



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



LETÍCIA HELENA THEODORO

AÇÃO DO LASER DE Er:YAG E DE DIODO NA
ADESÃO DE ELEMENTOS SANGUÍNEOS E NA
MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIES RADICULARES
IRRADIADAS. *Estudo através de microscopia eletrônica de
varredura.*

ARARAQUARA
2003



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



LETÍCIA HELENA THEODORO

AÇÃO DO LASER DE Er:YAG E DE DIODO NA
ADESÃO DE ELEMENTOS SANGUÍNEOS E NA
MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIES RADICULARES
IRRADIADAS. *Estudo através de microscopia eletrônica de
varredura.*

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Araraquara da Universidade
Estadual Paulista - UNESP, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
doutor no Programa de Pós-Graduação em
Odontologia - Área de PERIODONTIA, Nível
Doutorado

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar
Sampaio

ARARAQUARA
2003

DADOS CURRICULARES

Letícia Helena Theodoro

NASCIMENTO: 02/02/1973 – Avaré- SP

FILIAÇÃO: Cícero Theodoro
Maria Helena Arca Theodoro

1991-1994 : Graduação
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP

1995-1996 : Especialização em Odontopediatria
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP

1995-2003 : Professora Assistente da Disciplina de Periodontia
da Faculdade de Odontologia de Lins, UNIMEP

1996-1997: Especialização em Periodontia
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP

1999-2001: Professora Assistente de Odontopediatria
da Faculdade de Odontologia de Lins, UNIMEP

2000-2001: Mestre em Lasers em Odontologia
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares,
Ipen/FOUSP

2001-2003: Curso de Pós-graduação em Odontologia-
Nível Doutorado, Área de Concentração
Periodontia, Faculdade de Odontologia
de Araraquara, UNESP.

DEDICATÓRIA

A DEUS

"Voce se fez presente em todos os momentos, firmes ou trêmulos. E passo a passo, pude sentir Sua mão na minha, transmitindo-me a segurança necessária para enfrentar o meu caminho e seguir....

A Sua presença é qualquer coisa como a luz e a vida, eu sinto que, em meu gesto, existe o Seu gesto"

Vinícius de Moraes

Ao meu amor **Valdir**,

Pela sua amizade e cumplicidade

Pela sua orientação científica e profissional

Pela sua fraternidade e infinito incentivo

Pelo seu carinho e amor

Por não medir esforços para me socorrer em todos os
momentos,

A Deus serei eternamente agradecida,

Por colocá-lo no meu caminho.

Esta conquista não é minha mas nossa.

Amo muito você.

“Vejo melhor os rios quando vou contigo
Pelos campos até a beira dos rios;
Sentado ao teu lado reparando nas nuvens
Reparo nelas melhor
Tu não me tiraste a natureza
Tu mudaste a natureza”

Fernando Pessoa

Ao meu amado filho **Bruno**,

presente precoce de Deus que com toda a sua grandeza espiritual, pode entender minhas ausências, preencher a minha vida de alegrias, fazendo com que superássemos sozinhos, muitos momentos difíceis.

"Te amo"

Aos meus pais **Cícero e Maria Helena**

dedico este trabalho como forma de agradecimento e amor por proporcionar-me uma boa educação, e principalmente por compreenderem a minha ausência na sua família não correspondendo com o seu amor, em muitos momentos.

Aos meus irmãos **Cícero, Juliano e Paulo**; minhas cunhadas, cunhados e sobrinhos **Ana Letícia, Guilherme, Ariana, Mickael e Keller** pelo carinho, amor e atenção, apesar da distância.

Aos meus irmãos de coração **Julio e Alessandro** pelo convívio, atenção e carinho que tiveram comigo e principalmente com meu filho, durante o período que estive ausente.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. **José Eduardo Cezar**

Sampaio primeiramente pela confiança em mim depositada sem me conhecer, e posteriormente pela amizade, carinho e orientação que com sua infinita humildade sempre me recebeu, dedicando muito de seu precioso tempo com a minha pessoa, tornando alguns momentos de dificuldades mais alegres e menos dolorosos.

À Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Periodontia

Profa. Dra. **Rosemary Adriana Chiéríci Marcantonio**, pela sua grande amizade que permanece em meu coração, por ter me recebido de braços abertos na sua família, juntamente com seu marido Prof. Dr. **Elcio Marcantonio Junior**, que com sua extrema bondade, generosidade e dedicação me ajudou em muitos momentos durante a minha estada em Araraquara. Obrigada por ter sido mais que uma amiga, uma *IRMÃ*.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, **Benedicto Egbert Correa de Toledo, Ricardo Samih Georges Abi Rached, Elcio Marcantonio Junior, José Eduardo Cezar Sampaio, Rosemary Adriana Chiérics Marcantonio, Silvana Regina Perez Orrico, Joni Augusto Cirelli e Carlos Rossa Junior**, pela humildade, fraternidade, dedicação, competência que conduzem este curso de pós-graduação e pela forma singular e carinhosa que orientam seus alunos.

Muito Obrigada!

“Na simplicidade aprendemos que reconhecer um erro não nos diminui, mas nos engrandece, e que as pessoas não existem para nos admirar, mas para compartilhar conosco a beleza da existência.”

Roberto Shinyashiki

À Faculdade de Odontologia do Campus de Araraquara (UNESP), na pessoa do seu Diretor Prof. Dr. **Ricardo Samih Georges Abi Rached**, pela oportunidade e condições oferecidas para realização deste curso.

Às minhas grandes amigas do curso de Pós-Graduação **Teresinha, Daniela, Andréa, Beatriz e Cristiane** pela generosidade e infinita cumplicidade que fizeram de momentos de solidão momentos agradáveis e divertidos . Apesar da distância sempre as tenho no coração.

À minha querida amiga **Patrícia Haypek** e ao **Luciano Bachmann** pela ajuda na realização deste trabalho.

Aos amigos da Faculdade de Odontologia de Lins, UNIMEP, **Edson Jacomini, Luis Sérgio Colman e Wilson Lopes Junior** pela sincera amizade e incentivo, que mesmo distantes estão sempre torcendo por mim.

À todos os colegas de Pós Graduação em Periodontia e em especial a **Andréa, Daniela , Emilio e Cláudia**.

À Secretária da disciplina de Periodontia **Regina Lúcia**, pelo carinho em que me recebeu desde o primeiro dia de convívio,

pelo ombro amigo e pela disponibilidade em colaborar em todos os momentos.

À todos os funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia e em especial á **Claudia, Maria José, Maria do Rosário, Teresinha e Fernanda** pela amizade, carinho e compreensão.

À todas as funcionárias da **Seção de Pós-Graduação**, em especial a **Mara** pela orientação, amizade e colaboração na conclusão deste curso.

À todos os funcionários da **Biblioteca** da Faculdade de Odontologia do Campus de Araraquara, e em especial a **Maria Helena** pela ajuda inestimável na orientação deste trabalho.

A todos os funcionários da **Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Lins, UNIMEP, em especial à **Franceline, Ana Paula e Sidney** pela grande amizade e colaboração.

À Profa. **Marie Oshiiwa**, da Universidade de Marília, pela disponibilidade e atenção em realizar a análise estatística deste estudo.

Ao Prof. Dr. **Amauri Antiquera Leite**, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, UNESP, pela grandiosa orientação durante a análise dos resultados do presente estudo e aos funcionários do Centro de Hematologia pela disponibilidade na coleta do sangue.

o **Lelo** (Laboratório Experimental de Lasers em Odontologia) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. **Carlos de Paula Eduardo** por ceder um dos equipamentos de laser utilizado no presente estudo e **ao Centro de Aplicações e Lasers**, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Ipen, na pessoa da Prof. Dra. **Denise Maria Zezell**, pelo auxílio na realização de algumas etapas deste estudo.

Ao Professores da disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, UNESP: Prof. Dr. **Luiz Alberto Milanezi**, Prof. Dr. **Alvaro Francisco Bosco** e Profa. Dra. **Maria José Hitomi Nagata**, origem de tudo, pelo incentivo constante e amizade.

Ao Sr. **Sebastião Anésio Dametto**, técnico em microscopia eletrônica, do Instituto de Química do Campus de Araraquara, UNESP, pela colaboração na obtenção das fotomicrografias.

À Sra **Isabel** técnica responsável do laboratório de Parasitologia do Campus de Araraquara, UNESP, pela disponibilidade em me orientar na utilização de equipamento, necessário para processamento das amostras.

À **CAPES** pelo apoio financeiro cedido.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	15
Lista de Abreviaturas e Nomenclaturas.....	20
1- Introdução.....	22
2- Revisão da Literatura.....	30
3- Proposição.....	56
4- Material e Método.....	58
5 - Resultado.....	74
5.1 - Análise Descritiva.....	75
5.2 - Análise Estatística.....	94
6.- Discussão.....	101
7- Conclusão.....	119
8 - Referências.....	121
9 - Resumo.....	135
10 – Abstract.....	138
11- Apêndice.....	141
11.1. Apêndice 1.....	142
11.2. Apêndice 2.....	148
12- Anexo.....	152

Lista de Figuras

Figura 1- Elemento dentário demonstrando a área de obtenção de duas amostras de uma superfície proximal. Uma amostra para analisar a adesão de elementos do sangue (AES) e outra para analisar a morfologia da superfície radicular (MSR) da mesma superfície.....	61
Figura 2 –Amostra radicular aderida em cera sobre suporte plástico.....	73
Figura 3 – Aplicação do gel de EDTA 24% com pincel sobre amostra radicular.....	73
Figura 4- Laser de Er:YAG 2,94 μm (Kavo Key Laser, Kavo, Alemanha).....	73
Figura 5 – Laser de Diodo 808 nm (Soft Lase, Zap Laser,USA)	73
Figura 6 - Irradiação de amostra com laser de Er:YAG (G3 e G4).....	73
Figura 7 – Irradiação de amostra com laser de Diodo (G5 e G6).....	73
Figura 8 - Grupo 1 (controle). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.....	82

- Figura 9** – Grupo 1 (controle). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.....82
- Figura 10** – Grupo 1 (controle). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.....83
- Figura 11** – Grupo 1 (controle). Superfície radicular irregular, rugosa com presença de *smear layer* e obliteração de túbulos dentinários (MSR 5).Aumento original 2000X.....83
- Figura 12** – Grupo 2 (EDTA 24 %). Superfície radicular sem rede de fibrina e de células sanguíneas, com exposição de fibras colágenas (AES 0).Aumento original 2000X.....84
- Figura 13** – Grupo 2 (EDTA 24 %). Superfície radicular sem rede de fibrina e de células sanguíneas, com exposição de fibras colágenas (indicado pela seta) (AES 0). Aumento original 2000X.....84
- Figura 14** – Grupo 2 (EDTA 24 %). Superfície radicular sem rede de fibrina e de células sanguíneas, com evidências de fibras colágenas (AES 0).Aumento original 2000X.....85
- Figura 15**– Grupo 2 (EDTA 24 %). Superfície radicular irregular, rugosa, ausência de *smear layer* e túbulos dentinários obliterados com presença de material fibrilar (MSR 5). Aumento original 2000X.....85

Figura 16 – Grupo 3 (Er:YAG/ 7,6 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células sanguíneas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.....86

Figura 17 – Grupo 3 (Er:YAG/ 7,6 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.....86

Figura 18 – Grupo 3 (Er:YAG/7,6 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células aposicionadas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.....87

Figura 19 – Grupo 3 (Er:YAG/ 7,6 J/cm²). Superfície radicular irregular, com micro-rugosidades, obliteração de túbulos dentinários e ausência de *smear layer* (MSR 5). Aumento original 2000X.....87

Figura 20 – Grupo 4 (Er:YAG/ 12,9 J/cm²). Superfície radicular demonstrando adesão de escassa rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 1). Aumento original 2000X.....88

Figura 21 – Grupo 4 (Er:YAG/ 12,9 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células sanguíneas aposicionadas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.....88

Figura 22 – Grupo 4 (Er:YAG/ 12,9 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células sanguíneas aposicionadas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.....89

- Figura 23** – Grupo 4 (Er:YAG / $12,9 \text{ J/cm}^2$). Superfície radicular irregular com micro-rugosidades, obliteração de túbulos dentinários e ausência de *smear layer* (MSR 5). Aumento original 2000X.....89
- Figura 24** – Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm^2). Superfície radicular demonstrando ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0). Aumento original 2000X.....90
- Figura 25** – Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm^2). Superfície radicular demonstrando ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0). Aumento original 2000X.....90
- Figura 26** – Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm^2). Superfície radicular demonstrando ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0). Aumento original 2000X.....91
- Figura 27** – Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm^2). Superfície radicular irregular sem abertura de túbulos dentinários e com presença de *smear layer* (MSR 3). Aumento original 2000X.....91
- Figura 28** – Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada e células sanguíneas aprisionadas entre e sob a rede (AES 3). Aumento original 2000X.....92
- Figura 29** – Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.....92

Figura 30 - Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular coberta por uma moderada camada de células sanguíneas e esparsas redes de fibrina (AES 2). Aumento original 2000X.....93

Figura 31 – Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular irregular com túbulos dentinários obliterados (MSR 3) e presença de *smear layer* recobrimdo toda a amostra. Aumento original 2000X.....93

Lista de Abreviaturas e Nomenclaturas

Laser	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
Comprimento de onda	Distância entre dois pontos correspondentes em uma onda eletromagnética.
EDTA	Ácido Etileno Diamino Tetracético
CO ₂	Dióxido de carbono
Nd:YAG	Neodímio (Ítrio, Alumínio, Granada)
Er:YAG	Érbio (Ítrio, Alumínio, Granada)
AsGaAl	Arsênio- Gálio- Alumínio
µm	Micrometro
ml	Mililitro
W	Watt - unidade de potência
pps	Número de pulsos por segundo
mJ	Milijoule- unidade de energia (milésima parte do Joule)
mJ/p	Milijoule por pulso (expressa a energia em milijoule em cada pulso)
J	Joule - unidade de energia
Hz	Hertz (número de pulsos por segundo)- expressa a frequência que é o número de oscilações completas de uma onda por segundo.
cm	Centímetro
pH	Potencial de hidrogênio

J/cm ²	Joule por centímetro quadrado (expressa a densidade de energia e ou fluência)
mm	Milímetro
nm	Nanometro (bilionésima parte do metro- utilizado para medir comprimento de onda)
mJ/cm ²	Milijoule por centímetro quadrado (expressa a densidade de energia)
°C	Graus Celsius
Excimer	Contração dos termos anglo-saxões excited dimers
XeCl	Cloreto de Xenônio
mg/ml	Miligramma por mililitro
mg/Kg	Miligramma por quilograma
ms	Milissegundo (milésima parte do segundo)
µs	Microssegundo
ns	Nanossegundo (bilionésima parte do segundo)
cm ²	Centímetro quadrado
s	Segundos
M	Mol
kV	Kilovolts
PBS	Solução Tampão Fosfatado
MSR	Morfologia da Superfície Radicular (índice)
AES	Adesão de Elementos Sanguíneos (índice)

1. INTRODUÇÃO

Um dos objetivos do tratamento periodontal regenerativo é promover a inserção de tecido conjuntivo sobre a superfície radicular acometida pela doença periodontal. A formação e adesão do coágulo sanguíneo, mediada por proteínas plasmáticas, principalmente o fibrinogênio, que providenciam a base inicial para aderência da rede de fibrina sobre superfície radicular, constituem a fase inicial do processo de cicatrização dos tecidos periodontais (Hiatt et al., 1968;³⁵ Polson & Proye, 1983;⁶¹ Wikesjö et al., 1992)⁹⁴.

O reparo do tecido conjuntivo na superfície radicular está diretamente relacionado com a inserção da rede de fibrina sobre a raiz, já que na ausência de inserção estável de fibrina, pode ocorrer mais rapidamente a formação de um epitélio juncional longo sobre a superfície radicular (Polson & Proye, 1983; ⁶¹ Wikesjö & Nilvéus, 1990; ⁹³ Wikesjö et al., 1991)⁸⁹.

A rápida aderência do coágulo sanguíneo sobre a superfície radicular promove a formação de uma barreira capaz de impedir a migração apical do tecido epitelial (Wikesjö et al., 1991; ⁸⁹ Caton & Greenstein, 1993) ¹⁷. Além disto, a rede de fibrina forma um arcabouço adequado para o desenvolvimento do mecanismo de inserção de células e de colágeno (Caton & Greenstein, 1993) ¹⁷. A inserção inicial de rede de fibrina sobre a superfície radicular é facilmente destruída e requer

proteção e estabilização até ocorrer sua substituição por inserção de fibras colágenas, e desta forma, a estabilização do coágulo torna-se um mecanismo essencial para promoção da regeneração periodontal (Caton & Greenstein, 1993)¹⁷.

Tem sido demonstrado que superfícies radiculares periodontalmente afetadas são hipermineralizadas e contaminadas com substâncias citotóxicas (Aleo et al., 1974;² Hatfield & Baumhammers, 1971)³⁴ especialmente as endotoxinas (Lopez, 1984;⁴⁵ Adriaens et al., 1988)¹. Estas por sua vez, representam o principal agente a ser vencido para se obter uma nova inserção de tecido conjuntivo em superfícies radiculares afetadas pela doença periodontal, uma vez que, superfícies radiculares contaminadas, apresentam características impróprias para adsorção de proteínas plasmáticas, e subsequente adesão de fibrina nas superfícies radiculares (Wikesjö et al., 1992)⁹⁴.

Nos últimos anos inúmeras alternativas têm sido apresentadas para compensar as limitações inerentes à terapia radicular mecânica, para promover a descontaminação de superfície radicular ou promover uma superfície radicular mais biocompatível com os tecidos periodontais.

Estudos realizados tanto *in vitro* (Laferty et al., 1993;⁴⁴ Trombelli et al., 1995;⁸⁵ Blomlöf et al., 1996;¹³ Blomlöf et al., 1997;¹¹ Blomlöf et al., 1997)¹² quanto *in vivo* (Wikesjö et al., 1991;⁹⁰ Caffesse et al., 1991;¹⁶ Trombelli et al., 1995;⁸⁶ Blomlöf et al., 2000;¹⁴ Blomlöf et al., 2000)¹⁵, têm enfatizado o condicionamento da superfície radicular com

diferentes substâncias, como coadjuvante da raspagem e aplainamento radicular, com o propósito de regeneração das estruturas periodontais perdidas com a doença periodontal. Porém, estudos clínicos não têm demonstrado diferenças estatisticamente significantes quanto ao ganho de inserção clínica, com o uso destas substâncias no condicionamento radicular (Caffesse et al., 1991;¹⁶ Parashis & Mitsis, 1993;⁵⁸ Blomlöf et al., 2000;¹⁴ Blomlöf et al., 2000)¹⁵, embora recentemente Baker et al. (2000)⁸⁵ demonstraram *in vitro* maior adesão de fibrina em superfícies radiculares condicionadas com ácido cítrico.

Vários agentes químicos têm sido propostos para esta finalidade. Dentre as substâncias químicas utilizadas no tratamento da superfície radicular, o cloridrato de tetraciclina tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores (Laferty et al., 1993;⁴⁴ Jeong et al., 1994;³⁸ Trombelli et al., 1995;⁸⁴ Trombelli et al., 1995;⁸⁵ Bergenholtz & Babay, 1998;¹⁰ Guilden Isik et al., 2000)³², devido ao seu poder bactericida, apesar de estudo *in vivo* não demonstrar diferenças estatisticamente significantes do uso desta substância com relação ao ganho de inserção clínica (Parashis & Mitsis, 1993)⁵⁸.

O EDTA tem sido empregado como agente condicionador da superfície radicular por apresentar características como pH neutro, o que preserva a vitalidade das células remanescentes dos tecidos periodontais, enquanto remove íons cálcio da matriz colágena da dentina de forma mais seletiva que os agentes condicionadores que apresentam pH baixo

(Bloml f et al., 2000)¹⁴. Apesar dos estudos *in vitro* (Bloml f et al., 1996;¹³ Bloml f et al., 1997;¹¹ Bloml f et al., 1997;¹² Sampaio, 1999;⁷⁰ Pilatti, 2001)⁶⁰ terem demonstrado alta efetividade do EDTA na remoção de smear layer, estudos *in vivo* não têm demonstrado vantagens, com a utilização de EDTA como coadjuvante ao procedimento clínico de raspagem e aplainamento radicular (Bloml f et al., 2000;¹⁴ Bloml f et al., 2000)¹⁵.

Mais recentemente, a terapia com laser tem sido investigada para um largo campo de aplicações na Periodontia (AAP, 2002)³. Vários estudos têm sido publicados com o uso de lasers para diferentes procedimentos, quer visando a redução bacteriana de bolsas periodontais (Myers, 1991;⁵⁵ Radvar et al., 1996;⁶³ Ben Hatit et al., 1996)⁹ quer em procedimentos de raspagem e aplainamento radicular (Aoki et al., 1994;⁵ Israel et al., 1997;³⁷ Fujii et al., 1998;²⁸ Folwaczny et al., 1999;²⁴ Folwaczny et al., 2000;²⁵ Aoki et al., 2000)⁶.

Por outro lado, vários trabalhos documentam a alta eficácia do efeito bactericida dos lasers de alta intensidade não só sobre bactérias presentes no canal radicular (Fegan & Steiman, 1995;²² Ramskold et al., 1997;⁶⁴ Moritz et al., 1997;⁴⁹ Rochd et al., 1998;⁶⁸ Moritz et al., 1999;⁵⁹ Gutknecht et al., 2000)³³, como também na redução de bactérias periodontopatog nicas (Chan & Chien, 1994;¹⁸ Radvar et al., 1996;⁶³ Ben Hatit et al., 1996;⁹ Ando et al., 1996)⁴.

Dentre os lasers de alta intensidade, o Er:YAG é o mais ressonante às superfícies mineralizadas. Tal fato se deve ao alto grau de absorção da água pelo seu comprimento de onda (2,94 μm) promovendo micro-explosões e ejeção dos tecidos (ablação explosiva), ocorrendo conseqüentemente menores danos térmicos nas superfícies irradiadas, principalmente quando utilizado com refrigeração à água (Aoki et al., 1994;⁵ Fujii et al., 1998;²⁸ Aoki et al., 2000;⁶ Theodoro, 2001;⁷⁹ Sasaki , 2002;⁷¹ Theodoro et al., 2002;⁸¹ Theodoro et al., 2003)⁸⁰.

Outros estudos demonstraram que o laser de Nd:YAG quando utilizado sobre superfície radicular pode provocar formação de crateras, trincas, fusão e carbonização (Morlock et al., 1992;⁵⁴ Cobb et al., 1992;¹⁹ Thomas et al., 1994;⁸⁴ Wilder-Smith et al., 1995)⁹⁵, porém tem sido demonstrado efetividade deste laser, quando utilizado com objetivo de redução bacteriana de bolsas periodontais (Chan & Chien, 1994;¹⁸ Radvar et al., 1996)⁶³.

Alguns autores tem preconizado a utilização do laser de Diodo em procedimentos de curetagem gengival e com o objetivo de redução bacteriana (Moritz et al., 1997;⁵¹ Moritz et al., 1998)⁵³, enquanto que Moritz et al. (1997)⁵² demonstraram *in vitro* os efeitos do laser de Diodo na redução bacteriana de condutos radiculares contaminados. Porém, são raros os trabalhos que demonstram o efeito destes lasers sobre superfícies radiculares (Kreisler et al., 2001;⁴³ Kreisler et al., 2002;⁴² Theodoro et al., 2003)⁸⁰.

Além destes fatos, poucos são os trabalhos encontrados na literatura que analisam a biocompatibilidade das superfícies irradiadas pelos lasers de alta intensidade, através do processo de adesão de células *in vitro* (Trylovick et al., 1992;⁸⁷ Tewfick et al., 1994;⁷⁸ Kreisler et al., 2001;⁴³ Schoop et al., 2001;⁷⁴ Feist, 2002;²³ Crespi et al., 2002)²⁰, ou através de pesquisas clínicas *in vivo* (Schwarz et al., 2001)⁷⁶.

Diante destes fatos e considerando a escassez de trabalhos que demonstrem os efeitos dos lasers de alta intensidade, indicados para redução bacteriana de bolsas periodontais e ou para procedimentos de raspagem radicular, na biocompatibilidade das superfícies irradiadas, constitui objetivo do presente estudo analisar, através de microscopia eletrônica de varredura, o efeito da irradiação de superfícies radiculares de dentes acometidos por doença periodontal, previamente raspados e aplainados com instrumentos manuais, com laser de Er:YAG (2,94 μm) e de Diodo (808 nm), na adesão de fibrina e de elementos sanguíneos, utilizando o modelo experimental proposto por Baker et al. (2000)⁸, e sobre a morfologia da superfície radicular.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Desde a elaboração do primeiro equipamento laser por Maiman (1960)⁴⁶, o qual tinha como meio ativo um cristal de rubi, vários estudos têm demonstrado o efeito destes lasers na Medicina, bem como na Odontologia(Pick et al., 1986;⁵⁹ Myers, 1991; ⁵⁵ Moritz et al., 1997; ⁵² Gopin et al., 1997; ³¹ Sasaki et al., 2002) ⁷² .

Existem dois grandes grupos de lasers utilizados em Odontologia, classificados de acordo com o mecanismo de interação com os tecidos. *O laser de baixa intensidade*, atua a nível celular, através de interação fotoquímica, podendo promover aumento do metabolismo celular e, conseqüentemente, induzir diferentes efeitos gerais como analgésico, antiinflamatório e bioestimulativo. Dentre estes equipamentos de lasers os mais utilizados são os de AsGA (Arsênio- Gálio), AsGaAl (Arsênio –Gálio- Alumínio), HeNe (Hélio-Neônio), InGaAlP (Índio- Gálio- Alumínio- Fósforo) (Theodoro et al., 2002) ⁸².

