 100X, 20X e 400X) na qual se avaliaram os seguintes parâmetros histológicos:

- A regeneração óssea
 - Osso neoformado substituindo o osso cortical ablado;
 - Presença de células sanguíneas e de células inflamatórias;
- Os efeitos de cada um dos métodos de osteotomia na periferia do defeito
 - Alterações morfológicas no tecido ósseo (regularidade do defeito);
 - Vitalidade celular;
 - Carbonização dos tecidos;
 - Verificação da existência de osteócitos ativos (possível extensão da necrose);
 - Fragmentos ósseos remanescentes;
 - Reabsorção óssea;
 - Integração do tecido ósseo neoformado no tecido adjacente.

RESUMO

Concomitantemente foi efetuada a análise quantitativa (histomorfometria), tendo sido avaliada a área de tecido ósseo neoformado em relação à área total do defeito (2,54 mm²).

Todos os métodos foram eficazes na realização do defeito. Na velocidade de execução do defeito *ex vivo*, o Laser foi o mais rápido e o piezocirúrgico o mais lento. O método mais rápido de osteotomia efetuada *in vivo* foi a broca e o mais demorado foi o *Laser*.

Na análise histológica do defeito no momento zero, os defeitos efetuados com recurso a broca apresentavam um limite muito bem definido e regular, sem se observar danos térmicos na periferia. No *Laser* o limite dos defeitos é mais irregular e observa-se uma pequena faixa de tecido amorfo circundante. Os defeitos realizados com piezocirúrgico apresentam uma faixa de tecido amorfo menor que a do *Laser* e a regularidade da parede está numa posição intermédia entre os outros dois métodos.

Aos 3 dias constatou-se que os defeitos do grupo B iniciaram o processo de osteogénese centrípeta, desde a parede do defeito, enquanto os grupos L e P, nesta fase, ainda apresentavam pouco conteúdo celular na zona do defeito.

Aos 7 dias os grupos L e P já tinham iniciado a fase reparativa, apresentando osso imaturo junto à periferia do defeito fruto de intensa atividade osteogénica, tal como o grupo B.

Aos 14 dias, no grupo B, as trabéculas aumentam de espessura e observa-se osso neoformado em toda a extensão do defeito, sendo visíveis linhas de reversão e sistemas de Havers. O grupo L apresenta trabéculas mais largas e unidas entre si e a parede do defeito sendo visíveis osso lamelar e osteoclastos. No grupo P o aumento da área ocupada por matriz óssea é considerável, apresentando sistemas de Havers. A linha de demarcação do defeito é visível em todos os grupos.

Aos 28 dias, apesar de ainda se observar osso imaturo no grupo B e L, o preenchimento total dos defeitos com tecido ósseo é um facto que ocorreu graças ao desenvolvimento dos sistemas de Havers. No grupo P são visíveis áreas de remodelação óssea e inúmeros sistemas de Havers entre zonas de tecido ósseo imaturo.

Aos 42 dias, no grupo B e L a identificação do defeito é muito difícil, uma vez que o osso neoformado se confunde com o osso nativo, devido à intensa maturação que o tecido ósseo neoformado sofreu. O grupo P apresenta a totalidade do defeito preenchido com tecido

RESUMO

ósseo que se confunde, em baixas ampliações, com o tecido ósseo nativo. No entanto, em ampliações mais altas, constatamos a presença de áreas significativas de osso imaturo.

A análise estatística dos dados histomorfométricos (NBV/TV) não revelou, no final do tempo experimental (42 dias), diferenças estatisticamente significativas em relação a este parâmetro. Nos tempos intermédios verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os grupos B e P + L e P (7 dias), B e L + B e P (14 dias), B e L + B e P (28 dias).

Registaram-se diferenças significativas no volume de novo osso formado em todos os métodos, independentemente do período de tempo em referência.

Não se verificou qualquer correlação entre os tempos de execução cirúrgica de cada um dos passos (incisão, defeito e sutura) e a percentagem NBV/TV.

O grupo B apresenta maior hemorragia e uma reação inflamatória mais intensa nos primeiros três dias, o que lhe propicia um início mais rápido da fase reparativa.

Neste modelo animal a regeneração óssea tem resultados quantitativos sobreponíveis após o vigésimo oitavo dia, em qualquer um dos métodos. No entanto, qualitativamente, o osso formado nos defeitos do grupo P aos 42 dias é mais imaturo, não oferecendo a mesma robustez quando comparado com o osso encontrado nos defeitos dos outros grupos. Seria, no entanto, conveniente a execução de testes mecânicos, de resistência à tração, para comprovar este dado.

O *Laser* Er:YAG é um método perfeitamente válido para a realização de osteotomia, mas apresenta uma curva de aprendizagem longa. Tem como principais vantagens a ausência total de vibração (o que dá mais conforto ao paciente), a possibilidade de desenhar livremente o contorno cirúrgico e a versatilidade de poder ser utilizado a alguma distância do local intervencionado (o que permite melhor visualização da região). Embora a intervenção seja, potencialmente, mais prolongada quando comparada com os outros métodos, os tempos serão reduzidos com uma maior experiência por parte do médico dentista. Tal como o piezocirúrgico, é necessário que o profissional, se habitue a um novo método de funcionamento, sendo a maior dificuldade a manutenção do ponto focal. Este parâmetro pode ser ultrapassado com a ponta de contacto atualmente disponível em diversas marcas de equipamentos de *Laser* Er:YAG.

ABSTRACT

Several clinical acts within the oral surgery procedures involve hard tissue, particularly bone tissue. Methods by which the osteotomy can be performed are numerous. Since the late 90's, *Laser* and piezosurgery (or piezoelectric bone surgery) have assumed greater importance in this area. However, the studies are few, results differ greatly and, in most cases, they are impossible to compare and infer.

The primary objective of this study was to perform a histological analysis, quantitative and qualitative, comparative of bone regeneration (without any biomaterial), after conducting a non-critical defect in each tibia of Wistar Han rats with the following methods:

- *Laser* Erbium: Ytrium, Aluminium, Garnet (Er:YAG) ($\lambda = 2940 \text{ nm}$) ;
- Piezosurgery;
- Surgical drill spherical tungsten mounted on contra-angle 1:1.

60 Han Wistar albino rats (Charles River Laboratories) were used, being about 12 weeks old and weighting $345 \text{ g} \pm 45 \text{ g}$.

The animals were randomly divided into 3 groups: Drill (B), *Laser* (L) and Piezosurgery (P). In order to equalize the distribution of the defects among the animals and between the right and left of each tibia, six subgroups were constituted (I to VI) according to the osteotomy method (B, L or P) and tibia (right or left) where the defect would be performed, based on QuickCalcs[®] computer program GraphPad Software Web :

	Right tibia	Left tibia
SUBGROUP I	Er:YAG <i>Laser</i>	Piezosurgery
SUBGROUP II	Er:YAG <i>Laser</i>	Drill
SUBGROUP III	Piezosurgery	Er:YAG <i>Laser</i>
SUBGROUP IV	Piezosurgery	Drill
SUBGROUP V	Drill	Er:YAG <i>Laser</i>
SUBGROUP VI	Drill	Piezosurgery

ABSTRACT

The spherical drill was mounted on a surgical handpiece 1:1 in the surgical motor (Implantmed[®] - W & H) at low speed (1500 rpm). The handpiece without contact (R02-C) in Er:YAG *Laser*, mode "Super Short Pulse" (50 μ S), energy of 300 mJ, frequency of 20 Hz, power of 6 W (Fotona Fidelis[®] HT), fluence of 11,79 J/cm². A diamond coating spherical tip SG7D was placed in the piezosurgery (VarioSurg[®] - NSK) in the surgical program with power 100%. The irrigation volume of all the devices has been programmed to 60 ml/ min. of saline solution. The duration of each of the different steps of operation was individually timed.

All animals had a normal postoperative without worthy of record occurrences, which could subsequently be confirmed by statistical analysis of the evolution of the animal weight, which showed no difference when compared with the growth of the species table.

At day 3, 7 , 14, 28 and 42, two animals of each subgroup (I to VI) were euthanized under general anaesthesia, resulting in 8 samples (n = 8) of each of the three different osteotomy methods in comparison (B, L and P). This corresponds to four defects in left tibia and four on the right tibia of each method. The tibias collected on day 3 and 7 euthanasias, were randomly performed 24 defects (ex vivo), corresponding to time zero (n = 8) of each of 3 different types of osteotomy (B, L, and P) in remote areas, in order to prevent interference, particularly from thermal factors.

Once established and properly prepared, samples were stained with hematoxylin and eosin (HE), observed in optic microscope (magnification 20X , 40X , 100X , 200X and 400X) in which the following histological parameters were evaluated:

Bone regenerations (In the inner area of the defect):

- Bone newly formed replacing the ablated cortical bone;
- The presence of blood and inflammatory cells;

The effects of each method in the margins of the defect:

- Morphological changes in bone tissue (regularity of the defect);
- Cells vitality;
- Tissue carbonization;
- Determination of active osteocytes (bone necrosis possible extension) ;
- Remaining bone fragments;
- Bone resorption;
- Integration of new bone in the adjacent tissue.

ABSTRACT

Concomitantly it was performed a quantitative analysis (histomorphometry), comparing the new bone area with the total defect area (2.54 mm²).

All methods were effective in achieving the defect. In performing the *ex vivo* defect, the laser was the fastest and piezosurgery was the slowest. On the contrary, *in vivo*, the fastest method of osteotomy was the drill and the slowest was the *Laser*.

At time zero, histological analysis of the defects made using the drill (group B) had a very well defined and regular limit without thermal damage observed in its surroundings. On the *Laser* (group L), the defect limit is more irregular and there is a small strip of surrounding amorphous tissue. The defect that piezosurgery device performed (group P), showed a smaller part of amorphous tissue than the *Laser* one. The regularity of the wall is in an intermediate position between the other two methods.

At day 3, it was observed that defects in group B started the process of centripetal osteogenesis from the wall of the defect, while, at this stage, L and P groups defects still had little cellular content.

After 7 days, L and P groups had already started reparative phase, presenting immature bone near the periphery of the defect, result of intense osteogenic activity, such as group B.

At day 14, group B revealed an increase of trabecular thickness and we could observe new formed bone in the total extent of the defect, with visible reversal lines and Haversian systems. Group L presented wider and joined together trabeculas. These connect also to the defect limit, being visible lamellar bone and osteoclasts. In Group P the increase of occupied area by bone matrix is considerable, presenting also Haversian systems. The borderline of the defect is visible in all groups.

After 28 days, groups B and L still present immature bone. The total filling of bone defect occurred as a result of the development of Haversian systems. In group P, areas of bone turnover and Haversian systems are visible across numerous areas of immature bone tissue.

At day 42, it is very difficult to identify the defects on group B and L, once the newly formed bone is indistinguishable from the native bone, due to the intense maturation that new bone suffered. Group P presents the defect totally filled with bone tissue, appearing to be uniform, at low magnifications, with the native bone tissue. However, at higher magnifications, we observed the presence of significant areas of immature bone.

ABSTRACT

Statistical analysis of morphometric data (NBV / TV) did not reveal, at the end of the experimental period (42 days), statistically significant differences with respect to this parameter. At intermediate times, there were statistically significant differences between the B and P + P and L (7 days), B and L + B and P (14 days) B and L + B and P (28 days) groups.

There were significant differences in the volume of new bone formed in all methods, regardless of the time period in question.

There was no correlation between the time of surgical execution of each step (incision and suture default) and the percentage NBV / TV.

Group B presented greater bleeding and a more intense inflammatory reaction on day 3, which has provided a faster onset of reparative phase.

In this animal model, bone regeneration has similar quantitative results, in any of the methods, after the twenty-eighth day. However, qualitatively, the new bone formed, in group P at 42 days, is predominantly immature and does not offer the same strength when compared to bone defects found in the other groups. It would, however, be convenient to perform mechanical tests, tensile strength, to prove this fact.

The Er:YAG *Laser* is a perfectly valid method for the osteotomy. However it has a long learning curve, having as main advantages the total absence of vibration (which gives more comfort to the patient), the possibility to draw freely the surgical outline and versatility to be used at some distance from the intervention spot (which allows better visualization of the region). Although the intervention is potentially longer when compared with other methods, time will be reduced by the increasing experience of the dentist. Like piezosurgery, it is necessary that the professional, get familiar with a new method of operation, being the greatest difficulty maintaining the focal point. This parameter can be overcome with the contact handpiece currently available at several brands of equipment Er:YAG *Laser*.

I. – INTRODUÇÃO

1. ASPETOS GERAIS

Os médicos dentistas, na sua atividade clínica, procuram constantemente os métodos e técnicas mais eficazes com o objetivo de proporcionar ao paciente o melhor que esta área da ciência lhe pode oferecer. Os cirurgiões orais e os médicos dentistas generalistas que praticam atos de cirurgia oral não são exceção, até porque esta área da medicina dentária é a que, potencialmente, mais desconforto pode infligir ao paciente no per e no pós-operatório. Assim sendo, há uma preocupação acrescida em utilizar métodos ou técnicas mais eficazes, menos traumáticas, mais rápidas e com maior facilidade e simplicidade de execução. O objetivo final é o sucesso, que se deseja constante e que passa, também, por proporcionar uma rápida recuperação do paciente, apresentando como objetivo final a regeneração dos tecidos intervencionados, cujas características deverão ser, o mais possível, idênticas à dos tecidos originais. No final deste processo de regeneração óssea, pretende-se, então, que os tecidos intervencionados apresentem as mesmas características morfológicas, qualitativas e quantitativas, quando comparados com o tecido original que foi intervencionado.

A cirurgia oral, reconhecida como uma das duas especialidades médico-dentárias na União Europeia a par da ortodontia, é a área da medicina dentária que intervêm na maior variedade de tecidos da cavidade oral, atuando sobre todos eles, quer sejam tecidos moles ou duros.

O médico dentista generalista sabe que o manuseamento correto, do ponto de vista cirúrgico, de todos os tecidos envolvidos no ato cirúrgico é fundamental para o sucesso da intervenção.

Os atos cirúrgicos mais simples executados na cavidade oral envolvem, a maior parte das vezes, unicamente a abordagem dos tecidos moles. No entanto, em quase todos os atos cirúrgicos mais complexos, o corte cirúrgico de osso (osteotomia) está envolvido, independentemente da fase em que é realizada.

Alguns exemplos de atos cirúrgico que envolvem osteotomia são:

- Alongamentos de coroa clínica;
- Biópsias ósseas;
- Cirurgia para colocação de implantes dentários,
- Cirurgia para exodontia de dentes inclusos;
- Cirurgia para marsupialização ou enucleação de quistos,
- Cirurgia periapical.
- Cirurgia pré-protética;
- Colheita de osso autólogo para procedimentos regenerativos;
- Distração óssea;
- Exposição de dentes inclusos para tração ortodôntica;
- Germectomias;
- Osteotomias ou osteoplastias maxilares ou mandibulares para correção de defeitos ósseos ou tumores;
- Realização de fenestrações ósseas para favorecimento de erupção;
- Cirurgia para elevação do seio maxilar.

A osteotomia ou a osteoplastia podem ser realizadas por diversos métodos:

- Manuais
 - Cinzel
 - Curvo
 - Reto
 - Pinça goiva
 - Lima de osso
- Motorizados
 - Brocas ou fresas cirúrgicas
 - Montadas em peças de mão de alta ou de baixa rotação
 - Discos oscilantes ou de rotação contínua
 - Montados em peças de mão de baixa rotação
 - Serras para osso
- Ultrassônicos
 - Aparelho piezocirúrgico
- *Laser* de alta intensidade
 - Er:YAG
 - CO₂
 - Ho:YAG
 - Er, Cr:YSGG

Os instrumentos manuais apresentam diversas desvantagens na sua utilização face aos outros métodos. São menos eficazes em osteotomias extensas, pela sua menor capacidade de corte, e são mais incomodativos para o paciente, quer pela vibração quer pelo ruído. A sua ação sobre o osso é mais difícil de controlar, por serem menos precisos no corte. Esta característica assume grande importância, principalmente quando trabalhamos perto de estruturas anatómicas mais sensíveis como vasos sanguíneos e nervos, e pelo facto de, atualmente, atribuímos cada vez mais prioridade a técnicas minimamente invasivas e traumáticas.

Entre os procedimentos não manuais, a motorização foi a primeira inovação técnica ao nível dos instrumentos cirúrgicos para osteotomia. Após, foram desenvolvidos outros métodos, nomeadamente os *Lasers* de alta intensidade e os ultrassons. O maior risco de todos eles é a sua potencial facilidade de gerar danos térmicos nos tecidos.

Os instrumentos motorizados, os ultrassónicos e os *Lasers* permitem maior rapidez no procedimento, maior controlo e precisão de corte, menor trauma e desconforto para o paciente, sendo, por isso, desde há muito tempo, os preferidos na prática clínica diária. Apesar de não haver números concretos sobre a utilização de cada um dos métodos referidos, podemos, com alguma segurança, afirmar que o método mais comumente utilizado na realização de osteotomia, em cirurgia oral, é a broca cirúrgica montada em peça de mão de baixa rotação (contra-ângulo ou peça de mão). No entanto, alguns autores descrevem diversas desvantagens relacionadas com este método, nomeadamente quanto ao risco de sobreaquecimento e lesão dos tecidos adjacentes,(1, 2) principalmente quando a osteotomia é realizada em osso cortical. A diminuição da velocidade de rotação do instrumento reduz a produção de calor, mas aumenta as macrovibrações, diminuindo a sensibilidade cirúrgica do operador e aumentando o desconforto do paciente.(3)

A constante procura de novos métodos mais vantajosos que a técnica motorizada, e a tentativa de suprimir as limitações por ela apresentadas, estimularam a procura de soluções alternativas para a realização de osteotomias. Conforme atrás especificado, o *Laser* e a cirurgia piezoelétrica (ou ultrassónica) do osso ou mais simplesmente piezocirurgia são as alternativas mais recentes e credíveis neste momento.

Perante estes inúmeros métodos de osteotomia, cabe ao médico dentista selecionar, de entre os diversos métodos, qual o que melhor cumpre os requisitos pretendidos. Para que se

possa fundamentar e encontrar respostas para as dúvidas e incertezas, o profissional recorre às mais diversas fontes científicas disponíveis. Contudo, na literatura são muito poucos os estudos comparativos que englobem os dois métodos de osteotomia cronologicamente mais recentes: *Laser* e aparelho piezocirúrgico. Serve como exemplo a pesquisa efetuada na PubMed, em todos os campos (“All fields”), com os termos: (Piezosurgery OR “Piezoelectric surgery” OR “Ultrasonic bone”) AND “Laser” AND (Osteotomy OR “Bone surgery”), em fevereiro de 2008, quando começamos a delinear esta investigação. Nesta data, não existia nenhum trabalho publicado que confrontasse estes três métodos de realização de osteotomia. Em fevereiro de 2009, Umberto Romeo publicou um estudo comparativo, *in vitro*, onde comparou os três métodos de osteotomia que nos propusemos comparar .(4) Posteriormente, em setembro de 2010, um autor, Stefan Stübinger, publicou um estudo comparativo,(5) na revista “Lasers in Surgery and Medicine”, em que utilizou estes três métodos para preparação de leitos implantares. O mesmo autor, num outro estudo (6), realizado em ovelhas e publicado na mesma revista no mês seguinte, comparou osteotomias realizadas com o *Laser* de Er:YAG e com aparelho piezoelétrico, não tendo, no entanto, incluído o método rotativo.

Face à evolução tecnológica que a piezocirurgia e os *Lasers* de alta intensidade representam, às mais-valias que podem trazer para os pacientes e para a prática clínica no âmbito da cirurgia oral e à quase inexistência de estudos comparativos diretos, a realização deste estudo adquire maior importância, que é reforçada pelo facto de o médico dentista necessitar de ter em seu poder dados para poder decidir a realização de um investimento económico que, principalmente no caso do *Laser* de alta intensidade, é significativo.

O aperfeiçoamento das técnicas e dos instrumentos usados em cirurgia oral têm dado um enorme contributo para os níveis de qualidade de vida no pós-operatório dos pacientes. No entanto, a introdução de novas tecnologias na prática clínica diária está condicionada pela relação custo / benefício, tendo o primeiro fator uma importância muito marcada no momento de decisão do profissional. Em contrapartida, se o benefício final for elevado, a aplicação das novas técnicas /tecnologias acontece com muita naturalidade..

Os *Lasers* são usados na área de saúde desde a sua descoberta em 1960. A sua primeira aplicação clínica, na área médica foi efetuada em 1961 em oftalmologia (7), e os primeiros estudos experimentais em tecidos duros dentários foram publicados em 1964 (8) e em 1965. (9-11)

Na medicina dentária, os *Lasers* são mais frequentemente utilizados para intervenção nos tecidos moles da cavidade oral, sendo menos comum a sua aplicação nos tecidos duros, provavelmente devido ao maior custo associado aos *Lasers* de alta intensidade, os únicos que podem interagir com tecidos mineralizados. Os *Lasers* de baixa intensidade são, técnica e tecnologicamente, muito menos complexos e mais económicos quer na aquisição quer na manutenção periódica. Apesar de interagirem apenas com os tecidos moles, apresentam inúmeras vantagens, nomeadamente por só atuarem sobre estes tecidos. No entanto, o assunto dos *Lasers* de baixa intensidade representa um tema fora do âmbito aqui tratado.

O *Laser* de Er:YAG, graças ao seu comprimento de onda (2940 nm), que coincide com o principal pico de absorção da água (12) e também da hidroxiapatite (Ver Ilustração 1), apresenta um largo espectro de utilização uma vez que todos os tecidos biológicos possuem uma significativa percentagem de água na sua composição. (Ver Gráfico 1) Esta elevada afinidade permite o tratamento de tecidos duros através de um mecanismo de micro explosão das moléculas de água relacionadas com a hidroxiapatite, conferindo-lhe a propriedade de interagir com osso, dentina e esmalte, para além dos tecidos moles.(13, 14)

O *Laser* de Er:YAG, pela alta afinidade que apresenta para a água, pode ser usado tanto em cirurgia de tecidos moles como de tecidos duros sem apresentar danos térmicos nos tecidos-alvo.(13, 15, 16) O comprimento de onda do feixe emitido por este *Laser* coincide, também, no espectro de absorção dos diferentes elementos constituintes dos tecidos da cavidade oral, com o pico de absorção da hidroxiapatite. (Ver Ilustração 1)

No entanto, a sua menor capacidade de promoção da hemóstase, devido a uma baixa afinidade pela hemoglobina, (17) e a existência de *Lasers* de baixa intensidade (como os *Lasers* diodo, por exemplo) para aplicação em tecidos moles, muito eficazes quanto à obtenção de hemóstase, torna a sua utilização neste tipo de tecidos, mais esporádica. Apesar disso, o *Laser* de Er:YAG tem diversas aplicações em cirurgia de tecidos moles na cavidade oral como técnica de primeira linha, nomeadamente quando as áreas de intervenção são muito extensas e, ao mesmo tempo, exigem uma intervenção, em termos de profundidade, muito limitada, tirando partido da alta afinidade que apresenta para os tecidos moles, que implica uma baixa capacidade de penetração, conforme representada na Ilustração 1.

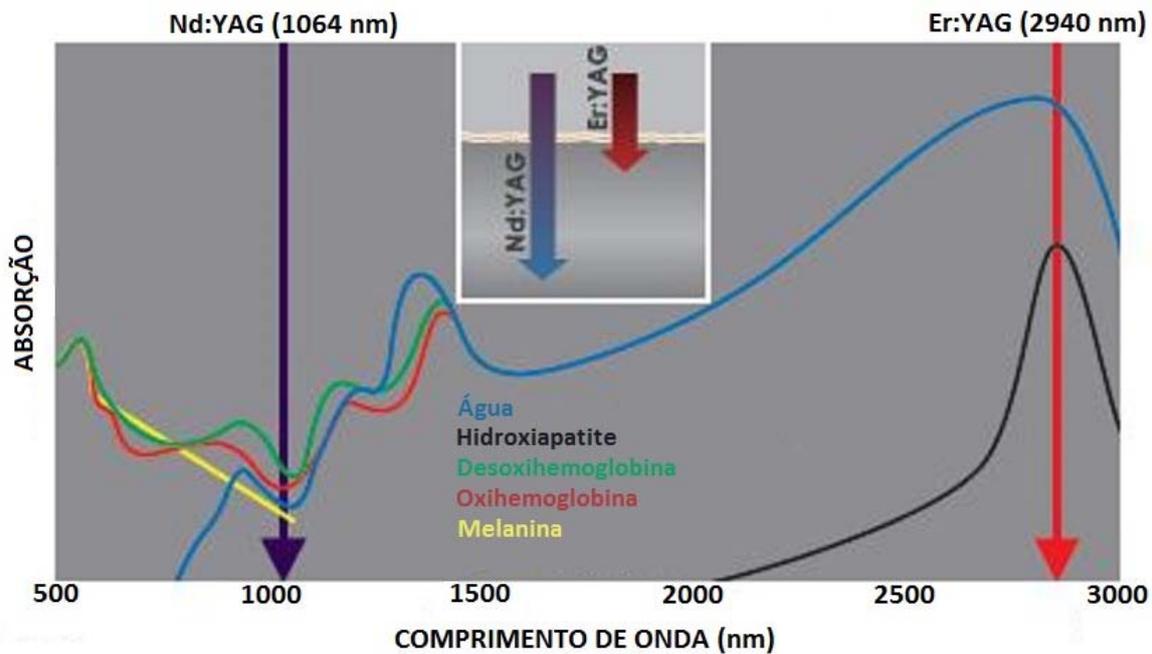


Ilustração 1 - Espectro de absorção da água, hidroxiapatite, desoxihemoglobina, oxihemoglobina e melanina³

A maior indicação do *Laser* de Er:YAG é, no entanto, o corte de tecidos duros, como os tecidos ósseos e dentários (esmalte e dentina). Na sua aplicação em tecido dentário, o *Laser* de Er:YAG apresenta como vantagens a remoção de tecido cariado (que contém mais água que o tecido são e por isso sofre um efeito ablativo mais intenso), muitas vezes sem recurso ao uso de anestesia, a descontaminação da área irradiada e a preparação final de uma superfície livre de *smear layer*.(18)

Na generalidade, as vantagens da utilização do *Laser* em cirurgia oral são:(19-21)

- Efeito assético na área de aplicação;
- Efeito hemostático, resultando num campo operatório mais seco;
- Ausência de *stress* mecânico (não contacto);
- Maior conforto do paciente por se poder usar uma técnica ablativa sem contacto;
- Geometria de corte intrincada;
- Dor pós-operatória reduzida;
- Menor edema;
- Cicatrizes menores.

³ Adaptado do sítio oficial da Fotona na internet em:
www.fotona.com/media/objave/priponke/83534_at_fidelis_ce_small_1.2.pdf

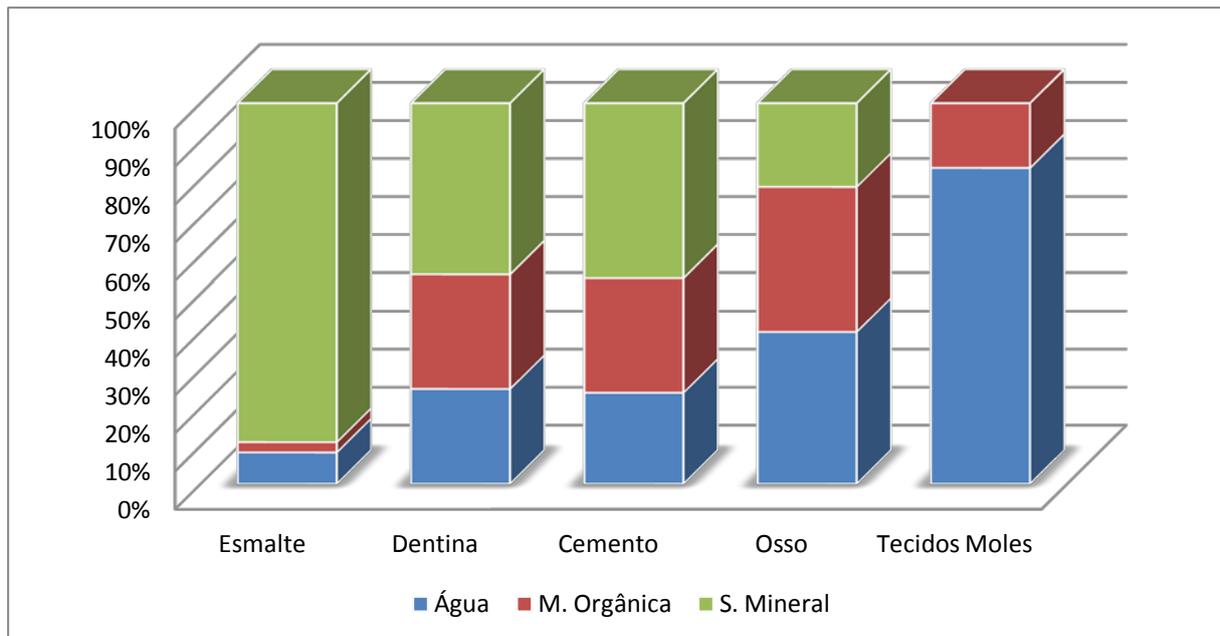


Gráfico 1 - Percentagens volumétricas da composição dos tecidos orais(13)

Para se atingirem bons resultados clínicos, com o *Laser*, é importante ter bases sólidas de conhecimento acerca da física do *Laser*, das normas de segurança a adotar, das características do seu feixe e da interação do *Laser* com os tecidos biológicos, permitindo a seleção adequada do tipo de *Laser* a usar em cada tecido específico. Além disso, deve o utilizador compreender uma série de fatores que influenciam a ação do *Laser* nos tecidos: comprimento de onda, potência, capacidade de absorção dos tecidos, frequência e duração do impulso, quantidade de energia aplicada, distância focal (focado ou desfocado), densidade de energia, densidade de potência e finalmente, a presença ou não de refrigeração.

Na literatura existem alguns trabalhos (poucos) que comparam as técnicas convencionais de osteotomia com as realizadas por *Lasers* de alta intensidade ou com a piezocirurgia. No entanto, as metodologias aplicadas e, principalmente os resultados sobre a regeneração óssea fisiológica não são consensuais. Um dos fatores que contribuem para a falta de consenso entre diversos estudos é a rápida evolução que os aparelhos têm registado nos últimos anos, nomeadamente, no caso do *Laser* Er:YAG, quanto à introdução da tecnologia Variable Square Pulse (VSP), que abordaremos mais adiante. Muitos dos estudos, embora realizados com o mesmo tipo de aparelho (*Laser* Er:YAG, por exemplo), não podem ser comparados entre si uma vez que algumas alterações tecnológicas são significativas.

Por estes motivos, o presente estudo reúne num só trabalho os três métodos de osteotomia mais utilizados atualmente:

- Broca cirúrgica montada em peça de mão de baixa rotação (contra-ângulo), método mais vulgarizado na atividade clínica para realização de osteotomias;
- *Laser* de Er:YAG (2940 nm) VSP;
- Aparelho piezocirúrgico (ou aparelho piezoelétrico cirúrgico)

Estes dois últimos são os métodos mais recentes de ablação de tecidos duros, como adiante descreveremos numa pequena resenha histórica.

Pretende-se, com este estudo:

Descrever as características histológicas dos defeitos ósseos (tempo zero) e da regeneração do tecido ósseo, produzidos pelo *Laser* de Er:YAG, pelo aparelho de piezocirurgia e pela broca cirúrgica montada em contra-ângulo de baixa rotação (1:1);

Comparar, histológica e histomorfometricamente, o defeito e a regeneração óssea após as osteotomias realizadas pelo *Laser* de Er:YAG, pelo aparelho de piezocirurgia e pela broca cirúrgica a baixa rotação nos diferentes intervalos de tempo do estudo (0, 3, 7, 14, 28 e 42 dias);

Avaliar os tempos necessários para cada procedimento e a usabilidade de cada um dos métodos (parâmetros que podem ter grande influência para a seleção do método na prática clínica diária).

2. O LASER

A palavra *Laser* representa o acrónimo de “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation”. Theodore Maiman, em 16 de Maio de 1960, foi o primeiro cientista a construir um equipamento que emitia um feixe de *Laser*. Este foi o momento de uma concretização desde há muito ansiada pelos cientistas.(22-24)

O *Laser* assume um dos papéis principais na competição pela primazia das descobertas no mundo tecnológico a par com o transístor e com o computador.(24) Contudo, o percurso histórico do *Laser* não se resume ao momento da sua concretização física, nem aí termina, uma vez que a sua evolução tem sido notável e ainda não será agora que irá parar. O seu potencial de utilização nas diferentes áreas onde é atualmente usado tem uma enorme margem de progressão, apesar da enorme evolução que esta tecnologia tem sofrido nos últimos tempos.

2.1 PERSPETIVA HISTÓRICA

2.1.1 DAS TEORIAS DA LUZ ATÉ AO LASER

Ao longo dos anos, o homem sempre teve um fascínio enorme pela luz, estando, frequentemente, associada a situações que transmitem pensamento positivo. São exemplo as expressões: “Fez-se luz” ou “Dar à luz” que se associam a uma nova descoberta e a uma nova vida, respetivamente, momentos de felicidade inenunciáveis.

2.1.1.1 O INÍCIO

A utilização da luz para diagnóstico e terapêutica com fins médicos é efetuada desde a antiguidade. A luz permitia a observação da cor da pele e das feridas, e o calor emanado pela luz solar ou por fogueiras era usado como terapia.(25) No Antigo Egito, China e Índia, a luz era usada para tratar raquitismo, psoríase, cancro da pele e até psicoses.(26)

Nos séculos XVIII e XIX, os médicos europeus usavam a luz solar e a luz artificial para tratamento da tuberculose cutânea, psoríase, eczema e dermatomicoses.(27)

Diversos filósofos e cientistas dedicaram-se ao tema da luz e da ótica. O matemático, filósofo e cientista Persa Ibn al-Haytham, em 1021 no seu Tratado de Ótica, descreveu a luz como sendo um fluxo de minúsculas partículas que se deslocam em linha reta, atingindo os

objetos e sofrendo reflexão e refração.(25) Até então acreditava-se, de acordo com a teoria de Ptolomeu, que os olhos emitiam a luz que lhes permitiam ver os objetos.(28)

Apesar de terem proposto diferentes teorias, Hooke, Huygens e Newton estabeleceram as bases modernas para a compreensão do fenómeno da luz nos séculos XVII e XVIII.(28)

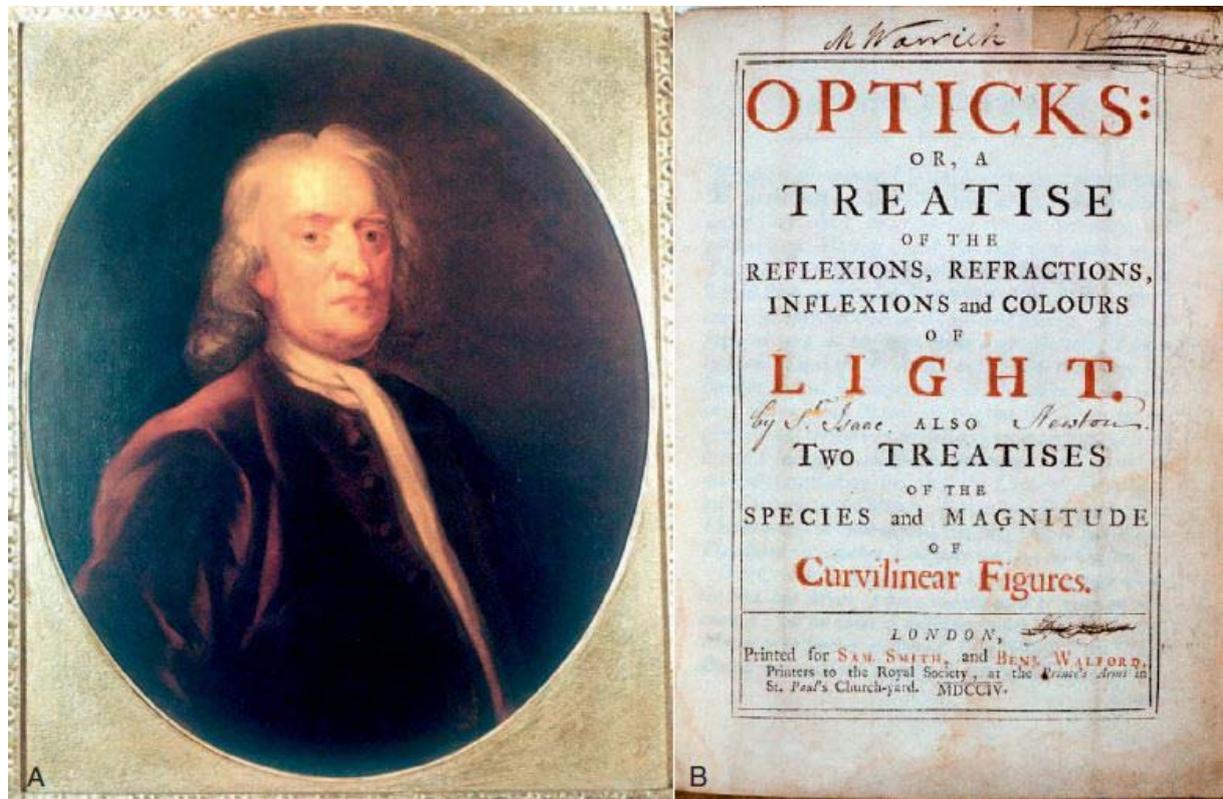


Ilustração 2 - A: Sir Isaac Newton. B: Página inicial do livro "Opticks", 1704(25)

Isaac Newton (1642 – 1727), em “OPTICKS” referiu-se à luz como corpúsculos ou partículas de matéria emitidas em todas as direções por uma fonte (Teoria Corpuscular), tendo estudado a refração, a dispersão e a reflexão da luz. Seu contemporâneo e compatriota, Robert Hooke (1635 -1703) publicou a teoria ondulatória da luz, em contraponto às ideias de Newton.(23, 28, 29) O físico holandês Christiaan Huygens (1629 – 1695), no seu famoso “Traité de la Lumière” apoiou a teoria ondulatória da luz, em concordância com a teoria de Hooke, afirmando que a luz era, essencialmente, uma forma de movimento. (28)

Esta teoria foi, posteriormente confirmada pelo britânico Maxwell (1831 – 1879), que em 1865, comprovou experimentalmente, que as ondas eletromagnéticas se deslocam à velocidade da luz, e que a luz era uma onda eletromagnética. (2)

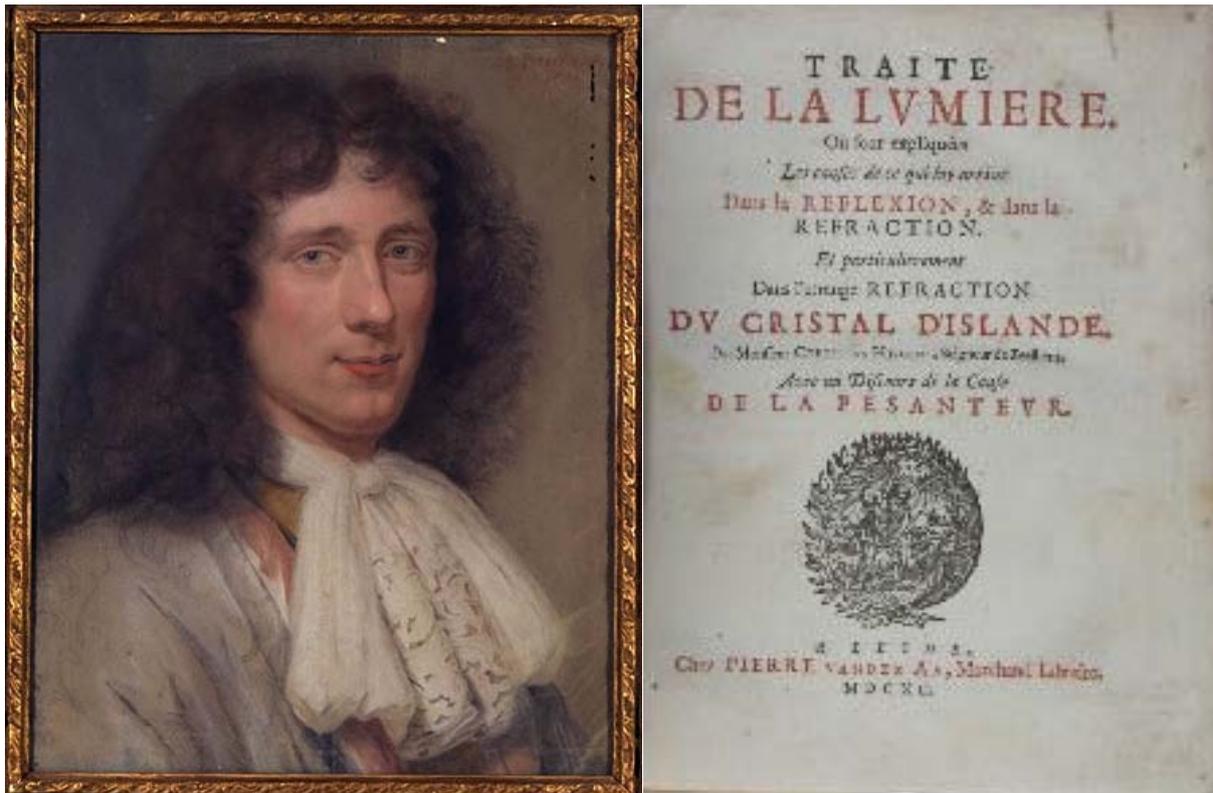


Ilustração 3 - Christiaan Huygens(30)

Ilustração 4 - Página inicial do livro "Traité de la Lumière"(31)

Na época, o tema era tão importante, que a Academia Francesa das Ciências, em 1817, decidiu dar um prémio monetário a quem esclarecesse, definitivamente, a natureza da luz. Dois anos depois a Academia reconheceu que o físico francês Augustin Fresnel (1788 – 1827) conseguiu comprovar a natureza ondulatória da luz, afastando-se, finalmente, a teoria de Newton. (23)

Todas estas pequenas contribuições científicas ajudaram a que a comunidade científica, no início do século XX, tenha contribuído para melhor compreender o fenómeno da luz. As teorias desenvolvidas até então, não eram inteiramente satisfatórias, uma vez que o estudo da luz se limitava, exclusivamente, à análise do seu comportamento.(32)

Foi a partir do ano de 1900 que o tema evoluiu verdadeiramente.(29, 32) Nesse ano, o físico alemão Max Planck (1858 – 1947) postulou uma nova teoria: a mecânica quântica, onde afirmava que a luz era composta por pacotes de energia radiante discretos e indivisíveis (*quanta*). (32) A sua teoria foi premiada em 1918 com a entrega do prémio Nobel, embora apenas o tenha recebido em 1919.(33)

Em 1905, o físico alemão Albert Einstein (1879 – 1955), com base nos trabalhos de Max Planck, postulou que a luz é formada por pacotes discretos e bem determinados de energia (quantas), mais tarde chamados de fótons.(32)

Mais tarde, em 1911, o físico nuclear neozelandês Ernst Rutherford (1871 – 1937), conhecido como o “pai da física nuclear”, contribuiu para a teoria quântica quando advogou o modelo planetário para o átomo, baseado em observação experimental. O átomo era constituído por uma “carga” central rodeada por eletrões em órbita dentro de uma esfera.(29, 34)

O dinamarquês Niels Bohr (1885 – 1962), em 1913, descreveu o átomo e os eletrões como os conhecemos na atualidade, tendo-se baseado no modelo de átomo descrito por Rutherford e na teoria quântica de Max Planck. Numa série de publicações, Bohr propôs a teoria segundo a qual os eletrões giram em torno de um núcleo em órbitas específicas e sem libertar energia. No seu estado fundamental, o átomo tem os seus eletrões no menor nível de energia, contudo, um eletrão pode saltar para um nível superior desde que receba energia, voltando a libertá-la quando faz o trajeto inverso. Nestes processos, respetivamente, o átomo recebe ou emite energia radiante ou luz.(29, 34)

No entanto, foi o físico alemão Albert Einstein que, em 1915, primeiro falou na emissão estimulada de luz, tendo como base as teorias de Max Planck.(29) Einstein descobriu que quando um fóton de um determinado comprimento de onda atinge um átomo excitado, que este e o fóton libertado são emitidos simultaneamente e apresentam frequência e fase idênticas. É nesta observação que assenta o conceito de emissão estimulada que serviu de base, bastantes anos mais tarde (1960) para a criação do *Laser*.(32) O reconhecimento dos seus trabalhos foi consagrado com a entrega do Prémio Nobel da Física em 1922.(35)

A partir destas teorias nasce a física quântica e, na prática, toda a física moderna que levará a que o *Laser* seja aplicado em inúmeras situações do dia-a-dia sem que, muitas das vezes, nos apercebamos disso.

2.1.1.2 O MASER

Durante a segunda guerra mundial, e fruto do enorme desenvolvimento dos radares ao nível da aviação militar, desvendou-se e desenvolveu-se um interesse especial pela área do espectro relativa às micro-ondas, nomeadamente na faixa dos 24 GHz (giga hertz). Charles H. Townes, na época a trabalhar na área, interessou-se também pela espectroscopia de micro-ondas, estudando a interação entre as micro-ondas e as moléculas.(23, 36)

Após o final da guerra, o grande número de equipamentos produtores de micro-ondas permitiram a continuidade da investigação nesta área, o que conduziu à realização de trabalhos, que terminaram com a criação do *maser* (Microwave Amplification by the Stimulated Emission of Radiation) em 1952.(23)

A ideia do *Maser*, pensa-se, foi concebida de forma independente, por três cientistas:(23)

- Charles H. Townes (Columbia University – EUA)
- Joseph Weber (University of Maryland – EUA)
- Alexander M. Prokhorov e Nikolai G. Basov (Lebedev Physics Institute – Moscovo)

Após as investigações desenvolvidas preliminarmente por Willis E. Lamb e R. C. Rutherford (em 1950), Townes idealizou o conceito de *maser* em 1951, em conjunto com dois colaboradores: um aluno em pós doutoramento (Herbert J. Zeiger) e um doutorando (James P. Gordon). No ano seguinte experimentaram a possibilidade de amplificar as micro-ondas, através da excitação oportuna de moléculas de amoníaco. Desta forma nasceu o *maser*, precursor direto do *Laser*, e cuja característica principal era de aproveitar os sistemas moleculares e atómicos de gás ou sólidos adequadamente estimulados para produzir ondas eletromagnéticas.(23, 29)

Em 1958, os físicos norte americanos Arthur Schawlow e Charles H. Townes registaram a patente do primeiro *Laser*, que foi, mais tarde, impugnada, em 1977, pelo seu compatriota Gordon Gould (físico e engenheiro).(37)

2.1.1.3 O APARECIMENTO DO LASER

Mesmo antes de os *Masers* começarem a proliferar, no segundo lustro da década de 1950, alguns físicos já procuravam forma de provocar a emissão amplificada estimulada por radiação com comprimentos de onda muito mais curtos que as micro-ondas. Fabrikant e colaboradores, na União Soviética, tentaram registar uma patente, em 18 de junho de 1951.(23)

Em 16 de maio de 1960, por intermédio de Theodore Harold Maiman, foi construído o primeiro *Laser* (o meio ativo utilizado foi um cristal de rubi) e emitido o primeiro feixe de luz coerente que, neste caso, era vermelho. Assim nasce o *Laser*.(29, 37, 38)

A maioria da comunidade científica pensava que não era possível produzir um feixe *Laser* a partir de um cristal de rubi, nomeadamente Arthur Schawlow do Bell Laboratories, um dos cientistas mais destacado nesta área na época.(24, 39) Nem os próprios superiores de Maiman, na Hughes Aircraft Company em Malibu, Califórnia, onde trabalhava na amplificação de micro-ondas por *masers*, acreditavam, deixando-o, contudo, prosseguir com as experiências.(39) Para que tudo fosse possível, Maiman utilizou uma lâmpada *flash* para aplicar no cristal de rubi. Inicialmente foram usados impulsos de 500 V, que sofreram diversos incrementos até ter sido registada a emissão do feixe *Laser*, controlada por osciloscópio, quando se atingiram os 950V.(24, 29) Os primeiros impulsos produzidos tiveram uma duração muito curta mas rapidamente surgiram *Lasers* de emissão contínua.(32)

Apesar de mais tarde (em 1964) ter sido motivo para a atribuição de um prémio Nobel(40), Maiman viu, em 1960, rejeitada a publicação, na prestigiada “*Physical Review Letters*”, do seu artigo onde descrevia o seu novo aparelho.(24) Devido aos inúmeros artigos submetidos para publicação acerca do *maser*, o editor, Samuel Abraham Goudsmit, decidiu não aceitar mais artigos da área, tendo, erradamente, considerado que *Laser* era exatamente o mesmo que *maser*.(29, 39) O assunto da publicação do artigo de Maiman é polémico e há quem afirme que tudo não passou de uma jogada de interesses, oportunismo e tentativa de protagonismo por parte de quem, estando na corrida pela invenção do *Laser*, não conseguiu atingir o objetivo em primeiro lugar.(23, 24) O artigo foi publicado, posteriormente, na revista “*Nature*” sob o título “*Stimulated Optical Radiation in Ruby*”, em 6 de agosto de 1960.(29, 39)

Inicialmente o *Laser* era referido por diversos cientistas mais céticos como uma solução à procura de um problema mas o tempo tem comprovado que não tinham razão.(39)

A terminologia *Laser* é, como já referimos atrás, um acrónimo que deriva das iniciais de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation. Após a sua descoberta, rapidamente surgiram outros tipos de *Laser*, criados por diferentes cientistas, e o acrónimo *Laser* vulgarizou-se na comunidade científica.(39)

Diversos *Lasers* foram, a partir de então, construídos:

Em novembro de 1960, Peter Sorokin e Mirek Stevenson (ex-aluno de Townes) apresentaram o *Laser* sólido de Urânio. (22, 23, 29)

Em 1961 o iraniano Ali Javan (ex-aluno de Townes), Bill Bennett e Don Herriott (Bell Laboratories) constroem o primeiro *Laser* de gás: um *Laser* de Hélio-Néon (He-Ne), a baixa pressão, ($\lambda=1150$ nm), no Laboratório Bell's Murray Hill. Este foi o primeiro *Laser* de emissão contínua e o primeiro a funcionar segundo o princípio da conversão de energia elétrica em emissão de luz *Laser*.(22, 23, 29, 32, 37, 41) O *Laser* He-Ne, com algumas modificações, foi, durante muito tempo a base dos *Lasers* mais comuns a nível mundial.(22) Ainda em 1961, Johnson e Nassau demonstraram um *Laser* de iões de neodímio em cristal de tungstato de cálcio ($\lambda=1060$ nm), e Elias Snitzer, no American Optical, construiu um *Laser* de neodímio em vidro ótico de bário.(29)

Em 1962 Robert Hall, entre outros, no General Electric Research Center, construíram o primeiro *Laser* diodo de Gálio-Arsénio (Ga-As).(29, 41) Marcel Bessis e colegas constroem também o primeiro *Laser microbeam* usando o *Laser* de rubi.(38) Estes *Lasers* (microbeam) são usados para, seletivamente, alterar uma célula ou apenas um organelo ou parte dele.(42) White e Rigden desenvolveram um *Laser* de He-Ne com comprimento de onda de 632,8 nm no Bell Laboratories,(29, 41) e Rabinowitz, Jacobs e Gould demonstraram o *Laser* de Césio.(29) O *Laser* He-Ne foi, durante 20 anos, o *Laser* de gás mais comum, tendo múltiplas utilizações em diversos campos.(41)

Em 1963 Hellwrtha e McClung constroem o primeiro *Laser* Q-switching. Nesse mesmo ano foi efetuada a primeira aplicação do *Laser* em oftalmologia por H. C. Zweng, (ajudado pelo físico A. Vassiliadis, pela bióloga Ann Hammond e pelo veterinário Jim Hayes) que aplicou um feixe de *Laser* de rubi sobre a retina de um macaco Rhesus.(37)

Em 1964, C. Kumar N. Patel (Bell Laboratories) fabrica o primeiro *Laser* molecular de CO₂, o mais poderoso *Laser* de emissão contínua da época.(29) Neste ano Townes, Basov e Prokhorov ganham o Prémio Nobel pelas suas investigações sobre o *Laser*.(40) Ainda em 1964 Geusic, Marcos e van Uitert (Bell Laboratories) apresentam o *Laser* Neodymium-doped: Ytrium Aluminium Garnet (Nd:YAG), e Bridges (29)

Em 1966 Peter Sorokin, físico americano, efetua as primeiras experiências, bombardeando soluções de substâncias com lâmpadas *flash* de elevada luminosidade ou mediante *Laser* de rubi. Estávamos na presença do primeiro *Laser* líquido.(37) Juntamente com Lankar desenvolveu o *Laser* de corante (*dye Laser*). (29)

Em 1966, o físico francês Alfred Kastler vence o prémio Nobel da física pelo método que desenvolveu de estimulação de átomos para níveis de energia mais elevados. Estes trabalhos foram desenvolvidos entre 1949 e 1951 e ficou conhecido como “bombardeamento ótico”, tendo sido fundamental para a criação do *maser* e do *Laser*.(29)

Em março de 1967, Bernard Soffer e Bill McFarland inventaram o *Laser* de corante sintonizável.(29)

Em 1968, na cidade de Moscovo, no Instituto Lebedev, obtém-se a emissão de neutrões por meio de uma placa sólida iluminada com um *Laser* de Neodímio.(29)

Em 1971, o húngaro Dennis Gabor recebe o prémio Nobel da Física pela invenção e desenvolvimento da holografia.(43)

No ano de 1975, Zharikov E. V., do Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, apresentou o primeiro trabalho, a nível mundial, sobre o laser de Er:YAG (Er³⁺ em cristais de Ytrium, Aluminium e Garnet). O feixe que conseguiu produzir tinha um comprimento de onda de 2936,4 +/- 2 nm, energia de 0,3 J e foi emitido a 300º K (Kelvin). Este trabalho surgiu na sequência de uma tese de doutoramento realizada por Zverev G.M. em 1969, no Instituto de Física Nuclear da Universidade de Moscovo. (44)

Em 1981 o americano Arthur Leonard Schawlow (Universidade de Stanford) e o holandês Nicolaas Bloembergen (Universidade de Harvard) recebem o Prémio Nobel da Física, pelos seus estudos sobre a espectrografia mediante *Laser*.(45)

Em 1988 Hibst e Keller (Universidade de Ulm) iniciam a sua investigação sobre a aplicação em medicina dentária do *Laser* Er:YAG, que, mais tarde leva à produção de um aparelho de *Laser* de Er:YAG em conjunto com uma grande empresa de equipamentos alemã.

2.1.2 O INÍCIO DO LASER NA MEDICINA DENTÁRIA E NA CIRURGIA ORAL

Na conferência de imprensa em que anunciou a sua descoberta, no dia 7 de Julho de 1960, Theodore Maiman enumerou cinco áreas potenciais para a aplicação do *Laser*. Entre elas estava a sua aplicação em diferentes áreas da medicina. Anos mais tarde antecipou as principais vantagens desta aplicação como sendo a possibilidade de fazer intervenções cirúrgicas sem sangue, tratar neoplasias e substituir os instrumentos rotativos em medicina dentária.(29) Abordou também a sua utilização em equipamentos de microcirurgia, dizendo que o *Laser* poderia ser, no futuro, usado em intervenções em genes, células sanguíneas ou outras microestruturas, de forma precisa e sem afetar tecidos ou células vizinhas.(46)

A inclusão do *Laser* no campo da investigação da medicina dentária aconteceu em 1963. (47) A partir dessa data, diversos investigadores se dedicaram a estudar a interação do *Laser* de rubi com a estrutura dentária, nomeadamente na remoção de cáries.(8-10, 48-51) Desde então, este tem sido o campo mais estudado na área do *Laser* em medicina dentária.(18, 52) Em 1964 e 1965, Goldman (8, 9) e Stern e Sognnaes (10) e foram os primeiros a publicar sobre a aplicação do *Laser* de rubi em medicina dentária. No entanto, na época, apesar da remoção de cáries ser efetiva, os efeitos sobre os tecidos pulpaes eram nefastos, provocando lesões pulpaes irreversíveis devido ao exagerado aumento de temperatura.(10, 50) Resultados idênticos foram obtidos com os *Lasers* de Nd:YAG e CO₂, em 1965.(18)

Após o primeiro lustro da década de 60 diversos estudos foram efetuados nos tecidos moles orais. Inicialmente muitos destes estudos tiveram origem na Europa de Leste, fruto da apetência destes países pela afirmação científica nas áreas tecnológica e médica. (11, 53-61)

O *Laser* de CO₂ começou a ser usado em medicina dentária em 1963/1964.(62-64) A sua eficácia ablativa relativamente aos tecidos moles e a excelente hemóstase, promovida durante a sua utilização, levaram a que se fizessem inúmeros estudos com este *Laser* na área da cirurgia de tecidos moles.(54, 65-74)

No final dos anos 80 e início dos anos 90 surgiram os primeiros estudos com os *Laser* Nd:YAG aplicado aos tecidos moles.(55, 75, 76)

Diversos investigadores testaram a aplicação do *Laser* a outras áreas da medicina dentária. A polimerização de resinas compostas com *Laser* de Árgon, as soldaduras de próteses dentárias em diversas ligas metálicas e a sua utilização em endodontia são exemplo disso.

No dia 3 de maio de 1990, nos Estados Unidos, foi lançado e aprovado o primeiro *Laser* destinado a ser usado especificamente em medicina dentária. Esta data marcou o início da utilização clínica dos *Lasers* pelos médicos dentistas. O *Laser*, desenvolvido pelos irmãos Terry e William Myers, tinha como meio ativo Nd:YAG, tendo-lhe sido dado o nome de “dLase 300”.(29, 77, 78)

O primeiro *Laser* a ser utilizado numa osteotomia foi o de CO₂, mas, apesar de ter uma boa precisão e ser menos traumático, a sua limitação maior era o efeito térmico nefasto sobre os tecidos circundantes.(79, 80)

O *Laser* de Er:YAG começou a ser idealizado após a apresentação, em 1975 por Zharikov e colaboradores, de um protótipo de iões Er³⁺ num cristal de *yttrium, aluminium e garnet*, que emitia um feixe com comprimento de onda de 2940 nm.(14) Contudo, apenas em 1989 foi demonstrada a sua capacidade de ablação de tecidos duros dentários.(81, 82) Três anos mais tarde, em 1992, a empresa alemã KaVo Dental GmbH fabrica o primeiro *Laser* Er:YAG, o KEY *Laser*, em colaboração com a Aesculap e a Universidade de Ulm. Posteriormente desenvolveram o aparelho e mais três versões foram lançadas até aos nossos dias (KEY *Laser* 2, KEY *Laser* 3 e KEY *Laser* 3+).(83) O nome deste Laser é, também ele, um acrónimo KaVo, Erbium YAG, ou seja: KEY.(84)

Inúmeros outros fabricantes desenvolveram os seus equipamentos de *Laser* Er:YAG, principalmente após 1997, ocasião em que o *Laser* Er:YAG foi aprovado, pela entidade competente dos Estados Unidos da América – a Food and Drug Administration (FDA), para o uso em medicina dentária, nomeadamente para o tratamento de cáries.

Mas, apesar das vantagens evidentes deste comprimento de onda e a sua aplicabilidade a todos os tecidos da cavidade oral, outros *Lasers* tem sido usados em medicina dentária e em cirurgia oral, tais como:(7, 18, 29)

- Árgon; CO₂; Díodo (diversos λ); Érbio (Er:YAG e Er:Cr:YSGG); Nd:YAG; KTP.

2.2 DESCRIÇÃO DOS LASERS

Laser é um acrónimo (palavra formada pelas letras ou sílabas iniciais de várias outras palavras, pronunciada sem ser soletrada) do conjunto de palavras “Light amplification by the stimulated emission of radiation” (Amplificação de luz por emissão estimulada de radiação), que foi criado por Gould em 1957.(85)

A emissão de um feixe *Laser* baseia-se na Teoria Quântica, que advoga que, no átomo, normalmente, os eletrões se encontram na órbita de menor energia em torno do núcleo (mais estável), podendo mover-se para uma órbita de maior energia se absorverem energia externa. Os átomos apenas conseguem permanecer no estado de excitação por curtos períodos de tempo, uma vez que os eletrões procuram o mais baixo estado energético. Ao regressarem ao seu estado inicial (mais estável), a energia anteriormente absorvida é libertada espontaneamente sob a forma de um fóton. Este tipo de emissão (espontânea) é a que observamos na natureza e na qual a maioria dos eletrões está no estado de repouso (menor energia). (86, 87)

Para que a emissão de radiação seja estimulada, um eletrão excitado necessita de receber mais energia, levando à emissão de dois fótons de características iguais (energia, frequência e direção) quando o eletrão regressa ao seu estado fundamental. Estes fótons podem estimular a emissão de novos fótons, ao elevarem o estado de energia do átomo. (87)

Nos *Lasers*, as fontes de energia que provocam a excitação dos átomos podem ser elétricas ou óticas. (87) Quando, após a excitação, os eletrões regressam ao mais baixo nível de energia, os fótons são libertados no interior da câmara de ressonância do *Laser* e refletidos pelos espelhos das extremidades, colidindo com outros átomos do meio ativo. Estas colisões, que implicam a absorção da energia desses fótons, provocam um aumento do nível de energético desses átomos, que se traduz na excitação eletrões que passam a ocupar órbitas mais externa e mais energéticas.(87)

O aumento energético dos átomos do meio ativo pode ser duas a três vezes maior do que o estado energético inicial. Quando o número de átomos excitados supera o número de átomos no estado fundamental, dizemos que há Inversão da População. Com o contínuo fornecimento de energia, esta Inversão é mantida na Câmara de Ressonância, o que permite a emissão constante de um feixe *Laser*.(87)

A Inversão da População é definida como o estado no qual existem, proporcionalmente, mais sistemas atômicos no nível superior de dois níveis de energia (superior e inferior), fazendo com que a emissão estimulada predomine sobre a absorção estimulada. Em qualquer sistema *Laser*, este estado é imprescindível para a emissão de um feixe, a partir da câmara de ressonância.(87)

Parte dos fótons que circulam no interior da câmara de ressonância passam através do espelho semitransparente, sendo, assim, gerado o feixe *Laser*.

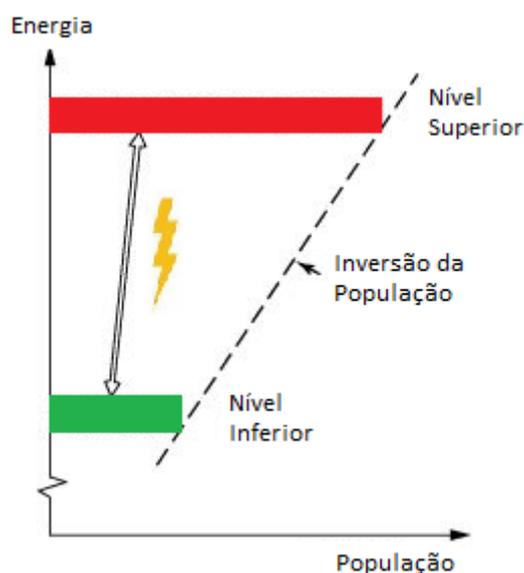


Ilustração 5 - Inversão da população⁴

Os *Lasers* desempenham, cada vez mais, um importante papel em todas as áreas da saúde. O maior obstáculo à aplicação dos *Lasers* na área médica não é a falta de desenvolvimento tecnológico na área mas sim as limitações económicas ou as relativas à falta de conhecimento da interação entre o *Laser* e os tecidos.

⁴ Ilustração adaptada 88. Lasers in medicine. W. WR, editor2002.

Cada uma das palavras que compõem o acrónimo tem um significado muito especial:

- **Luz:** Define o tipo de radiação eletromagnética produzida/ emitida. Pode ser visível (comprimento de onda entre 400 e 750 nm) ou invisível (infravermelho ou ultravioleta, consoante tenha um comprimento de onda mais longo ou mais curto, respetivamente). (36) A luz é uma forma de energia eletromagnética que se comporta como uma partícula e como uma onda. A unidade básica desta energia é o fóton.(89)

A luz normal e o *Laser* são significativamente diferentes. A primeira parece branca, sendo o somatório de diversas cores – violeta, azul, verde, amarelo, laranja e vermelho. O *Laser*, contrariamente, é monocromático, coerente e colimado.(36)

- **Amplificação:** significa aumento da quantidade de luz. Na emissão estimulada a luz estimula, por parte de um átomo ou de uma molécula, a libertação de energia como uma onda secundária, que, por sua vez, pode estimular os outros átomos ou moléculas a emitir ondas duplicadas, provocando a amplificação. Para que isso aconteça é necessário existir uma câmara de ressonância e inversão da população.(36)
- **Emissão estimulada:** A luz *Laser* é produzida por emissão estimulada. Para que este tipo de emissão aconteça, é necessário provocar a inversão de população (ver atrás). Quando estes eletrões regressam ao seu estado fundamental (o de mais baixa energia), libertam fótons com características exatamente iguais, gerando-se, assim o feixe *Laser*.(36)
- **Radiação:** Neste contexto significa radiação eletromagnética, uma forma de energia sem massa que se propaga à velocidade da luz ($c=299\,792\,458$ m/s, sendo c a letra que simboliza a velocidade da luz no vácuo, que tem origem na palavra *celeritas*, do latim, que significa velocidade ou rapidez). (36)

No espectro das radiações eletromagnéticas, o comprimento de onda das radiações eletromagnéticas varia entre as de comprimento de onda mais curto - raios gama ($\lambda < 10^{-10}$ m ou 0,1 nm) – e as de onda mais longa – ondas de rádio, que podem atingir um comprimento de onda na ordem dos milhares de metros. Os comprimentos de onda emitidos pelos aparelhos *Laser* não são ionizantes.(90)

Ao contrário da luz natural, que é gerada por emissão espontânea, a luz *Laser* é produzida por emissão estimulada de forma controlada. Os fótons emitidos encontram-se, em cada momento, todos na mesma fase (coerência), percorrem de forma paralela todo o seu trajeto (colimação) e apresentam uma cor só (monocromaticidade).(36, 87)

Os *Lasers* usados na área médica emitem feixes com comprimentos de onda entre os 193 (*Laser* excimer) e os 10 600 nm (*Laser* de CO₂). (91) Nesta ampla área do espectro em que podem emitir, os *Lasers* subdividem-se em vários grupos, consoante o comprimento de onda que os caracteriza:(87)

- Ultravioleta
 - 193 - 400 nm
- Visível
 - 400 - 760 nm
- Infravermelho próximo
 - 760 - 1400 nm
- Infravermelho médio
 - 1400 - 3000 nm
- Infravermelho
 - 3000 - 10600 nm

Na realidade, um *Laser* é um dispositivo que controla na perfeição a emissão destes fótons. Para produzir um feixe *Laser*, os aparelhos possuem diversos componentes comuns, embora, por vezes, sejam muito diferentes uns dos outros, face à existência, ou não, de determinados componentes (compressor, por exemplo) e ao tipo de componentes adotados (arrefecimento por ar ou água, por exemplo).

Os componentes comuns de um *Laser* são: (Ver Ilustração 6)

- Câmara de ressonância (1)
 - Contém o meio ativo
 - Sólido
 - Líquido
 - Gasoso
 - Semicondutores de estado sólido
- A fonte de energia / excitação (2)
- Dois espelhos situados nas extremidades da câmara de ressonância
 - Um refletor a 100% (3)
 - Outro semitransparente (4), que permite a emissão do feixe laser (5)

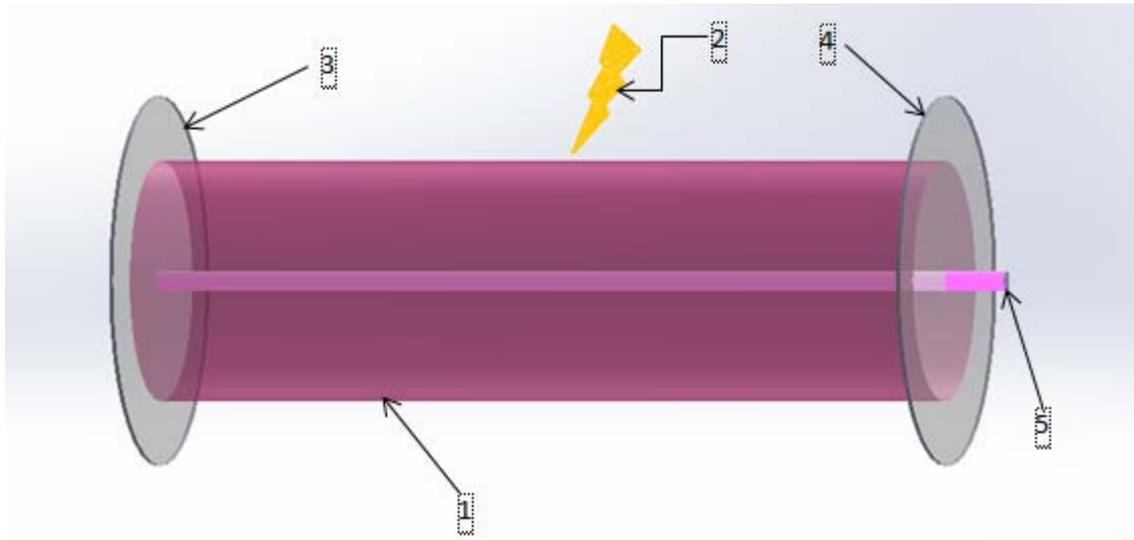


Ilustração 6 - Representação esquemática básica da câmara de ressonância de um laser

A composição do meio ativo atribui o nome ao *Laser* e, quando estimulado, emite um comprimento de onda específico, característico desse *Laser*.

2.3 CLASSIFICAÇÃO DOS LASERS

Os *Lasers* têm sido classificados com base no comprimento de onda e potência máxima. Foram estabelecidas, nos anos 70, quatro classes e algumas subclasses, ordenando os *Laser* de acordo com sua capacidade de provocar danos nas pessoas expostas. A classificação inicia-se na classe I (sem perigo durante o uso normal) até à classe IV (perigo grave para os olhos e pele).

Existem dois sistemas de classificação, o "antigo sistema" o único utilizado até 2002, que é o mais divulgado, e o "sistema revisto". Este último, fruto de um conhecimento mais aprofundado dos *Lasers* que se foi adquirindo desde a implementação do sistema de classificação original, permite que certos tipos de *Laser* possam ser reconhecidos como tendo um risco menor do que o atribuído no sistema de classificação inicial. Este sistema foi publicado pela International Electrotechnical Commission (IEC) e está, desde 2007, incorporado no documento "Segurança Standard do *Laser*" (ANSI Z136.1) editado pelo American National Standards Institute (ANSI), e a identificação de acordo com sistema IEC é aceite pela Food and Drug Administration (FDA) em equipamentos *Laser* importados para os EUA. A IEC é a organização líder mundial que prepara e publica padrões internacionais para todas as tecnologias elétricas, eletrónicas e afins. É uma das três organizações globais (IEC, ISO, ITU) que desenvolvem as Normas Standard Internacionais para todo o mundo.(92)

Nos Estados Unidos da América a classificação usa numeração romana (I-IV) sob o sistema antigo, e na União Europeia a numeração árabe (1-4). O sistema revisto usa, em qualquer país, numeração árabe (1-4). Os dois sistemas de classificação podem ser diferenciados também pelas subclasses 1M, 2M e 3R (utilizados apenas no sistema revisto) e as classes IIA e IIIA (utilizados apenas no sistema antigo).

A classificação de um *Laser* é baseada no limite de potência de saída que são definidas para cada classe. Esta é, normalmente, definida por uma potência máxima (em Watt) ou energia (em Joule), que pode ser emitida numa gama de comprimento de onda específico e tempo de exposição. Para comprimentos de onda infravermelhos acima de 4 mm é especificado como densidade de potência máxima (em W/m^2). O fabricante é responsável pelo fornecimento da classificação correta do seu *Laser*, por equipar o *Laser* com rótulos de advertência adequados e pela adoção das medidas de segurança conforme definido nos

regulamentos. A rotulagem para as classes II a IV deve incluir um símbolo de aviso que indica a classe e a potência de saída do aparelho. As classes equivalentes da International Electrotechnical Commission (IEC) são inseridas na etiquetagem de produtos que devem obedecer ao sistema de classificação da IEC.

FDA	IEC	RISCOS ASSOCIADOS	EXEMPLOS
I	1	Não perigosos.	Impressoras <i>Laser</i>
	1M	Risco aumenta se observado com acessórios óticos. ⁵	Leitores de CD ou DVD
II IIa	2 2M	Risco aumenta quando observado diretamente por longos períodos, ou com acessórios óticos. ¹	Leitores de códigos de barras
IIIa	3R	Dependendo da potência e área do feixe, pode ser perigoso quando se olha diretamente para o feixe a olho nu. Risco de lesão aumenta se observado com acessórios óticos. ¹	Ponteiros <i>Laser</i>
IIIb	3B	Perigo imediato para a pele atingida por feixe direto. Perigo imediato para os olhos, quando observado diretamente.	Projetores de luz <i>Laser</i> <i>Lasers</i> industriais <i>Lasers</i> de investigação
IV	4	Perigo imediato para a pele e para os olhos se ocorrer exposição direta ou refletida ao feixe. Podem representar risco de incêndio.	Projetores de luz <i>Laser</i> <i>Lasers</i> industriais <i>Lasers</i> de investigação <i>Lasers</i> para cirurgia refrativa da córnea

Tabela 1 - Classificação dos *Lasers* segundo a FDA e a IEC⁶

⁵ Exemplos: Lupas, microscópios, binóculos ou telescópios.

⁶ Informação obtida do sítio da FDA na internet: www.fda.gov

Classe	Irradiação prolongada		Irradiação curta		Reflexão difusa	Irradiação da pele
	Instrumentos óticos ⁷	Olho nu	Instrumentos óticos ³	Olho nu		
1	Seguro	Seguro	Seguro	Seguro	Seguro	Seguro
1M		Seguro		Seguro	Seguro	Seguro
2			Seguro	Seguro	Seguro	Seguro
2M				Seguro	Seguro	Seguro
3R			Risco baixo	Risco baixo	Seguro	Seguro
3B					Risco baixo	Risco baixo
4						

Tabela 2 - Riscos da exposição à luz laser em função da sua classificação IEC(93)

As medidas de segurança usadas com os *Lasers* de maior risco para o utilizador incluem chave de segurança, luzes e ou aviso sonoro de advertência para indicar emissão de *Laser* e um interruptor elétrico que o utilizador pode ativar para paragem de emergência ou bloqueio do aparelho. Apesar de estas serem as medidas mais generalizadas, há outras opções adotadas pelos fabricantes como códigos de acesso e dispositivos on/off para ligação à porta do local onde está instalado o *Laser*. Este dispositivo, ligado por um cabo desde um local específico no *Laser* até à porta de entrada, desliga a emissão do feixe, se a porta for aberta enquanto o *Laser* está a ser usado.(18, 29, 93)

⁷ Lupas, microscópios ou outros instrumentos de ampliação que aumentam o risco de feixes altamente divergentes. Binóculos ou telescópios também estão incluídos, embora não tenham aplicação em medicina dentária.

2.4 OUTRAS CLASSIFICAÇÕES DOS LASERS

Os *Lasers* podem ser divididos, de uma forma geral, em dois grandes grupos:(18)

- *Laser* de alta intensidade, *Laser* cirúrgico ou High Intensity Laser Treatment (HILT)
 - Indicação cirúrgica
 - Exemplos: corte, coagulação e cauterização
 - Indicação ablativa
 - Exemplos: preparação cavitária e osteotomia
- *Laser* de baixa intensidade, *Laser* terapêutico ou Low Level Laser Therapy (LLLT)
 - Indicado para fins terapêuticos
 - Exemplo: parestesias e algias
 - Indicado para bioestimulação
 - Exemplo: promoção da regeneração tecidual

Dentro destes dois grandes grupos, existem vários tipos de *Laser* que, normalmente, são designados pelo tipo de meio ativo que os gera. São os diferentes meios ativos que atribuem ao *Laser* as suas propriedades e indicações muito próprias de cada um.

Quanto ao tipo de meio ativo, os Lasers podem ser divididos da seguinte forma:

- Sólido
 - Rubi
 - Nd:YAG e Nd:YAP
 - Er:YAG
 - Er, Cr:YSGG
- Gasoso
 - CO₂
 - Árgon
 - He:Ne
- Líquido
 - Corante
- Semicondutor
 - Díodo

Apesar dos meios serem totalmente diferentes, quer na sua composição quer no seu estado, a maior parte das características da sua luz são comuns: luminosidade muito intensa, cor única e muito pouca dispersão.(37)

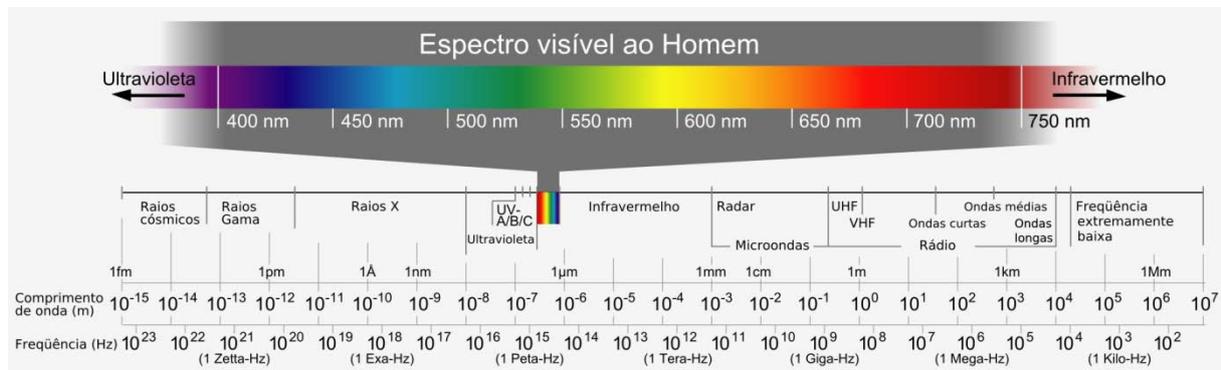


Ilustração 7 - Espectro eletromagnético

2.4.1 LASERS DE ESTADO SÓLIDO

Os *Lasers* de estado sólido possuem o material de produção do feixe numa matriz sólida. O *Laser* de rubi é o representante histórico mais importante, uma vez que foi o primeiro *Laser*. O *Laser* de Nd:YAG foi também dos primeiros *Lasers* a ser descoberto (1964), mas a aprovação para o seu uso em medicina dentária foi apenas efetuada em 1987.(13)

Os materiais mais comumente utilizados são cristais, tais como YAG (granada de ítrio e alumínio), alexandrite e corindo, aditivados com um elemento raro (ex.: neodímio, érbio ou hólmio).(13)

A saída do feixe é, por vezes, modificada através da adição de materiais óticos não-lineares, como por exemplo o cristal de Titanil fosfato de potássio (KTP), que é utilizado com *Lasers* Nd:YAG para converter a luz de saída para a região visível do espectro.(13)

2.4.1.1 LASER ND:YAG E ND:YAP

O *Laser* Nd:Yag, apresentado em 1964 por Geusic,(94) emite luz infravermelha a 1064 nanómetros (nm), com potência de saída muito alta, podendo trabalhar em onda contínua ou pulsada.(13, 17) Nos tecidos moles (não atua sobre tecidos duros) a energia é difundida em vez de ser absorvida na superfície, como o *Laser* Er:YAG, e atua sobre eles por ação fototérmica.(17) Tem uma capacidade de penetração nos tecidos moles de cerca de 5 a 6 mm(85) e na água de cerca de 60 mm.(17)

Apresenta uma grande afinidade para a hemoglobina e todas as substâncias escuras, como a melanina, por exemplo.(17) A eficiência energética deste *Laser* é muito baixa uma vez que 90% do seu consumo de energia é libertado sob a forma de calor.(85) Por este motivo necessita de um bom sistema de refrigeração interno (normalmente a água) e de instalação elétrica especial.(85)

É um dos *Lasers* mais difundidos e utilizado em diversas áreas, nomeadamente para realização de soldaduras em próteses dentárias. (13)

O meio ativo é constituído por Neodímio (Nd) e um cristal de Ítrio, Alumínio, Granada, e o sistema de bombeamento ótico é constituído por lâmpadas *flash* ou por outros *Lasers*, nomeadamente de Kriptón (Kr).(13) O Neodímio tem o número atómico 60 e pertence à família dos lantanídeos tal como o Érbio.

Em medicina dentária deve ser usado no modo pulsado e com frequências entre 50 e 500 ms (milissegundos), para evitar o efeito térmico nocivo em profundidade.(13) O seu uso em onda contínua não é aconselhável em medicina dentária devido ao efeito térmico nocivo que pode representar para os tecidos.(13)

A sua afinidade para a hemoglobina tornam este laser muito útil em cirurgias onde se pretenda uma boa hemóstase(13), uma vez que a coagulação se verifica consecutivamente ao corte.(17, 93) Possui maior afinidade para a melanina e menor para a água, quando comparada com a afinidade para a hemoglobina.(29)

Outra vantagem deste laser (nomeadamente face ao laser de CO₂) é a possibilidade de se conduzido por fibras de sílica o que permite o seu uso endoscópico, nomeadamente em endodontia.(18, 93)

O *Laser* Nd:YAG não é adequado para tratar tecidos duros dentários (ex. cáries) uma vez que não é, por estes, absorvido, e o calor gerado, ao ser transmitido para zonas mais profundas, pode levar à inflamação e necrose dos tecidos pulpaes e à carbonização, fusão e fratura da estrutura dentária.(17, 93, 95)

É usado frequentemente para descontaminação (no modo de baixa energia e alta frequência)(29), nomeadamente em endodontia.(96, 97)

Existe ainda um *Laser* de características muito idênticas ao Nd:YAG, mas que possui Perovskita em vez de Granada, sendo designado por Nd:YAP. Este *Laser* tem um

comprimento de onda de 1340 nm e apresenta maior afinidade para a água que o Nd:YAG, o que reduz o efeito térmico do laser sobre os tecidos.(13)

2.4.1.2 LASER ER:YAG

O *Laser* de Er:YAG tem como meio ativo o Érbio, um metal raro com o símbolo Er e número atômico 68, que pertence à família dos lantanídeos, tal como o Neodímio, Hólmio e Túlio.

