



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**



**CHAIANE PAVONE**

**TRATAMENTO DE DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA EM  
RATOS ATRAVÉS DA APLICAÇÃO DE LASER DE ER,CR:YSGG:  
ANÁLISE HISTOLÓGICA**

ARARAQUARA

2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



**CHAINED PAVONE**

**TRATAMENTO DE DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA  
EM RATOS ATRAVÉS DA APLICAÇÃO DE LASER DE  
ER,CR:YSGG: ANÁLISE HISTOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista para o título de Mestre em Odontologia

**Orientador:** Prof.Dr. Elcio Marcantonio Junior

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosemary Adriana

Chiérici Marcantonio

ARARAQUARA

2010

Pavone, Chaine

Tratamento de doença periodontal induzida em ratos através da aplicação de laser de ER, CR: YSGG: Análise histológica / Chaine Pavone.– Araraquara: [s.n.], 2010.

84p. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador : Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

Co-orientadora: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiéri  
Marcantonio

1. Terapia a laser 2. Perda óssea alveolar 3. Defeitos da furca  
4. Periodontite 5. Lasers 6. Ligadura I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

CHAINED PAVONE

TRATAMENTO DE DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA EM RATOS  
ATRAVÉS DA APLICAÇÃO DE LASER ER,CR:YSGG: ANÁLISE  
HISTOLÓGICA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

COMISSÃO JULGADORA

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior

2º Examinador: Prof.Dr. Giuseppe Alexandre Romito

3º Examinador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

ARARAQUARA, 26 de março de 2010

## DADOS CURRICULARES

*Chaine Pavone*

NASCIMENTO	01 de Fevereiro de 1983
FILIAÇÃO	Pascoal Pavone  Carmem Augusta Alves Pavone
2004-2007	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2008-2009	Curso de Especialização em Periodontia pela Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas – APCD na cidade de São Carlos – SP
2008-Atual	Curso de pós-graduação em Periodontia - Nível Mestrado. Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP

## *Dedico este trabalho.....*

Aos meus amados pais *Pascoal* e *Carmem*; O apoio de vocês me fez enxergar a vida com mais dignidade, respeito, dedicação e amor por todas as coisas realmente importantes. Agradeço não somente a minha formação profissional que dependeu mais do que tudo do trabalho e do esforço de vocês, mas também da minha formação como ser humano, repleta de exemplos e ensinamentos grandiosos. Espero ser sempre digna de tudo que fizeram por mim....

Ao meu irmão *Sandy*, por seu sorriso sincero e por seu coração sempre aberto, cheio de amor. Obrigada por sua compreensão e por compartilhar a sua vida comigo. A cada dia, aprendemos sempre mais um com o outro...

*Amo muito vocês!!*

## *Agradecimentos Especiais...*

Agradeço a *Deus* pela minha vida, pela oportunidade de um novo aprendizado a cada dia, por iluminar meus passos me dando paz, serenidade e amor para que eu pudesse seguir sempre em frente.

A minha grandiosa família, tios, tias, primos, primas e avós, obrigada pelo incentivo, pelas palavras amigas e por acreditarem no meu esforço e na minha dedicação, agradeço por compreenderem a minha ausência, este trabalho também faz parte de vocês...

Ao meu melhor amigo e namorado *Fábio*, por todas as palavras doces que me apoiaram durante todas as etapas deste trabalho. O seu amor me completa e me dá forças para buscar novos sonhos e conquistas...Te amo muito.

A minha amada avó, sempre constante e carinhosa. Tento seguir ao máximo os seus conselhos e ensinamentos, as vezes é um pouco difícil, pois sua alma é grandiosa demais para que eu possa enxergar tudo aquilo que tenta me mostrar. Obrigada, por estar em minha vida, com você tudo pode, tudo é mais fácil...

*A Prof Dr<sup>a</sup> Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio*

Não existem palavras que possam dizer o quanto agradeço por estar ao seu lado desde muito antes da minha formação profissional. A sua sabedoria ultrapassa os ensinamentos científicos, com você sou uma pessoa mais forte e mais dedicada. Obrigada pela confiança, compreensão, ensinamentos, por me fazer crescer diante das dificuldades e por sua mão estendida, sempre disposta a me guiar e ajudar. Sou eternamente grata a você.

*Ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio Junior*

Obrigada pela oportunidade, carinho e confiança em mim depositados desde a graduação. Os seus conhecimentos e experiência, fortaleceram e completaram a minha formação profissional, me preparando para novos obstáculos e desafios com mais amor e respeito pela profissão.

## *Agradecimentos*

A Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla e Vice-Diretora Andreia Affonso Barreto Montandon pela oportunidade e infra-estrutura oferecidas para realização deste projeto.

Ao Coordenador do Curso de Pós Graduação – Área de Periodontia, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, pela dedicação, competência e reponsabilidade durante suas atividades.

Aos docentes da disciplina de Periodontia desta Faculdade: Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvana Regina Perez Orrico e ao Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior. Obrigada pelo profissionalismo, dedicação, empenho e conhecimentos compartilhados durante mais esta etapa.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Letícia Helena Theodoro, obrigada por compartilhar seus conhecimentos durante as etapas deste projeto. A sua ajuda foi essencial para elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luis Carlos Spolidório, agradeço os ensinamentos com paciência e entusiasmo, sempre disponível para esclarecer as minhas dúvidas. A sua competência e profissionalismo foram um grande exemplo de dedicação para mim.

Ao meu amigo e companheiro Guilherme, por toda a sua ajuda e apoio nas diversas fases deste projeto. Obrigada pela força, paciência, alegria e

competência, refletidos na pessoa íntegra e bondosa que você é. É um imenso prazer compartilhar tantos momentos importantes da minha vida com você. Minha eterna admiração. Livia, obrigada pela ajuda, respeito e dedicação que você demonstrou durante todas as etapas deste projeto, espero ter correspondido da mesma maneira.

Aos meus amigos Rubens, Humberto, Faeda, Rodrigo, Lucas, João e André. Obrigada pelo carinho e por me socorrem em inúmeros momentos, sempre com incentivos, palavras amigas e conhecimentos trocados, sempre aprendo muito com vocês.

Em especial, a todas as minhas preciosas amigas Andressa, Michele, Sâmia, Shelon e Telma. Sem o carinho, respeito, incentivo e amizade de vocês esta fase teria sido muito mais difícil. Vocês tornaram tudo mais alegre, fácil de superar. Espero estar sempre ao lado de todas vocês.

Aos demais colegas de mestrado e doutorado: Sabrina, Yeon, Alliny, Leila, Mariana, Marina, Nicole, Morgana, Roberta, Naná, Andrés, Wagner pelo convívio e experiência compartilhados.

Às minhas amigas amadas Jú e Sabrina, obrigada pela companhia, paciência, carinho, compreensão e por me apoiarem em todos os minutos. Amo vocês!!!

A todos os funcionários do Departamento de Diagnostico e Cirurgia: Zezé, Maria do Rosário, Cláudia, Regina Lúcia, Ester, Thelma e Toninho.

Em especial a Claudinha (Ana Cláudia Gregolin Costa Miranda) por sua paciência, dedicação, profissionalismo e disponibilidade em me ajudar em um dos momentos mais difíceis deste projeto, você foi incrível.

A Regina Lúcia, obrigada pela atenção, disponibilidade, competência e paciência tão importantes neste e em outros trabalhos Sem sua organização e dedicação tudo seria mais difícil e complicado.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, Mara, Rosângela, José Alexandre e Flávia, obrigada pela competência e carinho com que realizaram seus trabalhos.

Aos funcionários da biblioteca, Ceres, Maria Helena, Marley, Odete, Cristina, Maria Aparecida, Adriano, Maria Inês, Eliane e Silvia, muito obrigada pela competência, ajuda, apoio e amizade de vocês.

Em especial a Silvia, por estar comigo desde a graduação, me incentivando, apoiando e ajudando em tantos momentos importantes. Você foi maravilhosa, obrigada por tudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

*“Nós somos o que fazemos repetidamente, a excelência não é um feito, e sim, um hábito.”*

Aristóteles

*SUMÁRIO*

Lista de abreviaturas.....	13
Resumo.....	15
Abstract.....	17
1. Introdução.....	18
2. Proposição.....	34
3. Material e Métodos .....	35
4. Resultados .....	44
5. Discussão.....	62
6. Conclusão.....	68
7. Referências Bibliográficas.....	69
8. Anexos.....	82

## *Lista de abreviaturas*

Er,Cr:YSGG – Erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet

Er:YAG – Erbium:yttrium aluminum garnet

Ho:YAG – Holmium: yttrium aluminum garnet

Nd:YAG – Neodymium: yttrium aluminum garnet

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

HeNe – Helio- neon

InGaAsP – Indium gallium arsenide fosforoso

GaAs - Gallium arsenide

ArF – Fluoreto de argônio

XeCl – Cloreto de xenônio

RAR – Raspagem e alisamento radicular

nm - Nanômetro

Hz – Hertz

mJ – Mili joule

W – Watts

s – Segundos

Ca – Cálcio

P – Fósforo

Laser+RAR – Associação raspagem e alisamento radicular com irradiação laser

% - Porcento (porcentagem)

ml – Mililitro

g – Grama

µm- Micrometros

µs – Microsegundos

J – Joule

cm<sup>2</sup> - Centímetro quadrado

mm – Milímetro

EDTA – Etileno-diamino tetra-acetato

H&E – Hematoxilina e eosina

Pavone, C. Tratamento de doença periodontal induzida em ratos através da aplicação de laser Er,Cr:YSGG. Análise histológica (Dissertação de Mestrado). Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do laser Er,Cr:YSGG no tratamento de doença periodontal induzida em ratos por meio das avaliações histológica e histométrica. Foram utilizados 60 ratos Holtzman (*Rattus Norvegicus*) submetidos a indução de doença periodontal através da inserção de ligadura na região subgingival do primeiro molar superior durante um período de 7 dias. Para o tratamento, as ligaduras foram removidas e os animais aleatoriamente divididos em 4 grupos. Grupo I - nenhum tratamento foi realizado, GRUPO II - raspagem e alisamento radicular, GRUPO III - aplicação do laser e GRUPO IV - raspagem e alisamento radicular associada à aplicação do laser. Após os períodos correspondentes a 7, 15 e 30 dias pós tratamento, os animais foram sacrificados e suas maxilas foram removidas para posterior processamento laboratorial. No período de 7 dias, os animais dos grupos III e IV apresentaram maior área de formação óssea em relação aos demais grupos ( $p < 0.05$ ). Aos 15 dias, a maior média de formação do tecido ósseo foi observada no grupo II quando comparado com os grupos I, III e IV. No período final (30 dias), o grupo IV demonstrou os melhores resultados quanto a área de tecido ósseo presente, em relação aos grupos I, II e III ( $p < 0.05$ ). Conclui-se que a raspagem associada ao laser de Er,Cr:YSGG foi capaz de promover a reparação dos tecidos periodontais a longo prazo.

Palavras-chave: Lasers, ligadura, periodontite.

Pavone, C. Treatment of induced periodontal disease through the application of laser Er,Cr:YSGG. Histological analysis (Dissertação de Mestrado). Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010

#### ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the influence of an Er,Cr:YSGG laser therapy in the treatment of induced periodontal disease in rats through histological analyses. Ligatures were placed on the first mandibular molar in a sub marginal position in 60 rats Holtzman (*Rattus Norvegicus*) during 7 days. After, ligatures were removed and the animals were divided randomly into 4 groups to followed treatments: Group I: None treatment, Group II: scaling and root planning, Group III: application of Er,Cr:YSGG laser and Group IV: laser in association with scaling and root planning. After 7, 15 and 30 days the animals were sacrificed for laboratorial procedures and subsequent histological analyses. After 7 days, the animals in groups III and IV showed a larger area of bone formation than the other groups ( $p < 0.05$ ). At 15 days, less bone loss occurred in group II compared with groups I, III and IV. In the final period (30 days), group IV showed the best results on the area of bone tissue present, than groups I, II and III ( $p < 0.05$ ). It was concluded that the scaling associated with the laser of Er, Cr: YSGG was capable to promote the repair of periodontal tissues in long time.

Keywords: Lasers, ligature, periodontitis

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças periodontais acometem os tecidos de suporte (cimento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar) e proteção (tecidos gengivais) do dente. Elas podem ser definidas como reações inflamatórias e imunológicas que o indivíduo desenvolve contra a agressão produzida pela presença de biofilme bacteriano. A doença periodontal tem como características clínicas: inflamação gengival, sangramento marginal e a sondagem, formação de bolsas, reabsorção de tecido ósseo, mobilidade e em alguns casos perda dos dentes (Lindhe et al.<sup>59</sup>, 2005).

A sua progressão e o seu desenvolvimento estão relacionados com a ocorrência simultânea de diversos fatores, incluindo suscetibilidade local e sistêmica do hospedeiro, meio ambiente adequado para sobrevivência dos micro-organismos colonizadores e presença de bactérias potencialmente patogênicas (Socransky et al.<sup>79</sup>, 1992). Algumas espécies anaeróbias Gram-negativas têm sido frequentemente relacionadas com a etiologia das doenças periodontais entre elas: *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Prevotella intermídia* (*Pi*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Tanarella forsythia* (*Tf*) e *Treponema denticola* (*Td*) (Mombelli et al.<sup>66</sup>, 2000).

Durante a resposta imunológica produzida pelo organismo frente a infecção bacteriana, diversos fatores são liberados com o intuito de eliminar o patógeno presente, entre eles estão as citocinas, proteínas

solúveis produzidas por diversas células, capazes de controlar e regular o processo inflamatório. Após serem liberadas, podem atuar nos fibroblastos, leucócitos, células endoteliais e em outros mediadores pró-inflamatórios, produzindo efeitos como quimiotaxia, ativação, diferenciação e proliferação celular além de ações nos fatores de remodelação do tecido ósseo. Como exemplo dessas citocinas, podemos citar: interleucina 1 beta (IL-1  $\beta$ ), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) (Jorge<sup>53</sup>, 2006; Lindhe et al.<sup>58</sup>, 1982).