O laser de alta intensidade, promove uma interação fototérmica ou fotomecânica com os tecidos e, com o aumento da temperatura tecidual, poderá promover a ablação ou vaporização dos tecidos. Dentre os equipamentos mais utilizados em Odontologia, podemos destacar os lasers de CO₂ (Dióxido de Carbono), Nd:YAG (Neodímio: Ítrio- Alumínio-Granada), Er:YAG (Èrbio: Ítrio- Alumínio-Granada); Ho:YAG (Holmio: Ítrio-Alumínio-Granada), Argônio e Diodos Semicondutores (Theodoro et al. , 2002) ⁸².

Os *lasers de alta intensidade* têm sido muito empregados em procedimentos cirúrgicos periodontais (Pick et al., 1986;⁵⁹ Roed-Petersen, 1993)⁶⁹, e também como coadjuvante ao tratamento periodontal convencional, de raspagem e aplainamento radicular com instrumentos manuais, objetivando também a curetagem gengival ou redução bacteriana de bolsas periodontais (Myers, 1991;⁵⁵ Chan & Chien, 1994;¹⁸ Bem Hatit, 1996;⁹ Moritz et al., 1997;⁵¹ Moritz et al., 1998)⁵³.

A partir da década de noventa, vários estudos foram realizados para analisar o efeito de diversos tipos de lasers em superfícies radiculares. Um dos primeiros trabalhos que analisaram os efeitos dos lasers em superfícies radiculares foi de Morlock et al. (1992)⁵⁴ que analisaram *in vitro* os efeitos do laser de Nd:YAG em superfícies radiculares, quando utilizado de forma isolada ou como coadjuvante da raspagem e aplainamento convencional. Para este procedimento, utilizaram potências de irradiação de 1,25 e 1,50 W e, através de microscopia eletrônica de varredura, analisaram as superfícies irradiadas. Os resultados obtidos demonstraram que os espécimes tratados apenas com laser nas diferentes potências, apresentaram superfícies radiculares alteradas quando comparadas ao grupo que sofreu apenas raspagem com instrumentos manuais (curetas). Observaram ainda, formação de crateras e carbonização do cemento radicular, com fusão da superfície mineral e subsequente resolidificação, com formações globulares. Desta forma, concluíram que o uso de laser durante o preparo da superfície

radicular, mesmo em baixas energias, resulta em alteração física da superfície radicular.

Cobb et al. (1992)¹⁹ examinaram *in vitro*, em dentes que apresentavam bolsas periodontais, os efeitos da preparação radicular com laser de Nd:YAG, utilizado isolado ou em combinação com instrumentação. Nos grupos que associaram o laser à instrumentação manual, aplicaram o laser durante 3 minutos (3,0 W / 20 Hz e 2,25 W/10 Hz) em 7 espécimes; em outro grupo, irradiaram 8 espécimes durante 1 minuto (1,75 W / 20 Hz) e, em outro, trataram 4 espécimes somente com o laser durante 1 minuto (1,75 W / 20Hz). Os resultados obtidos permitiram observar que tanto o tratamento manual ou o laser, não foram capazes de remover toda a placa bacteriana e o cálculo presentes na superfície cementária, e que, quando utilizaram o laser em altas energias (3,0 W em 3 minutos, 150 mJ/p; 2,25 W em 3 minutos, 112,5 mJ/p) a superfície cementária apresentou-se com mais irregularidades, formação de crateras mais extensas, trincas e áreas de fusão e resolidificação com deposição de *smear layer*. No entanto, quando utilizaram menores energias (1,75 W em 1 minuto, 20 pps, 87,5 mJ) houve presença de resíduos sobre a superfície radicular com poucas alterações morfológicas. Os autores concluíram, neste estudo, que o procedimento de raspagem com laser deve ser seguida de instrumentação manual para regularizar as superfícies radiculares.

Na tentativa de analisar o efeito da irradiação de superfícies radiculares com laser de Nd:YAG, alguns autores como Wilder-Smith et al. (1995)⁹⁵ utilizaram parâmetros inadequados de irradiação com a utilização de potências altas e tempos de exposição muito prolongados, provocando danos térmicos severos às estruturas irradiadas. Neste estudo, analisaram a ação do laser de Nd:YAG sobre superfícies radiculares após raspagem e aplainamento radicular, utilizando potência de 5 W com tempos de exposição de 1, 2, 3, 4 e 5 minutos. Na análise das superfícies tratadas, observaram, através de microscopia eletrônica de varredura, que quando foram utilizados 1 e 2 minutos de tempo de exposição, houve remoção de *smear layer*, com formação de algumas ranhuras e crateras; porém, quando irradiaram as superfícies durante 4 e 5 minutos, houve a presença de crateras e fissuras mais largas e mais acentuadas, em todas as amostras. Na análise da temperatura intrapulpar verificaram aumento de 18° a 36°C e aumento de 9° a 22°C na superfície radicular. Diante destes fatos, os autores concluíram que a utilização do laser nestes parâmetros, torna-se inviável no tratamento periodontal.

Com o desenvolvimento do laser de Er:YAG (Hibst & Keller, 1989)³⁶, novos estudos puderam ser realizados para analisar o efeitos deste laser com comprimento de onda de 2,94 µm, em superfícies radiculares. O comprimento de onda do laser de Er:YAG é altamente absorvido pela água e desta forma promove a ablação dos tecidos

mineralizados pela vaporização da água, presente entre os cristais de hidroxiapatita, e conseqüente ejeção do material mineralizado, pelas micro-explosões, sem promover efeitos térmicos indesejáveis nas estruturas adjacentes às superfícies irradiadas. A partir das pesquisas que foram realizadas com este laser em tecidos mineralizados, surgiu uma nova perspectiva do uso destes lasers no tratamento periodontal como substituto de instrumentos manuais para realização de raspagem e aplainamento radicular e ou como técnica coadjuvante a este procedimento (Aoki et al., 1994;⁵ Watanabe et al., 1996;⁸⁸ Israel et al., 1997;³⁷ Yamaguchi et al., 1997;⁹⁶ Fujii et al., 1998;²⁸ Folwaczny et al., 2000;²⁵ Aoki et al., 2000)⁶.

Aoki et al. (1994)⁵ analisaram *in vitro* os efeitos de um sistema de entrega de feixe de um laser de Er:YAG nos procedimentos de raspagem e aplainamento radicular com e sem irrigação com água. A energia de irradiação utilizada variou entre 10 e 120 mJ/pulso com frequência de 10 Hz, na presença de irrigação, para a remoção de cálculo. Em outro experimento, utilizaram 30 mJ/pulso e 10 Hz com e sem irrigação com água. No primeiro experimento, verificaram que o Er:YAG é capaz de remover o cálculo da superfície radicular, na presença de irrigação, quando utilizado com energias maiores que 30 mJ/pulso. Observaram presença de trincas, formação de poucas crateras na superfície, além de algumas formações globulares que aumentavam proporcionalmente ao aumento de energia. Quando compararam a

presença ou não de água na remoção do cálculo, verificaram que quando não havia irrigação a superfície cementária, mostrava-se mais irregular e, em poucos casos, o cálculo tornou-se carbonizado. Com relação à temperatura, no experimento com irrigação na superfície externa, houve variação de 26,2^o para 28,6^oC e sem irrigação a temperatura de 27,5^oC aumentou para 63,5^o a 66,5^oC; a temperatura pulpar no experimento com irrigação variou de 28,6^o para 29,4^oC e sem irrigação a temperatura aumentou para 47,4^oC.

Watanabe et al. (1996)⁸⁸ avaliaram clinicamente o uso do laser de Er:YAG para procedimentos cirúrgicos e raspagem radicular. Trinta e um pacientes com lesões de tecido mole e sessenta pacientes com cálculo dentário foram tratados com o laser. Os parâmetros clínicos avaliados foram dor, cor, edema e desconforto do paciente. Com relação à cirurgia, os autores concluíram que o laser provocou menos hemorragia e resultou em melhor reparo quando comparado com os métodos convencionais. Com relação à raspagem, concluíram que tal procedimento foi de fácil realização em 95% dos casos, embora tenha provocado irregularidades na superfície radicular, fato não significativo clinicamente em 98% dos casos.

Israel et al. (1997)³⁷ compararam *in vitro* as alterações morfológicas provocadas nas superfícies radiculares irradiadas com os lasers de CO₂ e de Nd:YAG, na presença ou não de irrigação, e Er:YAG com irrigação, após procedimentos de raspagem e aplainamento

radicular. O laser de CO_2 foi utilizado com e sem irrigação, com densidade de energia de 100 a 400 J/cm^2 ; o laser de Nd:YAG com 286 a 1857 J/cm^2 e o laser de Er:YAG com 20 a 120 J/cm^2 . Na análise dos resultados do grau de alteração morfológica nos grupos irradiados com CO_2 e Nd:YAG, observaram que as alterações morfológicas mostravam-se diretamente proporcionais ao grau de energia de irradiação, mas, não relacionadas ao resfriamento. As alterações induzidas com a aplicação destes lasers incluíram cavitação, formação de glóbulos de fusão e resolidificação mineral, presença de fissuras na superfície e produção de uma camada de debris carbonizada. Em contraste, o laser de Er:YAG produziu na superfície radicular, alterações semelhantes ao condicionamento ácido, com remoção de *smear layer* e exposição de matriz colágena, sem a presença de fraturas, fusão e carbonização.

Yamaguchi et al. (1997)⁹⁶ avaliaram *in vitro*, através de microscopia eletrônica de varredura, os efeitos da irradiação com o laser de Er:YAG na remoção de lipopolissacarídeos presentes sobre superfícies radiculares, após aplainamento radicular com curetas manuais. O grupo I não sofreu nenhum tratamento com laser; o grupo II sofreu aplainamento sem remoção de toda a camada de cimento e o grupo III sofreu irradiação e remoção da camada de cimento com exposição de dentina. Os espécimes foram irradiados com fluência de 300 mJ/cm^2 (100 mJ, 15 Hz). Os autores concluíram que a irradiação com laser de Er:YAG promove vaporização e formação de crateras profundas na superfície

radicular, embora tenha se mostrado eficaz na remoção de aproximadamente 83,1% dos lipopolissacarídeos.

Fujii et al. (1998) ²⁸ analisando *in vitro*, os efeitos do laser de Er:YAG (25 mJ à 100 mJ) na presença de irrigação, sobre a remoção de cálculo e placa bacteriana na superfície radicular, verificaram nos espécimes irradiados com Er:YAG, presença de alguns defeitos e crateras circulares no cimento, com profundidades proporcionais à energia aplicada (entre 15 e 45 μm).

Também com o objetivo de analisar a profundidade de penetração do laser de Er:YAG na superfície radicular, Folwaczny et al. (2000) ²⁵ analisaram *in vitro*, a remoção de substâncias radiculares após irradiação com laser de Er:YAG com energias variando de 60 a 150 mJ, e frequência de 15 Hz, com total de 300 pulsos. Na análise, através de microscopia eletrônica de varredura, os resultados demonstraram que a remoção das estruturas radiculares com o Er:YAG, em baixas energias, são semelhantes às removidas com instrumentação manual com curetas, e ainda, que a remoção de estruturas cementárias depende do nível de energia aplicado e da presença de cálculo.

Aoki et al. (2000) ⁶ realizaram estudo *in vitro* para comparar a efetividade da raspagem radicular com laser de Er:YAG com a do ultrassom. Utilizaram 53 dentes humanos extraídos por envolvimento periodontal que foram divididos em 2 grupos (raspagem com laser e raspagem com ultrassom). O laser foi aplicado em contato com os dentes,

com energia de 40 mJ/pulso e frequência de 10 Hz, com refrigeração à água. Os resultados demonstraram que o laser promoveu remoção de cálculo equivalente ao ultrassom, sem elevação da temperatura. Macroscopicamente, o laser promoveu ranhuras similares às provocadas pelo ultrassom na superfície radicular. Entretanto, a eficiência do laser foi menor que a do ultrassom. A análise histológica, revelou que uma zona pequena de alteração na superfície estava presente no grupo do laser e, ao microscópio eletrônico de varredura, havia a presença de micro-ranhuras.

Alguns autores têm avaliado o efeito de lasers, com comprimento de onda que emitem no ultra-violeta, na remoção de substâncias mineralizadas de superfícies radiculares (Rechmann & Hennin, 1995; ⁶⁶ Folwaczny et al., 1999; ²⁶ Nikolopoulos et al., 2000)⁵⁶. Dentre estes lasers podemos encontrar os lasers de Excimer (XeCl, ArF) e os de Alexandrita. O mecanismo de ação destes lasers se faz através do efeito de fotoablação, sem promover danos térmicos aos tecidos adjacentes, removendo o mínimo de cimento e sendo desta forma, altamente seletivos na remoção de cálculo dentário (Theodoro et al., 2001)⁸³.

Rechmann e Hennin (1995)⁶⁶ realizaram estudo *in vitro* para analisar a ablação de cálculo supra e subgengival com laser de Alexandrita, com frequência dobrada (377 nm de comprimento de onda, duração do pulso de 100 ns, frequência de 110 Hz). Utilizaram dentes

humanos extraídos com cálculo supra e subgengival e irradiaram a superfície de esmalte, junção cimento-esmalte e raiz com fluência de $1\text{J}/\text{cm}^2$ com refrigeração à água. Os resultados, analisados através de microscopia ótica, demonstraram que o laser foi efetivo na remoção de cálculo, atuando de forma seletiva, sem a remoção de cimento e dentina, mesmo com baixa fluência, além de não causar danos térmicos aos tecidos adjacentes.

Por outro lado, Folwaczny et al. (1999)²⁶ realizaram estudo *in vitro* para determinar o efeito do laser de Excimer (XeCl- Cloreto de Xenônio), com comprimento de onda de 308 nm, na remoção de substâncias dentárias sobre superfícies radiculares, na presença ou não de cálculo. O laser de XeCl com duração de pulso de 60 ns foi utilizado com 800 pulsos em 5 diferentes doses de energia por pulso (1, 2, 3, 4, 5 J/cm^2). A menor amostra de ablação do dente com cálculo foi induzida com a fluência de $2\text{J}/\text{cm}^2$, e a maior amostra de ablação foi obtida com $5\text{J}/\text{cm}^2$, enquanto que não foi detectada ablação dental com irradiação de $1\text{J}/\text{cm}^2$, embora uma grande quantidade de cálculo tenha sido removida nestas condições.

Nikolopoulos et al. (2000)⁵⁶ analisaram *in vitro* os efeitos da irradiação do terço cervical de superfícies radiculares de 10 dentes extraídos por razões protéticas, com laser de ArF (Fluoreto de Argônio) com 193 nm de comprimento de onda, pulsado, focalizado, através de um braço articulado. A duração do pulso do laser era de 15 ns, energia

máxima de 80 mJ, com frequência de 1,3 e 10 Hz e diâmetro de saída do feixe de 0,9 mm. Após a irradiação, a polpa dos dentes foi removida e analisada em microscopia óptica e microscopia eletrônica de transmissão. Na análise de ablação dos dentes, os resultados demonstraram que o laser não promoveu carbonização em nenhum dos espécimes irradiados, além disto nos 10 casos com frequência de 1-10 Hz cáries, tecidos periodontais, placa e cálculo foram efetivamente removidos em 180 segundos. Na análise da polpa através de microscopia óptica não observaram nenhuma alteração significativa. Na análise através de microscopia eletrônica de transmissão não observaram sinais de decomposição no núcleo ou em organelas citoplasmáticas e modificação dos componentes da matriz extracelular.

Para analisar o efeito de diferentes angulações da ponta de saída do laser com as superfícies radiculares, Folwaczny et al. (2001)²⁷ realizaram estudo *in vitro* para determinar a quantidade de remoção de cimento e ou dentina de superfícies irradiadas com laser de Er:YAG, utilizando diferentes angulações da ponta de saída do feixe. Utilizaram 150 dentes extraídos, que foram divididos em três grupos de acordo com a energia utilizada: 60 mJ (Grupo A), 100 mJ (grupo B), 180 mJ (Grupo C). Em cada grupo 10 amostras foram irradiadas nas angulações de 15°, 30°, 45°, 60°, e 90° entre a ponta de saída e a superfície radicular. O laser utilizado foi de Er:YAG com comprimento de onda de 2,94 µm, duração do pulso de 250 µs e frequência de 10 Hz. Os resultados demonstraram

no grupo A profundidade de defeitos de 41,39 ($\pm 32,55$) μm com 15° de angulação e 181,39 ($\pm 74,42$) μm com angulação de 90°. No grupo B a profundidade dos defeitos variou de 51,96 ($\pm 26,86$) μm com 15° a 306,64 ($\pm 62,44$) μm com 90°. No grupo C as profundidades dos defeitos variaram de 64,73 ($\pm 27,73$) μm com 15° a 639,89 ($\pm 47,28$) μm com 90°. Os autores concluíram que dentre os parâmetros físicos de radiação, a angulação clínica da aplicação do feixe laser de Er:YAG influencia fortemente na remoção de substâncias de superfícies radiculares.

Schwarz et al. (2001)⁷⁵ compararam *in vitro* e *in vivo*, através de microscopia eletrônica de varredura, os efeitos de um laser de Er:YAG, em superfícies radiculares com envolvimento periodontal, com diferentes potências de irradiação. Quarenta e oito dentes unirradiculares (180 faces) indicados para extração foram divididos em dois grupos de 80 espécimes cada, que foram tratados *in vivo* (Grupo A) e *in vitro* imediatamente após a extração (Grupo B) com os seguintes parâmetros de energia: 120, 140, 160, 180 mJ e 10 Hz (71, 83, 94, e 106 J/cm² / pulso). As alterações morfológicas das superfícies irradiadas foram analisadas utilizando microscopia eletrônica de varredura e a severidade das alterações na superfície radicular foi avaliada de acordo com uma escala de 7 graus (1-7), e as áreas não tratadas serviram como controle. Os resultados demonstraram que o laser foi efetivo na remoção de cálculo subgengival *in vitro* e *in vivo*; as alterações morfológicas induzidas pelo laser foram maiores quando irradiado *in vitro* em todas as energias

utilizadas; predominantemente médias e severas alterações como crateras profundas foram observadas quando utilizou altas energias *in vitro* e por outro lado, *in vivo* não observaram alterações significantes no cimento; a profundidade das crateras foi proporcional a energia utilizada *in vitro*, variando de 15 a 55 μm . De acordo com os resultados do estudo a aplicação clínica do laser de Er:YAG resulta em uma superfície radicular mais lisa que *in vitro*, mesmo em altas energias.

Gaspirc & Skaleric (2001)³⁰ avaliaram *in vitro* os efeitos dos lasers de Er:YAG e Nd:YAG na morfologia, composição química e no processo de difusão de superfícies radiculares irradiadas. Sessenta raízes foram irradiadas durante 1 minuto com 60, 80 e 100 mJ/ pulso (Er:YAG) e com 0,5, 1,0 e 1,5 W (Nd:YAG). A análise das estruturas irradiadas foi realizada através de microscopia eletrônica de varredura para analisar a morfologia, espectroscopia para analisar as alterações na composição química e um sistema de imagem de ressonância eletrônica dimensional para estimar o coeficiente de difusão nas amostras radiculares. Os resultados do estudo demonstraram que o laser de Er:YAG influencia somente na morfologia e no processo de difusão das superfícies radiculares, enquanto que o laser de Nd:YAG também altera a composição química das proteínas presentes nas superfícies radiculares.

Sasaki et al. (2002)⁷³ compararam *in vitro*, através de microscopia eletrônica de varredura, a morfologia do cimento e dentina radicular após irradiação com laser de Er:YAG sem e com refrigeração à

água, com superfícies irradiadas com laser de CO₂ e com superfícies não irradiadas. O laser de Er:YAG (2,94 µm) foi utilizado com energia de 40 mJ/pulso, frequência de 10 Hz (0.4 W) com uma fibra de diâmetro de 600 µm em contato, angulada em 30° com a superfície, com e sem refrigeração à água, durante 20 segundos. A irradiação com laser de CO₂ (10,6 µm) foi realizada com potência de 0,5 W, sem refrigeração à água, em modo focalizado, com uma distância de aproximadamente 5 mm da superfície, durante 30 segundos. As superfícies irradiadas foram analisadas em aumentos de 3000 e 50000 X. Diante dos resultados, os autores concluíram que o cimento e dentina irradiado com o laser de Er:YAG apresentaram aspectos distintos de micro-rugosidades, entretanto em maiores aumentos, ambos cimento e dentina apresentaram características similares, e ainda que, o laser de CO₂ promoveu derretimento e formação de crateras nas superfícies. Além disto o uso de irrigação com água durante a irradiação minimizou os efeitos térmicos sobre as superfícies, resultando em superfície mais limpa e menos porosa.

A remoção de *smear layer* de superfícies radiculares com lasers de alta intensidade também tem sido objeto de análise de alguns autores (Misra et al., 1999; ⁴⁸ Theodoro, 2001)⁷⁹. Misra et al. (1999) ⁴⁶⁴⁸ realizaram estudo *in vitro* para avaliar os efeitos do laser de CO₂ em superfícies radiculares com comprometimento periodontal, além de comparar a eficácia na remoção de *smear layer*, com ácido cítrico, EDTA

e peróxido de hidrogênio. Os resultados demonstraram que o laser de CO₂ não foi capaz de remover *smear layer* nas áreas irradiadas por 0,2, 0,4 ou 0,6 segundos e 3 W de potência. O tempo de irradiação de 0,8 segundos com 3 W de potência foi capaz de remover *smear layer*, porém os túbulos dentinários foram parcialmente expostos. Já no tempo de 1 segundo de irradiação com 3 W, a camada de *smear layer* foi totalmente removida com mínima alteração na superfície radicular; porém, nos tempos de exposição de 1,2 e 1,4 segundos, houve a produção de crateras e carbonização, demonstrando-se totalmente ineficaz na exposição dos túbulos dentinários.

Theodoro (2001)⁷⁹ comparou *in vitro*, através de microscopia eletrônica de varredura, a ação do ácido cítrico, EDTA, ácido cítrico associado a tetraciclina e laser de Er:YAG na remoção de *smear layer* de superfícies radiculares que foram raspadas e aplainadas com instrumentos manuais. Amostras de superfícies radiculares foram obtidas de pre-molares e terceiros molares sem doença periodontal, que foram divididas em 6 grupos de acordo com o tratamento. O grupo 1 (controle) não recebeu nenhum tratamento; o grupo 2 recebeu aplicação de gel de ácido cítrico, durante 2 minutos; o grupo 3 recebeu aplicação de gel de EDTA (24%) , durante 2 minutos; o grupo 4 aplicação de ácido cítrico associado a tetraciclina, durante 2 minutos; o grupo 5 irradiação com laser de Er:YAG com 47 mJ, 10 Hz, 15 segundos (0,58 J/cm²); e o grupo 6 irradiação com laser de Er:YAG com 83 mJ, 10Hz, 15 segundos (1,03

J/cm²). A análise das fotomicrografias foram realizadas por examinadores calibrados através de um índice de remoção de *smear layer* e os resultados demonstraram que todos os tratamentos foram efetivos na remoção de *smear layer*, porém o grupo 6 foi mais efetivo que o grupo 5 e além disto as amostras irradiadas com o laser de Er:YAG apresentaram superfícies irregulares devido a ablação da dentina.

Mais recentemente têm-se estudado os efeitos da irradiação de tecidos mineralizados com o laser de Er,Cr:YSGG (*Erbium, chromium : yttrium, scandium, gallium, garnet*). Kimura et al (2001)⁴¹ analisaram *in vitro* as alterações morfológicas e atômicas (Ca/P) de superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er,Cr: YSGG (2,78 µm) com fluência de 56,6 J/cm² (energia do pulso de 250 mJ/ 20 Hz durante 5 segundos). Os resultados deste estudo demonstraram que a superfície radicular irradiada com este laser tem aspecto rugoso semelhante a de superfícies irradiadas com o laser de Er:YAG, além de ausência de carbonização, fusão e derretimento. Com relação a análise de Cálcio (Ca) e Fósforo (P), as superfícies irradiadas com laser apresentaram aumento de Ca, mas não houve diferenças na proporção Ca/P.

Com relação a adesão e proliferação de células em superfícies irradiadas com laser, Thomas et al. (1994)⁸⁴ estudaram comparativamente *in vitro* os efeitos do laser de Nd:YAG na adesão fibroblástica em superfícies radiculares. Os espécimes foram divididos em 4 grupos: controle, laser somente, laser associado ao aplainamento

radicular manual e laser associado ao jato abrasivo. O laser foi aplicado em contato com energia de 75 mJ, e frequência de 20 Hz, através de uma fibra de 320 µm de diâmetro. Na análise dos resultados, observaram que houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o tratado somente com laser; do tratado com laser seguido do jato de ar com o grupo tratado apenas com laser, havendo entre as diferenças, diminuição da adesão fibroblástica no grupo tratado apenas com laser. Isso evidencia que o laser de Nd:YAG, tem um potencial de tornar o cimento radicular incompatível biologicamente.