O comprimento de onda do *Laser* de Er:YAG (2940 nm) situa-se muito perto de um dos picos de absorção da água (2870 nm).(98) O elevado nível de absorção pelas moléculas de água faz com que a energia seja absorvida logo nas camadas mais superficiais do tecido alvo. Assim a difusão da energia limita-se à região mais superficial, permitindo um magnífico controlo sobre a profundidade de atuação do feixe.(13)

Enquanto os *Lasers* com comprimento de onda inferior a 2400 nm podem usar fibras de transmissão de sílica (mais baratas e flexíveis), *Lasers* como o de Er:YAG tem que usar outros meios de transmissão. Devido ao alto teor em água contido nas fibras de sílica, os *Lasers* que emitem radiação na zona alta do infravermelho, que possuem grande afinidade para a água, são obrigados a usar outro tipo de fibra (safira, por exemplo). Assim, evita-se que o feixe seja, em grande parte, absorvido pela fibra que o transmite.(98)

A capacidade de penetração do feixe de *Laser* Er:YAG é, em média, cerca de 30 μm (98), o que lhe permite uma interação com os tecidos apenas ao nível superficial, contrariamente ao que acontece com o laser Nd:YAG.(17) Esta característica é-lhe conferida pela grande afinidade pela água, que é cerca de dez vezes superior à do *Laser* de CO₂ e de cerca de 15 a 20 mil vezes maior que o *Laser* Nd:YAG.(12, 99)

A elevada afinidade pela água permite a ablação de tecidos duros através de microexplosões de moléculas de água e outros conteúdos orgânicos hidratados relacionadas com a hidroxiapatite. Estas microexplosões verificam-se pela subida da pressão de vapor interna na célula, que a destrói antes de ser atingido o ponto de ebulição. Este processo de atuação minimiza a transferência térmica para os tecidos adjacentes. (13, 17, 81, 90, 100, 101)

Consequentemente, os tecidos duros contendo mais água (osso e dentina) sofrem uma ação do laser mais acentuada que os tecidos duros com menos água (esmalte). Para facilitar a ação do *Laser* sobre os tecidos, todos os *Lasers* de Er:YAG possuem um sistema de *spray* de

ar/água, que tem um triplo objetivo: promover o arrefecimento dos tecidos, absorver o possível excesso de energia e aumentar a afinidade do feixe.(13, 17, 81, 100, 101)

Assim, o tipo de ablação que se verifica na interação do *Laser* Er:YAG, com os tecidos, é do tipo fotomecânico e não fototérmico como os *Laser* Nd:YAG, diodo ou CO₂.(17)

A reduzida elevação de temperatura registada nos tecidos, a irrigação abundante e a baixa afinidade para a hemoglobina tornam este *Laser* pouco eficaz na obtenção de hemóstase nos tecidos moles, fundamentalmente nos tecidos da cavidade oral, que apresentam elevada irrigação sanguínea. Estes são os principais motivos pelo qual o *Laser* de Er:YAG é usado fundamentalmente em cirurgia óssea e em dentisteria operatória.(14)

2.4.1.3 LASER DE ER, CR: YSGG

Dentro da família dos Lasers de Érbio, e que também é muito usado em medicina dentária é o *Laser* Er, Cr: YSGG (Érbio, Crómio: Ítrio, Escândio, Gálio, Granada), que emite um feixe com comprimento de onda de 2790 nm, também ele muito próximo (embora não tanto como o Er:YAG) do pico de absorção da água. No entanto, devido ao seu menor comprimento de onda (quando comparado com o seu similar Er:YAG), tem um melhor desempenho ao nível dos tecidos moles.(102)

Os meios de condução do feixe são idênticos aos do Er:YAG.(102)

2.4.1.4 LASER KTP

A câmara do *Laser* KTP é comum à do *Laser* de Nd:YAG. A diferença no comprimento de onda do feixe é infligida por um vidro de fosfato de titânio e potássio, que o feixe é “obrigado” a atravessar.(93)

KTP é a abreviatura de Fosfato Titanilo de Potássio (Potassium Titanyl Phosphate) e é considerado um descendente do Nd:YAG. Produz um feixe com um comprimento de onda de 532 nm (exatamente metade do Nd:YAG), possuindo alta afinidade para a hemoglobina e uma capacidade de penetração nos tecidos de cerca de 0,8 mm. Nos tecidos vasculares o poder de penetração é menor dada a enorme capacidade de absorção que eles apresentam para este comprimento de onda.(85)

Este *Laser* emite luz verde dentro do espectro visível pelo que a sua utilização exige a colocação de óculos de proteção com alta densidade ótica, que dão uma tonalidade alaranjada às estruturas anatómicas, dificultando a visão.(98)

Este *Laser* apresenta vantagens face a outros métodos auxiliares de branqueamento dentário.(62, 103, 104) No campo da medicina dentária, possui outras aplicações, mas todas estão restringidas à cirurgia de tecidos moles graças à sua excepcional capacidade hemostática.(93)

2.4.1.5 LASER HOLMIUM: YAG (HO: YAG)

O Hólmio é um elemento químico da família dos lantanídeos (tal como o Nd, Er e Tm). O seu símbolo químico é Ho e o seu número atómico é o 67.

O *Laser* Ho:YAG produz um feixe com um comprimento de onda de 2100 nm e uma duração de pulso de cerca de 350 ms (milissegundos), apresentando grande afinidade para a água e para tecidos que a contenham. Esta característica faz com que o calor se disperse rapidamente quando incide nos tecidos,(85) apesar da afinidade pela água ser substancialmente inferior aos *Lasers* da família do Érbio, tendo, no entanto, uma maior afinidade que estes pelos tecidos moles.(13, 102)

O feixe é conduzido por um cabo de fibra ótica flexível e a sua potência varia entre os 4 e os 10 W.(102) Tal facto (fibras óticas flexíveis de quartzo) permite que este *Laser* seja utilizado em cirurgia endoscópica.(105)

Este *Laser* exige contacto, ao contrário do de Érbio, e penetra cerca de 200 a 400 µm em profundidade(98), deixando, no entanto, marcas da sua ação térmica nas zonas contíguas até cerca de 0,5 a 1 mm.(85, 106)

No início, acreditava-se que este *Laser* permitiria a ablação dos tecidos duros dentários, mas recentemente concluiu-se que havia danos colaterais nos tecidos devido ao calor produzido. (18)

É muito usado na urologia, tendo-se tornado uma referência na litotricia endoscópica (107), não sendo, habitualmente, utilizado em medicina dentária.(102)

2.4.2 LASERS A GÁS

2.4.2.1 LASER DE HÉLIO-NEON

O *Laser* de Hélio-Néon (He-Ne) é o *Laser* a gás mais comum e mais económico(13), tendo sido criado em 1961 no M.I.T. (Massachusetts Institute of Technology).(18) Foi o primeiro laser a emitir um feixe contínuo (13)e o seu comprimento de onda é de 632,8 nm, emitindo uma luz vermelha visível que é utilizada em ponteiros laser ou como luz guia em alguns *Lasers* usados em medicina dentária.(13, 62, 102) Ultimamente têm sido substituídos, nesta função, pelo *Laser* diódo.(18)

Quanto a aplicações médicas, este *Laser* tem um grande poder terapêutico, tanto em lesões superficiais como profundas.(102)

Em medicina dentária, já foi usado no tratamento da hipersensibilidade dentinária(93), e pode também ser usado como *Laser* terapêutico,(13) nomeadamente em bioestimulação.(7)

2.4.2.2 LASER DE CO₂

O *Laser* de CO₂ foi um dos primeiros *Lasers* a ser utilizado com fins médicos. O meio ativo é constituído por uma mistura de He, N e CO₂, embora apenas o CO₂ participe no processo de produção do feixe. O método de excitação do meio ativo é por descarga elétrica. (7, 102)

Este *Laser* tem boa capacidade de corte e hemóstase em tecidos moles conforme comprovado por Yahr e Strully em 1966, (108) mas foi desde o início estudado quanto à sua aplicabilidade no corte de tecidos duros dentários, uma vez que foi um dos primeiros *Lasers* de alta intensidade a ser construído. No entanto, a sua utilização em tecidos duros é relativamente limitada face às temperaturas, impossíveis de controlar, induzidas nestes tecidos.(93) A aplicação deste *Laser* nos tecidos duros dentários pode ter efeitos devastadores uma vez que facilmente desnatura as proteínas (com a consequente formação de substâncias tóxicas), carboniza e funde o tecido irradiado, provocando, ainda, alterações nos tecidos irradiados.(95)

Os *Lasers* de CO₂ emitem energia na região do infravermelho com comprimento de onda longo (9600 nm e 10600nm) e tem muito boa afinidade para a água (10600 nm) e para a hidroxiapatite (9600 nm).(7, 13, 85) Por este motivo, o laser de 10600 nm é utilizado em tecidos moles e o de 9600 nm em tecidos duros, apesar da sua afinidade pela hidroxiapatite

provocar um aumento de temperatura dos tecidos, contrariamente com o que acontece com o *Laser* de Er:YAG.(13, 101) Este comprimento de onda apresenta, ainda uma grande afinidade para o colagénio e uma afinidade para a água menor do que o de 10600 nm. (109)

O *Laser* de CO₂ produz a vaporização dos tecidos(85) mas o seu longo comprimento de onda limita a capacidade de penetração nos tecidos, que varia entre 40 e 240 µm.(98) Esta baixa capacidade de penetração também é influenciada pela grande afinidade que apresenta pela água, fazendo com que ele seja absorvido, na totalidade, até um máximo de 300 µm de profundidade.(98)

A condução do feixe é efetuada por um braço articulado ou por fibras ocas revestidas internamente por material dielétrico que reflete a luz *Laser*. As potências usadas em medicina dentária rondam os 5 W, no modo contínuo, pulsado ou superpulsado, que é obtido de forma eletrónica para evitar danos térmicos nos tecidos, sendo usado sobretudo em cirurgias de tecidos moles, focado, conseguindo fazer cortes precisos e promover uma boa hemóstase.(13, 102)

A sua utilização em tecidos duros, por provocar fusão das zonas irradiadas, pode ser aproveitada para reparar fraturas radiculares verticais. (110) No entanto, são necessários mais estudos que comprovem e estabeleçam o protocolo de atuação neste campo.

2.4.2.3 LASER DE ÁRGON

O Árgon é o terceiro elemento da classe dos gases nobres, de símbolo químico Ar e com o número atómico 18.

Embora possam emitir feixes em comprimentos de onda que variam entre os 175 e os 1100 nm,(18) oitenta por cento dos *Lasers* de Árgon mais utilizados, emitem feixes com comprimentos de onda de 488 (azul) ou 514 nm (azul esverdeado), na área visível do espectro.(93, 111) O feixe pode ser conduzido por fibra ótica e a emissão é contínua ou pulsada bloqueada.(93)

Atualmente, este *Laser* não é comercializado para a área da medicina dentária, embora possa ser usado para polimerização de resinas compostas (93, 112-115), selantes de fissura (116), adesivos (117, 118), cimentos para fixação de *brackets* em ortodontia (114, 118, 119) uma vez que o comprimento de onda de 488 nm ativa a canforoquinona (102), para ativação do peróxido de carbamida em branqueamentos dentários, com o mesmo comprimento de

onda (115), ou para cirurgia de tecidos moles, pela sua grande afinidade para a hemoglobina e melanina.(102) Foi ainda utilizado com sucesso em pulpotomias (120), hemóstase, tratamento de inflamação aguda na doença periodontal e na deteção de cáries, situações em que tira vantagem do facto de não ter qualquer ação sobre os tecidos duros.(93, 102)

Este tipo de *Laser* não tem efetivamente grande interesse para a medicina dentária pela sua aplicabilidade muito limitada, pelo custo elevado de aquisição (complexidade de construção) e de manutenção e pela baixa eficiência energética.(18, 93)

A câmara de ressonância, constituída por grafite ou berílio com revestimento de quartzo, precisa de ser resistente às altas temperaturas geradas durante a produção do feixe e, obrigatoriamente, refrigerada por água. A substância ativa é um gás que é levado a um estado de excitação (ionização) antes de emitir o feixe *Laser*. (18, 93)

O *Laser* de Árgon tem uma notável capacidade de provocar hemostasia, sendo mais utilizado no campo oftalmológico, gastroenterologia, flebologia e dermatologia(121, 122).

2.4.2.4 LASER EXCIMER

Os laser excimer são lasers de gás especiais de moléculas instáveis denominadas excimer. Este nome deriva dos termos “excitado” (*excited*) e “dímero” (*dimer*), sendo usados gases altamente reativos, tais como o cloro e o flúor, misturados com gases nobres, como o Árgon, Kriptón ou Xénon, numa solução líquida ou suspensão, como material de geração do *Laser*.(18, 93) Esta é a fonte mais importante de *Lasers* de onda curta, que podem variar entre 158 nm (F₂) e 351 nm (XeF), passando pelos de 193 nm (ArF), de 249 nm (KrF) e pelo mais popular de 308 nm (XeCl).(93, 102)

Podem ser ajustados numa ampla faixa de comprimentos de onda. O feixe não pode ser conduzido por fibras óticas e a aquisição é dispendiosa para a pouca aplicação em medicina dentária.(18) O feixe é emitido no modo pulsado.(93)

Este *Laser*, com comprimento de onda de 308 nm, já foi testado no tratamento de líquen plano oral, com resultados não muito satisfatórios.(123-125) A ideia de desenvolver estes estudos baseou-se no facto de este *Laser* promovera apoptose das células T *in vitro*, que estão implicadas no líquen plano oral.(126)

Tem aplicação em cirurgia vascular (angioplastia), dermatologia (psoríase, vitiligo e alopecia areata) e oftalmologia (cirurgia refrativa), tirando vantagem do seu corte a frio.(102)

2.4.3 LASERS DE SEMICONDUTOR

Também chamados de *Lasers* de díodo, não podem ser considerados verdadeiros *Lasers* no estado sólido. Designam-se por semicondutores, as substâncias que, sem se comportarem como isolantes, possuem uma condutividade muito inferior à dos metais.(102)

A sua construção é a mais simples e a mais económica e todos os lasers, não necessitando de câmara de ressonância uma vez que o meio ativo transforma diretamente a energia elétrica em luz *Laser*. A substância que mais frequentemente se utiliza na sua construção é o Arsénio, Gálio e Alumínio (GaAlAs).(13)

Esta família de *Lasers* emite feixes com diferentes comprimentos de onda. Os que emitem comprimentos de onda mais baixos são usados para diagnóstico e bioestimulação (620 a 808 nm), os que emitem comprimentos de onda intermédios (808 a 904 nm) tem indicação para bioestimulação e cirurgia e os que emitem feixes de maior comprimento de onda (980 nm) são, habitualmente, indicados para cirurgia de tecidos moles. (13, 102)

O feixe *Laser* pode atuar sobre os tecidos com ou sem contacto, apresentando uma grande afinidade pela hemoglobina e pigmentos como a melanina.(29)

O comprimento de onda de 980 nm tem maior afinidade pela água, o que lhe permite resultados clínicos superiores aos outros comprimentos de onda emitidos pelos outros díodos, principalmente quando o objetivo é a ablação de tecidos moles. (29)

O feixe *Laser*, emitido no modo contínuo ou pulsado bloqueado, pode ser conduzido através de fibras óticas que podem ter 200 a 600 µm, de diâmetro.(93) O modo pulsado bloqueado permite a utilização de potências de feixe mais elevadas e maior tempo de contacto. Neste modo, os tecidos sofrem, menor impacto térmico, o que proporciona um melhor pós-operatório para o paciente por diminuição dos danos térmicos colaterais.(29)

As maiores vantagens dos *Lasers* díodo são:(29, 93)

- Hemóstase excelente por grande afinidade com a hemoglobina
- A cirurgia de tecidos moles pode ser efetuada sem a preocupação, embora limitada, de serem afetados os tecidos duros (osso e dente) ou implantes dentários.
- Propriedade bactericida
- Portabilidade e custo reduzido face a outros *Lasers* aplicáveis à medicina dentária

Esta categoria de *Lasers* representam a fonte de energia ótica mais eficiente para a excitação de átomos de outros *Lasers*, especialmente os sólidos.(18)

2.5 MODO E MEIOS DE EMISSÃO DO FEIXE

O *Laser* pode ser classificado com base no modo de emissão do seu feixe, podendo, no entanto, utilizar mais que um modo se a sua emissão for de feixe contínuo.

A maior parte dos aparelhos *Laser* permite o ajustamento de todos os parâmetros relativos à emissão do feixe, exceto, como é fácil de compreender, o comprimento de onda.

É muito importante que o operador saiba qual é o modo de emissão do feixe para que possa gerir corretamente a interação do *Laser* com os tecidos.

2.5.1 EMISSÃO CONTÍNUA OU FEIXE CONTÍNUO

Alguns aparelhos *Laser* emitem feixes cuja energia é constante ao longo do tempo em que o *Laser* é ativado pelo operador. Neste caso, a potência média é igual à potência de saída, uma vez que a energia e a emissão é constante ao longo do tempo em que o feixe é emitido. (13, 29, 90, 93) A este tipo de emissão chamamos de Emissão Contínua ou Feixe Contínuo ou, em Inglês, Continuous Wave (CW).

Para este tipo de emissão, o tempo, a potência e o tamanho do feixe são os parâmetros fundamentais que o operador deve conhecer e controlar.(87)

Os *Lasers* diodo e de CO₂ emitem feixes contínuos.(90)

2.5.2 EMISSÃO PULSADA

A emissão pulsada permite ao operador uma maior seletividade relativamente à área a intervir e pode ser dividida em duas formas diferentes e emissão:

- Emissão pulsada bloqueada
- Emissão pulsada livre

A determinação da duração apropriada do pulso foi definida por Anderson e Parrish na Teoria da Fototermólise Seletiva.(127) No entanto, torna-se mais prático, e é cientificamente aceite, que a duração do pulso deve ser menor que o Tempo de Relaxamento Térmico (TRT), para minimizar as lesões térmicas dos tecidos.(128, 129) Como facilmente se depreende, a Teoria da Fototermólise Seletiva apenas pode ser aplicada com os *Lasers* que emitam feixes pulsados.(87)

A maioria dos autores define o TRT como sendo o tempo necessário para que o calor gerado pela absorção do feixe pelo cromóforo-alvo seja reduzido em 50 % da temperatura atingida pelo tecido logo após a sua emissão.(13, 130, 131) O TRT é diretamente proporcional ao quadrado da área da zona alvo, ao tamanho do cromóforo e do objeto e inversamente proporcional à capacidade de difusão térmica do tecido.(87, 131, 132)

Assim, habitualmente o tempo de pulso é selecionado em função do tempo que o tecido demora a dissipar cerca de 50% da energia sobre ele aplicada, sendo que o intervalo entre pulsos deve ser igual ou ligeiramente maior que o TRT para que o efeito fototérmico não danifique os tecidos circundantes.(13, 90, 128) No entanto, deve ser tido em consideração que o TRT não é constante para o mesmo tecido irradiado, e que, após diversas passagens, o TRT aumenta devido à menor capacidade de libertação de energia acumulada sob a forma de calor.(128)

Recentemente, o TRT foi definido, por Yadav RK, como o tempo que o tecido alvo necessita para libertar cerca de 63 % da energia térmica nele incidente, através da difusão térmica do calor para os tecidos circundantes e para o meio ambiente.(133) Bogdan Allemann também adota esta definição.(87)

Para os *Lasers* de emissão pulsada é fundamental que o operador conheça as características do pulso quanto à sua energia e duração, a fluência e o diâmetro do feixe.(87)

2.5.2.1 EMISSÃO PULSADA BLOQUEADA

Os *Lasers* que usam este tipo de emissão, emitem feixes contínuos que são interrompidos por um obturador mecânico ou elétrico colocado à saída da câmara de ressonância,(90, 93) tudo controlado por um *software* especial.(13)

Normalmente, a duração do pulso é, no máximo, da ordem dos microssegundos.(93) O principal objetivo deste modo é a diminuição de aporte energético para que os tecidos sejam menos afetados pelos efeitos nocivos do aumento de temperatura, pela menor transferência energética *Laser*/tecido.

Os *Lasers* que trabalham com emissão pulsada bloqueada são os mesmos que trabalham em emissão contínua, desde que incluam um *software* com essa possibilidade.(13)

2.5.2.2 EMISSÃO PULSADA LIVRE

Este tipo de emissão também é designado como “Emissão Pulsada Verdadeira” ou, em Inglês: “Free-running pulsed mode” ou “True-pulsed mode”.

Neste modo de emissão, que normalmente dura alguns microssegundos (μs), o feixe *Laser* é emitido tem uma duração muito menor do que o tempo de descanso que se lhe segue. Por exemplo, o pulso pode ter a duração de $100\mu\text{s}$ e ser emitido 10 vezes por segundo. Neste caso, em cada segundo, o tempo total de emissão do feixe é de 1 ms ($10 \times 100 \mu\text{s} = 1000 \mu\text{s} = 1$ milissegundo), e o tempo refratário é de 999 ms. No entanto, apesar do tempo de emissão do feixe ser muito reduzido, a energia contida em cada pulso é, habitualmente, muito elevada, o que lhe permite uma grande capacidade na interação verificada com o tecido. Paralelamente, o tempo total de emissão do feixe é baixo, o que permite uma excelente recuperação do tecido nos períodos refratários. (13)

Um *Laser* que emita um feixe pulsado verdadeiro não consegue emitir um feixe contínuo nem, conseqüentemente, um feixe pulsado bloqueado, uma vez que o meio ativo é estimulado por lâmpadas *flash* estroboscópicas, que promovem apenas a emissão do feixe de forma intermitente.(13)

São exemplos os *Lasers*: Nd:YAG, Nd:YAP, Er:YAG e Er, Cr:YSGG. (90)

Atualmente há *Lasers* que emitem feixes em pulsos com a duração de nanosegundos (10^{-9}s), picossegundos (10^{-12}s) e femtossegundos (10^{-15}s).(29)

Para termos uma ideia comparativa mais concreta da duração de um femtossegundo, podemos compará-lo ao segundo na mesma ordem de grandeza que comparamos um segundo com 32 milhões de anos.

2.6 PROPRIEDADES ÓTICAS

2.6.1 COMPRIMENTO DE ONDA

O comprimento de onda de um *Laser* depende do meio ativo contido e do desenho da cavidade de ressonância e habitualmente é representada pela letra grega lambda (λ). (36)

A variação dos possíveis comprimentos de onda depende do meio ativo. O desenho do laser define quais os comprimentos de onda que serão emitidos. (36)

O comprimento de onda é definido como a distância entre dois pontos na mesma fase no eixo horizontal da onda, representando o tamanho físico da onda. Esta é a característica mais importante na definição da interação do feixe com o tecido e a única que não pode ser modificada pelo utilizador. (90)

Na física do *Laser*, a unidade de medição mais usada para o comprimento de onda é o nanómetro ($\text{nm} = 10^{-9} \text{ m}$). (87)

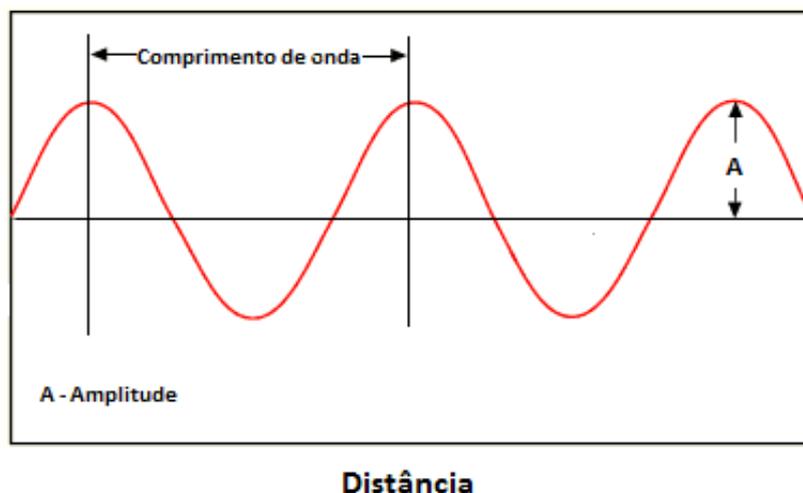


Ilustração 8 - Comprimento e amplitude de uma onda

2.6.2 POTÊNCIA DO FEIXE

A Potência é medida em Watt e representa a unidade de energia (J – Joule) por unidade de tempo (s – segundo), ou seja $P \text{ (W)} = \text{Energia (J)} / \text{tempo (s)}$. A potência do feixe de *Laser* refere-se à quantidade total de energia (número de fótons) presente no feixe, não tendo em consideração a sua área. (36)

Sabendo que a área na qual a potência do feixe se distribui é fundamental, há duas outras medidas que assumem maior importância que a potência do feixe:

- Fluência ou Densidade de Energia(87, 133)
 - Definida como a quantidade de energia em função da área num único pulso, sendo expressa em J/cm^2 . Esta unidade de medida é utilizada para caracterizar os feixes pulsados.

$$Fluência = \frac{Intensidade \times Tempo}{Área} = \frac{Watts \times Segundos}{cm^2} = \frac{Joules \times Segundos}{Segundos \times cm^2} = J/cm^2$$

- Irradiância ou Densidade de Potência(87, 133)
 - Definida como o quociente entre a potência do feixe incidente e a superfície onde o feixe incide, sendo expressa em W/cm^2 . Esta unidade de medida é utilizada para caracterizar os feixes de emissão contínua.

$$Irradiância = \frac{Intensidade}{Área} = \frac{Watts}{cm^2} = W/cm^2$$

2.6.3 DIVERGÊNCIA E TAMANHO DO FEIXE

Empiricamente, podemos ser induzidos a pensar que o diâmetro do feixe de um *Laser* é absolutamente igual a qualquer distância que este esteja do alvo. No entanto, todos os feixes se espalham ligeiramente e acabam por alargar a sua zona de impacto à medida que nos afastamos do alvo.(36)

A este efeito (ângulo de abertura do feixe) chama-se divergência. A divergência depende do tipo de *Laser* e do tipo de lentes que conduzem o feixe e das peças de mão utilizadas. A divergência do feixe do *Laser* é, normalmente, medida em milirradianos (*mrad* - unidade igual a $0,0573^\circ$; $360^\circ = 2\pi \text{ rad}$). Para calcularmos o tamanho do feixe a uma dada distância multiplicamos a distância pela divergência do feixe em radianos.(36)

Os *Lasers* de semicondutores (ex.: díodo) têm, normalmente, uma maior divergência. Esta pode ser corrigida com a parte ótica do aparelho.(36)

O tamanho do feixe corresponde à área transversal do feixe *Laser*.(131) Como o feixe é habitualmente colocado num ângulo de 90° em relação ao tecido alvo, a sua secção é circular e a sua área corresponde à área do círculo: πr^2 .

O tamanho do feixe é um importante parâmetro que pode, na maioria dos casos, ser modificado pelo operador, através da utilização de fibras de diferentes diâmetros ou, nos

casos de não contacto, afastando ou aproximando a peça de mão do tecido alvo. Esta característica influencia a profundidade de penetração e a dispersão do *Laser* nos tecidos uma vez que afeta, de forma inversamente proporcional ao quadrado do seu raio, a fluência e a irradiância.(87)

2.6.4 COERÊNCIA

A coerência deve ser, provavelmente, a mais conhecida das propriedades óticas. As ondas das radiações eletromagnéticas dizem-se coerentes se estiverem em fase umas com as outras, ou seja, se todos os fótons emitidos descreverem o mesmo circuito ondulatório sincronizadamente,(36) mantendo uma relação fixa entre as respetivas fases.(7)

Esta é uma das características principais da luz *Laser* em contraponto com a luz clássica (luz solar, luz incandescente, fluorescente, LED) ou com a luz de fonte térmica, que são incoerentes.(134, 135)

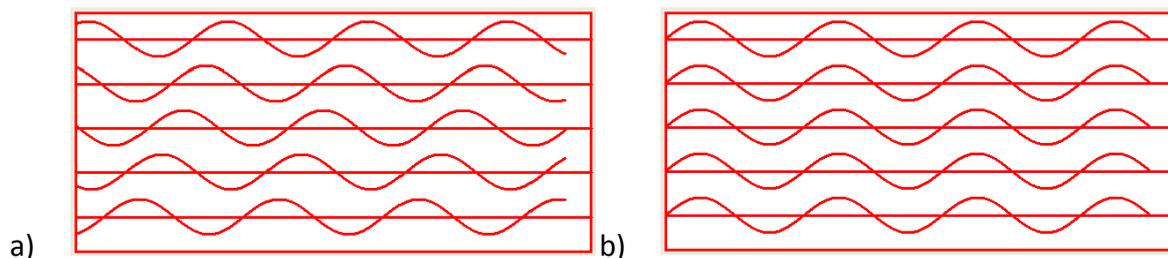


Ilustração 9 - Feixe de luz incoerente (a) vs. luz coerente (b)

Um feixe de luz policromático é, obrigatoriamente, incoerente, e apesar de toda a luz coerente ser monocromática, nem toda a luz monocromática é coerente. Os *Lasers* são a única fonte de luz que conseguem gerar coerência, em longas distâncias, na luz produzida.(36) Ver ilustração abaixo.

A coerência depende da duração da emissão do feixe. Quanto mais curto for o pulso mais ampla é a variação do comprimento de onda e, conseqüentemente, menor a coerência. Por outro lado a emissão contínua provoca uma emissão em largura de banda mais estreita, logo, mais coerente.(36)

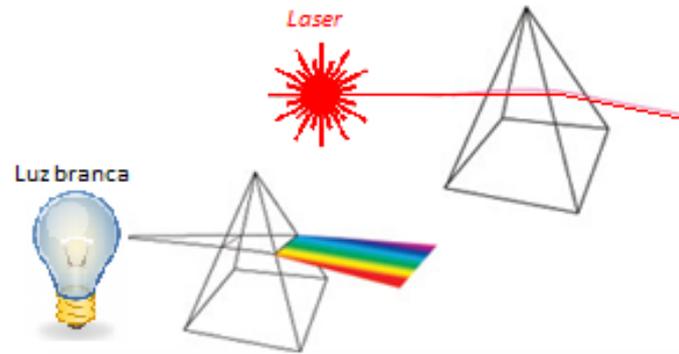


Ilustração 10 - Comportamento da luz policromática (luz branca) versus a luz monocromática (luz Laser)

A coerência pode ser temporal ou espacial.(36, 135) Estas duas formas de coerência são totalmente independentes, o que quer dizer que podemos ter um feixe com coerência temporal parcial e uma coerência espacial perfeita.

2.6.4.1 COERÊNCIA TEMPORAL

A coerência temporal mede o tempo durante o qual as ondas de fótons se mantem na mesma fase. A coerência é comparada em diferentes ocasiões, mas também pode ser usada para medir a distância que o feixe percorre durante um determinado período de tempo.(36)

2.6.4.2 COERÊNCIA ESPACIAL

A coerência espacial é verificada através da medição, em corte transversal, da área do feixe na qual a luz é coerente.(36)

2.6.5 EFICIÊNCIA

A eficiência varia muito de Laser para Laser e é descrita como a relação entre o volume de massa excisada e a energia do impulso do Laser.(136)

2.7 A INTERAÇÃO COM OS TECIDOS BIOLÓGICOS

Para entender o funcionamento de um *Laser* na área médica é necessário estudar aprofundadamente e entender a interação entre a luz *Laser* e os tecidos biológicos. Estes conhecimentos otimizarão a utilização do *Laser* e os seus efeitos fotobiológicos.

A interação do feixe com os tecidos é condicionada por dois fatores interdependentes:

- Comprimento de onda do *Laser*
 - Afeta a capacidade de penetração do feixe no tecido, uma vez que, em geral, um maior comprimento de onda implica uma maior capacidade de penetração do feixe no tecido.(131)
- Características óticas do tecido alvo
 - Uma maior presença de constituintes com afinidade para o comprimento de onda do feixe implica uma menor profundidade de penetração.(131)

O comprimento de onda selecionado depende de uma decisão do operador, que deverá ser selecionada tendo em linha de conta as características óticas do tecido. Há ainda outras decisões importantes que dependem do operador:(131)

- Energia (J)
- Potência ($W = J/s$)
- Irradiância ou Densidade de potência (W/cm^2)
- Fluência ou Densidade de energia (J/cm^2)
- Tipo de peça de mão utilizada
 - Contacto
 - Não contacto
- Modo de emissão
 - Contínua
 - Pulsada
 - Duração do impulso (s)
 - Frequência ou Velocidade de repetição (Hz ou s^{-1})

Os diferentes tecidos do corpo humano vão absorver, preferencialmente, comprimentos de onda distintos. Para que um determinado comprimento de onda tenha efeito terapêutico, os tecidos sobre os quais ele é aplicado devem ter uma grande capacidade de absorção desse

comprimento de onda específico. Caso isso não aconteça, não se consegue atingir o efeito terapêutico pretendido.(62)

O efeito térmico provocado pela energia do laser nos tecidos moles está relacionado com o conteúdo de água e com o aumento de temperatura do próprio tecido.(13, 90, 93, 137)

Temperatura do tecido (° Celsius)	Efeito observado
37 a 50°	Hipertermia; Inativação bacteriana; Inativação de enzimas celulares; Vasodilatação; Danos epiteliais
50 a 70°	Inativação de bactérias não esporuladas (50°); Desorganização das membranas celulares (50°); Coagulação; Desnaturação de proteínas (60°).
70 a 90°	Fusão dos bordos dos tecidos moles; Permeabilização da membrana (70°); Desnaturação (70°) e contração (80°) das fibras de colagénio; Desnaturação do DNA (70°); Necrose (80°).
100 a 150°	Fragmentação molecular; Vaporização da água, desidratação total e atrofia celular; Hiperchromasia; Rutura da membrana celular; Volatilização dos componentes tecidos; Hialinização do colagénio.
>200°	Desidratação e carbonização; Fragmentação molecular; Geração de fumos e combustão.

Tabela 3 - Efeitos da temperatura no tecido alvo (13, 91, 93, 137-139)

A energia radiante atua sobre os tecidos de quatro formas distintas:(78, 131)

- Reflexão
- Transmissão
- Absorção
- Dispersão

2.7.1 REFLEXÃO

A reflexão pode ser definida como o redireccionamento de parte do feixe (quando um tecido é irradiado, cerca de 3% é refletido na sua superfície) que não provoca qualquer efeito sobre o tecido, uma vez que, nele, não penetra.(90, 91, 131, 138) Esta parte do feixe que é refletida pode ser extremamente perigosa se tomar a direção de um alvo não desejado, principalmente se for muito sensível à sua ação, nomeadamente os olhos, sendo a maior preocupação no que concerne à segurança de utilização do laser.(90, 91)

A luz laser remanescente (a que não é refletida) é absorvida, dispersa ou transmitida, tendo efeito sobre o tecido.(91)

A reflexão aumenta com o aumento do ângulo de incidência, atingindo o seu menor valor quando o feixe é aplicado perpendicularmente ao tecido.(18, 131) Quanto maior for a luz refletida menor será a fluência ou irradiância do feixe.(87)

No entanto, a reflexão nem sempre é nefasta. Tecnicamente, ela foi aproveitada para criar equipamentos que permitem o diagnóstico de cáries e a deteção de cálculo nas raízes dentárias, por exemplo.(90, 138)

2.7.2 ABSORÇÃO

A absorção da energia do feixe pelo tecido alvo é o objetivo primário do uso do *Laser* e representa o oposto da transmissão.(90, 131)

Segundo a lei de Grotthuss-Draper, a luz deve ser absorvida por uma substância química para que se produza uma reação nesse tecido alvo.(131, 140) A quantidade de energia absorvida depende das características do tecido, nomeadamente quanto à água e agentes cromóforos (hemoglobina, melanina, tatuagens, por ex.), e do comprimento de onda do feixe.(90, 131) A energia dos fótons que compõem o feixe *Laser* é totalmente absorvida, pelos cromóforos, transformando-se, totalmente, em energia térmica.(87, 131, 140)

A água presente nos tecidos absorve fortemente a luz laser com comprimentos de onda na área dos infravermelhos (Er:YAG e CO₂). Pelo facto de a afinidade ser elevada, apenas as camadas mais superficiais do tecido sofrem ação do feixe uma vez que a luz é completamente absorvida nestas camadas, impedindo-a de penetrar mais profundamente, ficando, assim, limitados os possíveis danos térmicos indesejados, nos tecidos alvo.(18)

O aumento de temperatura no local da incidência do feixe depende da percentagem de absorção de fótons do tecido e resulta na conversão da energia luminosa do feixe em energia térmica.(91, 131)

2.7.3 DISPERSÃO

A dispersão do feixe no interior dos tecidos segue uma direção diferente do feixe incidente, o que provoca um aumento significativo da área irradiada.(87)

A dispersão da energia do laser é inversamente proporcional ao comprimento de onda. Comprimentos de onda até aos 400 nm têm maior dispersão e menor penetração. Comprimentos de onda entre os 1000 e os 1200 nm têm menor dispersão e maior penetração. Feixes com comprimento de onda na região intermédia e alta do infravermelho ($\lambda > 1300$ nm), devido à grande afinidade pela água e ao elevado teor em água que apresentam todos os tecidos do corpo humano, são totalmente absorvidos na superfície do tecido.(18, 131)

A dispersão tem como consequência a diminuição da energia no local de aplicação do feixe e o aumento de temperatura nos tecidos vizinhos do local cirúrgico.(90, 138) A heterogeneidade dos tecidos contribui para este efeito. As diferenças entre os tamanhos das partículas e os índices de refração dos tecidos são determinantes para a quantidade de luz que vai sofrer dispersão.(131) O diâmetro do feixe *Laser* também influencia, na razão inversa, a quantidade de luz que dispersa (maior diâmetro ➤ menor dispersão). (87)

A dispersão, que resulta numa abrangência maior do que o inicialmente esperado,(87, 131) é aproveitada, tecnologicamente, para, em determinados aparelhos, promover a polimerização de resinas compostas.(138) Pode ainda ser benéfica no tratamento de lesões mais extensas da cavidade oral (úlceras major, por exemplo).(90)

2.7.4 TRANSMISSÃO

O feixe residual que não foi refletido, absorvido ou disperso é transmitido para as estruturas mais profundas. Os *Lasers* de comprimento de onda mais curto (300 a 400 nm), por sofrerem maior dispersão, quase não sofrem transmissão através dos tecidos. A transmissão aumenta gradualmente com o aumento do comprimento de onda até aos 1200 nm, voltando a baixar à medida que aumenta a afinidade para a água.(87)

A transmissão é considerada o inverso da absorção, uma vez que a luz passa através do tecido sem ter qualquer efeito sobre ele e sem que este altere as características do feixe.(29, 90, 131, 138) A capacidade de absorção de um determinado tecido é, por isso, inversamente proporcional à sua transmissão.

Este efeito está profundamente dependente do comprimento de onda do *Laser* e da composição do tecido alvo. Sempre que o comprimento de onda tenha grande afinidade para os componentes do tecido a transmissão vai ser praticamente nula. É o que acontece nos tecidos que contêm uma grande proporção de água quando são irradiados com um feixe de *Laser* Er:YAG.(18, 29, 90)

Nos tecidos orais os *Lasers* KTP, diodo e Nd:YAG tem uma maior transmissibilidade, uma vez que apresentam muito menor afinidade para a água do que o *Laser* Er:YAG e o de CO₂.(90)

2.8 MECANISMOS BIOLÓGICOS DE AÇÃO DO LASER

A grande diversidade de mecanismos de interação quando aplicamos um feixe de luz *Laser* sobre um tecido biológico deve-se às múltiplas características dos tecidos e aos parâmetros de cada *Laser*, nomeadamente o comprimento de onda do feixe emitido.

O comportamento ótico de cada tecido depende dos seus coeficiente de absorção, reflexão, transmissão e dispersão em relação ao feixe *Laser* sobre ele aplicado. Cada um destes mecanismos de interação corresponde a efeitos clínicos perfeitamente definidos.

É de fulcral importância o conhecimento da interação do *Laser* com os tecidos. Não se podem utilizar estes aparelhos sem dominar esta ação. Seria o mesmo que pretender realizar cirurgia oral sem dominar a anatomia da cavidade oral, a fisiologia dos seus tecidos ou a farmacologia e a terapêutica.

Os mecanismos de interação do *Laser* sobre os tecidos são determinados, concomitantemente, por uma série de parâmetros:

- Comprimento de onda
- Tempo de exposição
- Dimensão do feixe
- Duração do impulso e frequência
- Irradiância ou densidade de potência
- Fluência ou densidade de energia
- Propriedades óticas (nomeadamente o coeficiente de absorção e de dispersão) e composição do tecido alvo

Estes diferentes aspetos determinam qual a ação da energia sobre o tecido.

Os *Lasers* apresentam diversos mecanismos de ação sobre os tecidos biológicos:(13, 87, 141)

- Interação fotoquímica
- Interação fototérmica
- Interação fotomecânica e fotoionizante
- Interação fotoelétrica

2.8.1 INTERAÇÃO FOTOQUÍMICA

O princípio básico deste processo baseia-se na absorção do feixe, por parte das substâncias cromóforas presentes nos tecidos, e consequentes reações do tipo bioquímico ou celular. As substâncias cromóforas tanto podem ser endógenas como exógenas, estas injetadas pelo operador como no caso da terapia fotodinâmica.(13, 91)

A ação fotoquímica ocorre com irradiâncias muito baixas (cerca de $1\text{w}/\text{cm}^2$) e longos períodos de pulso (de um segundo a onda contínua).(13, 142)

A energia do *Laser* é usada para precipitar reações químicas nos tecidos, alterando-lhes as propriedades físico-químicas.(98) Estas reações químicas podem, também, ser estimuladas em diferentes materiais de uso clínico, nomeadamente resinas compostas (fotopolimerização), agentes de branqueamento (libertação de radicais livres de oxigênio) ou antissépticos para desinfecção de canais radiculares ou bolsas periodontais.(29)

Dentro da interação fotoquímica, podemos encontrar 3 tipos diferentes de ação:

- Bioestimulação
- Terapia fotodinâmica
- Fluorescência

2.8.1.1 BIOESTIMULAÇÃO

A bioestimulação é o efeito da luz *Laser* sobre os processos moleculares e bioquímicos que ocorrem normalmente nos tecidos (ex.: regeneração tecidual). Este efeito faz-se sentir ao nível do citoplasma e das mitocôndrias das células irradiadas,(18) e ocorre, normalmente, com baixa irradiância.(13, 142)

A bioestimulação dos tecidos com *Laser* de baixa intensidade favorece a capacidade de cicatrização dos tecidos, a proliferação das fibras de colagénio e um efeito anti-inflamatório e analgésico generalizado.(29)

A bioestimulação promovida pelos *Lasers* é estudada desde o final dos anos 60, mas ainda não está absolutamente comprovada, apesar de a literatura relatar inúmeros efeitos celulares e vasculares, importantes na aceleração do processo de regeneração dos tecidos lesados ou intervencionados.(143)

Embora a bioestimulação seja efetuada principalmente com *Lasers* de baixa intensidade (fundamentalmente por razões económicas), os aparelhos de alta intensidade também podem ser utilizados desde que com energia baixa e com o feixe desfocado.(29) Contudo, apesar das inúmeras experiências em culturas celulares, não se conseguiu ainda entender perfeitamente os mecanismos celulares envolvidos,(18) nem qual das propriedades dos *Lasers* é a principal responsável pela bioestimulação.(13)

2.8.1.2 TERAPIA FOTODINÂMICA

A terapia fotodinâmica é um processo fotoquímico que consiste na destruição de um tecido (tumoral ou não) através da aplicação de um agente fotossensibilizante⁸, com afinidade preferencial por essas células, e posterior ativação por uma fonte de luz, neste caso o *Laser*.(144-147) Os agentes fotossensibilizantes apenas ficam ativos quando são irradiados.(142) O mecanismo pelo qual as células são destruídas envolve reações intramoleculares que, no final, dão origem à libertação de oxigénio citotóxico e radicais livres, após a absorção da luz por parte do agente fotossensibilizante.(13, 148, 149)

A vantagem do uso de *Laser* em detrimento de uma fonte de luz incoerente, deve-se ao facto da monocromaticidade da sua luz ter o máximo de efetividade quando o seu comprimento de onda coincide com o pico de absorção do fotossensibilizante. A alta irradiância dos *Lasers* (face à luz incoerente) minimiza o tempo de exposição e a possibilidade de transmitir o *Laser* através de fibras óticas extremamente finas permite atingir áreas mais inacessíveis.(148) A destruição seletiva é outra das vantagens do *Laser* na terapia fotodinâmica, devido à sua monocromaticidade.(13, 149)

A terapia fotodinâmica é utilizada essencialmente em oncologia, oftalmologia, dermatologia, gastroenterologia, otorrinolaringologia, pneumologia, ginecologia e também ortopedia.(150) Em medicina dentária, esta propriedade do *Laser* tem aplicação em periodontologia, cirurgia oral e no controlo da hipersensibilidade dentinária.(151) É utilizada, embora ainda numa fase inicial, em carcinomas *in situ* na cavidade oral.(152)

⁸ Cromóforo capaz de provocar uma reação induzida pela luz, em moléculas que não tem capacidade de absorção.

A aplicação da terapia fotodinâmica na medicina dentária tem sido cada vez mais estudada e, apesar de algumas vantagens comprovadas, são, ainda, necessários mais estudos para a definição de protocolos com uma base científica mais sólida.(151)

Outra área na qual a terapia fotodinâmica tem aplicação é a inativação bacteriana, que assume ainda mais importância face ao crescente número de resistências à terapia antimicrobiana.(153, 154)

2.8.1.3 FLUORESCÊNCIA

A fluorescência pode ser usada para localização e identificação de substâncias específicas nos tecidos, que ao interagirem com o *Laser* permitem efetuar um diagnóstico.(13)

Alguns pigmentos biológicos, quando irradiados com um determinado comprimento de onda, absorvem a luz laser e emitem momentaneamente (menos de 10^{-6} segundos) energia sob forma de luz (fluorescência). Esta característica, chamada de fluorescência, é utilizada, por exemplo, no diagnóstico de cáries nas superfícies dentárias acessíveis ou na deteção de cálculo infra gengival. Neste caso o tecido irradiado não sofre qualquer alteração.(13, 29, 90)

A fluorescência é usada, ainda, para a deteção precoce de lesões pré-malignas ou malignas na cavidade oral.(155)

2.8.2 INTERAÇÃO FOTOTÉRMICA

Esta é a principal interação do feixe *Laser* com os tecidos, caracterizando-se pela absorção da energia do *Laser*, que se transforma em energia térmica aquando do contacto tecidual. Neste caso, a fluência deve ser muito alta e o tempo de exposição muito reduzido para evitar efeitos colaterais nos tecidos circundantes. (13, 138)

Na interação fototérmica, a luz *Laser* é absorvida pelos cromóforos dos tecidos e convertida em calor, processo que é acompanhado por um aumento da temperatura local e transmissão do calor até zonas mais frias do tecido.(91) O aumento de temperatura provoca a desnaturação de proteínas, a coagulação, a carbonização e a vaporização dos tecidos.(85)

Neste tipo de interação é muito importante ter conhecimento do Tempo de Relaxamento Térmico (TRT) do tecido alvo. Assim sendo, e como atrás referido, a duração de pulso selecionada deve ser, no mínimo, igual ao TRT para que não se façam sentir os efeitos

térmicos para além da zona de intervenção, o que influenciaria negativamente o processo de regeneração.(131)

2.8.2.1 FOTOABLAÇÃO

A fotoablação consiste na excisão tecidual por vaporização do tecido através do sobreaquecimento dos fluidos tecidulares, promovendo também a hemóstase.(13) O fóton atinge o tecido e, diretamente promove a dissociação celular a partir da qual se obtém a ablação do tecido.(13)

A fotoablação ocorre quando um tecido é irradiado com um feixe de alta dose de potência (10^7 a 10^{10} W/cm²) num intervalo de tempo na casa dos nanosegundos (10^{-10} a 10^{-9} s).(142) Como principal vantagem, a fotoablação apresenta: Precisão de corte, previsibilidade e ausência de danos térmicos.

2.8.2.2 FOTOVAPORIZAÇÃO

A fotovaporização consiste no aquecimento do tecido até obter temperaturas elevadas (100 a 150º Celsius) através da aplicação de um feixe de luz laser, obtendo-se a destruição do tecido por aquecimento.(13) A partir de 100º Celsius a água intra e intercelular dos tecidos moles e a água intersticial dos tecidos duros é vaporizada aumentando de volume, provocando a dissociação dos elementos tecidulares.(138)

2.8.2.3 FOTOCOAGULAÇÃO

A fotocoagulação consiste na promoção da formação de coágulo através da aplicação de um feixe *Laser* com afinidade para a hemoglobina. A fotocoagulação é obtida através da contração das paredes dos vasos, que se verifica quando os tecidos atingem 60 a 70º Celsius.(138)

2.8.3 INTERAÇÃO FOTOMECÂNICA E FOTOIONIZANTE

2.8.3.1 FOTODESTRUIÇÃO OU FOTODISSOCIAÇÃO

Define-se como a separação por descolamento das estruturas com a luz *Laser*.(13)

2.8.3.2 INTERAÇÃO FOTOACÚSTICA

A interação fotoacústica é desencadeada por pulsos muito curtos que provocam, nos tecidos alvo, um aumento de pressão e a geração sucessiva de verdadeiras ondas acústicas. Estas comportam-se como ondas de *stress* que levam à desagregação tecidular através de fenómenos de compressão e tensão.(13)

O efeito fotoacústico pode ser definido como o verdadeiro efeito fotomecânico uma vez que através da ação de micro-ondas atinge-se a destruição mecânica dos tecidos. Alguns autores designam este processo como fotodestruição uma vez que os fótons provocam uma verdadeira destruição molecular.

2.8.3.3 INTERAÇÃO FOTOELÉTRICA

Também designada como ablação induzida (ou mediada) por plasma, é caracterizada pela rutura das forças dos campos elétricos médios de Coulomb intramoleculares e atómicos, permitindo, desta forma, a ionização com formação de plasma e a ablação tecidular, tendo origem no campo eléctrico do feixe do *Laser*.(13)

3. A PIEZOCIRURGIA

A piezocirurgia (ou cirurgia piezoelétrica como era, habitualmente, designada) é um método de realização de osteotomia usado em diversas áreas médicas, nomeadamente na ortopedia (156), otorrinolaringologia (3, 157-159), neurocirurgia (157, 160, 161), cirurgia oral (162-167), cirurgia maxilofacial (168-170) e cirurgia periodontal (157). Há inúmeros estudos que abordam as vantagens clínicas da utilização dos ultrassons na área da cirurgia óssea, embora poucos se refiram à dinâmica da cicatrização óssea ou comparem, simultaneamente, este com outros métodos de realização de osteotomia, nomeadamente a broca e o *Laser* de alta intensidade.

A utilização dos ultrassons para diagnóstico médico foi investigada pela primeira vez nos anos 40, mas apenas começou a adquirir importância nos anos 60. A possibilidade de aplicação na área cirúrgica também começou a ser estudada nos anos 40. (171)

Os ultrassons foram utilizados pela primeira vez em medicina dentária no ano de 1953, quando Catuna utilizou um aparelho ultrassónico para cortar tecidos duros dentários.(172) No entanto, naquela época, estes aparelhos necessitavam da presença de um abrasivo coadjuvante, uma vez que a frequência de vibração era de 20 KHz.(173)

Em 1975 foi publicado o primeiro estudo sobre a aplicação dos ultrassons na cirurgia óssea, elaborado por Horton, que, em 1981, publica um estudo histológico em fragmentos de osso humano, colhidos em alvéolos de dentes perdidos. (174, 175)

No ano de 1997, Tomaso Vercellotti, modificou e melhorou a tecnologia ultrassónica existente até então, tendo sido produzido um protótipo. (176) O registo da patente do aparelho piezocirúrgico, destinado ao uso em medicina dentária, e a sua produção em série, foram efetuadas no ano 2000, pela empresa Mectron. (176)

A piezocirurgia baseia-se no uso de tecnologia ultrassónica e no seu efeito piezoelétrico para o corte de tecidos duros (osso e dente). Jacques e Pierre Curie, em 1880, descobriram este efeito que hoje é amplamente usado na área médica, nomeadamente em medicina dentária. (177, 178)

O princípio físico que fundamenta o efeito piezoelétrico, também conhecido como efeito piezo indireto, é produzido pela deformação de certas cerâmicas ou cristais piezoelétricos quando sobre eles é aplicada uma determinada tensão elétrica. Consoante a direção da polaridade, esta tensão provoca expansão e contração, sendo este movimento transmitido ao material adjacente, resultando em microvibrações de frequência ultrassônica que, na piezocirurgia, se situam entre 24/ 25 e 29 ou 30 KHz. (174, 177, 179-184) Esta amplitude de frequências não provoca danos nos tecidos moles, mesmo se utilizado um espectro mais amplo (de 20 a 36 KHz), uma vez que os tecidos moles apenas são afetados no caso de a frequência ser superior a 50 KHz. (156, 161, 162, 168, 174, 181) Quanto menor for a frequência do aparelho menor será o risco de sobreaquecimento dos osso. (181)

Nos aparelhos de piezocirurgia, a vibração ultrassônica é amplificada e transmitida ao tecido ósseo através da ponta ativa (em aço ou titânio recobertas ou não com diamante ou endurecidas com nitreto de titânio, que proporcionam baixo atrito e grande resistência ao desgaste). Normalmente oscila entre 30 a 60 μm e 200 μm no plano perpendicular ao longo eixo da peça de mão (embora existam instrumentos que oscilem exclusivamente ao longo do seu eixo ou, numa combinação dos dois movimentos) e cerca de 20 a 60 μm no plano vertical, com frequência ultrassônicas variáveis (177, 182, 185) e potências entre 5 e 16 W. (169) Os aparelhos de piezocirurgia tem cerca de três vezes mais potência que os aparelhos de ultrassons habitualmente utilizados em periodontologia para efetuar destarização. (169)

A piezocirurgia permite ao cirurgião oral ou ao médico dentista, como já vimos, a possibilidade de trabalhar com um instrumento que não lesa tecidos moles, mesmo quando, com eles, entra em contacto, minimizando a invasividade do ato cirúrgico e maximizando a segurança da intervenção.(3, 160, 162, 164, 169, 172, 181, 182, 186-188) Esta característica permite o seu manuseamento em regiões anatómicas de visualização e acesso mais complicados e onde exista maior risco em termos de lesão de tecidos moles, nomeadamente do mucoperiósseo, de vasos sanguíneos, de nervos e da membrana de Schneider.(162, 168, 169, 181, 182, 184, 189, 190)

As microvibrações permitem uma corte preciso, limpo e rápido, o que aumenta o controlo do procedimento ao nível tátil e visual.(3, 169, 170) Adicionalmente, quando em contacto com o líquido refrigerador provocam a sua pulverização e formação de pequenas bolhas de ar. Estas são resultantes da geração de um movimento rodopiante contínuo gerado pela

microvibração da ponta ativa e pela implosão das gotículas que promovem uma maior visibilidade do campo operatório e uma refrigeração mais eficaz. (177, 181-183)

A pressão exercida sobre o osso com a ponta deve ser constantemente controlada pelo cirurgião para que a capacidade de corte seja ótima. Pressão em demasia provoca o sobreaquecimento do osso e uma diminuição da eficácia de corte, uma vez que a energia, não sendo dissipada através da vibração e corte do osso é, para este, transferida na forma térmica. (169, 191) Se a pressão manual exercida sobre a ponta for igual ou superior a 15 N são anuladas as microvibrações e, conseqüentemente, não se processa a osteotomia.(192) Num teste de osteotomia realizado cinco vezes em calvarias de coelho, a média da força aplicada sobre a ponta ativa, por dois cirurgiões experientes, variou entre $1,5 \pm 0,3N$. (193)

Contrariamente aos instrumentos rotativos, e tal como os *Lasers*, a piezocirurgia é caracterizada pela ausência de inércia pois quando o médico dentista para de acionar o pedal de comando do aparelho o instrumento deixa de ter, imediatamente, capacidade de corte. Esta é uma das vantagens adicionais deste aparelho, (183) mas poucas vezes referida. As características clínicas da piezocirurgia podem ser resumidas em cinco pontos: (157, 181, 186, 194)

1. Corte micrométrico
 - a. Permite a expansão de cristas finas e a recolha de enxertos autólogo de osso com menor desperdício de material biológico.
 - b. Ação precisa e segura a limitar danos nos tecidos (especialmente osteócitos).
2. Corte seletivo
 - a. Evita a lesão de tecidos moles, apesar de cortar tecidos duros.
3. Campo com sangramento reduzido
 - a. Devido:
 - i. Ao fenómeno físico da cavitação.
 - ii. À redução do impacto nos tecidos moles adjacentes.
 - b. Permite melhor visibilidade do campo operatório
 - i. É aumentada pelas reduzidas dimensões da peça de mão.
4. Pressão reduzida sobre a peça de mão
 - a. Resulta num maior conforto para o operador.
5. Ausência de macrovibrações
 - a. Resulta num maior conforto para o operador e para o paciente.

A sua utilização clínica tem 3 áreas onde apresenta vantagens sobre outros métodos: (195)

- Remoção atraumática de implantes osteointegrados;
- Recolha de enxertos ósseos no mento e na região retromolar;
- Lateralização do nervo alveolar inferior;

Segundo Vercellotti, num estudo efetuado em cães, a resposta tecidual do osso é mais favorável quando é ablado com piezocirúrgico do que com outras técnicas (instrumentos rotativos adiamantados ou de tungsténio). (196)

3.1 CONCEITOS BÁSICOS

Os ultrassons são ondas mecânicas com frequência superiores a 20 KHz, frequência que representa o limite superior de audição do ouvido humano.(177) Apesar das vibrações com estas frequências poderem ser produzidas por outras tecnologias, a maior parte destes aparelhos médicos usam o efeito piezoelétrico para as produzirem.(177)

Geralmente os dispositivos médicos ultrassônicos usam transdutores de titanato de bário ($BaTiO_3$), que estão localizados na peça de mão. Esta peça, está ligada por um cabo à unidade principal, recebendo a parte ativa a quem transmite as vibrações.(177)

Quando comparada com a técnica convencional, a piezocirurgia apresenta algumas diferenças que, quanto à utilização, devem ser enfatizadas:

- A pressão exercida sobre a peça de mão deve ser muito bem doseada porque, ao contrário da broca, se a pressão sobre a ponta ativa aumentar em demasia, o volume de osso ablado diminui, aumentando drasticamente a possibilidade de fratura da ponta ativa. (177)
- O aumento da pressão sobre a ponta ativa impede a vibração, transformando a energia vibracional em energia térmica, o que pode lesionar os tecidos. (169)
- Apesar da utilização de uma pressão adequada de corte minimizar o risco, devem ser efetuadas paragens regulares para evitar o sobreaquecimento do osso, principalmente durante a realização de cortes longos e /ou profundos. (169)

3.2 MECANISMOS DE AÇÃO

O efeito de cavitação provocado pelo aparelho de piezocirurgia é o verdadeiro cerne desta tecnologia. O fenómeno de cavitação é originado por quebras repentinas de pressão e consequente formação de cavidades (bolhas) no interior de um líquido, onde a pressão é muito baixa. Essas bolhas aumentam de volume e colapsam de imediato.

A cavitação permite ao médico dentista ter uma boa visibilidade do campo operatório por dispersão do fluido irrigante, que é pulverizado pela ponta como um aerossol, eliminando sangue e resíduos ósseos da zona de intervenção. Este efeito provoca, ainda, hemóstase na região.

3.3 APLICAÇÕES EM MEDICINA DENTÁRIA

As suas aplicações na prática clínica de medicina dentária, segundo a literatura são:

- Cirurgia oral:
 - Osteotomias em patologias ósseas dos maxilares;(176, 186)
 - Odontomas, ameloblastomas, tórus, cistos e exostoses;
 - Cirurgia de dentes inclusos, anquilosados ou muito destruídos;(176, 181, 184, 186, 197)
 - Distração osteogénica;(165, 176, 185, 194)
 - Expansão de cristas finas;(176, 198)
 - Recolha de tecido ósseo para enxertos autólogos;(163, 176, 194, 195, 199)
 - Disodontíase;(186)
 - Osteotomias;(186)
 - Osteoplastias;(186)
 - Corticotomias;(186)
 - Lateralização ou descompressão do nervo alveolar inferior;(176, 195, 200)
 - Cirurgias com risco elevado de lesão de estruturas nervosas;(167)
 - Levantamento da membrana do seio maxilar;(166, 176, 190, 194)
 - Cirurgia periodontal;(176, 196)
 - Cirurgia endodôntica;(176)
 - Remoção de implantes osteointegrados.(195, 201)

4. O OSSO

A compreensão da complexidade da constituição do tecido ósseo é fundamental para entender as interações entre o *Laser* e este tecido biológico. O seu conhecimento aprofundado é ainda mais importante para compreender o processo de ablação que caracteriza o comprimento de onda do feixe emitido pelo *Laser* Er:YAG: as microexplosões.

Por este motivo, faremos uma breve revisão sobre o tecido ósseo.

4.1 ASPETOS GERAIS

O osso é um tecido conjuntivo especializado, fortemente mineralizado, principal constituinte do esqueleto, com um comportamento muito dinâmico, devido à sua enorme capacidade de remodelação e regeneração. (202-205)

A remodelação óssea consiste na reabsorção e deposição a decorrer de forma equilibrada, permitindo que a forma e o volume ósseo se mantenham constantes. Na fase intermédia e mais avançada da vida, a remodelação abranda o seu ritmo e, muitas vezes, a reabsorção supera a deposição, tornando os ossos mais porosos e mais frágeis. Em casos extremos podemos ter osteoporose.(204)

A remodelação e regeneração óssea estão dependentes de diversos fatores:(202, 203)

- Sistémicos
 - Fatores hormonais.
- Locais
 - Forças mecânicas (incluindo o movimento dentário);
 - Fatores de crescimento;
 - Citoquinas.

Atualmente, há evidências que o Sistema Nervoso Central controla o volume de massa óssea mediante um mecanismo neuro endócrino.(206)

O peso do osso desidratado distribui-se da seguinte forma:(206)

- Matriz inorgânica (67%)
 - Hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{HO}]_2$)na forma de pequenas placas, alojadas, maioritariamente, nos poros das fibrilas de colagénio.
- Matriz orgânica (33%)
 - Fibras de colagénio Tipo I (28%);
 - Proteínas da matriz não colagenosas (5%):
 - Sialoproteína óssea, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, proteoglicanos ósseos, fatores de crescimento, proteínas do soro...

Esta associação entre hidroxiapatite e fibras de colagénio é responsável pela dureza e resistência do tecido ósseo,(203) permitindo-lhe resistir melhor a forças compressivas e a forças exercidas ao longo do eixo do seu componente fibroso, do que a forças de tração.(206) O osso é um dos tecidos mais resistentes e rígidos do corpo humano, embora ligeiramente elástico e flexível graças à sua matriz de colagénio,(202, 203) e com a vantagem de ser um tecido relativamente leve.(203, 207)

Após a descalcificação, o osso mantém a sua forma original e torna-se tão flexível como um tendão. Se a parte orgânica do osso for destruída (por incineração, por exemplo) a forma original também se mantém, contudo torna-se impossível manuseá-lo, uma vez que se desintegra com facilidade.(203)

O tecido ósseo, em conjunto com o tecido cartilaginoso, forma o esqueleto (característica comum aos animais vertebrados) que desempenha funções fisiológicas simples mas essenciais: (202, 203, 205-207)

- Mecânica
 - Sustentação dos tecidos moles;
- Local de inserção dos músculos esqueléticos, que possibilita a locomoção, funcionando como um sistema sofisticado de alavancas que amplia as forças de contração muscular;
- Proteção
 - Proteção de órgãos e estruturas anatómicas vitais (Sistema Nervoso Central e caixa torácica, por exemplo);
 - Proteção da medula óssea vermelha;

- Metabólica
 - Reservatório complexo e dinâmico de minerais, especialmente de íons cálcio e fosfato, armazenando-os ou libertando-os de forma regulada, contribuindo, assim, para a manutenção da sua concentração, em níveis estáveis, nos fluidos biológicos (sangue, linfa e líquido intersticial);
 - Absorção de toxinas e metais pesados, minimizando efeitos noutros tecidos;
 - Reservatório de inúmeras moléculas orgânicas;
- Hematopoiética
 - Aloja a medula óssea, local onde são produzidas as células sanguíneas.

O tecido ósseo sofre marcadas alterações no decurso do crescimento, da maturação e do envelhecimento, quer a nível estrutural quer do próprio tecido (202, 205, 208), sendo remodelado através de dois processos contínuos, paralelos e regulados:

- A reabsorção;
- A neoformação óssea.

Durante o crescimento, a taxa de neoformação excede largamente a taxa de reabsorção aumentando progressivamente a massa óssea corporal, até se atingir o pico máximo. A partir daí a taxa de neoformação passa a ser idêntica à de reabsorção, atingindo-se uma fase de estabilidade até aos 40 /50 anos. Depois desta idade, a taxa de reabsorção excede a de formação e a massa óssea corporal começa a diminuir. A massa e a forma do esqueleto de cada indivíduo dependem do balanço entre estes dois processos. (205, 207-209)

4.2 ESTRUTURA DO TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é constituído fundamentalmente por células ósseas (osteoblastos, osteócitos osteoclastos) e por uma matriz extracelular orgânica mineralizada. Esta matriz é a responsável pelo elevado índice de resistência e dureza que o osso apresenta e o fator principal de diferenciação, pela presença de sais minerais na substância intercelular, do tecido ósseo em relação aos restantes. Estes sais são os principais responsáveis pela grande dureza do osso, que beneficia, ainda, do reforço adicional das fibras de colagénio. (202, 203, 206, 210)

4.2.1 ESTRUTURA MORFOLÓGICA

Morfologicamente os ossos são classificados como: (206)

- Longos:
 - Úmero, ulna, rádio, fémur, tibia, fíbula.
- Curtos:
 - Ossos do carpo e tarso.
- Chatos ou laminares:
 - Escápula, esterno, ossos pélvicos, parietal.
- Sesamoides:
 - Patela e outros nódulos ossificados inseridos em tendões.
- Irregulares:
 - Vértex, sacro.
- Pneumáticos:
 - Frontal, esfenóide, maxila.

4.2.2 ESTRUTURA MACROSCÓPICA

A análise macroscópica do osso é enganadora. Apesar de nos parecer uma substância sólida e homogénea, na verdade os ossos são porosos, sem exceção. Aparentamos-nos disso quando os observamos em corte transversal. Os poros – designados por lacunas - contêm células vivas e vasos sanguíneos que lhes fornecem os nutrientes.

É precisamente o grau de porosidade que diferencia as regiões dos ossos: (203, 206, 210)

- Esponjosa ou trabeculada;
- Cortical ou compacta.

Nos ossos longos, as extremidades (epífises) são constituídas por osso esponjoso e uma camada fina de osso compacto superficial. O corpo (diáfise) é quase totalmente constituído por osso compacto, que delimita uma pequena porção de osso esponjoso (canal medular).(203, 210)

O osso cortical apresenta funções mecânicas e protetoras e o osso esponjoso funções metabólicas. As diferenças funcionais entre estes dois tipos de osso condicionam as diferenças estruturais.(203, 210)

4.2.2.1 OSSO ESPONJOSO OU TRABECULADO OU RETICULADO

O tecido ósseo esponjoso ou trabeculado ou reticulado representa cerca de 20% do total do osso do esqueleto e é constituído por um retículo tridimensional de espículas ósseas ramificadas (ou trabéculas), que delimitam um sistema complexo de cavidades intercomunicantes. (202, 203, 207, 210) Estas trabéculas estão dispostas de forma irregular, tornando o osso mais resistente.(211) Os espaços entre trabéculas (espaços medulares) estão ocupados pela medula óssea vermelha (responsável pela produção de células sanguíneas) ou amarela (medula inativa, essencialmente composta de tecido adiposo). A medula vermelha deve a sua cor aos eritrócitos em fase de maturação, e contém, também, inúmeras células ectomesenquimatosas indiferenciadas e da linhagem sanguínea, predominando nos recém-nascidos, até ao início da idade adulta, altura em que se confina a, apenas, alguns locais. A medula amarela apresenta um baixo potencial hematopoiético, sendo predominante nas idades mais avançadas, uma vez que vai infiltrando a medula óssea vermelha, com o avançar da idade. A medula amarela, pode, no entanto, e em caso de necessidade, passar novamente a produzir células sanguíneas. (202, 203, 207, 210)

Este tipo de osso encontra-se no tecido ósseo dos ossos pequenos, laminares e irregulares, nas epífises e na parte central da diáfise dos ossos longos. (202, 203, 207)

A sua taxa de renovação é superior à do osso cortical, desempenhando, essencialmente, funções metabólicas (212), e a sua matriz é pouco organizada e muito porosa.(210)

4.2.2.2 OSSO CORTICAL OU COMPACTO OU DENSO

O tecido ósseo cortical ou compacto ou denso não possui cavidades visíveis a olho nu constituindo uma fina camada que recobre o osso esponjoso e constitui a maior parte do tecido ósseo da diáfise dos ossos longos.(202-204) Este osso, como aliás o nome deixa transparecer, tem uma estrutura de elevada densidade e mineralização.(204, 210, 212)

A sua organização é feita através de lamelas concêntricas paralelas entre si, em torno de canais centrais que contém nervos e vasos sanguíneos e linfáticos. As lamelas organizam-se no sentido do longo eixo do osso, permitindo-lhe maior resistência às forças exercidas sobre ele. (202, 203, 206, 210) Em cada lamela, as fibras de colagénio são paralelas entre si. A separar grupos de lamelas, encontramos, frequentemente, a acumulação de uma substância cimentante, composta por matriz mineralizada com muito pouco colagénio.(203)

Os canais neurovasculares ou canais de Havers são revestidos por endóstio e em conjunto com as lamelas concêntricas, constituem o sistema Haversiano ou osteon. Estes sistemas anastomosam-se entre eles e com o endóstio e perióstio através dos canais de Volkmann, que se dispõem perpendicular ou obliquamente aos canais de Havers.(202, 203, 206, 210)

Cada sistema de Havers inicia a sua formação a partir de um canal largo, na periferia do qual os osteoblastos estão dispostos. Por justaposição as lamelas vão diminuindo o diâmetro interno do canal e os osteoblastos são integrados, passando a designar-se por osteócitos, ocupando um espaço vazio dentro da matriz, habitualmente entre lamelas, designados por lacunas.(202, 203, 210)

Apesar da existência dos dois tipos de osso, não é possível observar-se uma separação nítida, verificando-se uma transição progressiva entre as duas formas. Apesar de terem uma estrutura macroscópica muito diferente, o tecido compacto e as trabéculas que separam as cavidades do tecido esponjoso têm a mesma estrutura histológica básica, como explanaremos de imediato.(203, 207, 210)

A resistência mecânica do osso cortical depende da proximidade dos ósteons.(213)

4.2.3 ESTRUTURA MICROSCÓPICA

A estrutura macroscópica define duas zonas distintas, mas a estrutura histológica básica é igual. A estrutura microscópica do osso, atendendo ao seu estado de maturação, pode ser classificada como:

- Osso primário, imaturo ou não lamelar;
- Osso secundário, maduro ou lamelar.

Estes tipos de osso apresentam componentes celulares e da matriz exatamente iguais, notando-se, apenas, diferenças ao nível estrutural e funcional.(202, 203, 207)

4.2.3.1 TECIDO ÓSSEO PRIMÁRIO, IMATURO OU NÃO LAMELAR

Em todos os ossos, durante a sua formação, regeneração ou remodelação, este é o tecido que se forma inicialmente, sendo gradualmente substituído por osso secundário. No adulto quase não existe, encontrando-se apenas junto às suturas cranianas, alvéolos dentários e em alguns pontos de inserção de tendões.(203, 207)

Este tecido apresenta desorganização das fibras de colagénio, sem estrutura lamelar, menor quantidade de minerais e uma maior proporção celular do que o tecido secundário.(203, 207)

4.2.3.2 TECIDO ÓSSEO SECUNDÁRIO, MADURO OU LAMELAR

O tecido ósseo secundário predomina no esqueleto do adulto. A sua principal característica é a extrema organização de lamelas de fibras de colagénio com 3 a 7 μ m, possuindo um menor conteúdo celular e um maior conteúdo mineral do que o tecido ósseo primário. As lamelas, paralelas entre si, dispõem-se em camadas concêntricas em torno de canais com vasos, constituindo os sistemas de Havers ou ósteons, atrás descritos.(202, 203, 207)

4.3 COMPOSIÇÃO DO TECIDO ÓSSEO

4.3.1 CÉLULAS ÓSSEAS

O tecido ósseo, a nível celular, é constituído por: (203, 207, 210, 213)

- Células osteoblásticas
- Osteócitos
- Osteoclastos
- Células hematopoiéticas da medula óssea

A regulação da atividade destas células está dependente do sistema endócrino e dos diversos fatores de crescimento produzidos pelas células ósseas e outros tipos celulares existentes no osso (células hematopoiéticas, endoteliais e macrófagos). A predominância relativa de cada tipo celular e a sua atividade funcional variam com a idade, tipo de ossificação e localização anatómica.(210) Há fatores exógenos que também podem interferir na atividade destas células, nomeadamente a aplicação de laser de baixa intensidade. São, no entanto, necessários mais estudos.(214)

4.3.1.1 AS CÉLULAS OSTEABLÁSTICAS

As células osteoblásticas são as responsáveis pela formação do tecido ósseo ao longo da vida, nomeadamente durante o desenvolvimento embrionário, o crescimento, a remodelação e a regeneração de fraturas e de outros defeitos ósseos.(210, 215)

Estas células classificam-se, por ordem crescente de diferenciação em:(210, 215)

- Osteoprogenitoras;
- Pré-osteoblastos;
- Osteoblastos;
- Células de revestimento;
- Osteócitos.

As células osteoblásticas têm origem em células pluripotentes indiferenciadas do mesênquima (ou células pluripotentes do estroma fibroblástico da medula óssea), que possuem uma grande capacidade de diferenciação, podendo dar origem a diferentes tipos celulares.(215)

Os osteoblastos, as células de revestimento e os osteócitos apresentam características distintas, no entanto, em determinadas circunstâncias pode-se observar uma reversibilidade da diferenciação celular. Por este motivo, diversos autores sugerem que estes três tipos de células são, na realidade, estados funcionais diversos de um mesmo tipo celular.(207, 210, 215)

4.3.1.1.1 CÉLULAS OSTEOPROGENITORAS

As células osteoprogenitoras estão presentes em todas as superfícies ósseas (ou quase todas), nomeadamente no endóstio, na face interna do perióstio e nas trabéculas da cartilagem calcificada das metáfises.(207, 216) São mais ativas durante o crescimento ósseo e em situações de regeneração de fraturas ou outras lesões ósseas e morfológicamente idênticas aos fibroblastos da camada fibrosa do perióstio e do estroma da medula óssea.(207, 210, 215)

4.3.1.1.2 PRÉ-OSTEOBLASTOS

Os pré-osteoblastos são os precursores imediatos dos osteoblastos e diferem destes por possuírem capacidade de divisão celular e pela sua localização, no lado oposto ao da superfície do osso em formação.(210, 216) Morfológicamente estes dois tipos celulares apresentam-se como células cuboides.(210)

4.3.1.1.3 OSTEOBLASTOS

Os Osteoblastos (OB), células responsáveis pela síntese da matriz orgânica (colagénio tipo I, proteoglicanos e glicoproteínas), têm um papel importante na mineralização da matriz orgânica não mineralizada (material osteoide), uma vez que tem a capacidade de concentrar fosfato de cálcio.(203, 207)

Possuem recetores para várias hormonas e para fatores de crescimento sintetizados pelos próprios OB e outras células presentes no osso, desempenhando funções fulcrais nos mecanismos de regeneração e remodelação ósseas.(207)

Os OB são grandes células que possuem um retículo endoplasmático rugoso (RER) e um aparelho de Golgi muito desenvolvidos e numerosas mitocôndrias, consequência da sua grande atividade celular.(202, 203, 207, 215) O núcleo do OB ativo é grande e claro, com um

ou dois nucléolos bem visíveis, situando-se na região basal (mais afastada da matriz óssea).(202, 207)

Durante a elevada atividade de biossíntese, os osteoblastos têm forma cuboide e o citoplasma muito basófilo, que revela a presença de grandes quantidades de Ácido Ribonucleico mensageiro (ARNm). Quando a sua atividade decresce, passam a ter um formato mais achatado e a basofilia citoplasmática diminui.(203, 207)

Nas superfícies ósseas, os OB dispõem-se sempre lado a lado e apresentam prolongamentos citoplasmáticos que permitem o contacto mútuo.(203)

4.3.1.1.4 CÉLULAS DE REVESTIMENTO

Os osteoblastos existentes nas superfícies ósseas podem transformar-se em células de revestimento, desde que inativos. Estas células, de forma plana mais alongada, encontram-se dispostas paralelamente à superfície óssea.(210, 215) Diminuta quantidade de citoplasma, de RER e aparelho de Golgi quando as comparamos com os OB, são os indicadores de uma atividade biossintética baixa, pelo que a basofilia citoplasmática está diminuída.(210)

As células de revestimento não participam na formação nem na reabsorção óssea, sendo importantes contudo na manutenção do tecido, pois existem evidências de aparecimento de áreas de reabsorção óssea nos locais em que esta camada celular não está presente.(207)

4.3.1.1.5 OSTEÓCITOS

Cerca de 10 a 20% dos osteoblastos (OB) ficam incorporados na matriz por eles sintetizada, encerrados, individualmente, em pequenos espaços: -as lacunas. (203)

Os osteócitos, cuja forma é achatada e ovoide, são as células mais diferenciadas da linhagem osteoblástica e, à medida que atingem a maturação, perdem praticamente toda a capacidade de formação óssea.(203, 207, 210)

Os osteócitos mais próximos da superfície óssea apresentam uma ultra-estrutura idêntica à dos OB, que vai regredindo progressivamente (nomeadamente a quantidade de Retículo Endoplasmático Rugoso e o tamanho do aparelho de Golgi) à medida que vão ficando mais imersos na matriz mineralizada. Estas alterações, consequência da diminuição da sua

atividade biossintética manifestam-se através da diminuição da basofilia do citoplasma e do tamanho celular.(203, 207, 216)

Os osteócitos não são metabolicamente inertes. Eles são essenciais; para a manutenção da matriz orgânica mineralizada, uma vez que a sua necrose leva à reabsorção óssea.(203, 207)

4.3.1.2 OSTEOCLASTOS

Os osteoclastos (OC) promovem a reabsorção óssea e apresentam-se como células gigantes, móveis, multinucleadas e com ramificações de formas e espessuras muito diversas e grandes irregularidades. São encontrados nas áreas de reabsorção óssea, em depressões da matriz, criadas pelos próprios: -as lacunas de Howship.(202, 203, 217)

O citoplasma é granuloso e, por vezes, contém vacúolos, sendo fracamente basófilo nas células mais jovens e acidófilo nas mais maduras.(203) A superfície ativa dos osteoclastos, direcionada para a matriz óssea, apresenta diversas vilosidades irregulares, que estão perfeitamente aderidas à matriz óssea criando um microambiente fechado onde o osso é reabsorvido graças à secreção de ácido, colagenases e hidrolases. Estas enzimas digerem a matriz orgânica e o ácido dissolve os cristais de sais de cálcio.(203, 213) Histologicamente observa-se uma zona citoplasmática pobre em organelos e rica em filamentos de actina, a zona clara, que circunda a região dos prolongamentos vilosos.(203)

Os OC (tal como os monócitos e os macrófagos) têm origem nas células hematopoiéticas da medula óssea e partilham um precursor comum: a *célula progenitora de granulócitos e macrófagos* ("granulocyte-macrophage colony-forming unit": GM-CFU).(207)

4.3.2 MATRIZ ÓSSEA

A matriz óssea é constituída por uma parte orgânica (matriz proteica) e uma inorgânica (substância mineral) que representam, aproximadamente, 90% do peso total do osso compacto, cabendo à água os restantes 10%.(12, 203, 207, 218) A água é o terceiro maior constituinte do tecido ósseo, a seguir à hidroxiapatite e às fibrilas de colagénio tipo I.(219)

A matriz orgânica não mineralizada (30%) é constituída, predominantemente, por fibras de colagénio do tipo I (cerca de 27%) e por um meio homogéneo denominado substância fundamental amorfa. O componente inorgânico da matriz é constituído por fosfatos de cálcio microcristalinos, semelhantes à hidroxiapatite (70%).(207)

4.3.2.1 MATRIZ ORGÂNICA OU PROTEICA

A matriz orgânica é formada por fibras de colagénio (aproximadamente 95%), por proteoglicanos e por glicoproteínas.(203)

O colagénio do tecido ósseo é predominantemente do tipo I (cerca de 97% do tipo I e o restante do tipo V e III).(207)

As fibras de colagénio do tipo I, constituídas por fibrilas de 80 a 100 nm de diâmetro e comprimento desconhecido face à íntima relação entre elas, (219)estendem-se em todas as direções do osso, mas a sua densidade é maior ao longo das linhas de tensão e de tração que atuam sobre o osso. O colagénio tipo I serve de suporte, local de ligação e orientação das outras proteínas da matriz.(210)

4.3.2.2 SUBSTÂNCIA FUNDAMENTAL AMORFA

A substância fundamental amorfa (cerca de 3% da matriz) é formada fundamentalmente por complexos de glicosaminoglicanos e proteínas (proteoglicanos) associados a glicoproteínas estruturais.(203, 207)

A substância fundamental amorfa tem um papel importante no controlo do conteúdo de água nos ossos e parece estar também envolvida na regulação da formação e orientação apropriada das fibrilas de colagénio para posterior mineralização da matriz, regulando-a.