O tratamento periodontal consiste principalmente na remoção do biofilme bacteriano e de seus produtos tóxicos (American Academy of Periodontology 2001). Para essa finalidade, a raspagem e o alisamento radicular é o procedimento mais utilizado pelos profissionais com relativa facilidade e alta previsibilidade de sucesso (Eberhard et al.<sup>28</sup>, 2003). No entanto, em áreas com envolvimento de furca, presença de bolsas profundas, concavidades e modificações anatômicas dos dentes, o acesso e a visualização são comprometidos, dificultando a completa remoção dos depósitos bacterianos (Ishikawa et al.<sup>50</sup>, 2000). Embora o uso local e sistêmico de antibióticos seja ocasionalmente aplicado com o intuito de desinfecção, utilizar frequentemente essas substâncias pode ocasionar efeitos colaterais e resistência microbiana, além da difícil difusão de tais produtos através do biofilme bacteriano estabelecido (De Oliveira et al.<sup>26</sup>, 2005).

Com o objetivo de contornar essas dificuldades e complementar os diversos tratamentos utilizados, pesquisadores propuseram o uso do laser como terapia coadjuvante ao tratamento básico periodontal (Eberhard et al.<sup>28</sup>, 2003; Glenn<sup>42</sup>, 2004; Hakki et al.<sup>47</sup>, 2009). Nesses aparelhos pode ser acoplado um sistema constituído de delgadas fibras capazes de levar a energia do laser para sítios periodontais profundos e regiões que não podem ser alcançadas com o uso de instrumentos manuais convencionais, possibilitando a remoção do biofilme bacteriano radicular sem formar smear layer, além de promover um efeito bactericida após sua aplicação (Ando et al.<sup>3</sup>, 1996; Arnabat et al.<sup>8</sup>, 2009; Frentzen et al.<sup>38</sup>, 2002; Fujii et al.<sup>39</sup>, 2008; Gómez et al.<sup>43</sup>, 2009). Com isso é possível criar condições favoráveis para a o restabelecimento da saúde dos tecidos periodontais.

Laser é uma abreviatura para a expressão inglesa *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* ( amplificação da luz por emissão estimulada de radiação) e seus princípios físicos foram inicialmente propostos por Einstein (1916 apud Brugnera 1998)<sup>16</sup>; entretanto, foi somente em 1960 que o físico americano Theodore H. Maiman desenvolveu o primeiro aparelho de laser, emitindo luz através da estimulação dos elétrons de um cristal de rubi (Brugnera<sup>16</sup>, 1998; Maiman<sup>61</sup>, 1960) . A primeira aplicação do laser de rubi na odontologia clínica foi realizada em 1965 pelo médico Leon Goldman e a partir dos seus resultados, pesquisadores passaram a estudar a utilização desses aparelhos em procedimentos odontológicos (Brugnera<sup>16</sup>, 1998). Nos anos

seguintes, surgiram os lasers a gás (CO<sub>2</sub>, HeNe), a diodo (GaAs, InGaAsP), os excímeros (ArF, XeCl) e os lasers em estado sólido (Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG) (Aoki<sup>4</sup>, 2000; Brugnera<sup>16</sup>, 1998).

A luz laser apresenta características bastante específicas: coerência (ondas sincronizadas), colimação (feixes paralelos, com mínima divergência) e monocromaticidade (único comprimento de onda) o que possibilita seu foco em um determinado ponto. Quando em contato com os tecidos biológicos, ela pode ser refletida pela superfície, ser transmitida através do tecido, sofrer difusão e penetrar mais profundamente ou ainda, ser absorvida pelos componentes teciduais, resultando em processos fotoquímicos, fototérmicos, fotomecânicos ou fotoelétricos (Aoki<sup>4</sup>, 2000; Brugnera<sup>16</sup>, 1998).

Como parte dos efeitos fotoquímicos estão a bioestimulação, a terapia fotodinâmica e a fluorescência. A bioestimulação é o efeito que a luz causa sobre os processos moleculares e bioquímicos que ocorrem nos tecidos, influenciando na cicatrização e no reparo das feridas. A terapia fotodinâmica consiste na aplicação de um laser de baixa intensidade sobre uma região patológica previamente sensibilizada por meio de substâncias específicas (fotossensibilizadores), capazes de se ligarem as células de interesse, induzindo reações tissulares e favorecendo os processos de reparo tecidual. A fluorescência dos tecidos é utilizada como método diagnóstico para detecção dos tecidos que refletem luz ( Brugnera<sup>16</sup>, 1998).

Nos processos fototérmicos, a energia absorvida pelos tecidos é convertida em calor e pode resultar em coagulação, corte, fotopirólise (queima dos tecidos) ou fotoablação (remoção dos tecidos pelo superaquecimento e vaporização dos fluidos). Dentro dos fotomecânicos estão a fotodisrupção e fotodissociação, quebra das estruturas dos tecidos pela luz. A fotoplasmólise está incluída nos efeitos fotoelétricos e consiste na remoção dos tecidos por meio de partículas carregadas eletricamente. É importante ressaltar que o tipo de efeito produzido pelo laser depende do coeficiente de absorção da luz pelos tecidos e das diferentes propriedades do laser utilizado (comprimento de onda, potência, forma de emissão, frequência de pulsos/segundo, distância focal, sistema de refrigeração e tempo de exposição) (Aoki<sup>4</sup>, 2000; Brugnera<sup>16</sup>, 1998).

Atualmente, os diversos aparelhos de laser desenvolvidos podem ser divididos em dois grandes grupos: os lasers de baixa intensidade ou LILT (Low-Intensity Laser Treatment) e os de alta intensidade ou HILT (High-Intensity Laser Treatment).

Na Periodontia, estuda-se o uso de lasers de baixa intensidade para efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e de biomodulação, favorecendo a cicatrização e o reparo de feridas, além de produzirem redução no número de bactérias por meio da fotossensibilização (Glenn<sup>42</sup>, 2004; Shibli<sup>77</sup>, 2003). Já os de alta intensidade são utilizados para manuseio de tecidos moles, cortes precisos, osteotomias, plastias e remoção de biofilme bacteriano das superfícies radiculares, promovendo hemostasia,

diminuição no tempo de reparo tecidual e maior conforto para o paciente. (Eversole et al.<sup>30</sup>, 1995; Folwaczny et al.<sup>33</sup>, 2000; Kelbauskiene et al.<sup>55</sup>, 2007; Kluger<sup>57</sup>, 2004).

Dentre os lasers de alta intensidade, os do grupo Erbio (Er:YAG, Er:YSGG, Er,Cr:YSGG) têm demonstrado resultados satisfatórios e desempenho semelhantes quando utilizados nos tratamentos dos tecidos dentais moles (Soares et al.<sup>78</sup>, 2009) e duros. (Botta et al.<sup>14</sup>, 2004; Crespi et al.<sup>21</sup>, 2005; De Freitas et al.<sup>25</sup>, 2008; Sohn et al.<sup>80</sup>, 2009).

#### *Laser Er,Cr:YSGG*

O laser Erbio, impregnado por Cromo: Ítrio-Scandio-Gálio-Garnet (Er,Cr:YSGG) denominado Waterlase<sup>TM</sup> (Biolase, USA), foi desenvolvido com um sistema hidrocínético que envolve a energia do laser com um spray de partículas de água capaz de minimizar as influências térmicas sobre os tecidos circunvizinhos. Possui como meio ativador cristais heterólogos, como o *erbium*, *yttrium*, *gallium* e *garnet* e emprega um cristal de érbio-cromo: YSGG com um sistema de fibra terminando numa peça de mão com um cristal de safira. Este laser emite feixe de luz pulsátil com comprimento de onda de 2.780 nm (infravermelho), 20 Hz de frequência, energia de pulso variando entre 0 e 300 mJ e potência média ajustável entre 0.0 e 6.0 W (Aoki et al.<sup>4</sup>, 2000; Eversole et al.<sup>30</sup>, 1995)

A interação deste laser com os tecidos ocorre por meio de um processo fototérmico conhecido como ablação, no qual a energia aplicada

é seletivamente absorvida pelas moléculas de água presentes nos tecidos, aquecendo até a temperatura de vaporização. A água vaporizada se expande levando a um aumento na pressão interna dos tecidos, resultando em micro explosões que levam à ruptura e eliminação dos substratos em forma de micropartículas (Aoki et al.<sup>4</sup>, 2000; Brugnera<sup>16</sup>, 1998).

No ano de 2001, a FDA (Food and Drug Administration)<sup>35</sup> liberou o uso do laser Er,Cr:YSGG para incisões, excisões, vaporização e coagulação em tecidos moles orais. Um ano depois<sup>36</sup>, foi liberado para procedimentos nos tecidos ósseos, tais como ressecções, osteotomias e plastias. Inúmeras pesquisas têm demonstrado as diferentes aplicações desse aparelho na odontologia, seja para terapias preventivas (Apel et al.<sup>5</sup>, 2004; De Freitas et al.<sup>25</sup>, 2008), preparos cavitários (Ali Obeidi<sup>1</sup>, 2009; Botta et al.<sup>14</sup>, 2004; Hadley et al.<sup>44</sup>, 2000), procedimentos endodônticos (Kluger et al.<sup>57</sup>, 2004; Tatsunari et al.<sup>82</sup>, 2004), cirurgias periodontais (Glenn<sup>42</sup>, 2004; Soares et al.<sup>78</sup>, 2009) ou como terapia coadjuvante ao tratamento periodontal não cirúrgico (Hakki et al.<sup>47</sup>, 2009; Ting et al.<sup>84</sup>, 2007). Os resultados encontrados têm sido semelhantes àqueles obtidos com a utilização do laser Er:YAG e atualmente, ambos têm se destacado por removerem cálculo da superfície radicular eficientemente (Gómez et al.<sup>43</sup>, 2009), demonstrando rendimento comparável aos instrumentos manuais e ultrasônicos na instrumentação radicular (Crespi et al.<sup>22</sup>, 2006; Hakki et al.<sup>47</sup>, 2009; Noori et al.<sup>69</sup>, 2008).

No ano de 1995, em um estudo preliminar sobre as utilidades do laser Er,Cr:YSGG, Eversole, RizoIU<sup>30</sup> mostraram sua eficiente aplicação em cirurgias de tecido mole, preparos cavitários e na realização de cortes precisos feitos em tecido ósseo, cimento e dentina com pouca ou nenhuma hemorragia e sem causar danos inflamatórios a polpa.

Ting et al.<sup>84</sup> (2007) avaliaram os efeitos da aplicação do laser Er,Cr:YSGG nas superfícies radiculares, utilizando diferentes valores de potência (0.5- 2.0 W) com presença (IW) ou não de água (NW). Os resultados demonstraram aumento significativo da rugosidade e profundidade de ablação utilizando potências de 1.5 e 2W, sendo que na presença de água esses valores foram ainda maiores. A análise morfológica mostrou níveis de carbonização variando de acordo com a potência aplicada, apenas nas amostras irradiadas sem spray de água. Quanto a eficiência em remover o cálculo radicular, os melhores resultados foram obtidos com a potência de 2W. No entanto, os autores concluíram que a potência de 1W é a mais recomendada para remover o cálculo das superfícies radiculares com aceitável eficiência, sem produzir danos morfológicos e térmicos nos tecidos irradiados.

Outros trabalhos têm investigado a aplicação deste laser na remoção de smear layer que se forma após instrumentação das superfícies dentais, bem como as modificações produzidas no esmalte e na dentina durante e após a irradiação. Em 2006, Altundasar et al.<sup>2</sup> analisaram as mudanças histoquímicas e morfológicas provocadas pela irradiação do

laser Er,Cr:YSGG com potência de 3W, durante 10s nos canais radiculares de dentes humanos extraídos. A análise por microscopia eletrônica de varredura revelou remoção parcial ou total de smear layer, associado a pequenas regiões com danos térmicos, incluindo carbonização e derretimento parcial da dentina radicular. O conteúdo de magnésio e fósforo aumentou significativamente nos grupos tratados com o laser em relação ao grupo controle (irrigação com NaOCl), no entanto não foi observada diferença significativa quanto a quantidade de cálcio e a proporção Ca/P, indicando ausência de mudanças moleculares. Resultados semelhantes foram encontrados por Yu et al.<sup>91</sup> (2000) quanto a análise atômica do conteúdo mineral de Ca e P, os autores sugeriram que a irradiação do laser pode ser usada para diminuir a solubilidade dos tecidos dentais resultando em uma dentina mais ácido resistente. No entanto os resultados entre esses dois trabalhos foram diferentes em relação aos danos térmicos causados pela irradiação. Segundo Yu et al.<sup>91</sup> (2000), a aplicação do laser Er,Cr:YSGG em tecido duros dentais resultou na formação de crateras regulares com aproximadamente 1mm de profundidade, bordas afiadas e paredes lisas sem ocorrer mudanças na coloração que indicassem carbonização ou derretimento. Avaliações em maiores aumentos revelaram mínimas mudanças na forma de superfícies convexas possivelmente causadas pela micro ablação e micro recristalização ocorrida no esmalte e na dentina. Os autores concluíram que este laser foi eficiente no corte de tecidos duros dentais sem causar danos térmicos após irradiação.

Durante a análise da rugosidade após irradiação do laser Er,Cr:YSGG, no ano de 2009, Hakki et al.<sup>47</sup> observaram que a irradiação de superfícies dentárias com este laser, foi eficiente em remover o cálculo presente. No entanto, houve maior rugosidade nas superfícies tratadas com o laser em relação às aquelas submetidas a raspagem e alisamento radicular. Ekworapoj et al.<sup>29</sup> (2007) avaliaram a ação do laser de Er,Cr:YSGG, na dentina humana e observaram a presença de trincas e condensação no tecido dentinário quando utilizada uma potência de 3W. Yamazaki et al.<sup>90</sup> (2001) encontraram resultado semelhante quando aplicou esse mesmo laser em dentes sem irrigação, sugerindo que a presença de irrigação externa é importante para se evitar superaquecimentos durante a irradiação, além de ser um fator de grande influência no processo de ablação tecidual, corroborado por Ishizaki et al.<sup>52</sup> (2004); Meister et al.<sup>63</sup> (2006); Mir et al.<sup>65</sup> (2009).

Em 2001, Houssain et al.<sup>49</sup> compararam o laser Er,Cr:YSGG à aplicação de ácido fosfórico em gel para o condicionamento das superfícies de esmalte e dentina. Os resultados demonstraram que a dentina tratada com o laser apresentou uma superfície rugosa com recristalização e ausência da camada de smear layer. No esmalte ocorreu protrusão dos prismas sem nenhum sinal de erosão, além disso, o uso do spray de água minimizou os efeitos térmicos nos tecidos. Conclui-se que o laser Er,Cr:YSGG pode ser eficientemente utilizado como alternativa para o condicionamento de cavidades previamente preparadas.