Ainda com relação aos efeitos da irradiação de superfícies radiculares com laser de Nd:YAG na adesão de células, Tewfik et al. (1994)⁷⁸ estudaram *in vitro* superfícies radiculares irradiadas com laser de Nd:YAG com potência de 4 W, durante 1segundo, em três diferentes distâncias de irradiação *spot-dente* (1, 3 e 5 mm), havendo conseqüentemente, liberação de diferentes níveis de energia. Na análise através de microscopia eletrônica de varredura, observaram que quando utilizavam maior nível de energia, havia formação de crateras e fissuras sobre a superfície cementária irradiada, enquanto que, com baixos níveis de energia, observaram aparente fusão de *smear layer*. Na análise de cultura de fibroblastos verificaram, com a utilização de níveis médios de energia (3 mm), diminuição na adesão celular, não significativa quando comparada ao grupo controle, e diminuição significativa da adesão fibroblástica em níveis maiores de energia (1 mm). Os autores concluíram

que a modificação na biocompatibilidade de superfícies cimentárias irradiadas com laser de Nd:YAG, depende do nível de energia aplicada.

Contraopondo-se aos achados preliminares a respeito do efeito de irradiação de superfícies radiculares com laser na adesão de fibroblastos, Feist (2002)²³ verificou a adesão e a proliferação de fibroblastos de gengiva humana sobre superfícies radiculares irradiadas com laser de Er:YAG ou instrumento manual e observou que houve um aumento significativo na adesão e na proliferação fibroblástica em superfícies irradiadas com laser de Er:YAG com 35 mJ/10 Hz (2 aplicações de 10 segundos), quando comparado ao grupo que não foi irradiado com laser a ao irradiado com o mesmo laser com 59 mJ/10 Hz.

Ainda com relação ao efeito do laser de Er:YAG na adesão de fibroblastos, Schoop et al. (2001)⁷⁴ utilizando fibroblastos originados de ratos, verificaram que o laser de Er:YAG utilizado nos parâmetros de 100 mJ/15 Hz (5,98 J/cm²) com angulação de 45°, com 5 irradiações de 5 segundos e intervalos de 15 segundos de duração entre as irradiações, combinado ou não à raspagem e aplainamento radicular oferece melhores condições de aderência de fibroblastos que superfícies radiculares tratadas apenas com raspagem e aplainamento radicular.

Utilizando também fibroblastos de linhagem contínua, Crespi et al. (2002)²⁰ demonstraram *in vitro* que superfícies radiculares acometidas por doença periodontal irradiadas com laser de CO₂ seguida de raspagem

com ultrassom apresentaram maior adesão de fibroblastos que superfícies apenas raspadas com instrumentos manuais.

Já com relação a irradiação de superfícies radiculares com laser de Diodo, poucos são os trabalhos relatados na literatura (Kreisl et al., 2001; ⁴² Kreisl et al., 2002; ⁴¹ Theodoro et al., 2003) ⁸⁰. O laser de Diodo não tem capacidade de promover a remoção de tecidos mineralizados, devido ao seu comprimento de onda ser fracamente absorvido pela água e desta forma a utilização deste laser em superfícies radiculares tem como objetivo principal promover redução bacteriana, tornando-se um tratamento coadjuvante à raspagem e aplainamento radicular com instrumentos convencionais.

Kreisl et al. (2001) ⁴² analisaram *in vitro* o efeito do tratamento de espécimes de raiz com laser de Diodo GaAlAs (810 nm) na adesão de células do ligamento periodontal, através de microscopia eletrônica de varredura. Foram utilizadas espécimes obtidas de superfícies radiculares de dentes extraídos por doença periodontal. Cento e cinquenta espécimes de raízes foram inicialmente raspadas e aplainadas com curetas manuais seguida de tratamento com jato de ar abrasivo. A seguir 75 espécimes foram irradiadas com laser e 75 não sofreram nenhum tratamento (controle). O laser foi aplicado em forma de varredura perpendicularmente à uma distância de 0,5 mm dos espécimes, em modo contínuo, com potência de 1,0 W, e utilizando uma fibra de 600 µm, durante 20 segundos. Não houve diferenças estatisticamente significantes na

densidade de células do ligamento periodontal sobre as superfícies, entre os grupos. Diante dos resultados concluíram que a irradiação de raízes com laser de diodo nos parâmetros utilizados não promove efeitos adversos na adesão celular, porém sugerem que novos estudos devam ser realizados para analisar a indicação deste laser na descontaminação de bolsas periodontais, já que ainda mantém-se questionável o fato deste tratamento promover benefícios na formação de um novo tecido conjuntivo.

Outro estudo, de Kreisler et al. (2002)⁴¹, demonstrou que o laser de Diodo-GaAlAs (809 nm) no modo contínuo de operação com uma fibra óptica de 600 µm de diâmetro com 0,5 mm de distância dos espécimes, nos ângulos de 10° e 90°, com tempos de exposição de 10, 20 e 30 segundos com o tecido, pode promover danos térmicos na superfície radicular, quando irradiado com as potências de 1,5, 2,0 e 2,5 W, resultando em parcial ou total carbonização dos espécimes irradiados, e ainda, que o ângulo de irradiação tem efeito significativo no dano da superfície radicular. Por outro lado utilizando a mesma forma de irradiação descrita anteriormente não observaram nenhum dano térmico na superfície radicular, como carbonização, quando utilizaram as potências de 0,5 e 1,0 W.

Com relação aos efeitos térmicos ocasionados por este laser Theodoro et al. (2003)⁸⁰ demonstraram *in vitro* que a irradiação de superfícies radiculares com o laser de Diodo (GaAlAs), com 810 nm de

comprimento de onda, não provoca danos indesejáveis na temperatura intra-pulpar quando irradiado durante 30 segundos no modo de aplicação interrompido (0,05 ms), nos parâmetros de 1250 W/cm² (1 W) e 1750 W/cm² (1,4 W), com a fibra posicionada perpendicularmente à superfície radicular, e não provoca danos térmicos na superfície radicular como carbonização. Porém é sugerido neste estudo que se aumentarmos alguns destes parâmetros poderemos promover aumentos indesejáveis da temperatura intra-pulpar (acima de 5°C). Além disto na análise das áreas irradiadas, em microscopia eletrônica de varredura, não verificaram carbonização, derretimento, crateras ou fusão do cimento.

Os estudos, até então encontrados na literatura, tem evidenciado que o laser de Diodo deve ser utilizado com muita prudência nas superfícies radiculares, para que parâmetros inadequados não provoquem danos térmicos indesejáveis aos tecidos pulpare e cementário e dentinário.

Por outro lado, ainda são raros os trabalhos clínicos controlados encontrados na literatura, que demonstrem os efeitos da utilização do laser de Er:YAG em superfícies radiculares, sejam eles como instrumento para raspagem radicular (Schwarz et al., 2001)⁷⁶ ou como coadjuvante deste procedimento .

Schwarz et al. (2001)⁷⁶ compararam a efetividade do laser de Er:YAG à raspagem e aplainamento radicular no tratamento periodontal não cirúrgico. Vinte pacientes com doença periodontal de avançada a

moderada foram tratados sob anestesia local e foi realizado um estudo de boca dividida, aleatório, comparando a irradiação de superfícies radiculares com laser de Er:YAG com 160 mJ/pulso e frequência de 10 Hz, com raspagem e aplainamento radicular com instrumentos manuais. Os parâmetros clínicos utilizados para avaliação foram índice de placa, índice gengival, sangramento à sondagem, profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção clínica no início, 3 e 6 meses, com auxílio de sonda periodontal manual, realizados por um único examinador calibrado ($\geq 90\%$) que não foi o mesmo que realizou os tratamentos, além de análise microbiológica. Os resultados clínicos demonstraram que ambos os tratamentos foram efetivos no tratamento periodontal e que houve maior redução de sangramento à sondagem e melhora no nível de inserção clínica no grupo tratado com laser quando comparado com o grupo controle nos 3 e 6 meses ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,001$, respectivamente). Ambos os grupos demonstraram significativo aumento no número de cocos e bastonetes imóveis e diminuição nos bastonetes móveis e espiroquetas.

Além da escassez de estudos clínicos é quase que inexistente na literatura, estudos que demonstrem os efeitos desta irradiação no reparo dos tecidos periodontais comprometidos por doença periodontal, seja em animais ou em humanos.

Por outro lado Baker et al. (2000)⁸ desenvolveram uma metodologia *in vitro*, para avaliar protocolos de condicionamento da

superfície radicular nos procedimentos periodontais regenerativos. Esta metodologia baseou-se em analisar os efeitos do condicionamento radicular nos eventos iniciais do reparo dos tecidos periodontais. Através da deposição de tecido sanguíneo humano, sobre amostras de superfícies radiculares previamente tratadas com ácido cítrico, os autores avaliaram, através de microscopia eletrônica de varredura, a adesão de fibrina e adsorção de células sanguíneas sobre as mesmas. Diante dos resultados obtidos no estudo, os autores sugerem que este modelo de estudo deve efetivamente distinguir superfícies radiculares com potencial para aumentar a adsorção e adesão de elementos sanguíneos.

3. PROPOSIÇÃO

Constitui propósito do presente estudo analisar, através de microscopia eletrônica de varredura, a ação do laser de Er:YAG e do laser de Diodo, na adesão de elementos sangüíneos e na morfologia de superfícies radiculares irradiadas .

4. MATERIAL E MÉTODO

O projeto de pesquisa deste estudo foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP (Ofício CEP-FO/Car.nº220/2002-Anexo). Foram utilizados no presente estudo 30 dentes unirradiculares de pacientes não fumantes, extraídos por doença periodontal severa (perda de inserção de mais de um terço da raiz). Estes dentes foram obtidos no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia - Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, após Consentimento Livre e Esclarecido do paciente e assinatura de Termo de Doação pelos mesmos.

Preparação da amostra

Após a extração, os dentes foram lavados em água destilada, para a remoção de sangue e outros depósitos e mantidos em temperatura ambiente em solução de tampão fosfatado pH 7,0 (PBS), para manter a sua hidratação até a realização do experimento. Os cuidados na seleção de dentes com envolvimento periodontal e a manutenção dos dentes hidratados, tem como objetivo padronizar os dentes irradiados, já que alguns fatores como espessura do cimento e

presença de água podem influenciar a difusão térmica e alterar o grau de absorção da radiação laser.

Nos dentes selecionados, o terço cervical (mesial e distal), das raízes foi delimitado por dois sulcos paralelos realizados com auxílio de broca carbide multilaminada (7664F-KG Sorensen, Barueri, SP), sendo um no limite esmalte-cimento e outro distando aproximadamente 5 mm na superfície radicular. As áreas delimitadas pelos sulcos foram raspadas e aplainadas, por um único operador, que empregou 50 movimentos de tração cérvico-oclusal por intermédio de cureta manual (Cureta de Gracey nº. 5-6, Hu-Friedy®, USA). A seguir, com auxílio de um disco diamantado montado em baixa rotação (KG Sorensen, Barueri, SP), foi realizada a secção dos dentes da seguinte forma: remoção da coroa dentária no sulco previamente realizado no limite esmalte-cimento; secção longitudinal no sentido vestibulo-lingual; corte longitudinal no sentido mesio-distal na porção média da raiz e, a seguir, secção no sulco apical ao limite esmalte-cimento obtendo desta forma, 2 fragmentos da superfície mesial e dois da distal, medindo aproximadamente 1 mm de espessura e com tamanho de 2 mm x 2 mm (Figura 1), totalizando 4 amostras por dente e consequentemente 120 amostras .

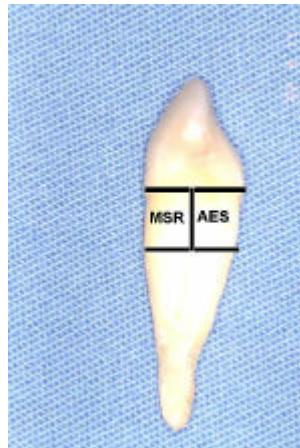


FIGURA 1. Elemento dentário demonstrando a área de obtenção de duas amostras de uma superfície proximal. Uma amostra para analisar a adesão de elementos sanguíneos (AES) e outra para analisar a morfologia da superfície radicular (MSR).

As duas amostras obtidas da mesma superfície, mesial ou distal foram mantidas em um mesmo frasco identificado e contendo PBS, totalizando 60 frascos os quais foram divididos aleatoriamente em 6 grupos de 10 frascos cada um, com 20 amostras cada grupo. Após a divisão aleatória das amostras entre os grupos, as duas amostras de cada frasco foram fixadas, através de cera utilidade, isoladamente em diferentes suportes plásticos (Figura 2), identificados com a mesma numeração, com o objetivo de identificar as duas amostras de cada superfície que receberam os seguintes tratamentos:

No **Grupo 1 (G1)**, considerado como **Grupo Controle**, as amostras não receberam nenhum tratamento além da raspagem e

aplainamento radicular previamente realizada, e irrigação com 10 ml de água destilada com auxílio de seringa e agulha hipodérmica.

No **Grupo 2 (G2)**, as amostras receberam aplicação tópica de EDTA à 24% , pH 6,7 (Pref-Gel™, Biora AB, Malmö, Suécia), na forma de gel, seguido de irrigação com 10 ml de água destilada.

No **Grupo 3 (G3)**, as amostras receberam irradiação com laser de Er:YAG (Kavo Key Laser, Kavo, Alemanha) com comprimento de onda de 2,94 μm , 60 mJ de energia selecionado no painel do equipamento (42 mJ) e frequência de 10 Hz, durante 15 segundos (150 pulsos), fluência do pulso de 7,6 J/cm^2 , focalizado, com a fibra posicionada perpendicularmente à superfície radicular, com refrigeração à água seguido de irrigação com 10 ml de água destilada.

No **Grupo 4 (G4)**, as amostras foram irradiadas com laser de Er:YAG, (KaVo Key Laser, KaVo, Alemanha) com comprimento de onda de 2,94 μm , 100 mJ de energia selecionado no painel do equipamento (71 mJ) e frequência de 10 Hz, durante 15 segundos (150 pulsos), fluência do pulso de 12,9 J/cm^2 , focalizado, com a fibra posicionada perpendicularmente à superfície radicular, com refrigeração à água seguido de irrigação com 10 ml de água destilada.

No **Grupo 5 (G5)**, as amostras foram irradiadas com laser de Diodo de AsGaAl com comprimento de onda de 808 nm (Soft Lase Zap Laser, Pleasant Hill, California, USA), com potência de 1,0 W (0,9 W), no modo interrompido (0,05 ms) durante 15 segundos, diâmetro da fibra

de 400 μm , fluência do pulso de 90 J/cm^2 , seguido de irrigação com 10 ml de água destilada.

No **Grupo 6 (G6)**, as amostras foram irradiadas com laser de Diodo de AsGaAl com comprimento de onda de 808 nm (Soft Lase, Zap Laser, Pleasant Hill, Califórnia, USA), com potência de 1,2 W (1,08 W), no modo interrompido (0,05 ms) durante 15 segundos, diâmetro da fibra de 400 μm , fluência do pulso de 108 J/cm^2 , seguido de irrigação com 10 ml de água destilada.

Após receberem os tratamentos propostos, 10 amostras de cada grupo foram submetidas a deposição de tecido sangüíneo e as outras 10 não receberam nenhum outro tratamento, para que se pudesse analisar a morfologia e a adesão de elementos sanguíneos, após os tratamentos, na mesma face radicular.

Nas amostras do grupo 2 (G2), o EDTA 24% na forma de gel foi aplicado com um pincel macio movimentando-o, durante 3 minutos, sendo que de 30 em 30 segundos o pincel era mergulhado no EDTA para renovar a quantidade do gel (Figura 3).

Parâmetros do equipamento laser de Er:YAG utilizados nos G3 e G4:

- **Emissor** Er:YAG (KaVo Key Laser, KaVo, Alemanha) (Figura 4)
- **Comprimento de onda:** 2,94 μm
- **Duração de pulso variável entre :** 250 e 500 μs
- **Laser pulsado** - focalizado
- **Forma de aplicação:** laser sem contato – varredura (0,05 mm)

- **Peça de mão:** 2056
- **Dimensões da fibra:** 1,1mm x 0,5 mm (*retangular*)
Área: 0,55 mm²
Fator de transmissão: 0,71 (dado pelo fabricante)
- **Energia:** 60 mJ (*painel*) - 42 mJ (*transmitida*)-G3
100 mJ (*painel*) - 71 mJ (*transmitida*) – G4
- **Fluência do pulso:** 7,6 J/cm² (42 mJ) e 12,9 J/cm² (71 mJ)
- **Frequência:** 10 Hz
- **Intensidade de potência:** 76,3636 W/cm² (G3) e 129,0909 W/cm² (G4)
- **Tempo de exposição:** 15 s
- **Energia total:** 6,30 J (42 mJ) e 10,650 J (71 mJ)
- **Sistema de refrigeração:** água (spray).

Parâmetros do equipamento Laser de Diodo (AsGaAl) utilizados nos G5 e G6:

- **Emissor** AsGaAl (Soft Lase, Zap Laser,Pleasant Hill, Califórnia, USA) (Figura 5)
- **Comprimento de onda:** 808 nm ±5 nm
- **Duração de pulso :** 0,05 ms
- **Modo de operação:** interrompido
- **Forma de aplicação:** laser em contato – varredura .
- **Diâmetro da Fibra:** 400 µm
Área: 0,001 cm²
Fator de transmissão: 0,9 (Apêndice 1)
- **Potência:** G5 - 1,0 W (painel) e 0,9 W (potência de saída)
G6 - 1,2 W (painel) e 1,08 W (potência de saída)
- **Energia:** 90 mJ (G5) e 108 mJ (G6)
- **Fluência do pulso:** 90 J/cm² (G5) e 108 J/cm² (G6)
- **Frequência:** 10 Hz
- **Intensidade de Potência:** 900 W/cm² (G5) e 1080 W/cm² (G6)

- **Tempo de exposição:** 15 s
- **Energia total:** 13,5 J (G5) e 16,2 J (G6)
- **Sistema de refrigeração:** ausente

Nas amostras dos G3, G4, G5 e G6, que foram irradiadas com os lasers, a fibra óptica do laser de Er:YAG e do Diodo foi posicionada com a saída do feixe perpendicular a superfície irradiada. Os lasers irradiaram as amostras através de movimento de varredura, da esquerda para a direita e vice-versa, durante 15 segundos (Figuras 6 e 7), de tal forma que a amostra em toda a sua extensão fosse irradiada.

Todas as amostras foram irrigadas com 10 ml de água destilada, com auxílio de seringa e agulha hipodérmica descartável, após receberem os tratamentos propostos.

Processamento para Análise da Adesão de Elementos Sanguíneos

Após os tratamentos propostos das amostras foram obtidos 10 ml de tecido sanguíneo, através de punção com auxílio de seringa e agulha descartável da vascularização periférica de um paciente adulto, do sexo feminino, não fumante, sem comprometimento sistêmico, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, após lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .

Imediatamente após a coleta do sangue, o mesmo, com auxílio da seringa e agulha utilizada anteriormente para sua punção e

sem coagular, foi depositado nas dez amostras de cada grupo, até o preenchimento de toda a amostra, que foram mantidas fixas nos suportes com cera. A seguir as amostras permaneceram durante 20 minutos em uma câmara umidificadora e em seguida, lavadas por 3 vezes, durante 5 minutos cada uma com PBS, com auxílio de um agitador (Baker et al., 2000)⁸.

Na sequência, as dez amostras foram fixadas em solução de formaldeído 1% em solução de tampão fosfatado durante 15 minutos. Após 3 lavagens de 5 minutos cada uma, com solução de tampão fosfatado, as amostras foram incubadas durante 10 minutos em 0,02 M de glicina em solução de tampão fosfatado e lavadas novamente como descrito anteriormente. Posteriormente foram fixadas em 2,5% de glutaraldeído em solução de tampão fosfatado durante 30 minutos e lavadas nas mesmas condições anteriormente descritas (Baker et al., 2000)⁸.

Todas as dez amostras de cada grupo foram desidratadas em uma série de etanol: 25%, 50%, 75%, 95% e 100% durante 10 minutos em cada solução. A seguir, as amostras foram levadas em um equipamento de ponto crítico com CO₂ (Baltec CPD 030, USA), para secagem.

Na sequência todas as dez amostras de cada grupo foram coladas em *stubs* metálicos codificados e mantidos em dessecador à vácuo durante 3 dias e após este período, seguiram o processo de

metalização por *sputtering* em equipamento específico (Balt-Tec SCD-050, EUA), com tempo de 120 segundos e a seguir foram analisadas em Microscopia Eletrônica de Varredura.

Processamento para Análise da Morfologia da Superfície Radicular

As dez amostras de cada grupo que não receberam tecido sanguíneo, imediatamente após receberem os tratamentos propostos, foram fixadas em 2,5% de glutaraldeído em solução de tampão fosfatado durante 30 minutos, e lavadas 3 vezes com PBS durante 5 minutos cada, com auxílio de um agitador. Na sequência as amostras de cada grupo foram desidratadas em uma série de etanol: 25%, 50%, 75%, 95% e 100% durante 10 minutos em cada solução.

Após a desidratação, foram secas em ambiente durante 20 minutos e na sequência, todas as dez amostras de cada grupo foram coladas em *stubs* metálicos codificados e mantidos em dessecador à vácuo durante 3 dias. Após este período, as amostras sofreram o processo de metalização por *sputtering* em equipamento específico (Balt-Tec SCD-050, USA) durante 120 segundos e analisadas em Microscopia Eletrônica de Varredura.

Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

A obtenção das fotomicrografias através da Microscopia Eletrônica de Varredura com 20 kV (Jeol-JSM-T330A, Tokyo, Japão), de todas as amostras de todos os grupos, foi realizada pelo técnico responsável, com auxílio do pesquisador responsável sendo que as amostras não foram identificadas no momento da análise, pois os *stubs* estavam codificados. Foram obtidas três fotomicrografias aleatórias de áreas distintas (superior direita, central e inferior esquerda) das amostras tratadas com tecido sanguíneo, com aumento de 2000 X.

Nas amostras que não receberam o tecido sanguíneo foi obtida uma fotomicrografia na porção central da amostra com aumento de 2000 X. Todas as fotomicrografias foram obtidas com filme específico (Neopan, Fuji Film 120 SS, Japão).

Análise das Fotomicrografias

Após obtidas as fotomicrografias, as mesmas foram identificadas e analisadas através de índices, especificamente propostos, para verificar a adesão de elementos sanguíneos e para analisar as características morfológicas obtidas após os tratamentos.

As fotomicrografias obtidas das amostras que receberam tecido sanguíneo (n=30) foram examinadas por um único examinador

previamente calibrado, em um índice **de Adesão de Elementos Sanguíneos** (AES):

- (0) - ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas ;
- (1) – escassa rede de fibrina e ou de células sanguíneas;
- (2) - moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento;
- (3) – densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas.

A calibração prévia do examinador foi realizada após a análise das fotomicrografias em um outro estudo, onde 3 examinadores realizaram 3 leituras de cada fotomicrografia, em momentos diferentes (intervalo de 7 dias). Os dados obtidos foram analisados através da análise de Concordância de Kendall para avaliar a concordância intra-examinador, utilizando os valores das 3 leituras, para cada um dos 3 examinadores, e a seguir este mesmo teste para avaliar a concordância inter-examinadores, utilizando-se os valores da coluna do índice atribuído a cada amostra ($p \leq 0,01$).

Em ambos os casos houve um grau de concordância estatisticamente significativa ($p=0,01$), tanto para concordância intra-examinador e inter-examinadores, o que equivale dizer que a chance desta concordância ter ocorrido meramente pelo acaso é de apenas 1%.

Para a obtenção do índice de cada fotomicrografia, o examinador realizou 3 leituras de cada fotomicrografia com intervalos de

no mínimo 7 dias e após a tabulação dos dados foi selecionado o índice de maior frequência entre as 3 leituras, como sendo o índice proposto para cada fotomicrografia. Os dados obtidos foram enviados para a análise estatística com o objetivo de verificar se havia diferenças estatisticamente significantes entre os tratamentos propostos, quanto a adesão de elementos sanguíneos.

Para a análise das fotomicrografias das amostras que não receberam o tecido sanguíneo (n=10) foi proposto e utilizado um índice de análise da **Morfologia da Superfície Radicular (MSR)**:

- (1) – superfície radicular regular, lisa, e obliteração de túbulos dentinários;
- (2) – superfície radicular regular, lisa e exposição de túbulos dentinários;
- (3) - superfície radicular irregular, e obliteração de túbulos dentinários;
- (4) – superfície radicular irregular, e exposição de túbulos dentinários;
- (5) – superfície radicular irregular, rugosa, e obliteração de túbulos dentinários;
- (6) - superfície radicular irregular, rugosa e exposição dos túbulos dentinários.

A análise foi realizada por um examinador previamente calibrado, da mesma forma que foi realizada nos espécimes que receberam o tecido sanguíneo. A calibração do examinador foi realizada previamente com o auxílio da leitura de um outro examinador e os dados obtidos foram analisados para verificar a concordância inter-examinadores

e intra-examinador através do coeficiente de Concordância de Kendall ($p < 0,001$).

Análise Estatística

As variáveis ordinais dependentes “Índice de Adesão de Elementos Sanguíneos” e “Índice de Análise da Morfologia da Superfície Radicular” foram avaliadas segundo grupos experimentais (1 a 6) empregando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, adotando-se como nível de significância o valor de 0,05. Desta forma, se $p > 0,05$ a hipótese de nulidade (H_0), pela qual todos os grupos experimentais apresentariam igual índice de adesão de elementos sanguíneos ou da morfologia da superfície radicular seria aceita. Como o valor de p foi $p \leq 0,05$, então H_0 foi rejeitada. Neste caso, a comparação entre os postos médios das amostras foi efetuada, através do teste de Mann Whitney, adotando-se também um nível de significância de 0,05 utilizando um programa computacional (Bioestat, Brasil).