4.3.3 PERIÓSTEO E ENDÓSTEO

As superfícies externas e internas dos ossos são revestidas por células osteogénicas (o perióstio e o endóstio, respetivamente) e por tecido conjuntivo. (203)

O perióstio reveste o tecido ósseo na maior parte da sua superfície externa, e é constituído por duas camadas(202, 203):

- Camada fibrosa (externa):
 - Tecido fibroso denso (fibras de colagénio)
- Camada celular (interna):
 - Células osteoprogenitores:
 - Células estaminais da medula (morfologicamente idênticas aos fibroblastos)

Durante a remodelação, crescimento ou regeneração óssea, estas células osteoprogenitoras replicam-se por mitose e diferenciam-se em osteoblastos, que, por aposição, formam as lamelas ósseas concêntricas.(202, 203) O seu papel é fundamental no processo de regeneração de fraturas ou regeneração de defeitos ósseos.(202)

O perióstio está intimamente ligado ao tecido ósseo subjacente por feixes de fibras de colagénio, as fibras de Sharpey, que podem penetrar na espessura total da cortical. A irrigação do perióstio, que é fortemente vascularizado, é garantida por vasos sanguíneos provenientes dos tecidos conjuntivos vizinhos.(202, 203)

O perióstio não está presente nas superfícies articulares, nem nos locais de inserção de ligamentos ou tendões nem certas zonas específicas, como a zona subcapsular do colo do fémur.(202)

O endóstio é constituído por uma camada de células achatadas que recobre a superfície interna da cortical óssea e os canais de Havers e os de Volkmann.(203)

As principais funções do perióstio e do endóstio são a nutrição, o crescimento, a remodelação e a regeneração do tecido ósseo.(202, 203)

4.4 OSTEOGÉNESE

O tecido ósseo pode-se formar por duas vias:(203)

- Ossificação intramembranosa
 - Ocorre no interior de uma membrana conjuntiva
- Ossificação endocondral
 - Ocorre sobre um molde de cartilagem hialina

O primeiro tecido ósseo formado é, em qualquer dos casos, do tipo primário. Posteriormente, de forma gradual e relativamente lenta, este, é substituído por tecido secundário. A neoformação e a remoção óssea é uma constante durante o crescimento do osso e durante toda a vida, embora a um ritmo mais lento, podendo observar-se zonas contíguas de osso primário, de osso secundário e zonas de reabsorção.(203)

4.4.1 OSSIFICAÇÃO INTRAMEMBRANOSA

A ossificação intramembranosa ocorre no interior de membranas de tecido conjuntivo, chamando-se a estes locais, onde a ossificação começa, os centros de ossificação primária. São exemplos deste tipo de ossificação, os ossos parietais, frontal, e partes do occipital, temporal, maxila e mandíbula, bem como o crescimento dos ossos curtos e o aumento de espessura dos ossos longos.(203, 210)

O processo tem origem na diferenciação de células mesenquimatosas em grupos de osteoblastos, que iniciam a produção de osteoide (matriz desmineralizada), que ao mineralizar-se, incorpora algumas daquelas células que passam a designar-se como osteócitos.(203, 210)

Ao existirem diversos centros de ossificação em simultâneo, eles vão unir-se entre si, dando origem às trabéculas ósseas. Entre as diversas trabéculas infiltram-se vasos sanguíneos e células mesenquimatosas indiferenciadas, que dão origem à medula óssea.(203, 210)

As regiões da membrana conjuntiva que não sofrem ossificação passam a constituir o perióstio e o endóstio.(203)

4.4.2 OSSIFICAÇÃO ENDOCONDAL

Este tipo de ossificação inicia-se numa peça de cartilagem hialina de forma idêntica ao formato final do osso, mas em miniatura. Este é o tipo de ossificação responsável pela formação dos ossos curtos e dos longos.(203)

A ossificação endocondral pode ser dividida em duas partes:(203)

- Hipertrofia dos condrócitos da cartilagem hialina, redução da matriz cartilaginosa por mineralização e morte dos condrócitos por apoptose.
- Invasão das cavidades primariamente ocupadas pelos condrócitos (agora libertadas) por células osteogénicas e por capilares que migram e se desenvolvem, respetivamente, a partir do tecido conjuntivo adjacente.

As células osteogénicas diferenciam-se em osteoblastos e depositam matriz óssea sobre os tabiques de cartilagem calcificada. Esta serve de suporte e guia neste processo não se verificando a simples transformação de tecido cartilaginoso em tecido ósseo.(203)

Apesar do processo de ossificação dos ossos longos ser endocondral, o primeiro tecido ósseo forma-se por ossificação intramembranosa do pericôndrio que recobre a parte média da diáfise. Estamos na presença do colar ósseo, que apresenta uma forma cilíndrica e que leva à hipertrofia e apoptose das células cartilaginosas contíguas. A matriz da cartilagem sofre mineralização e é invadida por vasos sanguíneos e células osteoprogenitoras desde o periósteo. Estas células dão origem aos osteoblastos que se depositam nos tabiques cartilaginosos calcificados e sintetizam a matriz óssea, que, logo, se mineraliza. Nesta fase temos uma mescla de tecido ósseo primário (acidófilo) e de cartilagem calcificada (basófila).(203, 210)

A este centro de ossificação, chamamos de centro primário, que cresce rapidamente ao longo da diáfise até a ocupar por completo, e também centriptamente. Simultaneamente surgem osteoclastos na zona central da cartilagem, que promovem a sua reabsorção dando origem ao canal medular, que cresce longitudinalmente à medida que ocorre a calcificação, e é invadido por células sanguíneas indiferenciadas.(203, 210)

Mais tarde, em fases distintas, formam-se os centros secundários de ossificação (um por epífise), que apresentam, como única diferença, um crescimento radial em contraponto ao crescimento longitudinal do centro primário.(203, 210)

4.5 REGENERAÇÃO ÓSSEA

A regeneração óssea é um processo fisiológico proliferativo pelo qual o organismo restabelece a anatomia e as características morfológicas e funcionais iniciais do osso. É um processo fisiológico notável, uma vez que o resultado final não é uma cicatriz, mas uma reconstituição perfeita do tecido original.

A regeneração óssea decorre em três fases, parcialmente sobreponíveis entre elas:(220)

- Fase inflamatória
- Fase reparativa
- Fase remodelativa

Na fase inflamatória, nas primeiras horas, ocorre sangramento, forma-se um hematoma na região destruída e, na sequência de alterações na permeabilidade e volume dos vasos sanguíneos, há infiltração local de células inflamatórias (macrófagos, monócitos, linfócitos, e células polimorfonucleares) mediadas por prostaglandinas, que iniciam o processo de remoção de restos resultantes do trauma.(221) O resultado é a formação de tecido de granulação, crescimento de vasos sanguíneos e migração de células mesenquimatosas, proteínas e fatores químicos. Os nutrientes e oxigênio são fornecidos pelo osso medular exposto e músculo envolvente. Esta cadeia de acontecimentos é fundamental na fase inicial de reação do organismo à agressão.(213)

Na fase reparativa, os fibroblastos começa a estabelecer-se um estroma que dá suporte ao desenvolvimento vascular, a partir de células endoteliais remanescentes e de células mesenquimatosas indiferenciadas. À medida que aumenta, o crescimento vascular ajuda a formar-se uma matriz de colagénio. Nesta fase, os macrófagos reabsorvem o coágulo e o tecido não viável. Concomitantemente é produzido material osteoide, nos limites do defeito, que apresenta pouca resistência até acontecer a ossificação.(213)

Na fase remodelativa, o osso retorna à sua forma, estrutura e resistência mecânica original. Esta fase é influenciada pelas forças que a estrutura óssea sofre.(213)

O tamanho do defeito ósseo ou da fratura, a estabilidade da região e o tipo de forças aplicadas (intensidade, frequência e duração) são fatores importantes e diferenciadores no processo de regeneração óssea.(212)

5. REVISÃO DA LITERATURA

Foi efetuada uma revisão sistematizada da literatura tendo em conta os objetivos deste estudo.

Elementos da pesquisa:

- Questão principal:
 - Quando comparados, qual dos métodos mais comumente utilizados para efetuar osteotomia em Cirurgia Oral (*Laser* Er:YAG, aparelho piezocirúrgico e a broca cirúrgica a baixa rotação) permite a melhor regeneração óssea, em termos quantitativos e qualitativos?
- Critérios de inclusão
 - Sem limitação quanto ao tipo de artigo;
 - Língua inglesa, portuguesa, espanhola, francesa e alemã.
 - Artigos publicados até ao dia 31 de março de 2012, sem qualquer restrição em termos de data inicial.
 - Quando se tratavam de estudos experimentais:
 - Criação de um defeito ósseo não crítico;
 - Aleatorização da amostra;
 - Avaliação histológica qualitativa e/ou quantitativa.
- Critérios de exclusão
 - Estudos que envolveram:
 - Utilização de:
 - Materiais de regeneração óssea;
 - Meios que possam, potencialmente, alterar a regeneração óssea, nomeadamente a aplicação de *Lasers* de baixa intensidade, ultrassons e/ou de plasma rico em plaquetas, na área onde foi realizado o defeito;
 - Meios robotizados e/ou informáticos;
 - Lasers não clínicos;
 - Osteointegração de implantes dentários;
 - Casos clínicos não aleatorizados.

5.1 ESTRATÉGIA DE PESQUISA

5.1.1 BASES DE DADOS ELETRÓNICAS

5.1.1.1 PUBMED

- Palavras-chave (Termos MeSH em todos os campos de pesquisa)
 - Lasers AND Osteotomy
 - 112 Artigos
 - (Piezo* OR Ultrasonic Surgical Procedures) AND Osteotomy
 - 113 Artigos

5.1.1.2 SCIENCE DIRECT

- Palavras-chave (All fields)
 - Er:YAG Laser AND Osteotomy
 - 83 Artigos

5.1.1.3 WEB OF SCIENCE (ISI)

- Palavras-chave (Title/Keywords/Abstract)
 - Er:YAG Laser AND Osteotomy
 - 45 Artigos
 - Piezosurgery AND Osteotomy
 - 53 Artigos

5.1.1.4 LILACS (BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE)

- Palavras-chave (Título, Resumo, Assunto)
 - Laser AND Osteotomia
 - 5 Artigos
 - Piezo* AND Osteotomy
 - 16 Artigos

5.1.1.5 TRIPDATABASE

- Palavras-chave
 - Laser osteotomy
 - 70 Artigos
 - Piezoelectric surgery
 - 56 Artigos

5.1.1.6 THE COCHRANE LIBRARY

- Palavras-chave (Em todos os campos de pesquisa)
 - Palavra-chave
 - Erbium-YAG laser
 - 57 Artigos
 - Piezoelectric
 - 82 Artigos

5.2 MÉTODO DE SELEÇÃO

A primeira seleção foi efetuada através da leitura do título e do resumo. Os resumos foram analisados pelo mesmo leitor em dois momentos distintos, com uma semana de diferença temporal. Os casos de discordância de seleção foram reapreciados.

Na segunda seleção foram eliminadas as repetições de artigos e também todos aqueles que abordavam exatamente o mesmo assunto, com autores comuns, embora, por vezes, com diferentes primeiros autores.

Após esta segunda seleção e obtenção do texto integral dos artigos, estes foram lidos na íntegra e, os que cumpriam os requisitos estabelecidos, foram considerados na seleção final (na Tabela apenas “Final”).

Pesquisámos na bibliografia dos artigos selecionados a fim de perceber se haveria mais literatura que cumprisse os critérios de inclusão. Foram selecionados diversos artigos.

Foram também selecionados livros ou capítulos de livros com relevância na área do *Laser*.

<i>Laser</i>	Resultado	1ª Seleção	Comuns ⁹	2ª Seleção	Final
PubMed	112	43	0	43	43
Science Direct	83	14	6	8	8
Web of Science (ISI)	45	18	11	7	7
LILACS	5	2	0	2	2
TripDataBase	70	1	1	0	0
Cochrane	57	0	0	0	0
TOTAL	372	78	18	60	60

Tabela 4 - Resumo da pesquisa bibliográfica (*Laser* e osteotomia)

Piezocirurgia	Resultados	1ª Seleção	Comuns ¹⁰	2ª Seleção	Final
PubMed	113	26	0	26	26
Web of Science (ISI)	53	12	10	2	2
LILACS	16	0	0	4	4
TripDataBase	56	2	2	0	0
Cochrane	82	5	4	1	0
TOTAL	320	34	3	26	32

Tabela 5 - Resumo da pesquisa bibliográfica (Piezocirurgia e osteotomia)

⁹ A totalidade dos artigos da 2ª seleção foi comparada com as seleções das pesquisas anteriores e os artigos comuns foram eliminados.

¹⁰ A totalidade dos artigos da 2ª seleção foi comparada com as seleções das pesquisas anteriores e os artigos comuns foram eliminados.

5.3 LASER ER:YAG E OSTEOTOMIA

O pico de absorção da água coincide com o seu comprimento de onda (2940 nm), apresentando uma afinidade de 10 a 15 vezes e de 15 a 20 mil vezes superior para esta molécula do que o *Laser* de CO₂ e o de Nd:YAG, respetivamente.(12, 222)

A grande afinidade do comprimento de onda do feixe do *Laser* de Er:YAG pela água e pela hidroxiapatite atribui a este *Laser* a primazia na capacidade de interação com os tecidos que, maioritariamente, contenham estes dois elementos na sua constituição. O esmalte, a dentina, o cimento e o osso são exemplos desses tecidos, fazendo parte do campo de atuação dos médicos dentistas e cirurgiões orais.

Os estudos realizados durante a década de 80 e de 90 utilizavam, essencialmente, o *Laser* de Nd:YAG e o de CO₂ para intervenção sobre o tecido ósseo. Os resultados da ação destes *Lasers* sobre o osso, quando comparado com instrumental rotativo, eram desoladores, uma vez que a regeneração óssea não era tão célere, principalmente por dois motivos:

- Carbonização dos tecidos periféricos (21, 101, 223-232)
- Presença de fragmentos inertes de osso encapsulados (226, 233)

Em 1981, Gertzbein *et al.* (234) realizaram um estudo comparativo histológico e radiográfico entre a serra de osso manual e o *Laser* de CO₂ (50 W) em fémures de ratos Wistar Lewis, com o objetivo de avaliar o dano celular ósseo e a resistência final do osso regenerado. Os resultados foram avaliados às 6, 8, 10, 14 e 18 semanas. O grupo do *Laser* apresentou uma regeneração mais demorada e incompleta durante o período do estudo, devido a uma grande destruição tecidular e carbonização óssea. O autor concluiu que o *Laser* de CO₂ pode ser um instrumento importante nas cirurgias ósseas, nomeadamente pela hemóstase que provoca. No entanto, não soube explicar o motivo pelo qual nos testes de resistência não encontrou diferenças significativas entre os dois métodos.

Nuss *et al.*, em 1988,(235) desenvolveu um estudo em calvarias frescas de porquinhos-da-Índia, para comparar 3 *Lasers* com feixes pulsados (Nd:YAG, Hol:YSGG e Er:YAG) e 2 contínuos (Nd:YAG e CO₂10600 nm) através de análise histológica. Os *Lasers* contínuos provocaram a maior alteração dos tecidos periféricos (60 a 135µm), o Hol:YSGG atingiu uma espessura de 20 a 90 µm e o Er:YAG e Nd:YAG pulsado apenas de 10 a 15 µm. Os *Lasers* mais eficientes na ablação do osso foram o Er:YAG e o Hol:YSGG, por esta ordem.

A potencialidade da aplicação do *Laser Er:YAG* nos tecidos duros dentários foi demonstrada experimentalmente, pela primeira vez, em 1989. (81, 82)

Nelson, neste mesmo ano, efetuou o primeiro estudo de cirurgia experimental com *Laser Er:YAG*, *in vivo*, em tecido ósseo. Comparou, com microscopia ótica, a regeneração óssea em tíbias de coelho, tendo realizado cavidades com 1 mm de profundidade com o Laser 100 mJ ($1,4 \text{ J/mm}^2$) e 5 Hz e com serra mecânica. Os tempos do estudo foram 1, 2, 3 e 4 semanas e concluiu que, apesar de a cicatrização ser mais demorada na osteotomia com *Laser Er:YAG*, este não provoca carbonização significativa dos tecidos circundantes (apenas 4 a 10 μm) como acontece com o de CO_2 . Concluiu que o *Laser Er:YAG* consegue efetuar osteotomias precisas com efeitos mínimos sobre o tecido adjacente.(236)

Walsh, também em 1989, utilizou porquinhos-da-Índia para testar os danos térmicos provocados pelo *Laser Er:YAG* comparando duas durações de pulso (*Q-switch* - super pulsado de 90 ns e modo pulsado de 200 μs) em osso, pele, aorta e córnea. O modo super pulsado provocou danos térmicos na ordem dos 5 a 10 μm , em todos os tecidos, e o pulsado de 200 μs induziu danos térmicos entre 10 e 50 μm , exceto na aorta e córnea, os tecidos mais rapidamente ablatados, onde atingiu os 100 μm . (237, 238) Mas as conclusões mais importantes destes artigos foram:

- O osso é facilmente ablatado pela radiação de $\lambda = 2,94 \mu\text{m}$, no entanto, em fluências superiores a 20 J/cm^2 por pulso, a formação de plasma diminui a eficiência da ablação.(237)
- O mecanismo de ablação tecidual é um processo que leva ao rápido aquecimento da água contida nos tecidos (vaporização), conseqüente expansão de alta pressão e explosão, não danificando termicamente os tecidos adjacentes.(238)

Em 1990, Gonzalez (239), testou o *Laser Er:YAG* e CO_2 , *in vitro*, em cartilagem do septo nasal e osso maxilar de cadáver. O estudo histológico (amostras coradas com HE) revelou que os danos térmicos do Er:YAG estenderam-se, em média, ao tecido adjacente, 5 μm no osso e 2 μm na cartilagem e no caso do CO_2 , 67 μm no osso e 21 μm na cartilagem. Concluiu que o *Laser Er:YAG* apresentava características promissoras na sua aplicação nestes tecidos.

Prosseguindo as suas investigações, Keller *et al.* (240) efetuaram um estudo comparativo tendo concluído que as osteotomias realizadas com Er:YAG seguiam o curso temporal da regeneração secundária de uma fratura e no caso do CO_2 havia um atraso de 2 a 3 semanas.

Em 1992, o *Laser Er:YAG* foi introduzido na prática clínica e Li (241) comprovou as vantagens, num estudo *in vitro*, da osteotomia realizada com o *Laser Er:YAG* quando comparado com o *Laser* de CO₂. O estudo, efetuado em osso plano seco de cabeça de gato e fêmur de rato, com fluências de 9 a 117 J/cm² energias entre 25 e 210 mJ, feixe de 0.6 mm e pulso de 200 µm no Er:YAG e feixe de 0,4 mm, fluência de 6 a 50 J/cm² e potência de 3,6 a 30 W no CO₂. Também foi efetuada uma avaliação acústica. As alterações na periferia do defeito foram de 5 a 15 µm e de 50 a 100 µm no *Laser* de Er:YAG e no *Laser* de CO₂ respetivamente, mas recomendou que se comprovassem os resultados com estudos *in vivo*.

Em 1997, foi aprovado o uso do *Laser Er:YAG* em medicina dentária, nos Estados Unidos, pela FDA. (14, 17) A partir desta altura a pesquisa científica acentuou-se e os equipamentos evoluíram substancialmente.

Os estudos publicados até então, embora assumam extrema importância no desenvolvimento da tecnologia e na sua aplicação clínica, apresentam, compreensivelmente, inúmeras lacunas de informação, nomeadamente quanto à caracterização perfeita dos equipamentos utilizados e das características físicas dos feixes emitidos. É notória a pouca evolução tecnológica dos aparelhos e a incipiência de uma tecnologia que ainda não tinha atingido a maturidade no âmbito da medicina dentária.

Em 1994, Buchelt *et al.* (242) utilizaram tíbias do rato Sprague Dawley (n=2) para comparar a serra mecânica convencional para ortopedia e os Lasers de Er:YAG (pulso com 300mJ, 250 µs, 2 Hz e feixe de 500 µm) e Hol:YAG (pulso de 250 µs, 1Hz, diâmetro de 400µm) , em períodos de 1, 4, 8 e 12 semanas para executar o exame histológico e 4, 8 e 12 semanas para o teste de resistência. Avaliaram, ainda, o desenvolvimento de pseudartroses e de calcificação dos tecidos do defeito, recorrendo a exame radiográfico. Os testes biomecânicos não revelaram diferenças significativas para a serra e *Laser Er:YAG*. Os defeitos realizados com *Laser Hol:YAG* foram os únicos a demonstrar sinais de carbonização do tecido circundante, e estavam presentes em todas as amostras do estudo. Ao exame histológico, na primeira semana, todos os grupos tinham tecido fibroso na região do defeito. Às 4 semanas já era visível tecido osteoide periférico no Er:YAG, às 8 semanas já havia algumas pontes de calo ósseo com o osso e às 12 semanas já se observava a fusão completa do osso com pequenas áreas de osso imaturo. Os defeitos realizados com o Hol:YAG apresentavam tecido fibroso denso, carbonização e sem formação de calo ósseo, mesmo nas 12 semanas.

Em 1996, Lewandrowski(243) criou defeitos bilaterais em mandíbulas de ratos Sprague Dawley com o objetivo de comparar microperfurações realizadas com *Laser Er:YAG* (53 mJ, 10 a 15 Hz, fluência de $60\text{J}/\text{cm}^2$) e com broca. O objetivo do estudo era perceber se o *Laser Er:YAG* era uma alternativa à broca, tendo em vista a fixação de mini e micro placas. Uma vez que estas são colocadas em ossos frágeis da região maxilofacial, o *Laser* apresenta a vantagem de não ser necessário exercer força mecânica que poderia levar à fratura dos ossos e complicar ainda mais o ato cirúrgico. Assim sendo, chegou à conclusão que ambos os métodos se apresentaram válidos para a fixação dos parafusos, ao fim de 4 semanas. Os danos térmicos no tecido ósseo estenderam-se entre 25 e 100 μm para ambos os métodos.

Em 1997, El Montaser *et al.*,(244) desenharam um estudo *in vivo* de regeneração óssea na calote de 7 ratos Sprague-Dawley, após osteotomia com *Laser Er:YAG* (75mJ, $38\text{J}/\text{cm}^2$). Fizeram defeitos de 5 mm (críticos) e aplicaram membranas de PTFE interna e externamente e os animais foram sacrificados aos 10, 20, 30 e 105 dias. As amostras foram processadas e coradas com HE e Lendrum MSB tendo sido visualizadas em microscópio ótico. Aos 10 dias o defeito apresentava, nas margens, uma camada amorfa e estava preenchido com tecido de granulação. Observavam-se inúmeras fibras de colagénio e o início de formação de tecido ósseo. Aos 20 dias os defeitos estavam preenchidos com tecido fibroso denso, e o novo osso formava-se nos limites do defeito sobre a camada amorfa, interpondo-se uma linha basófila. Aos 30 dias, tecido fibroso maduro preenchia o defeito e na periferia havia uma considerável deposição de osso, tendo-se iniciado a formação de osso lamelar. Os autores consideram a hipótese de a camada amorfa atrasar a regeneração óssea, pela impossibilidade de sofrer reabsorção rápida por parte dos osteoclastos. No último dos períodos avaliados (105 dias), não havia, ainda, união entre o novo tecido e o tecido periférico. A camada amorfa persistia e a maior parte do osso neoformado era lamelar, existindo, contudo, áreas de osso não vital. A camada amorfa, altamente mineralizada, forma-se pelo aquecimento da matriz orgânica do tecido ósseo ou por ruptura da camada de adipócitos da medula óssea.

Paralelamente foi desenvolvido um estudo *in vitro* no mesmo tecido ósseo, tendo concluído que com a lente usada, um desvio de 2 mm, em relação ao tecido alvo, significava uma redução de aproximadamente 50% na fluência do feixe. Esta redução pode implicar que a energia emitida não seja suficiente para promover a ablação sendo, esta energia, acumulada no tecido sob a forma térmica, que leva à sua carbonização. Os autores pensam que a zona carbonizada poderá reduzir a atividade osteoclástica e, assim, atrasar a regeneração óssea.

Com o objetivo de entender o grau de importância do comprimento de onda, dentro do espectro infravermelho, na osteotomia, Peavy *et al.* (245) desenvolveram um estudo com um *Laser* de elétrons livres em 1999. Embora este *Laser* não seja para utilização clínica, ele pode variar o comprimento de onda do feixe, mantendo constante o pulso. O investigador pretendia averiguar qual o melhor comprimento de onda, dentro do espectro referido, para efetuar osteotomias comparando-as com uma serra de osso. Os comprimentos de onda variaram entre 2,9 e 9,2 μm com macro pulsos de 4,0 μs (compostos de micro pulsos de 1 a 2 ps espaçados entre si em 350 ps), 30 Hz, $22,5 \pm 2,5$ mJ/ pulso, 200 μm de diâmetro de feixe e $72\text{J}/\text{cm}^2$ por pulso e $2150\text{J}/\text{cm}^2$ por corte. Foram efetuados defeitos em secções de fémur bovino (n=4) e a análise em microscopia ótica (técnica descalcificada) e microscopia eletrónica de varrimento. Os comprimentos de onda de 2,9, 3,0 e 5,9 a 6,4 μm não tiveram qualquer zona de carbonização, e nos de 3,1 a 4,2, 5,5 e de 6,6 a 7,7 μm foram observadas carbonizações esporádicas, descontínuas, nos limites do defeito. Os *Lasers* de $\lambda=5,8, 8,0, 9,0$ e 9,2 μm também apresentaram carbonizações ligeiras. A maior eficiência de corte foi registada no comprimento de onda de 6,1 μm , mas importa salientar que destes comprimentos de onda testados, apenas o de 2,9 μm faz parte de um *Laser* aprovado para uso em medicina dentária (Er:YAG). Os autores registaram danos térmicos entre 20 a 25 μm para este comprimento de onda e de 8,1 a 43,6 μm para a serra. Este estudo comprova que a ablação de tecido ósseo na região do infravermelho médio pode ser realizada com garantia de lesões térmicas mínimas e que a profundidade de corte se correlaciona de forma mais nítida com as propriedades de absorção das fibras de colagénio. Quando predomina a absorção por parte do componente ósseo mineral, o corte é menos profundo.

Friesen *et al.* em 1999, (228) efetuaram um estudo comparativo histológico de regeneração de osteotomias efetuadas com *Laser* de CO_2 e Nd:YAG, com e sem irrigação, e com broca em tíbias de rato Wistar (n=6). Todos os grupos de osteotomias realizadas com Laser (3 de Nd:YAG e 2 de CO_2) apresentaram maior atraso na regeneração do defeito do que o grupo da broca, para todos os períodos do estudo (3, 7, 14 e 21 dias). Este facto está relacionado com a carbonização dos tecidos, que além de conter alguns produtos tóxicos e de induzir a destruição proteica do tecido, parece formar uma barreira inibidora da adesão de células osteogénicas e formação de novo osso. Os autores salientam, ainda, o duplo papel da irrigação: Arrefecimento do tecido e remoção dos resíduos tóxicos produzidos.

Kuramoto Jr. *et al.* (246) publicaram em 2000 um artigo comparativo sobre osteotomia realizada com broca adiamantada e *Laser* Er:YAG (300 mJ, 2 Hz) em mandíbula, úmero, fêmur e tíbia de ratos Wistar (*ex vivo*). As amostras obtidas foram observadas em microscópio eletrônico de varrimento (100, 200, 1000 e 3000 x). Apesar do *Laser* Er:YAG ter sido eficaz na remoção de tecido ósseo, provocou alterações morfológicas sugestivas de aumento de temperatura significativo. Provavelmente este facto leva a um aumento de tempo necessário à regeneração óssea, uma vez que ocorre selamento de espaços, que impede a proliferação de vasos e a resposta inflamatória. O autor não recomenda estas configurações (300 mJ, 2 Hz) para a realização de osteotomia.

Após terem sugerido o desenvolvimento de estudos *in vivo* noutro estudo do mesmo grupo de investigadores de Peavy, em 2001, Payne *et al.* (247) testaram, *in vivo*, o mesmo *Laser* de elétrons livres, utilizando o comprimento de onda que havia alcançado melhores resultados *in vitro*. Utilizaram a mesma configuração em tíbia de coelho para estudar a regeneração, comparando com serra e avaliando histologicamente as amostras. O grupo de *Laser* iniciou a formação de novo osso às 2 semanas e o grupo da serra não deu sinais de resposta cicatricial. Às 4 semanas o grupo da broca apresentava o mesmo cenário que o grupo do *Laser* às duas. Apesar da resposta e evolução cicatrização ser mais rápida no grupo do *Laser*, no final das oito semanas, com a regeneração concluída em ambos os grupos, o resultado final era muito idêntico. Os autores concluíram que a regeneração entre os dois grupos foi equivalente, embora o grupo do *Laser* tenha apresentado um início mais célere da regeneração, nas 2 a 4 primeiras semanas.

Em 2001, Paccione *et al.*, (248) com o objetivo de estudar o ratinho como novo modelo de regeneração óssea intramembranosa, utilizaram 20 ratinhos geneticamente modificados. Os animais foram submetidos a um corte bicortical na hemimandíbula direita e a fratura estabilizada. Os animais foram avaliados aos 7, 10, 14 e 28 dias (n=5) e verificaram que ao fim de 28 dias o calo ósseo estava em remodelação ativa em todos os animais.

Em 2001 Stanislawki publicou um artigo (249), onde comparou, através de microscopia eletrónica de varrimento, a ação dos *Lasers* de Er:YAG (pulso entre 100 e 200 μ s) e de CO₂ (λ =9600 nm Q-Switched e pulso de 250 ns). Concluiu que estes *Lasers* são equiparáveis e que mostram ser eficazes a partir de fluências de 10 e de 9 J/cm², respetivamente.

Em 2002 Sasaki *et al.* (100) analisou a ultra-estrutura do tecido ósseo após irradiação com os *Lasers* de CO₂ (10600 nm, focado sem contacto a 3-5 mm do tecido alvo) e Er:YAG (100 mJ, 10Hz, 200 µs, com contacto), comparando-os com a broca convencional a baixa rotação com uma inclinação de 30° (10 000 rpm), nos ossos parietais do rato Wistar (8, com 10 semanas de idade). As definições usadas no *Laser* Er:YAG foram baseadas num estudo piloto anterior, em que concluiu que energias mais baixas eram insuficientes. O feixe foi transmitido ao tecido através de uma ponta de contacto colocada a 30° em relação à superfície do tecido. Neste estudo, com o *Laser* de CO₂ não foi utilizada irrigação e nos outros métodos foi utilizada irrigação manual de 2 ml/s, com uma seringa apontada à ponta de corte do instrumento. A técnica utilizada para a preparação histológica das amostras foi a não descalcificada, com cortes de 35 a 45 µm, coradas com azul de toluidina. ~~Em~~ na avaliação histológica, foi também efetuada observação de amostras em microscópio eletrónico de transmissão e de varrimento, este com o apoio de espectroscopia de raios X de energia dispersiva. O *Laser* de Er:YAG provocou alterações histológicas no osso em torno do defeito entre 13,2 e 30 µm (média 21,9 µm), a broca entre 2,4 e 12,7 µm (média 6,9 µm) e o de CO₂ entre 234 a 256 µm (média=254 µm). Estas zonas revelam uma redução da matriz orgânica, microfissuras, desorganização tecidular e uma ligeira recristalização da parte mineral. Sasaki concluiu que o *Laser* de Er:YAG é mais adequado para osteotomia do que o *Laser* de CO₂ (10600 nm).

Em 2004, Pourzarandian *et al.*, (250) efetuaram um estudo comparativo de *Laser* de Er:YAG e de CO₂ (10600 nm) com broca cirúrgica, em calote craniana de 24 ratos Wistar (n=4), pretendendo analisar o processo de regeneração óssea na fase inicial. Foram estudadas 6 fases (10 min., 6 e 24 h, 3, 7 e 14 dias). Nos quatro períodos mais precoces de avaliação, as observações ao microscópio eletrónico de transmissão revelaram um maior infiltrado inflamatório, reação fibroblástica e revascularização mais intensas no osso adjacente tratado com Er:YAG. Ao 7º dia era evidente a predominância de um tecido de granulação rico em fibroblastos e osteoblastos, que favorecem o aparecimento, aos 14 dias, de zonas amplas com novo osso, quando comparadas com as observações das amostras obtidas a partir dos outros métodos. Os autores concluem que a maior velocidade de regeneração do osso tratado com Er:YAG é vantajosa para a cicatrização do tecido ósseo, que será consequência da criação de uma superfície de corte favorável à adesão celular.

Em 2005, Eyrich (251), tendo como objetivo descrever as alterações tecidulares provocadas durante procedimentos de osteotomia com *Lasers*, comparou a ação dos *Lasers* de CO₂ (9600 nm, pulso de 60 µs, 40 mJ, 20 a 200 Hz, irrigação de 15 ml de água/minuto), de Er:YAG (pulso de 100 µs, diâmetro do feixe de 1,1 mm e 15 ml de água/minuto) e da broca de aço (1,5 mm de diâmetro, 1500 rpm e 15 ml de água/minuto), em mandíbulas de porco, *ex vivo*. Avaliou as alterações térmicas e analisou a histologia do tecido ósseo tendo utilizado um aparelho específico para sustentar as diferentes peças de mão perpendicularmente ao osso. Concluiu que o *Laser* Er:YAG e o de CO₂ não provocam alterações significativas no tecido ósseo e que, inclusivamente, no seu estudo a broca foi o método que provocou maior aumento de temperatura nos tecidos (máximo de 6,2°C), perto da temperatura crítica (7°C), mas sem igualar. Nenhum dos métodos lesou, significativamente, o tecido ósseo periférico.

Schwarz *et al.* (252), em 2007, testou, em cães, a preparação de leitões implantares comparando dois métodos - a broca com o *Laser* Er:YAG (300 mJ, 15 Hz, fluência de 35 J/cm²) num desenho de boca dividida (3 implantes em cada hemimandíbula). Os animais foram eutanasiados às 2 e 12 semanas, as amostras preparadas segundo a técnica não descalcificada (azul de toluidina), avaliadas ao microscópio ótico e histomorfometricamente. Os leitões preparados com *Laser* foram cerca de 5 vezes mais demorados, sem vibração mas mais ruidosos do que os preparados com a broca (5 min. vs. 25 min.). Não foram registados sinais clínicos nem histológicos de carbonização. Foi registada uma maior dificuldade em executar a preparação nas regiões mais apicais, com o *Laser*. No entanto, os autores concluem que o *Laser* Er:YAG pode ser um equipamento promissor na preparação de leitões implantares.

Em 2007, de Mello realiza um estudo comparativo (253) efetuando defeitos ósseos de 2 mm em tíbias de ratos Wistar. Para tal utilizou broca cirúrgica (1500 rpm) e *Laser* Er:YAG (500 mJ – 10 Hz). O estudo avaliou a regeneração óssea aos 7, 14 e 21 dias. Apesar de ter introduzido em alguns grupos estudados a aplicação de um *Laser* de Baixa Intensidade (LLLT) não nos referiremos a esse aspeto por estar fora do âmbito deste estudo. Os defeitos realizados com *Laser* apresentavam, ao sétimo dia, alterações na margem de 27,0 ±5,11 µm, 9,30 ±3,20 µm da qual correspondiam a carbonização. O novo osso formado não estava unido em todo o perímetro do defeito devido à existência desta camada amorfa periférica. Apesar da união entre o novo osso e a cortical original se ter verificado em alguns pontos, ao fim de 14 e 21 dias, a maior parte do novo tecido ósseo não aderiu à cortical e continua a observar-se a

zona amorfa com espessura $22,5 \pm 9,12 \mu\text{m}$. O grupo de controlo (broca) apresentava evidência de carbonização ou zona amorfa em nenhuma das fases do estudo. Aos 21 dias o osso já apresentava aspeto de osso maduro e novo osso fusionado com o osso cortical original na periferia do defeito.

Papadaki *et al.* (254), em 2007, com o objetivo de testar a energia necessária, com o *Laser Er:YAG*, para efetuar a osteotomia vertical do ramo da mandíbula, testou, em duas mandíbulas de porco e uma humana, quatro intensidades diferentes de energia do feixe ($500 \text{ mJ} - 63,6 \text{ J/cm}^2$, $1000 \text{ mJ} - 127 \text{ J/cm}^2$, $1500 \text{ mJ} - 191 \text{ J/cm}^2$ e $2000 \text{ mJ} - 255 \text{ J/cm}^2$) para verificar a sua eficácia. Para qualquer definição de energia, é possível executar o proposto, no entanto, para o nível de energia mais baixo, o tempo de execução é muito elevado, quando comparado com a energia mais alta. A energia total necessária para completar a osteotomia é maior nas energias de pulso mais baixas. Não se observaram, macroscopicamente, sinais de formação de plasma ou de carbonização dos tecidos, desde que o feixe fosse movido rapidamente sobre o osso. O autor refere que a maior dificuldade durante o uso do *Laser* foi manter a distância focal durante o corte e que, mesmo com 2000 mJ o tempo necessário para executar a osteotomia vertical do ramo da mandíbula humana é muito superior (3 min. vs. 1 min.) ao que necessita a serra recíproca

Além da grande variedade de aparelhos de *Laser* (quer ao nível do meio ativo, quer de fabricante, quer das possíveis configurações) é muito pouco comum que os autores caracterizem com rigor todos os dados experimentais. Por este motivo, Beer e Passow,(255) em 2008 propuseram a construção de um conjunto de testes padrão para estudos controlados de *Laser* nos tecidos, para que seja possível a reprodutibilidade dos estudos. Assim, seria possível a comparação de diferentes sistemas de *Laser*.

Em 2010, com o objetivo de comparar a regeneração óssea em diabéticos, Akyol *et al.* (20, 256) executaram defeitos ósseos em fémures de ratos (Wistar) diabéticos com *Laser Er:YAG* (1,5 W) e broca, em contraponto com defeitos realizados com broca em ratos normais (controlo). Foram avaliados dois períodos (10 e 20 dias) (n=7), tendo-se registado diferenças significativas entre os grupos experimentais e o grupo controlo, apenas no primeiro período de estudo. No segundo período não se registaram essas diferenças, pelo que os autores concluíram que o *Laser Er:YAG* pode ser utilizado no osso em casos de diabetes.

Almeida *et al.*, (257) em 2010 defendeu a realização dos defeitos em mandíbula de rato Wistar (n=3), e procedeu à realização de um defeito de 4 mm no ângulo da mandíbula com broca de aço a baixa rotação. Nos períodos de estudo (1, 3, 5, 7, 14 e 28 dias), a avaliação histológica revelou que, ao fim de 28 dias, a regeneração ainda não se tinha verificado na totalidade. No dia 1, apenas se observavam células inflamatórias mononucleares no periosteio e edema. No 3º dia, junto às margens do defeito começaram a formar-se trabéculas ósseas imaturas, tecido de granulação com células mesenquimatosas indiferenciadas, neovascularização e uma rede de fibrina. A formação, na periferia, de tecido ósseo continuou ao 5º dia, e na região central havia remanescentes de coágulo e de tecido de granulação. Ao 7º dia, a quantidade de osso na periferia do defeito, limitado por uma linha basófila, era maior e circundava uma região com células gigantes multinucleadas. A evolução da quantidade de osso a caminho da maturação aumentou ao 14º e 28º dias e na porção mais central persistia um tecido conjuntivo fibroso.

Stübinger é o investigador que mais têm publicado sobre *Laser Er:YAG*: 10 artigos como primeiro autor, entre 2007 e 2010. Em 4 artigos clínicos relatou 84 intervenções, em 2007/8:

- 8 Aumentos de coroa clínica, 20 exodontias, 2 resseções apicais (258)
 - *Laser Er:YAG*
 - 500 mJ, 250 µs, 12 Hz e Ø do feixe 0,6 a 1 mm
- 15 Exodontias de dentes inclusos (259)
 - *Laser Er:YAG* de fibra ótica
 - 500 mJ, 250 µs, 12 Hz, Ø de fibra = 600 µm, fluência 177J/cm²
 - 500 mJ, 250 µs, 12 Hz, Ø de fibra = 1000 µm, fluência 64J/cm²
- 15 Exodontias de dentes inclusos (259)
 - *Laser Er:YAG* de braço articulado
 - 1000 mJ, 300 µs, Ø do feixe 0,9 mm, fluência 157J/cm²
- 12 Colheitas intraorais de osso para enxerto (260)
 - *Laser Er:YAG* de fibra ótica
 - 500 mJ, 250 µs, 12 Hz, Ø de fibra = 600 µm, fluência 177J/cm²
 - 500 mJ, 250 µs, 12 Hz, Ø de fibra = 1000 µm, fluência 64J/cm²
- 12 Colheitas intraorais de osso para enxerto (261)
 - *Laser Er:YAG* de braço articulado (45 a 50 ml H₂O/min)
 - 1000 mJ, 300 µs, Ø do feixe 0,9 mm, fluência 157J/cm²,

A possibilidade de ter um posicionamento praticamente livre de restrições e a geometria de corte não limitada pela forma do instrumento foram aspectos salientados em todos os estudos clínicos. (258-261) Quando comparado com a broca, tem a vantagem de cortar apenas na extremidade, não se verificando ablação na lateral, o que, além de tornar a osteotomia mais precisa, evita a lesão dos tecidos moles. (260) Em todos os casos o osso foi cortado de forma eficaz e conservadora e sem lesões térmicas macroscópicas. A cicatrização não teve nenhuma complicação nem sofreu atraso quando comparada com os métodos convencionais. (180, 258-261) Os pacientes referiram maior conforto durante a osteotomia com o *Laser*, quando comparado com a broca, principalmente na mandíbula. (259-261) Contudo, alguns pacientes queixaram-se do ruído (180, 259-261), do cheiro produzido (180, 259) e da grande quantidade de água. (180) A aplicação do *Laser Er:YAG* na prática clínica apresenta uma série de vantagens:

- Peça de mão não sofre sobreaquecimento; (260, 261)
- Ablação precisa e por camadas; (258)
- Ausência de contacto, vibração ou pressão mecânica, e conseqüente diminuição do traumatismo do tecido; (258, 260, 261)
- Ausência de desgaste no metal da broca; (258, 261)
- Ausência de perda de corte ou rutura do instrumento de corte; (258)
- Menor sangramento por diminuição do trauma cirúrgico; (261)
- Menor trauma de tecidos moles; (260)
- Não formação de resíduos ósseos. (258, 260, 261)

Apesar de todas estas vantagens, a aplicação do *Laser Er:YAG* na prática clínica encontra-se limitada face à insuficiente velocidade de osteotomia. No entanto, se a energia ou a frequência do pulso forem aumentadas, os autores afirmam que a velocidade de corte se equipara aos instrumentos rotativos. (258) Um dos fatores chave que determina a eficiência da ablação óssea é a potência do pulso, que deverá ser fornecida no menor espaço de tempo possível. (261)

Os enxertos ósseos revelaram ter um bordo irregular. Contudo, as propriedades macroscópicas das superfícies dos enxertos revelam-se idênticas às dos enxertos colhidos por outros métodos. (261)

Com as definições adotadas, o tempo necessário para efetuar as osteotomias foi idêntico à técnica com instrumentos rotativos ou piezocirúrgico. As dificuldades sentidas durante o ato operatório foram a ausência de capacidade em controlar a profundidade e de ver a luz guia. Os autores consideram a tecnologia como sendo uma boa alternativa no futuro. (259) Os autores consideram que a simples orientação manual da peça de mão é muito difícil em algumas localizações anatómicas. (261)

Stübinger et al. (5, 6) e Kuttenger et al., (262) em 2010 desenvolveram estudo experimentais em animais em ovelhas. O primeiro comparou a utilização de Laser Er:YAG e piezocirúrgico em dois estudos, embora um deles tenha sido na área da implantologia, (5) e por isso, fora do âmbito mais estrito desta revisão. No entanto, como apenas foram publicados dois trabalhos, este *in vivo* (5) e outro *ex vivo* (4), em que foram utilizados os três métodos aqui em estudo, abriremos uma exceção, embora sem incluir a parte da regeneração óssea, que com a colocação dos implantes, é obrigatoriamente diferente. Romeo et al. (4), testaram o Laser Er:YAG, piezocirúrgico e brocas em alta e baixa rotação em costela de porco *post mortem*. As definições utilizadas foram:

- Laser Er:YAG
 - 3 W, 30 Hz, 100 mJ, 35 J/cm², Ø fibra = 600 µm
 - 6W, 30 Hz, 200 mJ, 70 J/cm², Ø fibra = 600 µm
- Piezocirúrgico
 - Ponta OT7, frequência de 24 a 29 KHz
- Broca
 - Alta rotação a 400 000 rpm
 - Lindemann
 - Esférica adiamantada (ISO 016)
 - Baixa rotação
 - Aço, esférica (ISO 018) a 20 000 rpm
 - Aço, esférica (ISO 018) a 20 000 rpm

Os resultados revelam que, para todos os parâmetros analisados (superfície de corte, profundidade, carbonização e fragmentos ósseos) foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Nos dois grupos de *Laser* obtiveram uma boa superfície de corte e profundidade, sem carbonização dos tecidos (no máximo poucosµm) ou necrose dos

osteócitos do tecido circundante, nem fragmentos ósseos. Nos três grupos de piezocirúrgico as margens mostraram-se irregulares, mas sem danos térmicos. Em termos de volume de fragmentos ósseos na zona da osteotomia apresentou o pior resultado de todos os métodos. A osteotomia com broca de alta rotação apresentou bordos irregulares sem efeitos térmicos no grupo da broca Lindemann. A broca adiamantada apresentou bordos mais regulares e menos carbonizados. A broca de baixa rotação apresentou bordos regulares e carbonização insignificante, mas que aumentou com a velocidade. Tal como as brocas de alta rotação, observaram-se inúmeros fragmentos ósseos na região da osteotomia. O Laser Er:YAG é um método que apresenta diversas vantagens para o cirurgião no tratamento do osso, mas estes benefícios estão relacionados com os parâmetros definidos e exigem um bom conhecimento das características dos tecidos e da sua resposta ao *Laser*. (4)

Kesler *et al.* (263), em 2011, reconhecendo que o *Laser* Er:YAG melhorava a resposta regenerativa do tecido ósseo, procurou a justificação para este facto na secreção de fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF), após a irradiação com este *Laser*. Para tal, efetuou osteotomias em 28 tíbias de ratos Wistar com Er:YAG (500 a 1000 mJ, feixe de 2 mm de diâmetro, frequência até 50 Hz e fluência de 32 J/cm²). No grupo de controlo foram efetuadas osteotomias com broca de 1,3 mm de diâmetro e 1000 rpm. A avaliação das amostras (2 ratos por grupo, diariamente, durante 14 dias) foi efetuada com recurso a microscopia ótica (coloração HE) e imuno-histoquímica (anti PDGF). A presença dos fatores de crescimento no grupo do *Laser* inicia-se ao 3º dia e atinge o pico ao 4º, permanecendo em alta durante o período em estudo (14 dias). No grupo de controlo o aumento de PDFG inicia-se mais tarde (4º dia) e ao 8º dia regressa aos valores normais. Na avaliação histológica, observaram que a superfície do defeito criada pelo *Laser* é mais irregular o que promove a adesão celular, essencial para a regeneração óssea. A osteotomia realizada com *Laser* dá início a uma série de mecanismos que podem acelerar a regeneração óssea, mas, segundo os autores, são necessários mais estudos.

Martins *et al.*, (264), em 2011, realizaram um estudo histológico comparativo, tendo efetuado defeitos ósseos em mandíbula de 20 ratos Wistar machos, com tempos de vida de 7, 14, 45, 60 e 90 dias (n=4). As osteotomias foram realizadas com o *Laser* Er:YAG - três configurações distintas (300, 350 e 400 mJ) sempre com a mesma frequência (6 Hz) - e broca esférica cirúrgica a 25 000 rpm. As amostras foram coradas com HE e observadas em microscopia ótica em ampliações de 100, 200 e 400 x. Os defeitos realizados com broca

revelaram, aos 7 dias, a formação de osso trabecular, e aos 45 dias a integridade da cortical estava restaurada, embora com organização irregular, mas a iniciar o processo de remodelação. Apenas aos 90 dias foi observado o padrão linear na morfologia da superfície óssea. Os defeitos realizados com *Laser* apresentaram áreas de necrose e material amorfo adjacente a estas. Aos 45 dias começaram a observar-se soluções de continuidade na camada de danos térmicos, estando ainda presente áreas de material amorfo. Estas alterações desapareceram apenas aos 60 dias de evolução. Aos 90 dias o tecido ósseo regenerado já apresentava um padrão lamelar muito idêntico ao tecido ósseo nativo. Com estes dados, os autores concluíram que o padrão de regeneração foi idêntico para os três níveis de energia usados no *Laser* e que todas elas foram eficazes. No entanto, a camada que apresenta dano térmico funciona como isolamento da superfície interna do defeito atrasando, assim, a regeneração.

Embora as zonas de alteração possam não ser significativas, interessa averiguar o que acontece em relação à velocidade de cicatrização. E nesse aspeto, o *Laser* nem sempre é, segundo alguns autores, o melhor método para osteotomia.(236) As comparações, com rigor, entre os diferentes artigos são algo complicadas.

Contudo o *Laser* de Er:YAG apresenta uma série de vantagens, nomeadamente quanto ao seu efeito assético na região onde é aplicado,(17, 19) ausência de *stress* mecânico,(19) possibilidade de não contacto e de um corte intrincado,(19) atua sobre tecidos duros e moles, promove ligeira hemóstase e quando usado com boa irrigação produz efeitos térmicos quase nulos sobre os tecidos.(17)

5.4 PIEZOCIRURGIA E OSTEOTOMIA

A osteotomia com aparelhos ultrassônicos (piezocirurgia) começou a ser estudada na década de 70, mas o início da sua afirmação face aos instrumentos convencionais para osteotomia apenas se verificou no final dos anos 90. (265)

Desde então, alguns estudos experimentais têm sido publicados, e diversos autores continuam a afirmar que mais estudos são necessários na área do instrumental para osteotomia.(266)

Apesar da comparação dos dados da literatura não ser tão difícil como no caso do *Laser*, também se colocam alguns problemas quando o tema é piezocirurgia. Os dados variam consideravelmente uma vez que dependem de uma série de critérios adotados pelos investigadores.

5.4.1 ESTUDOS CLÍNICOS EXPERIMENTAIS

Os estudos experimentais in vivo publicados dedicam-se, na sua maioria, à comparação deste método de osteotomia com outros na cirurgia para elevação do seio maxilar (162, 166), na distração osteogénica (185), na cirurgia apical (267) e na cirurgia de recolha de osso para enxerto de tecido ósseo.(163)

Os estudos comparativos das cirurgias de elevação do seio maxilar tentam comprovar o menor risco de perfuração da membrana de Schneider por parte do piezocirúrgico, quando comparado com instrumental rotativo. Contudo, apesar dessa vantagem, na maioria dos casos, se verificar, atingindo taxas de sucesso de 95% (162, 190) nem sempre isso acontece.(166)

Outra das áreas estudadas é a exodontia de terceiros molares inclusos, que é uma das cirurgias mais comuns no âmbito da cirurgia oral. Na literatura, a comparação da osteotomia com piezocirúrgico e com broca em pacientes refere diversas vantagens do primeiro método, nomeadamente quanto à menor intensidade de dor no pós-operatório (menor número de analgésicos tomados), menor edema, menor incidência de trismus na primeira semana. (184, 197, 268) Em relação ao edema, Sortino *et al.* (184) , em 2008, refere que o corte seletivo micrométrico produz uma menor exposição de vasos sanguíneos, o que contribuirá para um menor ocorrência deste no pós-operatório, quando comparado com os

métodos rotativos. No entanto, Sivolella *et al.*, (175) em 2011, refere que o sangramento estará mais relacionado com as características individuais do que com o método de osteotomia utilizado.

Embora a avaliação seja mais subjetiva, há pacientes que referem melhor qualidade de vida no pós-operatório (268) embora noutros estudos, as diferenças entre estes fatores, apesar de existirem, não são estatisticamente significativas. (175, 197)

Os fatores que mais diferenças registaram no pós-operatório da exodontia de terceiros molares (com broca e piezocirúrgico) foram as osteíte alveolares e as infeções secundárias. O piezoelétrico parece estar associado a uma menor incidência destas complicações, segundo Sivolella. (175)

Na osteotomia o piezocirúrgico permite um corte preciso, limpo, regular, com uma boa visibilidade, (163, 164, 174, 184) menor risco para estruturas nervosas e tecidos moles e sangramento diminuído.(164, 174, 189, 269)

Durante a osteotomia realizada com piezocirúrgico, cerca de 50% dos pacientes referem sentir menos desconforto no per-operatório, devido a vibrações mais reduzidas quando comparam com a broca. No entanto, 30,7 % do total dos pacientes referem que o ruído emanado pelo piezocirúrgico é desagradável. (175) Apesar disso, ficou comprovado que o ruído não é lesivo para o aparelho auditivo. (270)

O maior tempo de intervenção, (175, 184, 268) o custo do equipamento e a curva de aprendizagem são os fatores negativos referidos, (268) embora haja autores que não encontram diferenças significativas em termos de tempo de execução da osteotomia, quando comparadas com os métodos convencionais, mesmo quando estas são extensas e demoradas. (189, 269)

Outra desvantagem referida por Sortino *et al.* é a impossibilidade de cortar tecidos duros dentários, sendo necessário recorrer a instrumentos rotativos. (184) No entanto, Stübinger *et al.* refere que o corte de tecidos duros dentários se consegue efetuar, apesar de ser mais difícil. (174)

5.4.2 ESTUDOS EXPERIMENTAIS *IN VITRO*

Além da utilização do aparelho piezocirúrgico para efetuar elevação do seio maxilar, e aproveitando as potencialidades deste aparelho de não lesar tecidos moles, um dos temas de investigação mais atrativos é a transposição do nervo alveolar inferior. Metzger *et al.*, (200) em 2006 fez um estudo comparativo, em mandíbulas de ovelha, neste âmbito, entre o piezocirúrgico e a broca esférica adiamantada a 2000 rpm., para verificar quais os efeitos de cada um destes métodos sobre tecidos duros e moles. Metzger confirmou que a piezocirurgia é um método mais seguro para a manipulação junto de estruturas nervosas, apesar de poder lesar o epineuro e promover uma maior quantidade de pequenas partículas residuais de osso na região. Neste estudo utilizou uma ponta esférica adiamantada, que mostrou ser mais agressiva para o osso, provocando maior irregularidade no osso intervencionado, mas menor lesão no epineuro do nervo alveolar inferior. Inversamente, a broca foi mais suave para o osso e mais agressiva para o epineuro.(200)

Em relação aos tempos de trabalho, e apesar dos modelos serem diferentes, Metzger (200) concorda com os dados de Maurer que afirma que a osteotomia realizada com piezocirúrgico é mais demorada do que quando realizada com o instrumental rotativo, ou micro-serra oscilatória. (266) Este estudo, realizado *ex vivo* em ossos de crânio de coelho, demonstrou que apesar de ser um método mais demorado, o piezocirúrgico revelou, quando comparado ao microscópio ótico, que a estrutura original do osso se manteve após a realização do defeito, ao contrário dos outros métodos (micro-serra e broca Lindemann). Segundo o autor, este facto poderá facilitar o processo de regeneração óssea. (266) Khambay e Walmsley (172) também concluíram, num estudo *ex vivo* em fémur de bezerro, que o piezocirúrgico é um método mais lento que a broca de cirúrgica de aço fissurada. No entanto o aparelho de ultrassons utilizado era um destartarizador adaptado e não um aparelho piezocirúrgico. Referem ainda que a tecnologia tem uma curva de aprendizagem longa. Noutro estudo dos mesmos autores, e corroborando este, afirmam que o corte com ultrassons é mais perfeito. (188)

Em cirurgia oral, maxilofacial e neurocirurgia a realização de osteotomia com proximidade de estruturas nervosas é muito frequente e o risco de lesar essas estruturas está presente. A realização de estudos com aparelho piezocirúrgico nesta área revelou que apesar de poder lesar o epineuro, de forma reversível, o risco das estruturas nervosas mais profundas ficarem

lesadas, é menor do que quando se utiliza instrumental rotativo. (200) Este estudo, *in vitro*, foi efetuado com mandíbulas de ovelha e o autor recomenda um correto doseamento da intensidade da força exercida sobre a peça de mão par evitar lesões maiores.

5.4.3 ESTUDOS EXPERIMENTAIS *IN VIVO*

Vercellotti *et al.*, em 2005, num estudo em cães concluiu que a velocidade de cicatrização do tecido ósseo era mais rápida quando este era ablado por uma ponta piezocirúrgica do que pelos métodos rotativos (broca laminada ou adiamantada). (196)

Stübinger *et al.*, num estudo em ovelhas (6) avaliou a regeneração óssea e a remodelação da tibia sob carga funcional, comparando o *Laser* Er:YAG e a piezocirurgia (grupo controlo). Este modelo animal é diretamente comparável com o homem dada a similaridade fisiológica da tibia da ovelha com os ossos longos humanos e desmistificou a falta de capacidade do *Laser* Er:YAG ser efetivo em maiores profundidades de corte. O piezocirúrgico foi mais rápido a cumprir a osteotomia, mas o autor não considera que a diferença seja importante para a utilização, de qualquer dos métodos (piezocirúrgico e *Laser*), na clínica, concluindo que este não é um fator suficientemente diferenciador entre os dois métodos.

II. - ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL

6. OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho experimental pretende avaliar o processo fisiológico de reparação óssea em modelo animal, após defeitos realizados em tíbias de ratos Wistar Han, *in vivo*, aos 3, 7, 14, 28 e 42 dias, utilizando dois dos métodos mais recentes (grupos experimentais) que possibilitam a ablação de tecido ósseo:

- O *Laser* de Er:YAG e
- O aparelho de piezocirurgia;

Comparando-os com o método, ainda hoje, mais comumente utilizado (grupo controlo):

- A broca cirúrgica de baixa rotação montada em contra-ângulo 1:1.

Pretende-se estudar a viabilidade do processo de reparação óssea neste modelo animal, qual o método menos lesivo para o osso periférico ao defeito realizado (momento zero – *ex vivo*) e qual o método mais célere na ablação de tecido ósseo.

Mais concretamente, pretendeu-se esclarecer as seguintes questões, quanto a três métodos de realização de osteotomia, neste modelo animal:

- Quais as diferenças histológicas qualitativas e quantitativas entre os métodos?
- Qual dos métodos promove a reparação óssea histologicamente mais semelhante ao osso original?
- Qual o método menos lesivo da estrutura do tecido ósseo?
- Qual o método mais rápido de realização de osteotomia?

A hipótese nula será:

Não existem diferenças no processo de reparação do tecido ósseo após realização de osteotomia com broca cirúrgica laminada a baixa rotação, *Laser* Er:YAG e aparelho piezocirúrgico, neste modelo animal.

Os parâmetros estudados foram:

- A reparação óssea do defeito
 - Presença de células sanguíneas;
 - Presença e extensão do infiltrado de células inflamatórias;
 - Presença de áreas de reabsorção e necrose óssea;
 - Osso neoformado substituindo a região cortical ablada;
 - Tecido ósseo cortical delimitado.
- Os efeitos de cada um dos métodos de osteotomia na periferia do defeito
 - Alterações morfológicas no tecido ósseo
 - Regularidade da superfície de osteotomia;
 - Vitalidade / necrose celular;
 - Fragmentos ósseos remanescentes;
 - Reabsorção óssea;
 - Integração do tecido ósseo neoformado no tecido adjacente.
- O tempo de execução do defeito

A análise histológica qualitativa da regeneração dos defeitos ósseos foi efetuada com recurso a microscopia de luz (ampliações de 20X, 40X, 100X e 400X) em cortes histológicos descalcificados corados com Hematoxilina – Eosina (H+E), quantificação histomorfométrica e respetivo tratamento estatístico dos dados obtidos.

As soluções ao dispor dos profissionais para execução de osteotomia são cada vez mais diversificadas e, por isso, pretendeu-se esclarecer as vantagens e desvantagens de cada uma das técnicas referidas, quer ao nível da sua utilização por parte do profissional, quer ao nível da resposta tecidular no modelo estudado.

A revisão da literatura efetuada demonstra que há resultados contraditórios quanto ao uso do *Laser* para osteotomia, nomeadamente do *Laser* de Er:YAG, embora este seja o comprimento de onda mais consensual entre a comunidade científica para a realização de cirurgias de tecidos duros.

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 A AMOSTRA

Este trabalho experimental foi submetido à apreciação da Direção Geral de Veterinária (DGV), através da submissão do “Formulário para licenciamento de projetos de investigação/experimentação animal”, ao abrigo do disposto na Portaria nº1005/92, de 23 de Outubro, alterado pela Portaria 1131/97 de 7 de Novembro, diplomas onde estão incluídas as normas técnicas de proteção dos animais para estes fins. O projeto, após apreciação da DGV, foi autorizado (Referência nº 0421), ao abrigo do Artigo 8º da Portaria nº 1005/92, conforme documento anexo na respetiva secção desta tese.

O animal selecionado para este estudo experimental foi o rato Wistar Han devido à sua disponibilidade, facilidade de manuseamento e amplo conhecimento, na comunidade científica, das suas características fisiológicas de regeneração e remodelação ósseas.

A amostra foi constituída por 60 ratos albinos Wistar Han (*Rattus norvegicus* - n=60), Specific Pathogen Free (SPF), machos, adultos jovens, com um peso médio de 345 g ± 45 g, correspondendo a animais com cerca de 12 semanas de vida.

A amostra foi dividida em 3 grandes grupos:

- 2 Grupos experimentais
 - Osteotomia realizada com *Laser Er:YAG*
 - Osteotomia realizada com aparelho piezocirúrgico
- 1 Grupo de controlo
 - Osteotomia realizada com broca esférica cirúrgica montada em contra-ângulo

O procedimento de distribuição aleatória, além do método de realização de osteotomia, teve em consideração o lado ao qual pertencia a tibia (esquerdo ou direito) para que o número de defeitos realizado por método fosse igual em cada um dos lados. Assim sendo, e excluindo o momento zero, foram realizados 40 defeitos em cada um dos 3 métodos, sendo 20 realizados na tibia esquerda e 20 na tibia direita. Teve, ainda em consideração a variabilidade de combinação dos defeitos.

Tendo estes critérios em consideração, classificámos 6 grupos, segundo a seguinte tabela:

	Tíbia direita	Tíbia esquerda
Subgrupo I	Laser Er:YAG	Piezocirurgia
Subgrupo II	Laser Er:YAG	Broca
Subgrupo III	Piezocirurgia	Laser Er:YAG
Subgrupo IV	Piezocirurgia	Broca
Subgrupo V	Broca	Laser Er:YAG
Subgrupo VI	Broca	Piezocirurgia

Tabela 6 - Descrição do tipo de defeitos realizados em cada grupo

Tendo em consideração esta organização de grupos, os animais foram, de seguida, aleatoriamente numerados na cauda com um marcador de acetato. Utilizou-se o software QuickCalcs® Web (desenvolvido por GraphPad Software, disponível no sítio da internet da empresa em <http://www.graphpad.com/quickcalcs/>), para atribuição aleatória de um subgrupo (I, II, III, IV, V e VI), a cada animal.

As seleções efetuadas nas diferentes opções do *software* foram as seguintes:

- “Choose the kind of calculator you want to use”
 - “Random numbers - Assign subjects to groups, simulate data”
 - “Continue”
- “Random number calculators”
 - “Randomly assign subjects to groups”
 - “Continue”
- “Randomly assign subjects to treatment groups”
 - “Randomly choose a group for each subject”
 - “Assign subjects to each of groups.
 - Repeat times.”¹¹

¹¹ Os números foram inseridos, pelo investigador, nas caixas de preenchimento.

Os resultados foram copiados diretamente da página da internet, colada e reformatada em Microsoft Excel 2007, e novamente colada neste documento, evitando-se, assim, erros de transcrição. A distribuição efetuada pelo *software* foi a seguinte:

Rato	Sg	Rato	Sg	Rato	Sg	Rato	Sg	Rato	Sg	Rato	Sg
1	II	11	V	21	VI	31	IV	41	V	51	I
2	V	12	II	22	VI	32	IV	42	III	52	VI
3	III	13	I	23	I	33	II	43	III	53	II
4	II	14	IV	24	II	34	V	44	IV	54	VI
5	VI	15	VI	25	II	35	IV	45	I	55	I
6	III	16	III	26	III	36	I	46	II	56	VI
7	V	17	IV	27	V	37	I	47	IV	57	VI
8	I	18	II	28	III	38	V	48	I	58	III
9	I	19	III	29	III	39	II	49	V	59	V
10	V	20	VI	30	VI	40	IV	50	IV	60	IV

Tabela 7 - Distribuição aleatória dos animais por subgrupos (I, II, III, IV, V e VI)

Nota explicativa do sítio na internet quando apresenta os resultados finais:

“How it works: The random number generator is seeded with the time of day, so it works differently each time you use it. Each subject is first assigned to a group nonrandomly. Then the assignment of each subject is swapped with the group assignment of a randomly chosen subject. This should suffice, but the entire process is repeated twice to make sure it is really random. Note that you can copy and paste the values from the web page into Excel.”

Tradução:

“Como funciona: O gerador de números aleatórios varia com a hora do dia, e por isso funciona de maneira diferente cada vez que o usa. Cada indivíduo é atribuído a um primeiro grupo de forma não aleatória. De seguida, a atribuição de cada um dos indivíduos muda devido à troca aleatória da designação do Grupo. Embora este método pareça suficiente por si só, todo o processo é repetido duas vezes para nos certificarmos que é, realmente, aleatório. Note que pode copiar e colar os valores da página web em Excel.”

De seguida, procedeu-se ao sorteio dos tempos de vida de cada animal. Assim, dois animais de cada um dos grupos (I, II, III, IV, V e VI) foram selecionados para eutanásia em cada um dos tempos definidos, tendo em vista a recolha do número de amostras definido ($n=8$ – oito) por cada um dos métodos de osteotomia (broca, *Laser*, piezocirúrgico), em cada tempo (3, 7, 14, 28 e 42 dias).

A aleatorização da seleção temporal foi efetuada da seguinte forma:

- Identificação de seis sacos opacos com as letras dos diversos subgrupos:
 - I, II, III, IV, V e VI;
- Inscrição, numa ficha de papel, do número identificativo de cada animal;
- Colocação, no interior de cada um dos sacos, dos números identificativos dos animais pertencentes a cada um dos grupos, conforme a Tabela 7;
- Identificação de um saco com a palavra “Tempo”;
- Inscrição, numa ficha de papel, dos diferentes tempos, em dias, do estudo:
 - Dia 3; Dia 7; Dia 14; Dia 28; Dia 42.
- Extração aleatória de uma ficha de papel, correspondendo a um animal perfeitamente identificado, de cada um dos sacos I, II, III, IV, V e VI;
- Extração, alternada com a anterior, de um papel do saco “Tempo”, que era atribuído ao animal sorteado anteriormente e ao seu parceiro de gaiola.

Os sorteios foram repetidos as vezes necessárias ao preenchimento da seguinte tabela:

Gaiola	Rato	Sg	Dias	Gaiola	Rato	Sg	Dias	Gaiola	Rato	Sg	Dias
1	1	II	7	11	21	VI	7	21	58	III	7
	2	V	7		22	VI	7		42	III	7
2	3	III	42	12	23	I	28	22	43	III	14
	4	II	42		24	II	28		44	IV	14
3	5	VI	28	13	25	II	3	23	45	I	7
	6	III	28		26	III	3		46	II	7
4	7	V	14	14	27	V	28	24	47	IV	3
	8	I	14		28	III	28		48	I	3
5	9	I	7	15	29	III	14	25	49	V	28
	10	V	7		30	VI	14		50	IV	28
6	11	V	14	16	31	IV	7	26	51	I	14
	12	II	14		32	IV	7		52	VI	14
7	13	I	42	17	33	II	3	27	53	II	42
	14	IV	42		34	V	3		54	VI	42
8	15	VI	42	18	35	IV	3	28	55	I	28
	16	III	42		36	I	3		56	VI	28
9	17	IV	14	19	37	I	42	29	57	VI	3
	18	II	14		38	V	42		41	V	3
10	19	III	3	20	39	II	28	30	59	V	42
	20	VI	3		40	IV	28		60	IV	42

Tabela 8 - Distribuição dos animais por subgrupo (Sg), gaiola e dia da eutanásia

7.2 OS ANIMAIS

7.2.1 ENCOMENDA E TRANSPORTE

Os animais foram encomendados à empresa Charles River Laboratories France (França) e transportados em camião com temperatura e humidade controlada e independente do funcionamento do motor, em caixas adequadas para o efeito (Novopack® com filtro), seguindo as normas internacionais de transporte de animais. O número de ratos por caixa era de cinco e foram alimentados, durante a viagem, com ração seca para roedores e Transgel®. O Transgel® é uma ração desenvolvida pela empresa Charles River Laboratories e é constituída, aproximadamente, por 70 % de água, contendo ainda hidrocolóides, sorbato de potássio, ácido fosfórico e uma mistura de carboidratos. Esta formulação resiste à contaminação bacteriana e de bolores, sendo estável por longos períodos de tempo, mesmo sem refrigeração.

A estes animais, são aplicados programas de controlo de saúde de rotina no grupo Charles River Laboratories (CRL). Estes programas, com base nas recomendações FELASA (Federação Europeia de Ciência de Animais de Laboratório), inclui comentários, exames clínicos, patológicos, serológicos, bacteriológicos e parasitológicos realizados em intervalos regulares. Em consonância com as recomendações da FELASA, para os ratos, a frequência de monitorização serológica é de 4 semanas e os controlos bacteriológicos e parasitológicos são efetuados trimestralmente. Os controlos serológicos a ratos variam alternadamente entre dois painéis de teste: um normal de acordo com as recomendações da FELASA e um painel de avaliação "Plus", que inclui algumas análises adicionais de algumas estirpes bacterianas. Os resultados de todos os exames de saúde feitos nas produções do grupo CRL são publicados no seu sítio na *internet*, no seguinte endereço:

http://www.criver.com/en-US/ProdServ/ByType/ResModOver/health/Pages/fr_indexbyspecies.aspx.

Sendai	SDA/RCV	KRV
H-1	RMV	RPV
PVM	Reo-3	LCMV
MAV	Hantaan	CARB
Mycoplasma pulmonis	Helicobacter hepaticus	TMEV
Helicobacter bilis	Helicobacter spp.,	Bordetella bronchiseptica
Corynebacterium	Salmonella spp	Streptobacillus moniliformis
Clostridium piliforme	Pasteurella Multocida	Pasteurella Pneumotropica,
Encephalitozoon Cuniculi	Streptococcus	Streptococci β haemolytic (Grupo A e G)

Tabela 9 - Lista de agentes testados nos controlos de rotina para ratos na CRL (Fonte: CRL)

7.2.2 CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DO RATO WISTAR HAN

O rato é um roedor e pertence à família mais numerosa dos mamíferos, sendo a sua classificação taxonómica, a seguinte:(271)

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Classe: Mammalia

Subclasse: Theria

Infraclasse: Eutheria

Ordem: Rodentia

Subordem: Myomorpha

Superfamília: Muroidea

Família: Muridae

Subfamília: Murinae

Género: Rattus

Espécie: *Rattus norvegicus*

Subespécie: *Rattus norvegicus albinus*



Ilustração 11 - Rato Wistar Han (Fonte: CRL)

7.2.3 A ANATOMIA DO RATO

A anatomia do rato albino é muito similar à do homem ao nível do sistema circulatório, muscular e esquelético. Este é um dos motivos pelo qual é o animal mais usado para experimentação animal.

O rato é a espécie animal mais amplamente utilizada em pesquisas de osteotomia, cicatrização óssea e fraturas fechadas de ossos longos.(272)

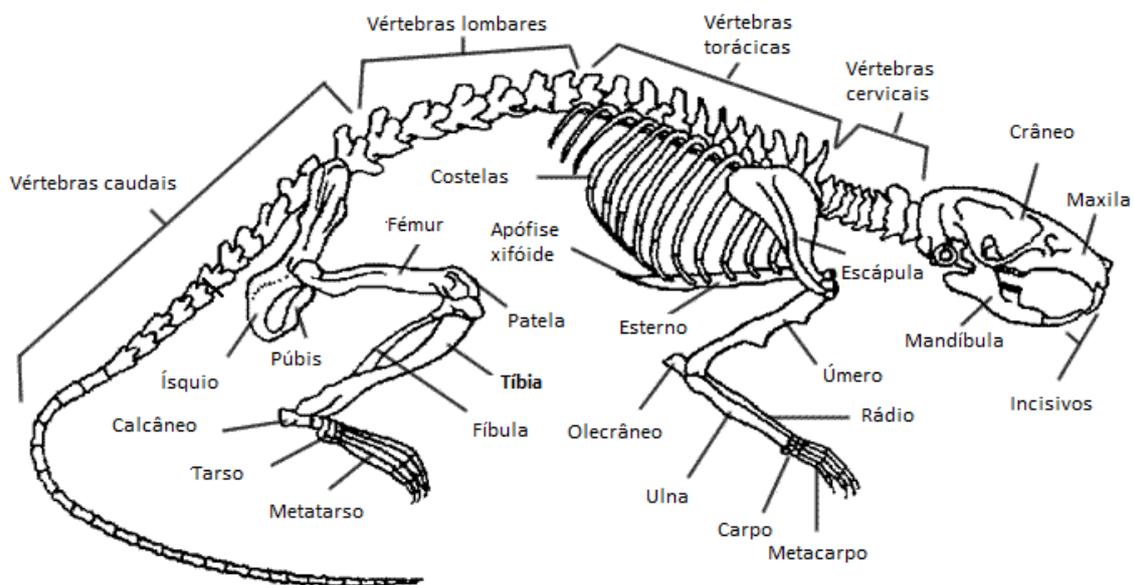


Ilustração 12 - O sistema esquelético do rato.

Desenho adaptado e traduzido.(273)

7.2.4 RECEÇÃO E AVALIAÇÃO À CHEGADA

À chegada foi determinado o estado de saúde geral de todos os animais, não se tendo detetado qualquer doença ou problema. Este controlo foi efetuado pelos técnicos responsáveis do Biotério Geral da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (BGMUP), sob orientação e coordenação da Sr^a Dr^a Maria Luísa Lourenço Lopes Guardão, médica veterinária e diretora desta unidade.

Os animais foram todos numerados na base da cauda com marcador de acetato, que ao longo do estudo era reforçada sempre que necessário, e distribuídos pelas gaiolas. Foi efetuado um registo individual para cada um dos animais, que incluía o seu peso e estado clínico, que à chegada, bem como durante o decurso da parte experimental, sempre foi muito bom.

7.2.5 MANUTENÇÃO, MANIPULAÇÃO E BEM-ESTAR ANIMAL

A manipulação, manutenção e garantia de bem-estar animal foram assegurados pelos técnicos qualificados do BGMUP, em consonância com as regras estabelecidas pela instituição e no respeito estrito da legislação aplicável.

Tendo-se constatado o perfeito estado de saúde de todos os animais após avaliação individual, estes foram colocados em quarentena durante 5 (cinco) dias em sala apropriada e devidamente identificada para o efeito. A vigilância regular foi efetuada, pelo menos, duas vezes por dia.

Os animais foram mantidos num recinto fechado, alojados aos pares, em gaiolas metálicas adequadas à sua espécie, com as seguintes medidas 425 x 266 x 185 mm (Comprimento x Largura x Altura) e com espaço suficiente para se movimentarem livremente. Nestas gaiolas, os animais podiam trepar, esconder-se ou abrigar-se temporariamente. As gaiolas foram rotuladas com a seguinte informação:

- Nome do investigador responsável;
- Identificação da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (logotipo)
- Identificação do estudo e número da gaiola;
- Número total de animais na caixa;
- Número identificativo dos animais da caixa;
- Estirpe, género, peso inicial e origem dos animais;
- Data de entrada dos animais e duração da experimentação;
- Pequeno espaço para indicações eventuais.

As condições ambientais foram padronizadas e controladas em diversos parâmetros (humidade, temperatura, luminosidade, renovação de ar e ruído), sempre de acordo com a legislação em vigor (Portaria nº 1005/92 de 23 de Outubro e as alterações introduzidas nesta pela Portaria 1131/97 de 7 de Novembro). A humidade da sala manteve-se nos 45 % e era controlada por higrómetro. A temperatura foi mantida entre 21 e 22º Celsius, controlada por termómetro e com registos gráficos. O ar da sala era filtrado e com ventilação (insuflação e extração) que permitia 10 renovações por hora. A iluminação artificial, do tipo fluorescente, garantiu, diariamente, 12 horas de luz, alternando com iguais períodos de escuridão. Estes

tempos eram controlados por um relógio programador. O ruído era provocado por aparelhos em constante funcionamento e também provocado esporadicamente.

A dieta administrada era constituída por ração de manutenção seca e autoclavada, sendo garantida as suas qualidades físicas, químicas, microbiológicas e organolépticas. A água, da rede pública da cidade do Porto, era autoclavada. A água e o alimento eram fornecidos em regime *ad libitum*. Não se supõe que água ou ração possam ter qualquer risco de interferência nos resultados do protocolo experimental.

As camas eram constituídas por carolo de milho esterilizado, de origem Portuguesa, e eram renovadas duas vezes por semana.

Os animais eram vigiados do ponto de vista hígido-sanitário e comportamental, e o tratador dedicava-lhes cerca de 5 a 10 minutos, diariamente.

A higiene das salas era efetuada semanalmente ao nível das portas, diariamente ao nível do chão. Os comedouros, bebedouros e gaiolas foram lavados e esterilizados antes de receberem os animais.

Embora não tenha sido necessário, estava previsto o vazio sanitário da sala, no caso de haver uma contaminação acidental.

O tratamento dos resíduos era feito através da sua incineração.

As instalações estavam equipadas com equipamento para controlo de incêndios e gerador de emergência, garantindo a segurança dos animais.

7.3 O EQUIPAMENTO E MATERIAL CIRÚRGICO

A entrada no Serviço de Cirurgia Experimental e Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto apenas pode ser efetuada com Equipamento de Proteção Individual (EPI). Assim sendo, todos os elementos que nele circulem, tem que vestir:

- Bata esterilizada
- Touca
- Luvas
- Cobre sapatos
- Máscara

Todos os equipamentos ou materiais provenientes do exterior eram previamente e meticulosamente desinfetados, com uma solução de base alcoólica antes de entrarem na zona limpa do Serviço. Recorrendo a estes cuidados, pretende-se evitar a contaminação do Serviço de Cirurgia Experimental e dos animais que habitam no Biotério, evitando, assim possíveis interferências nos resultados obtidos, ou mesmo a doença ou morte dos animais que ali habitam.

7.3.1 O LASER ER:YAG



Ilustração 13 - Características do feixe e da luz guia

Ilustração 14 - Etiqueta identificativa do aparelho

O Laser de Er:YAG utilizado neste estudo era da marca Fotona®, modelo HT Fidelis. O comprimento de onda (λ) do feixe terapêutico é de 2940 nm, sendo capaz de emitir a energia máxima do impulso de 1,5 J, a potência máxima de 20 W, fluência (ou densidade de energia) máxima de 48 J/cm² e a frequência máxima de 50 Hz. A luz guia, um feixe Laser dίο de cor vermelha tem um comprimento de onda de 650 nm e potência de 1 mW. (Ver Tabela 10)

Parâmetros	Características
Comprimento de onda	2940 nm
Fluência máxima	48J/cm ²
Energia do pulso	0,02 a 1,5 J
Duração do pulso	SSP (50 µs); MSP (100 µs); SP (300 µs); LP (600 µs); VLP (1000 µs)
Frequência máxima	50 Hz
Potência máxima	20 W
Luz guia	$\lambda = 650 \text{ nm}$; $P = 1 \text{ mW}$
Transmissão do feixe	Braço articulado com espelhos

Tabela 10 - Características do Laser Er:YAG Fotona® HT Fidelis

A peça de mão usada foi o modelo R02-C, que é uma peça ótica sem contacto, usada habitualmente em algumas outras áreas da medicina dentária, nomeadamente dentisteria operatória para ablação de esmalte e dentina. Apresenta um feixe com 0,9 mm de diâmetro quando trabalha na sua distância focal (10 a 12 mm) e refrigera o campo operatório através da emissão de um *spray* de ar e líquido refrigerador distribuído por orifícios junto à janela de emissão do feixe. Esta peça de mão é recomendada para usar em tecidos duros (osso, esmalte e dentina).

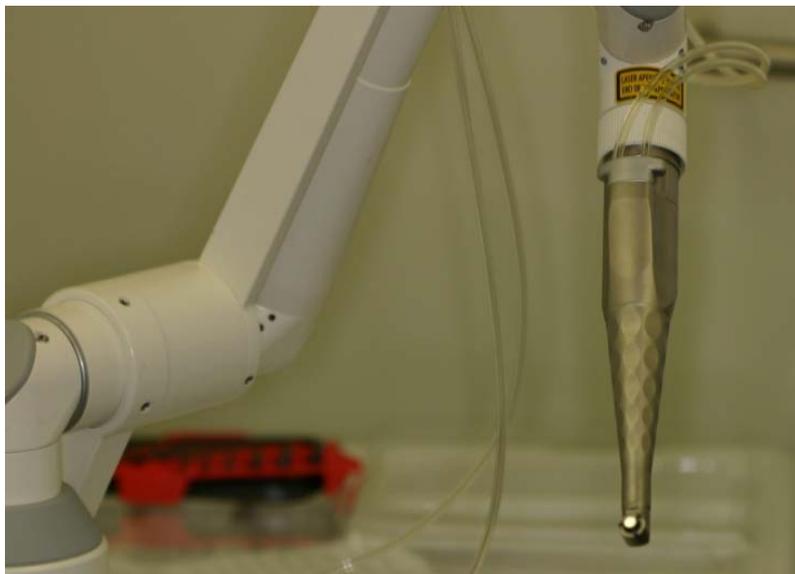


Ilustração 15 - Detalhe da peça de mão colocada no braço articulado



Ilustração 16 - Reservatório de soro para refrigeração do campo operatório



Ilustração 17 - Proteção ocular de elemento da equipa cirúrgica



Ilustração 18 - Proteção ocular dos animais

A refrigeração foi garantida por soro fisiológico com um débito de cerca de 60 ml/minuto. Os membros da equipa presentes na sala de cirurgia usaram proteção ocular adequada ao comprimento de onda do laser Er:YAG (marca LaserVision®) e aos animais foram-lhes colocadas fitas adesivas opacas para manter as pálpebras fechadas e proteger o globo ocular de eventual radiação refletida.