Miller et al.<sup>64</sup> (2004) demonstraram *in vitro*, que a aplicação do laser Er,Cr:YSGG para descontaminação da superfície do implante foi eficiente, sem causar super aquecimento ou alterações nas superfícies de titânio. No entanto, em relação à capacidade do laser Er,Cr:YSGG em melhorar a biocompatibilidade das superfícies de implantes não está bem definida. Enquanto alguns autores acreditam que essa biocompatibilidade seja possível após irradiação com o laser<sup>70</sup>, outros indicam que houve falha desse tratamento em restabelecer a biocompatibilidade das superfícies de titânio contaminadas<sup>76</sup>.

O processo de reparo dos tecidos moles e duros foi avaliado por Wang et al.<sup>88</sup> (2005) após irradiação com o laser Er,Cr:YSGG na maxila de coelhos. Os resultados histológicos demonstraram que ocorreu um pequeno atraso antes do processo de reparo inicial, no entanto, após 56 dias houve completo preenchimento do defeito ósseo por osso neoformado, sendo que a remodelação na cortical óssea ainda estava acontecendo neste período. Além disso, o uso do laser promoveu cortes precisos com mínimos danos térmicos nos tecidos vizinhos e efetiva hemostasia no pós cirúrgico.

Mudanças morfológicas, atômicas e de temperatura foram avaliadas por Kimura et al.<sup>56</sup> (2001) durante a irradiação do laser Er,Cr:YSGG no osso mandibular de cães. Como resultado, houve a produção de cavidades ou fendas regulares com extremidades afiadas e paredes lisas, sem sinais visíveis de carbonização ou derretimento nas

áreas irradiadas. A avaliação atômica analítica revelou que a proporção cálcio-fósforo não foi significativamente alterada entre área irradiada e não-irradiada, sugerindo que o laser não deve afetar a estrutura óssea remanescente.

Em 2007, Kelbauskiene et al.<sup>55</sup> realizaram um estudo piloto comparando raspagem e alisamento (RAR) à aplicação do laser Er,Cr:YSGG associado (Laser-RAR) no tratamento de periodontite juvenil e moderada (atualmente classificada como Periodontite Agressiva). Foram selecionados 10 pacientes, tratados pelo método de boca dividida com o Protocolo A (apenas RAR) ou com o Protocolo B (associação laser + RAR), as avaliações foram realizadas no início e 3 meses após os tratamentos, analisando os parâmetros clínicos de sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) e o índice de placa (IP). Os resultados demonstraram que no início, não houve placa em 3,8% dos dentes tratados com Laser-RAR e em 7,7% daqueles tratados com RAR apenas. Após 3 meses, a porcentagem de faces livres de placa aumentou para 47,4% no grupo RAR e para 34,6% no grupo Laser-RAR. No início das avaliações, 88,5% dos dentes no grupo Laser-RAR e 76,9% do grupo RAR apresentaram sangramento a sondagem, no entanto, após 3 meses houve redução de 68% para o grupo Laser-RAR e 60% para o grupo RAR. Redução da profundidade de sondagem ocorreu em ambos os grupos sendo que nos pacientes tratados pelo protocolo B, essa tendência foi maior. Os autores concluíram que os dois tipos de tratamento não-cirúrgicos foram

eficientes, melhorando de maneira significativa os parâmetros clínicos avaliados, porém a associação Laser-RAR demonstrou maiores vantagens quando comparada com a RAR sozinha.

Em um relato de caso, Azzeh M.<sup>9</sup> (2008) utilizou o laser Er,Cr:YSGG como método auxiliar no tratamento de periimplantite. Os resultados demonstraram acesso satisfatório ao defeito ósseo, eficiente remoção do tecido fibroso de granulação e debridamento da superfície do implante com menor sangramento, ausência de infecção e melhor conforto ao paciente. Recentemente o laser Er,Cr:YSGG foi aplicado para realização de osteotomia na região do seio maxilar, criando uma janela de acesso para posterior elevação do soalho do seio maxilar e demonstrou cortes precisos, hemostasia, danos mínimos aos tecidos circunvizinhos e melhor pós-operatório<sup>80</sup>.

Matsumoto et al. (2002)<sup>62</sup> em um estudo clínico utilizaram o laser Er,Cr:YSGG para remoção de cáries e 50 preparos cavitários de 44 pacientes. Em 90% dos casos, as avaliações clínicas foram satisfatórias, sendo que a maioria dos procedimentos foi feita sem anestesia e nenhuma dor ou desconforto foram relatados em 68% dos tratamentos. Do presente estudo pode-se concluir que este laser foi eficiente e seguro na remoção de tecido cariado e no preparo cavitário.

Quando utilizado no tratamento endodôntico, o laser Er,Cr:YSGG, tem demonstrado eficiente redução bacteriana, remoção de resíduos

remanescentes e smear layer da superfície dentinária<sup>1,15,75</sup> sem causar carbonização, derretimento ou microtrincas, preservando a morfologia dos prismas do esmalte e túbulos dentinários, desde que a irrigação fosse constante. Yamazaki et al.<sup>90</sup> (2001) avaliaram os efeitos da irradiação deste laser em canais radiculares. Foram utilizados diferentes parâmetros (1 a 6 W) com presença ou não de spray de água. Os resultados demonstraram que na presença constante de água, houve pouca ou nenhuma carbonização, além disso, quando utilizada uma potência menor que 5W, o aumento máximo na temperatura foi menor que 8°C, não sendo suficiente para causar injúria tecidual. Além de tais aplicações, esse mesmo laser mostrou capacidade para o tratamento de lesões periapicais<sup>40</sup> e potencial para ser utilizado como alternativa ao formocresol durante pulpotomia em dentes decíduos<sup>86</sup>.

Em 2006, Türkün et al.<sup>87</sup> compararam o efeito bactericida do laser Er,Cr:YSGG a clorexidina 2% em cavidades dentinárias previamente contaminadas com *Streptococcus mutans*. A aplicação do laser foi realizada com as potências 0.75 e 1W. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística significativa entre os grupos clorexidina e laser, no entanto quando comparados ao grupo controle, todos os tratamentos resultaram em menor recobrimento da cavidade por *S.mutans*, demonstrando que o efeito bactericida do laser foi semelhante ao obtido com o uso de clorexidina.

O laser de Er,Cr:YSGG possui também indicação para ser utilizado no preparo cavitário. A morfologia do tecido dentinário após a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG apresenta-se com a forma de escamas de peixe sem a presença de smear layer<sup>44,85</sup>. Esse tipo de superfície com rugosidades e ausência de smear layer tem promovido uma maior força de adesão de materiais restauradores com o tecido dentário<sup>1,14</sup>. Harashima et al.<sup>48</sup> (2005) compararam morfologicamente os efeitos dos laser de Er:YAG e Er,Cr:YSGG no preparo de cavidades classe V. Os resultados demonstraram que os dois lasers foram capazes de ablasionar os tecidos duros dentais, produzindo aspectos similares quanto a rugosidade e irregularidade das superfícies, no entanto, nas cavidades preparadas com o laser Er,Cr:YSGG os túbulos dentinários expostos foram mais visíveis.

No ano 2000, Hadley et al.<sup>44</sup> realizaram preparos cavitários classe I, III e V com o laser Er,Cr:YSGG e com alta rotação convencional em 68 pacientes aleatoriamente selecionados. Foram avaliadas no início, 30 dias e 6 meses pós-operatório a vitalidade pulpar, recorrência de cáries, dor, desconforto e retenção das restaurações feitas com resina. Os achados clínicos mostraram que o laser foi eficiente e seguro no preparo das cavidades e na retenção das restaurações.

Estudos pré-clínicos *in vivo* avaliando os efeitos do laser de Er,Cr:YSGG no tratamento das doenças periodontais são escassos. Novas pesquisas são necessárias para que se possam esclarecer as modificações produzidas por este laser nos tecidos afetados pela doença e estabelecer

um padrão nos parâmetros de uso deste laser no campo da terapia periodontal.

## 2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar (histometricamente) a influência do laser Er,Cr:YSGG (Erbio, Cromo: Ítrio, Scandio, Gálio Garnet), associado ou não à raspagem e alisamento radicular manual no tratamento de doença periodontal induzida em ratos.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (CEEA), sob o número de protocolo 12/2008 (Anexo 1).

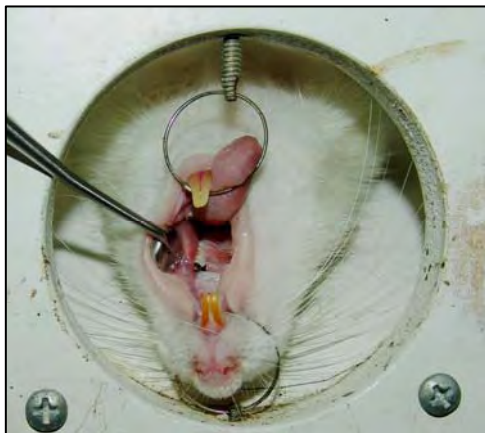
#### 5.1 ANIMAIS

Neste estudo foram utilizados 60 ratos (*Rattus Norvegicus*), variação *albinus*, *Holtzman*, adultos, pesando em média 300g, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP onde foram alimentados com ração sólida e com acesso a água *ad libitum*, antes e durante todo o período experimental, em ambiente com luz e temperatura controladas.

#### 5.2 INDUÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL

Os animais foram pesados e anestesiados com uma combinação de Quetamina (Cloridrato de Quetamina – Francotar – Virbac do Brasil Ind.Com. Ltda.) com Xilazina (Cloridrato de Xilazina -Virbaxyl 2% - Virbac do Brasil Ind. E Com. Ltda.), na proporção de 0,08 mL/100g de massa corporal e 0,04 mL/100g de massa corporal, respectivamente. Posteriormente os animais foram colocados em posição supina na mesa operatória e para ter livre acesso aos dentes posteriores da maxila, cada animal teve a boca retraída por um retrator, afastando queixo e língua para facilitar a abertura bucal (Figura 1). Para indução da doença periodontal, foram inseridos fios de algodão número 24 (Corrente) na região

subgingival ao redor dos primeiros molares superiores (Figura 2). O lado contralateral, sem ligadura, foi utilizado como controle negativo da doença periodontal. Após um período de 7 dias de indução, as ligaduras foram removidas (Figura 3) e nesse momento os tratamentos foram realizados.



**FIGURA 1** - Animal posicionado com a boca retraída, afastando queixo e língua.



**FIGURA 2** – Detalhe para o primeiro molar superior com a ligadura inserida.



**FIGURA 3** – Ligadura removida após 7 dias, mostrando o acúmulo de biofilme.

### 3.3 EQUIPAMENTO DE LASER

Neste estudo foi utilizado o laser de alta potência Er,Cr:YSGG (erbio, cromo: ítrio, escândio, gálio, garnet - Waterlase YSGG, BIOLASE Technology, San Clemente, California, USA) com comprimento de onda de 2.780 nm, potência ajustável entre 0.0 e 6W , frequência de 20 Hz (140-150µs) e energia de pulso variando entre 0 e 300 mJ (Figura 4).



**FIGURA 4** – Aparelho de laser Er,Cr:YSGG utilizado durante os tratamentos.

### 3.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para a realização dos tratamentos, os animais foram selecionados aleatoriamente por sorteio e divididos em 4 grupos (15 animais por grupo), a saber:

**GRUPO I (Controle positivo)** - Nenhum tratamento foi realizado

**GRUPO II (Grupo Raspagem)** – Raspagem e alisamento radicular sub e supragengival (figura 5). A instrumentação mecânica foi realizada por um profissional experiente, utilizando curetas modelo mini – Gracey 11-12 e 13-14, (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). A raspagem foi realizada nas superfícies vestibulares e linguais (Figura 5).

**GRUPO III (Grupo Laser)** – Aplicação do laser de Er,Cr:YSGG nos seguintes parâmetros: potência de 1W, irrigação com 10% de ar e 15% de água, ponta G6 com 600µm de diâmetro; tamanho de 4mm e fator de transmissão de 100%. A irradiação foi aplicada com angulação externa em torno de 15 graus com a superfície radicular durante 15 segundos na região vestibular e 15 segundos na região lingual (Figura 6).

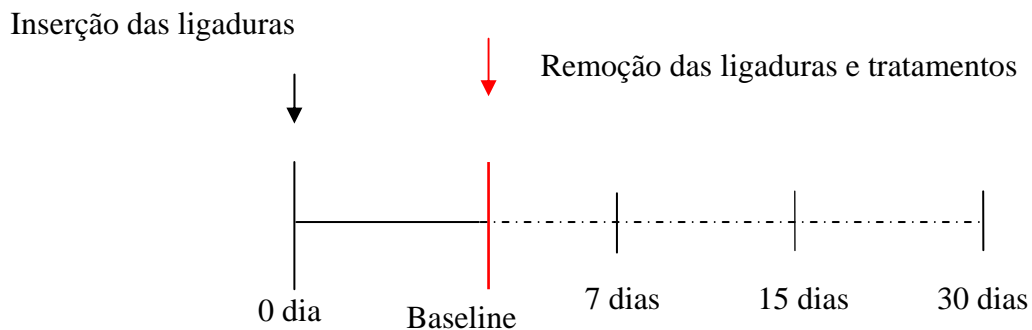
**GRUPO IV (Grupo Raspagem + Laser)** – Os animais foram submetidos a raspagem e alisamento radicular (igual ao grupo II) e, posteriormente, irradiação com o laser (como realizado no grupo III).