Além de analisar o efeito dos tratamentos propostos sobre a adesão de elementos sanguíneos e sobre o aspecto da morfologia radicular, foi realizada uma análise para avaliar a correlação entre a adesão de elementos sanguíneos e a morfologia da superfície radicular tratada. Para analisar a correlação entre a adesão de elementos sanguíneos e o aspecto da morfologia da superfície radicular o índice de **Adesão de Elementos Sanguíneos** foi dicotomizado (0 e 1 = 0; 2 e 3 = 1)

e distribuído às amostras que foram analisadas. Após a dicotomização das amostras foi confeccionada uma tabela que continha o número de amostras que apresentavam graus 0 e 1 (dicotomizado) em cada índice de análise da **Morfologia da Superfície Radicular** (1 - 6). Estes dados foram analisados através da Análise de Concordância de Kendall com 5% de nível de significância.

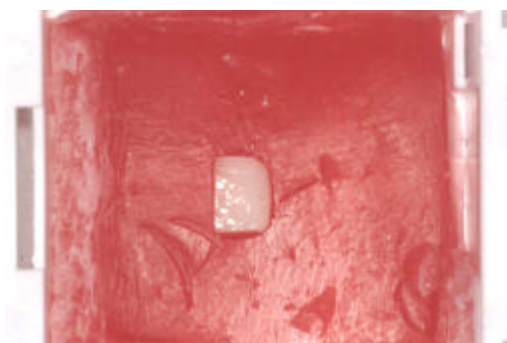


FIGURA 2- Amostra radicular aderida em cera sobre suporte plástico.

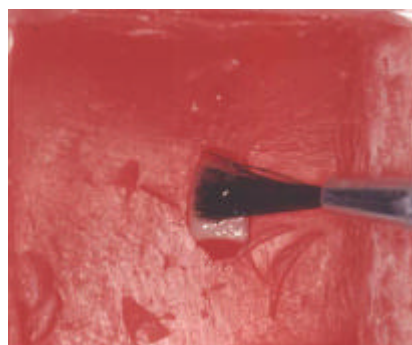


FIGURA 3- Aplicação do gel de EDTA 24% com pincel sobre amostra radicular .



FIGURA 4- Laser de Er:YAG 2,94 μ m (Kavo Key Laser, Kavo, Alemanha).



FIGURA 5- Laser de Diodo 808nm (Soft Lase, Zap Laser, USA).

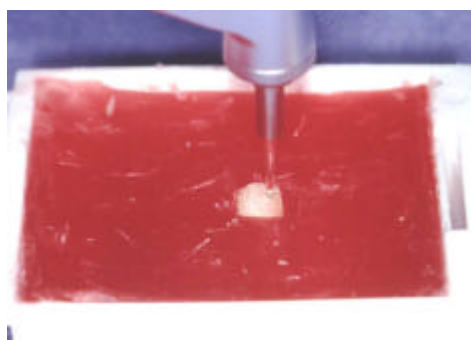


FIGURA 6- Irradiação de amostra com laser de Er:YAG (G3 e G4).

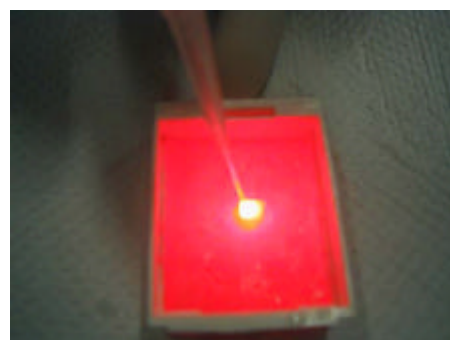


FIGURA 7- Irradiação de amostra com laser de Diodo (G5 e G6).

5.RESULTADO

Os resultados obtidos a partir de índices atribuídos a cada uma das fotomicrografias analisadas (Apêndice 1) serão apresentados em dois tópicos separadamente: primeiramente a análise descritiva dos achados relativos as amostras submetidas a deposição de tecido sanguíneo e as não submetidas, além da apresentação das fotomicrografias obtidas, e posteriormente, a análise estatística dos dados coletados através dos índices de adesão de elementos sanguíneos e de análise da morfologia da superfície radicular, dado a cada fotomicrografia, bem como a correlação entre os dados.

5.1.Análise Descritiva

a) *Amostras submetidas a deposição de tecido sanguíneo*

(Gráfico1):

No grupo 1 (controle), onde as amostras receberam, após a instrumentação mecânica, apenas irrigação com água destilada, observou-se que a maioria das fotomicrografias (15) apresentaram índice AES 3 (Figuras 8, 9 e 10), caracterizado pela presença de uma densa rede de fibrina, com grande entrelaçamento e aprisionamento de células sanguíneas; seguida do índice 0 (8) onde as fotomicrografias não apresentaram rede de fibrina e de células

sanguíneas. Outras cinco apresentaram índice AES 2, enquanto que outras duas restantes, apresentaram escassa rede de fibrina com poucas células sanguíneas (AES 1), demonstrando desta forma a grande variabilidade de achados no mesmo grupo experimental.

No grupo 2, onde as amostras receberam, após a instrumentação radicular, aplicação de gel de EDTA 24%, foi quase unânime o índice AES 0 na leitura das fotomicrografias (29) (Figuras 12, 13 e 14), que é caracterizado pela ausência total da rede de fibrina. Por outro lado, em apenas uma fotomicrografia houve a presença de uma escassa rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 1). Também ficou evidente nestas fotomicrografias a exposição de fibras colágenas nas superfícies radiculares (Figuras 12,13 e 14).

No grupo 3, onde as amostras foram submetidas, após a instrumentação mecânica, à irradiação com o laser de Er:YAG (7,6 J/cm²), pode-se observar que a maioria das fotomicrografias apresentaram índices AES 2 (10) e 3 (10) (Figuras 16, 17 e 18) demonstrando moderada ou densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e aprisionamento de células sanguíneas; seguidas do índice AES 1, com oito fotomicrografias e apenas duas fotomicrografias não apresentaram evidências de rede de fibrina e de células sanguíneas aderidas na superfície radicular (AES 0). Na

maioria das fotomicrografias deste grupo houve evidências de maior adesão de células sanguíneas aderidas nas superfícies irradiadas (Figuras 16 e 18).

No grupo 4, onde as amostras foram irradiadas, após a instrumentação mecânica com laser de Er:YAG ($12,9 \text{ J/cm}^2$), a maioria das fotomicrografias apresentaram índices AES 2 (8) e 3 (12) (Figuras 21 e 22), demonstrando moderada ou densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas, e em outras dez houve escassa rede de fibrina e ou de células sanguíneas (AES 1) (Figura 20), além disto, nenhuma fotomicrografia demonstrou ausência de rede de fibrina.

No grupo 5, onde as amostras foram, após a instrumentação mecânica, irradiadas com o laser de Diodo (90 J/cm^2), dezessete fotomicrografias não apresentaram adesão de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0) (Figuras 24, 25 e 26); cinco apresentaram escassa rede de fibrina e ou de células sanguíneas (AES 1), enquanto que apenas oito fotomicrografias demonstraram moderada (1) ou densa rede de fibrina (7) aderidas na superfície.

No grupo 6, onde as amostras foram, após a instrumentação mecânica, submetidas à irradiação com laser de Diodo (108 J/cm^2),

pode-se observar que predominou o índice AES 0 (16), demonstrando que na maioria das fotomicrografias não houve adesão de elementos sanguíneos, enquanto que em oito fotomicrografias houve a adesão de densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e aprisionamento de células sanguíneas (AES 3) (Figuras 28 e 29), e ainda em três fotomicrografias houve a presença de escassa (AES 1) e em três de moderada rede de fibrina (AES 2) (Figura 30).

GRÁFICO 1 Gráfico representativo do número de amostras em cada índice AES por grupo experimental.

b) Amostras não submetidas a deposição de tecido sanguíneo (Gráfico 2):

No grupo 1 (controle), onde as amostras receberam, após a instrumentação mecânica, apenas a irrigação com água destilada, seis fotomicrografias apresentaram superfície radicular regular, lisa e sem exposição de túbulos dentinários (MSR 1); três apresentaram superfície

radicular irregular sem exposição de túbulos dentinários (MSR 3) , e uma fotomicrografia apresentou uma superfície radicular irregular e rugosa sem exposição de túbulos dentinários (MSR 5) (Figura 11), além do que foi evidente em todas as amostras a presença de *smear layer* e de ranhuras produzidas pela instrumentação manual.

No grupo 2, em que as amostras, após a instrumentação mecânica, foram submetidas a aplicação do gel de EDTA 24 %, houve uma grande variabilidade no aspecto morfológico da superfície radicular, apesar de que em todas fotomicrografias não houve a presença de *smear layer*. Duas fotomicrografias apresentaram superfície radicular regular, lisa e com obliteração de túbulos dentinários (MSR 1), quatro apresentavam também superfície radicular regular, lisa porém com exposição de túbulos dentinários (MSR 2); enquanto que quatro fotomicrografias apresentavam superfície radicular irregular, rugosa com presença de material fibrilar semelhante a fibrilas colágenas, sendo que destas, duas não apresentavam exposição de túbulos dentinários (MSR 5) (Figura 15) e duas apresentavam exposição de túbulos dentinários (MSR 6).

No Grupo 3, onde as amostras, após instrumentação manual, foram irradiadas com laser de Er:YAG (7,6 J/cm²), as fotomicrografias apresentaram aspecto uniforme (10), caracterizado por aspecto irregular com presença de micro-rugosidades uniforme por toda a sua extensão,

semelhante a escamas sobrepostas e obliteração de túbulos dentinários (MSR 5) além de ausência de *smear layer* (Figura 19).

No Grupo 4, onde as amostras, após instrumentação manual, foram irradiadas com laser de Er:YAG ($12,9 \text{ J/cm}^2$), as fotomicrografias também apresentaram morfologia uniforme (10), com aspecto irregular com presença de micro-rugosidades uniforme por toda a sua extensão, semelhante a escamas sobrepostas e obliteração de túbulos dentinários (MSR 5) além de ausência de *smear layer*, semelhante ao grupo 3 (Figura 23).

No Grupo 5 , em que as amostras, após instrumentação manual, foram irradiadas com laser de Diodo (90 J/cm^2), seis fotomicrografias apresentaram superfície radicular irregular e obliteração de túbulos dentinários (MSR 3) (Figura 27); enquanto que quatro fotomicrografias apresentaram superfície radicular também irregular, porém rugosa e com obliteração de túbulos dentinários (MSR 5), além disto ficou evidente a presença de *smear layer* sobre as superfícies irradiadas sem evidências de alteração na morfologia da superfície radicular.

No Grupo 6, onde as amostras, após instrumentação manual, foram irradiadas com laser de Diodo (108 J/cm^2), todas as

fotomicrografias apresentaram superfície radicular irregular e obliteração de túbulos dentinários (MSR 3) além da presença de *smear layer*, sem evidências de alteração na morfologia da superfície radicular (Figura 31).

GRÁFICO 2 - Gráfico representativo do número de amostras em cada índice MSR por cada grupo experimental.

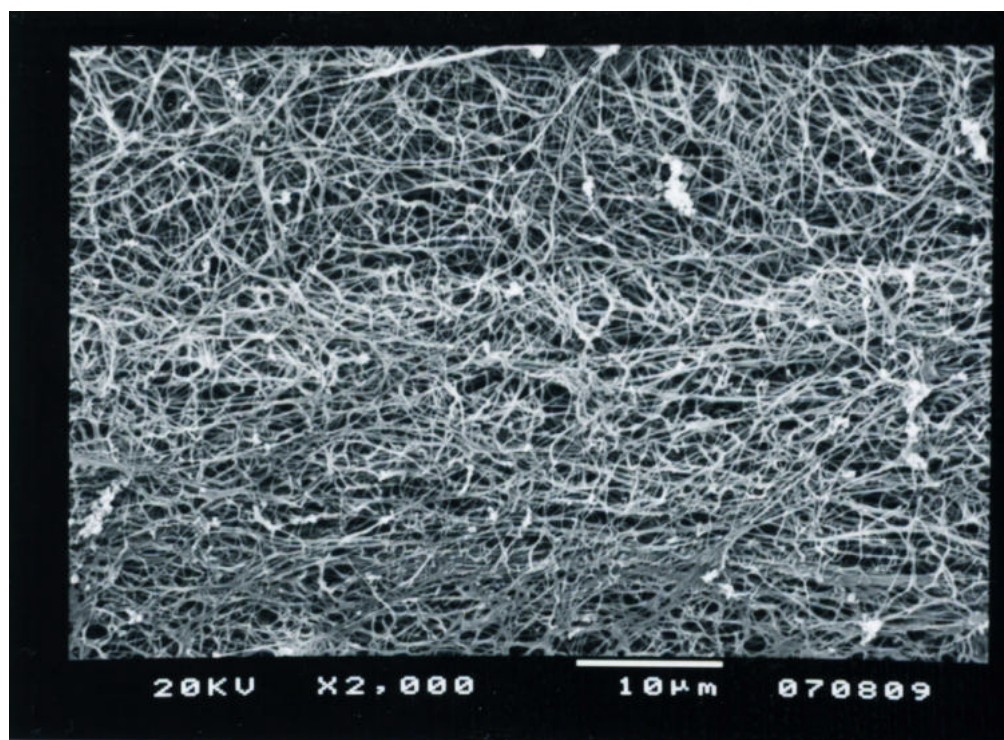


FIGURA 8- Grupo 1 (controle). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3) . Aumento original 2000X.

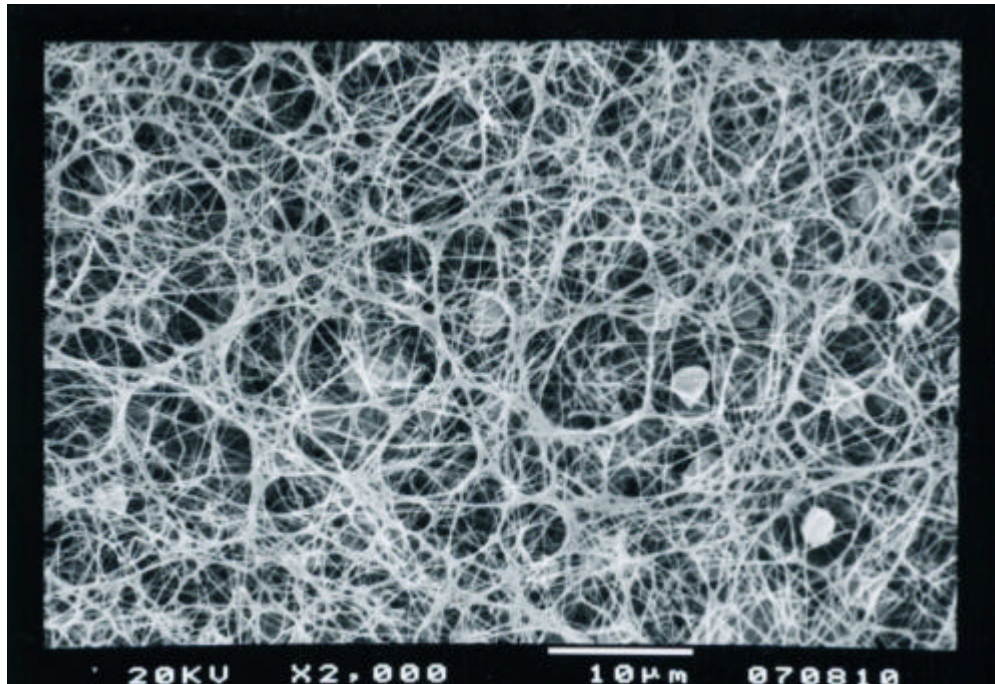


FIGURA 9 - Grupo 1 (controle). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.

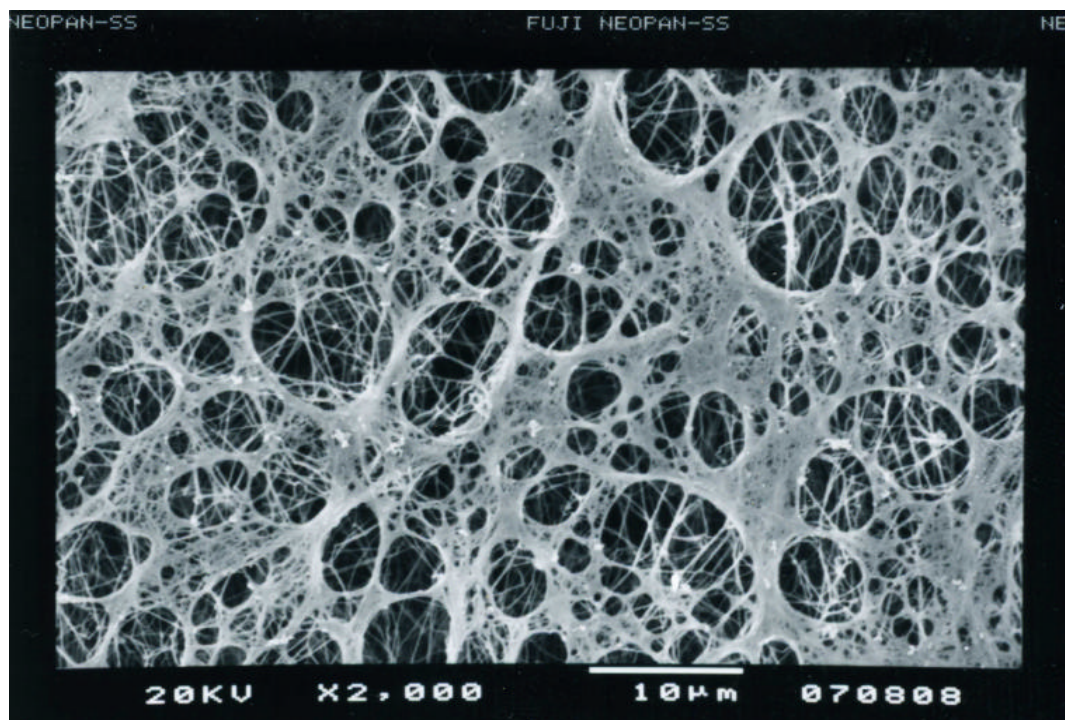


FIGURA 10 - Grupo 1 (controle). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). Aumento original 2000X.

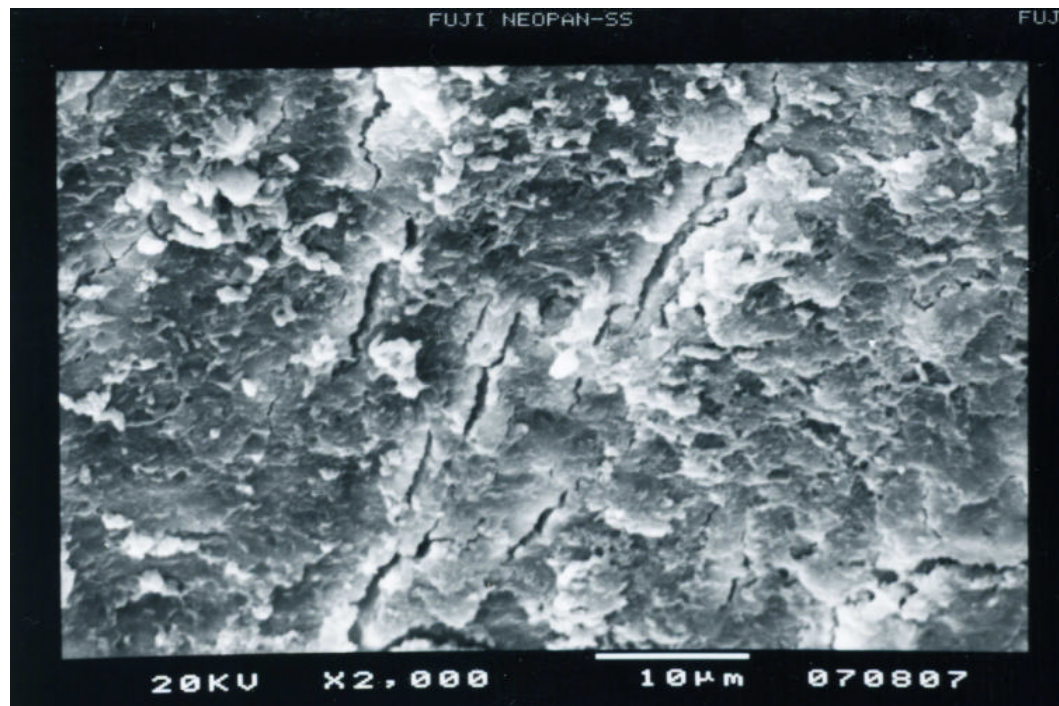


FIGURA 11- Grupo 1 (controle) . Superfície radicular irregular, rugosa com presença de *smear layer* e obliteração de túbulos dentinários (MSR 5). Aumento original 2000X.

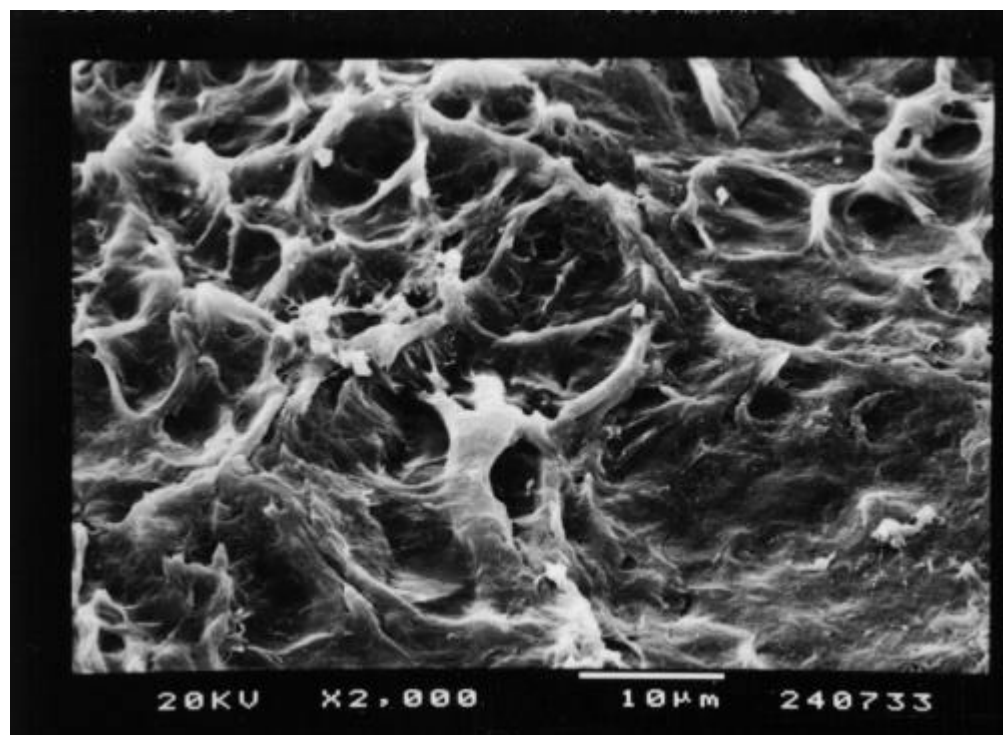


FIGURA 12 - Grupo 2 (EDTA 24 %). Superfície radicular sem rede de fibrina e de células sanguíneas, com exposição de fibras colágenas (AES 0). Aumento original 2000X.