Ilustração 19 - Ligação para interruptor de porta (parte posterior do aparelho)

Ilustração 20 - Simbologia de alerta de uso de *Laser*

Ilustração 21 - Botão de ativação

Ilustração 22 - Chave de segurança

A porta da sala de cirurgia era trancada manualmente todas as vezes que o *Laser* entrava em funcionamento, para evitar a entrada de pessoal sem proteção ocular. Foi ainda colocado na porta o aviso (Modelo Europeu) de utilização de *Laser*.

O aparelho possui um mecanismo interruptor para ligação a um trinco elétrico de porta, que não foi utilizado uma vez que o trinco da porta da sala cirúrgica não estava preparado para esta possibilidade. Este é o método mais seguro uma vez que não depende da ação humana.

A luz do feixe guia apresenta uma potência que não excede os 0,1 W e, por isso, não exige o uso de proteção para este comprimento de onda.

O diâmetro do feixe cirúrgico é igual ao diâmetro do feixe guia na superfície do tecido alvo, sendo mais simples a execução do defeito. Para manter constante a distância, entre a janela de emissão e o tecido alvo, foi colocada uma abraçadeira plástica junto à janela com o comprimento igual à distância focal do aparelho (10 mm). Assim, conseguiu-se uniformizar a distância e manter constante a densidade de energia aplicada sobre o tecido ósseo.

No ecrã tátil definimos os seguintes parâmetros:

PARÂMETRO	DEFINIÇÃO
Energia	300 mJ
Frequência	20 Hz
Potência	6 W
Fluência	11,79 J/cm ²
Modo	Pulso Super Curto - Super Short Pulse (SSP) – 50 μ s
Água	Fluxo 9 (Máximo)
Ar	Fluxo 2 (Médio)

Tabela 11 - Características definidas no Laser Fotona® HT Fidelis no âmbito do estudo experimental



Ilustração 23 - Tubos do sistema de refrigeração da peça de mão do Laser (A- Ar; W - Água)

Ilustração 24 - Peça de mão sem contacto R02-C

Ilustração 25 - Ecrã com as definições usadas na cirurgia

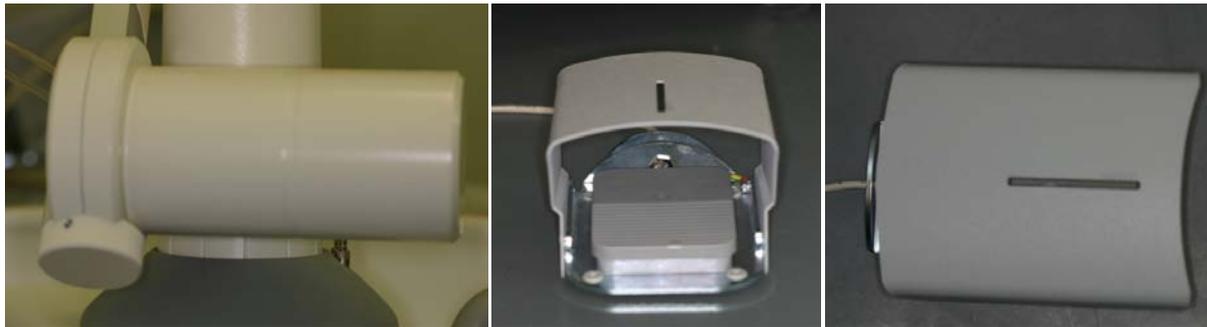


Ilustração 26 - Contrapeso do braço articulado do Laser

Ilustração 27 - Pedal de ativação com proteção (vista frontal)

Ilustração 28 - Pedal de ativação com proteção (vista superior)

7.3.2 O APARELHO PIEZOCIRÚRGICO

O aparelho de piezocirurgia usado no estudo era da marca NSK®, modelo VarioSurg, com peça de mão equipada com luz led para melhor visualização do campo operatório. O aparelho foi usado num programa de cirurgia, com 100% de potência e a peça de mão alimentada com soro fisiológico estéril. O fluxo de soro fisiológico B Braun® - Solução de cloreto de sódio 0,9% manteve-se constante e era de cerca de 60 ml/minuto.

O VarioSurg funciona num intervalo de frequências entre 28 e 32 KHz e pode variar o fluxo de irrigação entre 9 e 90 ml /minuto.

A peça de corte usada foi a Modelo nº SG7L, que é uma ponta esférica adiamantada com 1,8 mm de diâmetro. A ponta utilizada era nova e foi especificamente adquirida para o efeito.



Ilustração 29 - Ponta cirúrgica adiamantada - Modelo nº SG7D (Vista lateral e vista frontal)

Ilustração 30 - Painel de comando do aparelho piezocirúrgico

7.3.3 O MOTOR DE CIRURGIA

O motor de cirurgia usado era da marca WH[®], modelo Implantmed com contra ângulo cirúrgico da marca WH[®], modelo WS 56E, 1:1 com irrigação externa. No contra-ângulo, foi montada uma broca de cirurgia esférica de tungstênio, da marca Komet[®], com 1,8 mm de diâmetro (referência H141A.205.018). Foram usadas um total de 4 brocas novas, tendo, cada uma delas, efetuado 12 defeitos.

A velocidade de rotação foi fixada em 1500 rpm e o fluxo selecionado foi o máximo permitido pelo equipamento, que ronda os 60 ml/ minuto. Como irrigante foi usado soro fisiológico B Braun[®] - Solução de cloreto de sódio 0,9%.



Ilustração 31 - Painel de comando do motor cirúrgico W&H[®] Implantmed

Ilustração 32 - Broca esférica Komet[®] H141A 018

Ilustração 33 - Micromotor e contra-ângulo W&H[®] com broca esférica e irrigação externa

7.3.4 O INSTRUMENTAL CIRÚRGICO E OUTRO

O instrumental cirúrgico utilizado foi previamente lavado, desinfetado em cuba ultrassónica, embalado em sacos individuais e esterilizado em autoclave a 134º Celsius.

Instrumental cirúrgico:

- Afastadores flexíveis
- Descoladores Williger e Molt
- Cabo de bisturi universal
- Sonda periodontal
- Tesoura Iris reta
- Porta-agulhas
- Brocas esféricas cirúrgicas (Komet® H141A.205.018)
- Ponta de piezocirúrgica NSK® SG7D

Material descartável:

- Agulhas dérmicas 25G
- Batas esterilizadas
- Compressas em não tecido, esterilizadas
- Fio de sutura Safil Quick® 4/0
- Gorros e toucas esterilizados
- Lâminas de bisturi AESCULAP® nº 15
- Luvas sem pó esterilizadas
- Máscaras cirúrgicas esterilizadas
- Seringas tipo Luer de 5 ml esterilizadas

Outro material:

- Paquímetro digital Fischer Darex®
- Solução dérmica de digluconato de clorohexidina a 0,2% - Diaseptyl®
- Máquina elétrica para tricotomia
- Soro fisiológico estéril B. Braun®

7.4 O PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O objetivo do procedimento cirúrgico era a execução de um defeito com 1,8 mm (um vírgula oito milímetros) de diâmetro na cortical óssea em cada uma das tíbias dos animais. Descrevemos de seguida todos os passos executados:

7.4.1 PESAGEM INICIAL

Todos os animais foram pesados à chegada, antes de serem submetidos à intervenção cirúrgica, e o seu peso foi registado em tabela criada para o efeito. O peso dos animais, no dia da sua cirurgia, variava entre 300 e 387 g, com um peso médio de 340,77 g.

Rato	Peso										
1	323	11	357	21	364	31	340	41	387	51	332
2	309	12	326	22	322	32	338	42	386	52	336
3	305	13	355	23	331	33	337	43	366	53	346
4	300	14	307	24	356	34	349	44	345	54	359
5	335	15	359	25	335	35	346	45	338	55	378
6	332	16	327	26	348	36	322	46	350	56	336
7	337	17	313	27	340	37	327	47	355	57	316
8	354	18	335	28	348	38	370	48	353	58	354
9	318	19	329	29	342	39	334	49	317	59	331
10	347	20	358	30	351	40	386	50	310	60	339

Tabela 12 - Pesos iniciais dos animais após atribuição aleatória da numeração

7.4.2 ANESTESIA

Os animais foram anestesiados da seguinte forma:

Injeção intraperitoneal de Medetomidina (Domitor®, Laboratórios Pfizer, AIM 50855P) e Cetamina (Imalgene 1000® - Merial Portuguesa) na dose de 75mg/Kg e de 1 mg/Kg, respetivamente.

Antes de ser ministrada a anestesia, a região abdominal era pulverizada quatro vezes com uma solução antisséptica de digluconato de clorhexidina a 0,2% (Ducray®), apropriada para antissepsia dérmica, e depois desta atuar durante um minuto, era administrada a anestesia.

7.4.3 PROTOCOLO PRÉ-CIRÚRGICO

Foi efetuada a tricotomia na face antero-medial das duas pernas com máquina elétrica apropriada para o efeito, numa mesa, localizada na sala de cirurgia, independente da mesa operatória. Antes de transferir o animal para a mesa cirúrgica, os locais da tricotomia eram limpos com uma compressa de gaze em não tecido abundantemente embebida em solução antisséptica dérmica de digluconato de clorhexidina a 0,2% (Diasseptyl®, Ducray) para remover quaisquer resíduos de pilosidades e fazer a antissépsia dos membros inferiores e região abdominal do animal através da sua pulverização com a mesma solução.



Ilustração 34 - Aspeto da tricotomia - Perna direita

Ilustração 35 - Solução antisséptica

Ilustração 36 - Aspeto da tricotomia - Perna esquerda

Os animais foram colocados sobre compressas esterilizadas que se dispunham sobre uma grelha esterilizada que, por sua vez estava montada sobre uma tina esterilizada, de forma a evitar acumulação de água sob o corpo do animal. As compressas esterilizadas sob o corpo do animal tinham como objetivo principal o isolamento térmico do animal, uma vez que protegiam o seu corpo do contacto direto com o inox.

A zona onde se iria realizar a incisão foi desinfetada novamente, com compressas de gaze não tecido esterilizadas, embebidas em solução antisséptica dérmica de digluconato de clorhexidina a 0,2% (Diasseptyl®, Ducray). A aplicação da solução iniciava-se no local da incisão e continuava com movimentos circulares centrífugos de diâmetro crescente.

Os animais foram protegidos com um campo operatório transparente com duas janelas circulares (uma para cada membro) evitando, assim, a difusão do soro de refrigeração pela superfície corporal e conseqüente hipotermia do animal. O campo operatório transparente permitia o controlo visual do animal, nomeadamente quanto à sua frequência respiratória e bem-estar geral. Para que as vias aéreas se encontrassem perfeitamente permeáveis, a língua era cuidadosamente tracionada para a região extra-oral lateralmente aos incisivos.



Ilustração 37 - Língua tracionada lateralmente aos incisivos

Ilustração 38 – Aspeto mais detalhado da tricotomia

Os animais foram colocados e mantidos em decúbito dorsal com rotação externa da articulação coxofemoral, estabilização da articulação do joelho pelo cirurgião e da tibiotársica pelo ajudante. A preocupação de não exercer pressão sobre o animal era constante, nomeadamente quanto à região torácica e vasos sanguíneos principais, mantendo-se o animal confortavelmente estabilizado. A área cirúrgica era iluminada por um candeeiro apropriado para o efeito.



Ilustração 39 - Vistas da mesa cirúrgica e luminária operatória

A sala encontrava-se a uma temperatura constante de 24º Celsius, sendo monitorizada, constantemente, com termómetro digital. A humidade era mantida entre os 45 e os 60% e controlada com higrómetro digital.

7.4.4 PROTOCOLO CIRÚRGICO

Procedeu-se à medição, com paquímetro digital, do comprimento da tíbia, desde a linha articular do joelho até ao maléolo medial, e ao cálculo do terço proximal da tíbia para proceder à incisão, confirmada com uma sonda milimetrada de 2 em 2 mm.

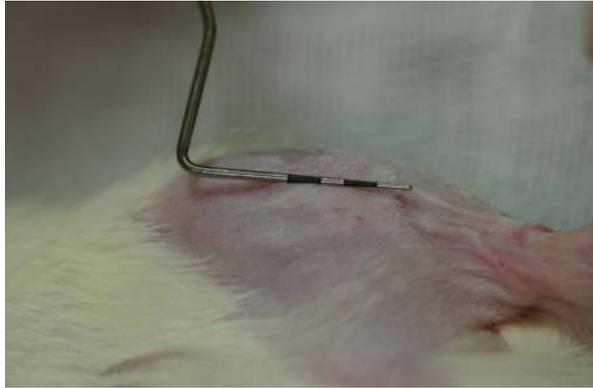


Ilustração 40 - Confirmação de localização da incisão



Ilustração 41 - Paquímetro digital Fischer Darex®

Procedeu-se, novamente, à assepsia do campo operatório e da região a ser incisada com a solução de desinfeção dérmica de digluconato de clorhexidina a 0,2% (Diasseptyl®, Ducray).

Foi efetuada uma incisão no terço proximal com lâmina de bisturi n.º15 (AESCULAP®) montada em cabo de bisturi universal. A incisão foi realizada na linha mediana da face antero-medial da tíbia, sem atingir a cápsula articular do joelho, e tinha 15 mm de extensão. (Ver Ilustração 42)

Esta abordagem foi feita em três tempos:

- Primeiro a incisão da pele;
- Em segundo lugar a incisão do plano muscular e perióstio;
- Por último foram rebatidos o plano cutâneo e o muscular, e procedeu-se ao descolamento cuidadoso do perióstio na zona a intervir e expôs-se o osso, sempre com extremo cuidado, para evitar lesão do perióstio.



Ilustração 42 - Aspeto do primeiro tempo de incisão dérmica – 15 mm

Ilustração 43 - Incisão do plano muscular e periosteio

Ilustração 44 - Aspeto da incisão finalizada

De seguida, efetuou-se o defeito com o método indicado pelo segundo assistente, que seguiu rigorosamente o que se encontrava definido na tabela aleatória de produção dos defeitos (Ver Tabela 7). O cirurgião e o cirurgião ajudante desconheciam, até à exposição completa do osso, qual seria o método que iriam usar para realizar o defeito.

Os instrumentos usados (broca a baixa rotação, ponta piezocirúrgica ou feixe do *Laser* Er:YAG) foram colocados a 90º em relação à cortical óssea e o defeito produzido num tempo único, parando no momento em que se atingisse o canal medular. Esse momento era comprovado visualmente através do sangramento e, logo de seguida, com uma sonda periodontal, eram verificadas a profundidade (2 mm) e o diâmetro (1,8 mm). Durante a osteotomia, a irrigação usada foi de 60 ml/ minuto e foi usada solução salina de cloreto de sódio a 0,9% estéril (B Braun®) à temperatura ambiente. Regulou-se o volume de irrigação de cada um dos aparelhos pelo valor mínimo do fluxo máximo de cada um dos 3 aparelhos. O valor determinado foi de 60 ml/minuto, tendo-se regulado todos os aparelhos, aproximadamente, para esta quantidade.



Ilustração 45 - Execução do defeito com ponta piezocirúrgica e irrigação. Observar o *spray* gerado.



Ilustração 46 – Aspeto final da execução do defeito com ponta piezocirúrgica.



Ilustração 47 - Execução da osteotomia com broca



Ilustração 48 - Aspeto final do defeito realizado com broca



Ilustração 49 - Osteotomia com *Laser Er:YAG* (observar o dispositivo posicionador adaptado e feixe guia)



Ilustração 50 – Soro fisiológico estéril B Braun (1000 ml)

No final da execução do defeito foi efetuada irrigação da região com uma seringa estéril contendo 5 ml solução salina de cloreto de sódio a 0,9% estéril (B Braun®) e foi verificado se estariam reunidas todas as condições para proceder ao encerramento da ferida operatória, nomeadamente quanto à presença de partículas ou esquirolas de osso, que pudessem interferir na regeneração do defeito produzido.

Os tempos necessários à execução da incisão e descolamento, do defeito óssea e também da sutura foram controlados e registados individualmente, pelo segundo assistente, em tabela elaborada para o efeito. (Ver anexos.)

O encerramento da ferida operatória foi promovido com fio sintético reabsorvível (ácido poliglicólico, entrançado, revestido, de cor violeta, calibre USP 4/0, métrico 1,5, agulha lanceolada invertida 3/8 de 12 mm – Safil Quick® - B Braun® - AESCULAP®) (Ver Ilustração 55), tendo sido efetuados dois pontos simples no plano muscular e perióstio (Ver Ilustração 51 e Ilustração 52) e três pontos simples no plano cutâneo. (Ver Ilustração 53 e Ilustração 54) A enodação do fio foi efetuada com nós planos constituídos por duas voltas, uma contravolta e outra volta. No final fez-se novamente a assepsia da região com solução de desinfecção dérmica de digluconato de clorohexidina a 0,2% (Diasseptyl®, Ducray), pulverizando as feridas operatórias duas vezes.

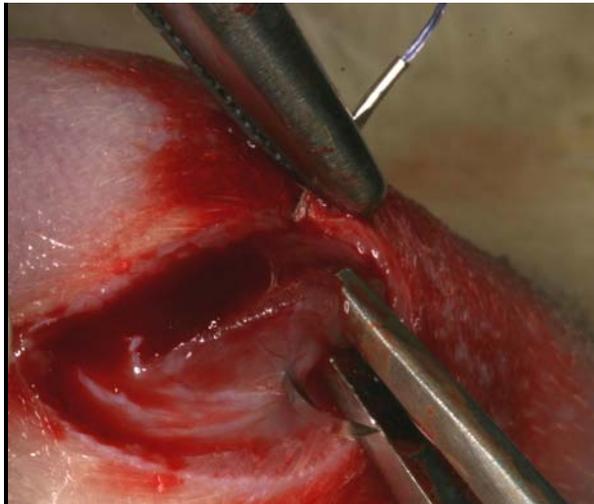


Ilustração 51 – Sutura do plano muscular (passagem da agulha).



Ilustração 52 - Sutura do plano muscular (corte do fio).



Ilustração 53 - Aspeto da técnica de sutura cutânea



Ilustração 54 - Sutura finalizada nas duas pernas

Ilustração 55 - Fio de sutura Safil® (BBraun®)

Na tíbia contralateral foi repetido o mesmo procedimento, havendo sempre o cuidado de os membros da equipa cirúrgica apenas saberem do método pelo qual iriam realizar a osteotomia, quando o osso estava já exposto.

7.4.5 RECUPERAÇÃO DA ANESTESIA

Logo após a intervenção estar concluída, o animal era cuidadosamente limpo com compressas de gaze para o secar. De seguida era colocado numa gaiola, coberto com papel suave, sob uma lâmpada de infravermelhos Philips® Infraphil, (Ver Ilustração 56 e Ilustração 57) numa sala com temperatura adequada, silenciosa, confortável e limpa. Administrou-se atipamizole (Antisedan®) com o objetivo de se reverter a anestesia, diminuindo o tempo de anestesia geral do animal.

O pós-operatório constitui uma fase muito importante, tendo-se otimizado o conforto e o bem-estar dos animais tendo em vista a redução de sofrimento e da possibilidade de interferência das respostas do foro metabólico no processo de recuperação.

Durante este período os animais estavam individualmente vigiados por uma técnica do Biotério, até à sua recuperação total.

Após a recuperação anestésica os animais foram transferidos para as respetivas gaiolas *standard*, aos pares, conforme a situação anterior à cirurgia, respeitando a distribuição prevista na Tabela 8.



Ilustração 56 - Animal logo após a cirurgia

Ilustração 57 - Gaiola com lâmpada de Infravermelhos

7.5 O PÓS-OPERATÓRIO

7.5.1 MEDICAÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

Após a recuperação total do animal, foram administrados, *per os*, 12,5 mg de tramadol (Tramal®, gotas orais 100 mg/ml - Grunenthal). As doses seguintes, de periodicidade bidiária, também foram de 12,5 mg, *per os*, durante as primeiras 48 horas após a cirurgia.

7.5.2 ACOMPANHAMENTO DOS ANIMAIS

O tratador acompanhou diariamente todos os animais, não tendo registado qualquer situação anómala quer no comportamento quer na alimentação.

Foram disponibilizados ração e água *ad libitum* colocadas em zonas de fácil acesso, uma vez que os animais foram intervencionados nas duas patas traseiras.

Os animais recuperaram da cirurgia dentro do tempo que era esperado e sem alterações clínicas ou reações adversas. A evolução do peso esteve dentro dos padrões da espécie.

7.6 O SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Os animais foram sacrificados separadamente com 5 tempos de vida distintos, conforme os períodos de estudo.

A eutanásia dos animais decorreu após prévia anestesia com Injeção intraperitoneal (Ver Ilustração 58) de Medetomidina (Domitor[®], Laboratórios Pfizer, AIM 50855P) e Cetamina (Imalgene 1000[®] - Merial Portuguesa) na dose de 75mg/Kg e de 1 mg/Kg, respetivamente. Após confirmação do estado anestésico do animal através da preensão de uma das patas traseiras, (Ver Ilustração 59) procedeu-se à administração de pentobarbital (Eutasil[®]) por via intraperitoneal em dose letal (100mg/Kg). O pentobarbital produz uma depressão profunda dos centros respiratórios e a sobredosagem leva à paragem respiratória e cardíaca de forma muito rápida.

Nas primeiras 24 tíbias recolhidas e num local distanciada, pelo menos 3 mm, do primeiro defeito, para evitar interferência entre eles, nomeadamente por possíveis efeitos térmicos colaterais, foram efetuados, aleatoriamente, os defeitos ósseos relativos ao tempo 0 (zero) no dia da eutanásia, logo após a recolha da tibia. Os cadáveres, após armazenamento imediato em arca frigorífica, foram, posteriormente, incinerados, conforme as recomendações legais em vigor.



Ilustração 58 - Injeção intraperitoneal

Ilustração 59 - Teste para averiguar o estado anestésico do animal



Ilustração 60 - Aspeto da cicatrização da ferida operatória (7 dias)

Ilustração 61 - Aspeto da cicatrização da ferida operatória (7 dias): Ampliação (na horizontal) da perna direita

7.6.1 COLHEITA DO MATERIAL

A colheita do material foi efetuada após a disseção rigorosa das duas tíbias. Para dissecar foi efetuada uma incisão perpendicular ao longo eixo da tíbia, com uma lâmina nº 15 montada num cabo universal, proximalmente à articulação tibiotársica, para seccionar e libertar todas as inserções musculares a este nível. (Ver Ilustração 62) Com uma tesoura reta, seccionou-se a pele e os músculos da face anterolateral da tíbia seguindo o seu longo eixo até à articulação do joelho. (Ver Ilustração 63) Possibilitou-se, assim, a separação de todos os músculos da perna em relação à tíbia e à fíbula. De seguida, seccionou-se a cápsula articular do joelho e todas as origens dos músculos da perna. Finalmente desarticulou-se a tíbia na articulação com o fémur, tarso e fíbula. Para mais facilmente distinguir a tíbia direita fez-se um corte transversal incompleto na parte mais distal do osso.



Ilustração 62 - Secção transversal dos tecidos moles na parte distal da perna



Ilustração 63 - Secção longitudinal dos tecidos moles ao longo da perna



Ilustração 64 - Desarticulação da tíbia na articulação do joelho



Ilustração 65 - Tibia após colheita (com pata e fíbula)



Ilustração 66 - Tibia dissecada (visão anterior)



Ilustração 67 - Tibia dissecada (visão posterior)

Todas as tíbias foram colocadas imersas, aos pares (por animal), em frascos de colheita esterilizados contendo formaldeído solução 10% neutralizado, estabilizado com metanol PRS (Panreac Química S. A. U.). (Ver Ilustração 68) Os frascos foram devidamente identificado com caneta de acetato, contendo os seguintes dados: Número do animal, iniciais do investigador, ano civil, método utilizado para realização da osteotomia e tempo de maturação do defeito. (Ver Ilustração 69)

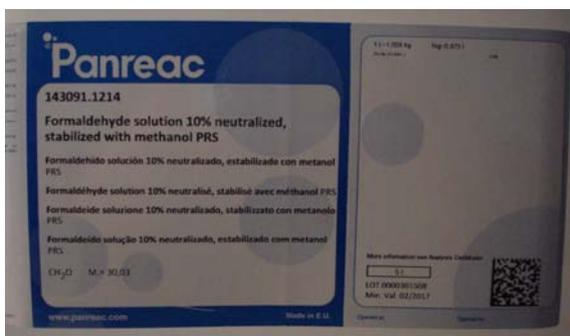


Ilustração 68 - Etiqueta identificativa do formaldeído 10%

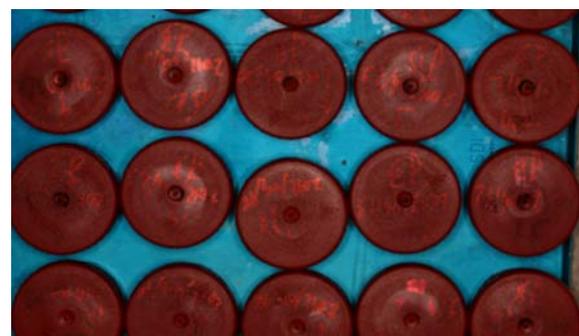


Ilustração 69 - Frascos de colheita identificados

7.7 O PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

7.7.1 TÉCNICA DESCALCIFICADA

7.7.1.1 EQUIPAMENTO USADO

- Unidade de desidratação e infiltração Sistema EXACT® JKIKA HS501 Digital
 - EXAKT - Alemanha
- Placa de Frio TES 99410
 - Medite GmbH - Alemanha;
- Placa de Aquecimento OTS 403040
 - Medite GmbH - Alemanha
- Estufa Raypa®
 - Raypa - Espanha
- Incubadora Gallenkamp – Economy Incubator with fan, size 1
 - Garal - Portugal
- Hatt Super Chemo Workstation
 - Pbinternacional - Itália
- Banho-maria
 - FALC - Itália
- Micrótomo Leica RM 2155
 - Leica - Portugal
- Dispensador de Parafina TES 99200
 - Medite GmbH - Alemanha
- Caixas para arquivo de lâminas
 - Kartell, Spa - Itália.
- Microscópio ótico

7.7.1.2 CONSUMÍVEIS USADOS

- Formaldeído solução 10% neutralizado, estabilizado com metanol PRS
 - Panreac Química S. A. U. - Espanha
- Etanol absoluto
 - AGA - Portugal
- Xileno -mistura de isómeros (70% meta-xileno, 20% etilbenzeno e 10% de orto e para-xileno)
 - Panreac Química S. A. U. - Espanha
- **Meio para montagem:** DPX (Distyrene, Plasticizer and Xylene)
 - Fluka Analytical - Alemanha
- **Parafina:** Paraplast® Regular
 - Sigma Aldrich Co. LLC - Estados Unidos da América
- Lâminas de vidro para microscópio (26x76 mm), com canto fosco e bordos a 90°
 - Menzel-Glaser, Gerhard Menzel GmbH - Alemanha
- Lamelas (Ø 22mm)
 - Menzel-Glaser, Gerhard Menzel GmbH - Alemanha
- Lâminas de microtomia S35
 - FEATHER Safety Razor Co., Ltd. - Japão
- Cassetes histológicas para inclusão
 - Kartell Spa Labware Division - Itália
- Ácido Fórmico 98 -100%
 - Merck KGaA - Alemanha
- Citrato de Sódio – Tiosulfato de sódio 5-hidrato PA-ACS
 - Panreac Química S. A. U. - Espanha
- Solução de Anna Morse: (Solução de partes iguais (50% + 50%) de Ácido Fórmico a 50% + Citrato de Sódio a 20%)
- Éter Etílico
 - José M. Vaz Pereira, S.A. - Portugal
- Acetona
 - J. T. Baker - Holanda
- Cola gelatinada
- Hematoxilina Monoidratada
 - Merck KGaA - Alemanha
- Eosina B para microscopia
 - Sigma Aldrich Co. LLC - Estados Unidos da América

7.7.1.3 METODOLOGIA

7.7.1.3.1 FIXAÇÃO

As amostras foram fixadas logo após a colheita em formaldeído solução a 10% neutralizado, estabilizado com metanol PRS (Panreac Química S. A. U. - Espanha), durante um período de 72 horas.

7.7.1.3.2 LAVAGEM

A lavagem das amostras, após a sua remoção do recipiente contendo a solução de formaldeído, foi feita com água corrente, durante 15 minutos.

7.7.1.3.3 DESCALCIFICAÇÃO

A descalcificação teve a duração de 3 (três) dias e foi efetuada dentro de uma cassette identificada, inserida em recipientes contendo solução de Anna Morse, segundo o seguinte protocolo:

- Agitação mecânica contínua:
 - 72 ciclos por minuto.
- Diariamente verificava-se a descalcificação espetando um alfinete na tibia.



Ilustração 70 - Unidade de desidratação e infiltração contendo as amostras (vista frontal)

Ilustração 71 - Painel de comando com indicação de nº de ciclos de agitação por minuto



Ilustração 72 - Unidade de desidratação e infiltração contendo amostras (vista superior)

Ilustração 73 - Cassetes identificadas dentro dos recipientes com solução de Morse

7.7.1.3.4 LAVAGEM

Esta etapa tem como finalidade a remoção total dos agentes utilizados no processo de descalcificação e foi feita em água corrente por um período de 2 (duas) horas.

7.7.1.3.5 DESIDRATAÇÃO

O tempo de desidratação foi de 1 (um) dia por cada passo. As tíbias foram submetidas a séries ascendentes de concentração de álcool.

Protocolo de desidratação:

Passo (dias)	1º	2º	3º	4º	5º
Concentração de álcool	60%	80%	90%	96%	100%

Tabela 13 - Protocolo de desidratação

7.7.1.3.6 DIAFANIZAÇÃO

Foi efetuada uma diafanização com a utilização de xileno a 100% e agitação mecânica contínua por um período de 6 horas. A finalidade é tornar as amostras mais aptas a receber o produto final para a impregnação e inclusão.

7.7.1.3.7 IMPREGNAÇÃO

As tíbias foram impregnadas durante 48 h (quarenta e oito horas) de maneira a permitir a obtenção de cortes finos.

A impregnação foi feita com a parafina em estado líquido. Colocou-se a parafina numa estufa a uma temperatura variável entre os 56°C e os 58°C (temperatura ideal), por um

período de 48 h (quarenta e oito horas). Mantivemos dois recipientes com parafina líquida, para que as amostras transitassem de um recipiente para o outro, após metade do tempo programado.



Ilustração 74 - Estufa (vista frontal)

Ilustração 75 - Estufa: Painel de controlo

7.7.1.3.8 INCLUSÃO

O procedimento de inclusão foi o seguinte:

1º Passo - Aquecimento da parafina até à sua fusão (56 a 58°C);

2º Passo - Inserção de um pouco de parafina líquida para preenchimento do fundo da forma metálica comercial;

3º Passo - Inserção da tibia, com o auxílio de uma pinça, no fundo da forma, orientando o seu longo eixo paralelamente aos bordos da mesma;

4º Passo – Preenchimento da totalidade da forma com parafina líquida;

5º Passo – Colocação da amostra na placa de frio

6º Passo – Colocação da amostra no frigorífico;

7º Passo – Tempo de espera para solidificação da parafina;

8º Passo - Extração da barra do molde e obtenção do bloco com a amostra.

9º Passo - Com o auxílio de um bisturi procedeu-se aos retoques finais do bloco de parafina.



Ilustração 76 - Parafina na estufa

Ilustração 77 - Tibia incluída no bloco de parafina

7.7.1.3.9 MICROTOMIA

A obtenção dos cortes foi feita no micrótomo, para observação das amostras no microscópio ótico. O micrótomo foi regulado para obtermos cortes finos (cerca de 6 μm).

O micrótomo é constituído por uma manivela que possibilita o avanço ou o recuo do braço que suporta a cassete com a amostra, verificando-se movimentos verticais e avanços constantes, obrigando a amostra a passar por uma lâmina de aço que executa os cortes. Originaram-se assim uma sequência de cortes (ténia) que foram, depois, observados no microscópio ótico.



Ilustração 78 - Micrótomo – Leica RM 2155, Leica - Portugal

Ilustração 79 – Execução dos cortes no bloco de parafina no micrótomo

Protocolo de Microtomia:

Desbastou-se o bloco de parafina contendo a tibia, de 6 em 6 μm , até se verificar o aparecimento desta à superfície. Para nos certificarmos da correta orientação do corte face ao defeito (perpendicular), era feito um exame microscópico prévio e uma coloração HE rápida e nova observação microscópica. Em função da orientação, corrigia-se a inclinação da amostra para obter a perpendicularidade no corte. A partir da obtenção dessa perpendicularidade, fizeram-se cortes consecutivos (5 a 10 cortes, com sequência da ténia) que foram dispostas num tabuleiro contendo uma solução de álcool a 30%. Repetiu-se este passo até atingirmos a profundidade total do defeito, ficando assim dispostas diversas sequências de várias ténias no tabuleiro com uma espessura de aproximadamente 6 μm .

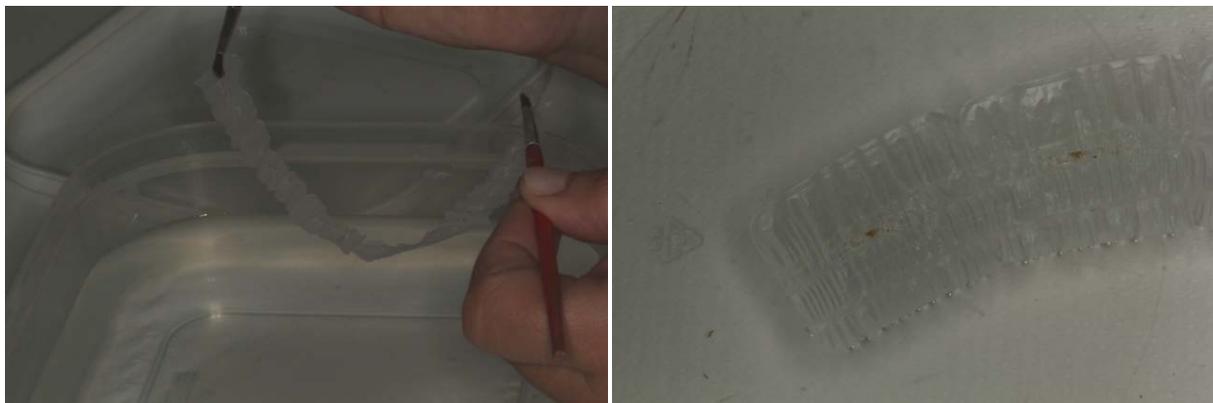


Ilustração 80 - Sequência de cortes obtidos no micrótomo ("ténia")

Ilustração 81 - Sequência de cortes ("ténia") em álcool a 30%

Sem perder a orientação das mesmas fomos separando as amostras uma a uma, colocando-as em banho-maria, segundo a orientação.



Ilustração 82 - Banho-maria (FALC® - Itália)

Ilustração 83 - Banho-maria (FALC® - Itália). Detalhe do painel de comando

De seguida passamos a amostra para as lâminas e repetiu-se o processo até à recolha final da última amostra referente ao último corte.



Ilustração 84 – Cortes histológicos em banho-maria

Ilustração 85 - Colocação dos cortes histológicos nas lâminas, a partir do banho-maria

Ilustração 86 - Processo de colocação, dos cortes histológicos na lâmina, finalizado

Os cortes selecionados correspondiam a zonas da superfície externa do defeito (osso cortical), obtendo-se diversas lâminas por cada defeito.

As lâminas foram colocadas na placa aquecimento (OTS 403040) com a finalidade de permitir uma boa adesão das amostras às lâminas (previamente embebidas em cola).



Ilustração 87 - Placa aquecimento (OTS 403040)

Ilustração 88 – Pormenor do painel de controlo da placa de aquecimento, com indicação da temperatura

Ilustração 89 – Pormenor das lâminas sobre a placa de aquecimento

Seguidamente foram colocadas em estufa a 40°C, por um período mínimo de 24 h (vinte e quatro horas) até se proceder à sua coloração.



Ilustração 90 - Lâminas na estufa

Ilustração 91 - Lâmina preparada para coloração

7.7.1.3.10 ELABORAÇÃO DA COLA GELATINADA PARA AS LÂMINAS

Dissolução a 60° C de 3 g de gelatina em 1000 ml de água destilada;

Adicionou-se: 0,5 g de Alúmen de Crómio; Timol/Cristais;

Agitou-se até dissolver;

Filtração a quente.

7.7.1.3.11 TRATAMENTO DAS LÂMINAS

1º Passo - Colocação das lâminas nos suportes metálicos;

2º Passo - Imersão das lâminas em éter/etanol (50/50) durante 10 minutos;

3º Passo - Passagem por água destilada 2 vezes consecutivas;

4º Passo - Passagem por etanol a 95°;

5º Passo - Secagem na estufa;

6º Passo - Imersão na cola já filtrada;

7º Passo – Remoção de excessos de cola;

8º Passo - Secagem na estufa.

7.7.1.3.12 COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA – EOSINA (H+E)

7.7.1.3.12.1 DESPARAFINAMENTO

1º Passo - Xileno I – 10 minutos

2º Passo - Xileno II – 10 minutos

Terminado o desparafinamento.

7.7.1.3.12.2 HIDRATAÇÃO

1º Passo - Álcool I a 100% - 10 minutos

2º Passo - Álcool II a 96% - 10 minutos

3º Passo - Álcool I a 70% - 10 minutos

4º Passo - Água destilada - Passagem

5º Passo - Água corrente – 10 minutos

6º Passo - Água destilada – Passagem

7º Passo - Escorrer bem.

Terminada a hidratação.

7.7.1.3.12.3 COLORAÇÃO HEMATOXILINA-EOSINA (H+E)

1º Passo - Hematoxilina – 12,5 minutos

2º Passo - Água destilada – Passagem 2 vezes

3º Passo - Água corrente – 10 minutos

4º Passo - Água destilada – Passagem. Escorrer bem.

5º Passo - Escorrer bem.

6º Passo - Eosina – 2,5 minutos

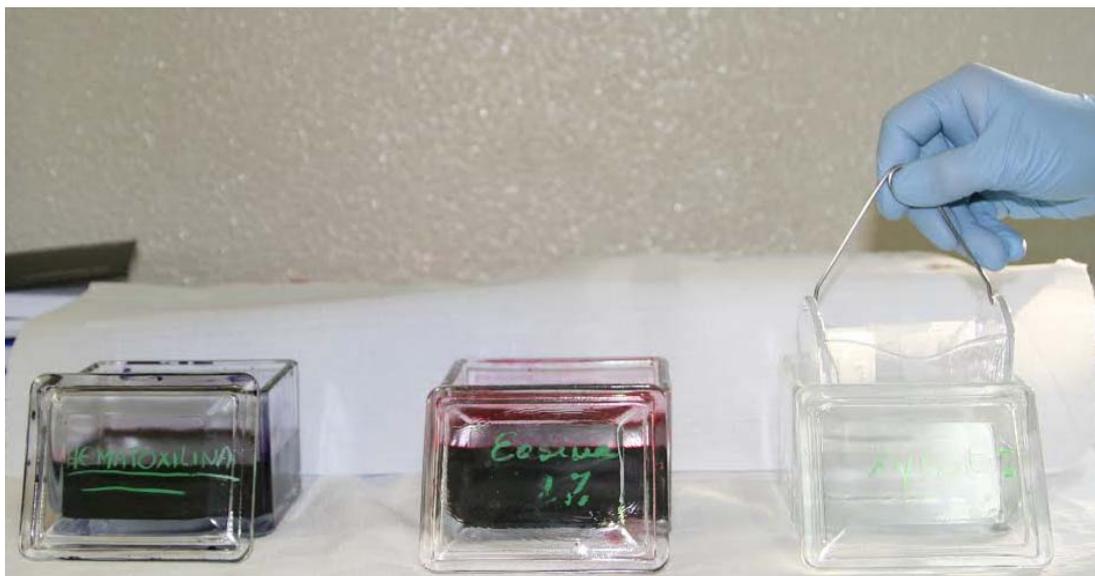


Ilustração 92 - Recipiente contendo hematoxilina, eosina e água destilada

7.7.1.3.12.4 DESIDRATAÇÃO

1º Passo - Álcool a 96% - Esguicho

2º Passo - Álcool II a 96% - Imersão por segundos

3º Passo - Álcool I a 96% - Imersão

4º Passo - Álcool II a 100% - 1 minuto e escorrer

5º Passo - Álcool I a 100% - 2 minutos e escorrer

6º Passo - Xileno II – 5 minutos

7º Passo - Xileno limpo – 10 a 15 minutos



Ilustração 93 - Recipiente contendo álcool II a 100%

Ilustração 94 - Recipiente contendo álcool a 96%

Colocámos imediatamente no meio de montagem (DPX®, FLUKA), procedimento após o qual foi introduzida na estufa a 40°C por um período de 24 horas. Depois deste período de tempo, retiraram-se os resíduos resultantes do processo de coloração com hipoclorito de sódio a 5%, ficando prontas para observação ao microscópio.

Durante todo o processo de tratamento amostras foi assegurada a correta identificação de cada uma, nomeadamente o número do animal, o lado ao qual pertencia a amostra (D - Direita e E - Esquerda), tipo de defeito (L – Laser, B – Broca e P – Piezocirúrgico), tempo de vida do animal após a realização de cada um dos defeitos, identificação do nº do corte e também do investigador responsável e o ano civil.

7.8 MICROSCOPIA ÓTICA

7.8.1 ANÁLISE HISTOLÓGICA QUALITATIVA

De cada amostra obtiveram-se oito cortes, que foram observados em microscópio ótico de campo claro (Nikon® Eclipse E600 - Nikon Corporation - Japão), com ampliações de 20x, 40x, 100x, 200x e 400x, correspondendo a objetivas de 2x, 4x, 10x, 20x e 40x e uma ocular dupla com ampliação de 10x.



Ilustração 95 - Microscópio ótico Nikon®

Ilustração 96 - Máquina fotográfica Nikon® adaptada ao microscópio

Procedeu-se à aquisição das imagens, de diversos cortes de cada amostra, em cada uma das ampliações referidas, através de câmara digital (Nikon® DXM 1200C - Nikon Corporation – Japão) adaptada ao microscópio ótico.

Na análise histológica realizada através do estudo descritivo dos cortes histológicos, levou-se em consideração a presença ou ausência dos seguintes critérios morfológicos: (228, 243)

No centro do defeito:

- Presença de células sanguíneas;
- Presença e extensão do infiltrado de células inflamatórias;
- Presença de áreas de reabsorção e necrose óssea;
- Osso neoformado substituindo a região cortical ablada;
- Tecido ósseo cortical delimitado.

Nas margens do defeito:

- Tecidos com morfologia alterada;
- Vitalidade celular / Necrose;
- Fragmentos ósseos;
- Reabsorção óssea;
- Regularidade da superfície de osteotomia;
- Integração do tecido ósseo neoformado no tecido adjacente.

O estudo foi cego uma vez que se codificaram as lâminas para que o examinador desconhecesse a qual grupo pertencia cada lâmina.

A calibragem do examinador foi realizada da seguinte forma:

Foram selecionadas, de forma aleatória, 36 cortes histológicos em lâminas previamente codificadas, sem identificação, na própria lâmina, do grupo a que pertenciam. A totalidade dessas lâminas foi observada pelo examinador, ao microscópio ótico e os dados da observação histológica foram registados em ficha padronizada. Uma semana após, realizou-se nova observação das mesmas lâminas e os novos dados foram também registados noutra ficha padronizada. Havendo concordância em pelo menos 90% da análise, considerava-se que o examinador estava calibrado. A cada 20 lâminas analisadas repetia-se o mesmo processo acima citado, mas apenas com uma lâmina, aleatoriamente selecionada.

No total, foram observados 1152 cortes, correspondendo a 384 cortes histológicos por cada método de osteotomia utilizado, ou seja, 64 por cada período temporal (0, 3, 7, 14, 28 e 42 dias) e oito por cada amostra.

7.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA QUANTITATIVA (HISTOMORFOMETRIA)

Equipamentos e Software utilizados:

- Estereomicroscópio binocular Nikon® SMZ 1500
 - Nikon Corporation – Japão
- Câmara fotográfica digital Optronics® S97670 NTSC
 - Optronics – Estados Unidos da América
- Processador de imagem Optronics®
 - Optronics – Estados Unidos da América
- Programa informático BIOQUANT OSTEO® 2009 - Version 9.00.XP MR
 - BIOQUANT Image Analysis Corporation – Estados Unidos da América
- Placa gráfica BIOQUANT® BQ-XI
 - BIOQUANT Image Analysis Corporation – Estados Unidos da América
- Computador DELL® Precision T3400 – Intel Core 2 Duo CPU E8400 @ 3.00GHz
 - Dell Inc. – Estados Unidos da América
- Monitor Dell® de 24” Modelo nº 2408WFPb
 - Dell Inc. – Estados Unidos da América



Ilustração 97 - Estereomicroscópio binocular Nikon®

A análise quantitativa foi efetuada sempre pelo mesmo observador após formação e treino intensivo no programa informático BIOQUANT OSTEO® 2009.

Para manter a reprodutibilidade, o examinador avaliou trinta e seis cortes histológicos, número que corresponde à seleção e visualização de duas lâminas, de forma aleatória, dentro de cada um dos 3 grupos (broca, *Laser* e piezocirurgia) e 6 tempos (0, 3, 7, 14, 28 e 42 dias), com 48 horas de intervalo. A calibração foi repetida e apenas aceite como válida quando a seleção da ROI (“Region of Interest” – Região de Interesse) e as medições da área tiveram uma concordância total.

A avaliação foi efetuada no corte mais representativo de cada defeito, referente ao terço médio da cortical da tíbia. Assim sendo, observaram-se 144 cortes histológicos [8 cortes (tíbias) x 3 métodos (broca, *Laser* e piezocirúrgico) x 6 períodos temporais (0, 3, 7, 14, 28 e 42 dias)].

Tal como a análise qualitativa, o estudo quantitativo foi cego uma vez que se codificaram novamente as lâminas para que o examinador desconhecesse a que método de osteotomia e período temporal ao qual pertenciam cada uma delas.

Os 144 cortes histológicos foram observados no estereomicroscópio binocular Nikon® SMZ 1500 com ampliação de 2,0X. As imagens foram visualizadas no monitor DELL® de 24”, através do programa informático BIOQUANT OSTEO® 2009, captadas pela câmara fotográfica digital Optronics® S97670 NTSC., e gravadas, devidamente identificadas com o código respetivo (nº do animal, tíbia direita ou esquerda, meio utilizado para efetuar o defeito, tempo de vida em dias após a cirurgia e número do corte), em formato TIFF com a resolução de 640x480 *pixels*, para que mais tarde se pudesse fazer a devida correspondência.

A área de referência do defeito era um círculo de 1,8 mm de diâmetro. No entanto, nem sempre foram conseguidos cortes histológicos absolutamente paralelos ao defeito, bastando, para isso, que a lâmina do micrótomo não estivesse rigorosamente alinhada com a sua superfície. Nesses casos, a seleção da área a medir (ROI) foi efetuada manualmente, após a seleção da opção “Irregular” na janela das ferramentas da ROI (ROI tools) e a área calculada instantaneamente pelo programa Bioquant Osteo®2009.

A definição da ROI foi efetuada em todos os defeitos duas vezes, com um intervalo de tempo de 48 horas. Quando as ROI definidas foram exatamente iguais em localização e área selecionada, foi efetuada de imediato a histomorfometria. Nos cortes em que não houve

coincidência perfeita de, pelo menos, uma das variáveis referidas, foram efetuadas mais duas medições com uma semana de intervalo, tendo-se obtido, nestes casos, a sobreposição de localização e área, em todas as situações.

No decorrer de todo o processo de histomorfometria, qualquer dúvida, quanto à delimitação da área do defeito, foi esclarecida com recurso a ampliações maiores no microscópio ótico (40 e 100x).

A análise quantitativa avaliou índices histomorfométricos para quantificação da cicatrização óssea, tendo sido efetuada com recurso aos equipamentos acima discriminados.

O programa informático BIOQUANT® distingue as diferentes afinidades cromáticas dos diferentes tecidos/células em estudo, quantificando essa informação em diversos parâmetros, nomeadamente áreas e determinação de densidades.

A análise histomorfométrica avaliou o seguinte parâmetro:

- Quantificação da percentagem de novo osso formado (NBV) em função da área total do defeito (TV)
 - $\text{Área de novo osso} / \text{área total do defeito} \times 100\%$

7.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística.

A análise estatística foi realizada por recurso à plataforma IBM® SPSS® Statistics v20 (SPSS Inc. – Estados Unidos da América), e usando um nível de significância de 95% ($p \leq 0,05$).

Realizou-se estatística univariada tendo-se verificado os pressupostos de utilização de testes paramétricos e sempre que se observou a sua violação optou-se pelo uso de testes não paramétricos, nomeadamente, de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney no caso da análise de amostra independentes e Friedman e Wilcoxon para medidas repetidas.

Também foi efetuada análise multivariada, ANOVA não paramétrica de dois fatores, para estudo do método e do tempo.

Em todos os casos foram considerados estatisticamente significativos os resultados que apresentaram um nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

8. RESULTADOS

8.1 PERÍODOS PER E PÓS-OPERATÓRIO

A realização das osteotomias decorreram sem qualquer complicação, em qualquer dos métodos, e o osso que delimitava o defeito não apresentava, antes do encerramento da ferida operatória, em nenhum dos casos, sinais de carbonização ou qualquer outra alteração macroscópica. Os tecidos moles também não sofreram qualquer tipo de traumatismo nestes períodos.

8.1.1 OBSERVAÇÃO CLÍNICA DOS ANIMAIS

Todos os animais apresentaram uma adequada recuperação anestésica e pós operatória, tendo-se mantido saudáveis ao longo de todo o período experimental. Não se verificaram quaisquer complicações relacionadas com os atos cirúrgicos executados nem com a cicatrização das feridas operatórias, que em momento algum evidenciaram sinais de infecção, tumefação, secreções (purulentas ou não) deiscência ou outro qualquer tipo de reação adversa, nomeadamente à medicação efetuada. Houve um crescimento normal do pêlo no local das feridas onde havia sido efetuada a tricotomia.

As variações de peso, dentro da normalidade, durante os vários períodos do estudo e a rápida recuperação dos comportamentos etológicos normais da espécie Wistar Han são reveladores do impacto extremamente reduzido que o protocolo experimental teve na saúde e bem-estar dos animais. Estes fatores revelam, ainda, a adequação perfeita dos cuidados de acompanhamento diário, efetuado pelos tratadores.

O peso de todos os animais no dia da eutanásia era superior ao peso no dia da cirurgia, tendo evoluído dentro dos padrões normais em todos os animais. De notar, ainda, que logo após a recuperação da anestesia todos os animais reiniciaram de imediato a alimentação e abeberamento, sendo esse um dos fatores reveladores do seu bem-estar geral.

8.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA

A observação macroscópica dos defeitos realizados nas tíbias e dos tecidos moles envolventes, aquando da realização da eutanásia dos animais, permitiu-nos reter os seguintes aspetos:

- Ausência de reação inflamatória nos tecidos circundantes;
- Ausência de alterações patológicas da morfologia dos tecidos moles;
- Ausência dos pontos de sutura dérmicos a partir dos 7 dias de cicatrização (inclusive);
- Os defeitos realizados com broca ou ponta piezocirúrgica tinham, aparentemente, um desenho circular mais preciso do que os realizados com *Laser*;
- Ausência de alterações patológicas da morfologia óssea;
- Incapacidade de distinguir o defeito ósseo, em relação ao osso normal contíguo, a partir dos 14 dias de cicatrização, em todos os grupos (inclusive);
- Reabsorção total dos pontos de sutura do plano muscular após os 14 dias de cicatrização (inclusive);
- Não se encontraram, quer nos tecidos moles quer no tecido ósseo, diferenças significativas entre os diferentes grupos.

8.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA QUALITATIVA

Os resultados da análise histológica qualitativa do processo de regeneração óssea de cada grupo são descritos tendo em consideração, em primeira linha, o método utilizado para a realização do defeito e, em segunda linha, a cronologia de eutanásia dos animais.

A seleção das imagens aqui apresentadas obedeceu a um critério aleatório, tendo em consideração as mais representativas.

8.3.1 BROCA CIRÚRGICA ESFÉRICA DE TUNGSTÊNIO (BAIXA ROTAÇÃO)

8.3.1.1 ZERO DIAS

Após a criação do defeito efetuado pelo uso da broca foi possível observar na sua periferia a presença de um bordo regular.

O defeito apresentou-se, neste momento, como um espaço vazio não se verificando a existência de fragmentos ósseos no seu interior.

O tecido ósseo adjacente ao defeito não apresentou quaisquer sinais de reações adversas.

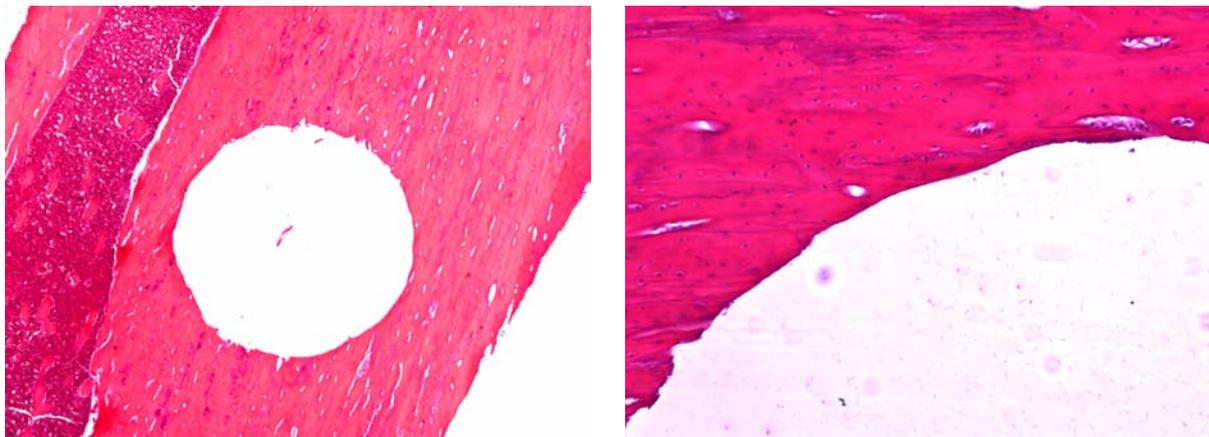


Ilustração 98 – Corte histológico realizado logo após a realização do defeito com recurso a broca (2X)

Ilustração 99 – Maior ampliação de região da ilustração anterior, permitindo observar com maior detalhe o bordo do defeito (10X)

8.3.1.2 TRÊS DIAS

Ao fim de 3 dias, verificou-se o aparecimento de grandes áreas ocupadas por tecido de granulação e por tecido conjuntivo rico em células. No entanto, a zona central do defeito encontrava-se óticamente vazia. Salienta-se, a detecção de uma certa atividade osteogénica observada, principalmente, junto às margens do defeito. Nesta fase, começa já a ser visível a presença de uma rede de finas trabéculas ósseas localizadas na periferia do defeito. A neoformação e o crescimento do tecido ósseo ocorrem de forma centrípeta, tendo como base o tecido ósseo da parede do defeito. Verificou-se, também, a existência de uma linha de demarcação entre o tecido ósseo da parede do defeito e o tecido ósseo neoformado.

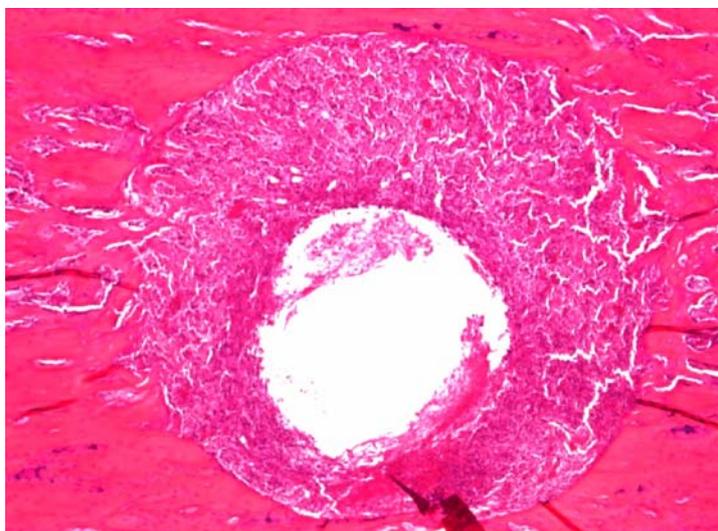


Ilustração 100 – Defeito com 3 dias de evolução, mostrando grandes áreas de tecido conjuntivo muito rico em células e a presença de finas trabéculas ósseas localizada na sua zona mais periférica (4X)

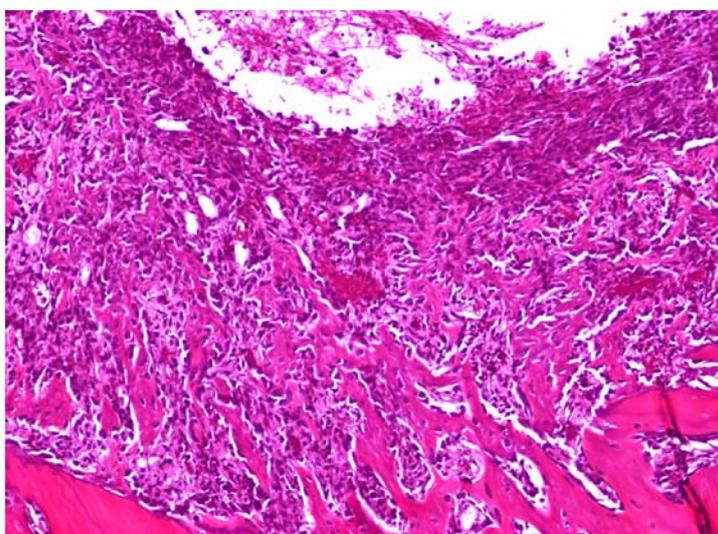


Ilustração 101 – Maior ampliação de zona da ilustração anterior. Evidencia-se a atividade osteogénica observada junto às margens do defeito, representada por uma rede de trabéculas ósseas orientadas em direção ao centro, mas sem o alcançar. (10X)

8.3.1.3 SETE DIAS

Aos 7 dias é notória a presença de grandes áreas de novo tecido ósseo ocupando uma enorme extensão do defeito. Na verdade é visível a existência de numerosas trabéculas ósseas, já com uma espessura razoável, formando pontes de ligação entre si e com o tecido ósseo nativo das margens do defeito.

Nestas trabéculas ósseas é possível ver, para além da camada osteoblástica, uma grande densidade de osteócitos dispostos irregularmente e localizados em lacunas arredondadas, aspeto característico de um tecido ósseo imaturo. Os espaços entre as trabéculas de formação recente estão ocupados por tecido conjuntivo laxo muito vascularizado, observando-se já algumas áreas de medula óssea.

A linha de separação entre o novo osso e o tecido ósseo original continua visível sendo possível identificar a margem exata à altura da realização do defeito. De registar, ainda, a presença de alguns osteoclastos traduzindo o início de um processo de remodelação óssea.

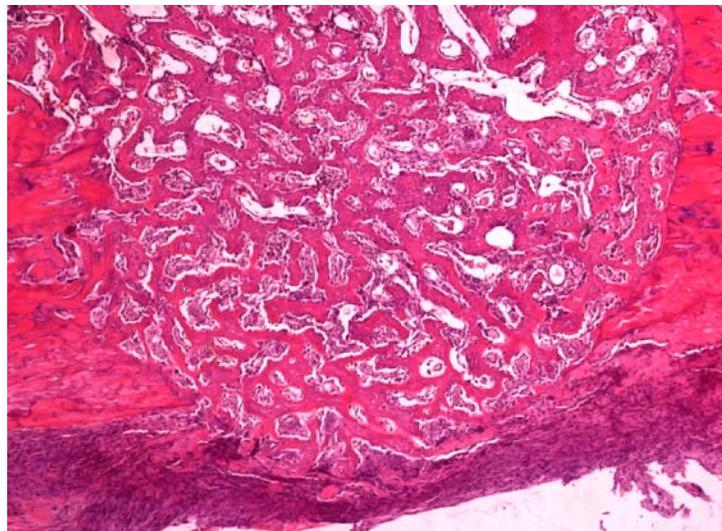


Ilustração 102 - Aspeto histológico de um defeito, após 7 dias, mostrando a estrutura e a organização do tecido ósseo trabecular, de formação recente, que preenche a quase totalidade do defeito. (4X)

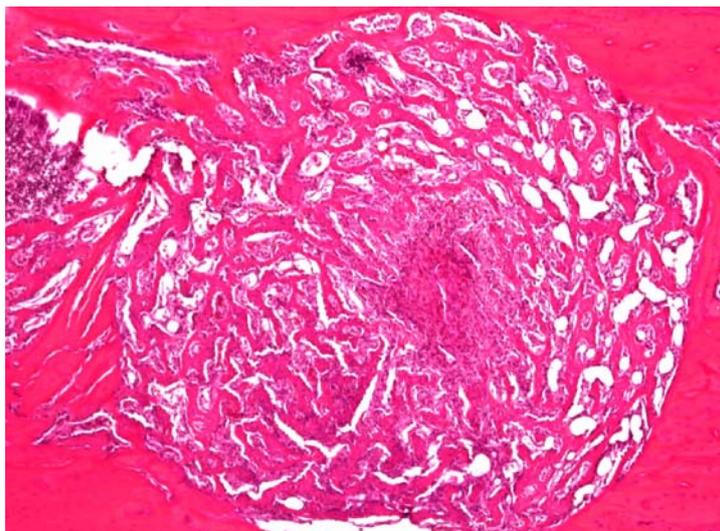


Ilustração 103 - Aspecto histológico de um defeito, após 7 dias, idêntico ao representado na ilustração anterior. (4X)

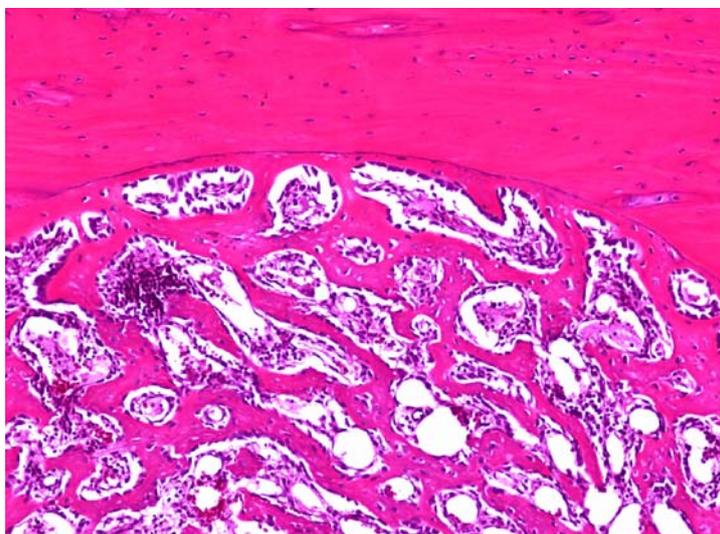


Ilustração 104 - Maior ampliação de zona da ilustração anterior. Observar numerosas trabéculas ósseas separadas por tecido conjuntivo laxo muito vascularizado e algumas áreas de medula óssea. Notória a linha de separação do tecido ósseo neoformado / original. (10X)

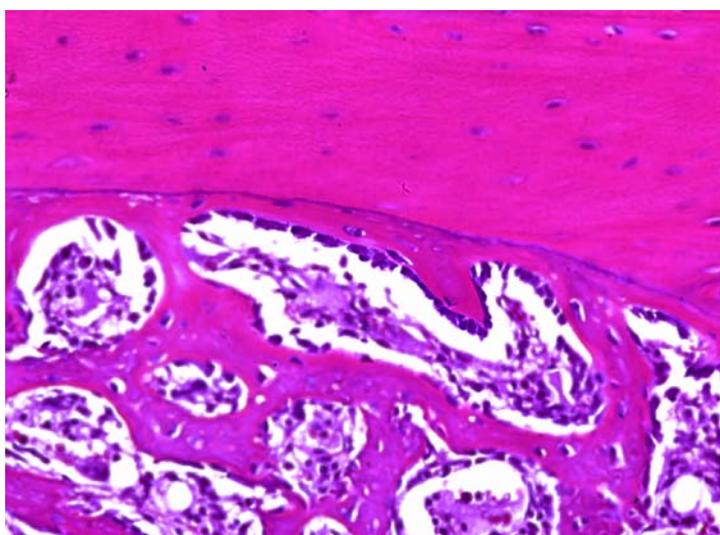


Ilustração 105 – Maior detalhe da ilustração anterior, onde é mais visível a linha de separação do tecido neoformado. (20X)

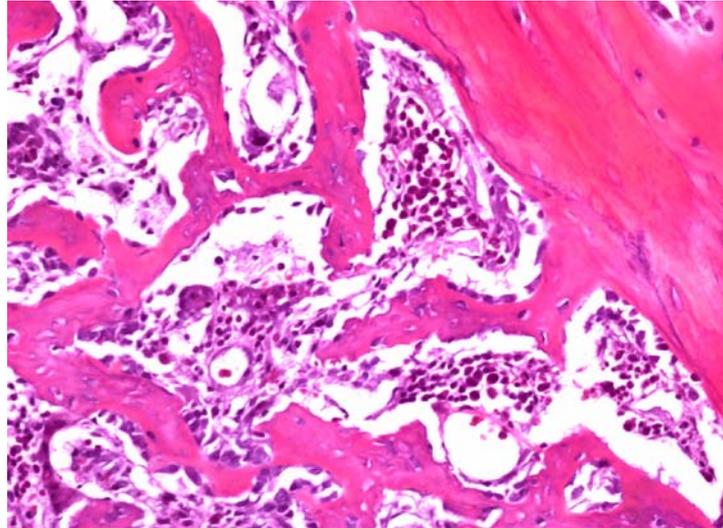


Ilustração 106 - H – Medula óssea com osteoblastos contornando as trabéculas ósseas. (20X)

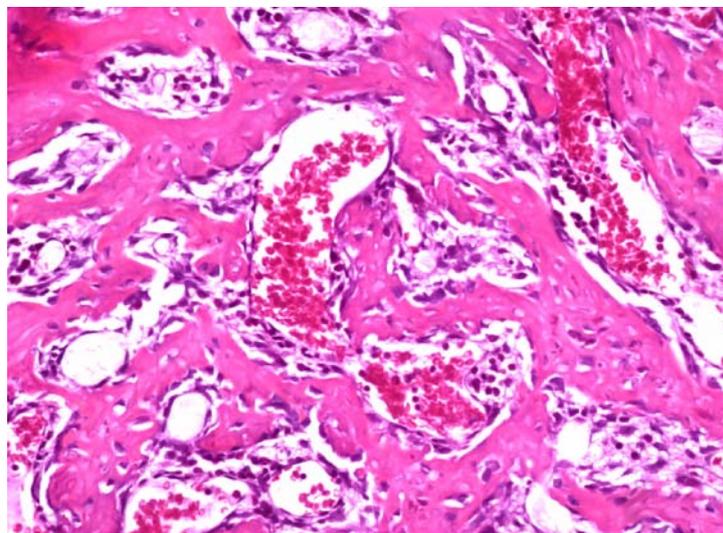


Ilustração 107 – Proliferação de vasos sanguíneos (20X)

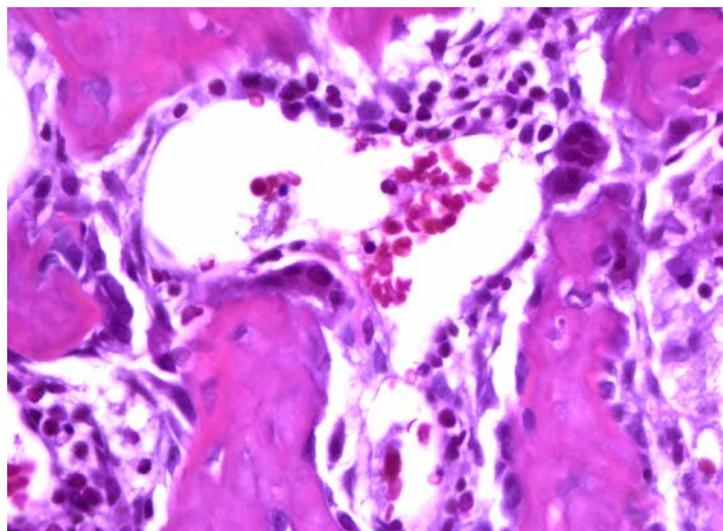


Ilustração 108 - Trabéculas ósseas mostrando processos de remodelação caracterizados pela presença de células osteoclásticas (40X)

8.3.1.4 CATORZE DIAS

Nas secções obtidas aos 14 dias pode observar-se, em relação aos períodos anteriores, um acréscimo considerável na neoformação óssea caracterizada por um maior número de trabéculas muito mais espessas e com menor quantidade de tecido conjuntivo a separá-las. De referir, também, o completo preenchimento do defeito por tecido ósseo desde a periferia à região central. De notar ainda que as trabéculas ósseas são agora constituídas por grandes áreas de tecido ósseo lamelar revestindo zonas de tecido ósseo imaturo que ocupam uma posição central. São, também, visíveis algumas linhas de reversão.

Começa também a observar-se a existência de um tecido ósseo mais compacto devido ao aparecimento de estruturas que indiciam a formação de sistemas de Havers. Este aspeto verifica-se com maior predominância na periferia do defeito parecendo avançar gradualmente para o interior.

É ainda notória a presença de áreas de tecido ósseo trabecular de formação recente, numa localização subperiosteal (Ver Ilustração 109 e Ilustração 111), ocupando uma extensa área entre a face externa do osso cortical e o perióstio.

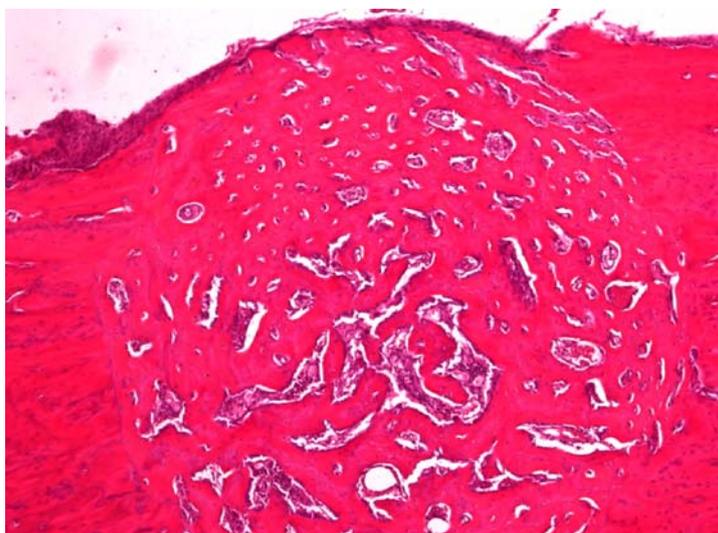


Ilustração 109 - Aspeto de um defeito ao fim de 14 dias observando-se, em relação aos períodos anteriores, um maior número de trabéculas muito mais espessas e com menor quantidade de tecido conjuntivo a separá-las, aproximando-se morfologicamente de um tecido ósseo compacto. (4X)

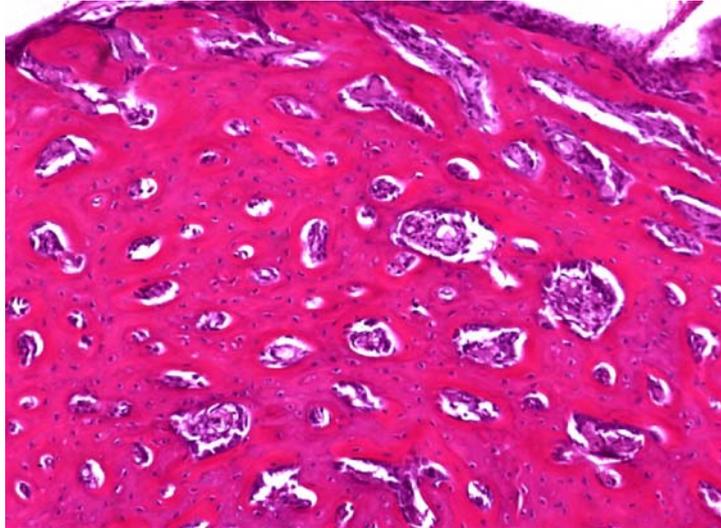


Ilustração 110 - Maior ampliação de zona da ilustração anterior pondo em evidência a formação de numerosos sistemas de Havers (10X)

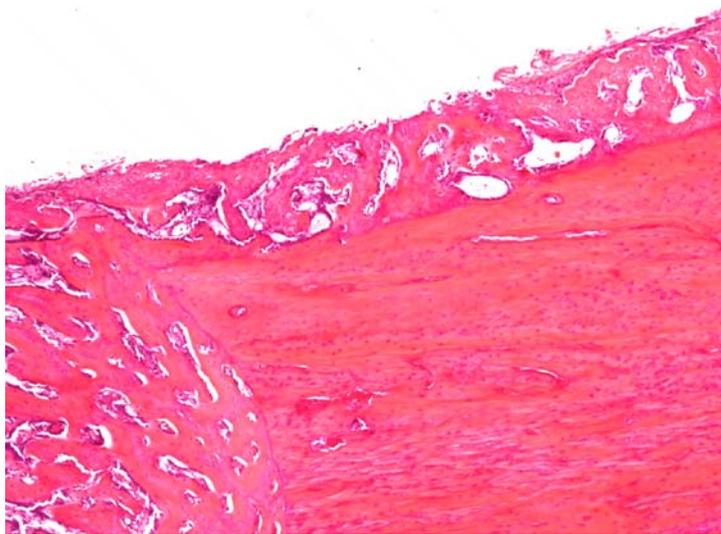


Ilustração 111 – Presença de uma grande densidade de trabéculas ósseas, observada aos 14 de evolução, ocupando uma extensa área entre a face externa do osso cortical e o respetivo perióstio. (4X)

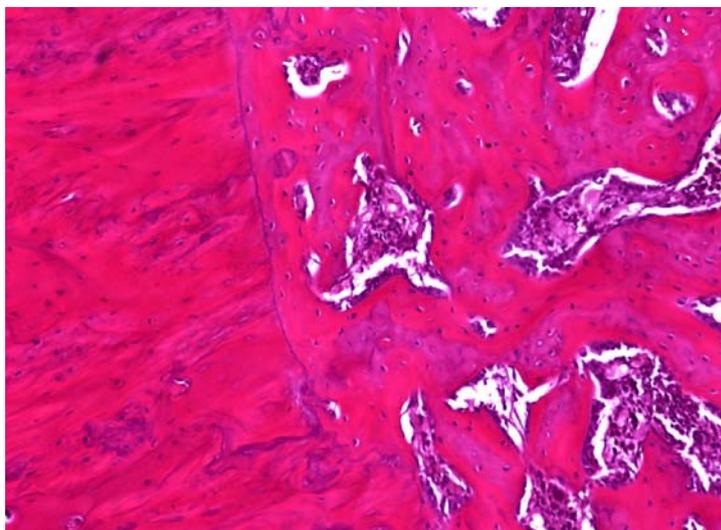


Ilustração 112 - Linha de separação do tecido ósseo neoformado / tecido ósseo nativo e espaços medulares. (10X)

8.3.1.5 VINTE E OITO DIAS

Aos 28 dias, foi visível, o preenchimento praticamente total do defeito sendo identificável um significativo aumento das áreas ocupadas por matriz óssea, comparativamente aos períodos anteriores.

Continua a ser assinalável a presença de algumas zonas de tecido ósseo imaturo rodeadas maioritariamente por lamelas ósseas concêntricas formando inúmeros sistemas de Havers.

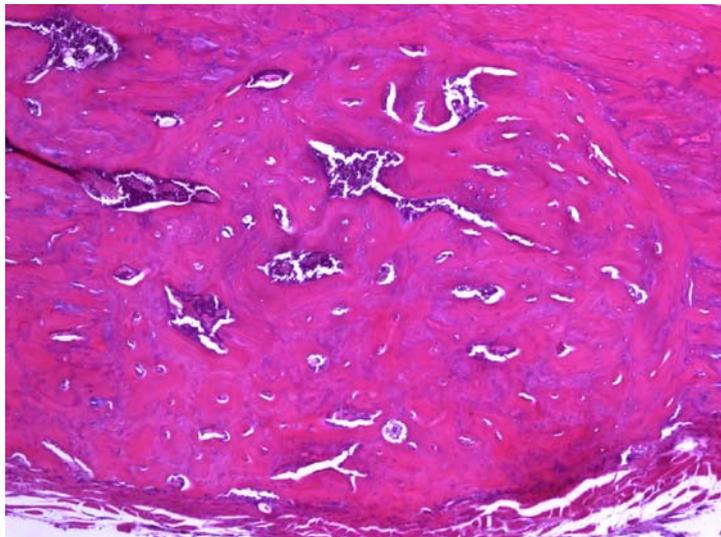


Ilustração 113 - Aspeto do preenchimento de um defeito aos 28 dias sendo assinalável a área ocupada por matriz óssea. (4X)

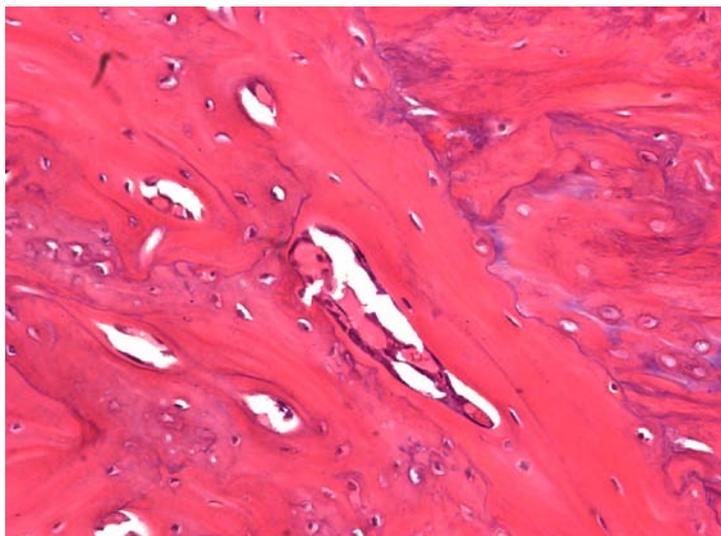


Ilustração 114 - Imagem da região mais periférica de um defeito com 28 dias de evolução mostrando a presença de algumas áreas de tecido ósseo imaturo rodeadas por lamelas ósseas concêntricas formando sistemas de Havers. É também possível observar a linha de demarcação com o tecido ósseo nativo, que constitui a parede do defeito. (20X)

8.3.1.6 QUARENTA E DOIS DIAS

Aos 42 dias começa a tornar-se difícil a identificação do defeito dado que quer as características tintoriais quer a organização estrutural do tecido ósseo neoformado é muito semelhante ao tecido ósseo da parede do defeito. De facto, o tecido ósseo neoformado assemelha-se muito, nesta fase, à normal arquitetura de um tecido ósseo compacto.

A linha de demarcação apresenta-se menos nítida sendo, por vezes, impercetível.

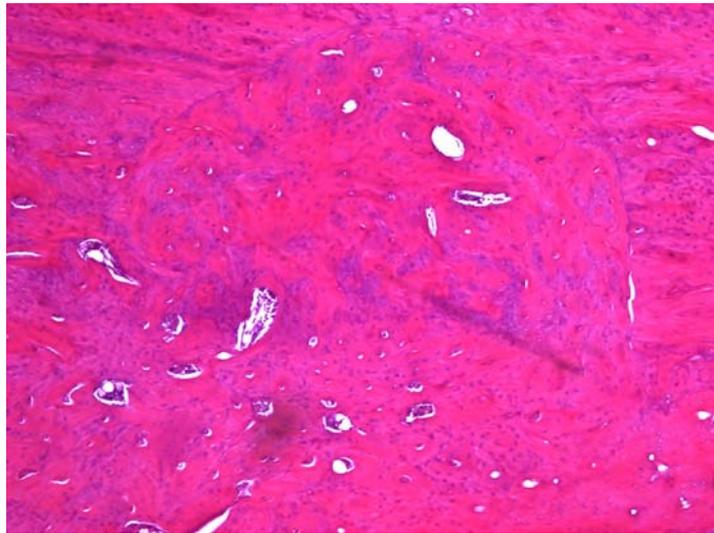


Ilustração 115 - Aspeto de um defeito com 42 dias de evolução começando a tornar-se difícil a identificação precisa do seu limite. (4X)

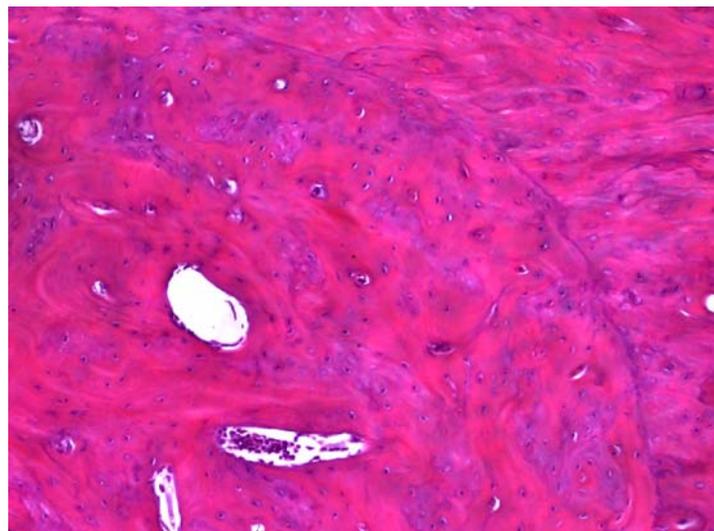


Ilustração 116 - Maior ampliação de uma zona representada na figura anterior pondo em evidência a organização estrutural do tecido ósseo neoformado que se aproxima já de um tecido ósseo compacto. (10X)

Em síntese, o conjunto de imagens apresentadas ilustra um processo sequencial em que os defeitos ósseos foram sendo progressivamente ocupados por uma notável quantidade de tecido ósseo que surge por um processo de ossificação intramembranoso. Esta matriz óssea é caracterizada, inicialmente, pela presença de numerosas trabéculas ósseas que vão aumentando de espessura e se vão anastomosando umas com as outras e com o tecido ósseo original, diminuindo significativamente a existência de tecido conjuntivo entre elas. Gradualmente foi-se observando a transição de um padrão de tecido ósseo trabecular para tecido ósseo compacto caracterizado pela presença de um grande número de sistemas de Havers.