Após os tratamentos os animais foram randomicamente distribuídos em 3 períodos: 7, 15 e 30 dias com 5 animais por período/grupo. (Tabela 1 e cronograma 1)

TABELA 1 – Divisão dos animais de acordo com os grupos e os períodos experimentais

Período(Dias) \ Grupos	7	15	30	Total
<b>G I</b>	5	5	5	15
<b>GII</b>	5	5	5	15
<b>GIII</b>	5	5	5	15
<b>GIV</b>	5	5	5	15
<b>Total</b>	20	20	20	60

CRONOGRAMA 1 - Etapas de execução dos experimentos





**FIGURA 5** – Raspagem e alisamento radicular com o auxílio de mini-Gracey.



**FIGURA 6** – Aplicação do laser na face vestibular.

### 3.5 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E PROCESSAMENTO LABORATORIAL

Após os períodos de 7, 15 e 30 dias de tratamento, os animais foram sacrificados com sobredose dos anestésicos utilizados (Quetamina e Xilazina). Inicialmente, através do uso de tesoura para tecido, a mucosa jugal foi afastada por meio de duas incisões bilaterais. Posteriormente, utilizando cabo de bisturi e lâmina n 15, foram realizadas três incisões: uma na rafe palatina e outras duas nas extremidades posterior e anterior desta primeira, desta forma, as hemimaxilas ficaram livres e prontas para serem removidas.

Em seguida, as amostras foram identificadas e fixadas em formaldeído tamponado 4% durante 48 horas para manutenção das estruturas. Após esse período as peças foram lavadas em água corrente por 12 horas para remoção do formol e colocadas em solução de EDTA 10% para início do processo de descalcificação por um período de 8 semanas sendo realizados três trocas semanais. Na sequência foram lavadas e desidratadas em álcool, diafinizadas em xilol e incluídas em parafina.

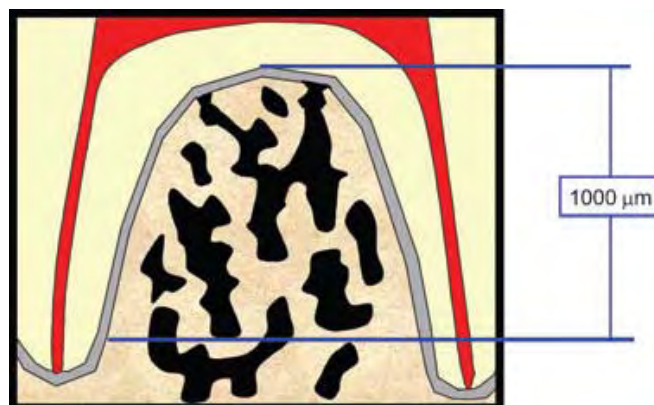
A inclusão das peças foi realizada de maneira padronizada, com o auxílio de uma inclusora Histo Embedder (Leica Reichert & Jung Products). Em seguida foram feitos cortes com espessura de 4  $\mu\text{m}$  no sentido mésio-distal ao longo eixo do dente, utilizando o micrótomo Americal Optical 820 Rotary. Foram obtidos aproximadamente 30 cortes seriados de cada bloco, divididos em lâminas com 3 cortes cada, numerados de 01 a 10, que foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina.

### 3.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA

A avaliação histológica foi realizada, utilizando-se um microscópio óptico DIASTAR (Leica Reichert & Jung products, Germany), com objetivas de aumentos de 4.0-100 vezes e oculares com aumento de 10 vezes, em que foram avaliadas as reações inflamatórias do tecido conjuntivo, ligamento periodontal, processos de reabsorção óssea e presença de células inflamatórias. As imagens obtidas foram enviadas para um microcomputador, por meio de uma câmera fotográfica digital Leica Microsystems DFC-300-FX (Leica Microsystems, Alemanha), acoplada ao microscópio óptico.

### 3.7 HISTOMETRIA

Para realização da histometria, um examinador cego e calibrado selecionou 3 lâminas de cada grupo, correspondentes ao início, meio e final de cada amostra. A área da região de furca foi delimitada de acordo com a metodologia de Nociti Jr et al, 2002<sup>68</sup> (Figura 7) e três medidas foram realizadas, com intervalo de sete dias entre cada uma. As mensurações foram feitas utilizando o analisador de imagens Image J Launcher versão 1.37b (National Institutes of Health, USA), avaliando: a área total da região inter-radicular e a área com tecido ósseo presente, todas as medidas foram obtidas em milímetros<sup>2</sup> e posteriormente convertidas em porcentagem.



**FIGURA 7** – Delimitação da região de furca. Fonte: Cesar Neto et al.(2006)<sup>19</sup>

## 4.RESULTADOS

### 4.1 Análise histológica descritiva

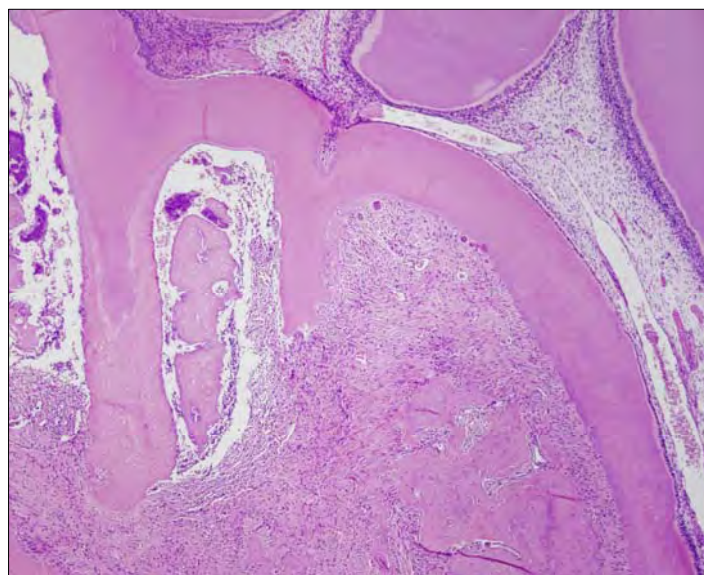
Nos períodos experimentais avaliados, os grupos I e II, apresentaram características e alterações histopatológicas semelhantes, correspondentes as descrições realizadas abaixo:

7 DIAS - Parte da região de furca e da região interproximal apresentaram intenso infiltrado inflamatório predominantemente formado por leucócitos mononucleares. Na porção superior da lesão era possível observar pequena quantidade de tecido necrótico seguido por escasso infiltrado de leucócitos polimorfonucleares. Na porção mais apical da lesão observou-se aumento de delicados capilares neoformados, de paredes finas numa matriz extracelular frouxa. A porção superior do tecido ósseo alveolar apresentou características de reabsorção, adelgaçamento das trabéculas e lacunas de Howship. Como consequência houve fragmentos ósseos isolados envoltos por neutrófilos. Entre os cortes analisados observou-se variabilidade na intensidade e característica do processo inflamatório.

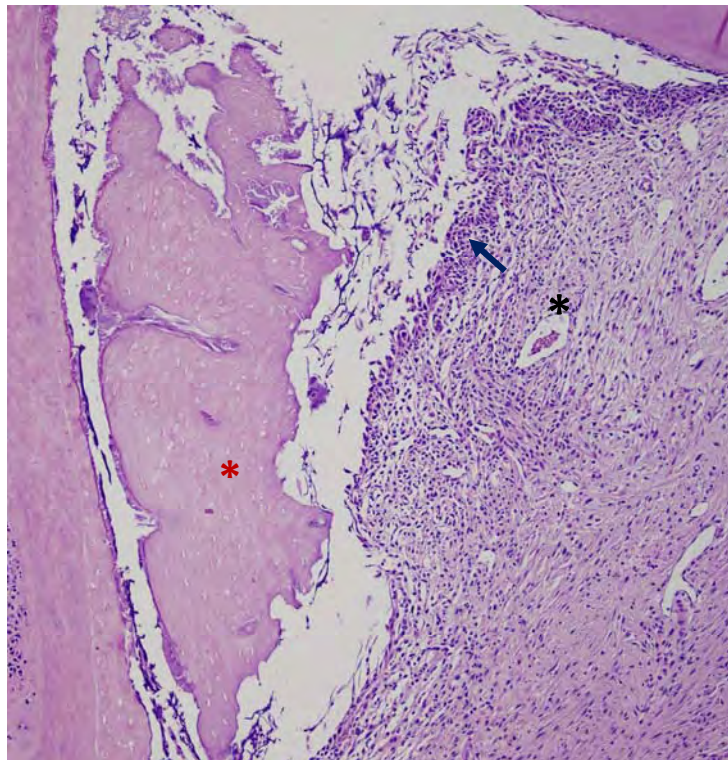
O quadro acima relatado pode ser observado nas figuras 8, 9 e 10 e caracteriza as fases aguda e crônica da resposta inflamatória desenvolvida durante a periodontite.



**FIGURA 8-** Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar superior, 7 dias após remoção da ligadura em animal do grupo controle, mostrando na região de furca presença de fragmento ósseo circundado (seta) por intenso infiltrado inflamatório (**I**), desorganização do tecido conjuntivo e reabsorção do osso alveolar (**O**)(Aumento 19x ,H&E).

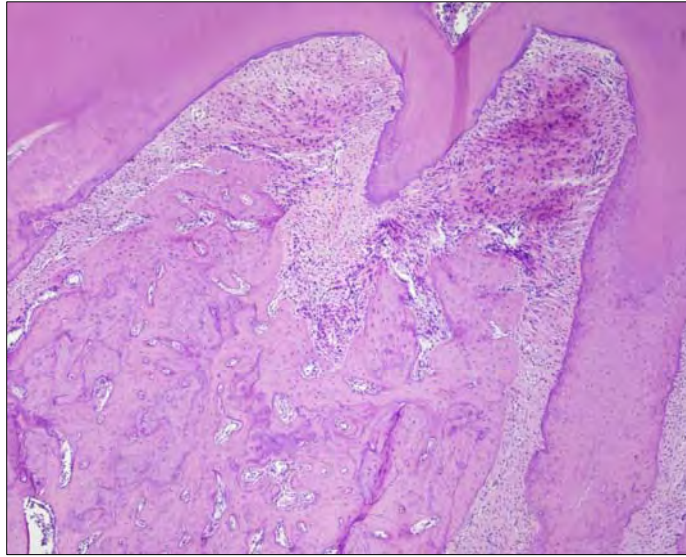


**FIGURA 9** – Fotomicrografia de primeiro molar superior, 7 dias após raspagem e alisamento radicular da região de furca, mostrando desenvolvimento de processo inflamatório semelhante ao grupo controle no mesmo período. (Aumento 21x, H&E)

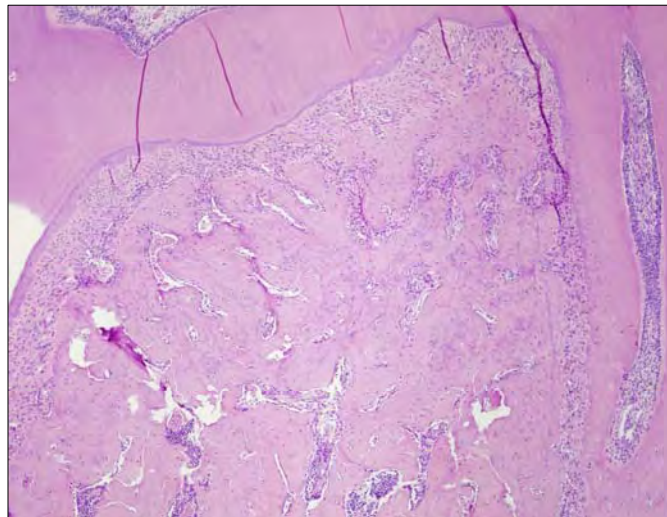


**FIGURA 10** – Aumento original de 10x da região de furca da figura 08, mostrando em maiores detalhes a presença de intenso infiltrado inflamatório composto por leucócitos polimorfonucleares (seta) em torno do fragmento ósseo em reabsorção(\*) e de vasos sanguíneos (\*) ( Aumento 157x, H&E).

15 DIAS - Na região de furca (Figuras. 11 e 12), houve substituição do infiltrado inflamatório por tecido fibroso composto por densos feixes de fibras de colágeno entremeados por fibroblastos fusiformes que acompanhavam a orientação das fibras ou estrelados envoltos por fibras em desorganização. Houve persistência de capilares neoformados. Foi possível observar também regeneração do tecido ósseo, caracterizado por apresentar linhas de reversão, as quais delimitavam nas áreas internas do tecido ósseo áreas de neomineralização. As matrizes em mineralização eram circundadas externamente por células redondas ou colunares, globosas caracteristicamente chamadas de osteoblastos ativos. Na região interproximal foi observado presença de fragmentos ósseos em reabsorção, circundados por processo inflamatório. Além disso, observou-se regeneração epitelial recobrando o tecido gengival em reparação. Houve ainda persistência de uma delgada faixa de infiltrado inflamatório composto por células mononucleares. Na região subjacente, foram relatados feixes de fibras colágenas dispostas horizontalmente, acompanhadas por fibroblastos, capilares neoformados e tecido ósseo regenerado.