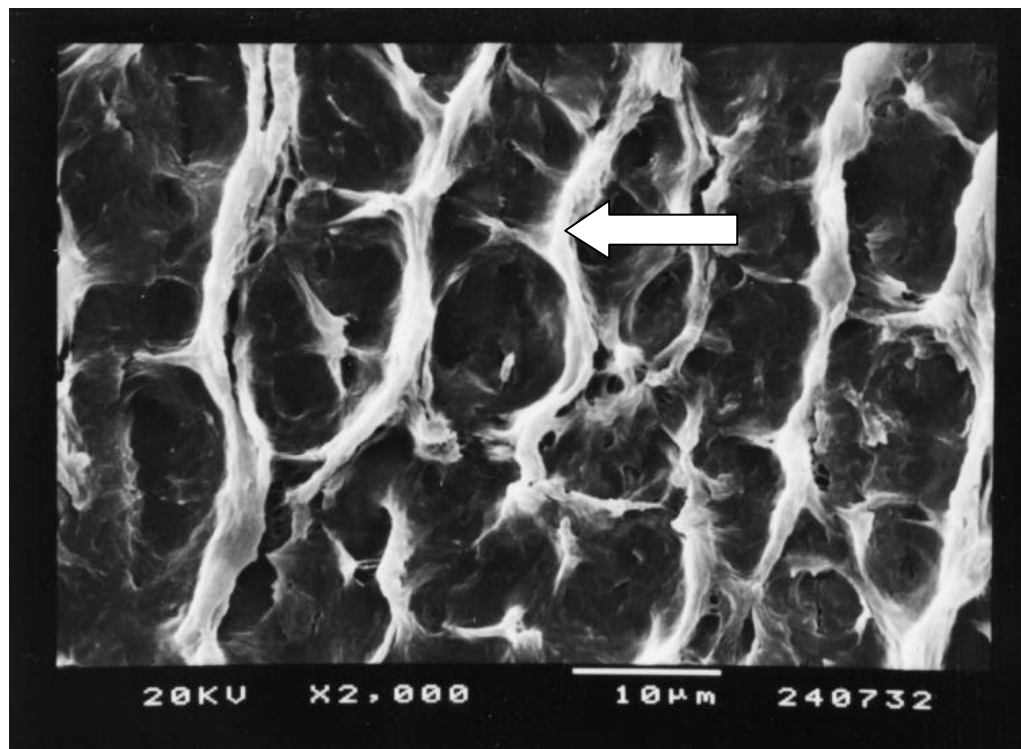


FIGURA 13 - Grupo 2 (EDTA 24%). Superfície radicular sem rede de fibrina e de células sanguíneas

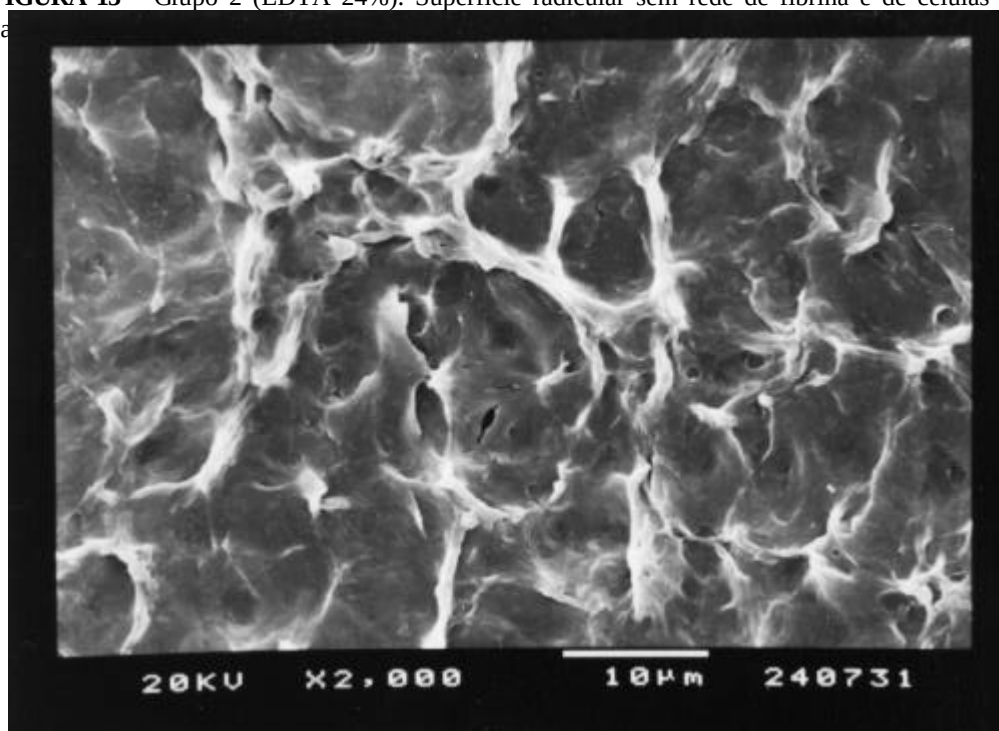


FIGURA 14- Grupo 2 (EDTA 24%) . Superfície radicular sem rede de fibrina e de células sanguíneas, com evidências de fibras colágenas e de túbulos dentinários (AES 0). Aumento original 2000X.

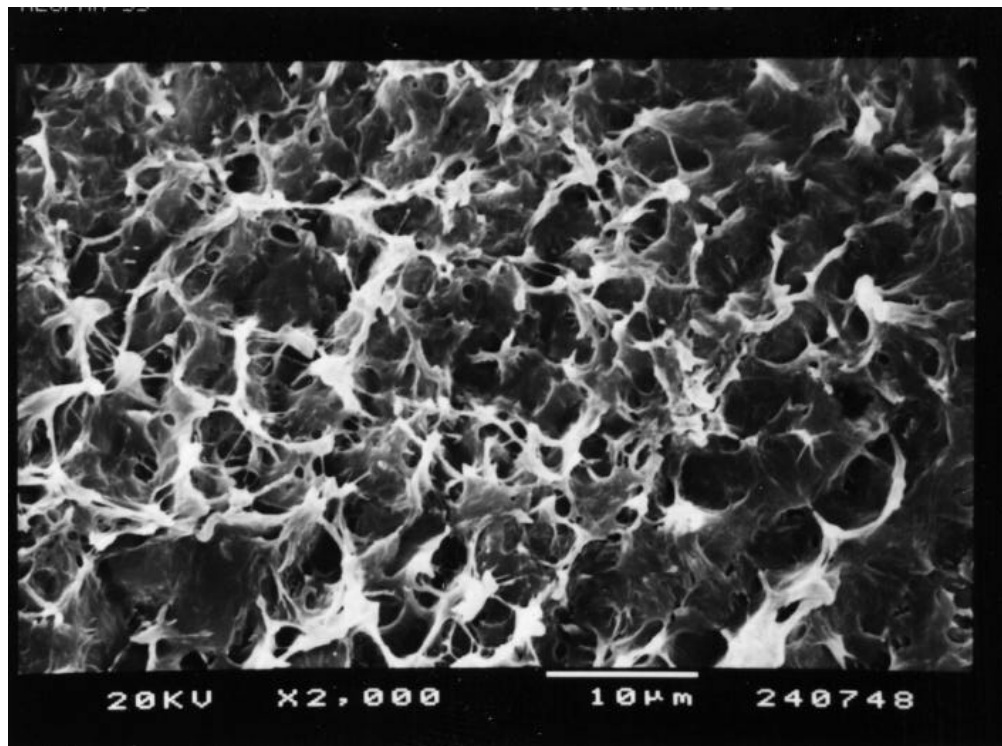


FIGURA 15 - Grupo 2 (EDTA 24%). Superfície radicular irregular, rugosa, ausência de

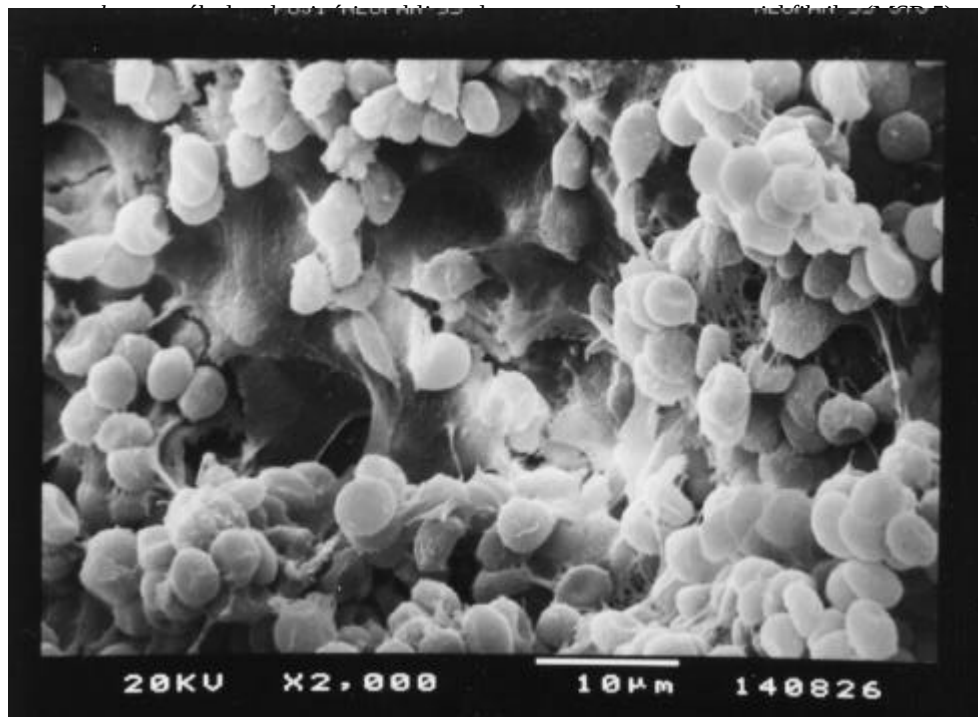


FIGURA 16 - Grupo 3 (Er:YAG / 7,6 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células sanguíneas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.

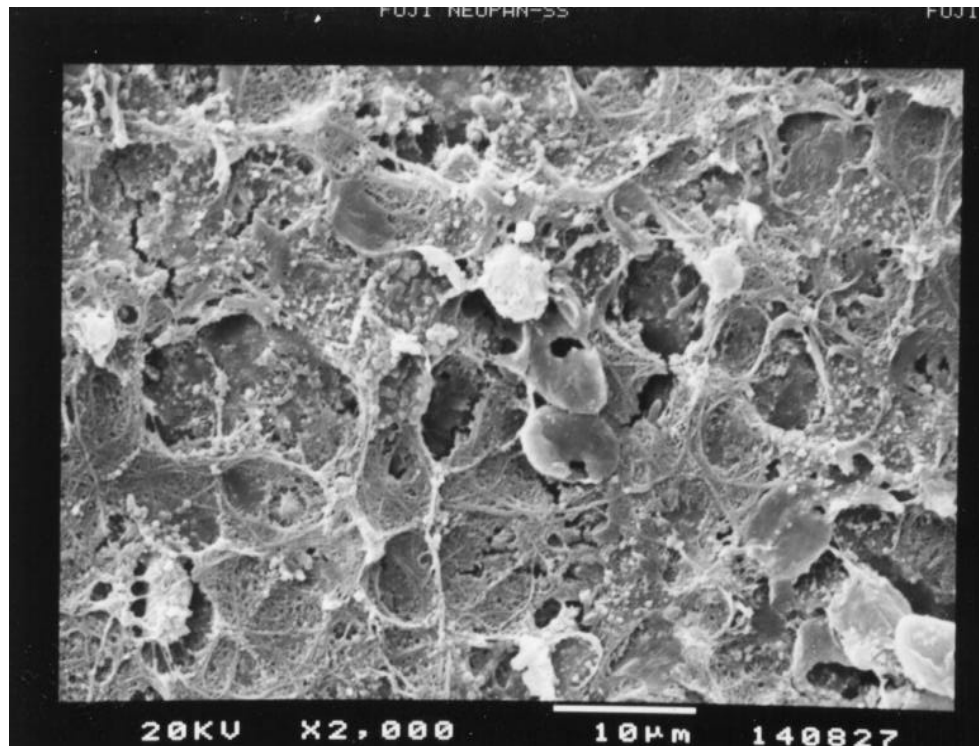


FIGURA 17 - Grupo 3 (Er:YAG / 7,6 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma

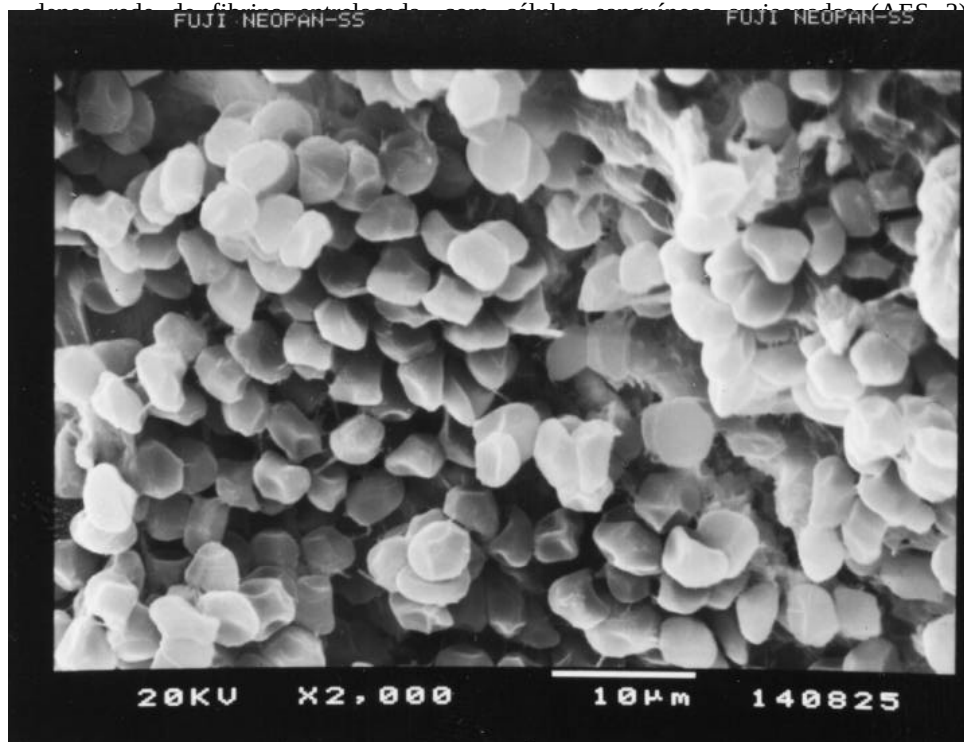


FIGURA 18 - Grupo 3 (Er:YAG / 7,6 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células sanguíneas aposicionadas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.

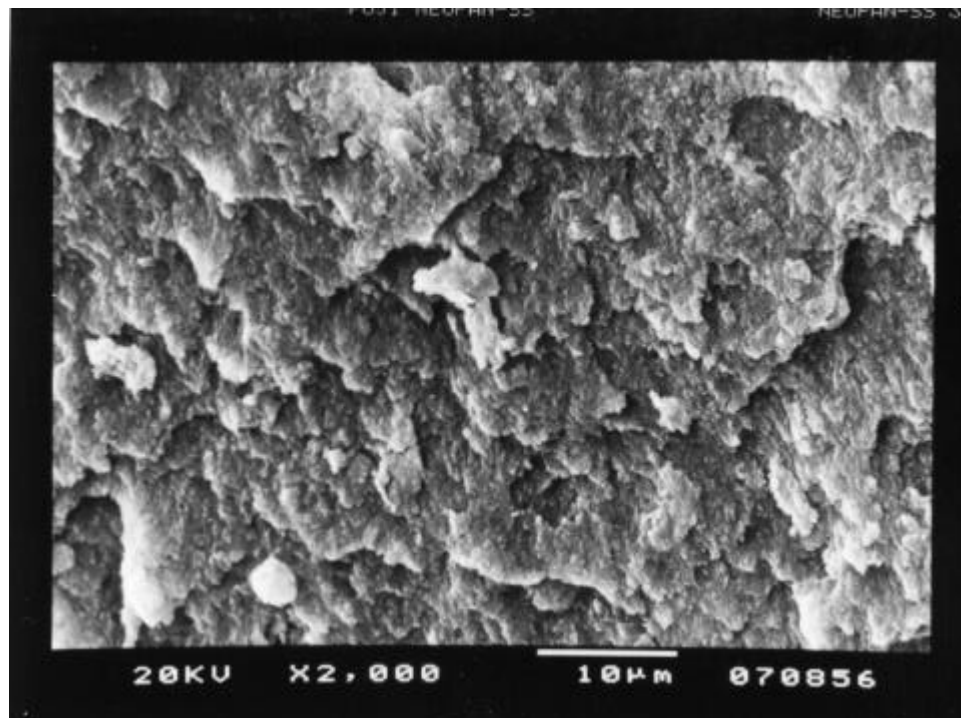


FIGURA 19 - Grupo 3 (Er:YAG / 7,6 J/cm²). Superfície radicular irregular, com micro-
rugosidades, obliteração de túbulos dentinários e ausência de *smear layer* (MSR 5).
A

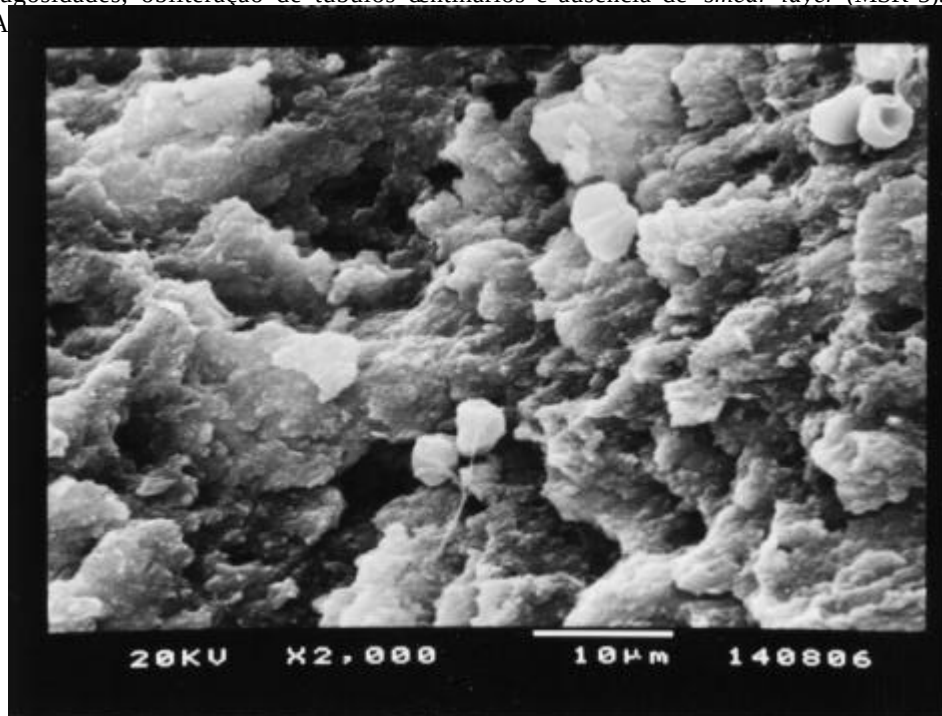


FIGURA 20 - Grupo 4 (Er:YAG / 12,9 J/cm²). Superfície radicular demonstrando
adesão de escassa rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 1). Aumento original
2000X.

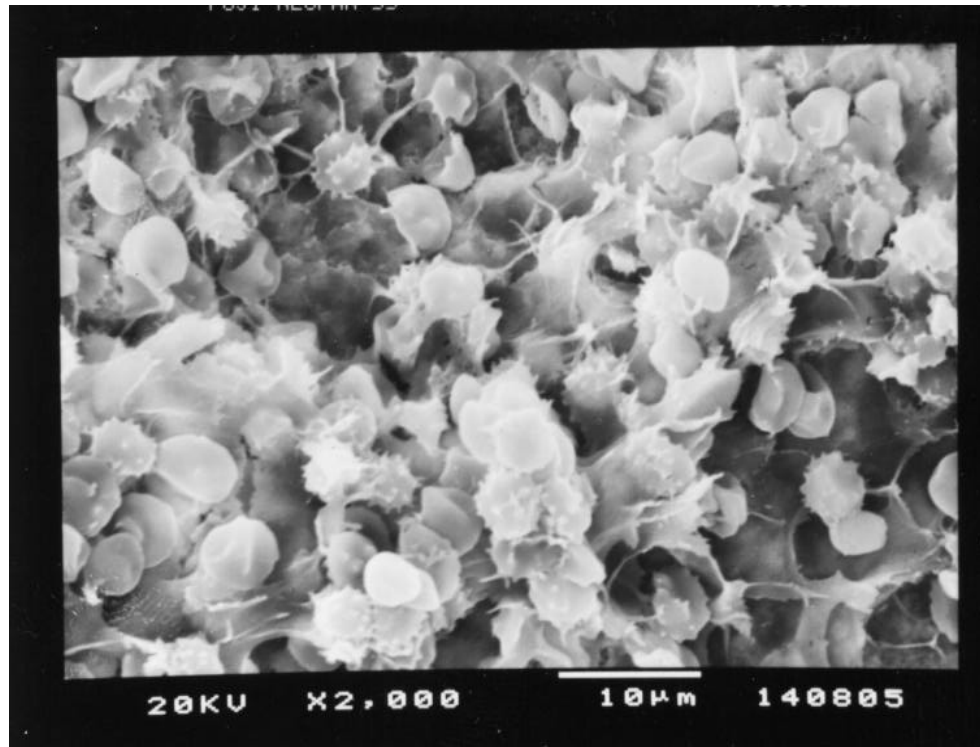


FIGURA 21 - Grupo 4 (Er:YAG / 12,9 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma

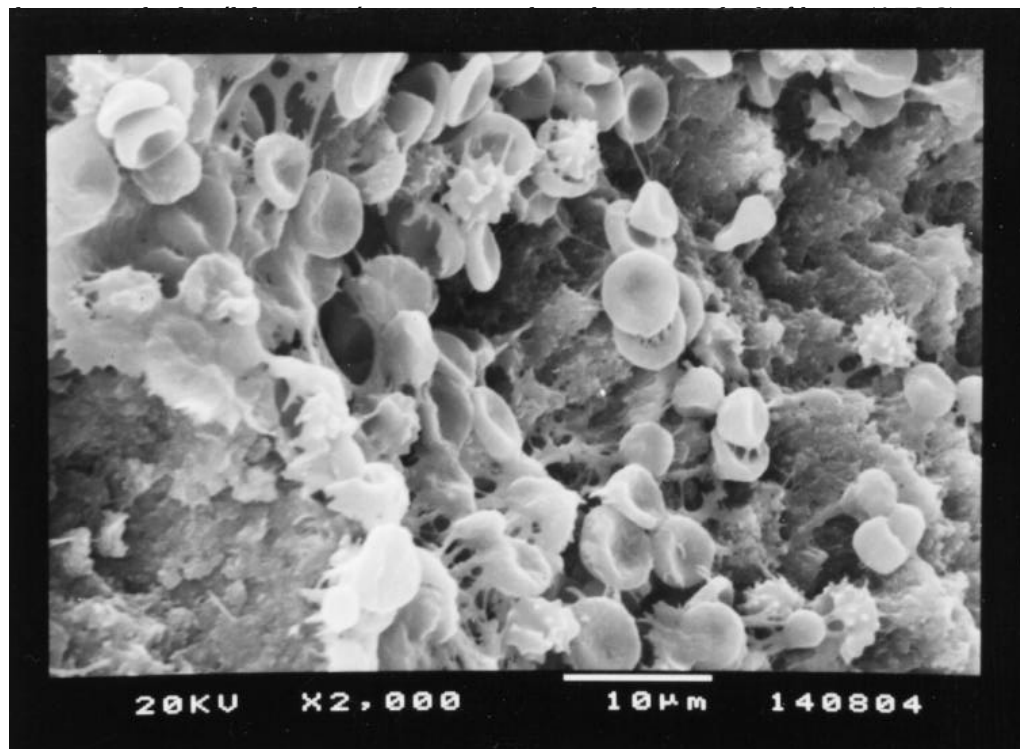


FIGURA 22 - Grupo 4 (Er:YAG / 12,9 J/cm²). Superfície radicular coberta por uma densa camada de células sanguíneas aposicionadas sobre uma rede de fibrina (AES 3). Aumento original 2000X.

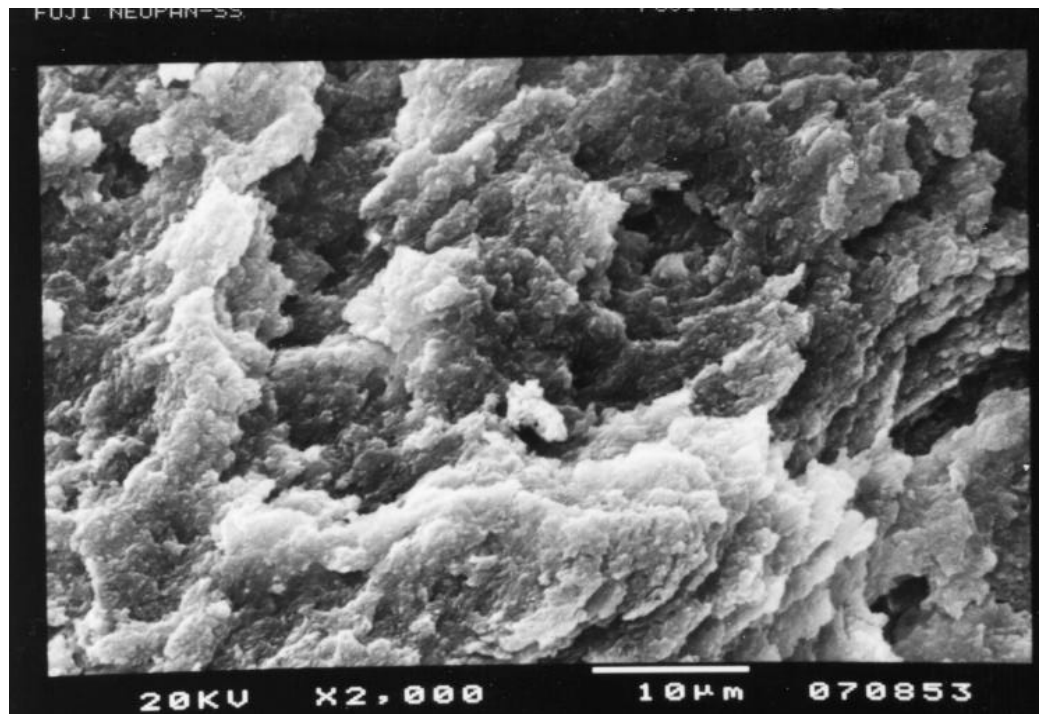


FIGURA 23 - Grupo 4 (Er:YAG / $12,9 \text{ J/cm}^2$). Superfície radicular irregular, com micro-
rugosidades oblitação de túbulos dentinários e ausência de *smear layer* (MSR 5). Aumento
original 2000X.