No final do período experimental, o defeito ósseo criado apresentava-se preenchido por um tecido ósseo com uma organização e constituição histológica muito semelhante a qualquer tecido ósseo compacto. Esta reposição da arquitetura original poderá ser considerada como um verdadeiro processo de regeneração óssea.

8.3.2 LASER ER:YAG (2940 NM)

8.3.2.1 ZERO DIAS

Nos defeitos efetuados com *Laser* constatou-se a existência de bordos menos regulares, quando comparado com os defeitos criados pela broca, sendo também observável a presença de um material amorfo que associamos a áreas de necrose óssea. Este facto parece ficar a dever-se ao dano térmico provocado pela utilização do *Laser* conhecido como efeito flogístico. O osso nativo não apresenta necrose dos osteócitos adjacentes à margem do defeito.



Ilustração 117 - Corte histológico realizado logo após a criação de um defeito efetuado com recurso a *Laser*. (2X)

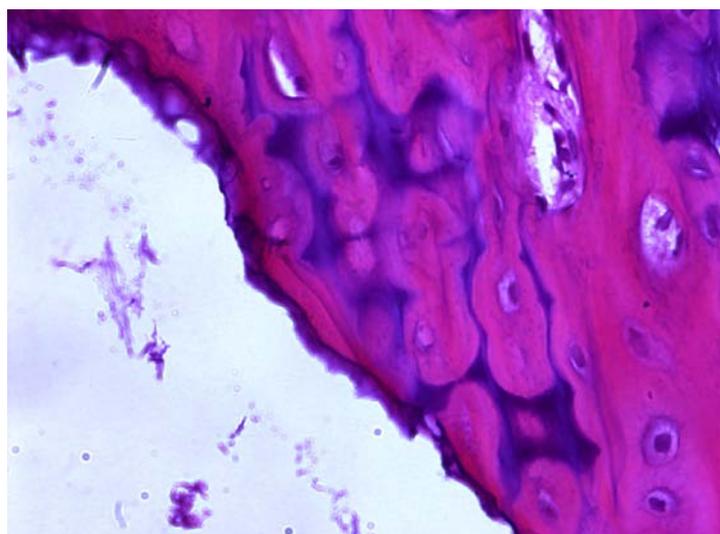


Ilustração 118 - Maior ampliação de uma zona representada na figura anterior permitindo observar a presença de um material amorfo localizado ao longo do bordo do defeito. (40 X)

8.3.2.2 TRÊS DIAS

O defeito criado, neste período de tempo de evolução, não apresentou grandes diferenças relativamente ao período anterior.

Nas margens do defeito é ainda nítida, como atrás foi referido, a presença de um material amorfo próximo das áreas de dano térmico. É também de assinalar a formação de um tecido de granulação localizado mais periféricamente estando o defeito, na sua maior área, opticamente vazio. Não foram identificadas zonas de neoformação óssea.

Com efeito, comparando com o mesmo período após o uso de uma broca, há um atraso considerável no início do processo de reparação/cicatrização do defeito.

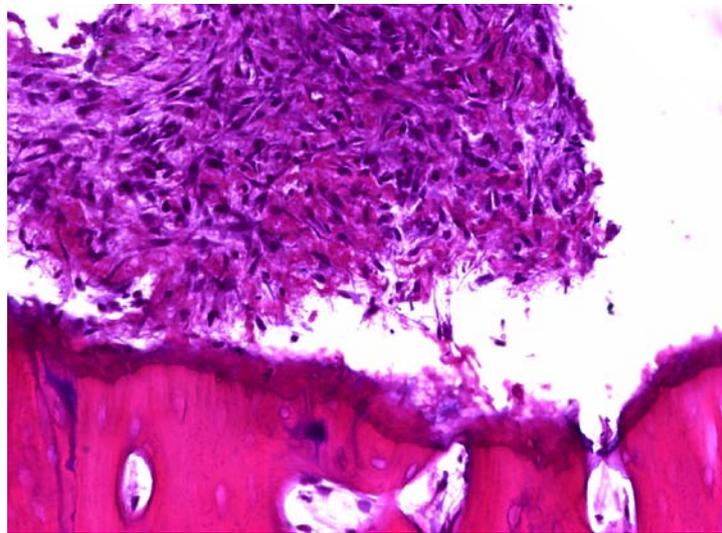


Ilustração 119 – Corte histológico onde é possível identificar a faixa de material amorfo e tecido de granulação. (20X)

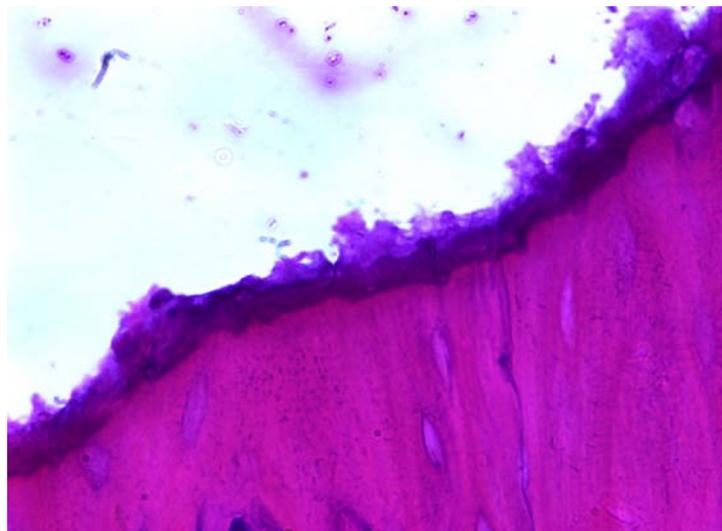


Ilustração 120 – Maior detalhe do bordo delimitante do defeito, identificando-se uma região intensamente corada (material amorfo).

(40X)

8.3.2.3 SETE DIAS

Nas secções coronais foi facilmente identificável, aos 7 dias de evolução, um notável acréscimo na formação de tecido ósseo relativamente ao período anterior.

As secções obtidas neste período demonstraram uma assinalável formação de trabéculas ósseas espalhadas por todo o defeito, quer junto às margens quer nas suas regiões mais centrais. Com efeito, constatou-se, nesta fase, a presença de uma grande densidade de delgadas trabéculas ósseas que se anastomosam entre si e com o tecido ósseo original sendo constituídas, maioritariamente, por tecido ósseo imaturo. Foi possível também observar algumas células osteoclásticas traduzindo o início de um processo de reabsorção e remodelação. De assinalar, no entanto, a presença frequente de uma zona de tecido conjuntivo predominantemente celular nas zonas mais periféricas do defeito, situadas geralmente entre a parede do defeito e as primeiras trabéculas ósseas.

De notar ainda a presença de espaços de dimensões consideráveis entre as trabéculas ósseas recém-formadas ocupados por tecido conjuntivo laxo, nos quais encontramos numerosos vasos sanguíneos. De assinalar, também, a existência de algumas zonas ricas em medula óssea.

Como já foi referido, foi visível a existência de uma nítida linha de separação entre o tecido ósseo original e o tecido ósseo neoformado. Esta linha de demarcação entre os dois tecidos evidencia-se por uma coloração mais intensa.

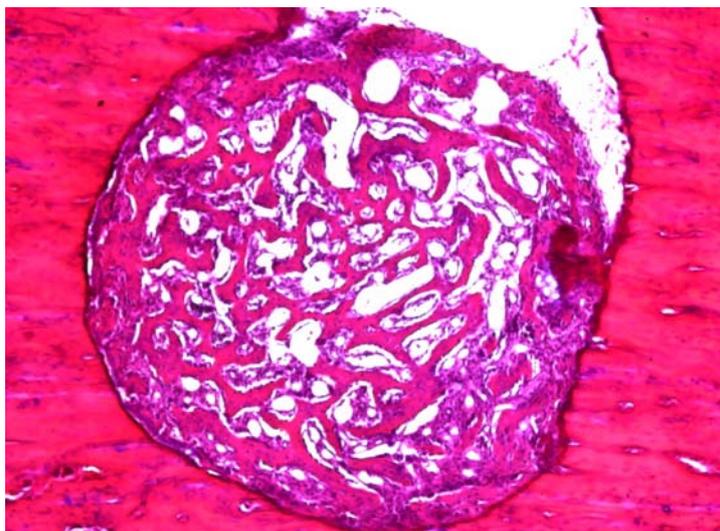


Ilustração 121 - Defeito efetuado com Laser (4X)

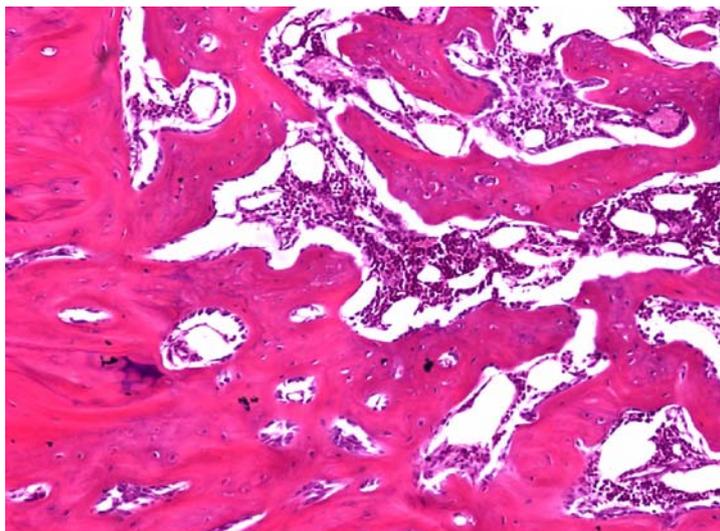


Ilustração 122 - Aspeto histológico de um defeito, com 7 dias de evolução, mostrando uma considerável densidade de trabéculas ósseas espalhadas por todo o defeito. (10X)

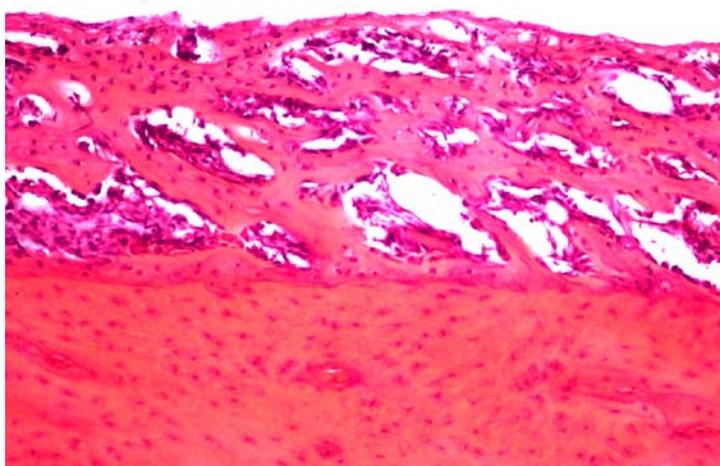


Ilustração 123 – Aspeto do periósteo com proliferação celular característica da fase reparativa da regeneração óssea. (10X)

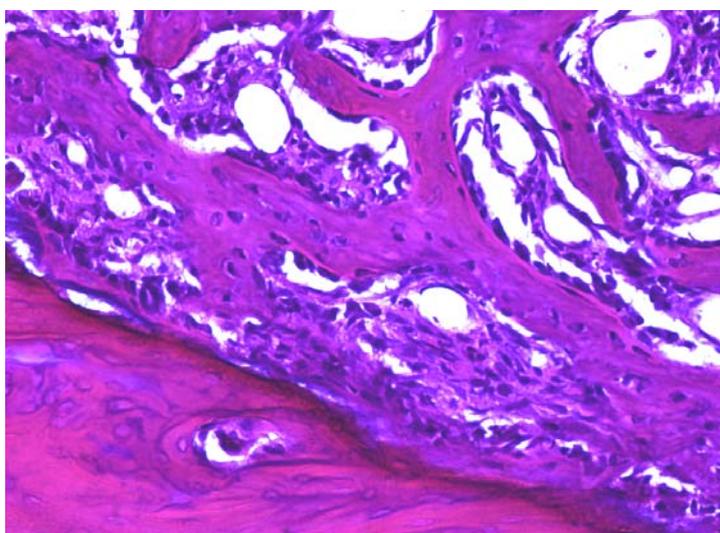


Ilustração 124 - Imagem da região mais periférica de um defeito ao fim de 7 dias de evolução mostrando uma zona de tecido conjuntivo predominantemente celular situada entre a parede do defeito e as primeiras trabéculas ósseas. (20X)

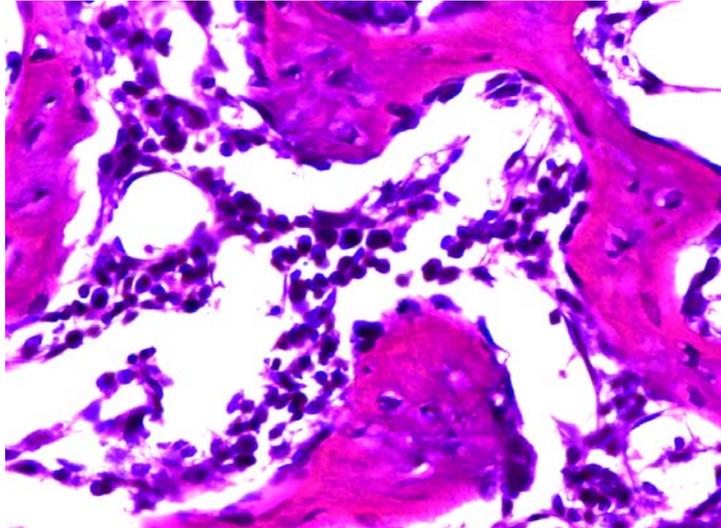


Ilustração 125 – Medula óssea (40X)

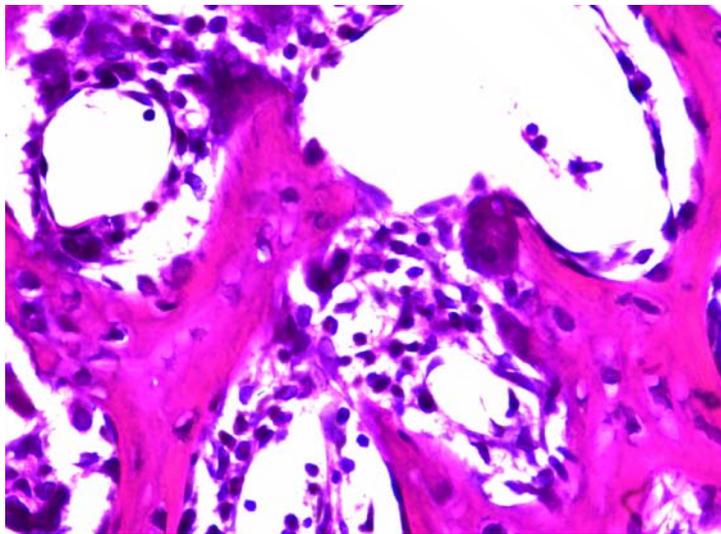


Ilustração 126 - Presença de algumas células osteoclásticas traduzindo o início de um processo de reabsorção e remodelação óssea observável aos 7 dias de evolução. (40X)

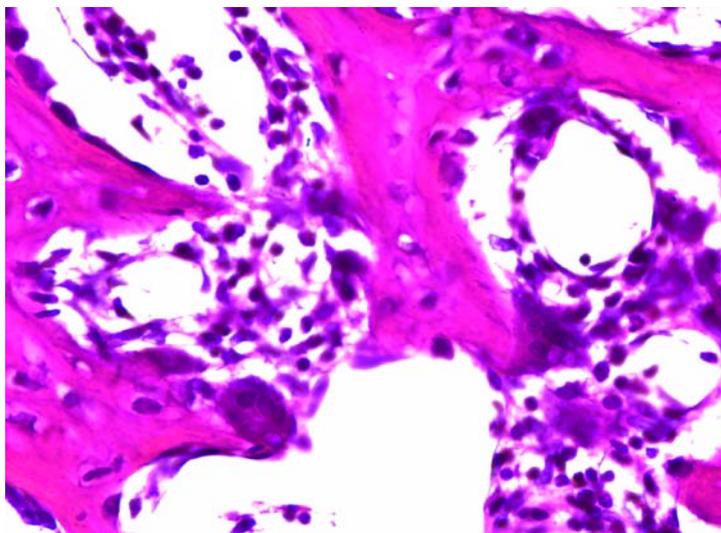


Ilustração 127 - Presença de células osteoclásticas traduzindo o início de um processo de reabsorção e remodelação óssea. (40X)

8.3.2.4 CATORZE DIAS

Nos cortes obtidos aos 14 dias, devemos salientar um aumento na espessura das trabéculas ósseas. Estas formam pontes de união entre elas ocorrendo, na maior parte das amostras, uma completa ligação entre as margens do defeito.

As trabéculas ósseas recém-formadas apresentam, como já foi descrito, características de um tecido ósseo imaturo. Entre as trabéculas ósseas encontramos um tecido conjuntivo laxo, bastante vascularizado, observando-se, também, diversas áreas preenchidas por medula óssea.

Foi também visível a presença de algumas zonas de tecido ósseo lamelar, localizadas na periferia do tecido ósseo imaturo.

Foi também possível observar algumas células osteoclásticas num processo ativo de reabsorção e remodelação.

A linha de demarcação entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo original apesar de continuar identificável apresenta, nesta fase, uma menor nitidez.

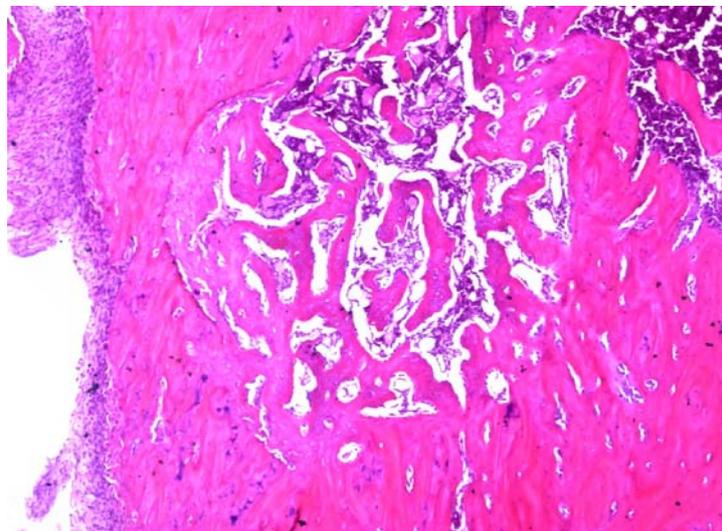


Ilustração 128 - Imagem da constituição histológica das trabéculas ósseas e sua ligação com as margens do defeito, presentes ao fim de 14 dias de evolução. É já visível, nestas trabéculas, a presença de algumas zonas de tecido ósseo lamelar na periferia do tecido ósseo imaturo. Encontramos também entre as trabéculas grandes áreas de tecido conjuntivo laxo muito vascularizado e medula óssea. (4X)

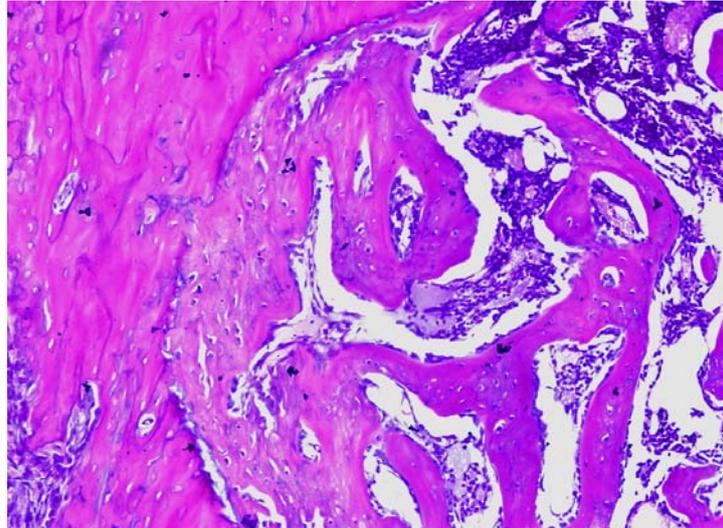


Ilustração 129 – Ampliação de parte da imagem anterior, onde se pode visualizar o descrito, com maior detalhe. (10X)

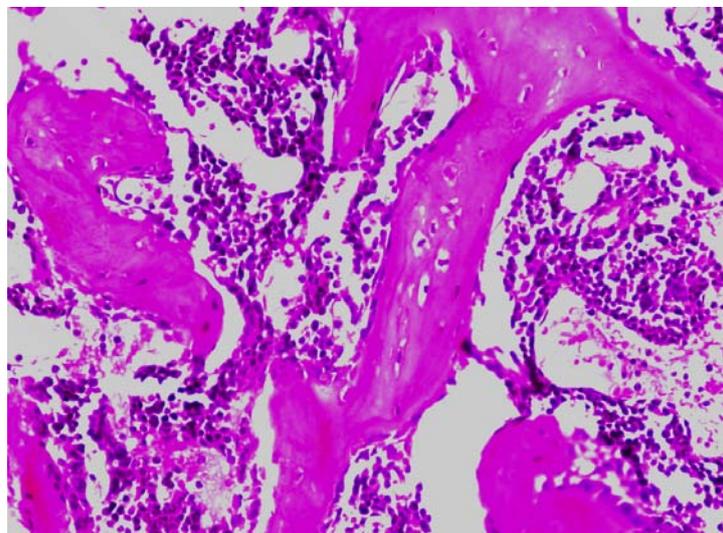


Ilustração 130 – Medula óssea (20X)

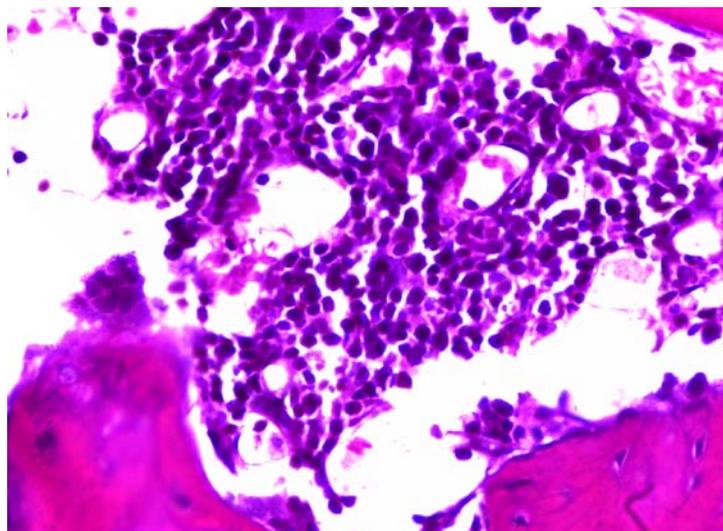


Ilustração 131 – Osteoclastos participando no processo de remodelação óssea. (40X)

8.3.2.5 VINTE E OITO DIAS

Após 28 dias e, em relação ao que foi observado nos períodos anteriores, constatou-se o preenchimento praticamente total do defeito criado. Este fenómeno ocorreu não só pelo espessamento das trabéculas ósseas pré-existentes como pela formação e desenvolvimento de sistemas de Havers sendo, deste modo, muito menor a presença de áreas de tecido conjuntivo. Com efeito, começamos a observar uma mudança estrutural no sentido de um tecido ósseo compacto.

Nota-se ainda um decréscimo das zonas de tecido ósseo imaturo observadas anteriormente e uma maior quantidade de tecido ósseo lamelar.

Apesar de não serem identificáveis osteoclastos encontramos a presença de inúmeras imensas linhas de reversão o que pressupõe a existência prévia de fenómenos de remodelação.

A linha de demarcação entre o tecido ósseo nativo e o neoformado, certamente devido também a processos de remodelação, já não se apresenta tão nítida.

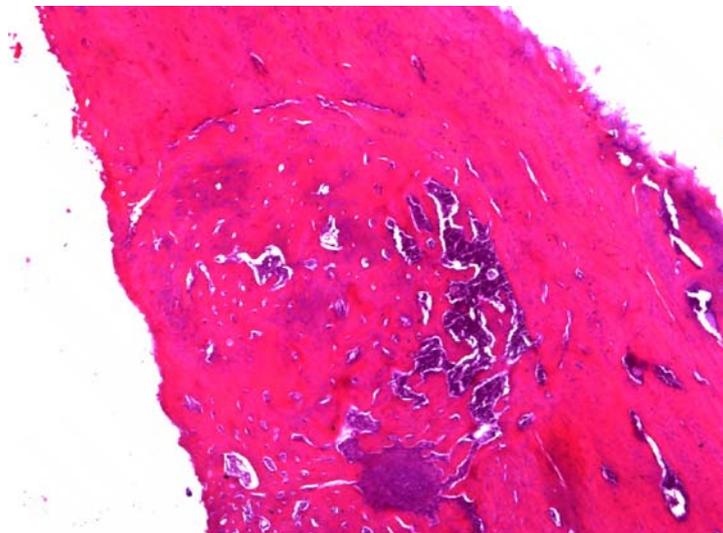


Ilustração 132 - Aspeto do defeito após 28 dias de evolução observando-se, praticamente, o seu total preenchimento. É também visível uma mudança estrutural no sentido de um tecido ósseo compacto. (2X)

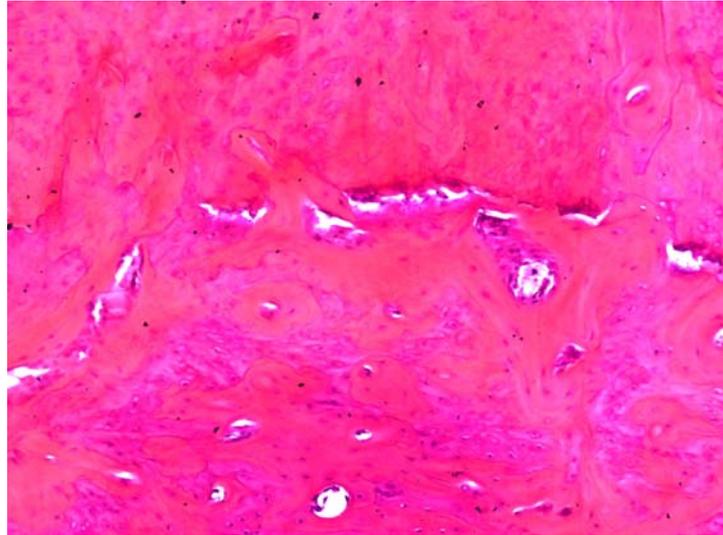


Ilustração 133 – Ampliação da ilustração anterior. Observar o quase total desaparecimento da linha que delimita o defeito. (10X)

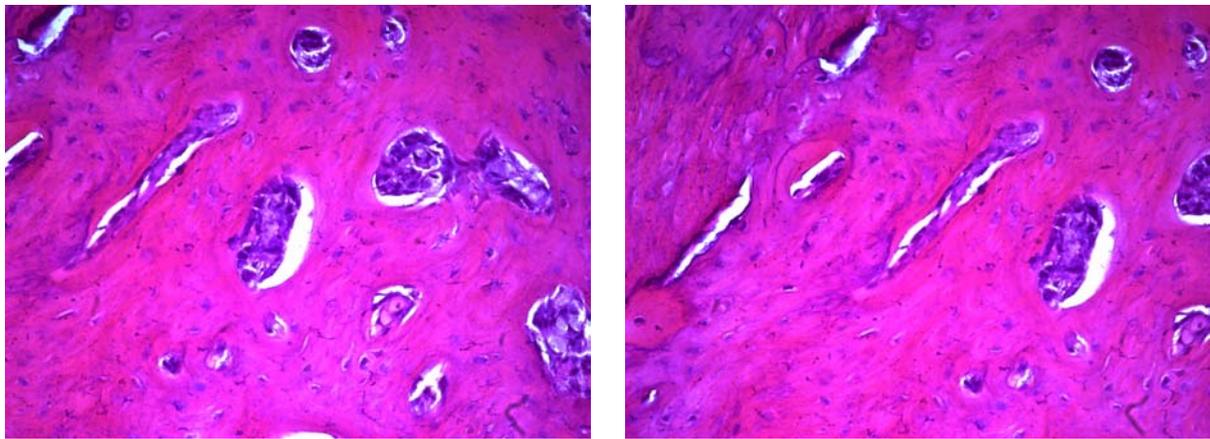


Ilustração 134 e Ilustração 135 – Presença de sistemas Havers formados por grande número de lamelas ósseas concêntricas, ocupando grandes áreas do defeito. Observar a existência de zonas de tecido ósseo imaturo entre o tecido ósseo lamelar. (20X)

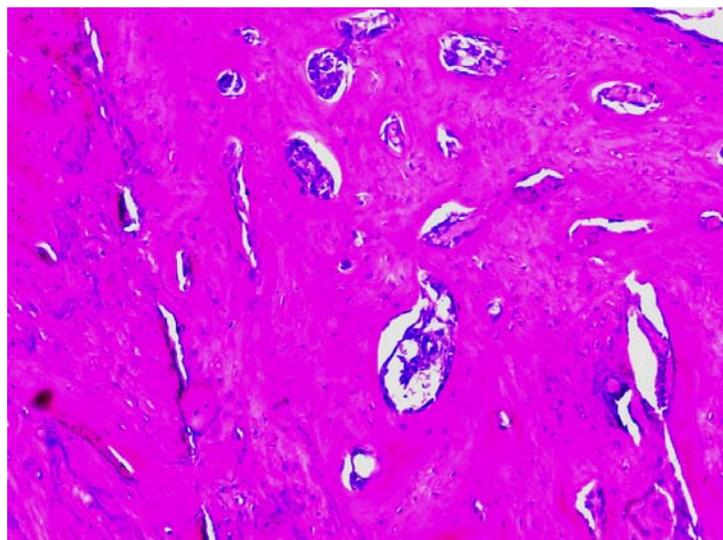


Ilustração 136 – Trabéculas ósseas (10X)

8.3.2.6 QUARENTA E DOIS DIAS

Após 42 dias de evolução, verificou-se o completo encerramento dos defeitos observados por tecido ósseo.

Neste período, é de registar um maior grau de organização e maturação do tecido ósseo que se apresenta, nesta fase, muito semelhante ao tecido ósseo original, ou seja, um tecido ósseo compacto formado por inúmeros sistemas de Havers. De facto, em alguns casos, não foi possível, dado à sua semelhança e perfeita continuidade, definir a linha de demarcação existente na interface entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo original.

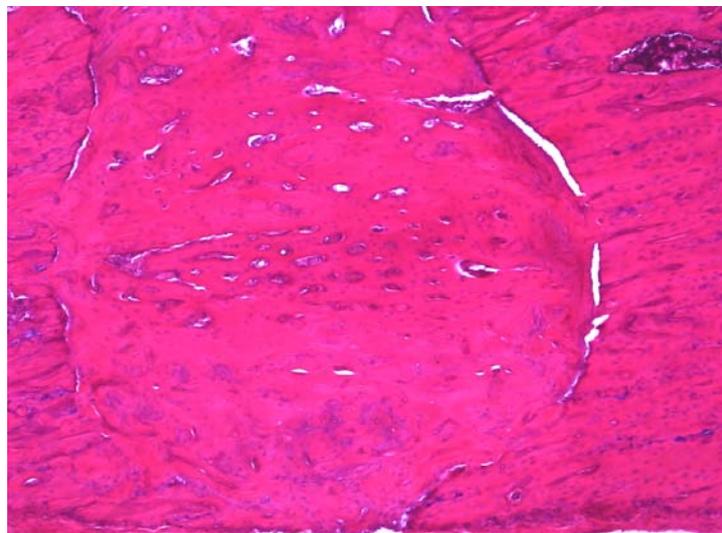


Ilustração 137 - Imagem histológica do completo preenchimento de um defeito por tecido ósseo maioritariamente compacto. (4X)

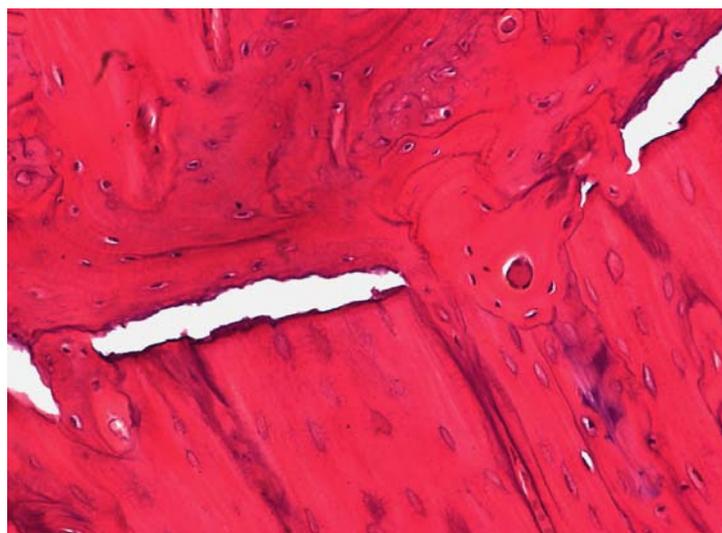


Ilustração 138 – Maior ampliação do bordo do defeito onde se pode comparar a organização e união do novo tecido ósseo com o tecido ósseo nativo. (20X)

Em síntese, podemos afirmar que os defeitos obtidos, com base na utilização do *Laser*, apresentam, em relação aos defeitos efetuados com recurso a broca, um ligeiro atraso nos primeiros sinais osteogénicos. Todavia, o processo de preenchimento do defeito segue um perfil muito semelhante a partir do 7º dia observando-se, a partir daí, imagens histológicas praticamente sobreponíveis conduzindo, no fim do período experimental, a um resultado final muito semelhante. Com efeito, verificou-se um completo preenchimento do defeito por tecido ósseo maioritariamente constituído por um tecido ósseo compacto.

8.3.3 PIEZOCIRÚRGICO

8.3.3.1 ZERO DIAS

Nos cortes histológicos obtidos após a criação do defeito pode observar-se a existência de um contorno com limites regulares. Todavia, é visível um rebordo com diferente coloração que poderá corresponder ao efeito térmico/mecânico do piezocirúrgico sendo, apesar disso, muito menos significativa do que o que se observou no grupo *Laser*.

Também, como seria de esperar, o defeito encontrava-se opticamente vazio.

De assinalar ainda que comparando as margens dos defeitos criados com recurso a broca ou ao *Laser* pode constatar-se que a utilização do piezocirúrgico permite a criação de um defeito com bordos mais regulares que o *Laser* mas não tão definidos quanto os da broca.

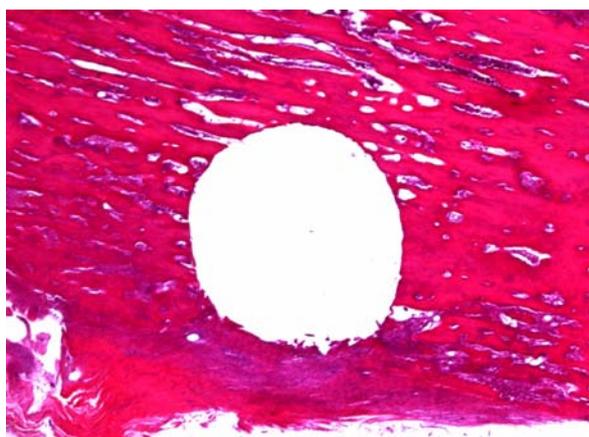


Ilustração 139 – Corte histológico após a criação de um defeito (2X)

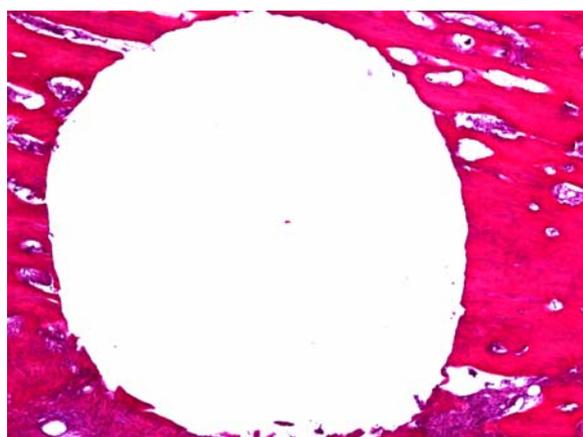


Ilustração 140 – Corte histológico (4 X)

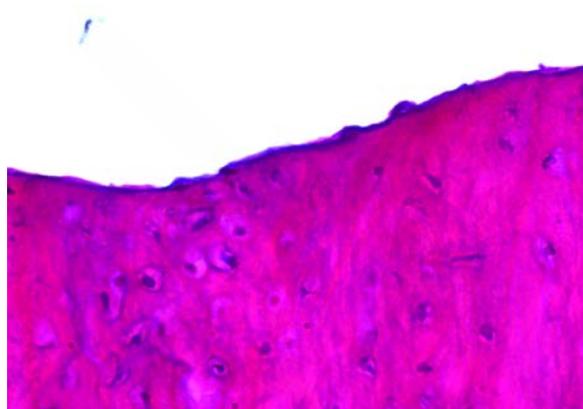
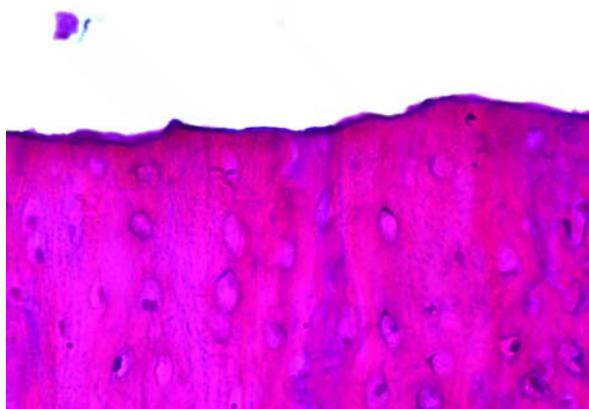


Ilustração 141 e Ilustração 142 – Maior ampliação de uma zona representada na imagem anterior evidenciando a presença de uma estreita faixa de material amorfo localizado ao longo do bordo do defeito. (40X)

8.3.3.2 TRÊS DIAS

As secções coronais obtidas ao 3º dia demonstraram o aparecimento de um tecido conjuntivo localizado, essencialmente, nas regiões mais periféricas caracterizado por um notável edema celular e algumas células com perfil inflamatório. A região central do defeito encontrava-se opticamente vazia.

Os sinais dos danos térmicos da periferia do defeito são quase impercetíveis, observando-se alguma irregularidade nas margens, em consonância com o observado no tempo zero.

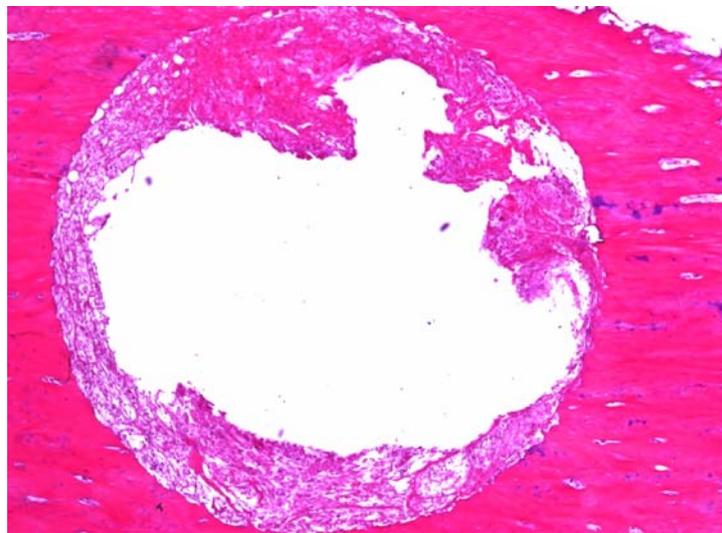


Ilustração 143 - Imagem histológica da região mais periférica de um defeito com 3 dias de evolução mostrando a presença de edema celular e células com perfil inflamatório. (4X)

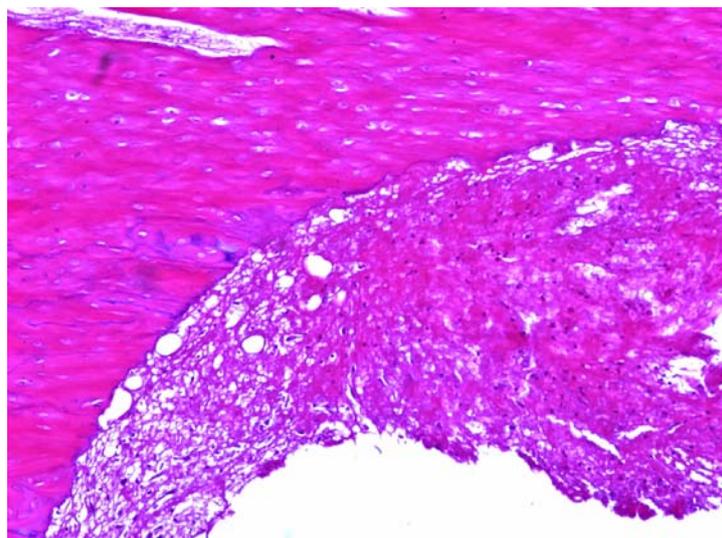


Ilustração 144 - Maior ampliação de uma zona representada na figura anterior. (10X)

8.3.3.3 SETE DIAS

Ao 7º dia foi já possível observar, em alguns defeitos, a presença de uma considerável atividade osteogénica com maior intensidade junto às margens do defeito traduzida pelo aparecimento de um grande número de trabéculas ósseas ainda que bastante delgadas e apresentando nítidos sinais de imaturidade. Porém, estas características não são visíveis em todos os defeitos. O tecido conjuntivo presente entre estas trabéculas apresenta uma grande densidade celular e uma fraca vascularização. Foi também possível detetar, com frequência, que a região central do defeito se encontrava constituída apenas por um tecido conjuntivo predominantemente celular.

Junto às margens do defeito observou-se, e tal como foi referido para os casos anteriores, a existência de uma nítida linha de demarcação entre o tecido ósseo que constitui a parede do defeito e o tecido ósseo neoformado. De modo semelhante ao que se verificou aquando da utilização do *Laser* não é raro encontrar zonas de tecido conjuntivo predominantemente celular nas áreas mais periféricas do defeito, separando muitas vezes a parede do defeito das primeiras trabéculas ósseas.

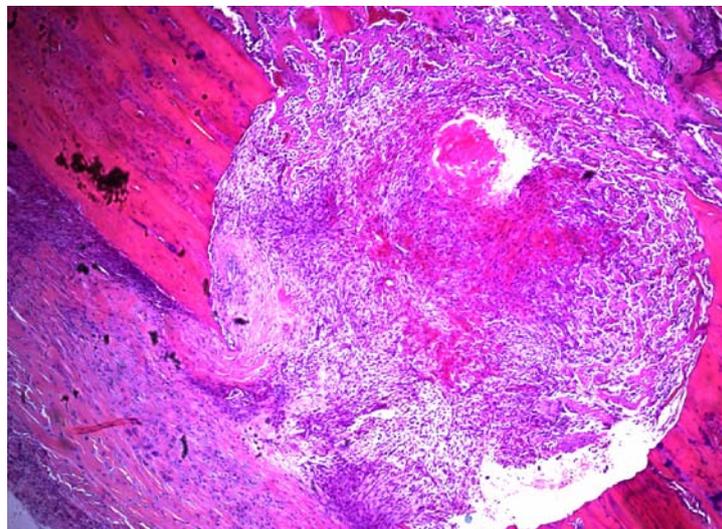


Ilustração 145 - Corte histológico de um defeito com 7 dias de evolução sendo já visível uma considerável atividade osteogénica, particularmente evidente junto às margens do defeito. É também possível observar que o espaço entre as trabéculas ósseas está ocupado por um tecido conjuntivo muito rico em células. (4X)

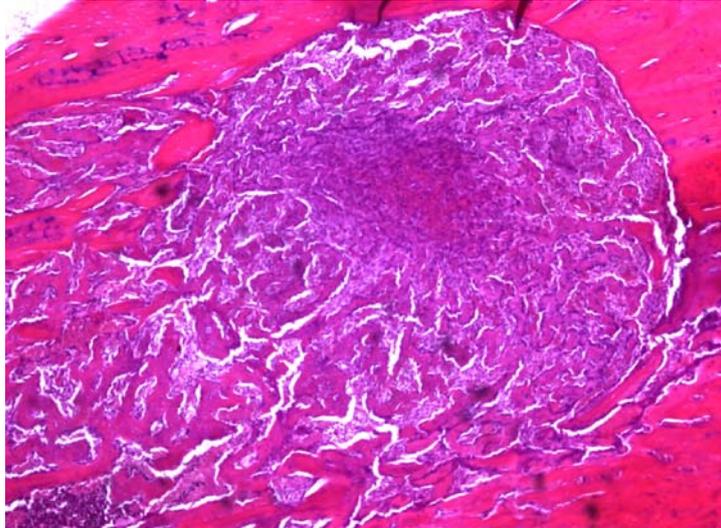


Ilustração 146 – Tecido conjuntivo predominantemente celular com algumas zonas iniciais de calcificação. (4X)

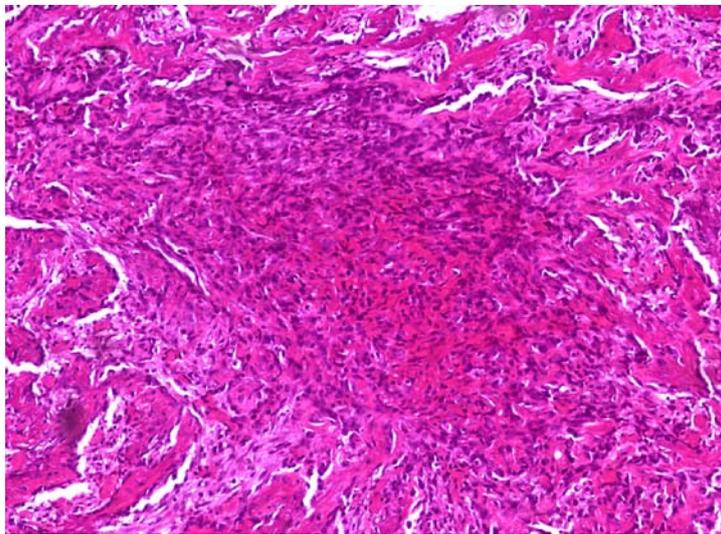


Ilustração 147 – Maior ampliação da zona central do defeito evidenciando o forte componente celular do tecido conjuntivo. (10X)

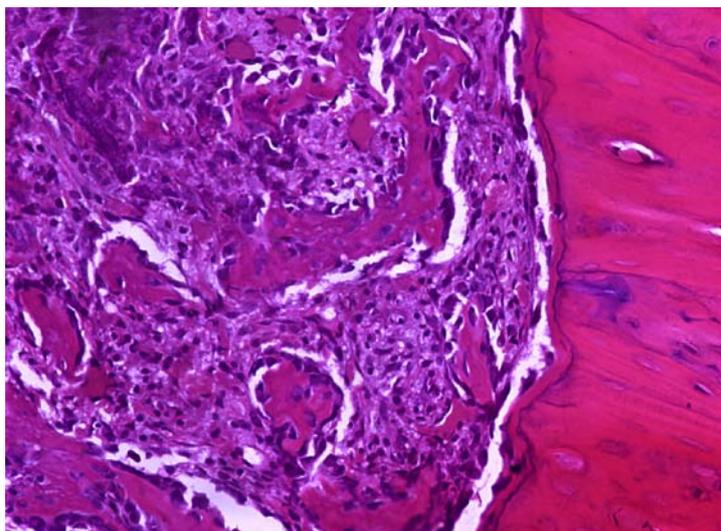


Ilustração 148 – A periferia do defeito é facilmente delimitada, observando-se, nesta zona, tecido ósseo imaturo. (20X)

8.3.3.4 CATORZE DIAS

Nas secções coronais foi facilmente identificável, ao 14º dia de evolução, um aumento notável da área ocupada por matriz óssea. De facto, a presença de trabéculas ósseas não está já, nesta fase, restrita apenas à periferia do defeito verificando-se, ainda que nem sempre, a existência de áreas de neoformação óssea na região central. Neste período encontramos com frequência sinais de formação e desenvolvimento de sistemas de Havers e, deste modo, uma certa transição de áreas de tecido ósseo trabecular para tecido ósseo compacto. A linha de demarcação entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo original continua visível, sendo possível a correta identificação das margens do defeito.

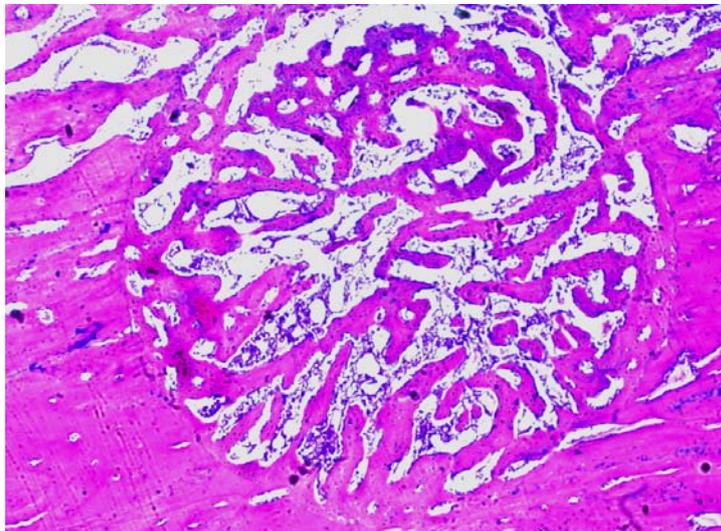


Ilustração 149 - Aspeto de um defeito com 14 dias de evolução pondo em evidência a presença de numerosas trabéculas ósseas, ocupando todo o defeito, separadas por um tecido conjuntivo muito vascularizado, e com a presença de medula óssea. (4X)

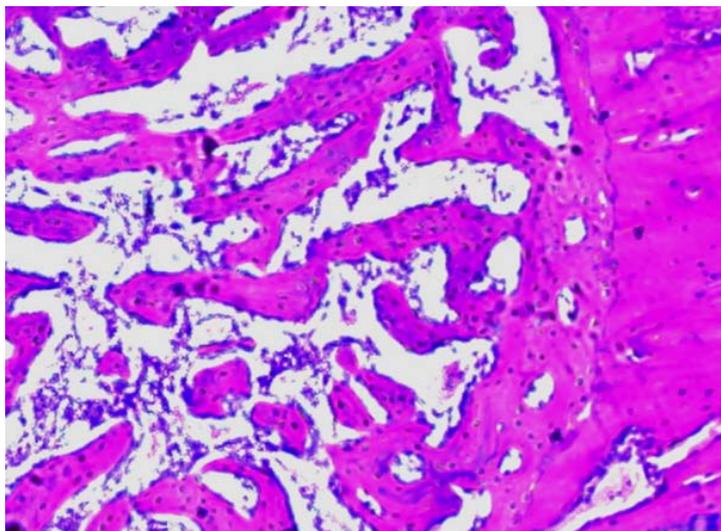


Ilustração 150 - Ampliação de zona periférica da ilustração anterior junto à linha de delimitação do defeito. Visualizam-se com maior precisão as trabéculas ósseas localizadas na periferia do defeito. (20X)

8.3.3.5 VINTE E OITO DIAS

Nas amostras obtidas ao 28º dia é notável o aparecimento de inúmeros sistemas de Havers situados entre grandes zonas de tecido ósseo imaturo observando-se, na globalidade, um bom preenchimento do defeito. Paralelamente foi possível detetar áreas de reabsorção, em fase de remodelação.

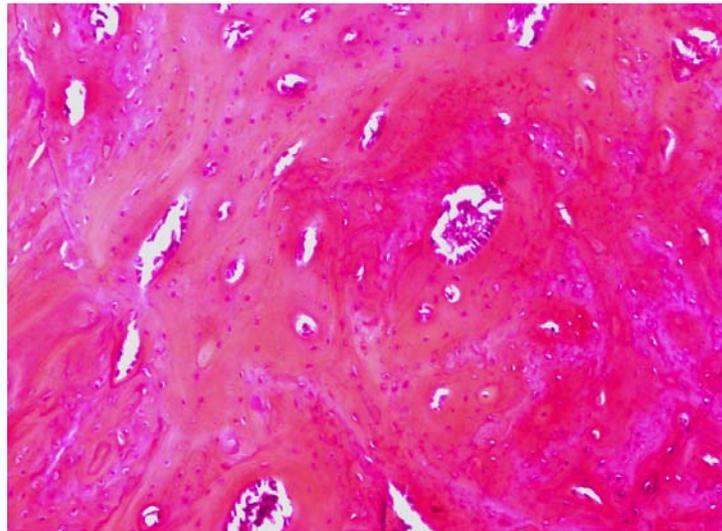


Ilustração 151 - Imagem de um defeito com 28 dias de evolução mostrando sinais de formação e desenvolvimento de muitos sistemas de Havers observados, maioritariamente, na periferia do defeito. (10X)

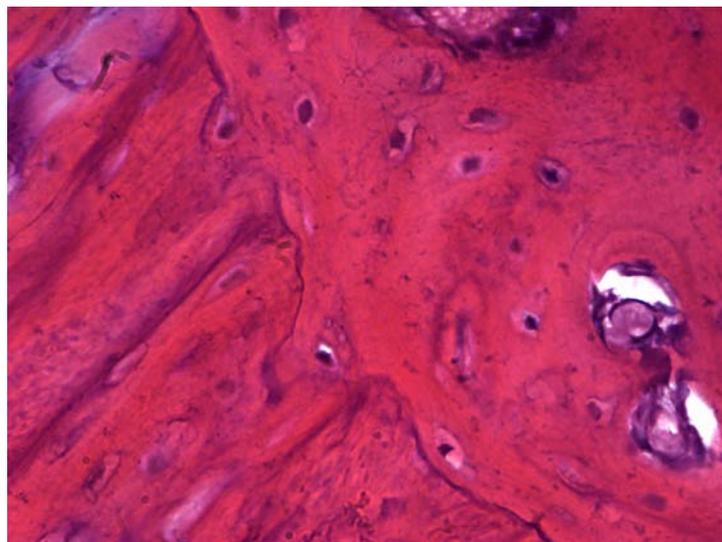


Ilustração 152 – Limite de um defeito com 28 dias. É notória, ainda, a linha de demarcação entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo original. Atente-se, ainda, a formação centrípeta do novo tecido ósseo, no qual se observam diversos osteócitos. (40X)

8.3.3.6 QUARENTA E DOIS DIAS

Os cortes histológicos obtidos ao 42º dia permitiram observar o restabelecimento do preenchimento do defeito por tecido ósseo neoformado praticamente sem interrupções. De facto, em pequenas ampliações (Ver Ilustração 153), o defeito parece apresentar uma estrutura muito semelhante ao tecido ósseo nativo não sendo possível com facilidade, em alguns casos, definir a interface entre o tecido ósseo neoformado e o tecido ósseo original.

No entanto, numa maior ampliação (Ver Ilustração 156 e Ilustração 157), pode observar-se que os defeitos efetuados com o piezocirúrgico, comparados com os defeitos criados com a broca ou com o *Laser*, ainda apresentam, nesta fase, grandes áreas de tecido ósseo imaturo.

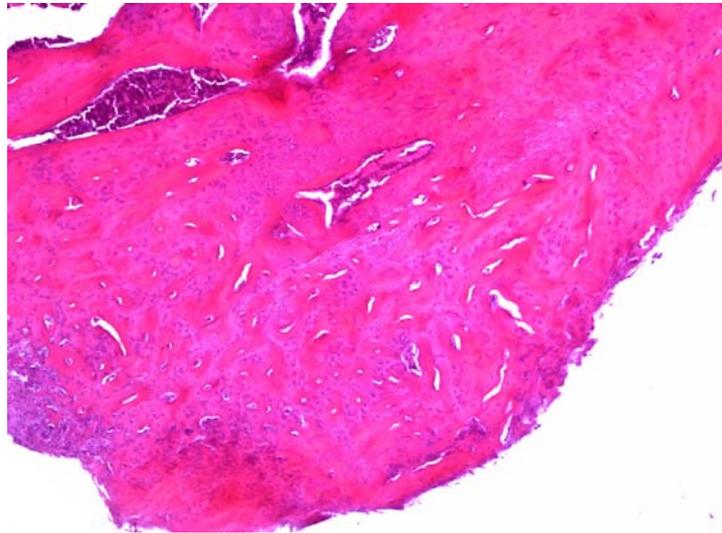


Ilustração 153 - Imagem histológica de um defeito com 42 dias de evolução apresentando-se preenchido por um tecido ósseo compacto com muitos sistemas de Havers. (4X)

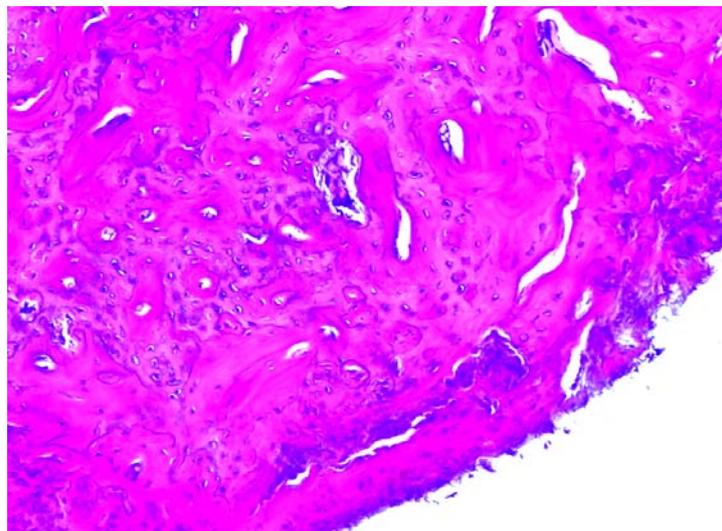


Ilustração 154 – Imagem ampliada da ilustração anterior. (10X)

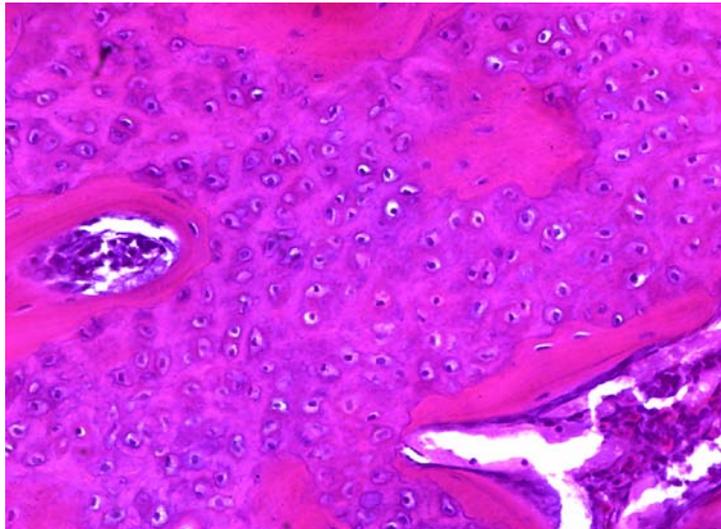


Ilustração 155 - Aspeto histológico do tecido ósseo neoformado no interior de um defeito com 42 dias de evolução sendo de registrar a enorme quantidade de tecido ósseo imaturo ainda presente. (20X)

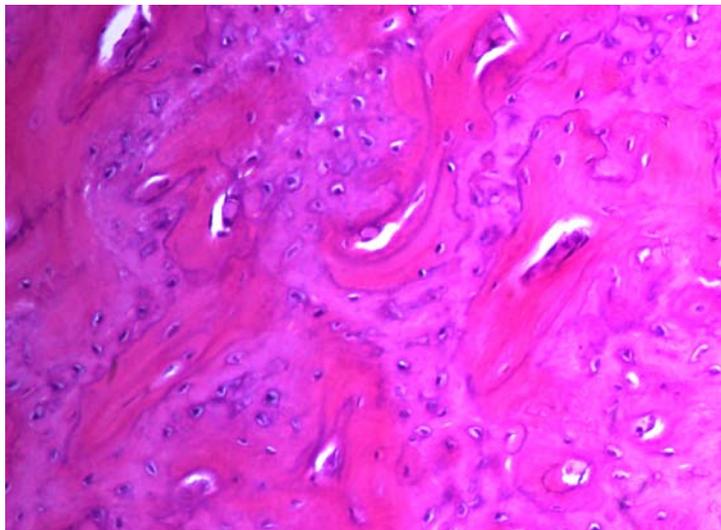


Ilustração 156 - Aspeto histológico do tecido ósseo imaturo ainda presente. (20X)

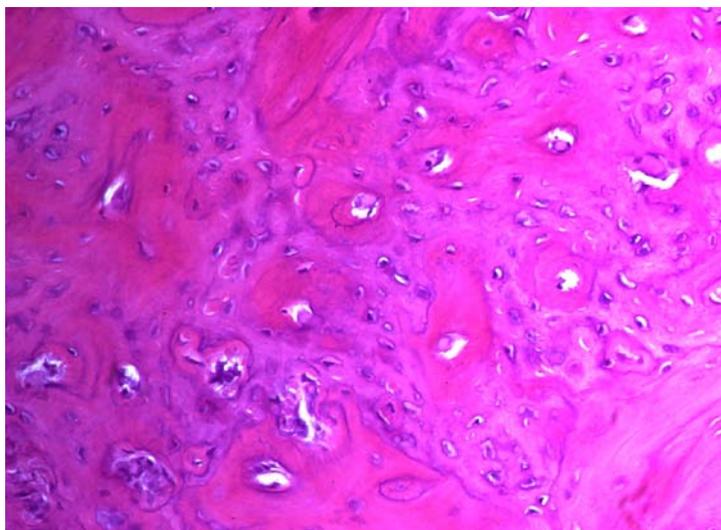


Ilustração 157 - Aspeto histológico do tecido ósseo imaturo ainda presente. (20X)

Em síntese, os defeitos obtidos com recurso à utilização do piezocirúrgico mostram, no período inicial, alguns aspetos que se afastam da normal fisiologia do processo de cicatrização. A partir do 7º dia observa-se uma sequência muito semelhante à verificada nos defeitos anteriormente descritos. Todavia, o tecido ósseo neoformado no interior do defeito parece apresentar, no final do período experimental, uma menor qualidade estrutural.

8.4 ANÁLISE HISTOLÓGICA QUANTITATIVA

8.4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A área de referência do defeito é um círculo de 1,8 mm de diâmetro, a que corresponde uma área total de 2,54 mm².

A formação de novo osso (NBV) foi avaliada em relação à área total do defeito (TV), dando origem a valores percentuais: $\frac{NBV}{TV} \times 100$

Os resultados da histomorfometria são apresentados em função do tempo de estudo e, dentro deste, subdividido por método de realização de osteotomia:

- B – Broca
- L – *Laser*
- P – Piezocirúrgico

As imagens a seguir apresentadas foram selecionadas de forma aleatória, possuem escala e podem ser medidas diretamente.

8.4.2 RESULTADOS HISTOMORFOMÉTRICOS

8.4.2.1 ZERO DIAS

No grupo da broca e do piezocirúrgico podemos observar que o defeito efetuado corresponde perfeitamente aos limites da circunferência definida (a verde ou amarelo) de 1,8 mm de diâmetro (ROI). (Ver Ilustração 159 e Ilustração 163)

No grupo do *Laser* a geometria circunferencial nem sempre se verificou. Nestes casos, foi definido um ROI irregular (a amarelo). (Ver Ilustração 161)

8.4.2.2 TRÊS DIAS

Aos três dias, com a ampliação de 2X não foi possível detetar a presença de tecido ósseo em nenhuma das amostras.

8.4.2.3 SETE DIAS

Broca (NBV/TV) (%)	<i>Laser</i> (NBV/TV) (%)	Piezocirúrgico (NBV/TV) (%)
31,33	31,34	39,40
30,76	30,50	39,16
30,43	30,21	36,77
30,27	29,77	35,32
30,06	29,63	33,61
28,91	28,66	30,82
28,48	28,02	30,18
27,82	26,13	27,16

Tabela 14 - Relação de Volume de osso neoformado (NBV) / Volume total do defeito (TV) – 7 dias

8.4.2.4 CATORZE DIAS

Broca (NBV/TV) (%)	Laser (NBV/TV) (%)	Piezocirúrgico (NBV/TV) (%)
58,03	76,93	69,52
50,98	64,97	69,42
46,57	64,73	64,54
59,77	63,27	61,01
61,13	61,83	60,68
48,27	60,83	55,93
48,64	58,62	55,78
47,40	55,55	54,54

Tabela 15 – Relação de Volume de osso neoformado (NBV) / Volume total do defeito (TV) – 14 dias

8.4.2.5 VINTE E OITO DIAS

Broca (NBV/TV) (%)	Laser (NBV/TV) (%)	Piezocirúrgico (NBV/TV) (%)
89,78	82,66	86,94
89,72	82,29	86,65
88,66	81,89	83,87
87,77	78,48	82,30
85,91	78,29	79,31
85,80	74,86	78,03
83,53	58,04	76,34
81,17	55,13	73,84

Tabela 16 - Relação de Volume de osso neoformado (NBV) / Volume total do defeito (TV) – 28 dias

8.4.2.6 QUARENTA E DOIS DIAS

Broca (NBV/TV) (%)	Laser (NBV/TV) (%)	Piezocirúrgico (NBV/TV) (%)
98,09	97,07	97,63
98,04	96,95	95,86
96,98	96,5	95,18
96,32	96,02	94,67
94,90	95,25	92,24
94,65	95,25	90,27
94,51	94,39	89,23
85,85	93,68	33,72

Tabela 17 - Relação de Volume de osso neoformado (NBV) / Volume total do defeito (TV) – 42 dias

8.4.3 BROCA (0 DIAS)

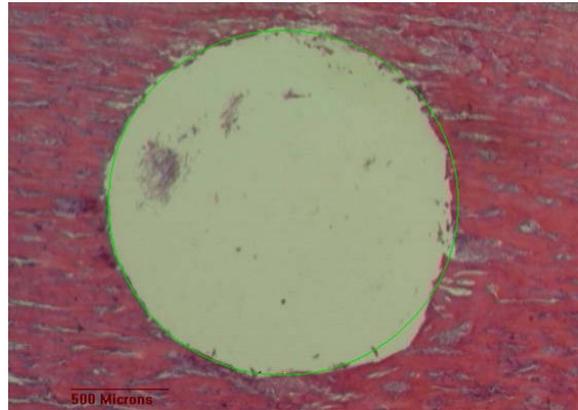
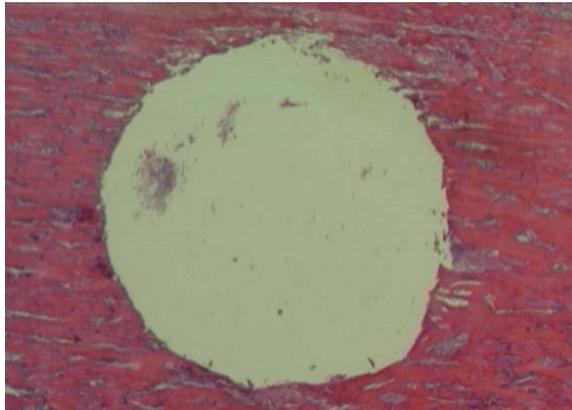


Ilustração 158 - Defeito efetuado com broca (0 dias).
Ilustração 159 - Defeito efetuado com broca (0 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.4 LASER (0 DIAS)

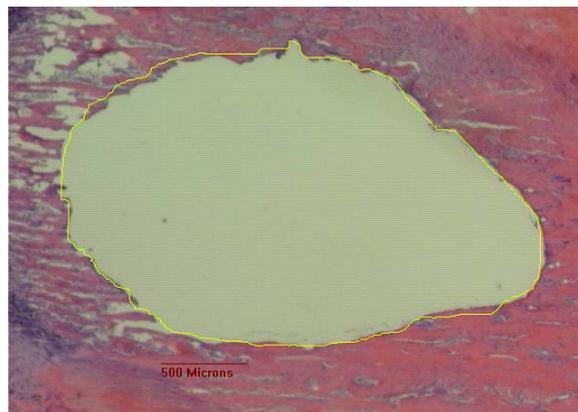
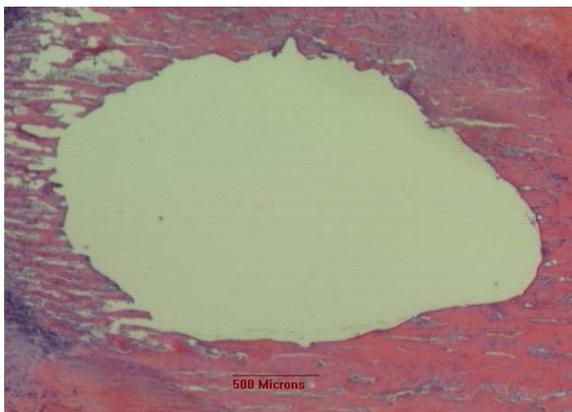


Ilustração 160 - Defeito efetuado com Laser (0 dias).
Ilustração 161 - Defeito efetuado com Laser (0 dias). ROI Irregular, definido.

8.4.5 PIEZOCIRÚRGICO (0 DIAS)

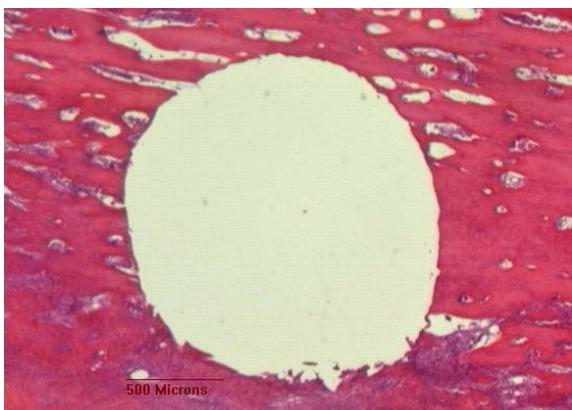


Ilustração 162 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (0 dias).
Ilustração 163 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (0 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.6 BROCA (3 DIAS)



Ilustração 164 - Defeito efetuado com broca (3 dias).

Ilustração 165 - Defeito efetuado com broca (3 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.7 LASER (3 DIAS)

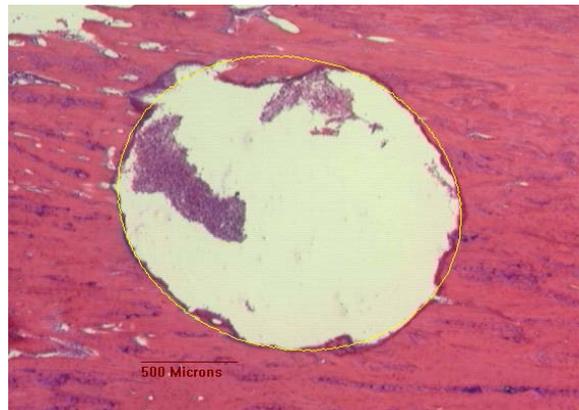


Ilustração 166 - Defeito efetuado com Laser (3 dias).

Ilustração 167 - Defeito efetuado com Laser (3 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.8 PIEZOCIRÚRGICO (3 DIAS)

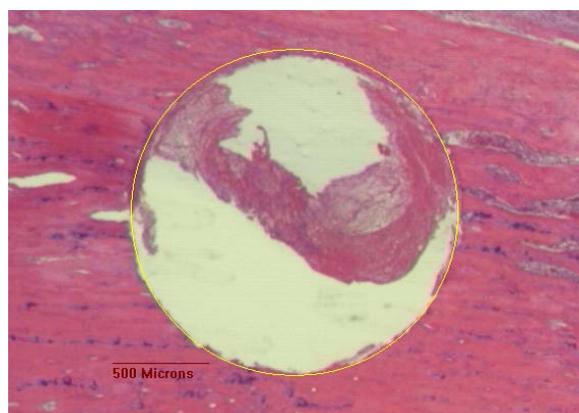


Ilustração 168 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (3 dias).

Ilustração 169 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (3 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.9 BROCA (7 DIAS)

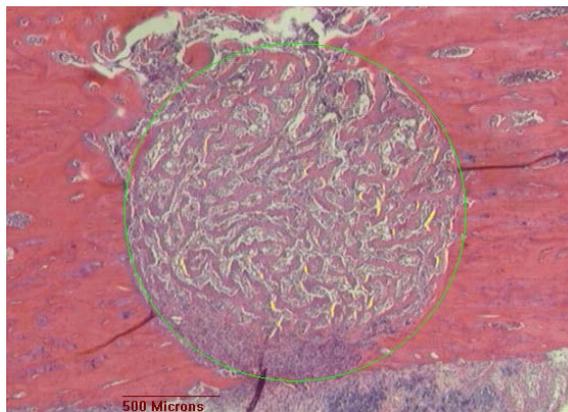
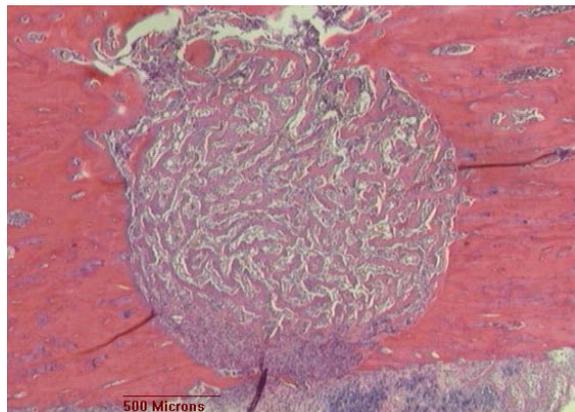


Ilustração 170 - Defeito efetuado com broca (7 dias).

Ilustração 171 - Defeito efetuado com broca (7 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.10 LASER (7 DIAS)

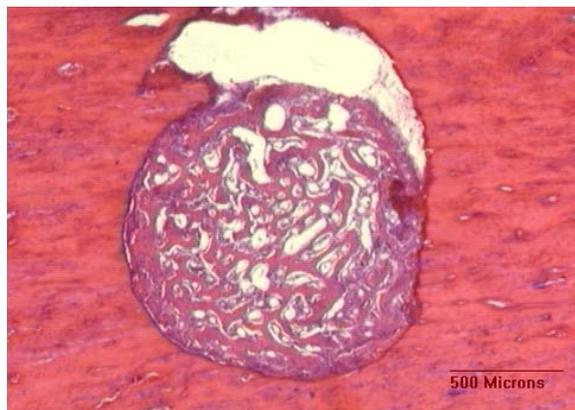


Ilustração 172 - Defeito efetuado c/ Laser (7 dias).

Ilustração 173 - Defeito efetuado c/ Laser (7 dias). ROI c/ 1,6 mm de diâmetro.

8.4.11 PIEZOCIRÚRGICO (7 DIAS)

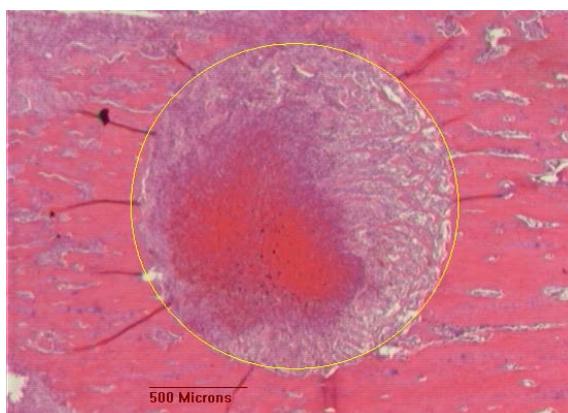
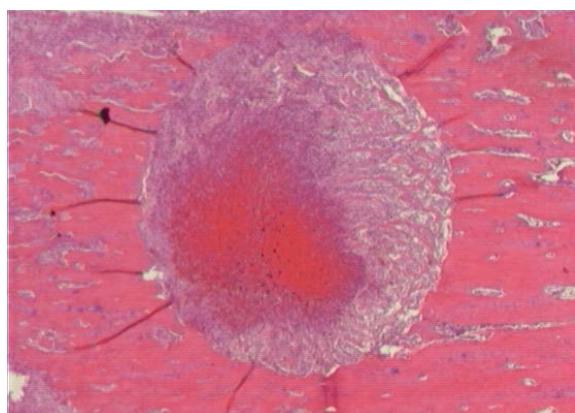


Ilustração 174 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (7 dias).

Ilustração 175 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (7 dias). ROI c/ 18 mm de diâmetro.

8.4.12 BROCA (14 DIAS)

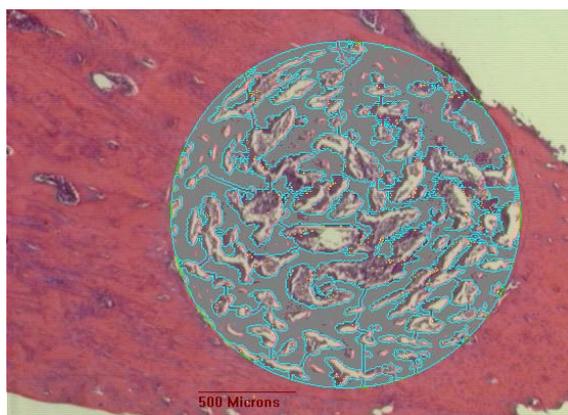
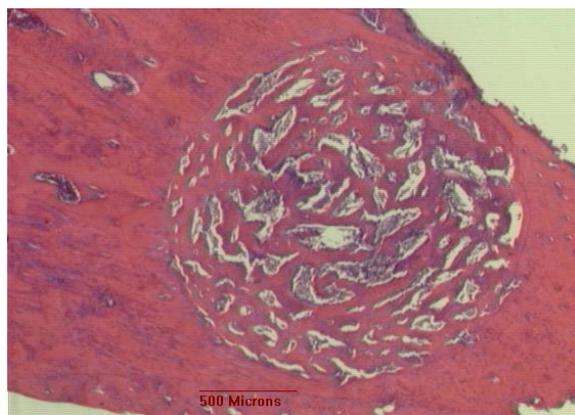


Ilustração 176 - Defeito efetuado com broca (14 dias).

Ilustração 177 - Defeito efetuado com broca (14 dias). Tecido ósseo neoformado delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.13 LASER (14 DIAS)

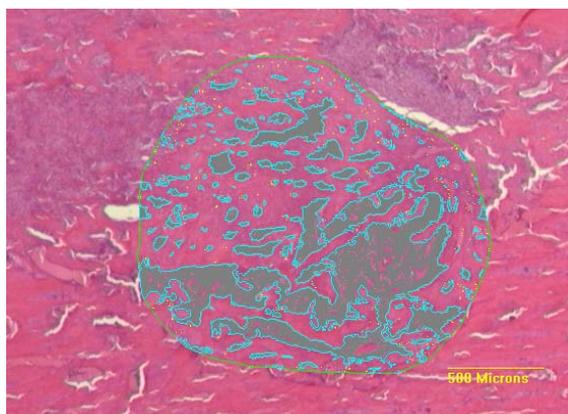
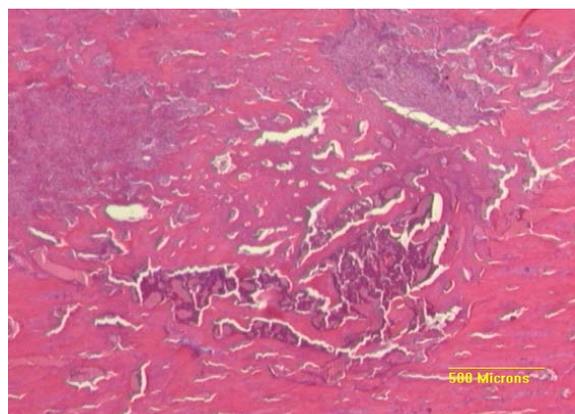


Ilustração 178 - Defeito efetuado com Laser (14 dias).

Ilustração 179 - Defeito efetuado com Laser (14 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.14 PIEZOCIRÚRGICO (14 DIAS)

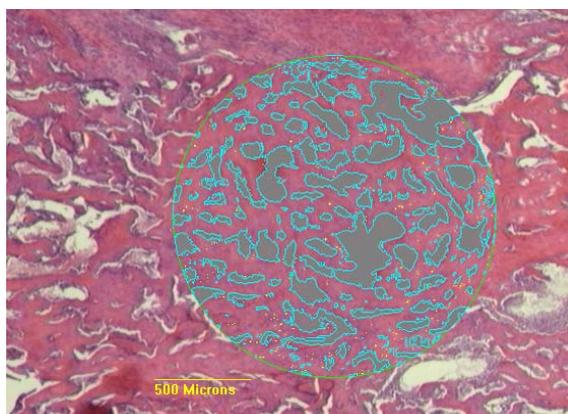
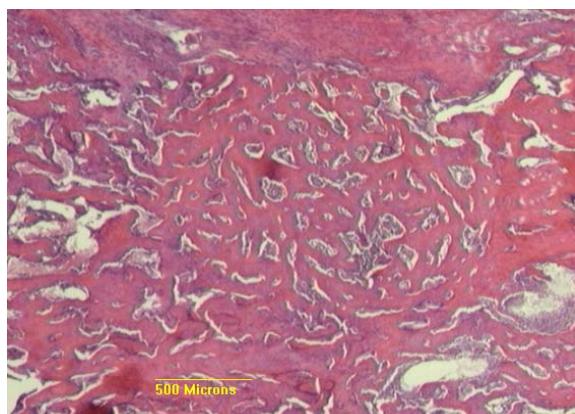


Ilustração 180 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (14 dias).

Ilustração 181 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (14 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.15 BROCA (28 DIAS)

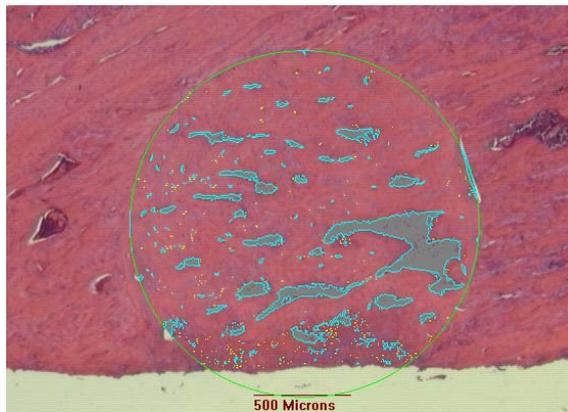
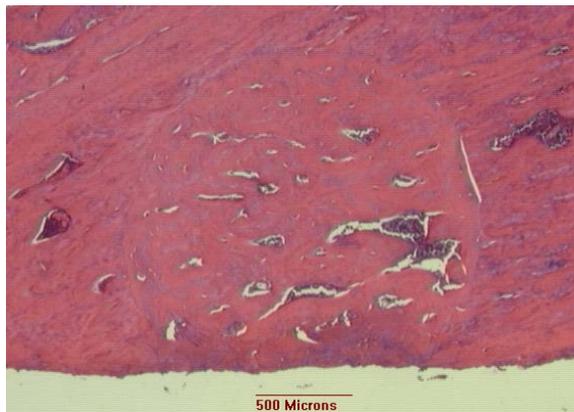


Ilustração 182 - Defeito efetuado com broca (28 dias).