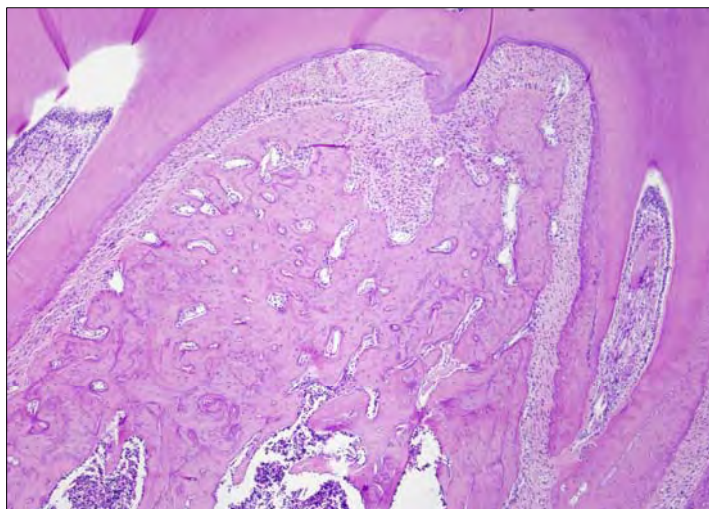


**FIGURA 11** – Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar superior, 15 dias após remoção da ligadura no grupo controle, mostrando presença de tecido conjuntivo fibroso e regeneração do tecido ósseo. (Aumento 21x, H&E)

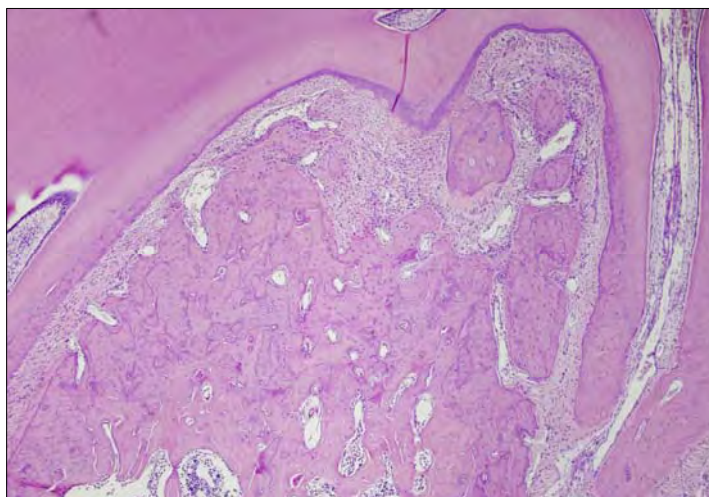


**FIGURA 12** - Fotomicrografia de primeiro molar superior, 15 dias após raspagem e alisamento radicular da região de furca, mostrando características histopatológicas semelhantes ao grupo controle no mesmo período. (Aumento 19x, H&E)

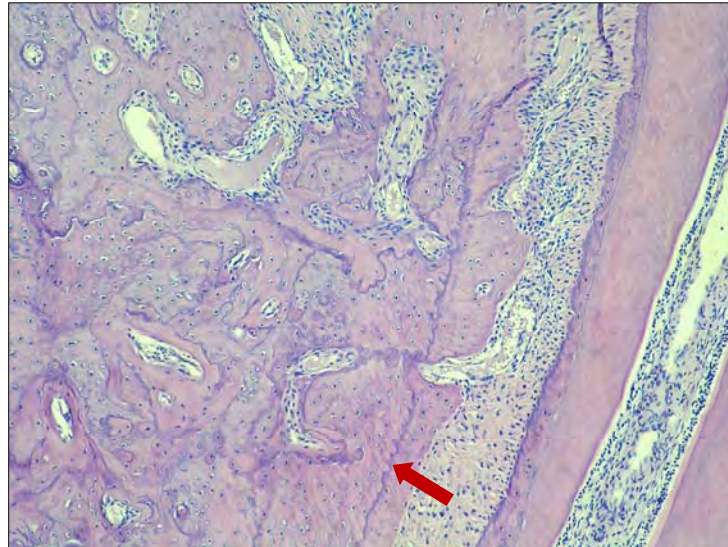
30 DIAS - Na região interproximal, observou-se a persistência de escasso infiltrado inflamatório no tecido subjacente ao epitélio regenerado. Em seguida e logo abaixo desta região, houve presença de tecido conjuntivo, composto por fibras colágenas mais calibrosas e densas dispostas horizontalmente entremeadas por fibroblastos fusiformes os quais acompanhavam o sentido das fibras. Junto a bifurcação da raiz (Figurass. 13 e 14), em substituição ao processo inflamatório, foi observado organização de tecido conjuntivo que se caracterizava por apresentar densos feixes de fibras de colágeno e presença de tecido ósseo neoformado com áreas de calcificação.



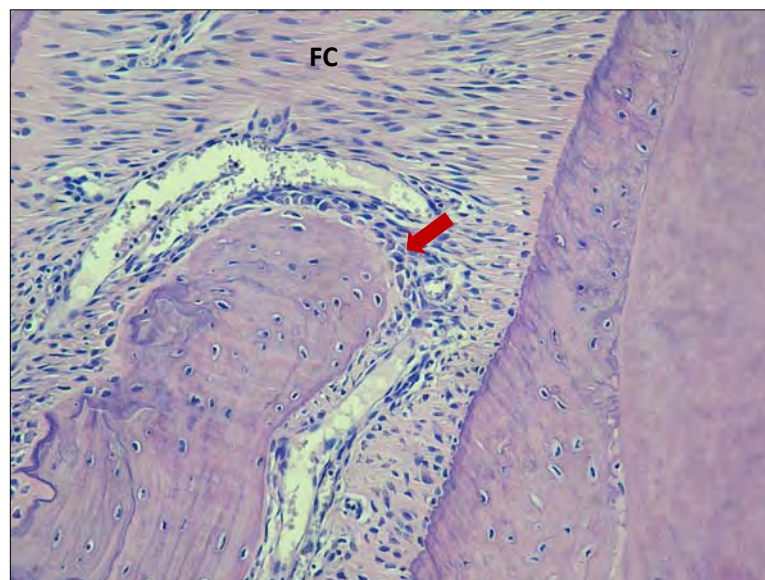
**FIGURA 13** – Fotomicrografia da região de furca 30 dias após a remoção de ligadura em animais do grupo controle, ilustrando preenchimento da região por tecido ósseo neoformado e tecido conjuntivo bem organizado. (Aumento 19x, H&E)



**FIGURA 14** – Fotomicrografia da região de furca de primeiro molar superior 30 dias após raspagem e alisamento radicular, ilustrando características histopatológicas semelhantes ao grupo controle neste mesmo período (Aumento 19x, H&E)



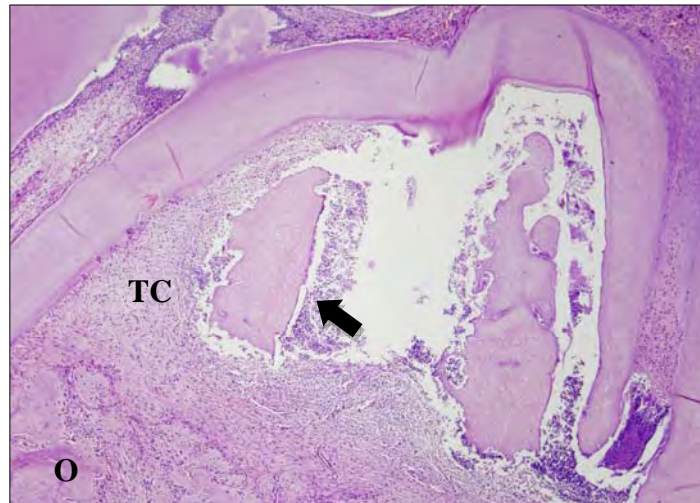
**FIGURA 15** – Fotomicrografia ilustrando neoformação do tecido ósseo com presença de linhas de reversão (seta) em animal do grupo controle, 30 dias (Aumento 117x, H&E).



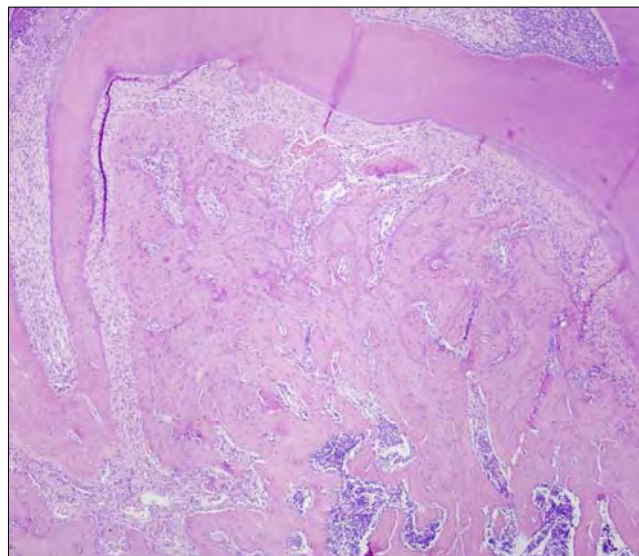
**FIGURA 16** – Região interproximal em maior aumento do grupo controle 30 dias, ilustrando organização das fibras colágenas (FC) formação de tecido ósseo, com presença de células globosas (seta). (Aumento 246x, H&E)

### GRUPO III

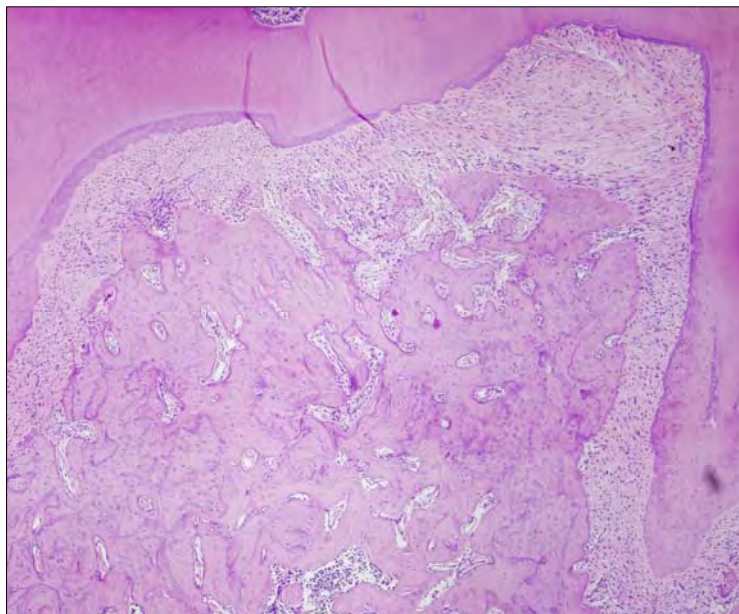
Respeitando os períodos experimentais estabelecidos (Figuras 17, 18 e 19) verificou-se que após irradiação com o laser, os tecidos periodontais pós indução de doença periodontal experimental apresentavam características microscópicas semelhantes à descrita para o grupo controle. Tanto as características qualitativas do processo inflamatório quanto às características do processo de reparação mantiveram-se as mesmas. É importante salientar que entre os animais do mesmo grupo havia variabilidade quanto à intensidade do processo inflamatório. Ainda neste grupo, ocorreram pontos de reabsorção do cemento e dentina, caracterizada como escavações de variável tamanho e contínuas (Figura. 20). Entretanto tais alterações não foram suficientes para prejudicar a regeneração dos tecidos, pois foi observado inserção de feixes de fibras de colágeno.



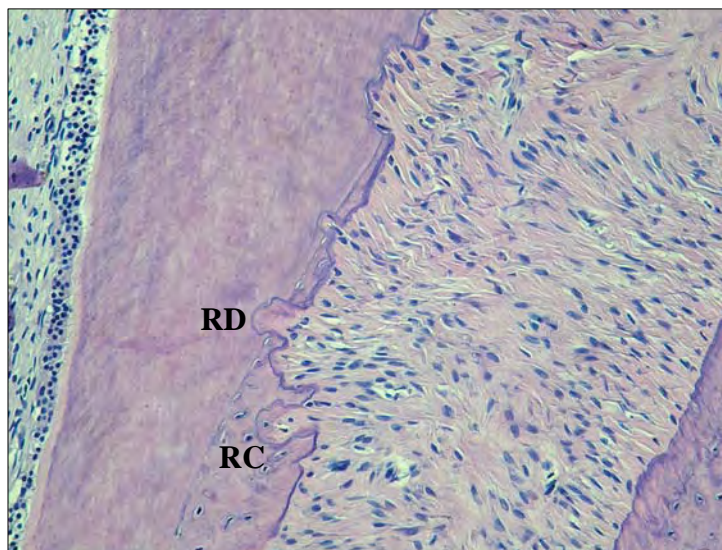
**FIGURA 17** - Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar superior, 7 dias após irradiação com o laser, mostrando na região de furca presença de fragmento ósseo (seta) circundado por infiltrado inflamatório, desorganização do tecido conjuntivo (TC) e reabsorção do osso alveolar (O). (Aumento 19x, H &E)



**FIGURA 18** - Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar superior, 15 dias após irradiação com laser, mostrando substituição do processo inflamatório por tecido conjuntivo fibroso e regeneração do tecido ósseo. (Aumento 21x, H&E)



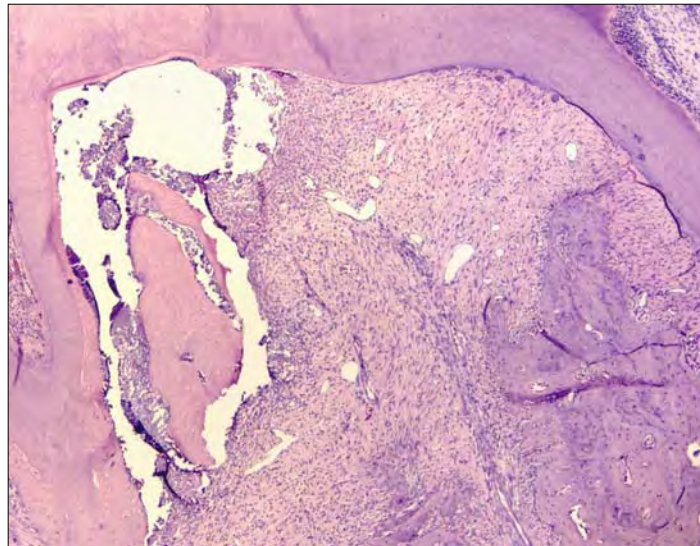
**FIGURA 19** - Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar superior, 30 dias após irradiação com o laser, mostrando organização das fibras colágenas e reparo ósseo. (Aumento 23x, H&E)



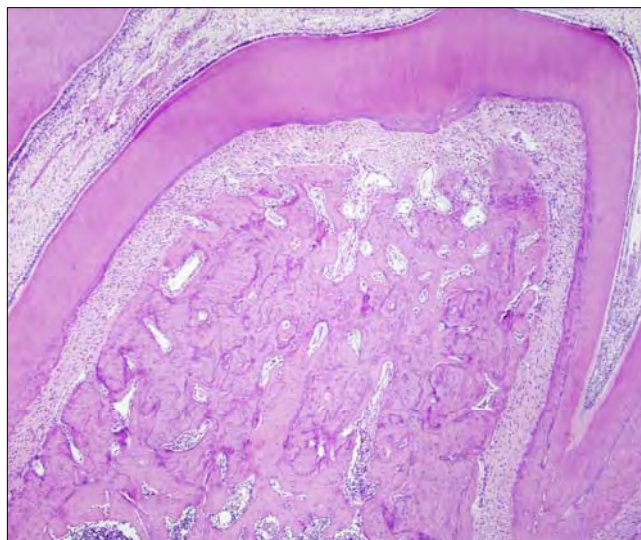
**FIGURA 20** – Fotomicrografia em maior aumento, ilustrando pontos de reabsorção do cimento (**RC**) e dentina (**RD**) no grupo irradiação laser no período de 7 dias, notar a inserção de fibras colágenas.(Aumento 221x, H&E)