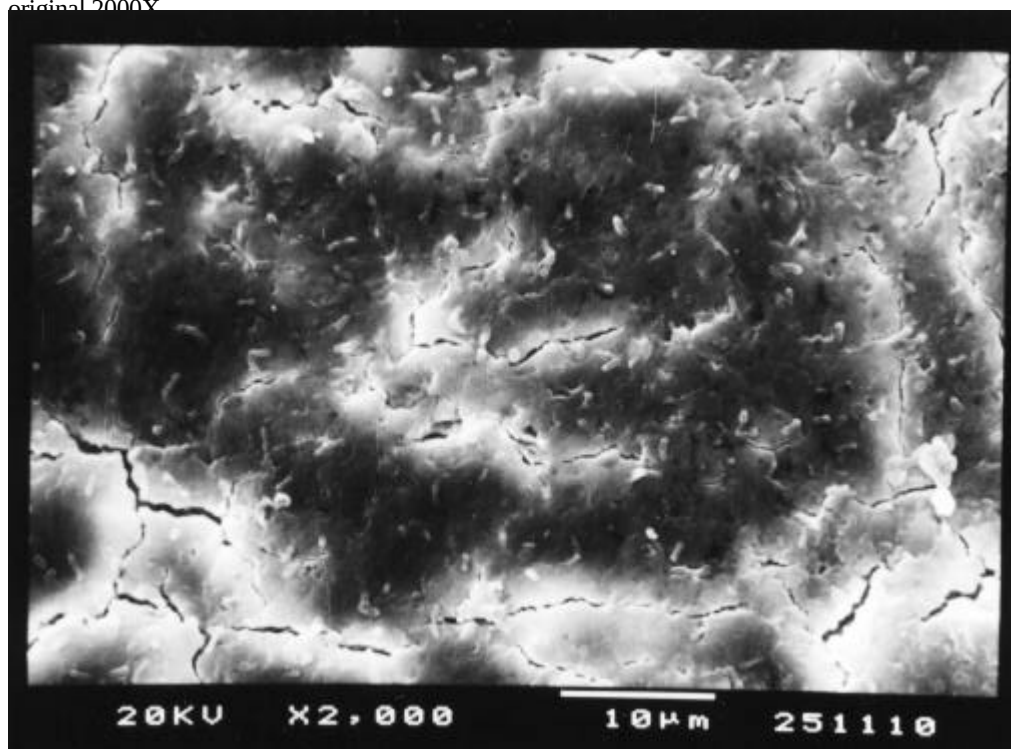


FIGURA 24 - Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm^2). Superfície radicular demonstrando ausência
de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0). Aumento original 2000X.

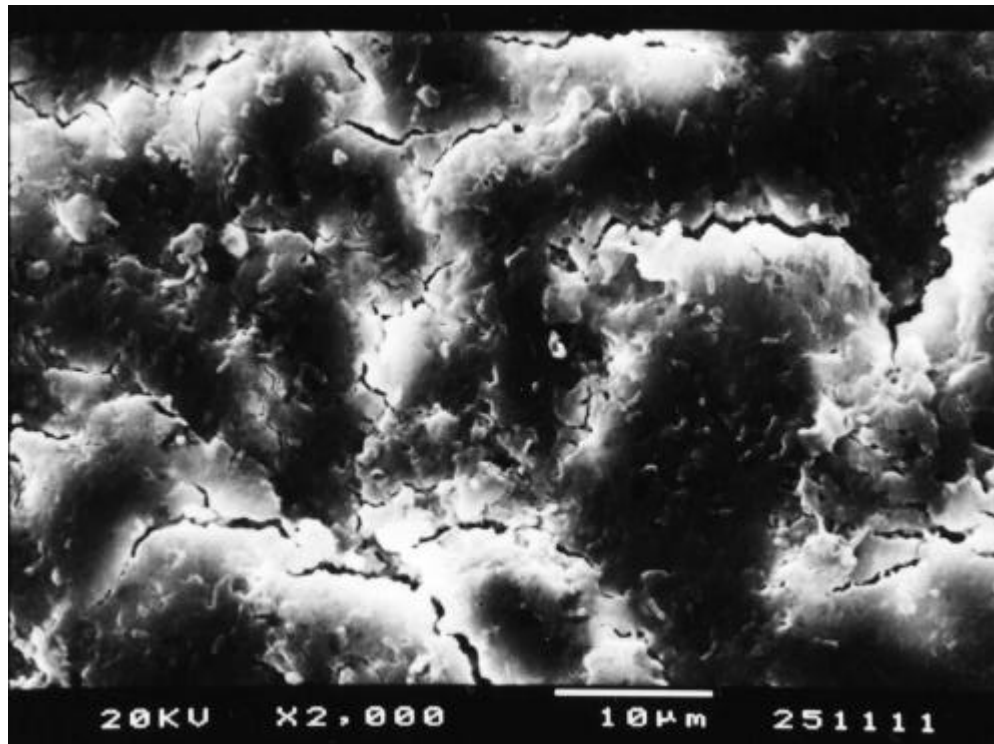


FIGURA 25 - Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm²). Superfície radicular demonstrando ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0). Aumento original 2000X.

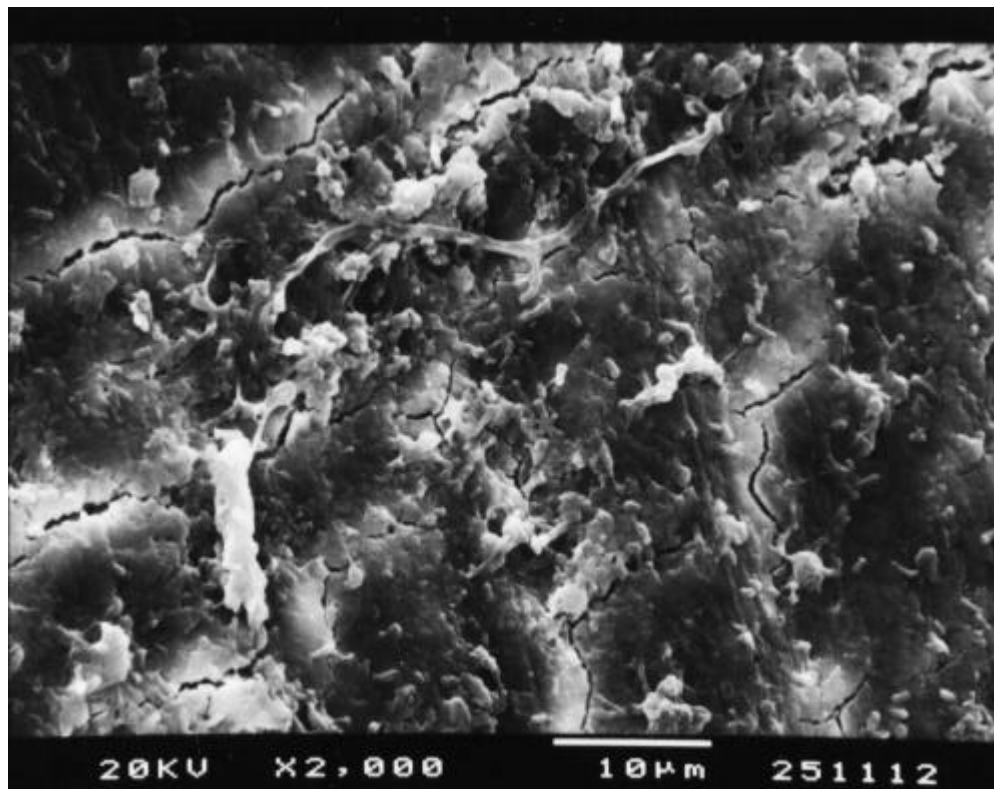


FIGURA 26 - Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm²). Superfície radicular demonstrando ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas (AES 0). Aumento original 2000X.

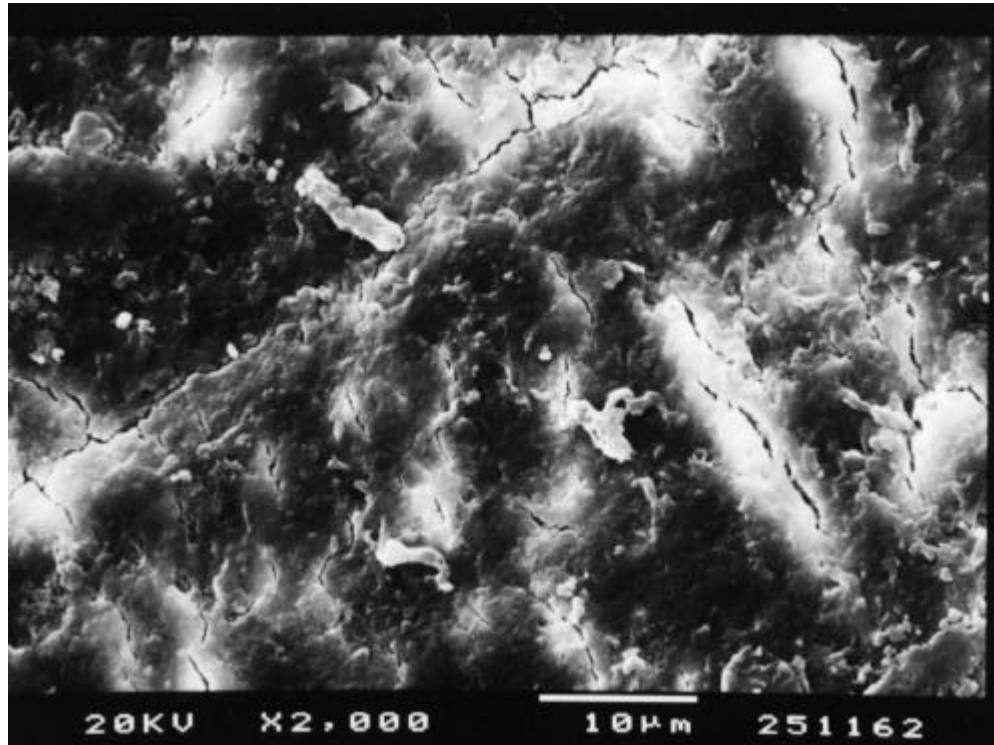


FIGURA 27- Grupo 5 (Diodo / 90 J/cm²). Superfície radicular irregular sem abertura de túbulos dentinários e com presença de smear layer (MSR 3). Aumento original 2000X.

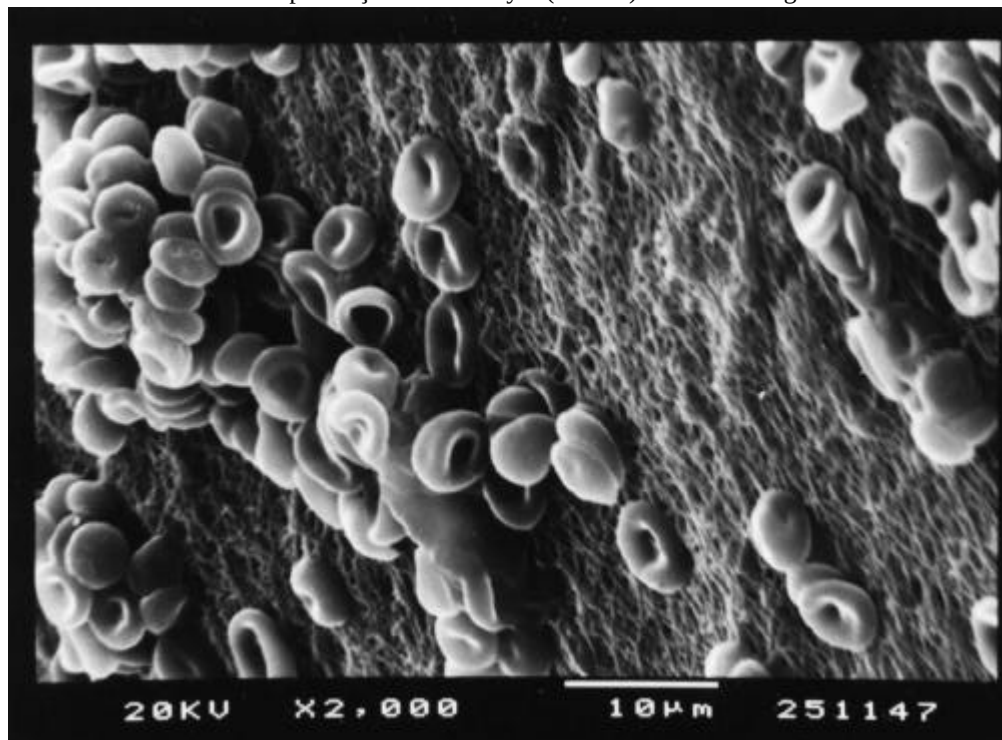


FIGURA 28 - Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada e células sanguíneas aprisionadas entre e sob a rede (AES 3). Aumento original 2000X.

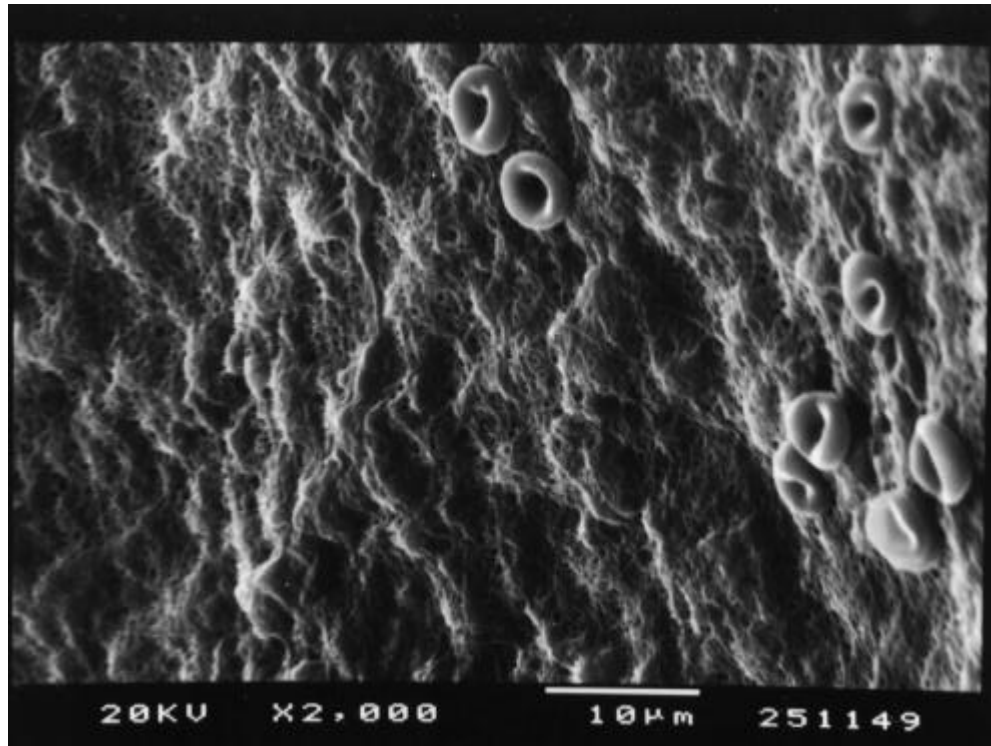


FIGURA 29 – Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular coberta por uma densa rede de fibrina entrelaçada, com células sanguíneas aprisionadas (AES 3). A

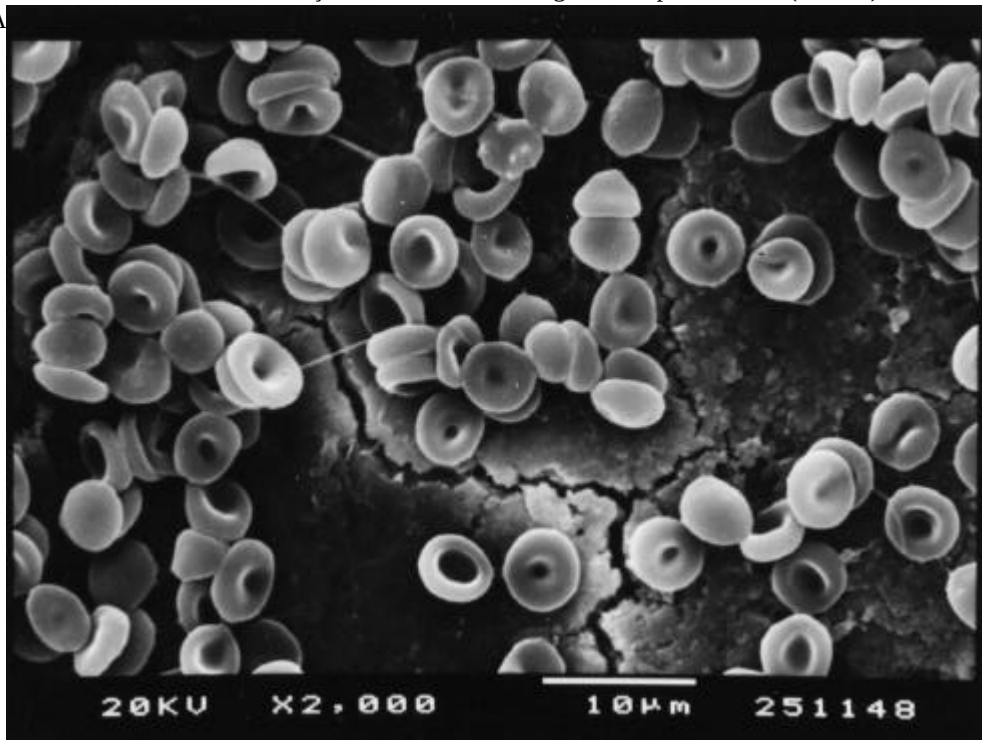
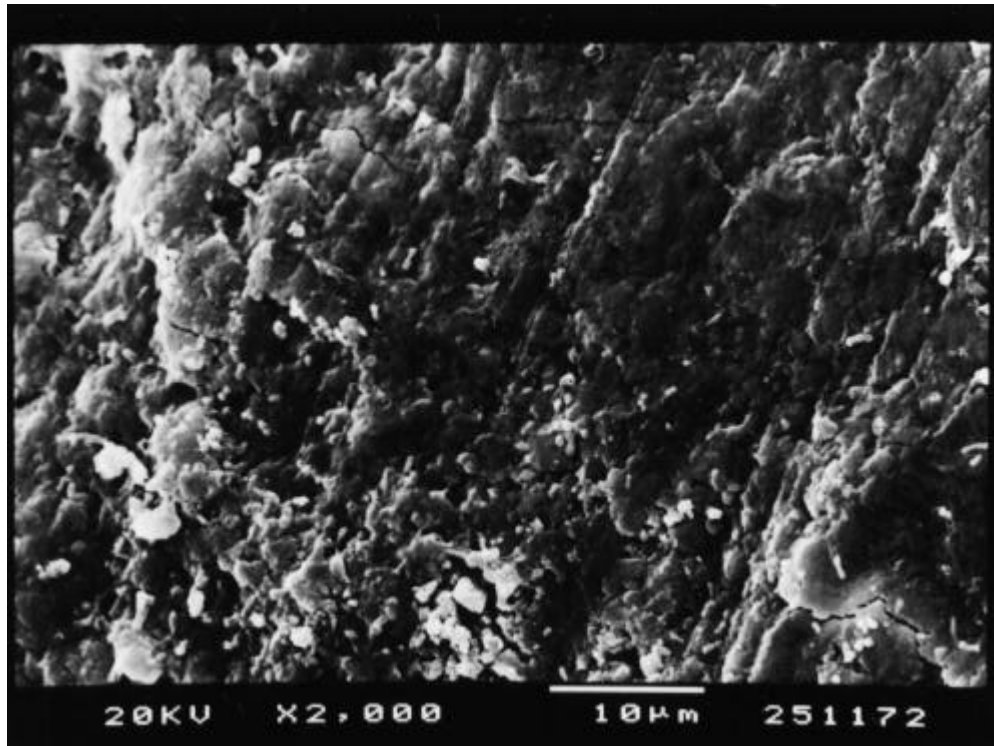


FIGURA 30 - Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2) . Superfície radicular coberta por uma moderada camada de células sanguíneas e esparsas redes de fibrina (AES 2). Aumento original 2000X.



5.2 FIGURA 31 - Grupo 6 (Diodo / 108 J/cm^2). Superfície radicular irregular com túbulos dentinários obliterados (MSR 3) e presença de *smear layer* recobrimdo toda amostra. Aumento original 2000X.

Ao analisar-se a hipótese relativa aos efeitos dos tratamentos propostos sobre o índice de adesão de elementos sanguíneos, o emprego do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis resultou em um valor de $H=21,5150$, significativo, porque a ele correspondeu um valor de $p<0,001$ (0,0006). Assim, a hipótese de nulidade pela qual todos os tratamentos propostos proporcionariam a mesma capacidade de adesão de elementos sanguíneos foi rejeitada. Procedendo-se a comparação entre os postos médios das amostras (Teste de Mann Whitney), pode-se constatar que houve diferenças significantes entre os grupos 1 e 2 ($p=0,0006$), 1 e 5

($p=0,0305$), 2 e 3 ($p=0,0017$), 2 e 4 ($p=0,002$) e 4 e 5 ($p=0,0147$) (Tabela.1).

Cabe salientar que em relação a adesão de elementos sanguíneos, os resultados evidenciaram que apesar do G4 (Er:YAG) demonstrar maior adesão de elementos sanguíneos que os demais grupos (41,9500), nenhum tratamento proposto promoveu significativa adesão de elementos sanguíneos quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, houve uma menor adesão de elementos sanguíneos nas amostras tratadas com EDTA (G2), quando comparadas ao grupo controle ($p=0,0006$) e das que foram tratadas com o laser de Er:YAG ($p=0,0017$ e $p=0,0150$).

Quando se comparou o G5, onde as amostras foram irradiadas com o laser de Diodo com 0,9 W (90 J/cm^2), com o grupo controle e com os do laser de Er:YAG (G3 e G4), o G5 demonstrou menor adesão de elementos sanguíneos que o grupo controle ($p=0,0305$) e que o G4, do laser de Er:YAG ($p=0,0147$), porém o grupo do laser de Diodo (G6), onde as amostras foram irradiadas com 1,08 W (108 J/cm^2) não foi estatisticamente diferente do grupo controle e dos grupos do laser de Er:YAG (Tabela 2). Com relação as diferenças entre os dois lasers pode-se verificar que o laser de Er:YAG com $12,9 \text{ J/cm}^2$ (G4) é mais efetivo do que o laser de Diodo com 90 J/cm^2 (G5) na promoção da adesão de elementos sanguíneos na superfície radicular (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Valores do Teste de Kruskal-Wallis (H), número da amostra (N), postos médios de cada grupo experimental (R) e o valor de p da comparação entre os postos médios dos grupos experimentais (p) submetidos a análise do índice de adesão de elementos sanguíneos.

Grupos	N	R	Valor de p<0,05
		(H=21,5150)	
Grupo 1	30	39,8000	1 e 2 p=0,0006
Grupo 2	30	13,0000	2 e 4 p=0,0150
Grupo 3	30	37,5500	2 e 3 p=0,0017
Grupo 4	30	41,9500	4 e 5 p=0,0147
Grupo 5	30	22,9000	1 e 5 p=0,0305
Grupo 6	30	27,8000	

Tabela 2 - Valores de p quando da comparação entre os postos médios das amostras submetidas a deposição de tecido sanguíneo.

Comparação	Valor de p
Controle X EDTA 24%	0,0006*
Controle X Er:YAG (G3)	0,7733
Controle X Er:YAG (G4)	0,7831
Controle X Diodo (G5)	0,0305*
Controle X Diodo (G6)	0,1244
EDTA 24% X Er:YAG (G3)	0,0017*
EDTA 24% X Er:YAG (G4)	0,0002*
EDTA 24 % X Diodo (G5)	0,2050
EDTA 24% X Diodo (G6)	0,0581
Er:YAG (G3) X Er:YAG (G4)	0,5732
Er:YAG (G3) X Diodo (G5)	0,0607
Er:YAG (G3) X Diodo (G6)	0,2119
Er:YAG (G4) X Diodo (G5)	0,0147*
Er:YAG (G4) X Diodo (G6)	0,0700
Diodo (G5) X Diodo (G6)	0,5304

* estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

Ao analisar-se a hipótese relativa aos efeitos dos tratamentos propostos sobre o índice de análise da morfologia da superfície radicular, o emprego do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis resultou em um valor de $H=29,7026$, significativo porque a ele correspondeu um valor de $p < 0,0001$. Desta forma a hipótese de nulidade pela qual todos os tratamentos propostos proporcionariam a mesma característica

morfológica nas superfícies radiculares foi rejeitada. Para analisar as diferenças entre os grupos foi aplicado o teste de Mann Whitney ($p < 0,05$). Os resultados demonstraram que houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 1 e 3 ($p = 0,0001$), 1 e 4 ($p = 0,0001$), 1 e 5 ($p = 0,0259$), 2 e 3 ($p = 0,0150$), 2 e 4 ($p = 0,0150$), 3 e 6 ($p = 0,0032$) e 4 e 6 ($p = 0,0032$) (Tabelas 3 e 4).

Cabe salientar que com relação a análise da morfologia da superfície radicular, os resultados estatísticos demonstraram que houve diferenças significantes entre os grupos do laser de Er:YAG (G3 e G4) e de Diodo (G5) com o grupo controle, evidenciando maior rugosidade nos grupos tratados com o laser de Er:YAG (G3 e G4) seguido do laser de Diodo (G5). Por outro lado não houve diferenças significantes entre o grupo do EDTA (G2) e do Diodo (G6) com o grupo controle ($p = 0,1183$ e $p = 0,2938$).

Tabela 3 - Valores do Teste de Kruskal-Wallis (H), número da amostra (N), postos médios de cada grupo experimental (R) e o valor de p da comparação entre os postos médios dos grupos experimentais (p) da análise da morfologia da superfície radicular.