Ilustração 183 - Defeito efetuado com broca (28 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.16 LASER (28 DIAS)

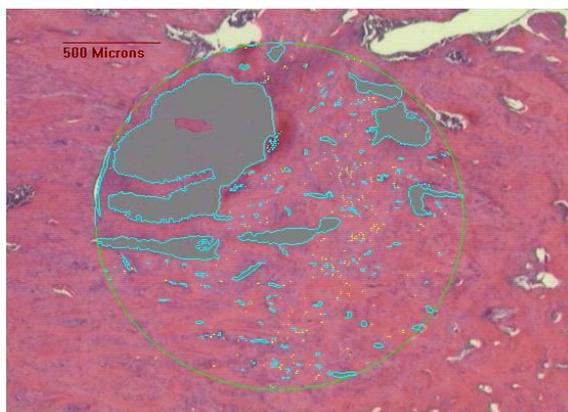
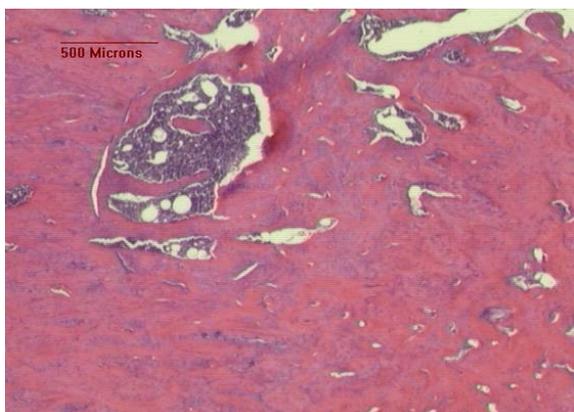


Ilustração 184 - Defeito efetuado com Laser (28 dias).

Ilustração 185 - Defeito efetuado com Laser (28 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.17 PIEZOCIRÚRGICO (28 DIAS)

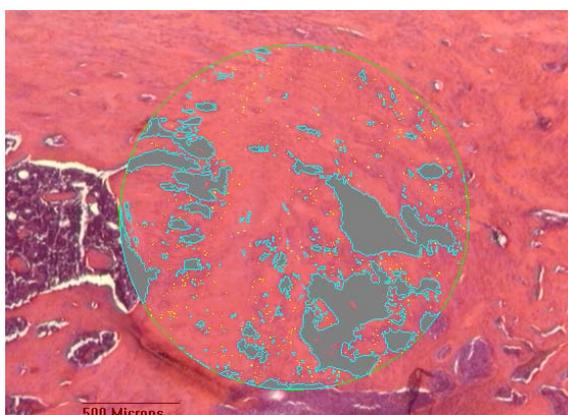


Ilustração 186 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (28 dias).

Ilustração 187 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (28 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.18 BROCA (42 DIAS)

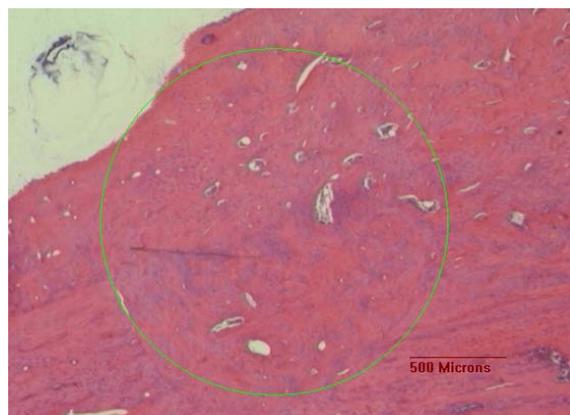
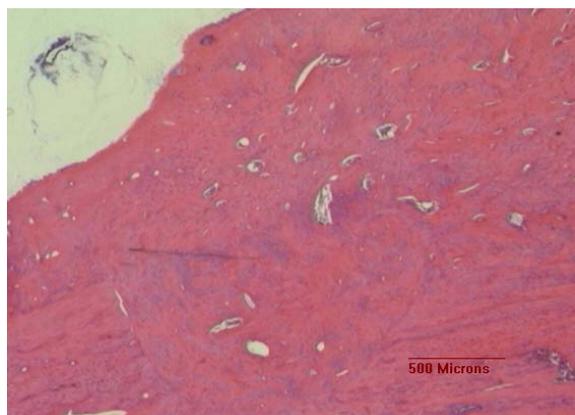


Ilustração 188 - Defeito efetuado com broca (42 dias).

Ilustração 189 - Defeito efetuado com broca (42 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.19 LASER (42 DIAS)

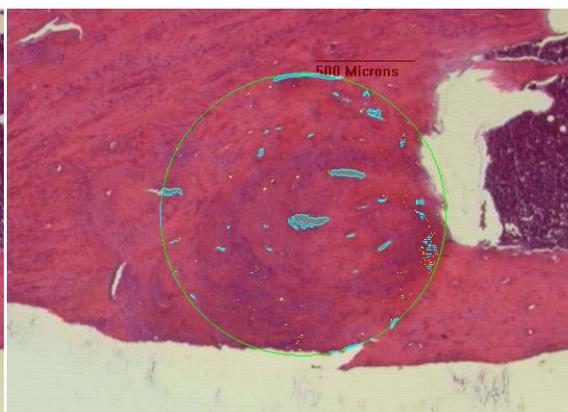
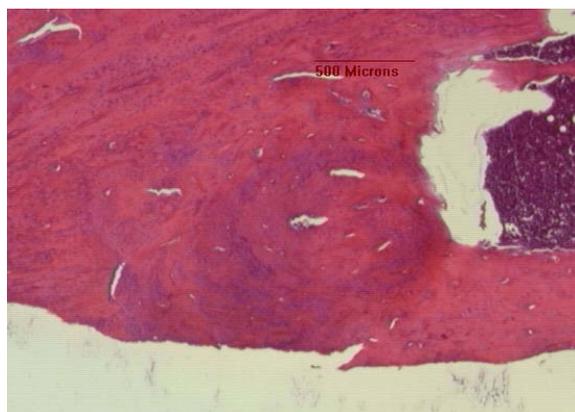


Ilustração 190 - Defeito efetuado com Laser (42 dias).

Ilustração 191 - Defeito efetuado com Laser (42 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.20 PIEZOCIRÚRGICO (42 DIAS)

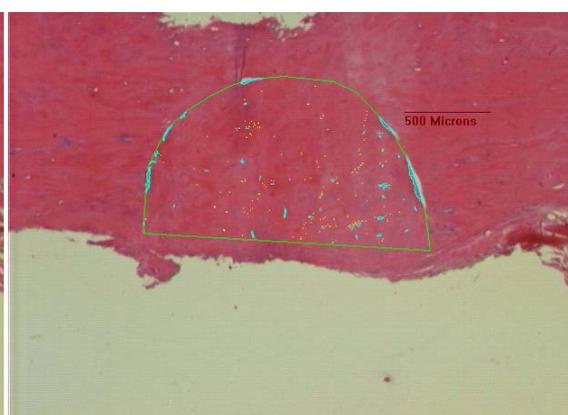


Ilustração 192 - Defeito efetuado com piezocirúrgico (42 dias).

Ilustração 193 - Defeito efetuado com broca (42 dias). Ausência de tecido ósseo delimitada a azul e preenchida a cinzento.

8.4.21 OUTRAS IMAGENS DE ANÁLISE QUANTITATIVA

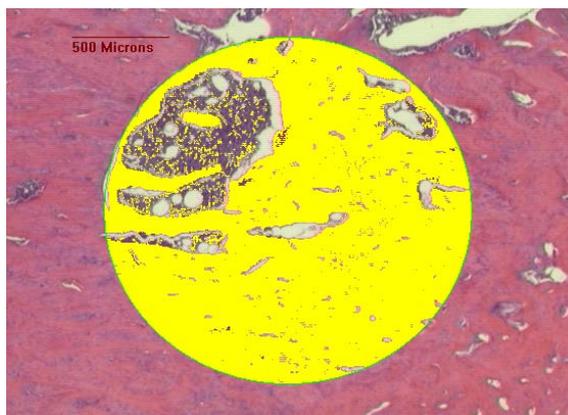
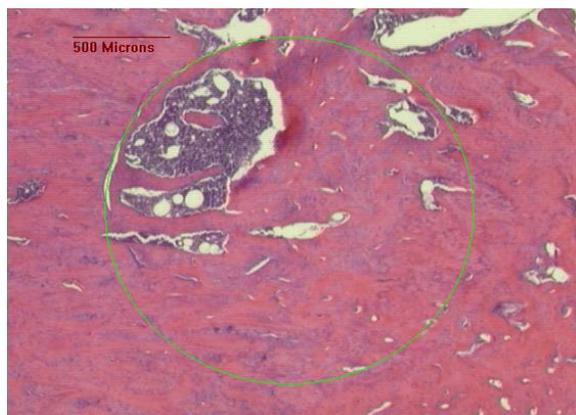


Ilustração 194 - Laser 28 dias. ROI de 1,8 mm.

Ilustração 195 - Laser 28 dias. Osso neoformado selecionado e identificado a amarelo.

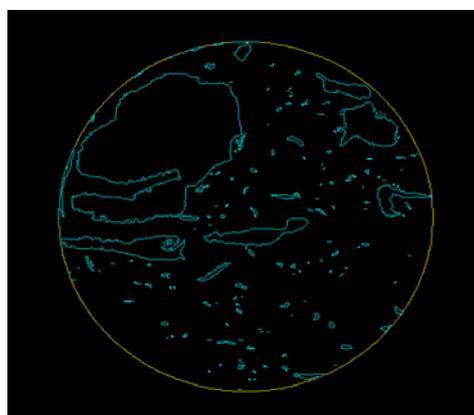


Ilustração 196 - Laser 28 dias. Ausência de osso identificada a amarelo. (Inversão da Ilustração 195)

Ilustração 197 - Laser 28 dias. Imagem “topográfica”.

8.4.21.1 OSSO NATIVO

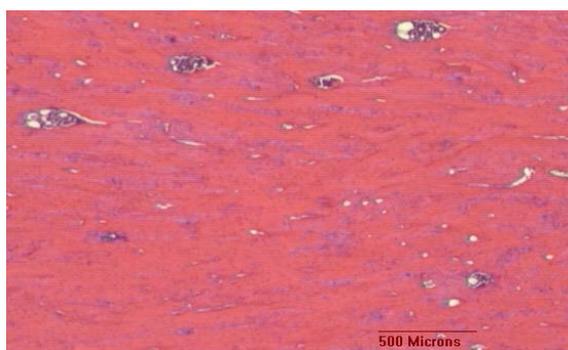
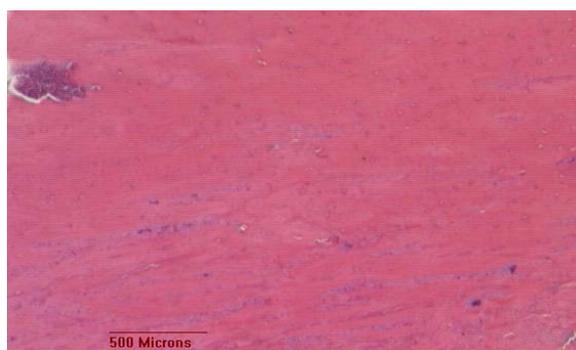


Ilustração 198 – Osso nativo da cortical da tíbia.

Ilustração 199 – Osso nativo da cortical da tíbia.

8.5 TEMPOS NECESSÁRIOS À EXECUÇÃO DOS DEFEITOS

8.5.1 MOMENTO ZERO (EX VIVO)

	Laser (mm:ss)	Broca (mm:ss)	Piezo (mm:ss)
1	00:12	00:13	00:20
2	00:12	00:14	00:20
3	00:13	00:15	00:21
4	00:13	00:16	00:21
5	00:13	00:16	00:22
6	00:13	00:16	00:22
7	00:14	00:17	00:24
8	00:15	00:18	00:24
Média	00:13	00:16	00:22

Tabela 18 - Tabela dos tempos necessários à execução dos defeitos (ex vivo). Ordenação crescente. (mm:ss)

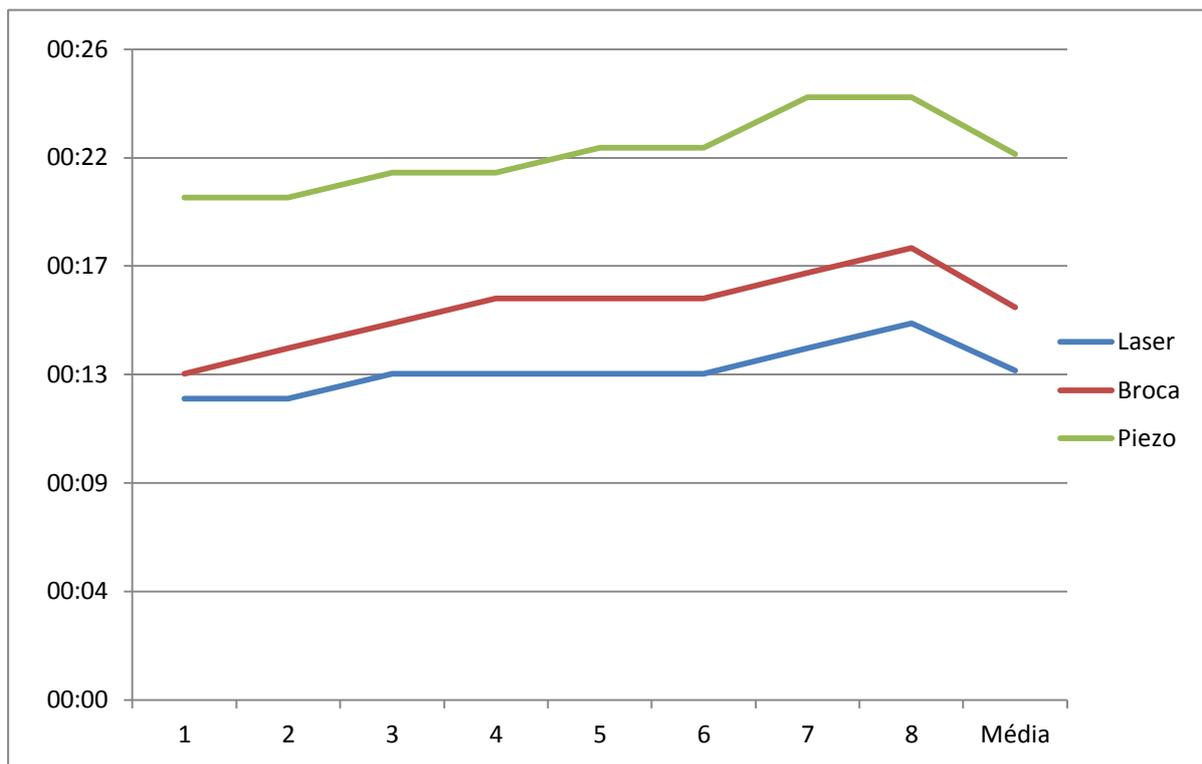


Gráfico 2 - Gráfico dos tempos necessários à execução dos defeitos (ex vivo). Ordenação crescente. (mm:ss)

8.5.2 MOMENTOS 3, 7, 14, 28 E 42 (IN VIVO)

	Laser (mm:ss)	Broca (mm:ss)	Piezo (mm:ss)
1	00:11	00:18	00:12
2	00:13	00:18	00:14
3	00:15	00:18	00:16
4	00:15	00:18	00:17
5	00:15	00:18	00:18
6	00:17	00:18	00:18
7	00:19	00:19	00:18
8	00:19	00:19	00:18
9	00:20	00:19	00:19
10	00:20	00:20	00:19
11	00:20	00:20	00:19
12	00:21	00:20	00:20
13	00:22	00:20	00:20
14	00:22	00:20	00:20
15	00:22	00:21	00:20
16	00:23	00:21	00:20
17	00:24	00:21	00:21
18	00:25	00:21	00:21
19	00:27	00:21	00:21
20	00:27	00:21	00:22
21	00:29	00:22	00:23
22	00:31	00:22	00:24
23	00:31	00:22	00:24
24	00:33	00:22	00:24
25	00:33	00:22	00:24
26	00:33	00:22	00:24
27	00:34	00:22	00:25
28	00:35	00:23	00:25
29	00:36	00:23	00:26
30	00:38	00:23	00:27
31	00:40	00:23	00:27
32	00:40	00:23	00:27
33	00:40	00:24	00:27
34	00:43	00:24	00:28
35	00:44	00:24	00:29
36	00:50	00:24	00:32
37	00:52	00:25	00:34
38	00:52	00:25	00:34
39	00:52	00:26	00:38
40	00:56	00:26	00:43
Média	00:31	00:22	00:24

Tabela 19 - Tempos necessários à execução dos defeitos (in vivo). Ordenação crescente. (mm:ss)

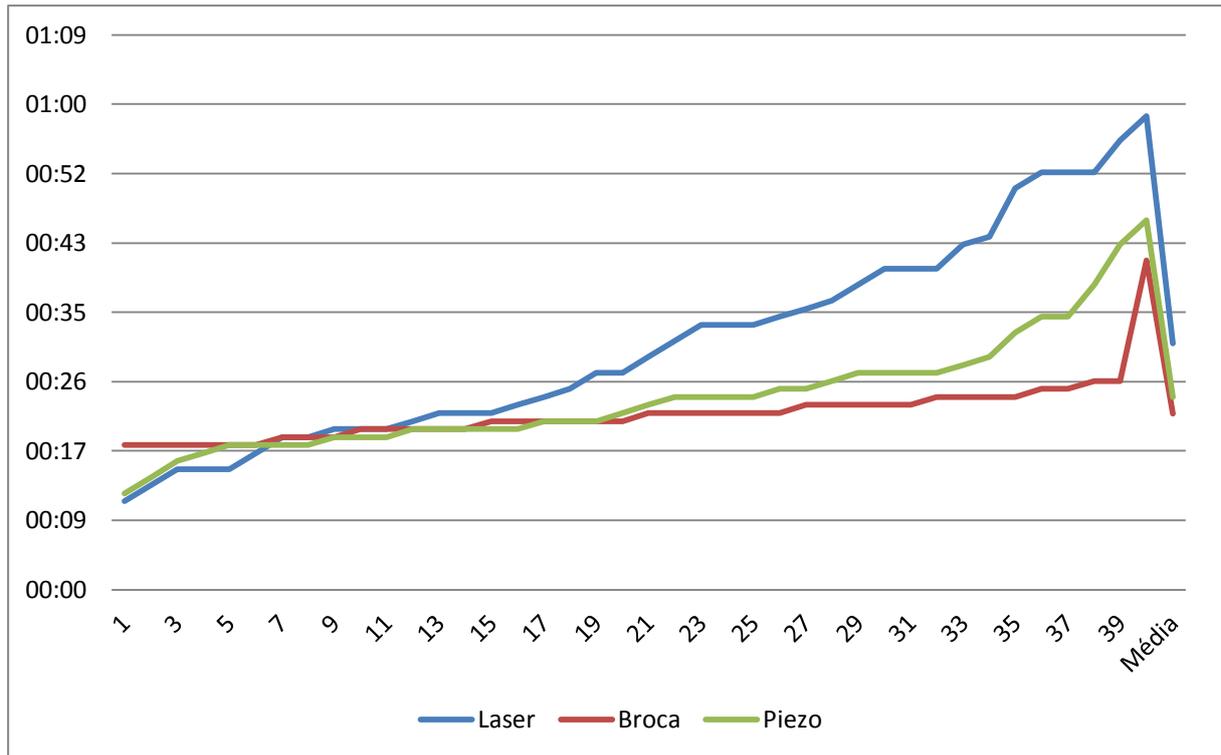


Gráfico 3 - Tempos necessários à execução dos defeitos (in vivo). Ordenação crescente. (mm:ss)

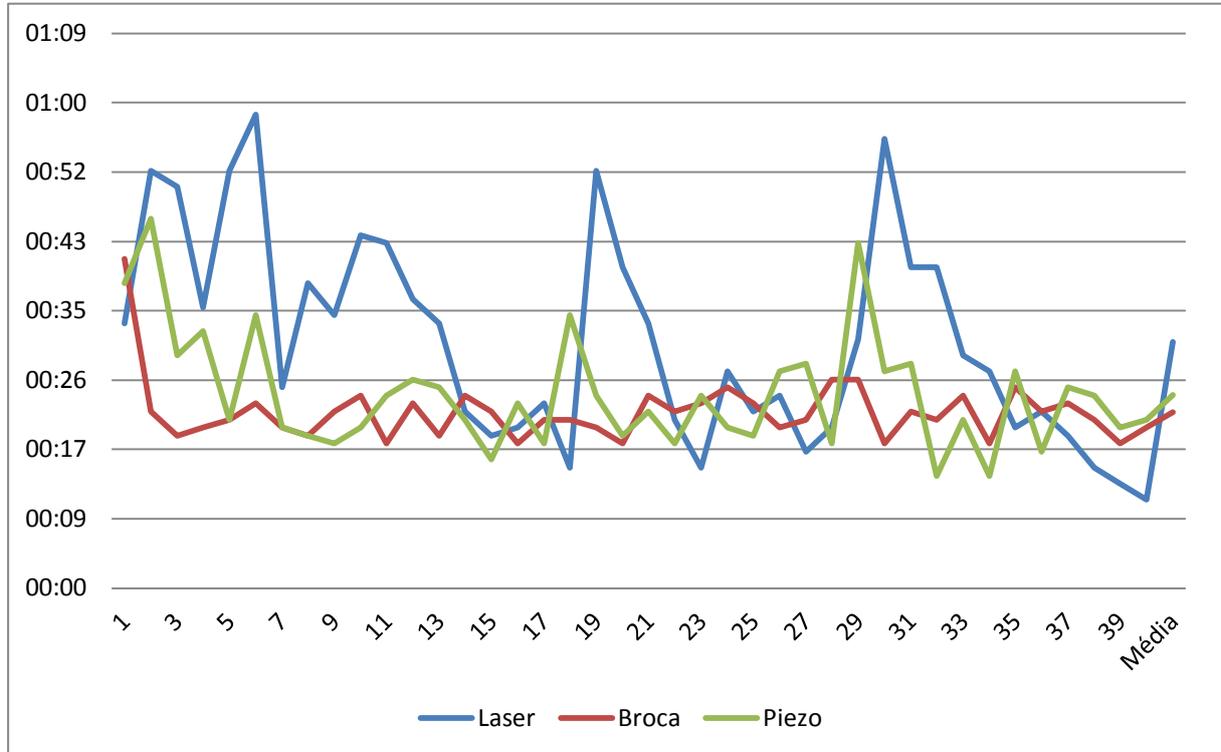


Gráfico 4 - Tempos necessários à execução dos defeitos (in vivo). Ordenação cronológica. (mm:ss)

8.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Avaliação da geração de diferentes defeitos na formação de novo osso.

8.6.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

As duas tabelas seguintes mostram os pesos (inicial e final) para cada um dos métodos e cada grupo de animais eutanasiados em tempos diferentes.

Tempo	Broca	Laser	Piezo	P*
3 d ($\bar{x} \pm dp$)	336.75 ± 14.01	355.50 ± 29.03	336.00 ± 14.40	0.591
7 d ($\bar{x} \pm dp$)	324.25 ± 16.24	341.25 ± 4.99	347.00 ± 17.93	0.146
14 d ($\bar{x} \pm dp$)	333.75 ± 17.19	344.75 ± 29.88	366.00 ± 24.10	0.208
28 d ($\bar{x} \pm dp$)	317.50 ± 27.16	349.25 ± 7.14	345.75 ± 4.03	0.292
42 d ($\bar{x} \pm dp$)	344.25 ± 14.86	334.25 ± 15.67	346.75 ± 15.65	0.317

Tabela 20 - Peso inicial (#Kruskal-Wallis)

Tempo	Broca	Laser	Piezo	P*
3 d ($\bar{x} \pm dp$)	343.25 ± 14.80	361.50 ± 28.90	342.00 ± 15.19	0.595
7 d ($\bar{x} \pm dp$)	339.75 ± 18.15	354.75 ± 6.13	362.50 ± 20.34	0.208
14 d ($\bar{x} \pm dp$)	361.50 ± 18.05	369.75 ± 32.46	392.50 ± 24.02	0.218
28 d ($\bar{x} \pm dp$)	367.75 ± 28.31	428.50 ± 9.43	401.50 ± 4.80	0.018*
42 d ($\bar{x} \pm dp$)	452.25 ± 28.61	393.50 ± 26.44	410.75 ± 22.50	0.049

Tabela 21- Peso final (#Kruskal-Wallis)

* Significativo para $p < 0.05$

8.7 RELAÇÃO NOVO OSSO FORMADO / VOLUME TOTAL

A tabela seguinte mostra a percentagem de novo osso formado ao longo do tempo e para cada um dos métodos.

Tempo	Broca	Laser	Piezo
3 d ($\bar{x} \pm dp$)	0.00 ± 0.=0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
7 d ($\bar{x} \pm dp$)	29.75 ± 1.24	29.31 ± 1.64	34.09 ± 4.40
14 d ($\bar{x} \pm dp$)	52.64 ± 6.07	63.29 ± 6.38	61.37 ± 6.02
28 d ($\bar{x} \pm dp$)	86.54 ± 3.07	71.93 ± 15.05	80.86 ± 4.87
42 d ($\bar{x} \pm dp$)	94.96 ± 3.93	95.79 ± 1.18	86.08 ± 21.35

Tabela 22 - Percentagem de novo osso formado (NBV/TV x 100)

8.7.1 ANÁLISE INFERENCIAL

Com o objetivo de verificar se existiam diferenças estatisticamente significativas nos diferentes tempos e método testados procedeu-se a um teste ANOVA não paramétrico de dois fatores (tempo de formação e método).

Verifica-se que:

- Não existem diferenças significativas relativamente ao método
 - (F (120,2) = 0.171; p = 0.843)
- Existem diferenças significativas no respeitante aos dias de formação
 - (F (120,4) = 441.689; p < 0.001).

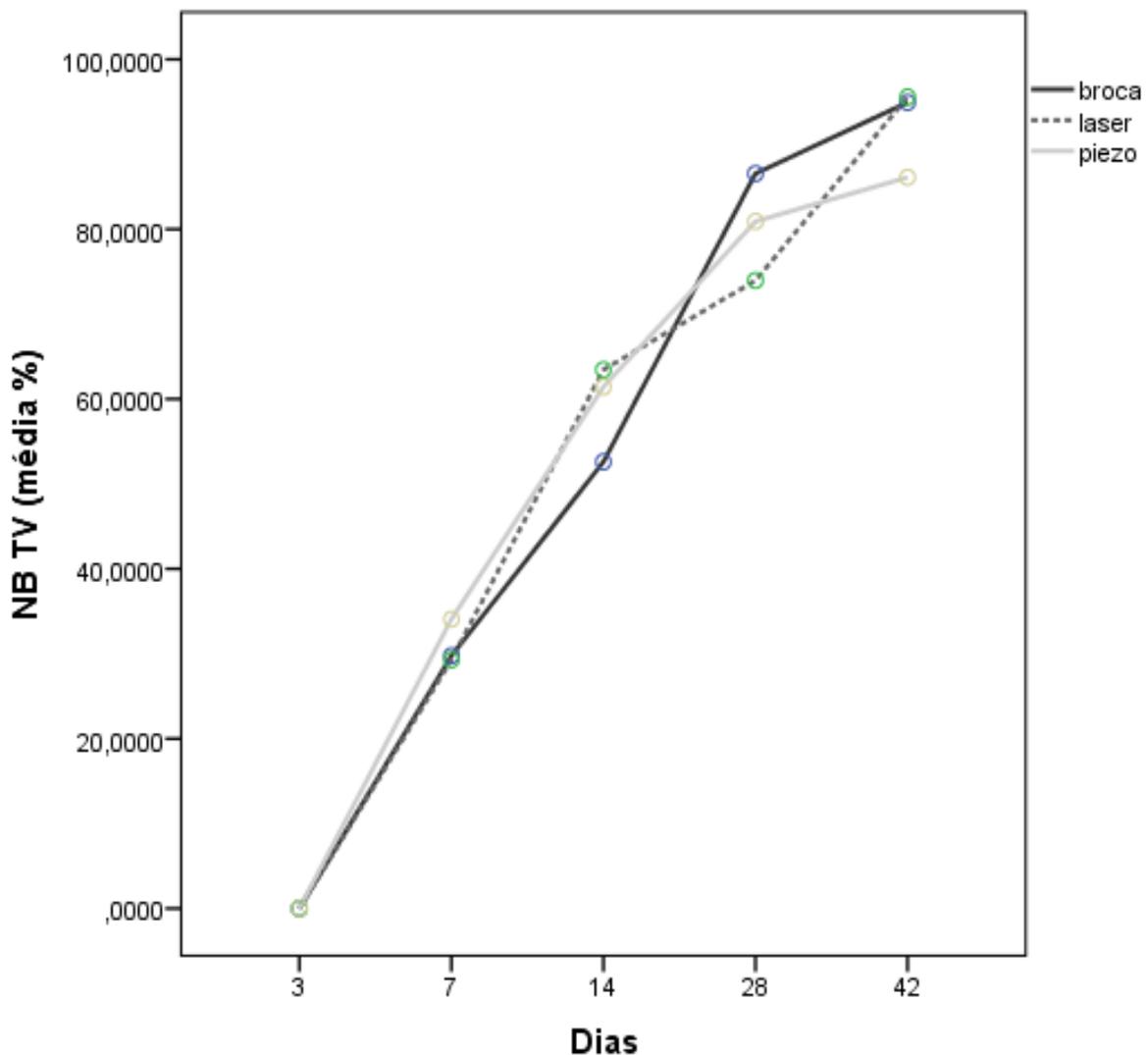


Gráfico 5 - Média dos valores NBV/TV, em percentagem, nos diferentes períodos, para os três métodos

8.7.2 ANÁLISE DE FORMAÇÃO DE NOVO OSSO

Para cada um dos tempos (3, 7, 14, 28 e 42 dias) testou-se a formação de novo osso entre cada um dos métodos (Broca, Laser, Piezocirúrgico).

Tendo-se verificado violação de pressuposto de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, optou-se pela utilização do teste de Kruskal-Wallis para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os métodos.

A tabela seguinte resume os resultados obtidos:

Tempo	Teste	p
3 Dias	$\chi^2 (2) = 0.000$	1.000
7 Dias	$\chi^2 (2) = 6.180$	0.046*
14 Dias	$\chi^2 (2) = 8.835$	0.012*
28 Dias	$\chi^2 (2) = 10.820$	0.004*
42 Dias	$\chi^2 (2) = 2.543$	0.280

Tabela 23 – Teste de formação de volume de novo osso (NBV)

Para os dias 7, 14 e 28 verificam-se diferenças estatisticamente significativas. Pelo facto, realizaram-se testes post-hoc (Mann-Whitney).

8.7.3 TESTES POST-HOC (MANN-WHITNEY)

8.7.3.1 NBV/TV – DIAS 7, 14, 28 E 42

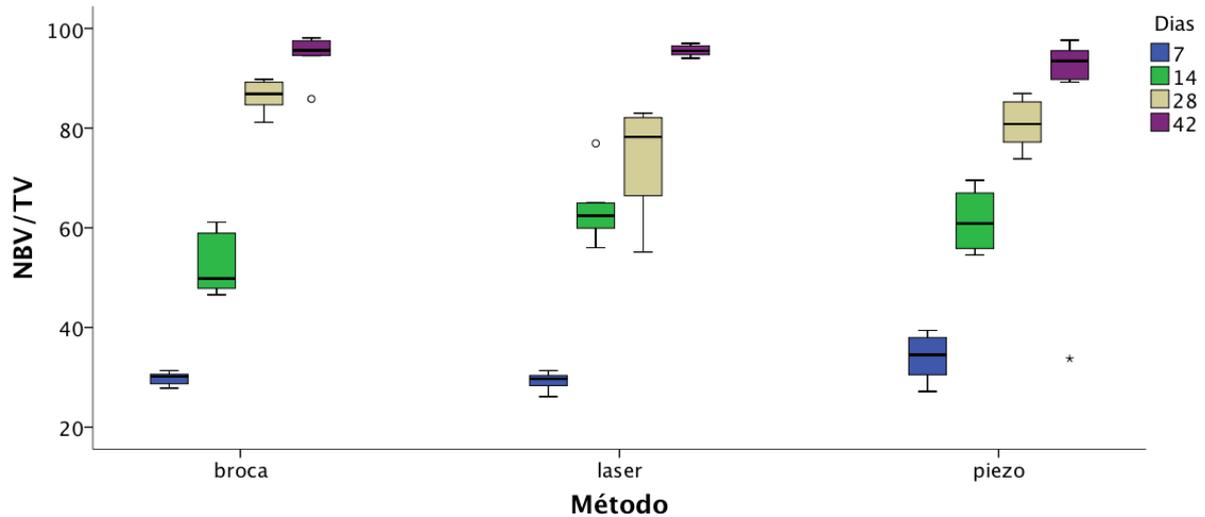


Gráfico 6 - Relação NBV/TV x 100 (7, 14, 28 e 42 dias)

8.7.3.1.1 7 DIAS

Observam-se diferenças estatisticamente significativas:

- Entre os métodos Broca e Piezocirúrgico
 - $U = 13.00$; $Z = -1.995$; $p = 0.046$
- Entre os métodos Laser e Piezocirúrgico
 - $U = 11.00$; $Z = -2.205$; $p = 0.027$
- Entre os métodos Broca e Laser não há diferenças estatisticamente significativas:
 - $U = 27.00$; $Z = -0.525$; $p = 0.600$

8.7.3.1.2 14 DIAS

Observam-se diferenças estatisticamente significativas:

- Entre os métodos Broca e *Laser*
 - $U = 6.00$; $Z = -2.731$; $p = 0.006$
- Entre os métodos Broca e Piezocirúrgico
 - $U = 11.00$; $Z = -2.205$; $p = 0.027$

Entre os métodos *Laser* e Piezocirúrgico não há diferenças estatisticamente significativas:

- ($U = 24.00$; $Z = -0.840$; $p = 0.401$).

8.7.3.1.3 28 DIAS

Observam-se diferenças estatisticamente significativas:

- Entre os métodos Broca e *Laser*
 - ($U = 3.00$; $Z = -3.046$; $p = 0.002$)
- Entre os métodos Broca e Piezocirúrgico
 - ($U = 11.00$; $Z = -2.205$; $p = 0.027$)

Entre os métodos *Laser* e Piezocirúrgico não há diferenças estatisticamente significativas

- ($U = 19.00$; $Z = -1.365$; $p = 0.172$).

8.7.3.1.4 42 DIAS

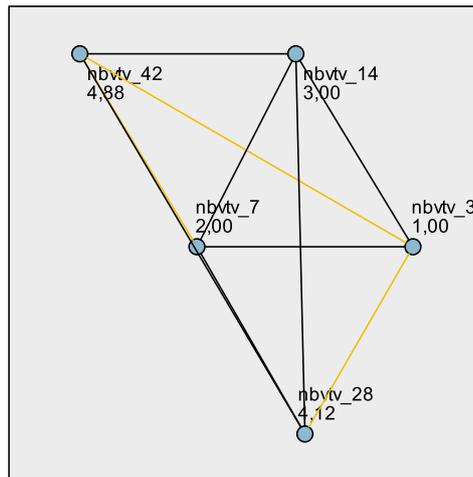
Não se observaram diferenças significativas entre qualquer dos métodos.

8.7.4 AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE NOVO OSSO

Para cada um dos métodos foi avaliada a formação de novo osso.

8.7.4.1 BROCA (TESTE DE FRIEDMAN)

Verifica-se a existência de diferenças estatisticamente significativas ($\chi^2(4) = 31.30$; $p < 0.001$) nos diferentes tempos.



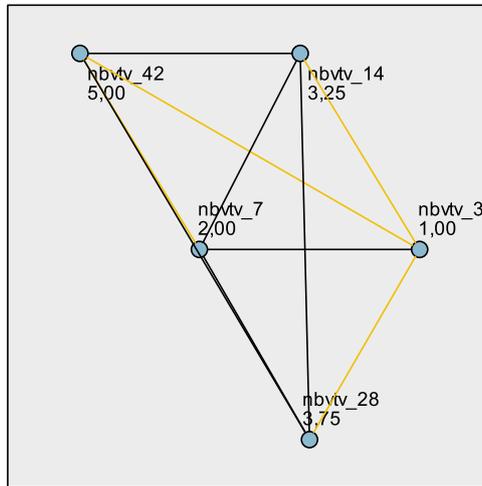
Each node shows the sample average rank.

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.
nbvtv_3-nbvtv_7	-1,000	,791	-1,265	,206	1,000
nbvtv_3-nbvtv_14	-2,000	,791	-2,530	,011	,114
nbvtv_3-nbvtv_28	-3,125	,791	-3,953	,000	,001
nbvtv_3-nbvtv_42	-3,875	,791	-4,902	,000	,000
nbvtv_7-nbvtv_14	-1,000	,791	-1,265	,206	1,000
nbvtv_7-nbvtv_28	-2,125	,791	-2,688	,007	,072
nbvtv_7-nbvtv_42	-2,875	,791	-3,637	,000	,003
nbvtv_14-nbvtv_28	-1,125	,791	-1,423	,155	1,000
nbvtv_14-nbvtv_42	-1,875	,791	-2,372	,018	,177
nbvtv_28-nbvtv_42	-,750	,791	-,949	,343	1,000

Gráfico 7 - Comparações múltiplas entre os diferentes tempos e Tabela respectiva (a amarelo figuram as que são estatisticamente significativas)

8.7.4.2 LASER (TESTE DE FRIEDMAN)

Para o método “Laser” verifica-se a existência de diferenças estatisticamente significativas ($\chi^2(4) = 30.80$; $p < 0.001$) nos diferentes tempos.



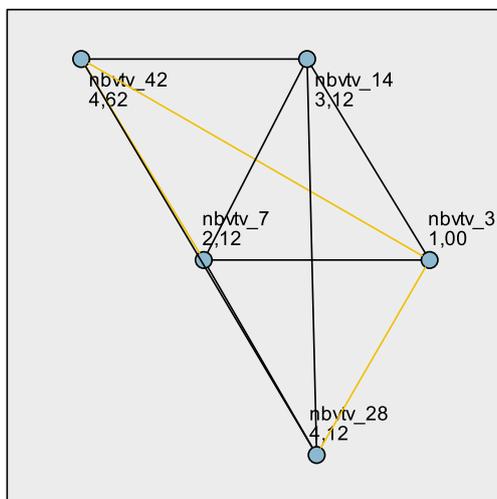
Each node shows the sample average rank.

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
nbvtv_3-nbvtv_7	-1,000	,791	-1,265	,206	1,000
nbvtv_3-nbvtv_14	-2,250	,791	-2,846	,004	,044
nbvtv_3-nbvtv_28	-2,750	,791	-3,479	,001	,005
nbvtv_3-nbvtv_42	-4,000	,791	-5,060	,000	,000
nbvtv_7-nbvtv_14	-1,250	,791	-1,581	,114	1,000
nbvtv_7-nbvtv_28	-1,750	,791	-2,214	,027	,269
nbvtv_7-nbvtv_42	-3,000	,791	-3,795	,000	,001
nbvtv_14-nbvtv_28	-,500	,791	-,632	,527	1,000
nbvtv_14-nbvtv_42	-1,750	,791	-2,214	,027	,269
nbvtv_28-nbvtv_42	-1,250	,791	-1,581	,114	1,000

Gráfico 8 - Comparações múltiplas entre os diferentes tempos e tabela correspondente (a amarelo figuram as que são estatisticamente significativas)

8.7.4.3 PIEZOCIRÚRGICO (TESTE DE FRIEDMAN)

Para o método “Piezocirúrgico” verifica-se a existência de diferenças estatisticamente significativas ($\chi^2(4) = 27.80$; $p < 0.001$) nos diferentes tempos.



Each node shows the sample average rank.

Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
nbvtv_3-nbvtv_7	-1,125	,791	-1,423	,155	1,000
nbvtv_3-nbvtv_14	-2,125	,791	-2,688	,007	,072
nbvtv_3-nbvtv_28	-3,125	,791	-3,953	,000	,001
nbvtv_3-nbvtv_42	-3,625	,791	-4,585	,000	,000
nbvtv_7-nbvtv_14	-1,000	,791	-1,265	,206	1,000
nbvtv_7-nbvtv_28	-2,000	,791	-2,530	,011	,114
nbvtv_7-nbvtv_42	-2,500	,791	-3,162	,002	,016
nbvtv_14-nbvtv_28	-1,000	,791	-1,265	,206	1,000
nbvtv_14-nbvtv_42	-1,500	,791	-1,897	,058	,578
nbvtv_28-nbvtv_42	-,500	,791	-,632	,527	1,000

Gráfico 9 - Comparações múltiplas entre os diferentes tempos e tabela correspondente (a amarelo figuram as que são estatisticamente significativas)

8.7.5 ASSOCIAÇÃO ENTRE OS TEMPOS DE EXECUÇÃO E O NOVO OSSO FORMADO

A associação entre o novo osso formado e o tempo de execução foi verificada por um teste de correlação usando o coeficiente de Spearmann.

As tabelas que se seguem mostram os valores do coeficiente de correlação e os valores de p, para cada método. As correlações estatisticamente significativas encontram-se assinaladas.

8.7.5.1 BROCA

		Incisão (s)	Defeito (s)	Sutura (s)	Total (s)
NBV/TV	Coeficiente de correlação	0.076	-0.210	-0.008	0.032
	p	0.639	0.193	0.962	0.847

Tabela 24 – Associação entre os tempos cirúrgicos e o novo osso formado (NBV/TV) – Método: Broca

8.7.5.2 LASER

		Incisão (s)	Defeito (s)	Sutura (s)	Total (s)
NBV/TV	Coeficiente de correlação	-0.092	0.094	0.173	0.173
	p	0.572	0.562	0.285	0.286

Tabela 25 – Associação entre os tempos cirúrgicos e o novo osso formado (NBV/TV) – Método: Laser

8.7.5.3 PIEZOCIRÚRGICO

		Incisão (s)	Defeito (s)	Sutura (s)	Total (s)
NBV/TV	Coeficiente de correlação	-0.284	0.218	0.411**	0.251
	p	0.075	0.177	0.008	0.118

Tabela 26 – Associação entre os tempos cirúrgicos e o novo osso formado (NBV/TV) – Método: Piezocirúrgico

Pelos resultados apresentados nas tabelas observamos que apenas existe correlação estatisticamente significativa entre a formação de novo osso e o tempo de sutura para o método 'Piezocirúrgico', todavia, a força de correlação é moderada (Coeficiente de correlação = 0.411).

8.7.6 EVOLUÇÃO DO PESO

Comparámos a evolução do peso de cada um dos subgrupos (I, II, III, IV, V e VI) com ratos não intervencionados, da mesma espécie.

Os resultados que se seguem mostram a comparação da taxa de crescimento (gramas/dias) nos diferentes grupos.

Para avaliar a existência de diferenças na taxa de crescimento entre os diferentes subgrupos aplicámos o teste de Kruskal-Wallis após se ter verificado que o grupo VI não apresenta distribuição normal (Shapiro-Wilk, $p = 0.014$).

Não existem diferenças estatisticamente significativas na taxa de crescimento entre os diferentes subgrupos ($\chi^2(5) = 4.744$; $p = 0.448$).

8.7.7 CORRELAÇÃO ENTRE A TAXA DE CRESCIMENTO E O PESO INICIAL

Outro aspeto explorado foi a possível correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial. Para tal, determinou-se o coeficiente de correlação (Pearson e de Spearman). Também se construíram gráficos de dispersão correspondentes.

Verifica-se que não existe correlação significativa para todos os grupos à exceção do subgrupo VI

	Tíbia direita	Tíbia esquerda
Subgrupo I	<i>Laser Er:YAG</i>	Piezocirurgia
Subgrupo II	<i>Laser Er:YAG</i>	Broca
Subgrupo III	Piezocirurgia	<i>Laser Er:YAG</i>
Subgrupo IV	Piezocirurgia	Broca
Subgrupo V	Broca	<i>Laser Er:YAG</i>
Subgrupo VI	Broca	Piezocirurgia

Tabela 27 - Descrição do tipo de defeitos realizados em cada grupo

8.7.7.1 SUBGRUPO I

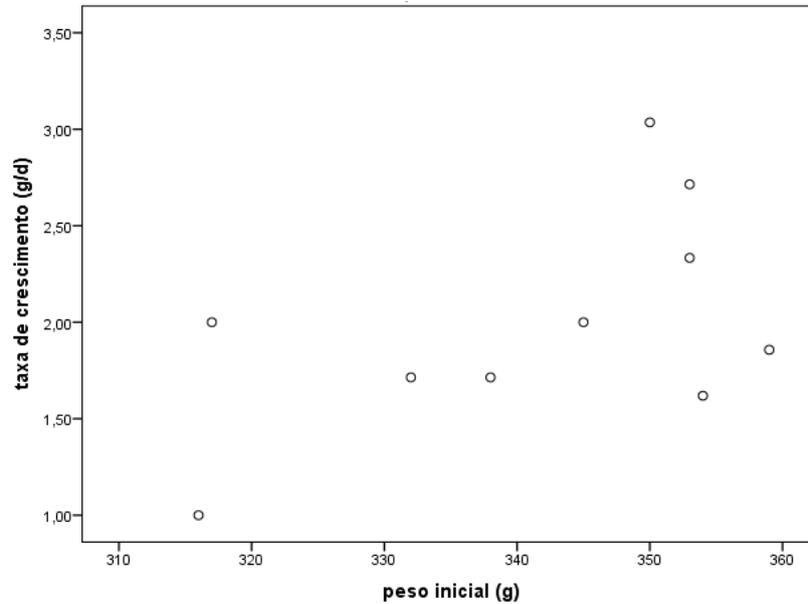


Gráfico 10 - Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial - Subgrupo I

No subgrupo I, não existe correlação significativa:

- Coeficiente de correlação = 0.529
- $p = 0.116$.

8.7.7.2 SUBGRUPO II

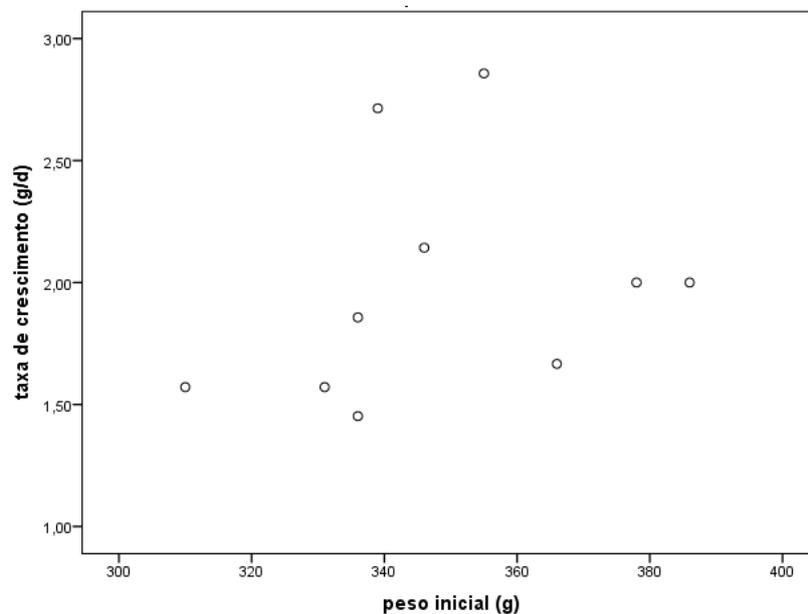


Gráfico 11 - Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial - Subgrupo II

No Subgrupo II, não existe correlação significativa:

- Coeficiente de correlação = 0.253
- $p = 0.480$

8.7.7.3 SUBGRUPO III

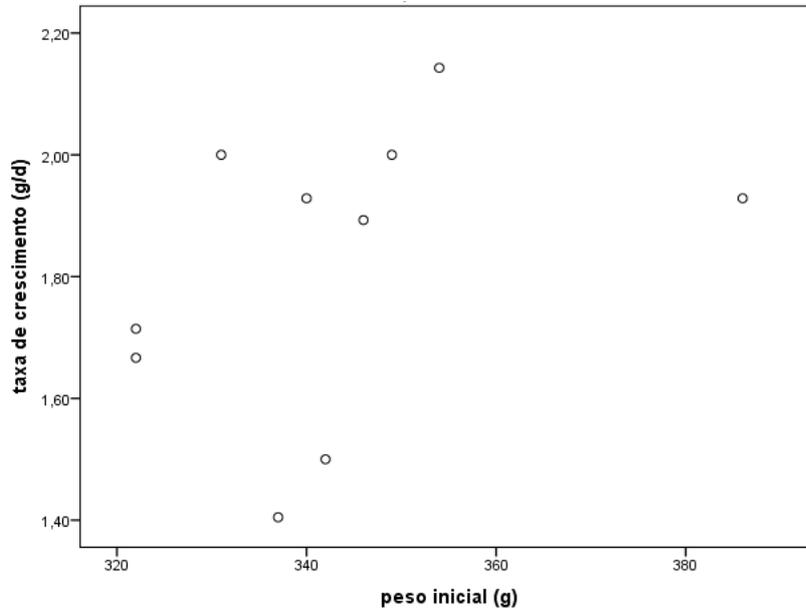


Gráfico 12 - Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial - Subgrupo III

No Subgrupo III, não existe correlação significativa:

- Coeficiente de correlação = 0.386
- $p = 0.270$

8.7.7.4 SUBGRUPO IV

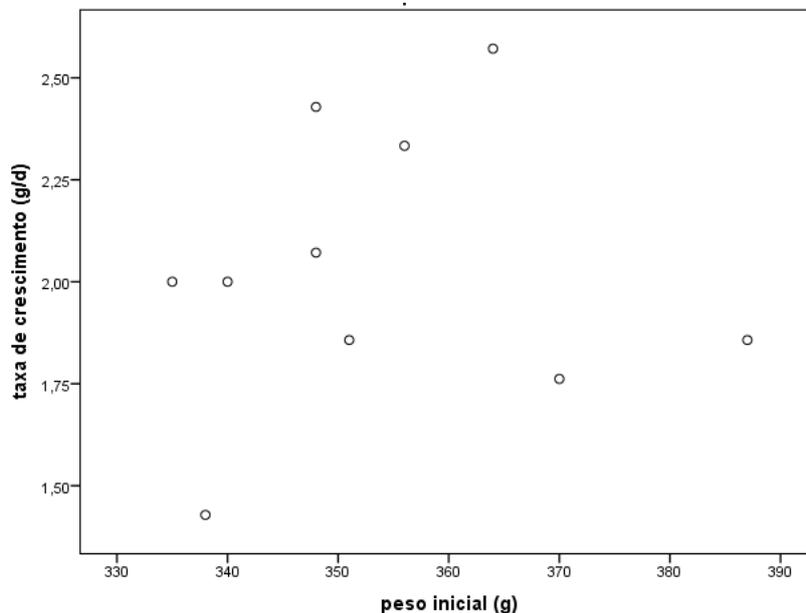


Gráfico 13 - Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial - Subgrupo IV

No Subgrupo IV, não existe correlação significativa

- Coeficiente de correlação = 0.092
- $p = 0.801$

8.7.7.5 SUBGRUPO V

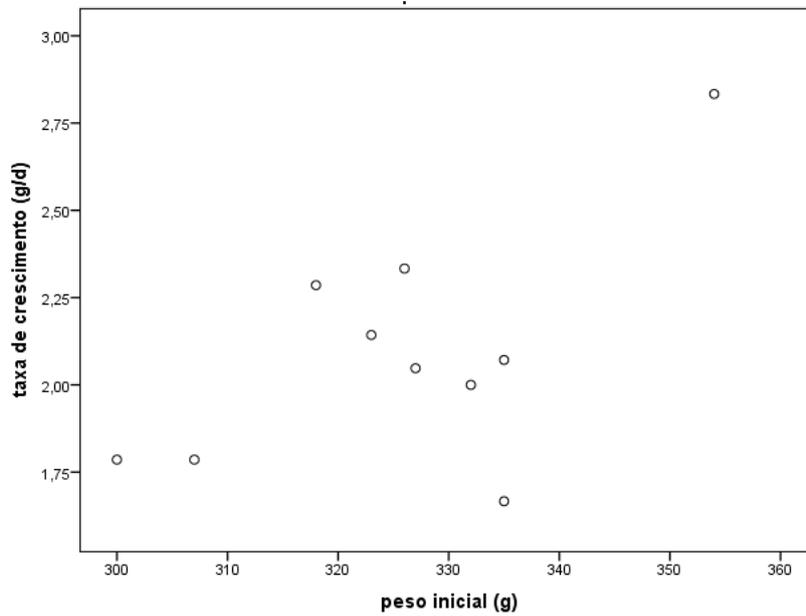


Gráfico 14 - Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial - Subgrupo V

No Subgrupo V, não existe correlação significativa

- Coeficiente de correlação = 0.609
- p = 0.062

8.7.7.6 SUBGRUPO VI

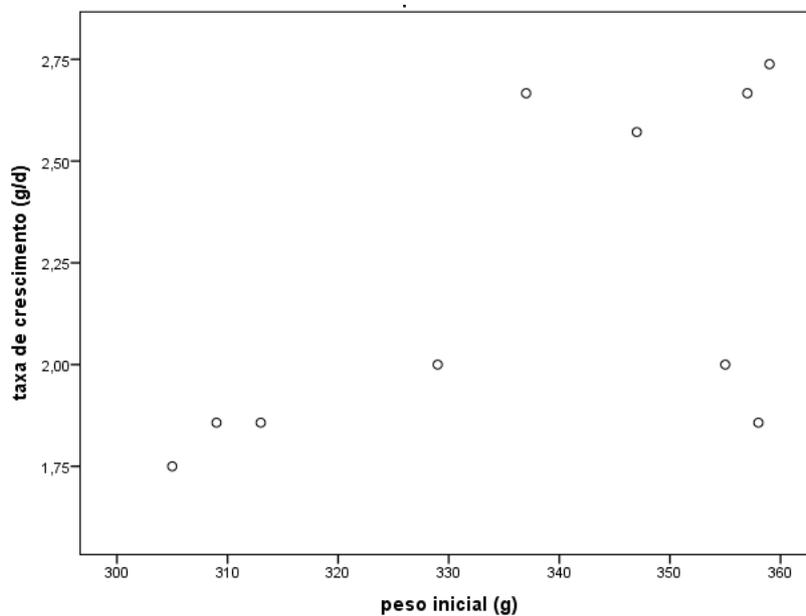


Gráfico 15 - Correlação entre a taxa de crescimento e o peso inicial - Subgrupo VI

No Subgrupo VI, existe correlação significativa

- Coeficiente de correlação = 0.661
- p = 0.038

8.7.8 EFFECT SIZE

O *effect size* foi calculado com o *software* G*Power v3.1.3, tendo como variável principal a relação “NewBoneVolume/TotalVolume”.

O valor apresentado também corresponde ao pior cenário que se verifica para a diferença entre a “Broca” e o “Laser” aos 7 dias.

O *Output* do G*Power é apresentado de seguida:

t tests – Means: Wilcoxon–Mann–Whitney test (two groups)		
Options:	A.R.E. method	
Analysis:	Post hoc: Compute achieved power	
Input:	Tail(s)	= Two
	Parent distribution	= Normal
	Effect size d	= 0.3026504
	α err prob	= 0.05
	Sample size group 1	= 40
	Sample size group 2	= 40
Output:	Noncentrality parameter δ	= 1.3226409
	Critical t	= 1.9923680
	Df	= 74.3943727
	Power (1- β err prob)	= 0.2569833

Tabela 28 - Cálculo do *effect size*: *Output* do G*Power

O valor do *effect size* é 0.3026.

8.7.9 HIPÓTESE NULA

Perante os resultados obtidos podemos rejeitar a hipótese nula, uma vez que o tratamento estatístico dos dados obtidos na histomorfometria revelou existirem diferenças significativas entre os três métodos utilizados neste estudo.

Qualitativamente também se registaram diversas divergências relativamente ao processo de reparação óssea dos defeitos obtidos.

9. DISCUSSÃO

A utilização crescente do *Laser* na área médica, em geral, e na medicina dentária, em particular, justifica que se estude a sua aplicação em todas as áreas possíveis de intervenção, para que se possa aproveitar as potencialidades desta tecnologia tal como fazem muitas outras áreas, médica, industrial e outras.

O estudo da aplicação do *Laser* em tecidos moles é, desde o início, mais consensual entre os investigadores do que a sua aplicação em tecidos duros. Os resultados das investigações da aplicação do *Laser* em tecido ósseo não são tão numerosos nem tão consensuais. Estes estudos ficaram marcados pela franca incapacidade que os primeiros *Lasers* tinham na interação com os tecidos duros, principalmente quanto ao aumento da duração do ato cirúrgico, do tempo de cicatrização e da destruição dos tecidos periféricos.

Após o início da comercialização dos aparelhos de *Laser* Er:YAG, o paradigma mudou definitivamente, embora de forma lenta, fruto da pesada herança deixada pelos primeiros aparelhos testados em tecidos duros (CO₂ de 10600 nm e Nd:YAG).

Pouco tempo após o início da comercialização do *Laser* Er:YAG surge um novo equipamento com muitas potencialidades, no âmbito da cirurgia óssea: o aparelho piezocirúrgico.

Em medicina dentária, a cirurgia óssea faz parte integrante de quase todos os atos cirúrgicos mais complexos. A exodontia de dentes inclusos (e por vezes de dentes presentes), a cirurgia apical, a enucleação de quistos, a exérese de tumores ósseos, a biópsia óssea, a osteoplastia, a elevação de seio maxilar, a fenestração óssea para favorecimento de erupção, a exposição de dentes inclusos para tração ortodôntica, a preparação do leito implantar e a distração óssea alveolar são alguns exemplos.

Face aos diversos métodos para realizar osteotomia ao dispor do médico dentista, ao número extremamente reduzido de estudos nesta área e à necessidade diária do cirurgião oral, ou do médico dentista generalista, recorrer a eles recorrer, é de extrema importância esclarecer qual ou quais a(s) melhor(es) opção(ões) no quotidiano do exercício profissional.

Assim, efetuando-se a comparação da regeneração óssea de um defeito produzido por estes dois métodos com o método convencional (a broca cirúrgica montada em instrumento de mão de baixa rotação) pretende-se ajudar o clínico a selecionar o que de melhor se pode

DISCUSSÃO

proporcionar aos pacientes. O médico dentista deve, por questões técnicas, científicas e éticas, proporcionar ao seu paciente, o melhor que a ciência e a tecnologia lhe colocam ao dispor.

Na literatura, até esta data, há apenas dois artigos que possam esclarecer qual dos métodos de osteotomia é mais eficaz quando comparados entre si, uma vez que todos os outros estudos existentes se limitam a comparar dois dos três métodos referidos. Destes dois artigos, um, em 2009, adotou um modelo *in vitro* (4) e o outro, em 2010, um modelo animal (ovelha) e tendo como objetivo principal o estudo da osteointegração e da estabilidade implantar em leitos preparados por estes métodos. (5) O estudo *in vitro* apenas permitiu avaliar os efeitos de cada um dos 3 métodos (e também da broca em alta rotação) sobre o osso periférico (precisão do corte, profundidade de incisão, carbonização periférica e presença de fragmentos ósseos). Este tipo de modelo não permite a avaliação da dinâmica da regeneração tecidual, tão importante para quem lida, diariamente, com a biologia e a fisiologia humanas. Não há registo de qualquer estudo clínico que envolva os três métodos.

Assim sendo, este é o primeiro estudo, *in vivo*, que compara a ação do *Laser* (neste caso Er:YAG) e do piezocirúrgico e da broca sobre o osso.

Este trabalho experimental foi concebido para avaliar a regeneração óssea num modelo de experimentação animal (o rato) com o intuito de estabelecer possíveis diferenças qualitativas ou quantitativas no tecido ósseo neoformado e comparar as suas vantagens e desvantagens quanto à sua utilização, nomeadamente em termos de tempo necessário para desempenhar a função prevista.

Há que realçar que dentro das diferentes possibilidades de escolha de instrumental de realização de osteotomia, foi nossa preocupação a seleção das mais inovadoras tecnologias à data de realização do procedimento. Assim, a broca cirúrgica utilizada, conforme informação do fabricante, possui 10 lâminas dotadas de um desenho diferente do convencional, com uma ranhura transversal na região do equador da esfera, para minimizar as vibrações típicas das brocas convencionais. O *Laser* Er:YAG utilizado também dispõe da mais recente tecnologia associada a este tipo de aparelho: a tecnologia VSP (*Variable Square Pulse*). Esta tecnologia permite uma ablação homogénea na zona de incidência do feixe em vez da característica curva Gaussiana de outros equipamentos *Laser*. Assim, evita-se que haja acumulação de energia residual nos tecidos limítrofes da curva, onde o feixe não tem

DISCUSSÃO

energia ablativa suficiente. Os tecidos irradiados com esta energia não ablativa armazenam essa energia térmica, que é muito lesiva para o seu conteúdo celular. O piezocirúrgico dispõe de luz LED para uma melhor visualização do campo operatório e dispõe de uma peça de mão que não aquece como acontecia com alguns aparelhos ainda no mercado.

Os fabricantes de cada um destes equipamentos experimentais reclamam a primazia quanto ao melhor método para efetuar osteotomia. No entanto, os estudos são escassos e muitos deles economicamente sustentados pelos mesmos fabricantes, o que não acontece com este.

9.1 MODELO ANIMAL

A compreensão do fenómeno da regeneração dos tecidos biológicos humanos, incluindo o tecido ósseo, passa, invariavelmente pelo estudo animal experimental. No desenho de uma investigação biomédica, os estudos de investigação em animais de laboratório, incluindo o rato, continuam a desempenhar um papel extremamente importante. Estes modelos animais são imprescindíveis porque são os únicos que permitem efetuar uma análise histológica qualitativa e quantitativa controlada e reprodutível, ao nível das características dos defeitos e da reação biológica, sem qualquer limitação na recolha das amostras. Todas as características necessárias à avaliação da qualidade e quantidade de tecidos neoformados, bem como a eficácia e segurança dos atos clínicos ensaiados estão presentes nos modelos animais. O planeamento de protocolos de experimentação animal deve cumprir os princípios éticos de salvaguarda do bem-estar animal, conforme as normas da *FELASA*, sem esquecer o estabelecimento de uma metodologia científica adequada, fundamental para a validação dos resultados.

Os modelos pré-clínicos animais devem ser selecionados conforme o estado de conhecimento científico relativamente ao tema a estudar. Só após avaliação prévia do tema em animais de escala filogeneticamente inferiores é que o investigador deverá avançar para a utilização de modelos mais próximos do homem (cães, ovelhas e primatas não humanos).
(274)

Neste estudo, o animal experimental selecionado foi o rato Wistar Han, uma vez que os ossos longos dos ratos apresentam uma cortical bem formada, espessa e mineralizada, cumprindo perfeitamente todos os requisitos dos objetivos que se pretendiam atingir, não sendo, por isso, necessário subir na escala filogenética. O rato Wistar Han é um animal amplamente estudado e muito bem conhecido no meio científico, pelo que a regeneração óssea sob as mais variadas situações está muito bem documentada. Adicionalmente, estes animais não representam um custo tão elevado de aquisição nem de alimentação, como outros animais de maior porte. De sublinhar, ainda, que os centros de cirurgia experimental e biotérios estão muito bem preparados para estes animais de pequeno porte, fácil manipulação, reprodução e disponibilidade.

Na investigação científica, a utilização do rato remonta ao início do ano 1600, tendo-se difundido amplamente a partir de 1906, com o desenvolvimento, no Wistar Institute, de um modelo (*Rattus norvegicus*) para diversas áreas de investigação. Atualmente, em conjunto com os ratinhos, constituem cerca de 90 a 95 % do total de animais de experimentação. (275) Na experimentação em regeneração tecidual oral e craniofacial, os roedores (sem incluir os coelhos) representam cerca de 11% do total de animais de experimentação e apenas são ultrapassados pelos modelos cão (32%) e primatas não humanos (16%). (276) Considerando apenas fatores éticos, manuseamento / manipulação dos animais, custos de criação e manutenção, entre outros, os ratos são os animais mais adequados para estudos de regeneração óssea.

O conhecimento científico profundo acerca destes animais, a todos os níveis, e a sua utilidade como modelo experimental para a cirurgia óssea está bem refletida nos diversos estudos idênticos a este, que também utilizaram o rato como animal experimental. (20, 100, 101, 228, 230, 234, 242-244, 250, 253, 256, 264, 277-282)

Depois de selecionada a espécie, era importante que todos os animais fossem machos uma vez que as hormonas sexuais das fêmeas têm um impacto significativo na microarquitetura e na espessura da cortical óssea, interferindo com a regeneração óssea. (283, 284) Evitámos, assim, mais um fator que alteraria a homogeneidade da amostra e os resultados do estudo.

Finalmente, com a seleção do rato e o desenho experimental apresentado, conseguiram-se cumprir as três regras de ouro da experimentação animal, que devem, sempre, constituir a preocupação de todos os investigadores:

- *“Replacement”*
 - Um estudo de experimentação animal apenas pode cumprir este quesito de uma forma relativa, conforme abordado por Gnadt. Neste caso (forma relativa), os animais não são dispensáveis, mas a preocupação de não os expor a situações de angústia ou *stress*, é uma constante ao longo do estudo experimental. Adicionalmente, os procedimentos cirúrgicos e a eutanásia para recolha de amostras são efetuados com o animal anestesiado. (285) Todos estes critérios foram seguidos no decorrer deste estudo experimental, bem como todas as normas internacionais relacionadas com a Ciência de Animais de Laboratório.

- *“Refinement”*
 - O desenho do estudo teve em consideração, também, esta regra. Os animais eram anestesiados numa sala exclusiva para o efeito, não trocaram de parilha durante todo o estudo e ambos foram eutanasiados no mesmo dia, para que não se sentissem solitários. Todas as técnicas e procedimentos utilizados visaram o menor trauma físico e emocional dos animais, tendo como objetivo final o seu bem-estar.
- *“Reduction”*
 - O meticuloso planeamento do estudo permitiu-nos diminuir o número total de animais a utilizar. Através de uma técnica precisa e pouco traumática, e com cuidados pós operatórios constantes, bem delineados e eficazes, foi possível intervir nas duas tíbias do mesmo animal sem que se tivesse registado sofrimento. Ao efetuar o defeito do momento zero numa outra região da tíbia, no dia da eutanásia dos animais, reduziu-se ainda mais o número de animais utilizados no estudo. Para a obtenção de 144 amostras utilizámos 60 animais, em vez de 144, se tivéssemos seguido um desenho convencional de unidade de experimentação, o que representa uma redução total de 58,33%.

A distribuição dos animais pelas gaiolas aos pares foi cuidadosa, tendo sempre em atenção que não se registassem situações de agressividade, para não afetarem os resultados do estudo. Tivemos ainda a preocupação de emparelhar os animais por “tempo de experiência” para que durante todo o estudo nenhum animal permanecesse só na sua gaiola. Atuando assim, e porque estes animais são muito sociais, tínhamos como objetivo principal que este fator não interferisse com a sua atividade física e alimentação, dois fatores que também interferem com a velocidade da regeneração óssea.

Estudos diversos foram realizados para tentar definir um modelo experimental em pesquisas ósseas na região oromaxilofacial. Pretendia-se que este modelo reproduzisse as situações clínico-cirúrgicas do ser humano. Os autores Schmitz e Hollinger(274) propuseram alguns modelos animais e protocolos para cirurgias ósseas experimentais, considerando a espécie, a idade do animal, a localização e o tamanho do defeito ósseo a ser realizado, e finalmente, a manutenção ou não do periósteo. Os autores definiram como defeito ósseo crítico, aquele que não cicatriza espontaneamente, independente do tempo de cicatrização, necessitando,

para a sua regeneração, de algum tipo de enxerto ou biomaterial para preenchimento (regeneração tecidual ou óssea guiada). Os defeitos ósseos considerados críticos, para o modelo animal rato, devem ser iguais ou superiores a 4 mm de diâmetro e profundidade, enquanto os defeitos ósseos não críticos devem ser menores do que 4 mm de diâmetro e profundidade. (274)

A criação de um defeito não crítico era o objetivo deste estudo. Pretendia-se que o tecido ósseo regenerasse sem qualquer tipo de intervenção humana nesse sentido, e sem invasão de células dos tecido moles, como ocorre na maior parte das osteotomias em cirurgia oral.

Embora a origem da tíbia (ossificação endocondral) seja diferente da dos ossos da região maxilofacial (ossificação intramembranosa), é importante lembrar que este tipo de classificação se reporta unicamente à origem embriológica dos tecidos ósseos. Depois da idade adulta, após o osso terminar o seu desenvolvimento, qualquer processo de regeneração fisiológica decorre da mesma forma, independentemente da origem embriológica do osso envolvido: -inicialmente há formação de tecido ósseo primário (imaturo) e mais tarde, após maturação, aquele tecido é substituído, obtendo-se o osso secundário (maduro). (286, 287)

A tíbia foi o osso escolhido quer por apresentar um processo de regeneração e de remodelação muito semelhantes ao da mandíbula humana, (288) quer pela facilidade de acesso cirúrgico. Outro argumento importante é o facto de a tíbia do animal estar sujeita a forças fisiológicas muito idênticas (tensão muscular e compressão devido peso do animal) à que os músculos mastigatórios exercem sobre a mandíbula (tensão muscular e compressão pela mastigação). (288) Estruturalmente a semelhança da tíbia com a mandíbula humana é grande (osso medular envolvido por osso cortical bastante denso) e apresenta robustez suficiente para suportar a execução de um defeito de cerca de 2 mm sem apresentar risco de fratura, o que, a ocorrer, comprometeria o sucesso do estudo. Acresce ainda a vantagem de a tíbia ser facilmente processada a nível histológico, o que facilita a perfeição no trabalho laboratorial e posterior.

Em estudos experimentais idênticos, dos autores que selecionaram o rato, alguns preferiram executar o defeito na tíbia, (228, 230, 242, 253) tendo outros, no entanto, optado por realizar os defeitos na calote craniana (244, 250, 278) ou na mandíbula (243, 264), do mesmo modelo. O crânio e a mandíbula, devido à menor presença muscular, sofrem uma

regeneração mais lenta que a tíbia, o que, torna mais demorada a regeneração e a remodelação óssea. (288) A maior lentidão do processo facilita a invasão da região do defeito pelo tecido conjuntivo denso adjacente o que implica um atraso e alteração na regeneração óssea.(257) Uma alternativa seria o uso de uma barreira física (membrana de colagénio, por exemplo). Contudo a colocação da membrana iria introduzir mais uma variável experimental, sem necessidade, uma vez que na tíbia não se revela necessária. Acresce ainda o facto de a cortical da mandíbula do rato ser muito fina e não poder ser comparada com a mandíbula humana também a nível biomecânico. (6) Arisawa *et al* em 2000, Silva em 2000 e Anbinder em 2001, citados por Prado (289), estudaram a regeneração óssea fisiológica na tíbia e não verificaram invasão da região do defeito por tecido conjuntivo. Por todos os motivos atrás mencionados consideramos este modelo experimental como o mais adequado aos objetivos de avaliação no contexto deste trabalho, sendo, além disso, um dos modelos mais utilizados e melhor caracterizados na literatura dentro deste tema.

O número de amostras a obter para o estudo baseou-se na literatura publicada que aborda este tema. Pelo facto de termos adotado uma distribuição equitativa do tipo de defeito por ambas as pernas, e tendo em conta que estudámos 3 métodos, apenas poderíamos seleccionar 4 ou 8 amostras por tempo e por defeito. Estudos equiparáveis em termos de modelo animal optaram por n=6 (228, 253) ou n=7 (256) no caso da tíbia, n=4 (250) e n=3 (257) e n=4 (264) no caso da mandíbula.

Tentamos encontrar o valor do *effect size* em estudos equivalentes, mas não conseguimos encontrar em nenhum, tendo optado por um n=8, tendo por base os estudos referidos.

9.2 OSTEOTOMIAS

Os atos cirúrgicos provocam trauma nos tecidos intervencionados, e o osso sujeito a osteotomia não é exceção. Os efeitos térmicos provocados pelo atrito entre os instrumentos ablativos e o tecido ósseo são estudados desde os anos sessenta.(290) Os *Lasers* convencionais (CO₂ de 10600 nm e Nd:YAG) provocam a ablação dos tecidos com base em efeitos fototérmicos (evaporação e pirólise), e quando aplicados na ablação de tecido ósseo provocam carbonização dos limites até cerca de 0,2 mm. (229, 291)

O *Laser* Er:YAG foi selecionado pelo facto do seu comprimento de onda (2940 nm) coincidir com o pico de absorção da água, (292, 293) e ter uma ação fotomecânica e fotoacústica sobre os tecidos (provoca a rápida evaporação da água e microexplosões na célula, levando à sua lise) numa camada de absorção muito fina, (81, 237, 294) o que lhe proporciona uma grande apetência pela ablação de osso sem lhe provocar danos térmicos importantes e sem atraso na regeneração do defeito. (4, 100, 236, 242, 250, 254, 295, 296)

Contrariamente, outros *Lasers*, nomeadamente o *Lasers* de CO₂ de 10600 nm (19, 101, 228-230, 233, 234, 241, 291), Ho:YAG (242, 279, 296) e o Nd:YAG (228, 230) ocasionam danos térmicos nos tecidos circundantes. Estes foram, até ao momento, os *Lasers* mais estudados quanto à sua aplicação sobre o tecido ósseo, a par do *Laser* Er:YAG.

Além da grande apetência pela água (coeficiente de absorção $\alpha = 7700 \text{ cm}^{-1}$)(292), o *Laser* Er:YAG tem afinidade para a hidroxiapatite e para o colagénio Tipo I. Estas propriedades, em conjunto, tornam-no no *Laser* mais eficaz na ablação de osso, com efeito térmico mínimo ou quase nulo no tecido circundante. (235, 254)

O tamanho do defeito parece-nos ser o adequado. O objetivo era a realização de um defeito não crítico, conforme já explanado. Num estudo publicado em 2006, Almeida Prado (289) comparou defeitos com diferentes diâmetros (2, 3 e 3,5 mm) realizados em tibia de rato e concluiu que se pode utilizar o modelo de defeito ósseo em diáfise de tíbias de rato para investigar a regeneração fisiológica do osso. Acrescentou, ainda, que face às semelhanças na regeneração dos defeitos dos diâmetros referidos, serão questões de ordem prática que permitirão ao investigador a escolha do melhor tamanho.

Apesar de ainda referir que aconselha o tamanho intermédio (3 mm), optamos por realizar defeitos com 1,8 mm por diversas razões:

- Tamanho muito próximo do adotado (2 mm) noutros estudos. (253, 264)
- Maior facilidade de normalização dos defeitos com broca e com o piezocirúrgico uma vez que o diâmetro das partes ativas de cada um dos instrumentos é 1,8 mm.
- O diâmetro do feixe do Laser Er:YAG utilizado no seu ponto de focagem é de 0,9 mm, que corresponde ao raio do defeito. Este facto permitiu que o defeito fosse realizado marcando o centro do defeito, contornando-o posteriormente em 360°.
- A realização de dois defeitos por animal recomendava que o defeito a realizar fosse o menos traumático possível, para alcançar um bom pós-operatório.
- A ética da experimentação animal recomenda que o investigador opte pelo método cirúrgico mais conservador, desde que se atinjam os objetivos da investigação.
- Almeida Prado, no seu estudo, (289) em 18 defeitos realizados com diâmetro de 3,5 mm em ratos com cerca de 400 g, apresentou 3 fraturas o que corresponde a 16,7% e revela ser um diâmetro excessivo, mesmo em ratos adultos.

No per-operatório e na realização dos cortes histológicos pudemos confirmar que o diâmetro de 1,8 já ocupa cerca de 50 % da face antero-medial da tíbia, como se pode constatar pelas ilustrações apresentadas em “*Materiais e métodos*” e em “*Resultados*” (tempo zero). Face a todos estes fatores, parece-nos que a escolha deste diâmetro para a execução do defeito é a recomendável.

9.3 METODOLOGIA

9.3.1 OS MÉTODOS DE OSTEOTOMIA TESTADOS

A utilização do *Laser* com uma peça de mão sem contacto apresenta, para alguns autores, diversas vantagens: corte preciso geometricamente livre, sem vibração, sem necessidade de pressão manual nem *stress* mecânico e conseqüentemente menor trauma para o osso. (21, 260, 264) No entanto também apresenta desvantagens, sendo a principal a dificuldade de controlar a profundidade de corte que está sempre dependente de um controlo visual por parte do cirurgião. (261) É ainda difícil conservar a distância focal (10 a 12 mm) em relação ao tecido alvo, (254) o que, neste estudo, foi minimizado através da colocação de um sistema de abraçadeira plástica no pescoço da peça de mão, mesmo junto à janela, sem, com esta, interferir. Este detalhe, que estabelece uma distância fixa e estável, é fundamental uma vez que a fluência varia, de forma inversamente proporcional, com a distância da janela emissora ao tecido alvo e um dos nossos objetivos era manter este valor constante. Convém aqui recordar, como exemplo, que El Montaser (244) testou e comprovou que o simples afastamento de 2 mm da peça de mão do *Laser* em relação ao tecido alvo reduz a fluência em cerca de 50%. Na seleção da fluência do *Laser* Er:YAG foi tido em consideração o estudo de Stanislawki, que concluiu que estes são eficazes a partir de $10\text{J}/\text{cm}^2$. (249) A fluência utilizada neste estudo foi de $11,79\text{J}/\text{cm}^2$.

A profundidade de corte da broca e do piezocirúrgico está limitada pelo comprimento da broca e da ponta, respetivamente. Já a profundidade de corte no *Laser* é limitada pela distância focal. Em cirurgia oral, esta limitação pode representar um problema, conforme descrito por Stübinger. (6, 259)

A broca selecionada foi uma broca esférica (1,8 mm de diâmetro) em tungsténio especialmente desenhada pelo fabricante para a realização de osteotomia em medicina dentária e que incluiu ranhuras perpendiculares às 10 lâminas na linha de equador destas, para diminuir a vibração. Este método de osteotomia foi considerado o método padrão, por ser o método mais amplamente utilizado pelos cirurgiões.

O crescente interesse dos profissionais de saúde pelo aparelho piezocirúrgico é uma realidade nos dias de hoje, não só na medicina dentária mas também em ortopedia e

otorrinolaringologia, por exemplo. Estando, atualmente, a ser um foco de atenção dos médicos dentistas para a execução de cirurgia óssea e sendo o aparelho mais recente, parece-nos imprescindível que integre qualquer projeto deste âmbito, onde é efetuada uma abordagem cirúrgica ao tecido ósseo.

O aparelho possui uma grande diversidade de pontas para o corte ultrassónico do tecido ósseo. Selecionamos a ponta adiamantada esférica com 1,8 mm, que está indicada, na generalidade, para qualquer tipo de osteotomia e mais especificamente, segundo o fabricante, para cirurgia de levantamento de seio maxilar. (245, 247, 280) Esta é, aliás, uma área amplamente investigada, mas que está fora do âmbito deste estudo.

As vantagens da sua utilização já foram referidas na “Introdução”, sendo a ausência de atuação sobre os tecidos moles o fator mais marcante, por ser exclusivo desta tecnologia. Esta característica permite-nos, teoricamente, ser mais conservadores ao nível da incisão e da divulsão dos tecidos moles. Neste estudo, apesar disso, estabelecemos a uniformização destes passos para todos os métodos de osteotomia e executámos uma incisão com 15 mm para todos os grupos, conforme estabelecido por Almeida Prado. (289) No entanto, parece-nos melhor alongar um pouco mais a incisão como descrito por de Mello (253), uma vez que facilita a execução do defeito, a escolha da melhor localização, bem como a sua padronização.

9.3.2 A ANESTESIA, A TÉCNICA CIRÚRGICA E A EUTANÁSIA

A metodologia utilizada para anestésiar os animais foi eficaz, quer em termos de profundidade de anestesia quer de duração. A técnica cirúrgica adequada, permitiu que não houvesse necrose ou deiscências associadas aos tecidos moles envolvidos. O encerramento da ferida por planos foi importante para manter a continuidade do perióstio e permitir a cicatrização tecidular e óssea sem qualquer problema. O fio reabsorvível de ácido poliglicólico utilizado (Safil® - B Braun) revelou-se adequado ao procedimento, bem como o tamanho e capacidade de penetração da agulha de aço *Easyslide*. O seu tipo de reabsorção, por hidrólise, minimiza a reação tecidular ao fio, por parte do animal, não tendo sido registada qualquer reação ao fio. Este fio apresenta uma força tênsil elevada e adequada, uma passagem excelente através do tecido e uma grande facilidade de manuseamento e

enodação, fundamentalmente devida à memória reduzida. As características da agulha, o seu calibre (bem adequado ao calibre do fio), poder de penetração nos tecidos e a sua corda mostraram-se adequados ao tipo de tecidos manuseados.

Os procedimentos adotados no período pós-operatório e pré eutanásia também se mostraram adequados uma vez que todos os animais ultrapassaram rapidamente o período de convalescença e demonstraram um crescimento compatível com a normalidade. A eutanásia decorreu sem qualquer sofrimento por parte do animal (fator primordial). A recolha das amostras foi muito simples tendo em conta o método utilizado e descrito em “Materiais e Métodos”.

A boa refrigeração, o pulso curto (50 μ s) e a tecnologia VSP permitiram alcançar melhores resultados, em termos de carbonização dos tecidos circundantes, que diversos outros estudos (10 a 33,7 μ m). (100, 101, 235, 253, 279) A faixa de tecido amorfo carbonizada no nosso estudo é muito pequena e não tem qualquer significado. Lewandrowski observou zonas mais extensas (entre 25 a 100 μ m)(243), mas também usou uma energia de feixe e frequência de pulso menores (53mJ – 10-15 Hz).