#### GRUPO IV

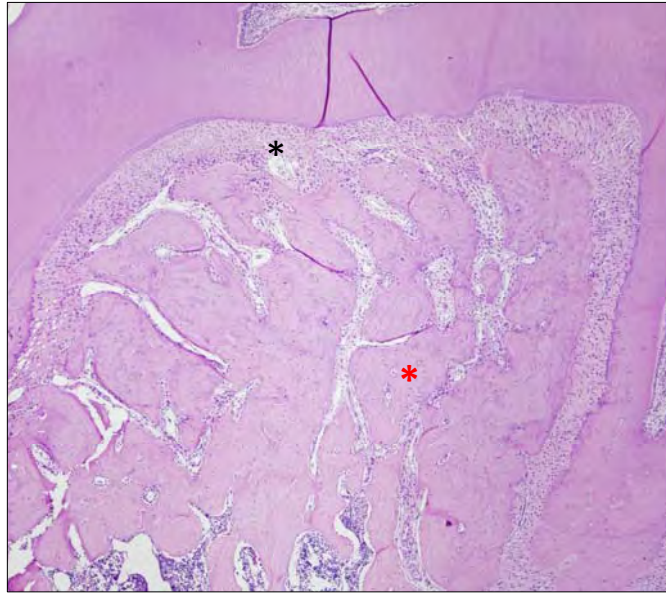
Verificou-se que quando associou-se a raspagem com a irradiação do laser, a reparação dos tecidos periodontais pós indução de doença periodontal foi sensivelmente estabelecida no período de 15 dias (Figura 22). Nesse período a maioria dos animais apresentou na área de furca de primeiro molar superior, estreita faixa de tecido conjuntivo unindo o cimento e o tecido ósseo neoformado. Nessa área não houve presença de células inflamatórias. Na área interproximal observou-se regeneração epitelial seguida por um escasso infiltrado inflamatório crônico ocupando uma pequena faixa de tecido conjuntivo neoformado. Nos períodos experimentais iniciais (7 dias) (Figura 21) e finais (30 dias) (Figura 23) as características histopatológicas dos tecidos periodontais vista nesse grupo eram semelhantes à observadas no grupo tratado com raspagem. Observou-se presença de reabsorção dentinária e cementária em vários pontos da raiz, no entanto não houve comprometimento da adesão celular e de fibras colágenas nessas regiões (Figura 24).



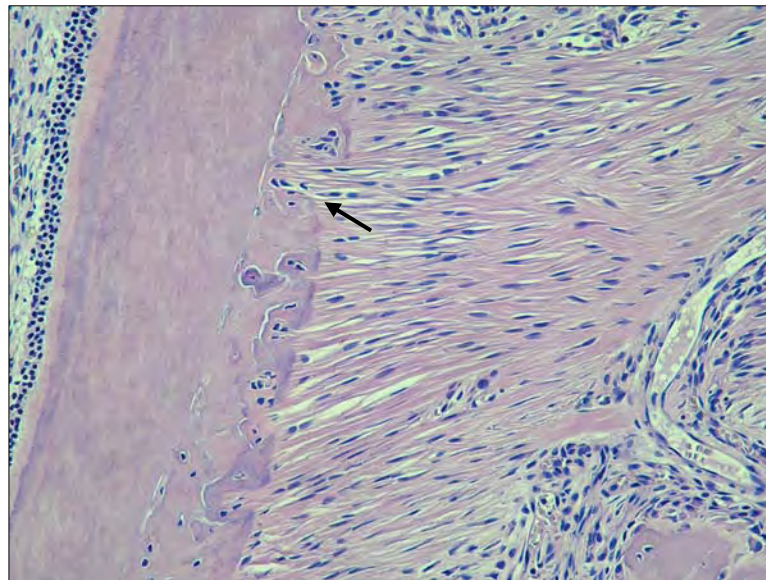
**FIGURA 21** - Fotomicrografia ilustrando as características histopatológicas dos tecidos periodontais de primeiro molar superior, 7 dias após RAR+Laser, mostrando presença de fragmento ósseo circundado por intenso infiltrado inflamatório, desorganização do tecido conjuntivo e reabsorção do osso alveolar. (Aumento 18x, H &E)



**FIGURA 22** – Fotomicrografia dos tecidos periodontais da região de furca do grupo RAR+Laser no período de 15 dias. Ilustrando regeneração dos tecidos conjuntivo e ósseo. (Aumento 20x ,H&E)



**FIGURA 23** - Fotomicrografia da região de furca do grupo RAR+Laser no período de 30 dias. Mostrando tecido conjuntivo fibroso (\*) e regeneração do tecido ósseo alveolar (\*). (Aumento 22x, H&E)



**FIGURA 24** – Fotomicrografia em maior aumento, ilustrando reabsorção cementária (seta) no grupo submetido a RAR+Laser no período de 30 dias. Observar inserção das fibras de colágeno. (Aumento 246x, H&E)

## 4.2 RESULTADOS HISTOMÉTRICOS

Os dados experimentais foram avaliados em relação ao teorema do ponto central, para verificar se a distribuição dos mesmos respeitava a distribuição normal. Para tal, foi utilizado o teste de Shapiro–Wilk com intervalo de confiança de 95%. Como todos os dados apresentaram distribuição normal, aplicou-se o teste paramétrico ANOVA (One Way), para analisar a existência de diferenças estatísticas entre os grupos. A complementação da análise foi realizada com o teste de Bonferroni que detectou entre quais grupos ocorreram as diferenças. Os testes foram aplicados com 95% de intervalo de confiança.

A tabela 2 e o gráfico 1 representam as médias (porcentagem) e o desvio padrão da área de tecido ósseo presente nos diferentes grupos e períodos experimentais avaliados.

### 4.2.1 ANÁLISE ENTRE OS GRUPOS

#### **7 dias pós-tratamentos**

A porcentagem de tecido ósseo presente foi estatisticamente maior nos animais dos grupos RAR, Laser, RAR+Laser quando comparados aos animais do grupo Controle. Os grupos Laser e RAR+Laser tiveram maiores médias de área óssea em relação ao grupo RAR ( $p < 0.05$ ), no entanto não apresentaram diferenças significantes entre si.

### **15 dias pós-tratamentos**

Todos os grupos tratados apresentaram média de área óssea significativamente maior em relação ao grupo controle ( $p < 0.05$ ). O grupo 2 apresentou diferenças estatísticas em relação aos grupos 3 e 4, apresentando a maior média de formação óssea (60.81%). Os animais do grupo 3 (34.35%) demonstraram menor formação óssea do que os animais do grupo 4 (51.91%).

### **30 dias pós-tratamentos**

Houve maior formação de tecido ósseo em todos os grupos teste quando comparados ao grupo controle ( $p < 0.05$ ). Os grupos 2 e 3 demonstraram valores da média próximos, sem diferença estatística entre si. No entanto, ambos apresentaram médias de formação óssea significativamente menores em relação ao grupo 4 ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2.2 ANÁLISE INTRA GRUPOS

Em todos os grupos houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre os períodos de 7, 15 e 30 dias, sendo que os melhores resultados em relação a porcentagem de tecido ósseo presente na região de furca foram obtidos nos períodos experimentais mais longos, exceto no grupo 2, onde o maior valor foi observado aos 15 dias.

TABELA 2 – Área de tecido ósseo presente na região de furca de primeiros molares superiores referente aos diferentes grupos e períodos experimentais avaliados. Dados expressos em média (porcentagem)  $\pm$  desvio padrão

<b>GRUPOS</b>	<b>7 DIAS</b>	<b>15 DIAS</b>	<b>30 DIAS</b>
<b>G1 (Controle)</b>	<b>14.46 <math>\pm</math> 2.25<sup>A*</sup></b>	<b>27.94 <math>\pm</math> 2.83<sup>A*</sup></b>	<b>31.16 <math>\pm</math> 6.32<sup>A*</sup></b>
<b>G2 (RAR)</b>	<b>19.06 <math>\pm</math> 0.95<sup>AB*</sup></b>	<b>60.81 <math>\pm</math> 6.57<sup>AB*</sup></b>	<b>44.77 <math>\pm</math> 7.64<sup>AC*</sup></b>
<b>G3 (Laser)</b>	<b>26.36 <math>\pm</math> 3.85<sup>AB*</sup></b>	<b>34.35 <math>\pm</math> 6.35<sup>ABC*</sup></b>	<b>42.08 <math>\pm</math> 7.64<sup>AC*</sup></b>
<b>G4 (RAR+Laser)</b>	<b>26.82 <math>\pm</math> 2.37<sup>AB*</sup></b>	<b>51.91 <math>\pm</math> 5.39<sup>ABC*</sup></b>	<b>58.00 <math>\pm</math> 5.99<sup>AC*</sup></b>

Letras maiúsculas iguais = diferença estatística entre os grupos no mesmo período. A:

diferença em relação ao G1, B diferença em relação ao G2, C diferença em relação ao G4

\*Diferença entre os períodos no mesmo grupo

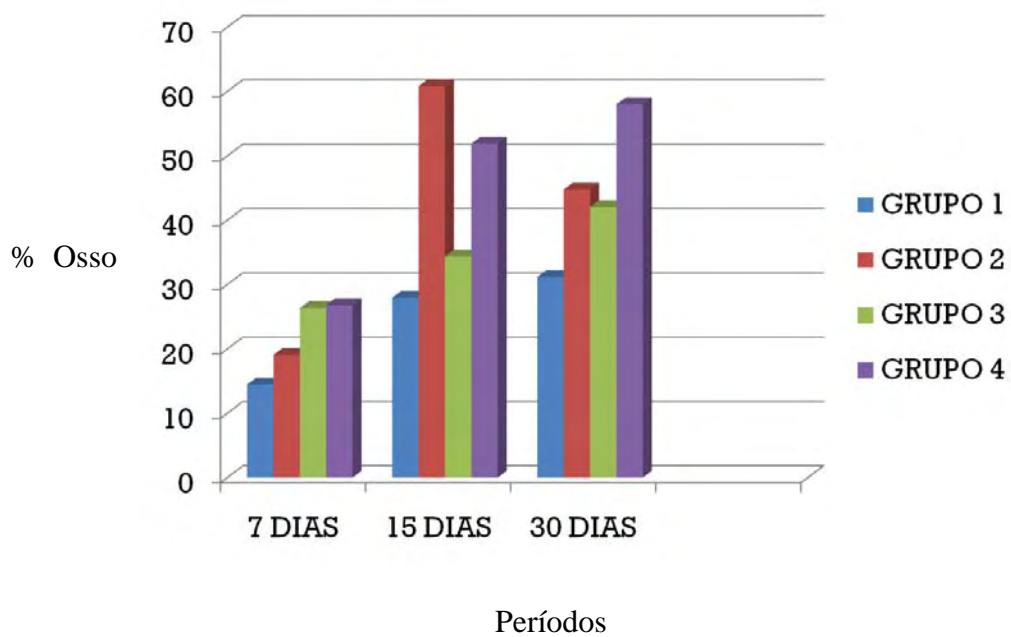


GRÁFICO 1 – Porcentagem de tecido ósseo presente na região de furca em todos os grupos e períodos avaliados. Dados expressos em média.

## 5. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da aplicação do laser Er, Cr: YSGG, associado ou não ao procedimento de raspagem e alisamento radicular (RAR), no tratamento de doença periodontal induzida em ratos.

O modelo experimental utilizado neste trabalho tem sido frequentemente aplicado nos estudos das doenças periodontais<sup>6-7,23-24</sup>. Nos ratos, em particular, a estrutura e organização do periodonto, bem como processos patológicos desenvolvidos são semelhantes aqueles observados em humanos, incluindo: ulceração, migração apical do tecido epitelial, destruição das fibras de colágeno, atividade osteoclástica e presença de infiltrado inflamatório, condições que podem ser observadas clínica e histologicamente. Além disso, comparado aos primatas, os ratos são mais baratos e de fácil manipulação.<sup>41</sup>

A escolha pela utilização do laser de Er,Cr:YSGG foi baseada nos resultados promissores de trabalhos *in vitro* que avaliaram o efeito bactericida e a capacidade deste aparelho em remover o biofilme bacteriano das superfícies de esmalte e dentina, sem causar carbonização, trincas, fissuras ou danos térmicos a polpa.<sup>30,48,84,91</sup> Além disso, espera-se que o laser Er,Cr:YSGG tenha desempenho semelhante ao laser de Er:YAG, já que ambos emitem luz com um comprimento de onda próximo ao coeficiente de absorção da água, resultando em interações fototérmicas semelhantes com os tecidos biológicos.<sup>16</sup>

Nossos resultados demonstraram que o acúmulo de placa bacteriana nas superfícies dentais, decorrente da inserção de ligadura ao redor dos primeiros

molares superiores, desencadeou intensa resposta inflamatória nos tecidos periodontais. No entanto, ao longo do experimento, não houve progressão e/ou aumento da severidade desse processo inflamatório, pois nos períodos de 15 e 30 dias, os animais do grupo controle (sem tratamento) apresentaram aumento significativo na média de formação do tecido ósseo, ilustrando o processo natural de reparo. Resultados semelhantes foram descritos por em 2009 por Aquino et al.<sup>6-7</sup> durante a avaliação de dois modelos experimentais de indução da doença periodontal. Os autores observaram que aos 30 dias, os animais do grupo controle, demonstraram significativa diminuição do processo inflamatório. Por outro lado, características histopatológicas diferentes foram descritas por Almeida et al.<sup>23</sup> (2007) em um estudo sobre a influência da terapia fotodinâmica em ratos submetidos a indução da doença periodontal. De acordo com os resultados obtidos por esses autores, o grupo controle apresentou progressiva destruição dos tecidos periodontais. Acredita-se que essas diferenças estejam relacionadas com variações no tempo de permanência da ligadura ou até mesmo com a migração apical dos tecidos epiteliais, se afastando da agressão local produzida pela placa.