Grupos	N	R	Valor de p<0,05
H=29,7026			
Grupo 1	10	13,8000	1 e 3 p=0,0001
Grupo 2	10	26,0000	2 e 3 p=0,0150 2 e 4 p=0,0150
Grupo 3	10	45,0000	3 e 6 p=0,0032
Grupo 4	10	45,0000	1 e 4 p=0,0001
Grupo 5	10	31,2000	1 e 5 p=0,0259
Grupo 6	10	22,0000	4 e 6 p=0,0032 3 e 6 p=0,0032

Tabela 4 - Valores de p quando da comparação entre os postos médios das amostras submetidas a análise da morfologia da superfície radicular.

Comparação	Valor de p
Controle X EDTA 24%	0,1183
Controle X Er:YAG (G3)	0,0001*
Controle X Er:YAG (G4)	0,0001*
Controle X Diodo (G5)	0,0259*
Controle X Diodo (G6)	0,2938
EDTA 24% X Er:YAG (G3)	0,0150*
EDTA 24% X Er:YAG (G4)	0,0150*
EDTA 24 % X Diodo (G5)	0,5055
EDTA 24% X Diodo (G6)	0,6085
Er:YAG (G3)X Er:YAG (G4)	1,0000
Er:YAG (G3) X Diodo (G5)	0,0772
Er:YAG (G3) X Diodo (G6)	0,0032*
Er:YAG (G4) X Diodo (G5)	0,0772
Er:YAG (G4) X Diodo (G6)	0,0032*
Diodo (G5) X Diodo (G6)	0,2388

* estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

No estudo da associação entre sangue e morfologia devemos considerar que os grupos 2, 3, 4 e 6 não variaram em um dos índices, não havendo então nenhuma variação em um dos índices apesar do outro variar. No entanto na análise de correlação entre a adesão de elementos sanguíneos e o índice da morfologia da superfície radicular, utilizando os dados da tabela 5, o teste de Concordância de Kendall foi

estatisticamente significativa ($\Gamma = 0,81$, $p < 0,05$), demonstrando que houve uma correlação entre a adesão de elementos sanguíneos e o aspecto da morfologia radicular. Sabendo-se que quanto maior o índice de adesão de elementos sanguíneos maior a capacidade de adesão de elementos sanguíneos e quanto maior o índice da morfologia maior a rugosidade da superfície a correlação positiva significa que quanto maior a rugosidade da superfície maior a adesão de elementos sanguíneos, porém não há uma correlação de causa e efeito.

Tabela 5 - Número de amostras que apresentavam o índice de adesão de elementos sanguíneos dicotomizado em 0 e 1 (Sangue-AES) em cada índice para análise da morfologia da superfície radicular (Morfologia-MSR).

Sangue	Morfologia					
	1	2	3	4	5	6
0	13	12	35	0	35	6
1	11	0	23	0	45	0

6. DISCUSSÃO

A estabilidade imediata da frágil inserção entre a superfície radicular e o retalho providenciada por maturação de um coágulo de fibrina é de fundamental importância para o sucesso da terapia periodontal reconstrutiva (Wikesjö et al., 1992;⁹⁴ Caton & Greenstein, 1993)¹⁷. Tal fato é confirmado por evidências de vários estudos os quais têm sugerido que eventos iniciais da cicatrização, como adsorção e adesão de elementos sanguíneos, com a aderência de uma rede de fibrina, para a formação de coágulo sanguíneo, na superfície radicular, são determinantes críticos no processo de reparo entre um retalho e a superfície radicular (Polson & Proye, 1983;⁶¹ Wikesjö & Nilvéus, 1990;⁹³ Wikesjö et al., 1991;⁹¹ Wikesjö et al., 1992;⁹⁴ Wikesjö & Nilvéus, 1991)⁹². Recentemente entende-se que o controle destes eventos, na execução de protocolos de terapias periodontais regenerativas, são vitais para o sucesso do tratamento periodontal (Baker et al., 2000)⁸.

Muito embora a literatura demonstre a preocupação dos pesquisadores em estudar a adesão do coágulo de fibrina em superfície radicular nos eventos iniciais do reparo dos tecidos periodontais, poucos são os trabalhos que desenvolveram técnicas apropriadas para analisar a adesão de fibrina na superfície radicular, tanto em estudos *in vivo* (Polson & Proye, 1983;⁶¹ Wikesjö & Nilvéus, 1990;⁹³ Wikesjö et al., 1991)⁸⁹ quanto *in vitro* (Baker et al., 2000)⁸.

O objetivo do presente estudo foi avaliar além das alterações morfológicas decorrentes do tratamento de superfícies radiculares com laser de Er:YAG e de Diodo, a ação destes na adesão de elementos sanguíneos sobre as superfícies tratadas, tomando como modelo o estudo proposto por Baker et al. (2000)⁸.

Baker et al. (2000)⁸ elaboraram um modelo experimental para avaliar *in vitro*, o potencial de superfícies radiculares condicionadas, na adesão e adsorção de elementos sanguíneos. Na análise comparativa da metodologia empregada no presente estudo com o de Baker et al. (2000)⁸ o parâmetro diferencial foi o método de obtenção e de avaliação das fotomicrografias.

No presente estudo propusemos avaliar três fotomicrografias, obtidas aleatoriamente de cada amostra, sendo as mesmas avaliadas através de índice de adesão de elementos sanguíneos (AES), proposto no presente estudo, de forma a quantificar os resultados obtidos, enquanto que Baker et al. (2000)⁸ não documentaram como e de onde obtiveram as amostras, além de avaliarem apenas qualitativamente as amostras através de análise descritiva de algumas fotomicrografias.

Na análise dos resultados obtidos no presente estudo pode-se verificar que com relação à adesão, nenhum tratamento proposto promoveu aumento significativo de adesão de elementos sanguíneos na superfície radicular, quando comparado ao grupo controle, onde as

amostras, após a raspagem e aplainamento radicular, foram apenas irrigadas com água destilada, demonstrando a efetividade da raspagem com instrumentos manuais isoladamente. Além disto os tratamentos propostos nos grupos do EDTA (G2) e do laser de Diodo com 90 J/cm²(G5) promoveram inibição e menor adesão de elementos sanguíneos que o controle e que o laser de Er:YAG com 12,9 J/cm² (G4).

A adesão de fibrina em superfícies radiculares poderá ser constantemente modificada por forças mecânicas que agem na margem da ferida. O condicionamento da superfície radicular parece aumentar a resistência das forças de tensão da ferida, por promover maior adesão de fibrina à superfície radicular (Polson & Proye, 1983;⁶¹ Wikesjö et al., 1992)⁹⁴. Baker et al (2000)⁸ demonstraram *in vitro* que a aplicação de ácido cítrico em superfícies dentinárias promove maior adesão de fibrina, porém estudos clínicos não têm demonstrado diferenças estatísticas quanto ao ganho de inserção clínica na utilização ou não de agentes condicionadores (Caffesse et al., 1991; ¹⁶ Blomlöf et al., 2000; ¹⁴ Blomlöf et al., 2000)¹⁵.

No presente estudo no G2, onde as amostras foram tratadas com EDTA 24%, ficou evidente a menor adesão de elementos sanguíneos quando comparado aos outros grupos. Tal fato corrobora os achados de Baker et al. (2002)⁷, quando compararam *in vitro* o condicionamento de superfícies radiculares com EDTA ou ácido cítrico, na adesão de elementos sanguíneos. O fato do EDTA inibir a adesão de

elementos sanguíneos nas superfícies radiculares, provavelmente deve-se ao fato do EDTA na forma de gel, não ter sido totalmente removido da superfície radicular, após o condicionamento e irrigação com 10 ml de água destilada.

Deve ser ainda ressaltado que o EDTA é um quelante de cálcio, e por esta razão poderá inibir os eventos da coagulação do sangue (McShine et al., 1991)⁴⁷ por remover íons cálcio, essenciais na cascata de eventos de coagulação, embora a superfície radicular quando tratada com o EDTA, apresente fibras colágenas expostas, que favoreceriam a formação do coágulo pela adesão das plaquetas ao colágeno (Rapaport ,1990)⁶⁵.

As plaquetas acumulam-se para iniciar a formação de rolhas hemostáticas primárias sanguíneas, que é o resultado da aderência de plaquetas primeiramente ao colágeno e depois entre si (coesão ou coagregação). O colágeno e os primeiros traços de trombina que se formam no local da lesão estimulam as respostas plaquetárias que levam á coesão. Os grânulos plaquetários desaparecem à medida que seu conteúdo é excretado e forma-se a fibrina (Rapaport , 1990)⁶⁵.

O sistema proposto para explicar o mecanismo inicial de adesão da fibrina ao colágeno envolve a proteína plasmática fibronectina (Polson & Proye, 1983)⁶¹. A fibronectina deve ancorar o coágulo sanguíneo ao colágeno pela sua propriedade em aderir a fibrina e colágeno pelo fator XIII. A fibronectina não é provavelmente o fator

crítico para o sucesso na obtenção de um tecido conjuntivo inserido na superfície radicular, mas desempenha um papel importante quando a superfície radicular e o tecido conjuntivo apresentam características apropriadas para promover uma nova inserção (Polson & Proye, 1983)⁶¹.

O tampão plaquetário inicialmente é constituído pela agregação frouxa das plaquetas que aglutina-se e converte-se no coágulo definitivo, formado pela fibrina, através da transformação do fibrinogênio, que é liberado pelos grânulos alfa das plaquetas, em fibrina (Ganong, 1999)²⁹. Inicialmente a fibrina é uma malha frouxa de fios entrelaçados que é convertida em formações de ligações cruzadas covalentes, em um agregado coeso e denso e esta última reação é catalisada pelo fator XIII ativo e requer íons Cálcio (Ganong, 1999)²⁹.

O fato do EDTA inibir a aderência de fibrina sobre a superfície radicular interferindo nos eventos iniciais do processo de reparo, ao nosso entender, possa explicar porque alguns trabalhos clínicos que utilizaram o EDTA no condicionamento radicular não demonstraram vantagens clínicas do uso deste agente associado à terapia periodontal cirúrgica (Blomlöf et al., 2000)¹⁵ e não cirúrgica (Blomlöf et al., 2000)¹⁴, já que o EDTA além de ser um agente neutro é um efetivo condicionador da superfície radicular (Blomlöf et al., 1996;⁷ Blomlöf et al., 1996;¹¹ Blomlöf et al., 1997;¹² Sampaio, 1999;⁷⁰ Pilatti, 2001)⁶⁰.

Os parâmetros utilizados para irradiação com o laser de Er:YAG, no presente estudo estão documentados na literatura e

considerados seguros, quando utilizado com refrigeração à água, principalmente quanto a promoção de efeitos térmicos indesejáveis aos tecidos pulpare (Aoki et al., 1994;⁵ Stock et al, 1996;⁷⁷ Keller et al., 1996;³⁹ Theodoro et al., 2003)⁸⁰, dado a grande absorção do seu comprimento de onda pela água, promovendo conseqüentemente a ablação dos tecidos mineralizados, sem promover danos aos tecidos adjacentes.

Por outro lado, os parâmetros para utilização do laser de Diodo em superfícies mineralizadas ainda não estão muito definidos na literatura (Theodoro et al., 2003)⁸⁰, e para que pudéssemos utilizá-lo em nosso trabalho, realizamos um estudo prévio *in vitro*, da alteração da temperatura intra-pulpar durante a irradiação de superfícies radiculares com o equipamento laser utilizado no presente estudo (Apêndice 2). Nesta análise ficou evidente que os parâmetros de potências de 0,9 W (1,0 W) e 1,08 W (1,2 W), modo de emissão interrompido, tempo de exposição de 30 segundos constituíram-se em parâmetros que demonstraram temperaturas dentro dos limites máximo suportados pelos tecidos pulpare (3,4±0,4°C e 4±1,0 °C), que é de 5°C (Zach & Cohen, 1965)⁹⁷, razão pela qual foram utilizados no presente estudo.

As amostras do grupo tratado com laser de Er:YAG com 12,9 J/cm² (G4) demonstraram maior adesão dos elementos sanguíneos que o controle, embora não estatisticamente significante, porém foi estatisticamente mais efetivo que o G2 (EDTA) e G5 (Diodo 90 J/cm²).

O fato do laser de Er:YAG nos parâmetros utilizados no G4 promover uma boa adesão de elementos sanguíneos, apesar de não apresentar diferença estatisticamente significativa do controle, através da análise com o índice AES, provavelmente se deva ao fato do laser neste parâmetro ter um maior poder na redução de bactérias e de endotoxinas, que poderiam inibir, segundo Wikesjö et al. (1992)⁹⁴, a adesão das proteínas plasmáticas na superfície radicular, além de alterar a topografia da superfície radicular, por promover a ablação dos tecidos mineralizados, produzindo elevações e depressões, promovendo consequentemente irregularidades na superfície e maior área de exposição de fibras colágenas e desta forma favoreceria a adesão e a formação de rolhas hemostáticas primárias, pela adesão das plaquetas ao colágeno exposto (Rapaport, 1990)⁶⁵, fato que requer ao nosso entender o desenvolvimento de novas pesquisas.

A citotoxicidade direta de bactérias presentes nas células do hospedeiro e a presença de material orgânico de origem exógena, como as endotoxinas bacterianas na superfície radicular devem representar um pobre substrato para adsorção de proteínas plasmáticas e subsequente adesão de fibrina na superfície radicular (Wikesjö et al., 1992)⁹⁴. Os lasers em alta intensidade poderiam promover uma superfície radicular mais biocompatível por apresentar alta efetividade na redução bacteriana, devido a sua interação térmica com os tecidos e microorganismos e desta forma ocasionar a lise bacteriana.

Os parâmetros utilizados do laser de Er:YAG provavelmente possam ter promovido redução bacteriana, já que Ando et al (1996)⁴ demonstraram *in vitro* reduções significantes de colônias de *Porphiromonas gingivallis*, com a irradiação com este laser nos parâmetros de 7,1 J/cm² e 10, 6J/cm². Além destes fatos o laser de Er:YAG promove uma ablação seletiva de proteínas, por ablacionar preferencialmente os componentes orgânicos, podendo remover enzimas tóxicas e proteínas bacterianas durante a terapia periodontal (Sasaki, 2002)⁷¹, muito embora mais recentemente tenham demonstrado que que o laser de Er:YAG pode promover danos térmicos em áreas profundas de superfície dentinária radicular irradiada, na base da bolsa periodontal (Folwaczny et al., 2003)²⁴.

O laser de Diodo não demonstrou ser um tratamento promissor como coadjuvante à raspagem e aplainamento radicular, quando irradiado sobre a superfície radicular, com relação a adesão de elementos sanguíneos, quando utilizado com fluência de 90 J/cm², apesar de não promover modificações estruturais significantes nas superfícies irradiadas. Por outro lado quando utilizado com fluência de 108 J/cm², também promoveu uma menor adesão que o grupo controle e que o laser de Er:YAG, mas a diferença não foi estatisticamente significativa.

Tal fato provavelmente se deva aos parâmetro utilizados no G5 não serem suficientes para promover uma redução bacteriana significativa capaz de favorecer a adsorção de proteínas plasmáticas,

apesar de que alguns estudos demonstram o efeito significativo na redução de microorganismos com o laser de Diodo, quando utilizado como coadjuvante à terapia periodontal (Moritz et al., 1997;⁵¹ Moritz et al., 1998)⁵³.

Por outro lado, o fato do laser de Diodo também diminuir a adesão de elementos sanguíneos de forma significativa no G5, poderia estar associado a promoção de algum dano na matriz colágena ou produção de substâncias tóxicas na interação deste laser com os tecidos, como cianato e cianamida, que são produzidas na presença de nitrogênio que pode ser produzido na desnaturação de proteínas em altas temperaturas (Sasaki et al., 2002)⁷³. Porém outros estudos devem ser realizados para analisar a produção destas substâncias em raízes irradiadas com laser de Diodo.

A irradiação de superfícies radiculares com o laser de Diodo nos parâmetros do G6 (108 J/cm²) não promoveram diferenças estatisticamente significantes na adesão de elementos sanguíneos quando comparado ao grupo controle. Tal fato corrobora os resultados de Kreisler et al. (2001)⁴³ que demonstraram que o laser de Diodo nos parâmetros próximos ao utilizado no presente estudo, promoveu um aumento não significativo da adesão de fibroblastos. Diante destes fatos outros estudos devem ser realizados utilizando estes parâmetros na redução de microorganismos periodontopatogênicos.

Ficou também evidente em nossos resultados que a potência de saída do laser de Diodo pode influenciar na adesão de elementos sanguíneos de superfície radiculares irradiadas. Kreisler et al. (2002)⁴² demonstraram em seu estudo que não só o nível da potência e modo de emissão são decisivos para promover danos, como carbonização nas estruturas radiculares irradiadas, mas também o tempo de exposição, o ângulo de inclinação da ponta com a superfície irradiada, além da presença de tecido sanguíneo sobre as superfícies irradiadas.

Os diferentes comprimentos de onda e consequentemente interação tecidual podem explicar as diferenças obtidas com a radiação dos dois tipos de lasers utilizados no presente estudo. Os mecanismos de interação com os tecidos mineralizados têm sido descritos como fototérmicos no caso do Diodo e fotomecânico no Er:YAG. A energia absorvida depende do coeficiente de absorção de cada molécula no tecido. O laser de Diodo não é muito absorvido pela água e nem pela hidroxiapatita e por esta razão a energia absorvida é transformada em calor aumentando a temperatura da superfície, ao contrário do laser de Er:YAG, que é altamente absorvido pela água, vaporizando-a e promovendo uma aumento da pressão interna da estrutura mineralizada resultando em micro-explosão e consequente ablação tecidual. Desta forma o laser de Er:YAG requer menos temperatura para remover tecidos mineralizados induzindo consequentemente menores danos térmicos (Sasaki et al., 2002)⁷².

Com relação a morfologia da superfície radicular, verificamos que as superfícies que não receberam nenhum tratamento, além da raspagem e irrigação com água destilada, demonstraram irregularidades da superfície.

No grupo do EDTA ficou evidente exposição de fibras colágenas, também demonstrado nos trabalhos de Blomlöf et al. (1997)¹¹ e de Blomlöf et al. (1996)¹³ e em algumas amostras pode-se evidenciar exposição de túbulos dentinários e remoção de *smear layer*, comprovando a efetividade do EDTA em quelar cálcio e sua eficácia na remoção de *smear layer*, fato que corrobora os achados de vários estudos (Blomlöf et al., 1997;¹¹ Blomlöf et al., 1997;¹² Sampaio, 1999;⁷⁰ Pilatti, 2001)⁶⁰. Entretanto, na análise comparativa da morfologia entre o grupo controle e do EDTA, através do índice de MSR não houve diferenças estatisticamente significantes.

O EDTA foi aplicado através da técnica de pincelamento da superfície, baseado em estudo que evidencia a maior eficácia do EDTA nesta concentração, quando aplicado através deste método, já que a agitação da substância tende a diminuir a tensão superficial do gel nesta concentração e aumentar o contato da mesma com a superfície tratada (Pilatti, 2001)⁶⁰. O objetivo da utilização do EDTA no presente estudo foi de obter um parâmetro de tratamento comparativo com os lasers.

Nos grupos do laser de Er:YAG (G3 e G4) pode-se verificar que houve uma diferença estatisticamente significativa quando comparado ao

grupo controle, ao EDTA e ao grupo do Diodo (G6), e ainda que, não houve diferenças entre o G3 e G4 quanto ao índice MSR. As superfícies radiculares irradiadas no G3 e G4 apresentaram-se mais irregulares e rugosas sem *smear layer*, o que confirma os achados de vários estudos que demonstraram a topografia e característica morfológica de superfícies radiculares irradiadas com laser de Er:YAG (Fujii et al., 1998;²⁸ Aoki et al., 2000;⁶ Schwarz et al., 2001;⁷⁵ Theodoro, 2001;⁷⁹ Sasaki et al., 2002;⁷² Theodoro et al., 2002;⁸¹ Theodoro et al., 2003)⁸³.

Estas características morfológicas provavelmente devam-se a alta interação deste laser com os tecidos mineralizados, pelo fato do seu comprimento de onda ser altamente absorvido pela água presente nos tecidos mineralizados e desta forma promover a ejeção deste tecido por micro-explosões, processo conhecido como ablação explosiva.

Deve-se ainda considerar que no presente estudo as amostras dos G3 e G4 foram irradiadas com a ponta de saída do laser com angulação de 90° com a superfície radicular, o que proporcionaria maior remoção de tecido mineralizado e conseqüentemente maiores alterações morfológicas na superfície (Folwaczny et al., 2001)²⁷.

Por outro lado pela fraca interação do laser de Diodo com os tecidos mineralizados não observamos diferenças significantes das superfícies radiculares no G6 com o grupo controle, porém houve diferenças significantes entre o G5 e o controle, sendo que o G5 apresentou mais amostras com superfície mais irregular, quando

comparadas com o grupo controle, e houveram diferenças entre os grupos do Diodo (G6) com os do laser de Er:YAG (G3 e G4) e entre os grupos do laser de Er:YAG com o do EDTA (G2).

Na análise da correlação entre as variáveis adesão de elementos sanguíneos e morfologia da superfície radicular pode-se notar, através da Concordância de Kendall uma correlação positiva entre adesão de elementos sanguíneos e aspecto rugoso da superfície morfológica. Isto significa que quanto maior o índice da morfologia, isto é mais rugoso, maior a retenção de elementos sanguíneos, porém este tipo de análise não expressa uma relação de causa e efeito, isto é, que a adesão de elementos sanguíneos seja maior devido a maior rugosidade da superfície.

Acreditamos que os grupos do laser de Er:YAG poderiam favorecer a adesão de elementos sanguíneos também, por aumentar a retenção física da rede de fibrina na superfície radicular ou poderia apresentar algum papel na retenção de células, porém esta rugosidade não seria o fator crucial na adesão de elementos sanguíneos.

Tais fatos ficam mais claros quando analisamos comparativamente os grupos do laser de Er:YAG com o controle, em que houve uma diferença estatisticamente significativa, quanto a morfologia da superfície radicular, sendo que as superfícies irradiadas com laser apresentaram muito mais rugosidades e por outro lado, apesar do G4

apresentar maior adesão de elementos sanguíneos que o controle esta diferença não foi estatisticamente significativa.

Outra evidência que contraria esta correlação é que houve uma maior rugosidade no G5 comparado ao grupo controle, no entanto, ocorreu uma menor adesão de sangue no G5; e por outro lado no G6 não houve diferenças estatisticamente significantes na morfologia e na adesão de elementos sanguíneos quando comparado ao grupo controle. Tal fato demonstra que outros fatores descritos como a restrita capacidade de eliminação seletiva de toxinas bacterianas ou mesmo a formação de substâncias tóxicas pela radiação deste laser poderiam também, influenciar nos resultados.

Alguns estudos têm demonstrado que polimorfonucleares preferem aderir em superfícies rugosas a lisas, devido a diferenças funcionais destas células (Rich & Harris, 1981;⁶⁷ Ericksson et al., 2001)²¹. Tal fato poderia justificar os achados encontrado nos grupos do laser de Er:YAG de maior adesão de células sanguíneas, provavelmente eritrócitos e glóbulos brancos, que nos outros grupos.

Contudo apesar de alguns estudos não terem demonstrado efeitos significativos da presença de rugosidade radicular no sucesso do tratamento da doença periodontal (Khatiblou & Ghodssi, 1983;⁴⁰ Oberholzer & Rateitschak, 1996)⁵⁷, poderíamos considerar que a rugosidade da superfície radicular provocada pelo laser de Er:YAG poderia favorecer mais a retenção de placa bacteriana, se estivesse

localizada próxima a margem gengival e principalmente se localizada em superfícies supra-gengivais, visto que a importância da rugosidade em áreas subgengivais é menos dramática provavelmente porque este ambiente oferece mais nichos para adesão e sobrevivência bacteriana (Quyrinen & Bollen, 1995)⁶².

Pelas limitações da metodologia empregada neste estudo não se pode avaliar a viabilidade das células sanguíneas aderidas sobre a superfície radicular e ou sob a rede de fibrina e nem distinguir quais células estariam presentes em maior número, bem como, avaliar a espessura da rede de fibrina aderida em cada amostra.

Desta forma, consideramos a necessidade da realização de estudos *in vivo* para avaliar se os dados deste trabalho são condizentes com o processo de reparo dos tecidos periodontais, já que com esta metodologia avaliamos isoladamente apenas a variável adesão de fibrina e de células sanguíneas. Tendo conhecimento de que o processo de reparo é altamente complexo desde os eventos essenciais de formação do coágulo, bem como do processo inflamatório, da formação do tecido de granulação e da maturação deste tecido com a deposição de fibras colágenas, há a necessidade de estudos que avaliem o efeito da irradiação de superfícies radiculares com lasers de alta intensidade sobre o processo de cicatrização periodontal.

Além disto, estudos clínicos devem ser realizados para analisar se a hipótese da presença de rugosidade, provocada pelo laser

de Er:YAG na superfície radicular, poderia influenciar na manutenção do tratamento periodontal a longo prazo, por aumentar a retenção de placa bacteriana.