Usámos a duração de pulso de 50 μ s (SSP – Super Short Pulse) uma vez que estudos anteriores (297, 298) revelaram que esta duração era a mais eficiente, reduzindo os efeitos colaterais térmicos. Embora estes estudos tenham sido realizados em dentina, podemos tomá-los como válidos para o osso uma vez que a constituição percentual de cada um dos seus componentes com afinidade para o comprimento de onda 2940 nm é equivalente. Mantendo a energia do feixe constante, a diminuição da duração do pulso aumenta a eficiência da ablação, diminui os efeitos térmicos e a aumenta a capacidade de hemóstase nos tecidos circundantes.(297, 298)

Em relação à refrigeração, utilizamos o menor dos débitos máximos de cada um dos equipamentos testados, para todos os aparelhos. O valor determinado foi de 60 ml/minuto, tendo-se regulado todos os aparelhos, aproximadamente, para esta quantidade. Uma vez que a refrigeração externa é o fator mais importante para evitar a necrose óssea, devemos ter sempre muita atenção a este fator. (281, 299-301)

Uma vez que o elemento principal para uma boa refrigeração é a irrigação externa (300) ao mantermos constante o fluxo de líquido irrigador nos três métodos, pretendeu-se, assim,

evitar a interferência deste fator fulcral na regeneração óssea do defeito realizado, centrando a comparação unicamente nas características que distinguem os diferentes métodos.

Neste estudo, no aparelho de *Laser Er:YAG*, foi utilizada a peça de mão sem contacto (R-02C) uma vez que é a mais usual e a que integra o equipamento base que acompanha o aparelho quando este é adquirido. Este tipo de peça de mão permite uma melhor visualização do campo operatório, uma vez que trabalha desviada do tecido alvo (distância focal – cerca de 10 mm) em relação ao local de intervenção. A ausência de uma barreira física em contacto com o tecido alvo permite uma boa refrigeração do local de intervenção. No entanto, a ausência de vibração durante a osteotomia, ao contrário dos outros dois métodos aqui utilizados, parece-nos constituir a maior vantagem deste método. Esta característica permite evitar o deslizamento, tão típico dos instrumentos que funcionam com contacto, quando estes iniciam o seu trabalho sobre uma superfície lisa como o osso. No entanto, também existem desvantagens que se prendem, essencialmente, com o facto de o operador não ter nenhuma referência espacial no que diz respeito à distância entre a janela emissora do feixe e o tecido alvo, bem como a ausência de sensibilidade háptica. Sem essa referência (que seria dada pelo contacto) é impossível que o operador mantenha, sempre, a mesma distância e, conseqüentemente, a distância focal. Esta situação implica que a área do feixe (área de ablação tecidual) varie ligeiramente, promovendo uma espessura de corte inconstante. Além disso, devemos ter em consideração que o facto de a janela de emissão do feixe não se encontrar no local de projecção do líquido refrigerador, não beneficia do efeito de limpeza que ele promove na zona do tecido alvo. O líquido refrigerador projetado sobre o campo operatória mistura-se com pequenas partículas provenientes do tecido ablado, nomeadamente sangue, retornando para a peça de mão. Assim, são projetadas contra o vidro da janela de emissão do feixe inúmeras gotículas. Para que não haja diminuição da potência do feixe é necessário que se limpe o vidro com regularidade. Este procedimento de limpeza implica uma maior duração do tempo de osteotomia, principalmente nos procedimentos mais longos. Essa limpeza deve ser efetuada com uma compressa, embebida em soro fisiológico, de forma suave para evitar riscos na superfície do vidro da janela emissora do feixe.

Apesar de nada se encontrar na literatura sobre o tema, parece-nos que a ausência de uma ponta de contacto com o tecido alvo não permite que se aproveite uma das propriedades da água: a aderência. A água (ou soro fisiológico) ao ser emanada em direção ao tecido alvo “adere” à broca ou à ponta de ultrassons (no caso dos outros equipamentos usados neste estudo) ou à ponta em safira no caso do *Laser* e é, por estes, guiada até ao local de intervenção. O facto do líquido refrigerador ser projetado para o tecido alvo sem qualquer guia, como acontece com a peça de mão sem contacto, provoca uma maior dispersão do líquido refrigerador, que não é tão bem orientado para a região intervencionada.

9.3.3 O PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

O processamento histológico das amostras representou alguma dificuldade quanto ao correto posicionamento da tibia no bloco de inclusão. Esta dificuldade foi aumentando à medida que os defeitos se encontravam em estadios de maior maturação, logo de maior “invisibilidade”. Apesar de se saber perfeitamente qual a face da tibia onde se havia efetuado o defeito, será necessária a colocação de uma marcação orientativa do local do defeito, durante o ato cirúrgico.

A técnica descalcificada e a coloração com Hematoxilina e Eosina (HE) foi selecionada tal como em grande número de estudos idênticos. (4, 20, 230, 234, 244, 245, 247, 251, 253, 257, 263, 264, 278, 280)

Foram testados diversos tempos de contacto com os corantes (hematoxilina e eosina) e cada uma das amostras piloto avaliadas ao microscópio ótico. Conseguiu-se assim obter uma boa diferenciação entre os tecidos a corar, que foi importante para a avaliação histológica qualitativa e quantitativa.

Apesar de não termos conseguido cortes exatamente iguais em todos os defeitos, o enviesamento será desprezível uma vez que os valores obtidos nesta análise são percentuais em relação à área da ROI definida.

9.4 COMPARAÇÃO COM A LITERATURA PUBLICADA

Após leitura atenta da literatura selecionada dentro deste âmbito podemos constatar o que afirmava Stübinger em 2007. (260) Os estudos realizados com *Lasers* são excepcionalmente difíceis de comparar e, a partir deles, obter conclusões específicas.

Esta constatação, com a qual concordamos sem ressalvas, advém do facto de cada autor poder selecionar inúmeros parâmetros. Vamos, desde já colocar de parte os diferentes tipos de comprimentos de onda dos *Lasers* que podem desempenhar a mesma função, para tornar mais simples a explanação. Considerando, então, apenas um desses tipos de *Laser*, tendo em conta a composição do seu meio ativo (como é o caso deste estudo em que se pretende comparar o *Laser* Er:YAG), para o mesmo tipo de *Laser* existem inúmeras possibilidades que podem influenciar os resultados finais. Acresce a dificuldade de nem todos os trabalhos revelarem todos os dados necessários para a caracterização do feixe utilizado.

Por este motivo entendemos ser imprescindível que o investigador revele com rigor a programação do *Laser* utilizado, nomeadamente:

- Tipo de peça de mão
 - Com contacto
 - Sem contacto
- Tipo de pulso
 - Duração
 - Frequência
- Energia do feixe
- Feixe
 - Área, diâmetro ou fluência
- Irrigação
 - Sim
 - Substância utilizada
 - Quantidade por minuto
 - Não

Apesar destas definições serem fundamentais, há ainda inúmeras possibilidades de desenhos experimentais e diversos métodos de análise. Quando um daqueles parâmetros for diferente dos apresentados por outros estudos, torna-se extremamente difícil a comparação direta e imediata dos resultados dos diferentes estudos presentes na literatura.

Neste estudo, todos os métodos utilizados demonstraram total eficácia na prossecução do objetivo (osteotomia com 1,8 mm de diâmetro) dentro de limites de tempo razoáveis para que seja possível a aplicação de cada um dos métodos na prática clínica. No entanto, o defeito criado com o *Laser* não apresenta a mesma regularidade macroscópica que os outros métodos.

A maior eficiência e o menor danos térmicos nos tecidos periféricos provocados pelo *Laser* Er:YAG na ablação de osso foi comprovada, pela primeira vez, em 1988 (235), num estudo *ex vivo*. Este facto foi corroborado no ano seguinte por Nelson (236) num estudo *in vivo*, e por Walsh (237, 238). Também Gonzalez em 1990 (239), Li em 1992 (241), El Montaser (244), Peavy (245), Eyrich (251) concordaram que o Er:YAG, apesar de provocar danos térmicos no tecido ósseo, eles não são significativos.

Tal como neste estudo, também El Montaser (244) observou uma linha basófila em torno do defeito no limite interno da camada amorfa do defeito efetuado com Er:YAG. No entanto, a persistência da camada amorfa e a falta de união entre o novo osso e o osso nativo, observada por este autor ao fim de 105 dias, não é corroborada pelos nossos resultados, uma vez que ao fim de 28 dias já eram visíveis uniões entre o novo osso e o nativo. Esta diferença deve-se, provavelmente, ao local de realização dos defeitos, uma vez que na calote do rato o processo osteogénico é mais lento fruto do menor estímulo mecânico.

O estudo de Eyrich, (251) no qual compara os *Lasers* de CO₂ e Er:YAG com a broca cirúrgica, o autor observou danos térmicos maiores nas amostras do defeito efetuado com broca do que com *Laser*, o que contraria o que observámos na nossa avaliação histológica. Nos nossos defeitos realizados com broca, não houve nenhum que revelasse danos térmicos. A diferença poderá estar na irrigação por nós usada (60 ml/min.), que foi quatro vezes superior à usada por Eyrich. Os restantes parâmetros eram idênticos (velocidade de rotação, tipo e diâmetro da broca), exceto o tipo de osso (mandíbula de porco *ex vivo*). Já de Mello, tal como nós, observou que os defeitos, de 2 mm efetuados em tibia de rato Wistar, com broca (1500 rpm) não apresentavam sinais de quaisquer danos térmicos. (253) Esta mesma

autora encontrou uma camada amorfa mais espessa do que a nossa ($27\pm 5,11\mu\text{m}$) que considera ter sido a responsável pela dificuldade de união entre o novo osso e o osso nativo. Contrariamente, no nosso estudo, em nenhum dos tempos constatámos qualquer dificuldade de adesão do novo osso à periferia do defeito. Antes pelo contrário. Em todos os defeitos, a quantidade de novo osso era superior na periferia, uma vez que a formação se dava de forma centrípeta. Observando as imagens histológicas de ambos os estudos, constatámos que a falta de união a que a autora se refere também se identifica nas nossas imagens histológicas. No entanto pensamos que tal se deve apenas a um “arrastamento” que terá acontecido na fase da microtomia, dada a maior fragilidade da união do novo osso com o osso nativo.

Neste trabalho experimental também pudemos constatar e usufruir de certas vantagens referidas por Stübinger (258, 260, 261) e com as quais concordamos. Não há aquecimento da peça de mão, a ausência de contacto não transmite qualquer vibração ou pressão mecânica ao cirurgião nem ao osso, diminuindo o traumatismo dos tecidos e, conseqüentemente, menor hemorragia. Não há desgaste nem eventuais resíduos metálicos provenientes das brocas ou pontas ultrassónicas. Não há perda do poder de corte nem risco de rutura do instrumento. Não há formação de resíduos ósseos e o trauma dos tecidos moles é menos arriscado uma vez que o *Laser* não corta lateralmente. A diminuição do trauma dos tecidos envolvidos no ato cirúrgico também é válido para a piezocirurgia. A broca não apresenta qualquer destas vantagens.

Este autor também refere, num outro artigo, (5) que o *Laser* Er:YAG também reduz o risco de microfraturas e que apresenta uma curva de aprendizagem longa. Khambay (188) corrobora esta opinião, mas em relação ao piezocirúrgico. Como era um dos objetivos deste trabalho, efetuamos a medição dos tempos de execução de cada um dos defeitos e ao analisarmos o gráfico com os dados cronologicamente inseridos (Ver Gráfico 4, Página 193) podemos verificar que a curva de aprendizagem é maior no caso do *Laser* Er:YAG. Senão vejamos: Os tempos de execução dos defeitos no momento zero foram mais rápidos com o *Laser* e mais lentos com o piezocirúrgico. Os tempos médios registados foram 13s, 16s e 22s, para o *Laser*, broca e piezocirúrgico respetivamente, sem que nenhum dos métodos apresentasse valores mais baixos que cada um dos outros, exceto no caso do melhor tempo da broca que supera o pior tempo do *Laser* (observar que no Gráfico 2 da página 191). Daqui

podemos concluir que, com esta configuração, e livre dos constrangimentos cirúrgicos, o *Laser* se apresenta como sendo o mais rápido dos três métodos. Com base nestes dados e sabendo que as cirurgias decorreram em três dias interpolados podemos verificar no gráfico respetivo (Ver Gráfico 4, Página 193) que existem três picos relativos ao tempo de execução dos defeitos, que correspondem ao início de cada dia de trabalho. Adicionalmente, podemos observar que no último dos três dias, foi obtido (no final) o mais baixo dos tempos registados e que além do pico inicial, há mais dois picos nos dias “18” e “28”. A curva dos tempos do piezocirúrgico também acompanha à distância (tempos mais baixos) os picos do *Laser*, enquanto os tempos dos defeitos realizados com a broca são mais homogêneos, situando-se entre as linhas que demarcam os 17s e os 26s, exceto o primeiro registo. Sem qualquer significado que lhe possa ser atribuído, podemos constatar que o primeiro defeito realizado, o *Laser* foi mais rápido que a broca.

O controlo da profundidade da osteotomia com o *Laser* Er:YAG é impossível de ser feito sem parar para efetuar uma medição, e quando há um ligeiro sangramento a luz guia do feixe (de cor vermelha) deixa de ser tão visível. Para ultrapassar estas situações, no final sugerimos duas hipóteses de estudo para ultrapassar estes óbices.

Em 2011, Martins (264) comparou o *Laser* Er:YAG e a broca como métodos de osteotomia. Tal como noutros estudos que usaram a mandíbula ou a calote craniana de rato, os tempos de reparação óssea foram significativamente mais demorados do que os estudos como este que usaram a tibia do mesmo animal. As áreas de material amorfo apenas desapareceram ao fim de 60 dias, e só aos 90 dias o padrão do osso neoformado se aproximou da estrutura do osso nativo.

Neste estudo, no exame histológico, conseguimos observar osteócitos, no osso imediatamente circundante ao defeito, sem qualquer alteração morfológica nos três métodos utilizados, pelo que se pode concluir que nenhum deles eleva a temperatura de modo a provocar necrose celular nessa região.

Segundo Eriksson, num estudo realizado em coelhos, o osso não demonstra sinais de necrose térmica desde que não ultrapasse a temperatura de 47°C. (302) Outros autores referem que o aumento de temperatura não pode atingir os 44°C por um período superior a um minuto. (21, 303) No entanto, não se podem inferir diretamente, estes resultados para o ser humano, uma vez que depende da estrutura da cortical, nomeadamente quanto à

espessura desta. (1) O limite preciso da elevação de temperatura que pode causar osteonecrose térmica no homem ainda não está bem definido. (301)

O piezocirúrgico apresenta uma potência três vezes maior que os destartarizadores ultrassônicos convencionais, apresentando como grande vantagem a seletividade para tecidos duros, conforme referido por diversos autores. (163, 265, 304, 305) Pudemos constatar a segurança efetiva quanto ao contacto com os tecidos moles e a enorme precisão cirúrgica deste aparelho. Esta é possível graças à seletividade de corte, ao design das pontas e à excelente visibilidade do campo operatório, também consequência de um menor sangramento provocado por este aparelho (189) e por uma maior eficácia da remoção dos resíduos ósseos. O fenómeno da cavitação facilita este processo, em associação com o soro de refrigeração. Atualmente a piezocirurgia é considerada, por alguns autores, como a técnica mecânica mais inovadora e promissora no âmbito da cirurgia óssea, nomeadamente na região crânio-maxilofacial. (6, 306). No entanto, na sequência da observação de uma maturação tardia do tecido ósseo, que não foi atingida dentro do tempo deste estudo (42 dias), leva-nos a questionar se na realidade estas vantagens se devem sobrepor à neoformação tardia de osso maduro. Como os estudos experimentais com componente de avaliação histológica são muito poucos, deverão ser desenvolvidos mais estudos.

Por outro lado, vários autores se referem ao maior tempo de intervenção, (166, 170, 175, 184, 268) necessário ao desempenho da mesma tarefa quando comparado com a broca cirúrgica, algo que também constatamos no nosso estudo.

A superfície óssea do defeito efetuado com a broca e com o piezocirúrgico é muito regular, mas Metzger *et al.*(200), apesar de ter apresentado resultados similares na osteotomia com broca, verificou que a superfície produzida pelo piezocirúrgico é rugosa. Esta diferença deve-se ao complemento de análise da superfície com um sistema laser de medição de superfície. Em ampliações maiores também verificamos uma rugosidade maior na parede do defeito, quando comparada com o método broca.

Beziat (170) refere-se a alguma falta de potência por parte do piezocirúrgico. Tal implica que o procedimento seja mais demorado. No nosso estudo tivemos a necessidade de utilizar o aparelho piezocirúrgico na sua potência máxima no programa de cirurgia para que os tempos de osteotomia fossem o mais possível parecidos com os tempos do grupo controlo.

Contrariamente ao nosso resultado histológico, Vercellotti concluiu, num estudo animal em cão, que a reparação óssea, quando comparada com o método broca adiamantada e tungsténio era mais célere. Estes dados não estão de acordo com os nossos resultados, podendo, eventualmente, ter relação com o tipo de modelo animal envolvido no estudo.

Stübinger *et al.* (6), quando comparou os tempos de execução do defeito entre *Laser* Er:YAG e piezocirúrgico, em tibia de ovelha, concluíram que o *Laser* é mais demorado que piezocirúrgico, apesar da alta eficiência do *Laser*.

9.5 HIPÓTESE EXPLICATIVAS DOS RESULTADOS OBTIDOS

No presente estudo, o *Laser Er:YAG* apresentou eficácia equivalente aos outros métodos (broca e piezocirúrgico), removendo a cortical óssea com igual capacidade. Embora tendo a dificuldade de promover um defeito exatamente igual ao da broca e do piezocirúrgico, pelo motivos já explicados, conseguiram-se defeitos muito semelhantes.

Os tempos de execução foram, na generalidade, superiores no caso do *Laser*. Apesar disso, o tempo com valor mais baixo registado também pertence ao mesmo método. Tal facto fica a dever-se à dificuldade de focar o feixe, mesmo tendo colocado uma guia de plástico que nos ajudava a manter a distância focal. No entanto, o procedimento cirúrgico também é um pouco prejudicado pelo pouco ergonómico braço articulado. No entanto, reconhecemos, que à luz dos atuais conhecimentos, o método de transmissão do feixe mais eficaz é o braço articulado com espelhos. Este sistema permite a transmissão de níveis de potência mais elevados até à peça de mão, em contraponto com as fibras óticas. Neste aspeto, o piezocirúrgico tem alguma vantagem uma vez que, mesmo quando os tecidos moles não estão totalmente colocados fora do local de ação da sua ponta ativa, estes, nada sofrem, conforme relatado por diversos autores. (177, 181, 189, 265, 269, 307) Esta característica permite ser um pouco mais “liberal” no afastamento tecidual, o que facilita o ato cirúrgico.

Os defeitos criados com broca apresentaram logo no início (3 dias) cavidades muito mais preenchidas com um componente celular muito rico (sanguíneo e inflamatório). Isso pode ficar a dever-se ao facto dos dois métodos experimentais (piezocirúrgico e *Laser Er:YAG*) promoverem alguma hemóstase e uma camada amorfa muito ligeira, mas que poderá ser um fator impeditivo da entrada, no defeito, de células inflamatórias. No entanto, aos sete dias há uma maior atividade osteogénica no defeito do *Laser* do que no piezocirúrgico, que se poderá dever ao facto de o *Laser Er:YAG* promover a secreção de fatores de crescimento. (263) Este será também um assunto para desenvolver em futuras linhas de investigação.

A neoformação de osso registou diferenças significativas para todos os métodos até ao 28º dia. A partir deste momento o processo iniciou-se o processo remodelativo e os tecidos ósseos no interior do defeito confundem-se com o tecido ósseo nativo. A única exceção são os defeitos do piezocirúrgico, que apesar de estarem totalmente (ou quase) preenchidos de osso, este revela-se imaturo, não possuindo as mesmas características do osso original.

Como não encontramos nenhuma referência na literatura, e uma vez que esta refere apenas que a cicatrização de defeitos efetuados com piezocirúrgico conseguem obter melhores resultados na regeneração óssea que os defeitos efetuados com broca, será necessário, no futuro confirmar e/ou explicar o motivo pelo qual se verifica este atraso.

Os efeitos térmicos do *Laser* sobre os tecidos periféricos do defeito são quase negligenciáveis, provavelmente devido ao pulso de muito curta duração e ao formato quase cilíndrico (“pulso quadrado”) do feixe emitido. A maior parte dos Lasers não permite a seleção da duração do pulso nem tem pulso com duração tão curta. Os pulsos de duração curta permitem efetuar a designada “Ablação fria” (297, 298) uma vez que possibilitam a transferência de toda a energia numa fração de tempo muito pequena, que não lesa os tecidos periféricos.

O “pulso quadrado” (em corte imaginário transversal do feixe), contrariamente ao perfil Gaussiano dos *Lasers* tradicionais tem um efeito ablativo em todo o seu perímetro, contrariamente ao perfil Gaussiano que, na periferia, não fornece energia suficiente para ablar o tecido. Essa energia é acumulada nos tecidos sob a forma térmica, provocando necrose celular na periferia da zona de emissão do feixe.

Esta nova tecnologia VSP permite a obtenção destes resultados nos tecidos periféricos, em que não se regista necrose e a camada amorfa é muito ténue.

9.6 EXTRAPOLAÇÃO CLÍNICA DOS RESULTADOS

Apesar dos resultados prometedores que o *Laser Er:YAG* tem apresentado para a cirurgia óssea, clinicamente ainda não se afirmou como uma verdadeira alternativa aos métodos convencionais. A um método baseado numa nova tecnologia não basta igualar o desempenho dos anteriores. É preciso superá-los. Apesar de a nossa experiência e alguns estudos revelarem vantagens no pós-operatório, estamos na presença de um fator distintivo que depende muito da subjetividade do paciente, e que exige estudos de investigação clínica comparativos bem estruturados e fundamentados.

Os resultados de estudos *in vitro* ou *ex vivo*, apesar serem mais facilmente quantificáveis e normalizados, podem ser muito difíceis de extrapolar para a situação clínica diária. Além disso, os estudos *in vitro* não nos conseguem demonstrar a real resposta tecidual. Por este motivo, os modelos de experimentação animal são essenciais para testar a regeneração óssea, uma vez que representam de forma aproximada a situação clínica humana do ponto de vista mecânico e fisiológico.

A extrapolação dos resultados é o objetivo final de todos os estudos e contribui para a qualidade da interpretação dos resultados. Contudo, as diferenças na microestrutura e fisiologia óssea animal e humana dificultam a extrapolação, mas não a tornam impossível.

O nosso estudo de experimentação animal, embora não possa diretamente extrapolado para a clínica, deixa-nos com uma visão muito positiva acerca do uso de *Laser Er:YAG* em tecidos ósseos. A velocidade de corte, que nos primeiros *Lasers Er:YAG* era um problema, neste momento consegue superar, ou no mínimo igualar, os métodos convencionais. Os efeitos térmicos nefastos característicos dos *Lasers de CO₂* e *Nd:YAG* também não se verificam do *Er:YAG*, como comprovam este e outros estudos. A regeneração dos tecidos tem, neste modelo animal, uma evolução muito similar ao método convencional e, por isso, embora não possamos extrapolar diretamente para o ser humano, podemos, baseando-nos também nos estudos clínicos publicados, afirmar que, aparentemente, o *Laser Er:YAG* pode ser utilizado em cirurgia óssea na prática clínica diária.

Face aos resultados histológicos, provavelmente, os métodos *Laser Er:YAG* e piezocirúrgico provocam, nos primeiros dias, menor inflamação e edema do que o método broca, dado que a componente celular quer sanguínea quer inflamatória é muito menor.

Em relação ao piezocirúrgico, parece-nos, face aos resultados histológicos obtidos, que a sua aplicação na clínica se deve restringir aos atos cirúrgico onde haja uma grande probabilidade de lesão dos tecidos moles. Todas as outras possíveis utilizações devem ser evitadas, pelo menos até à realização de novos estudos, uma vez que a qualidade do osso formado, pelo menos no período inicial, não apresenta uma maturação suficiente para que possamos obter os melhores resultados.

Assim sendo, o aparelho piezocirúrgico tem as seguintes indicações clínicas:

- Elevação da membrana do seio maxilar;
- Lateralização do nervo alveolar inferior;
- Procedimentos cirúrgicos onde a probabilidade de lesão de estruturas nervosas é elevada;

Devendo ser evitada a sua utilização em situações onde exista um método alternativo e capaz de cumprir a função sem riscos.

9.7 PROPOSTA DE NOVAS METODOLOGIAS

Para facilitar a obtenção de cortes histológicos perpendiculares, aquando da execução do defeito ósseo deveria ser executado a uma pequena distância (3 a 5 mm, por ex.) uma perfuração, alinhada com o defeito, onde seria inserido um material imunologicamente inerte. Pensamos que a gutta percha cumprirá este objetivo uma vez que é mole, de manuseio fácil e inerte para a regeneração do osso. A sua presença ajudaria a identificar a localização do defeito a partir dos 14 dias, uma vez que macroscopicamente é extremamente difícil conseguir localizar o defeito. A correta localização do defeito é essencial para a obtenção de cortes normalizados e perpendiculares em relação ao longo eixo do defeito, logo perfeitamente circulares.

A criação de um molde para inclusão da tibia em posição normalizada e perfeitamente orientada também será útil para atingir o objetivo referido.

9.8 NOVAS LINHAS DE INVESTIGAÇÃO

Com a realização deste estudo experimental em modelo animal pudemos comprovar que o *Laser Er:YAG* é um método eficaz, viável e muito promissor para a realização de cirurgia óssea. Face à evolução que estes aparelhos têm sofrido nos últimos anos, é de esperar que esse caminho continue a ser explorado e que se consiga conhecer melhor o comportamento do tecido ósseo sujeito à irradiação do *Laser*.

Como clínico, investigador e conhecedor da tecnologia, gostaria de ter à minha disposição um *Laser* que “reconhecesse” o tecido alvo. O ideal seria que o *Laser* apenas se ativasse quando corretamente dirigido para o tecido alvo definido pelo cirurgião, e para o qual havia configurado o aparelho. Este modo de funcionamento, parece demasiado futurista, mas noutras aplicações já é possível de forma parcial no sistema de feedback que faz parte de um *Laser Er:YAG* atualmente em comercialização. Esta inovação seria muito útil para a segurança na sua utilização, principalmente em zonas de pouca visibilidade, como muitas vezes acontece em medicina dentária. Claro está que esta linha de investigação depende essencialmente da área da física e dos fabricantes de equipamentos, mas o que hoje idealizamos, amanhã pode ser uma realidade. Neste capítulo, cabe aos clínicos contribuir com ideias partilhando-as e aos fabricantes o apoio da investigação e da resolução de problemas, de forma a alcançar o pretendido.

Adicionalmente, o *Laser* deveria dispor de um sistema de medição que informasse o seu utilizador acerca da distância a que está a operar. Assim seria mais fácil a manutenção da distância desejada, mesmo quando o cirurgião pretende utilizar o *Laser* desfocado. Concomitantemente poderia avaliar rigorosa e constantemente a que profundidade está a efetuar ablação de tecido uma vez que essa perceção, atualmente, é nula.

Face à disparidade de conclusões e da experimentação no campo da cirurgia óssea com *Laser Er:YAG*, seria importante o desenvolvimento de estudos *in vitro* com vista a determinar, dentro das múltiplas configurações possíveis, qual ou quais as configurações mais adequadas de cada aparelho, tendo como objetivo a superação do comportamento biológico dos tecidos face aos métodos convencionais.

Como o fator mais importante ao nível da regeneração óssea, após osteotomia, é a temperatura a que o tecido ósseo foi sujeito,(281, 299-301) serão necessários estudos que

permitam determinar, para o *Laser* ER:YAG, qual o Tempo de Relaxamento Térmico do tecido ósseo em situação clínica. Após alcançarmos este objetivo, conseguiremos determinar qual a duração de pulso e frequência ideais. Posteriormente, poderemos determinar a energia ideal de pulso ideal para atingir os objetivos fundamentais: remoção de tecido sem efeitos térmicos lesivos e velocidade de ablação superior à dos métodos tradicionais.

Parece-nos fundamental que a investigação sobre a aplicação do *Laser* nos outros tecidos da cavidade oral acompanhe a evolução da investigação. Certamente que o sucesso do *Laser* na prática clínica diária apenas será uma realidade se as suas possibilidades de utilização forem multifacetadas.

Em relação ao piezocirúrgico, serão necessários mais estudos histológicos onde se possa comprovar, ou não, a maturação tardia do osso ablado por este método.

Sendo o piezocirúrgico utilizado para efetuar recolha de osso para autoenxertos, pensamos que seria útil desenhar uma investigação onde se pudesse comparar o desempenho de cada um destes métodos nessa função.

Não sendo uma linha de investigação, mas sim uma sugestão de evolução dos equipamentos *Laser*, penso que seria muito útil a conversão da luz guia de todos os *Lasers* para um comprimento de onda dentro da gama do verde. Assim sendo, a dificuldade de por vezes o cirurgião não conseguir distinguir a luz guia vermelha no campo operatório, confundindo-a com o sangue, seria definitivamente ultrapassada. À consideração dos fabricantes....

Baseados nas conclusões deste estudo, pensamos que o próximo estudo em modelo animal deverá ser efetuado num animal de uma escala filogeneticamente superior para que a extrapolação dos resultados seja mais facilitada. No entanto, ainda será necessário esclarecer algumas dúvidas relativamente a uma eventual melhor definição dos parâmetros do feixe do *Laser* Er:YAG. Contudo, a utilização do coelho, por exemplo, permitiria a confirmação, ou não, dos resultados histológicos aqui obtidos relativamente ao método piezocirúrgico. Uma vez que este animal é significativamente maior do que o rato, também seria possível efetuar corte longitudinais com outro tipo de pontas, averiguando se os resultados dentro do mesmo aparelho são ou não sobreponíveis.

Conforme já referido, e na sequência de outro estudo (263), seria importante investigar se há relação entre o estímulo da reparação óssea e fatores de crescimento.

10. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, é possível afirmar que:

- O modelo animal selecionado permitiu avaliar quantitativa e qualitativamente a reparação do tecido ósseo;
- Não se registaram diferenças significativas na evolução do peso dos animais, em relação às tabelas de crescimento da espécie, o que revela o seu bem-estar ao longo de todo o período experimental e o baixo impacto de desconforto que o procedimento cirúrgico infligiu aos animais;
- Todos os procedimentos experimentais mostraram-se adequados aos objetivos do estudo;
- A ausência de artefactos, a preservação e qualidade do material final confirmam que a metodologia de preparação histológica foi adequada;
- Qualquer dos métodos de osteotomia testados desempenha com celeridade e eficácia a osteotomia neste modelo animal;
- A ausência de contacto da peça de mão do *Laser* exige habituação do médico dentista, para ganhar uma nova percepção, que, ao contrário do que é habitual, não é háptica;
- A avaliação histomorfométrica demonstrou existirem diferenças estatisticamente significativas entre grupos nos dias 7, 14 e 28;
- Para um defeito de 1,8 mm, as diferenças morfométricas de formação de novo osso deixam de ser significativas após os 28 dias, independentemente do método usado;
- Todos os métodos desenvolveram um processo de reparação regenerativo, ressalvando-se o facto de, no caso do piezocirúrgico o processo ainda não estar terminado dentro do período de estudo deste trabalho;
- Em todos os métodos, o processo regenerativo deu-se de forma centrípeta;
- Na osteotomia realizada com broca verificou-se a existência inicial de um maior número de células inflamatórias que mediarão com uma maior celeridade o processo regenerativo inicial, comparativamente com os outros métodos;

- Na osteotomia realizada com *Laser* verificou-se a formação de uma, extremamente fina, camada de tecido com aspeto amorfo, mas esta não comprometeu a regeneração do tecido ósseo neoformado nas margens do defeito criado;
- Na osteotomia realizada com piezocirúrgico visualizaram-se diversas zonas de tecido amorfo, mas tal como no caso do *Laser*, este fator não foi impeditivo de se formar novo tecido ósseo nas margens do defeito;
- Nas osteotomias realizadas com *Laser* e piezocirúrgico apenas se observou a presença de um componente celular numeroso a partir do sétimo dia;
- A análise histológica qualitativa do osso neoformado na zona do defeito criado com o piezocirúrgico, observava-se muito pouco tecido ósseo maduro, mesmo após 42 dias de maturação e verificação do preenchimento total do defeito com tecido ósseo;
- O *Laser* Er:YAG possui características que permitem efetuar osteotomias sem provocar danos tecidulares nem atraso no processo de regeneração óssea.

ANEXOS

Tabela 29 - Resumo dos pesos (iniciais e finais), tempos de intervenção e NBV/TV

Nº	Método	Dias	Tíbia	Peso (g)			Tempos de Intervenção (mm:ss)				NBV / TV (%)
				Inicial	Final	Dif.	Incisão	Defeito	Sutura	Total	
1	Laser	7	D	336	349	13	02:49	00:21	05:47	08:57	28,02
1	Broca	7	E				03:24	00:41	04:33	08:38	30,76
2	Broca	7	D	323	338	15	04:05	00:22	04:38	09:05	30,06
2	Laser	7	E				03:30	00:15	06:59	10:44	29,77
3	Piezo	42	D	342	405	63	00:40	00:18	04:03	05:01	90,27
3	Laser	42	E				04:37	00:56	04:59	10:32	94,39
4	Laser	42	D	336	397	61	02:22	00:31	05:08	08:01	95,25
4	Broca	42	E				03:02	00:24	04:33	07:59	98,09
5	Broca	28	D	305	354	49	04:21	00:21	04:27	09:09	87,77
5	Piezo	28	E				00:41	00:43	02:57	04:21	78,03
6	Piezo	28	D	349	405	56	00:41	00:27	05:29	06:37	79,31
6	Laser	28	E				01:22	00:22	05:18	07:02	74,86
7	Broca	14	D	335	364	29	03:48	00:22	04:32	08:42	50,98
7	Laser	14	E				02:07	00:15	05:18	07:40	76,93
8	Laser	14	D	359	385	26	03:30	00:22	04:47	08:39	64,73
8	Piezo	14	E				01:01	00:38	03:18	04:57	55,78
9	Laser	7	D	345	359	14	02:05	00:52	04:08	07:05	31,34
9	Piezo	7	E				01:13	00:32	03:41	05:26	39,16
10	Broca	7	D	318	334	16	03:24	00:21	04:02	07:47	27,82
10	Laser	7	E				01:18	00:20	04:03	05:41	29,63
11	Broca	14	D	332	360	28	04:13	00:18	05:47	10:18	58,03
11	Laser	14	E				01:29	00:52	05:15	07:36	60,83
12	Laser	14	D	378	406	28	02:12	00:43	06:23	09:18	55,55
12	Broca	14	E				03:55	00:24	04:49	09:08	46,57
13	Laser	42	D	316	358	42	01:38	00:40	06:42	09:00	96,02
13	Piezo	42	E				00:31	00:34	03:22	04:27	33,72
14	Piezo	42	D	338	398	60	00:22	00:24	03:35	04:21	92,24
14	Broca	42	E				02:48	00:18	03:47	06:53	85,85
15	Broca	42	D	337	449	112	03:41	00:19	04:30	08:30	96,32
15	Piezo	42	E				00:50	00:34	03:56	05:20	89,23
16	Piezo	42	D	337	396	59	00:31	00:19	05:30	06:20	95,86
16	Laser	42	E				01:44	00:40	04:52	07:16	93,68
17	Piezo	14	D	351	377	26	00:59	00:24	03:50	05:13	69,42
17	Broca	14	E				03:50	00:23	05:00	09:13	59,77
18	Laser	14	D	310	332	22	01:33	00:34	06:26	08:33	64,97
18	Broca	14	E				02:21	00:20	04:11	06:52	61,13
19	Piezo	3	D	322	327	5	02:10	00:21	04:39	07:10	0,00
19	Laser	3	E				03:15	00:35	01:31	05:21	0,00
20	Broca	3	D	357	365	8	03:40	00:24	04:23	08:27	0,00
20	Piezo	3	E				01:39	00:22	03:29	05:30	0,00

Nº	Método	Dias	Tíbia	Peso (g)			Tempos de Intervenção (mm:ss)				NBV / TV (%)
				Inicial	Final	Dif.	Incisão	Defeito	Sutura	Total	
21	Broca	7	D	347	365	18	03:29	00:20	04:20	08:09	28,91
21	Piezo	7	E				02:01	00:23	03:55	06:19	39,40
22	Broca	7	D	309	322	13	04:02	00:19	05:25	09:46	31,33
22	Piezo	7	E				01:02	00:14	03:56	05:12	36,77
23	Laser	28	D	350	435	85	02:21	00:23	05:09	07:53	58,04
23	Piezo	28	E				01:59	00:27	05:02	07:28	76,34
24	Laser	28	D	355	435	80	01:43	00:17	05:23	07:23	55,13
24	Broca	28	E				03:56	00:23	04:17	08:36	85,91
25	Laser	3	D	386	392	6	03:31	00:33	04:28	08:32	0,00
25	Broca	3	E				02:44	00:25	03:06	06:15	0,00
26	Piezo	3	D	331	337	6	01:34	00:21	03:52	05:47	0,00
26	Laser	3	E				02:28	00:52	04:31	07:51	0,00
27	Broca	28	D	300	350	50	04:11	00:20	04:31	09:02	81,17
27	Laser	28	E				01:54	00:44	05:08	07:46	82,66
28	Piezo	28	D	346	399	53	02:26	00:18	06:56	09:40	73,84
28	Laser	28	E				01:20	00:15	04:59	06:34	81,89
29	Piezo	14	D	340	367	27	01:07	00:46	03:45	05:38	69,52
29	Laser	14	E				02:12	00:24	04:56	07:32	63,27
30	Broca	14	D	355	383	28	03:04	00:23	03:54	07:21	48,27
30	Piezo	14	E				00:42	00:19	03:09	04:10	61,01
31	Piezo	7	D	348	365	17	00:43	00:16	03:35	04:34	30,82
31	Broca	7	E				03:12	00:21	04:03	07:36	28,48
32	Piezo	7	D	364	382	18	02:37	00:29	04:34	07:40	30,18
32	Broca	7	E				03:14	00:18	04:29	08:01	30,27
33	Laser	3	D	366	371	5	01:32	00:29	05:01	07:02	0,00
33	Broca	3	E				01:31	00:22	03:32	05:25	0,00
34	Broca	3	D	335	340	5	02:53	00:25	03:49	07:07	0,00
34	Laser	3	E				01:59	00:20	04:00	06:19	0,00
35	Piezo	3	D	356	363	7	01:22	00:20	03:56	05:38	0,00
35	Broca	3	E				03:23	00:22	04:21	08:06	0,00
36	Laser	3	D	317	323	6	01:50	00:19	05:04	07:13	0,00
36	Piezo	3	E				01:03	00:20	03:54	05:17	0,00
37	Laser	42	D	354	422	68	01:51	00:50	06:11	08:52	96,95
37	Piezo	42	E				00:41	00:27	05:29	06:37	97,63
38	Broca	42	D	354	473	119	03:56	00:22	03:58	08:16	94,90
38	Laser	42	E				03:16	00:27	04:38	08:21	95,25
39	Laser	28	D	339	415	76	01:55	00:19	05:28	07:42	82,29
39	Broca	28	E				02:59	00:19	04:21	07:39	83,53
40	Piezo	28	D	348	406	58	03:45	00:24	05:00	09:09	86,94
40	Broca	28	E				03:31	00:26	04:22	08:19	89,78

Nº	Método	Dias	Tíbia	Peso (g)			Tempos de Intervenção (mm:ss)				NBV / TV (%)
				Inicial	Final	Dif.	Incisão	Defeito	Sutura	Total	
41	Broca	3	D	326	333	7	02:51	00:23	04:15	07:29	0,00
41	Laser	3	E				01:31	00:11	04:35	06:17	0,00
42	Piezo	7	D	322	334	12	01:04	00:28	04:34	06:06	27,16
42	Laser	7	E				02:58	00:38	05:14	08:50	28,66
43	Piezo	14	D	386	413	27	00:54	00:25	04:49	06:08	60,68
43	Laser	14	E				03:05	00:59	06:31	10:35	58,62
44	Piezo	14	D	387	413	26	00:59	00:20	04:30	05:49	64,54
44	Broca	14	E				01:12	00:18	03:02	04:32	48,64
45	Laser	7	D	338	350	12	02:27	00:25	06:29	09:21	30,21
45	Piezo	7	E				01:44	00:12	07:24	09:20	35,32
46	Laser	7	D	346	361	15	01:26	00:33	05:22	07:21	26,13
46	Broca	7	E				03:32	00:20	05:50	09:42	30,43
47	Piezo	3	D	335	341	6	00:59	00:18	03:24	04:41	0,00
47	Broca	3	E				01:14	00:21	03:40	05:15	0,00
48	Laser	3	D	353	360	7	02:34	00:33	05:27	08:34	0,00
48	Piezo	3	E				00:52	00:20	03:01	04:13	0,00
49	Broca	28	D	307	357	50	02:32	00:21	04:17	07:10	88,66
49	Laser	28	E				01:54	00:13	04:49	06:56	78,48
50	Piezo	28	D	340	396	56	01:24	00:25	03:48	05:37	82,30
50	Broca	28	E				00:57	00:20	02:45	04:02	85,80
51	Laser	14	D	332	356	24	02:18	00:40	04:31	07:29	61,83
51	Piezo	14	E				01:09	00:18	03:31	04:58	54,54
52	Broca	14	D	313	339	26	04:39	00:24	04:31	09:34	47,40
52	Piezo	14	E				01:15	00:24	04:25	06:04	55,93
53	Laser	42	D	331	397	66	01:40	00:20	05:28	07:28	97,07
53	Broca	42	E				02:59	00:18	03:58	07:15	96,98
54	Broca	42	D	359	474	115	03:48	00:26	03:48	08:02	94,65
54	Piezo	42	E				01:23	00:17	05:02	06:42	94,67
55	Laser	28	D	353	429	76	06:43	00:36	03:29	10:48	78,29
55	Piezo	28	E				02:22	00:21	04:49	07:32	83,87
56	Broca	28	D	358	410	52	01:01	00:18	03:00	04:19	89,72
56	Piezo	28	E				01:25	00:26	04:41	06:32	86,65
57	Broca	3	D	329	335	6	02:12	00:23	04:27	07:02	0,00
57	Piezo	3	E				01:17	00:19	03:53	05:29	0,00
58	Piezo	7	D	354	369	15	01:34	00:20	05:21	07:15	33,61
58	Laser	7	E				04:14	00:27	05:54	10:35	30,50
59	Broca	42	D	327	413	86	02:39	00:22	04:28	07:29	94,51
59	Laser	42	E				02:12	00:22	04:32	07:06	96,5
60	Piezo	42	D	370	444	74	00:51	00:27	08:03	09:21	95,18
60	Broca	42	E				01:58	00:21	03:42	06:01	98,04

Nº - Número identificativo do animal; D – Direita; E – Esquerda; Dif. – Diferença de peso (final-inicial)

APÊNDICE

11. APLICAÇÕES COMUNS DO LASER

11.1 NA INDÚSTRIA

As possibilidades industriais alargaram-se e/ou aperfeiçoaram-se com a aplicação do *Laser* em numerosas tarefas. Diversas indústrias operam diariamente com equipamentos *Laser*, que podem desempenhar funções diversas, das quais falaremos de seguida.

O corte, soldadura, perfuração, gravação, incisão e limpeza de superfícies em diferentes tipos de materiais podem ser funções concretizadas com a ajuda do *Laser*.(13)

O corte e gravação representam uma das aplicações mais comuns, fruto da excelente qualidade do bordo cortado / gravado, da elevada velocidade de execução e boa reprodutividade da função. O corte ou gravação podem ser efetuados em diferentes materiais, quer sejam metálicos ou não metálicos ou materiais orgânicos como a madeira ou tecidos. A sua aplicação pode ser efetuada em superfícies planas ou de geometria mais ou menos complexa.(13)

O corte com *Laser* apresenta as seguintes vantagens:(13)

- Elevada qualidade de corte;
- Rapidez;
- Ausência de contacto e desgaste;
- Possibilidade de cortar em qualquer ângulo e direção;
- Operação muito silenciosa;

E as seguintes desvantagens:(13)

- Custo da tecnologia;
- Limite da espessura dos materiais a cortar;
- Procedimento térmico.

O corte com *Laser* pode ser feito por 3 métodos diferentes:(13)

- Fusão

Usado sobretudo na indústria metalúrgica e em dois modos:

- Com oxigênio

Permite o corte em materiais de grande espessura, embora a qualidade dos bordos e das superfícies seja fraca.

- Com gás inerte (nitrogênio ou argon)

Melhor qualidade de corte e superfície;

Menor profundidade e velocidade;

Custo mais elevado;

- Vaporização

Usado na indústria metalúrgica

- A quantidade de material fundido é mínima;

- Ótima qualidade de corte;

- Exige máquinas de potência elevada;

- Degradação química

Usado em materiais orgânicos como madeira

Produz-se por cisão de ligações químicas entre as moléculas do material, induzida por aquecimento

- A velocidade do procedimento é muito menor que os anteriores;

A soldadura com *Laser* é promovida através da focalização nos bordos das peças a soldar e a soldadura (autógena) ocorre por fusão e posterior solidificação do material. Há uma maior “pureza” da união, que, para evitar oxidação, é realizada em atmosfera inerte (árgon, hélio ou azoto). O material pode não ser metálico desde que, aquecidos, sejam capazes de se fundir.

Os tipos de *Laser* mais utilizados neste tipo de funções (soldadura e corte) são os *Lasers* de Nd:YAG e CO₂.(13)

A gravação de objetos pode ser efetuada em qualquer tipo de superfície e de forma indelével, embora monocromática. A rapidez do processo e a possibilidade de marcar diferentes materiais (cerâmica, metal e plástico) é, também, uma grande vantagem.(13)

Em casos especiais é possível efetuar microperfurações desde dezenas de micrómetros, em tempos reduzidos que variam de nano (10^{-9}) a femtosegundos (10^{-15}).⁽¹³⁾

Levantamentos topográficos e medições astronômicas com elevada precisão e rapidez são outras possibilidades permitidas pelo *Laser*.⁽¹³⁾

No mundo das imagens tridimensionais, quer a digitalização 3D, quer a obtenção de imagens para planificação industrial e entretenimento e espetáculos, o *Laser* tem um papel fundamental.⁽¹³⁾

11.2 NO QUOTIDIANO

Diariamente, e já sem pensarmos nisso, estamos rodeados por esta tecnologia que tem demonstrado possuir amplas potencialidades e aplicações. São inúmeras as situações em que nos socorremos do *Laser*, quer em trabalho quer em lazer.

Estamos a pensar em aparelhos como o leitor de CD's, quer de música quer de dados, DVD's, leitores óticos de códigos de barras, impressoras, ratos óticos e ponteiros *Laser* para apresentações.⁽¹³⁾

As telecomunicações também foram completamente revolucionadas pela possibilidade de transferência de dados, imagens e sons a velocidades incríveis e com uma qualidade de sinal inigualável e distâncias notáveis quando comparado com outras tecnologias, influenciando muito a nossa forma de estar e de trabalhar.⁽¹³⁾

Diversos aparelhos de medição baseiam-se no *Laser*, apresentando uma precisão notável.

12. O LASER EM MEDICINA DENTÁRIA

Os avanços tecnológicos na área das ciências da saúde estão, desde há muitos anos a revolucionar o tratamento dos pacientes e a forma de estar dos profissionais. A medicina dentária também está incluída.

Habitualmente, estas novas tecnologias tornam os tratamentos mais eficazes, mais previsíveis, mais rápidos e mais confortáveis para os pacientes.

Os *Lasers* podem ter uma ação terapêutica ou cirúrgica, como já vimos anteriormente. Na medicina dentária os *Lasers* mais comumente usados são:

- Díodo (810 ou 980 nm);
- Nd:YAG (1064 nm);
- Er, Cr:YSGG (2780 nm);
- Er:YAG (2940 nm);
- CO₂ (9600 ou 10600 nm).

Estes *Lasers* têm aplicação em diversas áreas da medicina dentária tais como:

- Dentisteria operatória;
- Periodontologia;
- Endodontia;
- Ortodontia;
- Disfunção temporomandibular;
- Cirurgia oral.

Em medicina dentária terá especial interesse, em todas as áreas, usar um *Laser* que nos possibilite a ablação e corte de tecidos moles e tecidos duros. No entanto, os *Lasers* com ação sobre os tecidos duros são extremamente dispendiosos, limitando, assim, a sua vulgarização em termos de utilização e não apresentam a mesma capacidade para lidar com os tecidos moles, quando comparados com os *Lasers* que apenas atuam sobre os tecidos moles (como o díodo, por exemplo).

Em muitas das áreas de intervenção da medicina dentária, o *Laser* permite executar tratamentos que, sem ele, não seriam possíveis (ablações planas superficiais extensas sem sangramento, por exemplo). No entanto, apesar da constante evolução dos *Lasers*, há algumas situações em que eles representam apenas um meio coadjuvante à terapêutica convencional e outras em que o *Laser* não pode ser, pelo menos para já, considerado como substituto das técnicas convencionais (preparação dentária para prótese fixa, por exemplo).

Algumas das aplicações mais comuns do *Laser* nas múltiplas áreas da medicina dentária, são:

12.1 DENTISTERIA OPERATÓRIA

Nos procedimentos de dentisteria operatória:(308, 309)

- Detecção de cáries;
- Branqueamento dentário;
- Remoção de cáries, esmalte, dentina e restaurações não metálicas;
- Tratamento da hipersensibilidade dentinária.

12.1.1 REMOÇÃO DE CÁRIES E PREPARAÇÃO CAVITÁRIA

Os tipos de *Laser* mais adequados para a preparação cavitária são os *Laser* de Érbio (Er:YAG – 2940 nm e Er, Cr: YSGG – 2780 nm).(7, 18) No entanto, a evidência científica da sua eficácia quando comparada com o método tradicional (broca) é, ainda, muito limitada.(310, 311)

12.1.2 HIPERSENSIBILIDADE DENTINÁRIA

Em 1985, Matsumoto utilizou pela primeira vez o *Laser* para o tratamento da hipersensibilidade dentinária, tendo usado o *Laser* Nd:YAG. Posteriormente têm sido usados os *Lasers* Er:YAG, CO₂ e GaAlAs, mas as conclusões dos estudos não são unânimes quer quanto à eficácia quer quanto à vantagem dos diferentes tipos de *Laser* face aos outros métodos de dessensibilização dentinária.(312-314) Pensa-se que a dessensibilização com *Laser* apresenta vantagens face à aplicação tópica de medicamentos. No entanto, são necessários mais estudos com amostras maiores e tempos de estudo mais longos para tirar conclusões mais válidas.(314)

12.2 PERIODONTOLOGIA

A periodontologia também beneficia de uma ampla variedade de tratamentos que podem ser aplicados com *Laser* ou, simplesmente, como terapêutica coadjuvante: (17, 309, 315, 316)

- Aumento de coroa clínica;
- Cirurgia muco-gengival;
- Desbridamento gengival;
- Detecção e remoção de cálculo e placa;
- Remoção de pigmentação melânica gengival;
- Terapêutica fotodinâmica no tratamento da doença periodontal;
- Desepitelização de tecidos para procedimentos regenerativos;
- Tratamento de periimplantites;
- Gengivectomia
- Gengivoplastia;
- Coagulação das áreas dadoras em enxertos de tecido conjuntivo.

12.3 ORTODONTIA

No tratamento ortodôntico, o *Laser* tem aplicação, mas todas elas estão relacionadas com a periodontologia ou cirurgia:(308, 317, 318)

- Hiperplasia gengival provocada pelo tratamento ortodôntico e má higiene;
- Exposição de dentes inclusos:
 - Facilita o posicionamento dos *brackets* pela facilidade em obter hemóstase
- Melhoria do contorno estético dos tecidos gengivais;
- Fibrotomias crestais:
 - Mais rápidas e sem sangramento quando comparadas com o método convencional.

12.4 ENDODONTIA

Os estudos da aplicação do *Laser* em endodontia iniciaram-se em 1971 com Weichman e Johnson que tentaram, em vão, selar o forâmen apical de dentes *in vitro*, com um *Laser* de CO₂.(319) Mais tarde tentaram usar um Laser Nd:YAG, mas o insucesso repetiu-se.(320) No entanto, diversos estudos continuaram a desenvolver-se na área da endodontia, com maior incidência a partir do último lustro do século transato.(63)

A sua utilização em endodontia aplica-se a:

- Hipersensibilidade dentinária; (63)
- Hemóstase e esterilização da câmara pulpar em pulpotomias; (63)
- Proteções pulpares diretas e indiretas; (63)
- Remoção da smear layer e detritos das paredes dos canais; (63, 321)
- Cirurgia apical. (63, 322-324)

O *Laser* é utilizado em endodontia como método complementar de tratamento, com as seguintes vantagens:

- Desbridamento de tecidos infetados e bactérias associadas; (308)
- Limpeza e esterilização do sistema de canais radiculares; (308, 321)
- Facilidade de utilização; (308)
- Maior adesão dos cimentos endodônticos à dentina dos canais radiculares.(325)

12.5 DISFUNÇÃO TEMPORO-MANDIBULAR

A disfunção temporo-mandibular pode ser tratada com laserterapia de baixa intensidade, nomeadamente:(308)

- Efeito analgésico, anti-inflamatório e bioestimulante;
- Sinovectomia;
- Tratamento de hipermobilidade com reposicionamento discal;
- Ablação de adesões discais;
- Coadjuvantes na cirurgia artroscópica:
 - Perfurações do disco articular.

12.6 ODONTOPEDIATRIA

Aplicação em tecidos moles:(326)

- Herpes labial;
- Aftose;
- Hemangioma;
- Fibroma;
- Papiloma;
- Granuloma piogénico;
- Mucocele;
- Cisto:
 - De erupção;
 - Dentífero;
- Corpo estranho;
- Frenectomia / frenotomia;
- Gengivectomia / gengivoplastia;
- Operculotomia;
- Pulpotomia;
- Recobrimento pulpar;
- Bioestimulação e analgesia durante o tratamento ortodôntico.

Aplicação em tecidos duros:(326)

- Prevenção e diagnóstico de cáries;
- Preparação dentária para aplicação de selantes de fissuras;
 - Efeito de assepsia.
- Remoção de cáries e preparação de cavidades:
 - Er, Cr:YSGG (2780 nm);
 - Er:YAG (2940 nm).

12.7 CIRURGIA ORAL

Na área da cirurgia oral o *Laser* é utilizado em: (109, 309, 315, 327)

- Ablação de lesões pré-malignas da cavidade oral;
- Diagnóstico de tecidos displásicos ou neoplásicos (necessário novos estudos)
 - Espetroscopia de fluorescência induzida por *Laser*
- Exodontia de dentes inclusos;
- Lesões de tecidos moles;
- Lesões vasculares;
- Osteotomia;
- Periimplantites (necessário novos estudos);
 - Descontaminação
 - Terapia fotodinâmica com azul de toluidina
- Roncopatia e apneia de sono.

13. OUTRAS APLICAÇÕES MÉDICAS DO LASER

As aplicações do *Laser* em outras áreas da medicina são inúmeras e continuam a desenvolver-se. A sua utilização eficaz e a compreensão do seu funcionamento exigem que o profissional entenda os mecanismos de interação do *Laser* com os tecidos e as propriedades do *Laser* que opera.(328) Não se pretende exaustividade mas sim abordar as diferentes áreas e técnicas mais representativas dentro da medicina que, comprovadamente, apresentem vantagens face aos métodos tradicionais. Nenhuma terapia a *Laser* será indicada se houver métodos alternativos com melhor taxa de sucesso, menos perigosos para o paciente ou mais fáceis de usar pelo clínico.

Iniciaremos a descrição pela oftalmologia que é, historicamente e ainda hoje, a área médica onde mais se aplicam os *Lasers*. A segunda ciência, respeitando a cronologia histórica, seria a medicina dentária. No entanto embora a pesquisa nesta área seja considerável, os resultados não foram prometedores na maioria dos casos e a discussão da utilidade persiste.

De seguida abordaremos a dermatologia e outras especialidades médicas de relevo.

Nos dias de hoje, principalmente na área oncológica, a investigação está muito direccionada para a terapia fotodinâmica e para a termoterapia intersticial induzida por *Laser*.

O *Laser* tem um papel importante em áreas como a ginecologia, a urologia e a neurocirurgia.

Devido aos progressos nos instrumentos para cirurgia minimamente invasiva, como o desenvolvimento de miniaturas de cateteres e endoscópios, novas técnicas estão a ser investigadas para cardiologia e angioplastia.

Aplicações de *Laser* muito relevantes foram também descobertas em ortopedia, na gastroenterologia, em otorrinolaringologia e em pneumologia.

O *Laser* aplicado à medicina é uma área em enorme desenvolvimento quer ao nível da investigação quer ao nível da sua aplicação nas diferentes especialidades.

Ainda muitas coisas estão por descobrir, não havendo estagnação no desenvolvimento de sistemas de *Laser* ou de técnicas nem restrição a qualquer área. Pelo contrário, o *Laser* foi introduzido em quase todas as áreas e é expectável que outras aplicações clínicas sejam desenvolvidas.

13.1 O *LASER* EM OFTALMOLOGIA

A área médica que tem conseguido usufruir de mais vantagens é a oftalmologia através da aplicação de diversas metodologias.(13)

O oftalmologista alemão Gerd Meyer-Schwickerath, em 1949, foi o primeiro a investigar a coagulação da retina com luz solar para fins terapêuticos, mas as limitações do aparelho desenvolvido eram muitas (ex.: a necessidade de luz solar) e desenvolveu, em conjunto com a Zeiss o fotocoagulador de Xénon, em 1956.(142) Esta descoberta revolucionou o tratamento de diversas doenças da retina e da mácula. Curioso que tudo isto começou com a observação o efeito de um eclipse solar na retina de um estudante.(142)

Após a invenção do *Laser* por Maiman em 1960, Zaret fez os primeiros estudos experimentais com o *Laser* de rubi. A primeira aplicação de *Laser* em oftalmologia foi realizada em 1963 por H. C. Zweng, ajudado pelo físico A. Vassiliadis, pela bióloga Ann Hammond e pelo médico veterinário Jim Hayes. Usaram um *Laser* de Rubi na retina de um macaco Rhesus.(37)

Os primeiros tratamentos em humanos foram efetuados por Campbell (1963) e Zweng (1964).(329) Descobriram que o *Laser* de rubi era muito útil na resolução dos descolamentos de retina, mas apresentava limitações na coagulação e laqueação de vasos. Rapidamente o *Laser* de Árgon, cujo comprimento de onda é fortemente absorvido pela hemoglobina substituiu o de rubi.(142)

No início dos anos 70 o *Laser* de Kripton passou a ser muito usado na oftalmologia. Os seus comprimentos de onda na zona do vermelho (647 nm) e do amarelo (568 nm) permitem seleccionar a área de atuação na retina. Marshall e Bird realizaram estudos histológicos detalhados nesta área.(330) Descobriram que a radiação na zona do vermelho era absorvida preferencialmente pela coróide e a amarela fortemente absorvida pelo epitélio pigmentar e pelo pigmento xantofílico da mácula.(142)

Recentemente foram propostos os *Lasers* diodo uma vez que o seu comprimento de onda se situa fora do espectro visível (800 nm ou mais) não provocando efeito de encandeamento no paciente.(331)

Em oftalmologia, diversos tipos de *Laser* são usados quer para diagnóstico quer para tratamento. Uma das armas mais poderosas é o microscópio *Laser* cone focal que permite a deteção de estadios precoces de doenças da retina, significando que o descolamento da retina e também o glaucoma podem ser diagnosticados precocemente, o que aumenta a probabilidade do sucesso do tratamento.(142)

No campo terapêutico, uma das primeiras indicações do *Laser* foi o tratamento de descolamentos de retina.(142) O *Laser* é, ainda, aplicado no tratamento do glaucoma, cataratas e, naquela que talvez seja mais conhecida, a cirurgia refrativa da córnea, que constitui, também, a maior área de investigação em oftalmologia.(142)

13.1.1.1 A CIRURGIA REFRACTIVA DA CÓRNEA

A cirurgia refrativa da córnea é utilizada para correção de ametropias (miopia, hipermetropia e astigmatismo, entre outras). As técnicas cirúrgicas clássicas (queratotomia radial, queratotomia astigmática e queratoplastia lamelar refrativa) capazes de corrigir defeitos leves evoluíram, e, no final dos anos 80, passaram a técnicas *Laser* assistidas (queratectomia fotorrefrativa – PRK e queratomileusis *in situ* – LASIK). Utilizam-se *Lasers* excímeros (fluoreto de argon) com comprimento de onda de 193 nm, comprimento de onda no qual a córnea tem um coeficiente de absorção muito elevado. Estes *Lasers* têm capacidade de executar ablações de superfície na ordem de um micrómetro, permitindo o desenho de uma superfície perfeitamente lisa.(13)

13.1.1.2 QUERATECTOMIA FOTORREFRACTIVA (PRK)

A queratectomia fotorrefrativa (PRK) é usada em casos de miopia de gravidade leve ou moderada (menor que 6 dioptrias).(332) A evolução tecnológica contínua permite que, hoje em dia, esta técnica possa ser usada, também, para hipermetropia (até + 3 dioptrias) e astigmatismo (até 3 dioptrias).(13) Nesta técnica, o *Laser* promove a remodelação extremamente precisa da superfície do estroma da córnea, bastando aplicar anestesia tópica para efetuar o procedimento.(13, 332) Em alguns casos, no pós-operatório, o paciente fica com a córnea ligeiramente opacificada, situação que é totalmente reversível e, em geral, dura algumas semanas.(13) Esta técnica é a preferida quando estamos na presença de córneas muito finas, erosões recorrentes ou quando o indivíduo tem uma atividade onde haja predisposição para trauma (desportos de contacto, artes marciais, militares, etc.).(332)

13.1.1.3 QUERATOMIELEUSIA LASER IN SITU (LASIK)

A principal vantagem do LASIK sobre a PRK é o facto de na primeira técnica o epitélio da parte central da córnea ser mantido, o que aumenta o conforto pós-operatório, e permite a recuperação total da visão mais rapidamente, fruto, também, de uma menor reacção tecidual.(332) No entanto, esta técnica, em alguns estudos, é associada a maiores complicações pós-operatórias.(333)

Pode ser usada em miopias até 8 a 10 dioptrias, hipermetropia (até + 3 dioptrias) e astigmatismo (até 3 dioptrias).

13.1.1.4 LASEK

No início deste século foi desenvolvida uma nova técnica que combina as vantagens do LASIK com as do PRK.(332, 334) Estamos a falar da LASEK (*Laser Subepithelial Keratomileusis*). No entanto, os resultados desta técnica não são consensuais.(333)

13.1.1.5 O TRATAMENTO LASER DA RETINA

Existem seis indicações major para o tratamento *Laser* da retina:(142)

- Rasgaduras na retina
- Descolamento da retina
- Retinopatia diabética
- Oclusão da veia central da retina
- Degenerescência macular ligada à idade
- Tumores da retina (retinoblastomas)

Nas **rasgaduras da retina**, o tratamento com *Laser* previne o alargamento da lesão que pode, inclusivamente, conduzir a um descolamento da retina. Nestes casos o *Laser* promove a adesão da retina à coróide. O procedimento é inócuo e pode ser repetido diversas vezes.(142)

O **descolamento da retina** é, muitas vezes, consequência das rasgaduras não detetadas. Os casos de moderada gravidade são tratados como as rasgaduras. Nos casos mais graves, tenta-se evitar o envolvimento da fóvea ou, pelo menos, de uma pequena parte da mácula, promovendo a aderência da retina em torno destas zonas.(142)

O tratamento com *Laser* da **retinopatia diabética** ainda é o tratamento de eleição para o edema macular diabético focal e difuso, bem como da retinopatia diabética proliferativa (335) embora haja estudos mais recentes que demonstram ser equiparável ou até com resultados inferiores à administração intravítrea de medicamentos (336-338) ou com resultados superiores se associados a essa administração intravítrea. (339)

A **oclusão da veia central da retina** ocorre, geralmente, em pacientes mais velhos. As veias da retina ficam dilatadas e observa-se um severo edema na região da mácula, estando normalmente associadas hemorragias múltiplas e perda de visão. Para prevenir o glaucoma secundário procede-se à coagulação em toda a área da retina com *Laser*.(142)

O tratamento da **degenerescência macular ligada à idade** é efetuado com *Laser* de árgon verde ou azul-verde ou Kripton vermelho por fotocoagulação.(340, 341) Esta doença é a causa mais comum de perda de visão severa ou irreversível em pacientes com mais de 50 anos nos países ocidentais.(342)

O tratamento de **retinoblastomas** é efetuado recorrendo, entre outras opções de tratamento (radioterapia com ou sem placas, quimioterapia, termoterapia e crioterapia, por exemplo), ao *Laser* de Árgon(343, 344) ou ao *Laser* diodo de 810 nm por fotocoagulação transescleral.(345, 346)

O *Laser* de Árgon continua a ser utilizado, nomeadamente em iridoplastia para correção de problemas associados a lentes intraoculares multifocais descentradas.(347)

Contudo, o *Laser* não é somente usado, em oftalmologia, para tratamento. Ele também pode ser utilizado para diagnóstico, nomeadamente:

13.1.1.6 DIAGNÓSTICO DE GLAUCOMA (GDx)

O teste GDx utiliza o raio *Laser* para diagnóstico precoce, follow-up do tratamento e deteção do glaucoma e utiliza a mudança de polarização que as células nervosas da retina provocam no feixe para determinar a espessura da camada nervosa da retina. É assim possível avaliar o grau de lesão da retina. Este método de diagnóstico é rápido, indolor e dispensa a midríase prévia à sua execução e, logicamente, todos os seus inconvenientes.

13.1.1.7 TOMOGRAFIA ÓTICA DE COERÊNCIA (OCT)

O tomógrafo ótico de coerência utiliza um feixe de *Laser* díodo superluminescente de baixa coerência de 820 nm, que se dirige transversalmente através do globo ocular para, com base na refletividade dos tecidos, permitir a obtenção de imagens tomográficas de secção transversal de elevada resolução (10 micrómetros) e reprodutibilidade.(348-350) É especialmente útil, pelo seu caráter não invasivo, para o diagnóstico de doenças envolvendo estruturas do segmento posterior do olho.(348) O princípio de funcionamento é idêntico ao da ecografia mas os ultrassons são substituídos por *Laser*, permitindo uma maior resolução graças ao comprimento de onda menor.(348-350)

Este método de diagnóstico é rápido, indolor e os aparelhos mais recentes dispensam a midríase prévia à sua execução ou exigem dilatações da pupila de cerca de 3 mm.(349)

A sua aplicação é de extrema importância nas doenças da retina, nomeadamente na: (349, 350)

- Corioretinopatia central serosa;
- Buraco macular;
- Edema macular;
- Descolamento da retina;
- Neovascularização subretiniana;
- Degenerescência macular ligada à idade.

13.2 O *LASER* EM DERMATOLOGIA

A dermatologia é, nos dias de hoje, uma das áreas médicas que regista maior crescimento nas tecnologias relacionadas com a fotomedicina e a ótica biomédica.(328)

Em conjunto com os oftalmologistas, os dermatologistas foram os primeiros a estudar os efeitos biológicos e as possibilidades terapêuticas do *Laser*.(351) Os *Lasers* estão na primeira linha para o tratamento de muitas situações clínicas que anteriormente não se tratavam.(328)

A evolução contínua dos *Lasers* e dos seus efeitos biomédicos vulgarizaram o uso do *Laser* em dermatologia, principalmente em lesões vasculares pigmentadas, lesões e na área da estética / cosmética.(351)

13.2.1.1 TRATAMENTO DE LESÕES VASCULARES NA PELE

Os primeiros estudos acerca do tratamento de lesões vasculares em dermatologia (em 1970) referem-se à remoção de “manchas vinho do Porto” com o *Laser* de Rubi e de Árgon, sendo este, na década de 1970/80, o preferido. Hoje em dia já não são utilizados para este fim. (111)

O *Laser* de corante pulsado (PDL) (577, 585 e 595 nm), o KTP (532 nm), o de Alexandrite (755 nm), *Lasers* díodo pulsados (entre 800 e 900 nm) e o Nd:YAG são os preferidos/recomendados nos dias de hoje.(111, 352)

13.2.1.2 TRATAMENTO DE LESÕES PIGMENTADAS

Para algumas lesões pigmentadas, o *Laser* é a única alternativa de tratamento.(111)

As tatuagens respondem bem, habitualmente, aos *Lasers Q-Switched*.(111, 353) A sua remoção com *Laser* depende das cores (cromóforos) que a compõem e é um método muito mais aceitável do ponto de vista cosmético do que a dermoabrasão ou a excisão cirúrgica.

O *Laser* de Alexandrite é muito eficaz na remoção de tatuagens com pigmentos pretos e azul/preto.(353)

O uso de *Laser* de CO₂ para remoção de tatuagens não é consensual. Apesar de haver quem não o recomende(354), há quem defenda que no modo superpulsado, o *Laser* de CO₂ é muito eficaz na remoção de pigmentos pretos, nomeadamente em zonas estéticas.(355)

13.2.1.3 TRATAMENTO DE CICATRIZES

As cicatrizes cutâneas podem ser provocadas por atos cirúrgicos, queimaduras, ferimentos ou lesões inflamatórias ou infecciosas. Elas são classificadas como hipertróficas, atróficas, queloides e cicatrizes da acne.(356)

O tratamento estético não cirúrgico de cicatrizes cutâneas tem-se tornado cada vez mais popular graças ao *Laser* e à valorização social da estética, existindo diversos para este fim, com as seguintes aplicações:

- Cicatrizes hipertróficas
 - *Lasers* não ablativos, nomeadamente o *Laser* de corante pulsado (585 nm) (356-359);
- Cicatrizes atróficas
 - *Lasers* ablativos: - CO₂ e Er:YAG(356-359)
- Queloides
 - *Laser* de corante pulsado (585 nm) (357-359)
- Cicatrizes da acne
 - *Lasers* ablativos: - CO₂(360) e Er:YAG (356)

É muito importante diagnosticar corretamente o tipo de cicatriz para que seja selecionado o melhor tipo de *Laser* a aplicar.(359) Os *Lasers* fracionados são os recomendados quer nos ablativos quer nos não ablativos.(356)

13.2.1.4 DEPILAÇÃO A *LASER*

A depilação a *Laser* é o procedimento estético não cirúrgico com maior índice de crescimento na Europa e nos Estados Unidos.(361) Não há nenhum outro método que possa ter caráter permanente.(362)

Apesar desta área de aplicação de *Laser* ser uma das mais divulgadas e de ter registado avanços significativos nos últimos anos, essencialmente por motivos estéticos, (363) ainda não se atingiram algumas metas para se considerar alcançado o sistema ideal de depilação.(364) A sua aplicação para este fim não funciona em todos os tipos de pelo ou pele e são necessárias diversas sessões para concluir o tratamento.(364) Contudo, não deixa de ser considerado o melhor método de depilação, (363) e, apesar de registar alguns efeitos colaterais, eles são pouco comuns(365). As vantagens relativamente às desvantagens os

efeitos adversos, esbatem-se um pouco, uma vez que a legislação atual permite que pessoal sem formação médica utilize os equipamentos licenciados para depilação.(366)

Os riscos associados ao uso do *Laser* para depilação são a descoloração da pele(366), as queimaduras(366), a desfiguração permanente(366).

Os *Lasers* usados em depilação promovem a fototermólise seletiva, evitando lesões nos tecidos vizinhos, tendo como alvo a melanina presente no folículo piloso.(361-363, 365) Esta é a razão pela qual é mais difícil a depilação de uma pele escura ou de um pêlo muito claro.(362, 363) Mas, a depilação pode ser bem-sucedida em todos os tipos de pele.(362)

O comprimento de onda adequado a cada tipo de pele e pêlo e uma correta seleção dos pacientes é essencial.(367) Comprimentos de onda na região do vermelho e infravermelho (600 a 1100 nm) é a região ideal uma vez que corresponde ao pico de absorção da melanina e pouca absorção dos cromóforos da pele, oxihemoglobina e água. Concomitantemente estes comprimentos de onda penetram profundamente na derme.(361)

Os *Lasers* mais usados são o de rubi (694 nm), o de alexandrite (755 nm), o díodo pulsado (800 – 810 nm), o Nd:YAG de longo pulso (1064 nm) e a luz intensa pulsada não coerente (590 – 1200 nm).(361, 362, 365) O *Laser* Nd:YAG é o mais indicado para peles escuras (Fitzpatrick tipo IV-VI), uma vez que a seu comprimento de onda (mais longo que os restantes) é menos absorvido pela melanina presente na epiderme.(361, 363, 368)

Os efeitos adversos são raros, mas os mais comuns estão relacionados com o aumento de temperatura na pele (desconforto, dor, vermelhidão e edema na zona do tratamento) e tem uma duração curta (até 24 horas).(361) Arrefecer a epiderme, principalmente nas peles escuras, é uma opção útil.(361) Os efeitos adversos permanentes ou de longo prazo são raros, mas podem representar alterações de pigmentação (hipo ou hiperpigmentação), queimaduras, bolhas e crostas que, em casos raros, podem originar cicatrizes.(361, 362) Hipertricose em peles do tipo IV a VI, foliculite, acne, infeções são outras complicações que podem surgir pós intervenção. (362)

Não há contudo, ainda hoje, evidência científica quanto a uma eficácia completa e duradoura na remoção do pêlo. Essa evidência apenas existe quando são efetuados tratamentos repetidos (uma vez que aumentam a eficácia) com *Laser* de alexandrite e díodo e o período temporal não excede os seis meses.(365, 369) Os pacientes devem ser avisados

que a depilação completa e permanente não é provável, mas, com múltiplos tratamentos, uma redução significativa de folículos pilosos, a longo prazo, pode ser alcançada.(362)

Atualmente, nos casos de hirsutismo mais resistente, em associação com a fototermólise, tem-se usado, com bons resultados, a aplicação tópica de eflornitina.(370)

13.2.1.5 OUTRAS APLICAÇÕES DOS PRINCIPAIS LASERS EM DERMATOLOGIA

O *Laser* em dermatologia desempenha um papel extremamente importante desde o início da sua descoberta.(27) Os avanços têm sido muitos e as novas técnicas, que os diferentes tipos de *Laser* têm permitido, são tão superiores que esta tecnologia foi incorporada na prática diária de inúmeros dermatologistas.(371)

Descrevemos diversas aplicações dos tipos de *Laser* mais usados na clínica de dermatologia.

Outras indicações terapêuticas do *Laser* de CO₂, em dermatologia são:

- Angiofibroma(354)
- Cancro de pele(360)
- Condilomas(13)
- Dermatofibromas(360)
- Fibromas(13)
- Granuloma piogénico(360)
- Hiperplasias sebáceas(354, 360)
- Neurofibromas(354, 360)
- Nevos (dérmicos e epidérmicos)(354, 360)
- Pápulas peroladas do pénis(360)
- Queilite actínica(354, 372, 373)
- Queratoses actínicas e seborreicas(13, 354, 360)
- Rejuvenescimento cutâneo(13)
- Rinofima(354, 360)
- Rugas periorais e periorbitais(354)
- Siringomas(354, 360)
- Verrugas(13, 354)
- Vitiligo(354)
- Xantelasma(354, 360)

Desde o final dos anos 90 tem crescido o interesse pelo *Laser* de Er:YAG, uma vez que a tem grande afinidade pela água e a pele é constituída por cerca de 75 a 80% deste elemento, razão pela qual a pele absorve a quase totalidade da energia emitida.(13) A sua aplicação provoca a vaporização das camadas mais superficiais da pele e é habitualmente aplicado em:

- Abrasão superficial da epiderme e derme menos profunda(99)
- Fibromas(13)
- Queratose seborreica(13)
- *Resurfacing* de mãos e pescoço(99)
- Rejuvenescimento ablativo cutâneo(13)
- Remoção de tecidos alterados termicamente por *Laser* de CO2(99)

Em lesões pouco profundas a anestesia da região pode ser efetuada com anestesia tópica com mistura eutética de anestésicos locais (EMLA®) durante 30 a 60 minutos, sob penso oclusivo.(354, 360) Esta é uma importante vantagem da cirurgia com *Laser* em Dermatologia.

13.3 O *LASER* EM UROLOGIA

A primeira abordagem ao uso do *Laser* em urologia, datada de 1966, foi uma publicação de Parsons. (85, 374) Hoje há inúmeras opções para tratamento das estruturas anatómicas da área urológica, embora, inicialmente tenha sido utilizado, apenas, para litotrícia.(85)

Desde o início dos anos 80 que o *Laser* tem sido exaustivamente estudado e investigado no âmbito da urologia.(375)

O *Laser* em urologia é usado para diversos tratamentos, nomeadamente:

- Circuncisão(98)
 - Ho:YAG, Nd:YAG e KTP
- Condiloma acuminado genital recorrente(98)
 - Ho:YAG, Nd:YAG, KTP e CO₂
- Doenças malignas urogenitais(375)
 - Ho:YAG
- Estenoses(98, 375)
 - Ho:YAG
- Hiperplasia benigna da próstata (HBP)(98, 375, 376)
 - Ho:YAG, Nd:YAG, KTP e diodo
- Lesões cutâneas(98, 375)
 - Ho:YAG, Nd:YAG, KTP e CO₂
- Obstrução da junção ureteropélvica(375)
 - Ho:YAG
- Urolitíase(98, 375)
 - Ho:YAG e Nd:YAG

O *Laser* de Holmium:YAG (Ho:YAG) é fortemente absorvido pela água.(106) Este *Laser* é o mais divulgado na urologia, muito versátil, apresentando inúmeras aplicações, principalmente porque permite o uso de fibras de fino calibre e de grande flexibilidade.(375) Esta característica é muito útil principalmente no tratamento endoscópico da urolitíase(106), área na qual este *Laser* é muito superior a muitos outros (Nd:YAG, Alexandrite e de corante).(375) Apesar disso, o *Laser* Nd:YAG Q Switched é uma ferramenta habitual na litotrícia.(142)

O tratamento com *Laser* é muito seguro nos tumores da bexiga porque a perfuração das paredes é improvável, mantendo-se intactas as funções da bexiga.

O *Laser* KTP de 532 nm (80 W e pulso rápido) tem sido estudado como uma alternativa na terapia ablativa da HBP.(375)

Estudos acerca do *Laser* de Er:YAG comprovam que este consegue melhores resultados na litotricia do que o *Laser* Ho:YAG(377, 378). No entanto, apesar das vantagens do Er:YAG, graças à sua precisão incisional e ablativa, o seu sucesso na aplicação clínica depende do desenvolvimento de fibras mais adequadas.(379)

Um novo *Laser*, o Thulium:YAG (Th:YAG) apresenta imensas potencialidades na área da urologia, mas são necessários mais estudos.(375) Outro *Laser* com enormes potencialidades nesta área é o *Laser* de fibra de Túlio (Tm: Fiber), que possibilita a seleção do comprimento de onda a utilizar entre 1800 e 2100 nm. Este intervalo engloba um dos maiores picos de absorção da água.(98) Este *Laser* pode ser usado para litotricia no modo pulsado(380) e para incisões ou para ablações de tecidos no modo contínuo.(381) O *Laser* Ho:YAG apresenta como vantagens o menor tamanho, a possibilidade de trabalhar no modo pulsado ou contínuo e uma maior precisão e eficiência na incisão dos tecidos.(381)

A litotricia na área da urologia pode e deve ser encarada como um exemplo para a possibilidade de aplicação de técnicas idênticas na litotricia salivar.