O grupo submetido à raspagem e alisamento radicular demonstrou resultados favoráveis quanto à diminuição do processo inflamatório e formação de tecido ósseo. Como observado em outros trabalhos,<sup>27,69,72</sup> a RAR foi eficiente em eliminar a placa bacteriana das superfícies dentais, já que houve melhora significativa em relação ao período inicial (7 dias) e ao grupo controle. Porém, ao contrário do que foi observado nos outros grupos, a maior média de área óssea formada foi obtida aos 15 dias (60.81%) e não no período final do experimento

(44.77%). Esses resultados podem indicar recolonização bacteriana das superfícies previamente raspadas, considerando que o tratamento foi realizado uma única vez e que na cavidade oral dos animais ainda havia presença de bactérias. De acordo com Magnusson et al.<sup>60</sup> (1998) a recolonização bacteriana de sítios periodontais, submetidos a RAR, pode ocorrer em apenas 4 semanas após o tratamento caso não seja estabelecido um correto programa de manutenção. Além disso, Teughels et al.<sup>83</sup> (2007) demonstraram em um estudo com cães, que após debridamento das superfícies dentárias, ocorre rápida recolonização bacteriana das bolsas periodontais, sustentando a nossa hipótese. Nos animais tratados com irradiação laser observou-se melhora gradativa na formação de tecido ósseo ao longo dos períodos, alcançado maior média aos 30 dias (42.08%). Estes dados mostram que a potência de 1 W, utilizada neste trabalho removeu a placa bacteriana, demonstrando coerência com os resultados encontrados em um trabalho *in vitro* utilizando o laser de Er,Cr:YSGG<sup>84</sup>.

Nos grupos Laser e RAR+Laser, foram observadas reabsorções cementária e dentinária em vários pontos da raiz, formando cavidades de tamanhos variáveis, contínuas e com uma camada delgada mais escura subjacente a região irradiada. Acredita-se que isto aconteça porque a água presente no conteúdo orgânico dos tecidos duros dentais absorve a energia emitida durante a irradiação do laser, resultando em microablações do cimento e dentina. Essas mesmas características foram observadas por Frentzen<sup>38</sup> (2002) em um estudo histológico sobre os efeitos da aplicação do laser de Er: YAG em superfícies radiculares contaminadas. Os resultados mostraram que a irradiação do laser promoveu aumento na remoção de

cimento, com presença de crateras e sulcos por toda superfície irradiada. Além disso, outros estudos *in vitro*<sup>20,22</sup> demonstraram que a aplicação do laser Er: YAG resultou na formação de cavidades com paredes lisas e bordas afiladas, semelhantes aquelas observadas em nosso estudo. Entretanto, tais alterações não foram suficientes para prejudicar a regeneração dos tecidos, pois observou-se inserção de feixes de fibras colágenas nessas regiões.

A presença de uma delgada camada mais escurecida, subjacente a superfície irradiada, pode indicar mudanças térmicas nos tecidos remanescentes. Segundo Folwaczny et al.<sup>33</sup> (2000) em um estudo *in situ*, as superfícies irradiadas com o laser Er:YAG com 60 mJ, 100 mJ ou 180 mJ, apresentaram desigualdades e irregularidades estruturais com presença de dois tipos de alterações térmicas: uma fina camada escura superficial de 5 a 10 µm de espessura com aparência frágil e padrão descontínuo e uma segunda área modificada com aparência de uma mancha circular mais profunda em direção a dentina com 255 a 611 µm de profundidade, sem apresentar alterações morfológicas visíveis.

As comparações entre os diferentes tratamentos mostraram que em todos os períodos avaliados os grupos RAR, Laser e RAR+Laser tiveram médias de formação óssea significativamente maiores do que o grupo controle, demonstrando a efetividade das terapias aplicadas. Aos 7 dias pós tratamento, o grupo Laser, demonstrou maior formação de tecido ósseo em relação ao grupo RAR. Isto pode ter ocorrido, porque a irradiação do laser sobre as superfícies dentais é capaz de remover a placa bacteriana sem formar a camada de smear layer. Estudos indicam que essa camada de *debris* formada após instrumentação radicular, pode dificultar

a regeneração dos tecidos periodontais.<sup>13,32</sup> Associado a esta possibilidade, existe ainda o efeito bactericida produzido pelo laser,<sup>8,37,87</sup> criando condições favoráveis para o reparo inicial dos tecidos. No entanto, aos 15 e 30 dias o tratamento com a RAR apresentou melhores resultados do que o Laser. Isto pode indicar que apesar do efeito bactericida, variáveis como potência utilizada, tempo de exposição, distância focal, proporção água/ar e ângulo de irradiação podem ter influenciado a efetividade deste laser em remover completamente os depósitos bacterianos.

O grupo RAR+Laser, quando comparado a RAR e ao Laser, demonstrou aumento crescente e significativo na formação de tecido ósseo. No presente estudo esta associação se mostrou benéfica pela complementação das vantagens de cada terapia. No grupo II, a RAR removeu eficientemente o acúmulo de biofilme, fato confirmado pelo grande aumento de área óssea formada aos 15 dias. No entanto, essa formação foi menor aos 30 dias, indicando uma possível recolonização dos sítios tratados. Esta tendência não foi observada no grupo IV, pois a média de área óssea continuou aumentando até o período final. Acredita-se que isto tenha ocorrido devido ao efeito bactericida produzido pelo laser, capaz de atrasar e até mesmo reduzir o acúmulo de bactérias nas regiões tratadas. Além disso, a irradiação do laser proporcionou uma superfície descontaminada, através da remoção da camada de smear layer, produzida durante a RAR, favorecendo ainda mais a reinserção de fibras colágenas. Em 2005, Wang et al.<sup>88</sup> observaram que apesar do atraso inicial no reparo tecidual obtido com a aplicação do laser, em períodos mais longos, há organização das fibras colágenas, com neoformação

óssea preenchendo toda região anteriormente destruída, características também observadas em nosso estudo.

Baseado nos resultados histológicos e histométricos obtidos neste estudo em animais, a utilização do laser de Er,Cr:YSGG associado a raspagem pode ser indicado no tratamento da doença periodontal, embora trabalhos clínicos em humanos devam ser realizados.

## 6. CONCLUSÃO

Com bases nas limitações deste estudo e nos resultados histológicos e histométricos apresentados, concluiu-se que a raspagem e o alisamento radicular associada ao laser de Er,Cr:YSGG foi capaz de estimular a reparação dos tecidos periodontais.

## 7. REFERÊNCIAS\*

1. Ali Obeidi, Perng-Ru Liu, Lance C. Ramp, Preston Beck, Norbert Gutknecht. Acid-etch interval and shear bond strength of Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel and dentin. *Lasers Med Sci.* 2009, 24: 1-7.
2. Altundasar E, Özçelik B, Cebreli Z, Matsumoto Koukichi. Ultramorphological and Histochemical Changes After Er,Cr:YSGG Laser Irradiation and Two Different Irrigation Regimes. *J Endod.* 2006; 32: 465-8.
3. Ando Y, Aoki A, Watanabe H, Ishikawa I. Bactericidal effects of Erbium YAG Laser on Periodontopathic Bacteria. *Lasers Surg. Med.* 1996; 19: 190-200.
4. Aoki, A., Sasaki, M.K., Watanabe, H., Ishikawa, I. Laser na terapia periodontal não-cirúrgica. *Periodontology* 2000. p. 59-97.
5. Apel C, Birker L, Mesiter J, Gutknecht N. The caries preventive potential of subalative Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in a intraoral model: a pilot study. *Lasers Surg Med.* 2004; 22: 312–317.
6. Aquino, SG, Leite, R.F.M, Machado, D. R, Silva, J.A.F, Spolidório L.C, Rossa Jr, C. Signaling pathways associated with the expression of inflammatory mediators activated during the course of two models of experimental periodontitis. *Life Science.* 2009; 84: 745-754.

\*De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site:  
[http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requerimento.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requerimento.html)

7. Aquino, SG, Guimarães, MR, Machado, DR, Silva, JAF, Spolidório LC, Rossa Jr, C. Differential regulation of MMP-13 expression in two models of experimentally induced periodontal disease in rats. *Arch oral biol.* 2009; 54: 609-17
8. Arnabat J, Escribano C, Fenosa A, Vinuesa T, Escoda CG, Berini L et al. Bactericidal activity of erbium chromium: yttrium-scandium gallium-garnet laser in root canals. *Lasers Med Sci.* 2009; 24: 1-6.
9. Azzeh, M.M. Er,Cr:YSGG Laser-Assisted Surgical Treatment of Peri-Implantitis With 1-Year Reentry and 18-Month Follow-Up. *J Periodontol.* 2008; 79: 2000-2005.
10. Badersten A, Nilve´us R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1981; 8: 57-72.
11. Ben Hatit Y, Blum R, Severin C, Maquin M, Jabro MH. The effects of a pulsed Nd:YAG laser on subgingival bacterial flora and on cementum: An in vivo study. *J Clin Laser Med and Surg.* 1996; 14: 137-143.
12. Bergstrom, J., Eliasson, S. Cigarette smoking and the alveolar bone height in subjects with high standard of oral hygiene. *J Clin Periodontol.* 1987b; 14: 466-9.
13. Blomlof JPS, Blomlof L, Lindskog SF. Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planning followed by etching with an EDTA gel preparation. *J Periodontol.* 1996; 6: 841-5.

14. Botta, SB, Da Ana, PA, Zezell, DM, Powers, JM, Mattos, AB. Adhesion after erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium garnet laser application at three different irradiation conditions. *Lasers Med Sci.* 2004; 24: 67-73.
15. Browdy, D. The utility of the fourth generation Er,Cr:YSGG all tissue laser for modern endodontics. *End Therapy.* 2005; 5: 22-24.
16. Brugnera Jr. A, Pinheiro, A.L.B. *Lasers na Odontologia Moderna.* São Paulo: Pancast; 1998. 356 p.
17. César Neto, J.B., Souza A.P., Barbieri, D., Moreno Jr. H., Sallum E.A., Nociti Júnior FH. Matriz metalloproteinase-2 may be involved with increased bone loss associated with experimental periodontitis and smoking: A study in rats. *J.Periodontol.* 2004; 75: 995-1000.
18. César Neto JB, Benatti BB, Sallum EA, Casati MZ, Nociti Jr, FH. The influence of cigarette smoke inhalation and its cessation on the tooth-supporting alveolar bone: a histometric study in rats. *J Periodont Res.* 2006; 41: 118–23.
19. Chanthaboury R, Irinakis, T. The Use of Lasers for Periodontal Debridement: Marketing Tool or Proven Therapy? *Clin Practice.* 2005; 71: 653-8.
20. Crespi R, Romanos G, Barone A, Sculean A, Covani U. Er:YAG Laser in Defocused Mode for Scaling of Periodontally Involved Root Surfaces: An in vitro Pilot Study. *J Periodontol.* 2005; 76: 686-90.
21. Crespi R, Barone A, Covani U. Effect of Er:YAG laser on diseased root surfaces: an in vivo study. *J Periodontol.* 2005; 76: 1386– 90.

22. Crespi R, Barone A, Covani U. Er:YAG Laser Scaling of Diseased Root Surfaces: A Histologic Study. *J Periodontol.* 2006; 77: 218-22.
23. De Almeida MJ, Theodoro LH, Bosco A, Nagata M, Oshiiwa M, Garcia V. Influence of Photodynamic Therapy on the Development of Ligature-Induced Periodontitis in Rats. *J Periodontol.* 2007; 78: 566-75.
24. De Almeida M.J, Theodoro L.H, Bosco A, Nagata M, Oshiiwa M, Garcia V. In vivo Effect of Photodynamic Therapy on Periodontal Bone Loss in Dental Furcations. *J Periodontol.* 2008; 79: 1081-8.
25. De Freitas, PM, Rapozo-Hillo, M., Eduardo, CDP., Featherstone, JDB. In vitro evaluation of erbium, chromium: yttrium–scandium–gallium–garnet laser-treated enamel demineralization. *Lasers Med Sci.* 2008, 23: 1-6.
26. De Oliveira FJ, Garcia VG. Estudo histológico da ação do laser e da terapia fotodinâmica no processo de reparação de feridas cutâneas em ratos tratados com corticóide Análise histológica. Araçatuba; s.n; 2005. 153 p.
27. Derdilopoulou FV, Nonhoff J, Neumann K, Kielbassa AM. Microbiological findings after periodontal therapy using curettes, Er:YAG laser, sonic, and ultrasonic scalers. *J Clin Periodontol.* 2007; 34: 588–98.
28. Eberhard J, Ehlers H, Falk W, Açil Y, Albers HK, Jepsen S. Efficacy of subgingival calculus removal with Er:YAG laser compared to mechanical debridement: an in situ study. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 511-8.
29. Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er-Cr:YSGG on human dentine. *Lasers Med Sci.* 2007; 22: 175-82.

30. Eversole LR, Rizoiu IM. Preliminary investigations on the utility of an Erbium, Chromium YSGG laser. CDA Journal. 1995; 23: 41-7.
31. Feldman, RS, Bravacos, JS, Rose, CL. Association between smoking different tobacco products and periodontal disease indexes. J Periodontol. 1983; 54: 481-7.
32. Fogel HM, Pashley, DH. Effect of periodontal root planning on dentin permeability. J Clin Periodontol. 1993; 20: 673-7.
33. Folwaczny M, Mehl A, Haffner C, Benz C, Hickel R. Root substance removal with Er:YAG laser radiation at different parameters using a new delivery system. J Periodontol. 2000; 71: 147-55.
34. Folwaczny M, Benner K, Flaskamp B, Mehl A, Hickel R. Effects of 2.94  $\mu\text{m}$  Er:YAG Laser Radiation on Root Surfaces Treated In Situ: A Histological Study. J Periodontol. 2003; 74: 360-5.
35. Food and Drug Administration. 510(k). Summary of Safety and Effectiveness Information: Waterlase Millennium, surgical laser instrument. [citado 2001 jul. 3]. Disponível em: <http://www.fda.gov/cdrh/pdf/k011041.pdf>.
36. Food and Drug Administration. 510(k). Summary of Safety and Effectiveness Information: Waterlase Millennium, hydrokinetic tissue cutting system. [citado 2002 fev. 12]. Disponível em: <http://www.fda.gov/cdrh/pdf/k013908.pdf>.

37. Franzen R, Oliveira M.E, Meister J, Wallerang A, Vanweersch L, Lampert F, Gutknecht N. Descontamination of deep dentin by means of erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2009; 24: 75-80.
38. Frentzen M, Braun A, Aniol D. Er:YAG Laser Scaling of Diseased Root Surfaces. *J Periodontol.* 2002; 73: 524-30.
39. Fujii T, Baehni PC, Kawai O, Kawakami T, Matsuda K, Kowashi Y. Scanning electron microscopic study of the effects of Er:YAG Laser on root cementum. *J Periodontol.* 1998; 69: 1283-90.
40. G. Berk, S. Ulucam, N.Berk. Clinical healing process and symptoms of two cases of chronic periapical lesions treated with Er,Cr:YSGG. *J Oral laser Applications.* 2004; 4: 211-5.
41. Galvão MPA, Chapper A, Rösing CK, Ferreira MBC, Souza MAL. Methodological Considerations on descriptive studies of induced periodontal diseases in rats. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17: 56-62.
42. Glenn van As. Erbium lasers in dentistry. *Dent Clin North Am.* 2004; 48:1017–59.
43. Gómez C, Bisheimer M, Costela A, García-Moreno I, García MAA, García JA. Evaluation of the Effects of Er:YAG and Nd:YAG Lasers and Ultrasonic Instrumentation on Root Surfaces. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27: 43-8.

44. Hadley J, Douglas A, Lewis R, Eversole, Jeffrey A, Gornbein. Cavity Preparation System: For Caries Removal and A Laser-Powered Hydrokinetic. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131: 777-85.
45. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol.* 2001a; 28: 283-295.
46. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 377-88.
47. Hakki SS, Berk G, Dundar N, Saglam M, Berk N. Effects of root planing procedures with hand instrument or erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser irradiation on the root surfaces: a comparative scanning electron microscopy study. *Lasers Med Sci.* 2009; 24: 1-9
48. Harashima T, Kinoshita J, Kimura Y, Brugnera, Jr A, Zani F, Pecora J et al. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 52-5.
49. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Suzuki N, Murakami Y, Matsumoto K. Analysis of Surface Roughness of Enamel and Dentin after Er,Cr:YSGG Laser Irradiation. *J Clin Laser Med Surg.* 2001; 19: 297-303.
50. Ishikawa I, Pierre Baehni. Terapia periodontal não-cirúrgica. *Periodontologia 2000.* Volume 9: Santos; 2005. 205p
51. Ishikawa I, Aoki A, Takasaki A, Mizutani K, Sasaki K, Izumi Y. Application of lasers in periodontics: true innovation or mith? *Periodontology 2000.* 2009; 50: 90-126.

52. Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Kinoshita JI, Okano S et al. Thermographical and Morphological Studies of Er,Cr:YSGG Laser Irradiation on Root Canal Walls. *Photomed Laser Surg.* 2004; 22: 291-7.
53. Jorge, AOC. *Principios de Microbiología e Imunologia.* São Paulo: Santos, 2006. 417p.
54. Kang HW, Oh J, Welch AJ. Investigations on laser hard tissue ablation under various environments. *Phys Med Biol.* 2008; 53: 3381-90.
55. Kelbauskiene S, Maciulskiene V. A pilot study of Er,Cr:YSGG laser therapy used as an adjunct to scaling and root planning in patients with early and moderate periodontitis. *Stomatologija.* 2007; 9: 21-6.
56. Kimura Y, et al. Effects of Erbium, Chromium: YSGG laser irradiation on canine mandibular bone. *J Periodontol.* 2001; 72: 1178-82.
57. Kluger, W, Moritz, A, Nedjelik, N, Georgopoulos, A, Sperr, W. Effect of Different Laser Systems in the Deep Layers of Dentin. *Lasers Surg Med.* 2004; 35: 111-6.
58. Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky SS, Heijl L, Bratthall G. Healing following surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. A clinical study. *J Clin Periodontol.* 1982; 9: 115-28.
59. Lindhe,J. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral.* 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. 1015p.
60. Magnusson I, Lindhe J, Yoneyama T, Liljenberg B. Recolonization of a Subgingival Microbiota Following scaling in deep pockets. *J Clin Periodontol.* 1998; 2: 193-207.

61. Maiman, T.H. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*. 1960; 187: 493-4.
62. Matsumoto K, Hossain M, Hossain MMI, Kawano H, Kimura Y. Clinical assessment of Er,Cr:YSGG laser application for cavity preparation. *J Clin Laser Surg*. 2002; 20: 17-21.
63. Meister, J, Franzen R, Forner K, Grebe H, Stanzel S, Lampert F et al. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt*. 2006; 11: 34030.
64. Miller RJ. Treatment of the contaminated implant surface using the Er,Cr:YSGG laser. *Implant Dent*. 2004;13: 165-70
65. Mir, M, Gutknecht, N, Poprawe, R, Vanweersch, L, Lampert, F. Visualising the procedures in the influence of water on the ablation of dental hard tissue with erbium: yttrium–aluminium–garnet and erbium, chromium: yttrium–scandium–gallium-garnet laser pulses. *Lasers Med Sci*. 2009; 24: 365–74.
66. Mombelli A, Schmidt B, Rutar A, Lang NP. Persistent patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J. Periodontol*. 2000; 71: 14-21.
67. Mullaly, BH, Linden, GJ. Molar furcation involvement associated with cigarette smoking in periodontal referrals. *J Clin Periodonto* 1996; 23: 658-61.

68. Nociti Júnior FH, Cesar Neto JB, Carvalho MD, Sallum EA, Sallum AW. Intermittent cigarette smoke inhalation may affect bone volume around titanium implants in rats. *J Periodontol.* 2002; 73: 982-7.
69. Noori ZT , Fekrazad R, Eslami B, Etemadi A, Khosravi S, Mir M. Comparing the effects of root surface scaling with ultrasound instruments and Er,Cr:YSGG laser. *Lasers Med Sci.* 2008; 23: 283–87.
70. Park CY, Kim SG, Kim MD, Eom TG, Yoon JH, Ahn SG. Surface properties of endosseous dental implants after NdYAG and CO2 laser treatment at various energies. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005; 63: 1522-27.
71. Pindborg, JJ. Tobacco and gingivitis.1. Statistical examination of the significance of tobacco in the development of ulceromembranous gingivitis and in the formation of calculus. *J Dent Res.*1947; 26: 261-4.
72. Qin YL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodontol Res.* 2008; 43: 162-7.
73. Rizioiu IM, Eversole LR, Kimmel AI. Effects of an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser on mucocutaneous soft tissues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82: 386-95.
74. Rizioiu IM, Kohanghadosh, F., Kimmel, A.I., Eversole, L.R. Pulpal thermal responses to an erbium,chromium:YSGG pulsed laser hydrokinetic system. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontics.* 1998; 86: 220-3.

75. Schoop U, Goharkhay K, Klimscha J, Zagler M, Wernisch J, Georgopoulos A et al. The use of an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser in endodontic treatment: The results of an in vitro study. *J Am Dent Assoc.* 2007; 138: 949-55.
76. Schwarz F, Nuesry E, Bieling K, Hertel M, Becker J. Influence of an erbium, chromium-doped yttrium, scandium, gallium, and garnet (Er,Cr:YSGG) laser on the reestablishment of the biocompatibility of contaminated titanium implant surfaces. *J Periodontol.* 2006; 77: 1820-27.
77. Shibli JA, Martins MC, Theodoro LH, Lotufo RF, Garcia VG, Marcantonio EJ. Lethal photosensitization in microbiological treatment of ligature-induced peri-implantitis: a preliminary study in dogs. *J Oral Sci.* 2003; 45: 17-23.
78. Soares, F.M., Tarver, E.J., Bimstein, E., Shaddox, L.M., Bhattacharyya, I. Gingival Overgrowth in a Child With Arthrogyrosis Treated With a Er,Cr:YSGG Laser: A Case Report. *Pediatr Dent.* 2009; 31: 8-13.
79. Socransky, SS, Haffajee, AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol.* 1992; 63: 322-31.
80. Sohn, DS, Lee, JS, An, KM, Romanos, GE. Erbium, chromium: yttrium–scandium–gallium–garnet laser-assisted sinus graft procedure. *Lasers Med Sci.* 2009; 24: 673-7.
81. Stern, RH, Sognnaes, RF. Laser effect on dental hard tissues. A preliminary report. *J South Calif Dent Assoc.* 1965; 33: 17-9.

82. Tatsunari I, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Kinoshita J et al. Thermographical and Morphological Studies of Er,Cr:YSGG Laser Irradiation on Root Canal Walls. *Photomed Laser Surg.* 2004; 22: 291-7.
83. Teughels W, Newman MG, Coucke W, Haffajee AD, Van Der Mei HC, Kinder Haake S et al. Guiding Periodontal Pocket Recolonization: A Proof of Concept. *J Dent Res.* 2007; 86: 1078-82.
84. Ting CC, Fukuda M, Watanabe T, Aoki T, Sanaoka A, Noguchi T. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation on the root surface: Morphologic analysis and efficiency of calculus removal. *J Periodontol.* 2007; 78: 2156-64.
85. Tomomi Harashima, Jun-Ichiro Kinoshita, Yuichi Kimura, Aldo Brugnera, Jr, Fatima Zanin, Jose D. Pecora et al. Morphological Comparative Study on Ablation of Dental Hard Tissues at Cavity Preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG Lasers. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 52-5.
86. Toomarian, L, Fekrazad R, Sharifi, D, Baghaei, M, Rahimi, H, Eslami, B. Histopathological evaluation of pulpotomy with Er,Cr:YSGG laser vs formocresol. *Laser in Med Sci.* 2008; 23: 443-50.
87. Türkün M, Türkün L, Celik E U, Ates M. Bactericidal Effect of Er,Cr:YSGG Laser on *Streptococcus mutans*. *Dent Mater J.* 2006; 25: 81-6.
88. Wang X, Zhang C, Matsumoto K. In vivo study of the healing processes that occur in the jaws of rabbits following perforation by an Er,Cr:YSGG laser. *Lasers Med Scie.* 2005; 20: 21-7.

89. Wong M, Lu C, Liu C, Hou L. Microbiological Response of Localized Sites with Recurrent Periodontitis in Maintenance Patients Treated with Tetracycline Fibers. *J Periodontol.* 1999; 70: 861-8.
90. Yamazaki R, Goya C, Yu DG, Kimura Y, Matsumoto K. Effects of erbium, chromium: YSGG laser irradiation on root canal walls: a scanning electron microscopic and thermographic study. *J Endod.* 2001; 27: 9–12.
91. Yu G, Kimura Y, Kinoshita J, Matsumoto K. Morphological and Atomic Analytical Studies on Enamel and Dentin Irradiated by an Erbium, Chromium: YSGG Laser. *J Clin Laser Med Surg.* 2000; 18: 139-43.

**Anexo 1 - Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Araraquara



FACULDADE DE ODONTOLOGIA


Proc. CEEA nº 12/2008

Araraquara, 19 de agosto de 2008

Senhores Pesquisadores:

O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA desta Faculdade reunido em 15/08/2008, após a avaliação do projeto de sua responsabilidade intitulado "Tratamento de doença periodontal induzida em ratos, através da aplicação de laser Cr, ER:YSGG. Análises histológica e imuno-inflamatória" (Proc. CEEA nº 12/2008) **AUTORIZA** a realização da pesquisa, ficando a aprovação vinculada à apresentação do **RELATÓRIO FINAL (MAIO/2010)**

Atenciosamente.

  
**Profa. Dra. ELENY BALDUCCI ROSLINDO**  
Coordenadora do CEEA

Ao

**Prof. Dr. Élcio Marcantonio Junior**

Pesquisador Responsável

a/c Profª Drª Rosemary Adriana C. Marcantonio, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Livia Rodrigues Perussi e Chaine Pavone

Nesta

**Anexo 2 – Resumo publicado 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO).**

**Nº Inscrição: Nº Trabalho: 0322**

**Nome do Apresentador:** Chaine Pavone **Categoria:** Sócio Aspirante

**Área Relacionada:** 8b - Pesquisa Periodontal **Modalidade:** Painel Aspirante

**Descritores:** Terapia a Laser, Defeitos da Furca, Bolsa Periodontal

**Tratamento de doença periodontal induzida através da aplicação de laser Er-Cr:YSGG. Análise histológica em ratos**

Pavone C\*, Perussi LR, Oliveira GJPL, Marcantonio-Júnior E, Faeda RS, Theodoro LH, Marcantonio RAC  
**Diagnóstico e Cirurgia - Faculdade De Odontologia - FOAR-UNESP. Tel.: 33335586. E-mail: chaunesp@ig.com.br**

Atualmente a aplicação do laser Er,Cr:YSGG (erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet) tem sido proposta como terapia coadjuvante ao tratamento periodontal básico, no entanto maiores esclarecimentos sobre os seus efeitos se faz necessário. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência deste laser no tratamento de doença periodontal induzida. Para isso, foram inseridas ligaduras na região subgingival dos primeiros molares inferiores de 40 ratos machos para indução da doença periodontal. Após 7 dias, as ligaduras foram removidas e os seguintes tratamentos realizados: Grupo I, nenhum tratamento; Grupo II, raspagem e alisamento radicular; Grupo III, irradiação laser de Er,Cr:YSGG (150mJ de energia, 1W de potencia, 30s); Grupo IV, raspagem e alisamento radicular associada a aplicação do laser. Após o periodo de 15 e 30 dias os animais foram sacrificados e suas maxilas removidas para análise histológica descritiva da região de furca. Histologicamente o grupo I apresentou intenso processo inflamatório e evidente reabsorção óssea, nos grupos II e III houve discreto infiltrado inflamatório e discreta perda óssea; no grupo IV pode-se observar ausência de tecido inflamatório e região de furca preenchida com tecido ósseo.

De acordo com os resultados obtidos podemos concluir que a utilização do laser de Er,Cr:YSGG associada à raspagem e alisamento no tratamento de doença periodontal induzida foi efetiva no tratamento de furca de molares de ratos.

(Apoio: CNPq)




# Certificado



Certificamos que

o trabalho PNC257 - Tratamento de doença periodontal induzida através da aplicação de laser Er-Cr:YSGG. Análise histológica em ratos de Pavone C\*, Perussi LR, Oliveira GJPL, Marcantonio-Júnior E, Faeda RS, Theodoro LH, Marcantonio RAC foi apresentado

na 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica no período de 9 a 13 de Setembro de 2009 em Águas de Lindóia - SP - Brasil.

  
Célio Percinoto  
Presidente

  
Osmar Aparecido Cuoghi  
Secretário

  
Luiz Alberto Plácido Penna  
Tesoureiro

Autorizo a reprodução deste trabalho  
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 22 de março de 2010

Chaine Pavone