13.4 O LASER EM NEUROCIRURGIA

Os tumores cerebrais são muito difíceis de operar devido à estrutura e fragilidade do cérebro. São extremamente ameaçadores para a vida pelo facto de o espaço onde se encontram ser limitado, e a pressão exercida pelo novo tecido aumentar muito. Comummente os tumores do cérebro são altamente malignos e estão frequentemente localizados em locais inacessíveis. Por isso a pesquisa sobre *Laser* nesta área é intensa.(142)

A aplicação do *Laser* na Neurocirurgia tem sido muito lenta quando comparada com outros campos médicos como por exemplo a oftalmologia. Esta lentidão deve-se, principalmente, a duas razões:

- Os primeiros estudos, em 1966, com *Laser* de Rubi (382) mostraram-se inúteis (142) ou perigosos para o cérebro.(383)
- As experiências iniciais com *Laser* CO₂,(384) foram feitas com níveis de energia muito elevados, o que foi perigoso e completamente contraproducente.(142)

Levou algum tempo até que o interesse no *Laser* fosse reavivado. A partir dos finais dos anos 70, começou a usar-se o *Laser* Nd:YAG, principalmente para tumores muito vascularizados, que possibilitava a intervenção em zonas de difícil acesso e em áreas críticas uma vez que dispensa o contacto físico com os tecidos.(385) A menor necessidade de transfusões sanguíneas, devido a menor perda de sangue, também era uma vantagem, tal como a grande precisão.(385, 386)

As principais vantagens do *Laser* na neurocirurgia estão relacionadas com o facto de os *Lasers* poderem cortar, vaporizar e coagular tecidos sem contacto mecânico, o que tem muita importância quando se abordam tecidos muito sensíveis. A coagulação simultânea de vasos, elimina hemorragias perigosas, ameaçadoras para a vida, quando ocorrem no cérebro. Para além disso a área da cirurgia é “esterilizada” enquanto esta decorre, reduzindo a probabilidade de infeção no pós-operatório.(142)

As maiores vantagens do *Laser* de CO₂ são a facilidade de controlo da profundidade de corte e a sua excelente precisão, permitindo o uso concomitante de microscópio, fatores fundamentais em neurocirurgia. (387) O *Laser* de CO₂, por vaporização, provoca a diminuição dos tecidos da lesão onde é aplicado. Esta característica aumenta a segurança na sua utilização, uma vez que reduz a possibilidade de lesar os tecidos vizinhos sãos.(388)

No entanto este *Laser*, apesar de efetuar corte e coagulação, tem uma eficácia reduzida na coagulação de vasos com mais de 0.5 mm de diâmetro.(388, 389)

O *Laser* Nd:YAG, ao contrário, é muito eficaz na coagulação(388, 390) e é facilmente controlada a sua ação em profundidade nos tecidos.(389)

Outro campo de intervenção da neurocirurgia é a espinal medula com o *Laser* CO₂.(387)

Os *Lasers* que podem ser transmitidos através de uma fibra ótica guiada (ex. Ho:YAG, Nd:YAG e diódo) podem ser usados em cirurgia estereotáxica de ressecção de tumores e malformações vasculares, com óbvias vantagens para o paciente e na recuperação pós operatória.(391) No final dos anos 90 começou a ser utilizado um *Laser* com dois comprimentos de onda (Ho:YAG 2,08 µm e Nd:YAG 1,05 µm), para obter bom poder de ablação e de coagulação, transmitidos por uma fibra ótica comum flexível, o que permite a sua aplicação endoscópica.(392) No entanto o uso de *Laser* Nd:YAG em cirurgia endoscópica coloca o problema de lesão de estruturas adjacentes.(393) Para evitar este problema do *Laser* Nd:YAG, e possibilitar o uso do *Laser* de CO₂ em cirurgia endoscópica, foi desenvolvida, recentemente, uma fibra flexível passível de ser usada com feixes de grande comprimento de onda, algo que, até então, era impossível.(394)

Indicações do *Laser* em neurocirurgia:

- Adenomas da hipófise e da glândula pineal(387, 391)
- Angiomas(387)
- Astrocitomas(387)
- *Bypass* cerebrovascular (ELANA®)(395)
- Cavernomas(391)
- Cistos e abscessos(387)
- Cranioestenoses(387)
- Descompressão discal percutânea(395)
- Fenestração de cistos aracnoides(395)
- Glioblastomas(387, 391)
- Hematomas(387)
- Malformações vasculares(391)
- Meduloblastomas(387)
- Meningiomas(387, 391)

- Metástases(391)
- Neuromas do acústico(387)
- Neuromas da espinal medula(391)
- Soldadura tecidual para regeneração da dura-máter(395)
- Tumores da espinal medula(395)
- Tumores do corpo caloso(387)

13.5 A SEGURANÇA NA UTILIZAÇÃO DO LASER

Nos Estados Unidos da América, apesar de toda a regulamentação existente na área da segurança no uso de *Laser*, continuam a ocorrer cerca de 35 acidentes em cada ano. Presume-se que este número é muito deficitário porque muitos dos acidentes não são registados nas entidades federais competentes.(396)

Pelo motivo atrás referido e pela saúde de todos os profissionais é fundamental que o tema da segurança na utilização do laser seja recordado sempre que o tema é abordado. Em primeiro lugar porque a grande maioria dos aparelhos utilizados na área médica emitem feixes invisíveis, o que poderá ser motivo para negligenciar os seus efeitos, principalmente por parte dos utilizadores frequentes. Em segundo lugar, mas não menos importante, porque a maioria dos lasers médicos pertencem à Classe 4, o que os torna perigosos quando atingem a pele ou os tecidos oculares quando estes não são os tecidos a tratar.

É necessário utilizar proteção adequada para os operadores e pacientes, evitando, ao máximo, reflexões do feixe, e estar familiarizado com o seu manuseamento.



Ilustração 200 - Aviso de segurança do *Laser Fotona HT Fidelis*

13.5.1 OS PERIGOS DO LASER

Quem trabalha com *Lasers* médicos, cirúrgicos, de diagnóstico, cosméticos ou terapêuticos, deve estar ciente dos seus efeitos nefastos nos órgãos a eles expostos caso não sejam cumpridas as normas básicas de segurança.

Quando se utiliza um *Laser*, o operador deve ter sempre a preocupação de minimizar o risco de ocorrência de acidentes. A venda/ compra de um aparelho *Laser*, bem como a sua utilização deveria estar regulamentada, o que não acontece em Portugal, situação que deveria ser urgentemente alterada. O facto dos *Lasers* médico-cirúrgicos fazerem parte da regulamentação aplicada aos dispositivos médicos em geral não nos parece suficiente dada a especificidade deste tipo de dispositivos.

13.5.1.1 OS OLHOS

Os efeitos nocivos do laser fazem-se sentir na retina, córnea e cristalino. As lesões da retina sendo irreversíveis, podem afetar severamente e de forma permanente a visão. O laser de Er:YAG, contrariamente ao Nd:YAG e diódo, não atinge a retina mas apenas a córnea, provocando uma queimadura.

A proteção adequada dos olhos é o fator mais negligenciado e que está na base da maior parte dos acidentes atrás referidos. Com o acréscimo do número de aparelhos comercializados estima-se que os números de acidentes possam aumentar.(396)

No gráfico abaixo poderemos observar, em função do comprimento de onda, a percentagem de absorção de cada um dos componentes do olho.(13)

13.5.1.2 A PELE

A pele é menos sensível que os olhos e os efeitos nefastos fazem-se sentir apenas quando se usam energias elevadas.(93)

Os lasers com maior capacidade de penetração na pele são aqueles que emitem feixes com comprimentos de onda compreendidos entre 400 e 1400 nm, que conseguem penetrar até à derme. O laser Er:YAG, se atingir a pele, apenas afeta as camadas mais superficiais da epiderme.(93)

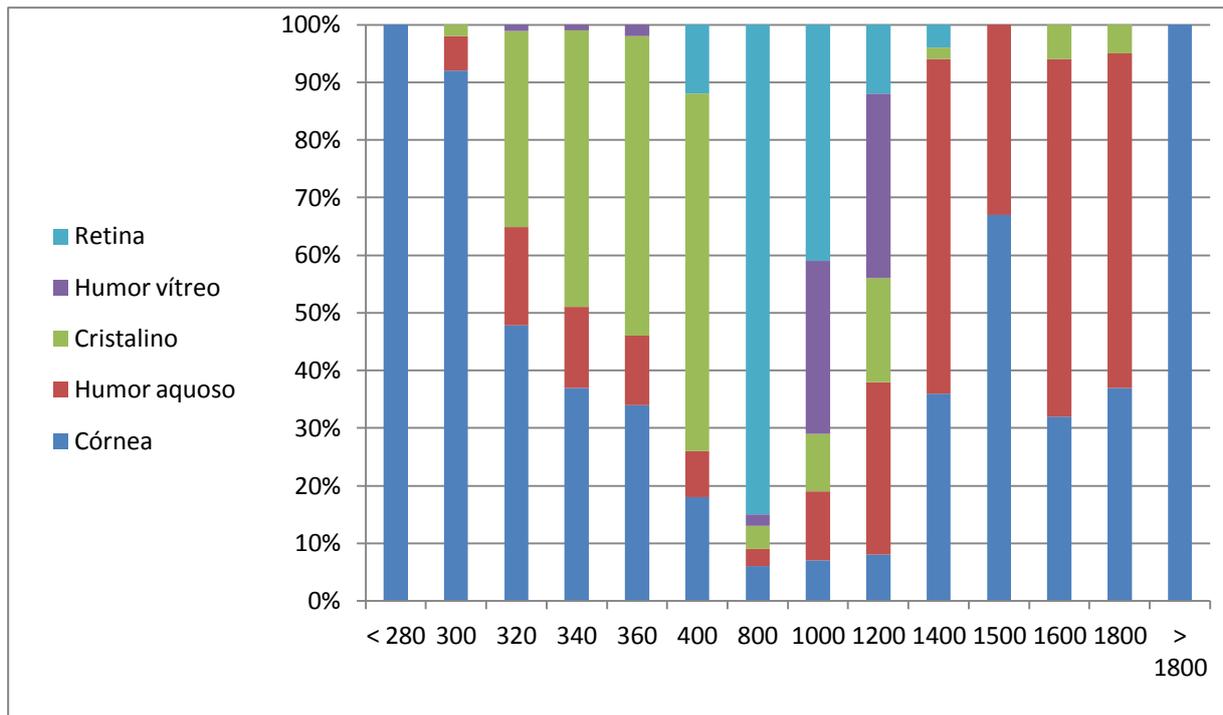


Gráfico 16 – Percentagem de absorção dos componentes do olho em função do comprimento de onda (nm)

13.5.1.3 A PROTEÇÃO DOS OLHOS

O olho é o órgão mais sensível do corpo humano à luz *Laser*. A luz *Laser* pode provocar:(13)

- Danos de natureza fotoquímica na retina;
- Condensações de pigmento na retina;
- Discromias;
- Efeitos cataratogénicos de origem térmica e fotoquímica;
- Queimaduras da córnea;
- Fotoqueratoconjuntivite.

O uso de proteção ocular de todos os elementos presentes na sala onde opera o *Laser* é indispensável, sem esquecer o paciente. A exposição acidental, ainda que por pequeno instante e/ou com feixe de muito pequena energia (direta ou refletida), pode provocar lesões oculares, atrás referidas, todas elas muito graves e irreversíveis.

A coerência espacial é a “responsável” pelo perigo que o *Laser* representa para todos.

Os óculos protetores, são fundamentais e devem obedecer à Norma Europeia EN 207. O seu uso é imperativo quando o operador manuseia um *Laser* das classes 3B ou 4. Estes óculos são classificados pela variação do comprimento de onda e pela densidade ótica. Estas

informações são impressas nas lentes. É necessário que o operador verifique a correspondência entre o tipo de filtro e o comprimento de onda do laser que está a usar.



Ilustração 201 - Óculos de proteção para *Laser Er:YAG*

13.5.1.4 MECANISMOS DE SEGURANÇA DOS EQUIPAMENTOS *LASER*

Os equipamentos de *Laser* Classe 3B e 4 devem possuir mecanismos de segurança, nomeadamente:(13)

- Comando com chave e/ou código
- Indicador de emissão de feixe (luminoso e sonoro)
- Interruptor automático de bloqueio de porta

BIBLIOGRAFIA

14. BIBLIOGRAFIA

1. Eriksson AR, Albrektsson T, Albrektsson B. Heat caused by drilling cortical bone. Temperature measured in vivo in patients and animals. *Acta Orthop Scand*. 1984 Dec;55(6):629-31.
2. Giraud JY, Villemin S, Darmana R, Cahuzac JP, Autefage A, Morucci JP. Bone cutting. *Clin Phys Physiol Meas*. 1991 Feb;12(1):1-19.
3. Salami A, Dellepiane M, Crippa B, Mora R. A new method for osteotomies in oncologic nasal surgery: Piezosurgery. *Am J Otolaryngol*. 2010 May-Jun;31(3):150-3.
4. Romeo U, Del Vecchio A, Palaia G, Tenore G, Visca P, Maggiore C. Bone damage induced by different cutting instruments--an in vitro study. *Braz Dent J*. 2009;20(2):162-8.
5. Stubinger S, Biermeier K, Bachi B, Ferguson SJ, Sader R, von Rechenberg B. Comparison of Er:YAG laser, piezoelectric, and drill osteotomy for dental implant site preparation: a biomechanical and histological analysis in sheep. *Lasers Surg Med*. 2010 Sep;42(7):652-61.
6. Stubinger S, Nuss K, Pongratz M, Price J, Sader R, Zeilhofer HF, et al. Comparison of Er:YAG laser and piezoelectric osteotomy: An animal study in sheep. *Lasers Surg Med*. 2010 Oct;42(8):743-51.
7. Gutknecht N. *A Odontologia e o laser*. Quintessence Editora L, editor. São Paulo 2004.
8. Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the Laser on Dental Caries. *Nature*. 1964 Jul 25;203:417.
9. Goldman L, Gray JA, Goldman J, Goldman B, Meyer R. Effect of Laser Beam Impacts on Teeth. *J Am Dent Assoc*. 1965 Mar;70:601-6.
10. Stern RH, Sognaes RF. Laser Effect on Dental Hard Tissues. A Preliminary Report. *J South Calif Dent Assoc*. 1965 Jan;33(1):17-9.
11. Taylor R, Shklar G, Roeber F. The Effects of Laser Radiation on Teeth, Dental Pulp, and Oral Mucosa of Experimental Animals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965 Jun;19:786-95.
12. Hale GM, Query MR. Optical Constants of Water in the 200-nm to 200-microm Wavelength Region. *Appl Opt*. 1973 Mar 1;12(3):555-63.
13. Maggioni M, Attanasio T, Scarpelli F, editors. *Láser en odontologia: Amolca*; 2010.
14. Bader C, Krejci I. Indications and limitations of Er:YAG laser applications in dentistry. *Am J Dent*. 2006 Jun;19(3):178-86.
15. Miserendino L, Pick RM. *Lasers in dentistry*: Quintessence Pub. Co.; 1995.
16. Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA. Clinical application of erbium:YAG laser in periodontology. *J Int Acad Periodontol*. 2008 Jan;10(1):22-30.
17. Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA. Potential applications of Erbium:YAG laser in periodontics. *J Periodontol Res*. 2004 Aug;39(4):275-85.
18. Moritz A, Beer F, editors. *Oral laser application*. Berlin ; Chicago: Quintessence; 2006.
19. Frentzen M, Gotz W, Ivanenko M, Afilal S, Werner M, Hering P. Osteotomy with 80-microm CO2 laser pulses--histological results. *Lasers Med Sci*. 2003;18(2):119-24.
20. Akyol UK, Gungormus M, Gundogdu C, Erdem H. Histologic evaluation of the effects of Er:YAG laser on bone ablation. *J Contemp Dent Pract*. 2009;10(5):E065-72.
21. Krause LS, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer P. Laser irradiation of bone. I. An in vitro study concerning the effects of the CO2 laser on oral mucosa and subjacent bone. *J Periodontol*. 1997 Sep;68(9):872-80.
22. Townes CH. *How the laser happened: Adventures of a scientist*. New York: Oxford University Press; 1999.
23. Hecht J, editor. *Laser pioneers*. 1st ed. London: Academic Press; 1992.

BIBLIOGRAFIA

24. Hecht J. Beam: The Race to Make the Laser. New York: Oxford University Press, Inc.; 2005.
25. Sulewski JG. 1 - Einstein's "Splendid Light": Origins and Dental Applications. In: Convissar RA, editor. Principles and Practice of Laser Dentistry. Saint Louis: Mosby; 2011. p. 1-11.
26. Katzir A. Lasers and optical fibers in medicine. San Diego: Academic Press; 1993.
27. Wheeland RG. History of lasers in dermatology. Clin Dermatol. 1995 Jan-Feb;13(1):3-10.
28. Bertolotti M. The history of the laser. London: IOP Publishing Ltd; 2005.
29. Convissar RA, editor. Principles and practice of laser dentistry. St. Louis, Mo.: Mosby Elsevier; 2011.
30. Vaillant coHmH, Voorburg, The Netherlands). Portrait of Christiaan Huygens (1629-1695). 1998 [cited 2012]; Available from: http://spaceimages.esa.int/var/esa/storage/images/esa_multimedia/images/1998/01/portrait_of_christiaan_huygens_1629-1695/9088021-5-eng-GB/Portrait_of_Christiaan_Huygens_1629-1695.jpg.
31. Sophia RB. Traité de la Lumière. 1711 København V2012 [cited 2012 2012/05/02]; Available from: <http://www.sophiararebooks.com/pages/books/3029/christian-huygens/traite-de-la-lumiere-ou-sont-expliquees-les-causes-de-ce-qui-luy-arrive-dans-la-reflexion-dans-la>.
32. Gross AJ, Herrmann TR. History of lasers. World J Urol. 2007 Jun;25(3):217-20.
33. Foundation N. The Nobel Prize in Physics 1918. Stockholm1918 [cited 2011 2011/02/17]; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1918/
34. Foundation N. Ernest Rutherford - Biographical. 2011 [cited 2011 2011-10-27]; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1908/rutherford-bio.html.
35. Foundation N. Niels Bohr - Biography. Stockholm: Nobel Foundation; 1922 [cited 2011 2011/02/17]; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1922/bohr-bio.html.
36. Hecht J, editor. Understanding Lasers2008.
37. Noguera JJ. [The laser]. Arch Soc Esp Oftalmol. 2006 Jun;81(6):355-6.
38. Berns MW. A history of laser scissors (microbeams). Methods Cell Biol. 2007;82:1-58.
39. Townes CH. Obituary: Theodore H. Maiman (1927-2007). Nature. 2007 Jun 7;447(7145):654.
40. Foundation N. The Nobel Prize in Physics 1964. Stockholm1964 [cited 2011 2011/02/17]; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1964/.
41. Radziemski LJ. From LASER to LIBS, the path of technology development. Spectrochimica Acta Part B. 2002(57):1109-13.
42. Berns MW, Aist J, Edwards J, Strahs K, Girton J, McNeill P, et al. Laser microsurgery in cell and developmental biology. Science. 1981 Jul 31;213(4507):505-13.
43. Foundation N. The Nobel Prize in Physics 1971. 1971 [17/02/2011]; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1971/
44. Zharikov EV, Zhekov VI, Kulevskii LA, Murina TM, Osiko VV, Prokhorov AM, et al. Stimulated emission from Er 3+ ions in yttrium aluminum garnet crystals at $\lambda = 2.94 \mu$. Soviet Journal of Quantum Electronics. 1975;4(8):1039.
45. Foundation N. The Nobel Prize in Physics 1981. 1981 [2011/02/17]; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1981.
46. Maiman TH. Biomedical lasers evolve toward clinical applications. Hosp Manage. 1966 Apr;101(4):39-41.
47. Willenborg GC. Dental laser applications: emerging to maturity. Lasers Surg Med. 1989;9(4):309-13.
48. Gordon TE, Jr. Laser interactions with extracted human teeth: a preliminary report. Dent Dig. 1966 Apr;72(4):154-8.
49. Lobene RR, Fine S. Interaction of laser radiation with oral hard tissues. J Prosthet Dent. 1966 May-Jun;16(3):589-97.

BIBLIOGRAFIA

50. Bhaskar SN, Lilly GE. Intrapulpal Temperature during Cavity Preparation. *J Dent Res.* 1965 Jul-Aug;44:644-7.
51. Gordon TE, Jr. Single-surface cutting of normal tooth with ruby laser. *J Am Dent Assoc.* 1967 Feb;74(3):398-402.
52. Stubinger S. Advances in bone surgery: the Er:YAG laser in oral surgery and implant dentistry. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2010;2:47-62.
53. Yamamoto H, Okabe H, Ooya K, Hanaoka S, Ohta S, Kataoka K. Laser effect on vital oral tissues: a preliminary investigation. *J Oral Pathol.* 1972;1(6):256-64.
54. Adrian JC. Effects of carbon dioxide laser radiation on oral soft tissues: an initial report. *Mil Med.* 1979 Feb;144(2):83-9.
55. Myers TD, Myers WD, Stone RM. First soft tissue study utilizing a pulsed Nd:YAG dental laser. *Northwest Dent.* 1989 Mar-Apr;68(2):14-7.
56. Goldman L, Goldman B, Van Lieu N. Current laser dentistry. *Lasers Surg Med.* 1987;6(6):559-62.
57. Rybakov AI, Fokin IA, Panikarovskii VV, Kabilov NM, Gutmakher Iu A. [The effect of laser radiation on the teeth and soft tissues of the oral cavity]. *Stomatologiya (Mosk).* 1967 Sep-Oct;46(5):43-6.
58. Boianov B, Popov K, Raichinova EK. [Effect of experimental laser irradiation upon oral tissues]. *Stomatologiya (Sofiya).* 1975 May-Jun;57(3):173-80.
59. Aleksandrov MT, Baikova RA, Polnareva BD. [Use of helium-neon laser rays for treating diseases of the oral mucosa]. *Stomatologiya (Mosk).* 1977 Jul-Aug;56(4):18-20.
60. Kolenik AG, Durdyniazov MK, Grudianov AI. [State of the oral cavity tissues on their to low-intensity radiation from a helium-neon laser]. *Stomatologiya (Mosk).* 1978 Nov-Dec;57(6):5-10.
61. Sulewski JG. Historical survey of laser dentistry. *Dent Clin North Am.* 2000 Oct;44(4):717-52.
62. Convisar RA. The top ten myths about CO2 lasers in dentistry. *Dent Today.* 2009 Apr;28(4):68, 70, 2-6; quiz 7.
63. Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. *Int Endod J.* 2000 May;33(3):173-85.
64. Myers TD. Lasers in dentistry. *J Am Dent Assoc.* 1991 Jan;122(1):46-50.
65. Shafir R, Slutzki S, Bornstein LA. Excision of buccal hemangioma by carbon dioxide laser beam. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977 Sep;44(3):347-50.
66. Strong MS, Vaughan CW, Healy GB, Shapshay SM, Jako GJ. Transoral management of localized carcinoma of the oral cavity using the CO2 laser. *Laryngoscope.* 1979 Jun;89(6 Pt 1):897-905.
67. Strong MS, Vaughan CW, Jako GJ, Polanyi T. Transoral resection of cancer of the oral cavity: the role of the CO2 laser. *Otolaryngol Clin North Am.* 1979 Feb;12(1):207-18.
68. Horch HH. The use and evaluation of CO2 laser in cleft palate surgery. *Lasers Surg Med.* 1982;2(1):15-20.
69. Horch HH, Gerlach KL, Schaefer HE. CO2 laser surgery of oral premalignant lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986 Feb;15(1):19-24.
70. Tuffin JR, Carruth JA. The carbon dioxide surgical laser. *Br Dent J.* 1980 Nov 4;149(9):255-8.
71. Strong MS, Jako GJ, Vaughan CW, Healy GB, Polanyi T. The use of CO2 laser in otolaryngology: a progress report. *Trans Sect Otolaryngol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1976 Sep-Oct;82(5):595-602.
72. Schuller DE. Use of the laser in the oral cavity. *Otolaryngol Clin North Am.* 1990 Feb;23(1):31-42.
73. Frame JW. Carbon dioxide laser surgery for benign oral lesions. *Br Dent J.* 1985 Feb 23;158(4):125-8.
74. Pick RM, Pecaro BC. Use of the CO2 laser in soft tissue dental surgery. *Lasers Surg Med.* 1987;7(2):207-13.
75. Myers TD, McDaniel JD. The pulsed Nd:YAG dental laser: review of clinical applications. *J Calif Dent Assoc.* 1991 Nov;19(11):25-30.

BIBLIOGRAFIA

76. Romanos GE. Clinical applications of the Nd:YAG laser in oral soft tissue surgery and periodontology. *J Clin Laser Med Surg*. 1994 Apr;12(2):103-8.
77. Myers TD. The future of lasers in dentistry. *Dent Clin North Am*. 2000 Oct;44(4):971-80.
78. Sulieman M. An overview of the use of lasers in general dental practice: 1. Laser physics and tissue interactions. *Dent Update*. 2005 May;32(4):228-30, 33-4, 36.
79. Goldman L, Shumrick DA, Rockwell RJ, Jr., Meyer R. The laser in maxillofacial surgery. Preliminary investigative surgery. *Arch Surg*. 1968 Mar;96(3):397-400.
80. Goldman L, Rockwell RJ, Jr., Naprstek Z, Siler VE, Hoefler R, Hobeika C, et al. Some parameters of high output CO2 laser experimental surgery. *Nature*. 1970 Dec 26;228(5278):1344-5.
81. 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*. 1989;9(4):338-44.
82. Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers Surg Med*. 1989;9(4):345-51.
83. KaVo Dental G. KaVo Web Page. 2011; Available from: <http://www.kavo.com/KaVo/In-2009-100-years-KaVo/100-years-in-detail/1989-2008.aspx>.
84. KaVo Dental G. KEY Laser 1242/1243 - Dental Application Manual. [cited 2010]; Available from: <http://kavolaserdentistry.com/pages/intro%20to%20lasers/KaVo%20Dental%20Application%20Manual.PDF>.
85. Natalin RA, Phillips CK, Clayman RV, Landman J. Urologic laser types and instrumentation. *Arch Esp Urol*. 2008 Nov;61(9):971-7.
86. Guttenberg SA, Emery RW, 3rd. Laser physics and tissue interaction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2004 May;16(2):143-7.
87. Bogdan Allemann I, Kaufman J. Laser principles. *Curr Probl Dermatol*. 2011;42:7-23.
88. Lasers in medicine. W. WR, editor 2002.
89. The Photonics Dictionary. 46th Ed. ed: Laurin Publishing; 2000.
90. Coluzzi DJ. Fundamentals of Lasers in Dentistry: Basic Science, Tissue Interaction and Instrumentation. *Journal of Laser Dentistry*. 2008(16):7.
91. Welch AJ, Torres JH, Cheong WF. Laser physics and laser-tissue interaction. *Tex Heart Inst J*. 1989;16(3):141-9.
92. Commission IE. www.iec.ch. 2012 [cited 2012 2012/03/25].
93. Johar K. Fundamentals of Laser Dentistry. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2011.
94. Geusic JE, Marcos H.M., Van Uitert L.G. Laser oscillations in Nd-doped yttrium, aluminium, yttrium gallium and gadolinium garnets. *Applied Physics Letters*. 1964;4(10):3.
95. Wigdor HA, Walsh JT, Jr., Featherstone JD, Visuri SR, Fried D, Waldvogel JL. Lasers in dentistry. *Lasers Surg Med*. 1995;16(2):103-33.
96. Koba K, Kimura Y, Matsumoto K, Watanabe H, Shinoki T, Kojoy R, et al. Post-operative symptoms and healing after endodontic treatment of infected teeth using pulsed Nd:YAG laser. *Endod Dent Traumatol*. 1999 Apr;15(2):68-72.
97. Moura-Netto C, Guglielmi Cde A, Mello-Moura AC, Palo RM, Raggio DP, Caldeira CL. Nd:YAG laser irradiation effect on apical intracanal dentin - a microleakage and SEM evaluation. *Braz Dent J*. 2011;22(5):377-81.
98. Pierre SA, Albala DM. The future of lasers in urology. *World J Urol*. 2007 Jun;25(3):275-83.
99. Zachary CB. Modulating the Er:YAG laser. *Lasers Surg Med*. 2000;26(2):223-6.
100. Sasaki KM, Aoki A, Ichinose S, Ishikawa I. Ultrastructural analysis of bone tissue irradiated by Er:YAG Laser. *Lasers Surg Med*. 2002;31(5):322-32.

BIBLIOGRAFIA

101. Sasaki KM, Aoki A, Ichinose S, Yoshino T, Yamada S, Ishikawa I. Scanning electron microscopy and Fourier transformed infrared spectroscopy analysis of bone removal using Er:YAG and CO₂ lasers. *J Periodontol.* 2002 Jun;73(6):643-52.
102. Genovese WJeR, J.M.L. Classificação e principais tipos de laser. In: Editora LS, editor. *Laser de baixa intensidade -Aplicações terapêuticas em odontologia.* São Paulo 2007. p. 9.
103. Zhang C, Wang X, Kinoshita J, Zhao B, Toko T, Kimura Y, et al. Effects of KTP laser irradiation, diode laser, and LED on tooth bleaching: a comparative study. *Photomed Laser Surg.* 2007 Apr;25(2):91-5.
104. Buchalla W, Attin T. External bleaching therapy with activation by heat, light or laser--a systematic review. *Dent Mater.* 2007 May;23(5):586-96.
105. Stein E, Sedlacek T, Fabian RL, Nishioka NS. Acute and chronic effects of bone ablation with a pulsed holmium laser. *Lasers Surg Med.* 1990;10(4):384-8.
106. Wollin TA, Denstedt JD. The holmium laser in urology. *J Clin Laser Med Surg.* 1998 Feb;16(1):13-20.
107. Raif J, Vardi M, Nahlieli O, Gannot I. An Er:YAG laser endoscopic fiber delivery system for lithotripsy of salivary stones. *Lasers Surg Med.* 2006 Jul;38(6):580-7.
108. Teichman JM. Laser lithotripsy. *Curr Opin Urol.* 2002 Jul;12(4):305-9.
109. Deppe H, Horch HH. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. *Lasers Med Sci.* 2007 Nov;22(4):217-21.
110. Dederich DN. CO₂ laser fusion of a vertical root fracture. *J Am Dent Assoc.* 1999 Aug;130(8):1195-9.
111. Goldberg DJ. *Laser dermatology.* Philipp M, editor. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2005.
112. Hinoura K, Miyazaki M, Onose H. Influence of argon laser curing on resin bond strength. *Am J Dent.* 1993 Apr;6(2):69-71.
113. Turbino ML, Belan LC, Soprano V, Rode KM, Lloret PR, Youssef MN. Argon ion laser curing depth effect on a composite resin. *Lasers Med Sci.* 2011 Jul;26(4):421-5.
114. Lalani N, Foley TF, Voth R, Banting D, Mamandras A. Polymerization with the argon laser: curing time and shear bond strength. *Angle Orthod.* 2000 Feb;70(1):28-33.
115. Cassoni A, Rodrigues JA. Argon laser: a light source alternative for photopolymerization and in-office tooth bleaching. *Gen Dent.* 2007 Sep-Oct;55(5):416-9.
116. Westerman G, Hicks J, Flaitz C. Argon laser curing of fluoride-releasing pit and fissure sealant: in vitro caries development. *ASDC J Dent Child.* 2000 Nov-Dec;67(6):385-90, 74.
117. Kurchak M, DeSantos B, Powers J, Turner D. Argon laser for light-curing adhesives. *J Clin Orthod.* 1997 Jun;31(6):371-4.
118. Elvebak BS, Rossouw PE, Miller BH, Buschang P, Ceen R. Orthodontic bonding with varying curing time and light power using an argon laser. *Angle Orthod.* 2006 Sep;76(5):837-44.
119. Elaut J, Wehrbein H. The effects of argon laser curing of a resin adhesive on bracket retention and enamel decalcification: a prospective clinical trial. *Eur J Orthod.* 2004 Oct;26(5):553-60.
120. Wilkerson MK, Hill SD, Arcoria CJ. Effects of the argon laser on primary tooth pulpotomies in swine. *J Clin Laser Med Surg.* 1996 Feb;14(1):37-42.
121. Beranger P. [Role of the argon laser in the treatment of varicose veins of the legs. Apropos of 17 cases]. *Phlebologie.* 1984 Apr-Jun;37(2):229-34.
122. Takac S, Stojanovic S, Muhi B. [Types of medical lasers]. *Med Pregl.* 1998 Mar-Apr;51(3-4):146-50.
123. Trehan M, Taylor CR. Low-dose excimer 308-nm laser for the treatment of oral lichen planus. *Arch Dermatol.* 2004 Apr;140(4):415-20.
124. Kollner K, Wimmershoff M, Landthaler M, Hohenleutner U. Treatment of oral lichen planus with the 308-nm UVB excimer laser--early preliminary results in eight patients. *Lasers Surg Med.* 2003;33(3):158-60.
125. Passeron T, Zakaria W, Ostovari N, Mantoux F, Lacour JP, Ortonne JP. Treatment of erosive oral lichen planus by the 308 nm excimer laser. *Lasers Surg Med.* 2004;34(3):205.

BIBLIOGRAFIA

126. Ohtsuki A, Hasegawa T, Ikeda S. Treatment of alopecia areata with 308-nm excimer lamp. *J Dermatol*. 2010 Dec;37(12):1032-5.
127. Anderson RR, Parrish JA. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. *Science*. 1983 Apr 29;220(4596):524-7.
128. Choi B, Welch AJ. Analysis of thermal relaxation during laser irradiation of tissue. *Lasers Surg Med*. 2001;29(4):351-9.
129. van Gemert MJ, Welch AJ. Time constants in thermal laser medicine. *Lasers Surg Med*. 1989;9(4):405-21.
130. Kalil CL. *Laser e outras fontes de luz em dermatologia*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2011.
131. Carroll L, Humphreys TR. LASER-tissue interactions. *Clin Dermatol*. 2006 Jan-Feb;24(1):2-7.
132. Nelson JS. Laser Pulse Duration Must Match the Estimated Thermal Relaxation Time for Successful Photothermolysis of Blood Vessels. *Lasers in Medical Science*. 1995(10):4.
133. Yadav RK. Definitions in laser technology. *J Cutan Aesthet Surg*. 2009 Jan;2(1):45-6.
134. Khazanov AM, Koganov GA, Shuker R. Role of internal degrees of freedom in laser-light coherence. *Phys Rev A*. 1993 Feb;47(2):1274-7.
135. Qadri T, Bohdanecka P, Tuner J, Miranda L, Altamash M, Gustafsson A. The importance of coherence length in laser phototherapy of gingival inflammation: a pilot study. *Lasers Med Sci*. 2007 Nov;22(4):245-51.
136. Dair GT, Pelouch WS, van Saarloos PP, Lloyd DJ, Linares SM, Reinholz F. Investigation of corneal ablation efficiency using ultraviolet 213-nm solid state laser pulses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999 Oct;40(11):2752-6.
137. Welch AJ, Motamedi M, Rastegar S, LeCarpentier GL, Jansen D. Laser thermal ablation. *Photochem Photobiol*. 1991 Jun;53(6):815-23.
138. Bhat AM. Lasers in prosthodontics - An overview part 1: Fundamentals of dental lasers. *J Indian Prosthodont Soc*. 2010 Mar;10(1):13-26.
139. Thomsen S. Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser-tissue interactions. *Photochem Photobiol*. 1991 Jun;53(6):825-35.
140. Cavalcanti TM, Almeida-Barros RQ, Catao MH, Feitosa AP, Lins RD. Knowledge of the physical properties and interaction of laser with biological tissue in dentistry. *An Bras Dermatol*. 2011 Sep-Oct;86(5):955-60.
141. Knappe V, Frank F, Rohde E. Principles of lasers and biophotonic effects. *Photomed Laser Surg*. 2004 Oct;22(5):411-7.
142. Niemi MH. *Laser-Tissue Interactions. Fundamentals and Applications*. 3rd Ed. ed. Heidelberg: Springer-Verlag; 2007.
143. Lins RD, Dantas EM, Lucena KC, Catao MH, Granville-Garcia AF, Carvalho Neto LG. Biostimulation effects of low-power laser in the repair process. *An Bras Dermatol*. 2010 Nov-Dec;85(6):849-55.
144. Davila ML. Photodynamic therapy. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2011 Jan;21(1):67-79.
145. Fichoux H. [Photodynamic therapy: principles and therapeutic indications]. *Ann Pharm Fr*. 2009 Jan;67(1):32-40.
146. Dougherty TJ. Photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 1993 Dec;58(6):895-900.
147. Henderson BW, Dougherty TJ. How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol*. 1992 Jan;55(1):145-57.
148. Choudhary S, Nouri K, Elsaie ML. Photodynamic therapy in dermatology: a review. *Lasers Med Sci*. 2009 Nov;24(6):971-80.
149. Brancalion L, Moseley H. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Lasers Med Sci*. 2002;17(3):173-86.

BIBLIOGRAFIA

150. Sieron A, Kwiatek S. Twenty years of experience with PDD and PDT in Poland--review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2009 Jun;6(2):73-8.
151. de Paula Eduardo C, de Freitas PM, Esteves-Oliveira M, Aranha AC, Ramalho KM, Simoes A, et al. Laser phototherapy in the treatment of periodontal disease. A review. *Lasers Med Sci.* 2010 Nov;25(6):781-92.
152. Schweitzer VG, Somers ML. PHOTOFRIN-mediated photodynamic therapy for treatment of early stage (Tis-T2N0M0) SqCCa of oral cavity and oropharynx. *Lasers Surg Med.* 2010 Jan;42(1):1-8.
153. Calin MA, Parasca SV. Light sources for photodynamic inactivation of bacteria. *Lasers Med Sci.* 2009 May;24(3):453-60.
154. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). *Br Dent J.* 2006 Mar 25;200(6):337-41, discussion 29.
155. Lane PM, Gilhuly T, Whitehead P, Zeng H, Poh CF, Ng S, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt.* 2006 Mar-Apr;11(2):024006.
156. Hoigne DJ, Stubinger S, Von Kaenel O, Shamdasani S, Hasenboehler P. Piezoelectric osteotomy in hand surgery: first experiences with a new technique. *BMC Musculoskelet Disord.* 2006;7:36.
157. Labanca M, Azzola F, Vinci R, Rodella LF. Piezoelectric surgery: twenty years of use. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jun;46(4):265-9.
158. Vercellotti T, Dellepiane M, Mora R, Salami A. Piezoelectric bone surgery in otosclerosis. *Acta Otolaryngol.* 2007 Sep;127(9):932-7.
159. Robiony M, Toro C, Costa F, Sembronio S, Polini F, Politi M. Piezosurgery: a new method for osteotomies in rhinoplasty. *J Craniofac Surg.* 2007 Sep;18(5):1098-100.
160. Kotrikova B, Wirtz R, Krempien R, Blank J, Eggers G, Samiotis A, et al. Piezosurgery--a new safe technique in cranial osteoplasty? *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2006 May;35(5):461-5.
161. Schaller BJ, Gruber R, Merten HA, Kruschat T, Schliephake H, Buchfelder M, et al. Piezoelectric bone surgery: a revolutionary technique for minimally invasive surgery in cranial base and spinal surgery? Technical note. *Neurosurgery.* 2005 Oct;57(4 Suppl):E410; discussion E.
162. Vercellotti T, De Paoli S, Nevins M. The piezoelectric bony window osteotomy and sinus membrane elevation: introduction of a new technique for simplification of the sinus augmentation procedure. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2001 Dec;21(6):561-7.
163. Happe A. Use of a piezoelectric surgical device to harvest bone grafts from the mandibular ramus: report of 40 cases. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007 Jun;27(3):241-9.
164. Siervo S, Ruggli-Milic S, Radici M, Siervo P, Jager K. [Piezoelectric surgery. An alternative method of minimally invasive surgery]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2004;114(4):365-77.
165. Lee HJ, Ahn MR, Sohn DS. Piezoelectric distraction osteogenesis in the atrophic maxillary anterior area: a case report. *Implant Dent.* 2007 Sep;16(3):227-34.
166. Barone A, Santini S, Marconcini S, Giacomelli L, Gherlone E, Covani U. Osteotomy and membrane elevation during the maxillary sinus augmentation procedure. A comparative study: piezoelectric device vs. conventional rotative instruments. *Clin Oral Implants Res.* 2008 May;19(5):511-5.
167. Degerliyurt K, Akar V, Denizci S, Yucel E. Bone lid technique with piezosurgery to preserve inferior alveolar nerve. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Dec;108(6):e1-5.
168. Eggers G, Klein J, Blank J, Hassfeld S. Piezosurgery: an ultrasound device for cutting bone and its use and limitations in maxillofacial surgery. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Oct;42(5):451-3.
169. Robiony M, Polini F, Costa F, Vercellotti T, Politi M. Piezoelectric bone cutting in multipiece maxillary osteotomies. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Jun;62(6):759-61.
170. Beziat JL, Vercellotti T, Gleizal A. [What is Piezosurgery? Two-years experience in craniomaxillofacial surgery]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2007 Apr;108(2):101-7.
171. Lynn JG, Zwemer RL, Chick AJ. The Biological Application of Focused Ultrasonic Waves. *Science.* 1942 Jul 31;96(2483):119-20.

BIBLIOGRAFIA

172. Khambay BS, Walmsley AD. Investigations into the use of an ultrasonic chisel to cut bone. Part 1: Forces applied by clinicians. *J Dent.* 2000 Jan;28(1):31-7.
173. Postle HH. Ultrasonic cavity preparation. *The Journal of Prosthetic Dentistry.* 1958;8(1):153-60.
174. Stubinger S, Kuttenger J, Filippi A, Sader R, Zeilhofer HF. Intraoral piezosurgery: preliminary results of a new technique. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005 Sep;63(9):1283-7.
175. Sivoletta S, Berengo M, Bressan E, Di Fiore A, Stellini E. Osteotomy for lower third molar germectomy: randomized prospective crossover clinical study comparing piezosurgery and conventional rotatory osteotomy. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Jun;69(6):e15-23.
176. Pavlikova G, Foltan R, Horka M, Hanzelka T, Borunská H, Sedy J. Piezosurgery in oral and maxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2011 May;40(5):451-7.
177. Gonzalez-Garcia A, Diniz-Freitas M, Somoza-Martin M, Garcia-Garcia A. Ultrasonic osteotomy in oral surgery and implantology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Sep;108(3):360-7.
178. Duck FA. The Curie papers on piezoelectricity. *Nowotwory Journal of Oncology.* 2010 2010;60(6):118e - 24e.
179. Schwieger K, Carrero V, Rentzsch R, Becker A, Bishop N, Hille E, et al. Abrasive water jet cutting as a new procedure for cutting cancellous bone--in vitro testing in comparison with the oscillating saw. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2004 Nov 15;71(2):223-8.
180. Stubinger S, Ghanaati S, Saldamli B, Kirkpatrick CJ, Sader R. Er:YAG laser osteotomy: preliminary clinical and histological results of a new technique for contact-free bone surgery. *Eur Surg Res.* 2009;42(3):150-6.
181. Vercellotti T. Technological characteristics and clinical indications of piezoelectric bone surgery. *Minerva Stomatol.* 2004 May;53(5):207-14.
182. Beziat JL, Bera JC, Lavandier B, Gleizal A. Ultrasonic osteotomy as a new technique in craniomaxillofacial surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Jun;36(6):493-500.
183. Leclercq P, Zenati C, Amr S, Dohan DM. Ultrasonic bone cut part 1: State-of-the-art technologies and common applications. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jan;66(1):177-82.
184. Sortino F, Pedulla E, Masoli V. The piezoelectric and rotatory osteotomy technique in impacted third molar surgery: comparison of postoperative recovery. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Dec;66(12):2444-8.
185. Gonzalez-Garcia A, Diniz-Freitas M, Somoza-Martin M, Garcia-Garcia A. Piezoelectric and conventional osteotomy in alveolar distraction osteogenesis in a series of 17 patients. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008 Sep-Oct;23(5):891-6.
186. Itró A, Lupo G, Carotenuto A, Filipi M, Coccozza E, Marra A. Benefits of piezoelectric surgery in oral and maxillofacial surgery. Review of literature. *Minerva Stomatol.* 2012 May;61(5):213-24.
187. Vercellotti T. Piezoelectric surgery in implantology: a case report--a new piezoelectric ridge expansion technique. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000 Aug;20(4):358-65.
188. Khambay BS, Walmsley AD. Investigations into the use of an ultrasonic chisel to cut bone. Part 2: Cutting ability. *J Dent.* 2000 Jan;28(1):39-44.
189. Landes CA, Stubinger S, Rieger J, Williger B, Ha TK, Sader R. Critical evaluation of piezoelectric osteotomy in orthognathic surgery: operative technique, blood loss, time requirement, nerve and vessel integrity. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Apr;66(4):657-74.
190. Wallace SS, Mazor Z, Froum SJ, Cho SC, Tarnow DP. Schneiderian membrane perforation rate during sinus elevation using piezosurgery: clinical results of 100 consecutive cases. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007 Oct;27(5):413-9.
191. Budd JC, Gekelman D, White JM. Temperature rise of the post and on the root surface during ultrasonic post removal. *Int Endod J.* 2005 Oct;38(10):705-11.
192. Rashad A, Kaiser A, Prochnow N, Schmitz I, Hoffmann E, Maurer P. Heat production during different ultrasonic and conventional osteotomy preparations for dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2011 Dec;22(12):1361-5.

BIBLIOGRAFIA

193. Schaeren S, Jaquier C, Heberer M, Tolnay M, Vercellotti T, Martin I. Assessment of nerve damage using a novel ultrasonic device for bone cutting. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Mar;66(3):593-6.
194. Schlee M, Steigmann M, Bratu E, Garg AK. Piezosurgery: basics and possibilities. *Implant Dent.* 2006 Dec;15(4):334-40.
195. Leclercq P, Zenati C, Dohan DM. Ultrasonic bone cut part 2: State-of-the-art specific clinical applications. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jan;66(1):183-8.
196. Vercellotti T, Nevins ML, Kim DM, Nevins M, Wada K, Schenk RK, et al. Osseous response following resective therapy with piezosurgery. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2005 Dec;25(6):543-9.
197. Barone A, Marconcini S, Giacomelli L, Rispoli L, Calvo JL, Covani U. A randomized clinical evaluation of ultrasound bone surgery versus traditional rotary instruments in lower third molar extraction. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010 Feb;68(2):330-6.
198. Danza M, Guidi R, Carinci F. Comparison between implants inserted into piezo split and unsplit alveolar crests. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Nov;67(11):2460-5.
199. Sohn DS, Ahn MR, Lee WH, Yeo DS, Lim SY. Piezoelectric osteotomy for intraoral harvesting of bone blocks. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007 Apr;27(2):127-31.
200. Metzger MC, Bormann KH, Schoen R, Gellrich NC, Schmelzeisen R. Inferior alveolar nerve transposition--an in vitro comparison between piezosurgery and conventional bur use. *J Oral Implantol.* 2006;32(1):19-25.
201. Sivolella S, Berengo M, Fiorot M, Mazzuchin M. Retrieval of blade implants with piezosurgery: two clinical cases. *Minerva Stomatol.* 2007 Jan-Feb;56(1-2):53-61.
202. Weather PR BG. Les tissus squelettiques. In: Graw-Hill M, editor. *Histologie fonctionnelle.* 2nd ed. ed. Paris: Elsevier; 1988. p. 142-60.
203. Junqueira LC, Carneiro, J. Tecido ósseo. In: S.A. EGK, editor. *Histologia básica.* 11ª Edição ed. Rio de Janeiro 2008. p. 135-52.
204. Bancroft JD, Gamble, M. Bone. In: Livingstone C, editor. *Theory and Practice of Histological Techniques.* 5th Ed ed. London: Harcourt Publishers; 2002. p. 269-302.
205. Boskey AL, Coleman R. Aging and bone. *J Dent Res.* 2010 Dec;89(12):1333-48.
206. Nanci A. Oral Histology. In: Mosby E, editor. *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure and Function.* 8th Edition ed. Missouri 2008. p. 95-121.
207. Fawcett DW. Bone. In: HAH C, editor. *A textbook of Histology.* 12th Edition ed 1995. p. 194-233.
208. Vaananen HK. Mechanism of bone turnover. *Ann Med.* 1993 Aug;25(4):353-9.
209. Green J, Kleeman CR. The role of bone in the regulation of systemic acid-base balance. *Contrib Nephrol.* 1991;91:61-76.
210. Bilezikian JP, Raisz, L. G., Rodan, G. A. *Principles of Bone Biology* 1996.
211. Berkovitz B, Holland, G., Moxham, B. Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal. In: Editora A, editor. . 3ª ed. ed. São Paulo 2004. p. 205-18.
212. Moore KL DA. Introduction to clinically oriented anatomy. In: Wilkins LW, editor. *Clinically Oriented Anatomy.* Philadelphia 2006. p. 19-26.
213. Kalfas IH. Principles of bone healing. *Neurosurg Focus.* 2001;10(4):E1.
214. Bashardoust Tajali S, Macdermid JC, Houghton P, Grewal R. Effects of low power laser irradiation on bone healing in animals: a meta-analysis. *J Orthop Surg Res.* 2010;5:1.
215. Aubin JE, Turksen, K. e Heersche, J. N. M. . Osteoblastic cell lineage. In: Noda M, editor. *Cellular and molecular biology of bone.* 1st ed. London: Academic Press Limited; 1993. p. 2-45.
216. Holtrop ME. Light and electron microscopic structure of bone-forming cells. In: Hall BK, editor. *Bone: The Osteoblast and Osteocyte v 1: A Treatise.* 61990. p. 1-39.

BIBLIOGRAFIA

217. Dee R. Bone Healing. In: E DRMEH, editor. Principles of Orthopaedic Practice. New York: Mc Graw-Hill; 1988. p. 68-73.
218. Termine JD. Mineral chemistry and skeletal biology. Clin Orthop Relat Res. 1972;85:207-39.
219. Weiner S, Wagner HD. The material bone: Structure mechanical function relations. Annu Rev Mater Sci. 1998;28:271-98.
220. McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume. 1978 May 1, 1978;60-B(2):150-62.
221. Lindholm R, Lindholm S, Liukko P, Paasimaki J, Isokaanta S, Rossi R, et al. The mast cell as a component of callus in healing fractures. J Bone Joint Surg Br. 1969 Feb 1;51(1):148-55.
222. Walsh JT, Jr., Cummings JP. Effect of the dynamic optical properties of water on midinfrared laser ablation. Lasers Surg Med. 1994;15(3):295-305.
223. Small IA, Osborn TP, Fuller T, Hussain M, Kobernick S. Observations of carbon dioxide laser and bone bur in the osteotomy of the rabbit tibia. J Oral Surg. 1979 Mar;37(3):159-66.
224. Allen GW, Adrian JC. Effects of carbon dioxide laser radiation on bone: an initial report. Mil Med. 1981 Feb;146(2):120-3.
225. James HE, Wiley CA, Schneider S. The effect of carbon dioxide laser irradiation on cranial bone healing. An experimental study. Childs Nerv Syst. 1986;2(5):248-51.
226. Williams TM, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ. Histologic evaluation of alveolar bone following CO2 laser removal of connective tissue from periodontal defects. Int J Periodontics Restorative Dent. 1995 Oct;15(5):497-506.
227. Gopin BW, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ. Histologic evaluation of soft tissue attachment to CO2 laser-treated root surfaces: an in vivo study. Int J Periodontics Restorative Dent. 1997 Aug;17(4):316-25.
228. Friesen LR, Cobb CM, Rapley JW, Forgas-Brockman L, Spencer P. Laser irradiation of bone: II. Healing response following treatment by CO2 and Nd:YAG lasers. J Periodontol. 1999 Jan;70(1):75-83.
229. Rayan GM, Pitha JV, Edwards JS, Everett RB. Effects of CO2 laser beam on cortical bone. Lasers Surg Med. 1991;11(1):58-61.
230. McDavid VG, Cobb CM, Rapley JW, Glaros AG, Spencer P. Laser irradiation of bone: III. Long-term healing following treatment by CO2 and Nd:YAG lasers. J Periodontol. 2001 Feb;72(2):174-82.
231. NICCOLI-FILHO W, SAMPAIO TA, GUIMARÃES-FILHO R. Efeitos da radiação laser de dióxido de carbono em tecido ósseo: estudo macroscópico em ratos. Pesquisa Odontológica Brasileira. 2001;15:127-32.
232. Tauber C, Farine I, Horoszowski H, Gassner S. Fracture healing in rabbits after osteotomy using the CO2 laser. Acta Orthop Scand. 1979 Aug;50(4):385-90.
233. Callahan DJ. Osseous healing after CO2 laser osteotomy. Foot Ankle. 1990 Dec;11(3):146-51.
234. Gertzbein SD, Dedemeter D, Cruickshank B, Kapasouri A. The effect of laser osteotomy on bone healing. Lasers in Surgery and Medicine. 1981;1(4):361-73.
235. Nuss RC, Fabian RL, Sarkar R, Puliafito CA. Infrared laser bone ablation. Lasers Surg Med. 1988;8(4):381-91.
236. Nelson JS, Orenstein A, Liaw LH, Berns MW. Mid-infrared erbium:YAG laser ablation of bone: the effect of laser osteotomy on bone healing. Lasers Surg Med. 1989;9(4):362-74.
237. Walsh JT, Jr., Deutsch TF. Er:YAG laser ablation of tissue: measurement of ablation rates. Lasers Surg Med. 1989;9(4):327-37.
238. Walsh JT, Jr., Flotte TJ, Deutsch TF. Er:YAG laser ablation of tissue: effect of pulse duration and tissue type on thermal damage. Lasers Surg Med. 1989;9(4):314-26.
239. Gonzalez C, van de Merwe WP, Smith M, Reinisch L. Comparison of the erbium-yttrium aluminum garnet and carbon dioxide lasers for in vitro bone and cartilage ablation. Laryngoscope. 1990 Jan;100(1):14-7.
240. Keller U, Hibst R, Mohr W. [Experimental animal studies on laser osteotomy using the erbium: YAG laser system]. Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir. 1991 May-Jun;15(3):197-9.

BIBLIOGRAFIA

241. Li ZZ, Reinisch L, Van de Merwe WP. Bone ablation with Er:YAG and CO2 laser: study of thermal and acoustic effects. *Lasers Surg Med.* 1992;12(1):79-85.
242. Buchelt M, Kutschera HP, Katterschafka T, Kiss H, Lang S, Beer R, et al. Erb:YAG and Hol:YAG laser osteotomy: the effect of laser ablation on bone healing. *Lasers Surg Med.* 1994;15(4):373-81.
243. Lewandrowski KU, Lorente C, Schomacker KT, Flotte TJ, Wilkes JW, Deutsch TF. Use of the Er:YAG laser for improved plating in maxillofacial surgery: comparison of bone healing in laser and drill osteotomies. *Lasers Surg Med.* 1996;19(1):40-5.
244. el Montaser MA, Devlin H, Sloan P, Dickinson MR. Pattern of healing of calvarial bone in the rat following application of the erbium-YAG laser. *Lasers Surg Med.* 1997;21(3):255-61.
245. Peavy GM, Reinisch L, Payne JT, Venugopalan V. Comparison of cortical bone ablations by using infrared laser wavelengths 2.9 to 9.2 microm. *Lasers Surg Med.* 1999;25(5):421-34.
246. Kuramoto Jr. M. Estudo morfológico de superfícies ósseas após secção por pontas diamantadas ou laser de érbio:YAG. *Pesqui Odontol Bras.* 2000;14(2):145-9.
247. Payne JT, Peavy GM, Reinisch L, Van Sickle DC. Cortical bone healing following laser osteotomy using 6.1 microm wavelength. *Lasers Surg Med.* 2001;29(1):38-43.
248. Paccione MF, Warren SM, Spector JA, Greenwald JA, Bouletreau PJ, Longaker MT. A mouse model of mandibular osteotomy healing. *J Craniofac Surg.* 2001 Sep;12(5):444-50.
249. Stanislawki M, Meister J, Mitra T, Ivanenko MM, Zanger K, Hering P. Hard tissue ablation with a free running Er : YAG and a Q-switched CO2 laser: a comparative study. *Appl Phys B-Lasers O.* 2001 Jan;72(1):115-20.
250. Pourzarandian A, Watanabe H, Aoki A, Ichinose S, Sasaki KM, Nitta H, et al. Histological and TEM examination of early stages of bone healing after Er:YAG laser irradiation. *Photomed Laser Surg.* 2004 Aug;22(4):342-50.
251. Eyrich GKH. Laser-osteotomy induced changes in bone. *Medical Laser Application.* 2005;20(1):25-36.
252. Schwarz F, Olivier W, Hertel M, Sager M, Chaker A, Becker J. Influence of implant bed preparation using an Er:YAG laser on the osseointegration of titanium implants: a histomorphometrical study in dogs. *J Oral Rehabil.* 2007 Apr;34(4):273-81.
253. de Mello ED, Pagnoncelli RM, Munin E, Filho MS, de Mello GP, Arisawa EA, et al. Comparative histological analysis of bone healing of standardized bone defects performed with the Er:YAG laser and steel burs. *Lasers Med Sci.* 2008 Jul;23(3):253-60.
254. Papadaki M, Doukas A, Farinelli WA, Kaban L, Troulis M. Vertical ramus osteotomy with Er:YAG laser: a feasibility study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Dec;36(12):1193-7.
255. Beer F, Passow H. Construction of a standard test assembly for controlled laser studies in tissues: preliminary study on human bone material. *Rev Sci Instrum.* 2008 Feb;79(2 Pt 1):024301.
256. Akyol U, Gungormus M. Er:YAG laser ablation of bone in experimental diabetics. *Photomed Laser Surg.* 2010 Aug;28(4):477-82.
257. Almeida JDD, Carvalho YR, Rocha RFD, Arisawa EAL. Estudo da reparação óssea em mandíbula de ratos 2010.
258. Stubinger S, Seitz O, Landes C, Bornand C, Robert S, Zeilhofer HF. [The Er:YAG laser in dentoalveolar surgery]. *Rev Mens Suisse Odontostomatol.* 2007;117(11):1144-46.
259. Stubinger S, von Rechenberg B, Zeilhofer HF, Sader R, Landes C. Er:YAG laser osteotomy for removal of impacted teeth: clinical comparison of two techniques. *Lasers Surg Med.* 2007 Aug;39(7):583-8.
260. Stubinger S, Landes C, Seitz O, Sader R. Er:YAG laser osteotomy for intraoral bone grafting procedures: a case series with a fiber-optic delivery system. *J Periodontol.* 2007 Dec;78(12):2389-94.
261. Stubinger S, Nuss K, Landes C, von Rechenberg B, Sader R. Harvesting of intraoral autogenous block grafts from the chin and ramus region: preliminary results with a variable square pulse Er:YAG laser. *Lasers Surg Med.* 2008 Jul;40(5):312-8.

BIBLIOGRAFIA

262. Kuttenberger JJ, Waibel A, Stubinger S, Werner M, Klasing M, Ivanenko M, et al. Bone healing of the sheep tibia shaft after carbon dioxide laser osteotomy: histological results. *Lasers Med Sci.* 2010 Mar;25(2):239-49.
263. Kesler G, Shvero DK, Tov YS, Romanos G. Platelet derived growth factor secretion and bone healing after Er:YAG laser bone irradiation. *J Oral Implantol.* 2011 Mar;37 Spec No:195-204.
264. Martins GL, Puricelli E, Baraldi CE, Ponzoni D. Bone healing after bur and Er:YAG laser osteotomies. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011 Apr;69(4):1214-20.
265. Torrella F, Pitarch J, Cabanes G, Anitua E. Ultrasonic osteotomy for the surgical approach of the maxillary sinus: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998 Sep-Oct;13(5):697-700.
266. Maurer P, Kriwalsky MS, Block Veras R, Brandt J, Heiss C. [Light microscopic examination of rabbit skulls following conventional and Piezosurgery osteotomy]. *Biomed Tech (Berl).* 2007 Oct;52(5):351-5.
267. Vallecillo Capilla M, Munoz Soto E, Reyes Botella C, Prados Saez E, Olmedo Gaya MV. Periapical surgery of 29 teeth. A comparison of conventional technique, microsaw and ultrasound. *Med Oral.* 2002 Jan-Feb;7(1):46-9, 50-3.
268. Goyal M, Marya K, Jhamb A, Chawla S, Sonoo PR, Singh V, et al. Comparative evaluation of surgical outcome after removal of impacted mandibular third molars using a Piezotome or a conventional handpiece: a prospective study. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012 Sep;50(6):556-61.
269. Landes CA, Stubinger S, Ballon A, Sader R. Piezoosteotomy in orthognathic surgery versus conventional saw and chisel osteotomy. *Oral Maxillofac Surg.* 2008 Sep;12(3):139-47.
270. Salami A, Dellepiane M, Ralli G, Crippa B, Mora R. Effects of Piezosurgery on the cochlear outer hair cells. *Acta Otolaryngol.* 2009 May;129(5):497-500.
271. Musser GGC, M. D. Family Muridae. In: Wilson DER, D. M., editor. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference.* 2nd ed. Washington D.C.: Smithsonian Institution Press; 1993. p. 501-756.
272. O'Loughlin PF, Morr S, Bogunovic L, Kim AD, Park B, Lane JM. Selection and development of preclinical models in fracture-healing research. *J Bone Joint Surg Am.* 2008 Feb;90 Suppl 1:79-84.
273. Sowash JR. *The Skeletal System of the Rat.* 2009.
274. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res.* 1986 Apr(205):299-308.
275. Baker JRLHJ. Historical Foundations. In: Franklin MASSHWCL, editor. *The Laboratory Rat.* 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2006. p. 1-52.
276. Giannobile WVKDNM. Preclinical Model Development for the Reconstruction of Oral, Periodontal and Craniofacial Defects. In: Gianobile WVaNM, editor. *Osteology Guidelines for Oral and Maxillofacial Regeneration: Quintessence Publishing;* 2011. p. 1-8.
277. Walter ML, Domes ME, Diller RA, Sproedt J, Joosten UH. Photoablation of bone by excimer laser radiation. *Lasers Surg Med.* 1999;25(2):153-8.
278. Yoshino T, Aoki A, Oda S, Takasaki AA, Mizutani K, Sasaki KM, et al. Long-term histologic analysis of bone tissue alteration and healing following Er:YAG laser irradiation compared to electrosurgery. *J Periodontol.* 2009 Jan;80(1):82-92.
279. Kautzky M, Susani M, Leukauf M, Schenk P. [Holmium:YAG and erbium:YAG infrared laser osteotomy]. *Langenbecks Arch Chir.* 1992;377(5):300-4.
280. Perussi LR, Pavone C, de Oliveira GJ, Cerri PS, Marcantonio RA. Effects of the Er,Cr:YSGG laser on bone and soft tissue in a rat model. *Lasers Med Sci.* 2012 Jan;27(1):95-102.
281. Isler SC, Cansiz E, Tanyel C, Soluk M, Selvi F, Cebi Z. The effect of irrigation temperature on bone healing. *Int J Med Sci.* 2011;8(8):704-8.
282. Lirani-Galvao AP, Jorgetti V, da Silva OL. Comparative study of how low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound affect bone repair in rats. *Photomed Laser Surg.* 2006 Dec;24(6):735-40.

BIBLIOGRAFIA

283. Bagi CM, Wilkie D, Georgelos K, Williams D, Bertolini D. Morphological and structural characteristics of the proximal femur in human and rat. *Bone*. 1997 Sep;21(3):261-7.
284. Tromp AM, Bravenboer N, Tanck E, Oostlander A, Holzmann PJ, Kostense PJ, et al. Additional weight bearing during exercise and estrogen in the rat: the effect on bone mass, turnover, and structure. *Calcif Tissue Int*. 2006 Dec;79(6):404-15.
285. Gnadat BJ. Ethical and Legal Perspectives. In: Franklin MASSHWCL, editor. *The Laboratory Rat*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2006. p. 53-70.
286. Gartner LH, JL. Cartilage and Bone. In: Elsevier S, editor. *Color Textbook of Histology*. Philadelphia 2007.
287. Schenk RKB, D. D. Biologic Basis of Bone Regeneration. In: Buser D, editor. *20 Years of Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*. 2nd ed: Quintessence Publishing Co, Inc; 2009. p. 15 - 46.
288. Najjar TA, Kahn D. Comparative study of healing and remodeling in various bones. *J Oral Surg*. 1977 May;35(5):375-9.
289. Almeida Prado FA, A. L.; Jaime, A. P. G.; Lima, A. P.; Balducci, I.; Rocha, R. F. Defeitos ósseos em tíbias de ratos: padronização do modelo experimental. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*. 2006;18(1):7-13.
290. Moss RW. Histopathologic Reaction of Bone to Surgical Cutting. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1964 Mar;17:405-14.
291. Rayan GM, Stanfield DT, Cahill S, Kosanke SD, Kopta JA. Effects of rapid pulsed CO2 laser beam on cortical bone in vivo. *Lasers Surg Med*. 1992;12(6):615-20.
292. Bayly JG, Kartha VB, Stevens WH. The absorption spectra of liquid phase H2O, HDO and D2O from 0.7 μ m to 10 μ m. *Infrared Physics*. 1963;3(4):211-22.
293. Thompson C. Laser tackles bone. *Lancet*. 1995 Apr 22;345(8956):1001.
294. Nelson JS, Yow L, Liaw LH, Macleay L, Zavar RB, Orenstein A, et al. Ablation of bone and methacrylate by a prototype mid-infrared erbium:YAG laser. *Lasers Surg Med*. 1988;8(5):494-500.
295. Colvard MD, Pick RM. Future directions of lasers in dental medicine. *Curr Opin Periodontol*. 1993:144-50.
296. Charlton AD, M.R.; King, T.A.; Freemont, A.J. Erbium-YAG and holmium-YAG laser ablation of bone. *Lasers in Medical Science*. 1990;5:9.
297. Lukac MM, M.; Grad, L.; Bozic, Z. Dental Laser Drilling: State of the Art with the Latest Generation of Variable Square Pulse Erbium Dental Laser Systems. *Journal of the Laser and Health Academy*. 2007;2007(6):5.
298. Lukac MM, M.; Grad, L. Super VSP Er:YAG Pulses for Fast and Precise Cavity Preparation. *J Oral Laser Applications*. 2004;4(3):3.
299. Majaron BS, D.; Lukac, M.; Skaleric, U.; Fundukc, N. Heat diffusion and debris screening in Er:YAG laser ablation of hard biological tissues. *Appl Phys B*. 1998;66:9.
300. Augustin G, Davila S, Mihoci K, Udiljak T, Vedrina DS, Antabak A. Thermal osteonecrosis and bone drilling parameters revisited. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2008 Jan;128(1):71-7.
301. Augustin G, Zigman T, Davila S, Udilljak T, Staroveski T, Brezak D, et al. Cortical bone drilling and thermal osteonecrosis. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2011 Nov 7.
302. Eriksson AR, Albrektsson T. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopic study in the rabbit. *J Prosthet Dent*. 1983 Jul;50(1):101-7.
303. Berman AT, Reid JS, Yanicko DR, Jr., Sih GC, Zimmerman MR. Thermally induced bone necrosis in rabbits. Relation to implant failure in humans. *Clin Orthop Relat Res*. 1984 Jun(186):284-92.
304. Gonzalez-Garcia A, Diniz-Freitas M, Somoza-Martin M, Garcia-Garcia A. Piezoelectric bone surgery applied in alveolar distraction osteogenesis: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007 Nov-Dec;22(6):1012-6.
305. Gruber RM, Kramer FJ, Merten HA, Schliephake H. Ultrasonic surgery--an alternative way in orthognathic surgery of the mandible. A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Sep;34(6):590-3.

BIBLIOGRAFIA

306. Nordera P, Spanio di Spilimbergo S, Stenico A, Fornezza U, Volpin L, Padula E. The cutting-edge technique for safe osteotomies in craniofacial surgery: the piezosurgery bone scalpel. *Plast Reconstr Surg*. 2007 Dec;120(7):1989-95.
307. Stubinger S, Landes C, Seitz O, Zeilhofer HF, Sader R. [Ultrasonic bone cutting in oral surgery: a review of 60 cases]. *Ultraschall Med*. 2008 Feb;29(1):66-71.
308. Green J, Weiss A, Stern A. Lasers and Radiofrequency Devices in Dentistry. *Dental Clinics of North America*. 2011;55(3):585-97.
309. Dederich DN, Bushick RD. Lasers in dentistry: separating science from hype. *J Am Dent Assoc*. 2004 Feb;135(2):204-12; quiz 29.
310. Jacobsen T, Norlund A, Englund GS, Tranaeus S. Application of laser technology for removal of caries: a systematic review of controlled clinical trials. *Acta Odontol Scand*. 2011 Mar;69(2):65-74.
311. Makhija SK, Anabtawi MF. There is limited evidence to support the effectiveness of dental lasers in the removal of caries compared with rotary burs. *J Evid Based Dent Pract*. 2012 Mar;12(1):31-2.
312. He S, Wang Y, Li X, Hu D. Effectiveness of laser therapy and topical desensitising agents in treating dentine hypersensitivity: a systematic review. *J Oral Rehabil*. 2011 May;38(5):348-58.
313. Sgolastra F, Petrucci A, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of laser in dentinal hypersensitivity treatment: a systematic review. *J Endod*. 2011 Mar;37(3):297-303.
314. Cunha-Cruz J. Laser therapy for dentine hypersensitivity. *Evid Based Dent*. 2011;12(3):74-5.
315. Deppe H, Horch H-H. Current status of laser applications in oral and cranio-maxillofacial surgery. *Medical Laser Application*. 2007;22(1):39-42.
316. Pick RM, Colvard MD. Current status of lasers in soft tissue dental surgery. *J Periodontol*. 1993 Jul;64(7):589-602.
317. Sarver DM. Use of the 810 nm diode laser: soft tissue management and orthodontic applications of innovative technology. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2006 Oct;18(9):suppl 7-13.
318. Genovese MD, Olivi G. Use of laser technology in orthodontics: hard and soft tissue laser treatments. *Eur J Paediatr Dent*. 2010 Mar;11(1):44-8.
319. Weichman JA, Johnson FM. Laser use in endodontics. A preliminary investigation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1971 Mar;31(3):416-20.
320. Weichman JA, Johnson FM, Nitta LK. Laser use in endodontics. II. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1972 Nov;34(5):828-30.
321. Schoop U, Barylyak A, Goharkhay K, Beer F, Wernisch J, Georgopoulos A, et al. The impact of an erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser with radial-firing tips on endodontic treatment. *Lasers Med Sci*. 2009 Jan;24(1):59-65.
322. Miserendino LJ. The laser apicoectomy: endodontic application of the CO2 laser for periapical surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1988 Nov;66(5):615-9.
323. Angiero F, Benedicenti S, Signore A, Parker S, Crippa R. Apicoectomies with the erbium laser: a complementary technique for retrograde endodontic treatment. *Photomed Laser Surg*. 2011 Dec;29(12):845-9.
324. Pozza DH, Fregapani PW, Xavier CB, Weber JB, Oliveira MG. CO(2), Er: YAG and Nd:YAG lasers in endodontic surgery. *J Appl Oral Sci*. 2009 Nov-Dec;17(6):596-9.
325. Pecora JD, Cussioli AL, Guerisoli DM, Marchesan MA, Sousa-Neto MD, Brugnera Junior A. Evaluation of Er:YAG laser and EDTAC on dentin adhesion of six endodontic sealers. *Braz Dent J*. 2001;12(1):27-30.
326. Olivi G, Genovese MD, Caprioglio C. Evidence-based dentistry on laser paediatric dentistry: review and outlook. *Eur J Paediatr Dent*. 2009 Mar;10(1):29-40.
327. Abu-Serriah M, Critchlow H, Whitters CJ, Ayoub A. Removal of partially erupted third molars using an Erbium (Er):YAG laser: a randomised controlled clinical trial. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2004 Jun;42(3):203-8.
328. Nelson JS. In this issue. Dermatologic laser surgery. *Lasers Surg Med*. 2000;26(2):105-7.

BIBLIOGRAFIA

329. Meyer-Schwickerath GR. The history of photocoagulation. *Aust N Z J Ophthalmol.* 1989 Nov;17(4):427-34.
330. Marshall J, Bird AC. A comparative histopathological study of argon and krypton laser irradiations of the human retina. *Br J Ophthalmol.* 1979 Oct;63(10):657-68.
331. McHugh JD, Marshall J, Ffytche TJ, Hamilton AM, Raven A, Keeler CR. Initial clinical experience using a diode laser in the treatment of retinal vascular disease. *Eye (Lond).* 1989;3 (Pt 5):516-27.
332. Ambrosio R, Jr., Wilson S. LASIK vs LASEK vs PRK: advantages and indications. *Semin Ophthalmol.* 2003 Mar;18(1):2-10.
333. Ghadhfan F, Al-Rajhi A, Wagoner MD. Laser in situ keratomileusis versus surface ablation: visual outcomes and complications. *J Cataract Refract Surg.* 2007 Dec;33(12):2041-8.
334. Dastjerdi MH, Soong HK. LASEK (laser subepithelial keratomileusis). *Curr Opin Ophthalmol.* 2002 Aug;13(4):261-3.
335. Lang GE. Laser treatment of diabetic retinopathy. *Dev Ophthalmol.* 2007;39:48-68.
336. Faghihi H, Roohipour R, Mohammadi SF, Hojat-Jalali K, Mirshahi A, Lashay A, et al. Intravitreal bevacizumab versus combined bevacizumab-triamcinolone versus macular laser photocoagulation in diabetic macular edema. *Eur J Ophthalmol.* 2008 Nov-Dec;18(6):941-8.
337. Norlaili M, Bakiah S, Zunaina E. Intravitreal triamcinolone versus laser photocoagulation as a primary treatment for diabetic macular oedema - a comparative pilot study. *BMC Ophthalmol.* 2011;11:36.
338. Ockrim ZK, Sivaprasad S, Falk S, Roghani S, Bunce C, Gregor Z, et al. Intravitreal triamcinolone versus laser photocoagulation for persistent diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 2008 Jun;92(6):795-9.
339. Saraiva FP, Queiroz MS, Costa PG, Gasparin F, Nakashima Y. [Use of intravitreal triamcinolone and laser photocoagulation for the treatment of diffuse diabetic macular edema]. *Arq Bras Oftalmol.* 2008 Jul-Aug;71(4):493-8.
340. Willan AR, Cruess AF, Ballantyne M. Argon green vs. krypton red laser photocoagulation for extrafoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration: 3-year results of a multicentre randomized trial. *Canadian Ophthalmology Study Group. Can J Ophthalmol.* 1996 Feb;31(1):11-7.
341. Nielsen NV, Frost-Larsen K, Gregersen E, Scherfig E. Treatment of age-related macular degeneration by laser photocoagulation. Visual results 2-8 weeks and 2-4 years after initial laser treatment. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1988 Oct;66(5):522-7.
342. Hsu J, Maguire MG, Fine SL. Laser prophylaxis for age-related macular degeneration. *Can J Ophthalmol.* 2005 Jun;40(3):320-31.
343. Masuyama Y, Fukuzaki M, Kodama Y, Baba Y, Sawada A. Treatment of retinoblastoma with argon laser photocoagulation. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1984 Sep-Oct;21(5):169-71.
344. Augsburger JJ, Faulkner CB. Indirect ophthalmoscope argon laser treatment of retinoblastoma. *Ophthalmic Surg.* 1992 Sep;23(9):591-3.
345. Abramson DH, Servodidio CA, Nissen M. Treatment of retinoblastoma with the transscleral diode laser. *Am J Ophthalmol.* 1998 Nov;126(5):733-5.
346. Shields CL, Shields JA. Recent developments in the management of retinoblastoma. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1999 Jan-Feb;36(1):8-18; quiz 35-6.
347. Solomon R, Barsam A, Voldman A, Holladay J, Bhogal M, Perry HD, et al. Argon laser iridoplasty to improve visual function following multifocal intraocular lens implantation. *J Refract Surg.* 2012 Apr;28(4):281-3.
348. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science.* 1991 Nov 22;254(5035):1178-81.
349. Jaffe GJ, Caprioli J. Optical coherence tomography to detect and manage retinal disease and glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2004 Jan;137(1):156-69.
350. van Velthoven ME, Faber DJ, Verbraak FD, van Leeuwen TG, de Smet MD. Recent developments in optical coherence tomography for imaging the retina. *Prog Retin Eye Res.* 2007 Jan;26(1):57-77.

BIBLIOGRAFIA

351. Geiges ML. History of lasers in dermatology. *Curr Probl Dermatol.* 2011;42:1-6.
352. Adamic M, Troilius A, Adatto M, Drosner M, Dahmane R. Vascular lasers and IPLS: guidelines for care from the European Society for Laser Dermatology (ESLD). *J Cosmet Laser Ther.* 2007 Jun;9(2):113-24.
353. Fitzpatrick RE, Goldman MP. Tattoo removal using the alexandrite laser. *Arch Dermatol.* 1994 Dec;130(12):1508-14.
354. Krupashankar DS. Standard guidelines of care: CO2 laser for removal of benign skin lesions and resurfacing. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2008 Jan;74 Suppl:S61-7.
355. Fitzpatrick RE, Goldman MP, Dierickx C. Laser ablation of facial cosmetic tattoos. *Aesthetic Plast Surg.* 1994 Winter;18(1):91-8.
356. Khatri KA, Mahoney DL, McCartney MJ. Laser scar revision: A review. *J Cosmet Laser Ther.* 2011 Apr;13(2):54-62.
357. Elsaie ML, Choudhary S. Lasers for scars: a review and evidence-based appraisal. *J Drugs Dermatol.* 2010 Nov;9(11):1355-62.
358. Elsaie ML, Choudhary S, McLeod M, Nouri K. Scars. *Curr Probl Dermatol.* 2011;42:131-9.
359. Lupton JR, Alster TS. Laser scar revision. *Dermatol Clin.* 2002 Jan;20(1):55-65.
360. Krupa Shankar D, Chakravarthi M, Shilpakar R. Carbon dioxide laser guidelines. *J Cutan Aesthet Surg.* 2009 Jul;2(2):72-80.
361. Haedersdal M, Beerwerth F, Nash JF. Laser and intense pulsed light hair removal technologies: from professional to home use. *Br J Dermatol.* 2011 Dec;165 Suppl 3:31-6.
362. Ibrahim OA, Avram MM, Hanke CW, Kilmer SL, Anderson RR. Laser hair removal. *Dermatol Ther.* 2011 Jan-Feb;24(1):94-107.
363. Yeung CK, Shek SY, Chan HH. Hair removal with neodymium-doped yttrium aluminum garnet laser and pneumatic skin flattening in Asians. *Dermatol Surg.* 2010 Nov;36(11):1664-70.
364. Kelly KM. Laser hair removal: progress marches on. *Dermatol Surg.* 2010 Nov;36(11):1671.
365. Haedersdal M, Wulf HC. Evidence-based review of hair removal using lasers and light sources. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2006 Jan;20(1):9-20.
366. Galt V. Laser hair removal a risky business in need of regulation, experts say. *CMAJ.* 2010 May 18;182(8):755-6.
367. Kelsall D. Laser hair removal: No training required? *CMAJ.* 2010 May 18;182(8):743.
368. Rao K, Sankar TK. Long-pulsed Nd:YAG laser-assisted hair removal in Fitzpatrick skin types IV-VI. *Lasers Med Sci.* 2011 Sep;26(5):623-6.
369. Haak CS, Nymann P, Pedersen AT, Clausen HV, Feldt Rasmussen U, Rasmussen AK, et al. Hair removal in hirsute women with normal testosterone levels: a randomized controlled trial of long-pulsed diode laser vs. intense pulsed light. *Br J Dermatol.* 2010 Nov;163(5):1007-13.
370. Lapidoth M, Dierickx C, Lanigan S, Paasch U, Campo-Voegeli A, Dahan S, et al. Best practice options for hair removal in patients with unwanted facial hair using combination therapy with laser: guidelines drawn up by an expert working group. *Dermatology.* 2010 Aug;221(1):34-42.
371. Wheeland RG. Clinical uses of lasers in dermatology. *Lasers Surg Med.* 1995;16(1):2-23.
372. Laws RA, Wilde JL, Grabski WJ. Comparison of electrodesiccation with CO2 laser for the treatment of actinic cheilitis. *Dermatol Surg.* 2000 Apr;26(4):349-53.
373. Alamillos-Granados FJ, Naval-Gias L, Dean-Ferrer A, Alonso del Hoyo JR. Carbon dioxide laser vermilionectomy for actinic cheilitis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 Feb;51(2):118-21.
374. Parsons RL, Campbell JL, Thomley MW, Butt CG, Gordon TE. The effect of the laser of dog bladders: a preliminary report. *J Urol.* 1966;95(5):716-7.
375. Marks AJ, Teichman JM. Lasers in clinical urology: state of the art and new horizons. *World J Urol.* 2007 Jun;25(3):227-33.

BIBLIOGRAFIA

376. Tan AH, Gilling PJ. Free-beam and contact laser soft-tissue ablation in urology. *J Endourol.* 2003 Oct;17(8):587-93.
377. Teichman JM, Chan KF, Cecconi PP, Corbin NS, Kamerer AD, Glickman RD, et al. Erbium: YAG versus holmium:YAG lithotripsy. *J Urol.* 2001 Mar;165(3):876-9.
378. Fried NM. Potential applications of the erbium:YAG laser in endourology. *J Endourol.* 2001 Nov;15(9):889-94.
379. Chaney CA, Yang Y, Fried NM. Hybrid germanium/silica optical fibers for endoscopic delivery of erbium:YAG laser radiation. *Lasers Surg Med.* 2004;34(1):5-11.
380. Fried NM. Thulium fiber laser lithotripsy: an in vitro analysis of stone fragmentation using a modulated 110-watt Thulium fiber laser at 1.94 microm. *Lasers Surg Med.* 2005 Jul;37(1):53-8.
381. Fried NM, Murray KE. High-power thulium fiber laser ablation of urinary tissues at 1.94 microm. *J Endourol.* 2005 Jan-Feb;19(1):25-31.
382. Rosomoff HL, Carroll F. Reaction of neoplasm and brain to laser. *Arch Neurol.* 1966 Feb;14(2):143-8.
383. Stellar S, Polanyi TG. Lasers in neurosurgery: a historical overview. *J Clin Laser Med Surg.* 1992 Dec;10(6):399-411.
384. Stellar S, Polanyi TG, Bredemeier HC. Experimental studies with the carbon dioxide laser as a neurosurgical instrument. *Med Biol Eng.* 1970 Nov;8(6):549-58.
385. Beck OJ. The use of the Nd-YAG and the CO₂ laser in neurosurgery. *Neurosurg Rev.* 1980;3(4):261-6.
386. Saunders ML, Young HF, Becker DP, Greenberg RP, Newlon PG, Corales RL, et al. The use of the laser in neurological surgery. *Surg Neurol.* 1980 Jul;14(1):1-10.
387. Ascher PW, Heppner F. CO₂-Laser in neurosurgery. *Neurosurg Rev.* 1984;7(2-3):123-33.
388. Fasano VA. The use of laser in neurosurgery. *J Neurosurg Sci.* 1982 Oct-Dec;26(4):245-64.
389. Wharen RE, Jr., Anderson RE, Sundt TM, Jr. The Nd:YAG laser in neurosurgery. Part 2. Clinical studies: an adjunctive measure for hemostasis in resection of arteriovenous malformations. *J Neurosurg.* 1984 Mar;60(3):540-7.
390. Jain KK. Lasers in neurosurgery: a review. *Lasers Surg Med.* 1983;2(3):217-30.
391. Devaux BC, Roux FX. Experimental and clinical standards, and evolution of lasers in neurosurgery. *Acta Neurochir (Wien).* 1996;138(10):1135-47.
392. Buki A, Doczi T, Veto F, Horvath Z, Gallyas F. Initial clinical experience with a combined pulsed holmium-neodymium-YAG laser in minimally invasive neurosurgery. *Minim Invasive Neurosurg.* 1999 Mar;42(1):35-40.
393. Ryan RW, Spetzler RF, Preul MC. Aura of technology and the cutting edge: a history of lasers in neurosurgery. *Neurosurg Focus.* 2009 Sep;27(3):E6.
394. Ryan RW, Wolf T, Spetzler RF, Coons SW, Fink Y, Preul MC. Application of a flexible CO₂ laser fiber for neurosurgery: laser-tissue interactions. *J Neurosurg.* 2010 Feb;112(2):434-43.
395. Lin LM, Sciubba DM, Jallo GI. Neurosurgical applications of laser technology. *Surg Technol Int.* 2009 Apr;18:63-9.
396. Sweeney C. Laser safety in dentistry. *Gen Dent.* 2008 Nov-Dec;56(7):653-9; quiz 60-1, 767.