7. CONCLUSÃO

Diante da metodologia utilizada e dentro dos limites deste estudo, parece-nos lícito concluir que:

1. Nenhum tratamento proposto proporcionou aumento significativo na adesão de elementos sanguíneos sobre as superfícies radiculares, quando comparado ao grupo controle;
2. A aplicação do gel de EDTA inibiu a adesão de elementos sanguíneos sobre a superfície radicular, apesar de promover exposição de fibras colágenas;
3. O laser de Er:YAG, na fluência de $12,9 \text{ J/cm}^2$, evidenciou maior adesão de elementos sanguíneos que o laser de Diodo na fluência de 90 J/cm^2 , e independente do parâmetro utilizado, promoveu uma alteração morfológica significativa na superfície radicular, como micro-rugosidades;
4. O laser de Diodo, apesar de não provocar alterações significantes na superfície radicular, pode inibir a adesão de elementos sanguíneos, dependendo do parâmetro de irradiação utilizado.

8. REFERÊNCIAS*

1. ADRIAENS, P. A.; LOESCHE, W.J.; De BOEVER, J. A Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 59, n.4, p. 222-230, Apr.1988.
2. ALEO, J.J.; De RENZIS, F.A.; FARBER, P.A.; VARBONCOEUR, A P. The presence and biologic activity of cementum bound endotoxin. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 45, n.11, p. 672-675, 1974.
3. American Academy of Periodontology. Lasers in Periodontics. *J. Periodontol.*, Chicago, v.73, n.10, p.1231-1239, Oct. 2002.
4. ANDO, Y; AOKI, A.; WATANABE, H; ISHIKAWA, I. Bactericidal effect of erbium YAG laser on periodontopathic bacteria. *Lasers Surg. Med.*, New York, v.19, p.190-200, 1996.
5. AOKI, A.; ANDO, Y.; WATANABE, H.; ISHIKAWA, I. In vitro studies on Laser scaling of subgingival calculus with and Er:YAG Laser. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 65, n.12, p. 1097-1106, Dec. 1994.
6. AOKI, A.; MIURA, M.; AKIYAMA, F.; NAKAGAWA, N.; TANAKA, J.; ODA, J.; WATANABE, H. In vitro evaluation of Er:YAG laser scaling of subgingival calculus in comparison with ultrasonic scaling. *J. Periodontol Res.*, Copenhagen, v.35, p. 266-276, Oct. 2000.
7. BAKER, D.L.; STANLEY, S.A.; WIKESJO, U.M. Fibrin clot adhesion to dentin treated with enamel matrix protein. *J. Dent. Res.*, v.81 sp. Iss. A, 3697, p.A-453, 2002.

* Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR-6023: informação e documentação-referências-elaboração. Rio de Janeiro, 2002, 24p.

8. BAKER, P.J.; ROTCH, H.A.; TROMBELLI, L.; WIKESJO, U.M.E. An in vitro screening model to evaluate root conditioning protocols for periodontal regenerative procedures. *J. Periodontol.*, Chicago, v.71, n. 7, p.1139-1143, Jul 2000.
9. BEM HATIT, Y.; BLUM, R.; SEVERIN, C.; MAQUIN, M.; JABRO, M.H. The effects of a pulsed Nd:YAG laser on subgingival bacterial flora and on cementum: An in vivo study. *J.Clin. Laser Surg. Med.*, v.14, n.3, p.137-143, 1996.
10. BERGENHOLTZ, A.; BABAY, N. Scanning electron microscopy of the root surface texture of extracted periodontally diseased teeth following various etching and chelating regimens. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, Lombard, v.18, n.2, p.171-179, Apr.1998.
11. BLÖMLÖF, J.; BLÖMLÖF, L.; LINDSKOG, S. Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces. *J. Clin. Periodontol*, Copenhagen, v.24, p.534-537, 1997.
12. BLOMLÖF, J.; BLÖMLÖF, L.; LINDSKOG, S. Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by and ethylenediaminetetracetic acid gel preparation. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, Lombard, v.17, n.3, p.243-249, Jun. 1997.
13. BLOMLÖF, J.P.S.; BLOMLÖF, L.B.; LINDSKOG, S.F. Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planing followed by etching with an EDTA gel preparation. *J. Periodontol.*, Chicago, v.6, n.9, p.841-845, Sept. 1996.
14. BLOMLÖF, L.; BERMAN, E.; FORSGARDH, A.; FOSS, L.; LARSSON, A.; SJÖBERG, B.; UHLANDER, L.; JONSSON, B.; BLOMLÖF, J.; LINDSKOG, S. A clinical study of root surface conditioning with an EDTA gel. I. Nonsurgical periodontal treatment. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, Lombard, v.20, n.6, p. 561-565, Dec.2000.
15. BLOMLÖF, L.; JONSSON, B.; BLOMLÖF, J.; LINDSKOG, S. A clinical study of root surface conditioning with an EDTA gel. II. Surgical

- periodontal treatment. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, Lombard, v.20, n.6, p.567-573, Dec.2000.
- 16.CAFFESSE, R.G.; NASJLETI, C.E.; ANDERSON, G.B.; LOPATIN, D.E.; SMITH, B.A.; MORRISON, E.C. Periodontal healing following guided tissue regeneration with citric acid and fibronectin application. *J.Periodontol.*, Chicago, v. 62, n.1, p. 21-29, Jan. 1991.
- 17.CATON, J.G.; GREENSTEIN, G. Factors related to periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, Copenhagen, v.1, p.9-15, 1993.
- 18.CHAN, Y., CHIEN, R. Bactericidal action of Nd:YAG laser radiation in periodontal pockets. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY, 4., Cingapura, 1994. *Proceedings...: Monduzzi Editore, 1994*, p.185-190.
- 19.COBB, C. M.; McCAWLEY, T. K.; KILLOY, W. J. A preliminary study on the effects of the Nd:YAG Laser on root surfaces and subgingival microflora in vivo. *J. Periodontol.*, Chicago, v.63, p. 701-707, Aug.1992.
- 20.CRESPI. R.; BARONE, A.; COVANI, U.; CIAGLIA, R.N.; ROMANOS, G.E. Effects of CO₂ laser treatment on fibroblast attachment to root surfaces. A scanning electron microscopy analysis. *J. Periodontol.*, Chicago, v.73, n.11, p.1308-1312, Nov. 2002.
- 21.ERIKSSON, C.; LAUSMAA, J.; NYGREN, H. Interactions between human whole blood and modified TiO₂- surfaces: influence of surfaces topography and oxide thickness on leukocyte adhesion and activation. *Biomaterials*, Oxford, v.22, p.1987-1996, 2001.
- 22.FEGAN, S.E.; STEIMAN, R. Comparative evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation: An in vitro study. *J. Endod.*, v.21, n.8, p.415-417, Aug. 1995.
- 23.FEIST, I.S. *Adesão e proliferação de fibroblastos de gengiva humana cultivados sobre superfícies radiculares tratadas com laser de Er:YAG*. 2002. 71f. - Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

- 24.FOLWACZNY, M.; BENNER, k. U.; FLASSKAMP, B.; MEHL, A.; HICKEL, R. Effects of 2.94 μm Er:YAG laser radiation on root surfaces treated in situ: a histological study. *J. Periodontol.*, Chicago, v.74, n.3, p. 360-365, Mar 2003.
- 25.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.*, Chicago, v. 71,n.2, p. 147-155, Feb. 2000.
- 26.FOLWACZNY, M.; MEHL, A.; HAFFNER, C.; HICKEL, R. Substance removal on teeth with and without calculus using 308 nm XeCl excimer laser radiation. An in vitro investigation. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v. 26, n.5, p. 306-312, May 1999.
- 27.FOLWACZNY, M.; THIELE, L.; MEHL, A.; HICKEL, R. The effect of working tip angulation on root substance removal using Er:YAG laser radiation:an in vitro study. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.28, n.3, p.220-226, Mar. 2001.
- 28.FUJII, T.; BAEHNI, P.C.; KAWAI, O.; KAWAKAMI, T.; MATSUDA, K.; KOWASHI, Y. Scanning electron microscopic study of the effects of Er:YAG Laser on root cementum. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 69, n.11, p. 1283-1290, Nov. 1998.
- 29.GANONG, W.F. Líquidos corporais circulates. In_____ Fisiologia médica. 17. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.379.
- 30.GASPIRC, B.; SKALERIC, U. Morphology, chemical structure and diffusion processes of root surface after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.28, n.6, p.508-516, Jun.2001.
- 31.GOPIN, B. W.; COBB, C. M.; RAPLEY, J. W.; KILOY, W. J. Histologic evaluation of soft tissue attachment to CO₂ laser - treated root surfaces. An in vivo study. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, Lombard, v. 17, n. 4, p. 317-325, Aug.1997.

32. GULDEN ISIK, A.; TARIM, B.; HAFEZ, A.A.; YALÇIN, F.S.; ONAN, U.; COX, C.F. A comparative scanning electron microscopic study on the characteristics of demineralized dentin root surface using different tetracycline HCl concentrations and application times. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 71, n.2, p. 219-225, Feb.2000.
33. GUTCKNECHT, N.; VAN GOGSWAARDT, D.; CONRADS, G.; APEL, C.; SCHUBERT, C.; LAMPERT, F. Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, New York, v.18, n.2, p.57-60, April 2000.
34. HATFIELD, C.G.; BAUMHAMMERS, A. Cytotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Arch. Oral Biol.*, Oxford, v.16, p. 465-468, 1971.
35. HIATT, W.H.; STALLARD, R.E.; BUTLER, E.D.; BADGETT, B. Repair following muco-periosteal flap surgery with full gingival retention. *J Periodontol.*, Chicago, v.39, n.1, p.11-16, 1968.
36. HIBST, R.; KELLER, U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg. Med.*, New York, v.9, n.4, p.338-344, 1989.
37. ISRAEL, M.; COBB, C. M.; ROSSMANN, J. A.; SPENCER, P. The effects of CO₂, Nd:YAG and Er:YAG Lasers with and without surface coolant on tooth roots surfaces. An in vitro study. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v. 24, n.9, p. 595-602, 1997.
38. JEONG, S.N.; HAN, S.B.; LEE, S.W.; MAGNUSSON, I. Effects of tetracycline-containing gel and a mixture of tetracycline and citric acid-containing gel on non-surgical periodontal therapy. *J.Periodontol.*, Chicago, v. 65, n.9, p. 840-847, Sept. 1994.
39. KELLER, U.; STOCK, K.; HIBST, R. Morphology of Er:YAG laser-treated root surfaces. *SPIE*, Bellingham, v.3192, p. 24-31, 1997.
40. KHATIBLOU, F.A.; GHODSSI, A. Root surface smoothness or roughness in periodontal treatment. A clinical study. *J. Periodontol.*, Chicago, v.54, n.6, p.365-367, 1983.

41. KIMURA, Y.; YU, D.; KINOSHITA, J.; HOSSAIN, M.; YOKOYAMA, K.; MURAKAMI, Y.; NOMURA, K.; TAKAMURA, R.; MATSUMOTO, K. Effects of Erbium, Chromium:YSGG laser irradiation on root surface: Morphological and atomic analytical studies. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.19, n.2, p.69-72, April 2001.
42. KREISLER, M.; AL HAJ, H.; DAUBLÄNDER, M.; GÖTZ, H.; DUSCHNER, H.; WILLERSHAUSEN, B.; D'HOEDT, B. Effect of diode laser irradiation on root surfaces in vitro. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.20, n.2, p.63-69, April 2002.
43. KREISLER, M.; MEYER C; STENDER, E.; DAUBLANDER, M.; WILLERSHAUSEN-ZONNCHEN, B.; D'HOEDT, B. Effect of diode laser irradiation on the attachment rate of periodontal ligament cells: an in vitro study. *J. Periodontol.*, Chicago, v.72, n. 10, p.1312-1317, Oct. 2001.
44. LAFFERTY, T.A.; GHER, M.E.; GRAY, J.L. Comparative SEM study on the effect of acid etching with tetracycline HCl or citric acid on instrumented periodontally-involved human root surfaces. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 64, n.8, p. 689-693, Aug.1993.
45. LOPEZ, N. J. Connective tissue regeneration to periodontally diseased root planed and conditioned with citric acid and implanted into the oral mucosa. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 55, n.7, p. 381-390, 1984.
46. MAIMAN, T.H. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature*, London, v.187, n.4736, p.493-494, 1960.
47. McSHINE, R.L.; DAS, P.C.; SMIT SIBINGA, C. T.; BROZOVIC, B. Effect of EDTA on platelet count and other platelet parameters in blood and blood components collected with CPDA-1. *Vox Sang.*, Basel, v.61, p.84-89, 1991.
48. MISRA, V.; MEHROTRA, K. K.; DIXIT, J.; MAITRA, S. C. Effect of a carbon dioxide laser on periodontally involved root surfaces. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 70, n.9, p. 1046-1052, Sept. 1999.

49. MORITZ, A ; DOERTBUDAK, O.; GUTKNECHT, N.; GOHARKHAY, K.; SCHOOP, U.; SPERR, W. Nd:YAG laser irradiation of infected root canals in combination with microbiological examinations. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v.128, n.11, p.1525-1530, Nov. 1997.
50. MORITZ, A ; SCHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; JAKOLITSCH, S.; KLUGER, W.; WERNISCH, J.; SPERR, W. The bacterial effects of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: An in vitro study comparison. *J Clin. Laser Surg. Med.*, v.17, n.4, p.161-164, 1999.
51. MORITZ, A.; GUTKNECHT, N.; DOERTBUDAK, O.; GOHARKHAY, K.; SCHOOP, U.; SCHAUER, P.; SPERR, W. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: a pilot study. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.19, n.1, p.33-37, Feb.1997.
52. MORITZ, A.; GUTKNECHT, N.; GOHARKHAY, K.; SCHOOP, U.; WERNISCH, J.; SPERR, W. In vitro irradiation of infected root canals with diode laser: Results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence Int.*, New Malden, v.28, n.3, p.205-209, Mar.1997.
53. MORITZ, A.; SCHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; SCHAUER, P.; DOERTBUDAK, O.; SPERR, W. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg. Med.*, New York, v.22, p.302-311, 1998.
54. MORLOCK, B. J.; PIPPIN, D. J.; COBB, C. M.; KILLOY, W. J.; RAPLEY, J. W. The effect of Nd:YAG Laser exposure on root surfaces when used as an adjunct to root planing. An in vitro study. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 63, n.7 p. 637-641, Jul. 1992.
55. MYERS, T.D. Lasers in Dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v. 122, p. 46-50, Feb.1991.
56. NIKOLOPOULOS, S.; NAOUMIDOU, I.; MANOUSAKI, A.; THEODORIDES, D.; HELIDONIS, E.; CASTANAS, E. Safety of the ArF excimer laser for the removal of dental plaque and calculi: An in vitro

- histological study. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.18, n.6, p.295-300, 2000.
57. OBERHOLZER, R.; RATEITSCHAK, K.H. Root cleaning or root smoothing. An in vivo study. *J. Clin. Periodontol*, Copenhagen, v.23, p.326-330, 1996.
58. PARASHIS, A.O.; MITSIS, F.J. Clinical evaluation of the effect of tetracycline root preparation on guided tissue regeneration in the treatment of class II furcation defects. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 64, n.2, p. 133-136, Feb. 1993.
59. PICK, R.M.; PECARO, B.C.; SILBERMAN, C. The laser gingivectomy. The use of CO₂ laser for the removal of phenytoin hiperplasia. *J. Periodontol.*, Chicago, v.56, n.8, p.492-496, 1985.
60. PILATTI, G.L. *Estudo in vitro da capacidade de remoção da smear layer da superfície radicular com o uso do gel de EDTA. Influência da concentração, tempo e forma de aplicação*. 2001, 140f. – Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia , Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.
61. POLSON, A.M.; PROYE, M.P. Fibrin linkage: A precursor for new attachment. *J Periodontol.*, Chicago, v. 54, n.3 ,p.141-147, 1983.
62. QUIRYNEN, M.; BOLLEN, C.M.L. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.22, n.1, p.1-14, Jan.1995.
63. RADVAR, M.; MACFARLANE, T.W.; MACKENZIE, D.; WHITTRES, C.J.; PAYNE, A.P.; KINAME, D.F. An evaluation of the Nd:YAG laser in periodontal pocket therapy. *Br Dent. J.*, London, v.180, n.2, p.57-62, 1996.
64. RAMSKOLD, L.O.; FONG, C.D.; STROMBERG, T. Thermal effects and antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with and Nd:YAG laser. *J. Endod.*, v.23, n.2, p.96-100, Feb.1997.

65. RAPAPORT, S.I. Mecanismos de hemostasia. In: _____ Introdução à Hematologia. 2. ed. São Paulo: Roca, 1990. cap. 23, p.330- 358.
66. RECHMANN, P.; HENNIN, T. Selective ablation of sub- and supragingival calculus with a frequency doubled Alexandrite-laser. *SPIE*, Bellinghan, v. 2394, p. 203-210, 1995.
67. RICH, A.; HARRIS, A. K. Anmalous preferences of cultures macrophages for hydrofobic and roughened substrata. *J.Cell Sci*, v.50, p.1-7, 1981.
68. ROCHD, T.; CALAS, P.; ROQUES, C. Evaluation of the bacterial activity on oral organisms of the Nd:YAP laser in vitro. *Lasers Med. Sci*, v.13, n.4, p.288-292, 1998.
69. ROED-PETERSEN, B. The potential use of CO₂-laser gingivectomy for phenytoin-induced gingival hyperplasia in mentally retarded patients. *J Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.20, p.729-731, 1993.
70. SAMPAIO, J.E.C. *Eficiência de detergentes e EDTA na remoção de smear layer de superfícies radiculares submetidas a raspagem e aplainamento. Análise através da microscopia eletrônica de varredura*. 1999. 73f. – Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1999.
71. SASAKI, K.M. Compositional analysis of root cementum and dentin after Er:YAG laser irradiation compared with CO₂ lased and intact roots using fourier transformed infrared spectroscopy. In: *Effects of Erbium YAG laser on periodontal hard tissues*. 2002. 80f. Thesis (Doctor of Philosophy- Dentistry)- Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, 2002.
72. SASAKI, K.M.; AOKI, A.; SHIKUZO, I.; ISHIKAWA, I. Morphological analysis of cementum and root dentin after Er:YAG laser irradiation. *Lasers Surg. Med.*, New York, v.30, p.79-85, 2002.
73. SASAKI, K.M.; AOKI, A.; MASUNO, H.; ICHINOSE, S.; YAMADA, S.; ISHIKAWA, I. Compositional analysis of root cementum and dentin after Er:YAG laser irradiation compared with CO₂ lased and intact roots

- using fourier transformed infrared spectroscopy. *J. Periodont. Res*, Copenhagen v.37, p.50-59, Feb.2002.
- 74.SCHOOP, U.; MORITZ, A.; KLUGER, W.; MALESCHITZ, P.; GOHARKHAY, K.; SCHÖFER, C.; WERNISCH, J.; SPERR, W. Changes in root surface morphology and fibroblast adherence after Er:YAG laser irradiation. *J. Oral Laser Applications*, Carol Stream, v.2, n.2, p.83-93, 2001.
- 75.SCHWARZ, F.; PUTZ, N.; GEORG, T.; REICH, E. Effect of an Er:YAG laser on periodontally involved root surfaces: an in vivo and in vitro SEM comparison. *Lasers Surg. Med.*, New York, v.29, n.4 p.328-335, 2001.
- 76.SCHWARZ, F.; SCULEAN, A.; GEORG, T.; REICH, E. Periodontal treatment with an Er:YAG laser compared to scaling and root planing. A controlled clinical study. *J. Periodontol.*, Chicago, v.72, n.3, p.361-367, Mar. 2001.
- 77.STOCK, K.; HIBST, R.; KELLER, U. Er:YAG removal of subgingival calculi: efficiency, temperature and surface quality, SPIE, Bellingham, v.2922, p.98-106, 1996.
- 78.TEWFIK, H. M.; GARNICK, J. J.; CHUSTER, J. S.; SHARAWY, M. M. Structural and functional changes of cementum surface following exposure to a modified Nd:YAG Laser. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 65, n.4, p. 297-302, Apr. 1994.
- 79.THEODORO, L.H. *Estudo comparativo, através de microscopia eletrônica de varredura, da ação de diferentes substâncias químicas e do laser de Er:YAG, sobre a smear layer, em superfícies radiculares submetidas à raspagem e aplainamento radicular*. 2001. 100f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN, 2001.
- 80.THEODORO, L.H.; HAYPEK, P.; BACHMANN, L.; GARCIA, V.G.; SAMPAIO, J.E.C.; ZECELL, D.M.; EDUARDO, C.P. Effect of Er:YAG and diode laser irradiation on the root surface. Morphological and

- thermal analysis. *J. Periodontol.*, Chicago, v.74, n.6, p.838-843, Jun. 2003.
81. THEODORO, L.H.; HAYPEK, P.; GARCIA, V.G.; ZECELL, D.M.; EDUARDO, C.P. Morphologic analysis, by means of scanning electron microscopy, of the effect of Er:YAG laser on root surfaces submitted to scaling and root planing. *Pesqui. Odontol Bras*, São Paulo, v.16, n.4, p.308-312, Out/Dez. 2002.
82. THEODORO, L.H.; GARCIA, V.G.; MARCANTONIO Jr., E. Lasers em Implantodontia. *BCI*, Curitiba, v.9, n.33, p.74-78, Jan/Mar.2002.
83. THEODORO, L.H.; MILANEZI, F.M.; GARCIA, V.G.; MILANEZI, L.A. Lasers em superfície radicular. *Robrac: Rev. Odontol. Bras. Central*, Goiânia, v.10, n.30, p.9-13, Dez.2001.
84. THOMAS, D.; RAPLEY, C.; SPENCER, P.; KILLOY, W. Effects of the Nd:YAG Laser and combined treatment on in vitro fibroblast attachment to root surfaces. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhgen, v. 21, p. 38-44.1994.
85. TROMBELLI, L.; SCABBIA, A.; ZANGARI, F.; GRISELLI, A.; WIKESJÖ, U.F.M.; CALURA, G. Effect of tetracycline HCL on periodontally-affected human root surfaces. *J. Periodontol.*, Chicago, v.66, n.8, p.685-691, Aug. 1995.
86. TROMBELLI, L.; SCHINCAGLIA, G.P.; ZANGARI, F.; GRISELLI, A.; SCABBIA, A.; CALURA, G. Effects of tetracycline HCl conditioning and fibrin-fibronectin system application in the treatment of buccal gingival recession with guided tissue regeneration. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 66, n.5, p. 313-320, May 1995.
87. TRYLOVICH, C. J.; COBB, C. M.; PIPPIN, D. J.; SPENCER, P.; KILLOY, W. J. The effects of the Nd:YAG Laser on in vitro fibroblast attachment to endotoxin-treated root surfaces. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 63, n.7, p. 626-632, Jul. 1992.

88. WATANABE, H.; ISHIKAWA, I.; SUSUKI, M.; HASEGAWA, K. Clinical assessments of the erbium: YAG laser for soft tissue surgery and scaling. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v. 14, n. 2, p. 67-75, 1996.
89. WIKESJÖ, U.M.E.; CLAFFEY, N.; EGELBERG, J. Periodontal repair in dogs. Effect of heparin treatment of the root surface. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.18, p.60-64, 1991.
90. WIKESJÖ, U.M.E.; CLAFFEY, N.; NILVEUS, R.; EGELBERG, J. Periodontal repair in dogs: effect of root surface treatment with stannous fluoride or citric acid on root reabsorption. *J. Periodontol*, Chicago, v. 62, n.3, p. 180-184, Mar. 1991.
91. WIKESJÖ, U.M.E.; CRIGGER, M.; NILVÉUS, R.; SELVIG, K.N. Early events at the dentin-connective tissue interface. Light and transmission electron microscopy observation. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 62, n.1, p.5-14, Jan. 1991.
92. WIKESJÖ, U.M.E.; NILVÉUS, R. Periodontal repair in dogs. Healing patterns in large circumferential periodontal defects. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.18, n.1, p.49-59, 1991.
93. WIKESJÖ, U.M.E.; NILVÉUS, R. Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. *J. Periodontol.*, Chicago, v.61, n.12, p.719-724, 1990.
94. WIKESJÖ, U.M.E.; NILVÉUS, R.E.; SELVIG, K.N. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J. Periodontol.*, Chicago, v.63, n.3, p.158-165, Mar.1992.
95. WILDER SMITH, P.; ARRASTIA, A. M. A.; SCHELL, M. J.; LIAW, L. H.; GRILL, G.; BERNIS, M. W. Effect of Nd:YAG Laser irradiation and root planing on the root surface. Structural and thermal effects. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 66, n.12, p. 1032-1039, Dec.1995.
96. YAMAGUCHI, H.; KOBAYASHI, K.; OSADA, R.; SAKURABA, E.; NOMURA, T.; ARAI, T.; NAKAMURA, J. Effects of irradiation of an Erbium:YAG Laser on root surfaces. *J. Periodontol.*, Chicago, v. 68, n.12, p.1151-1155, Dec.1997.

97. ZACH, L.; COHEN, G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, Saint Louis, v.19, p.515-530, Apr. 1965.

THEODORO, L. H. Ação do laser de Er:YAG e de Diodo na adesão de elementos sanguíneos e na morfologia de superfícies radiculares irradiadas. Estudo através de microscopia eletrônica de varredura.

Araraquara, 2003. 153f. Tese (Doutorado em Periodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro*, a adesão de elementos sanguíneos sobre superfícies radiculares irradiadas com laser de Er:YAG e de Diodo, e a ação destes sobre as superfícies radiculares. Foram obtidas 120 amostras de dentes humanos extraídos por doença periodontal, que foram previamente raspados e aplainados com instrumentos manuais, sendo a seguir divididas aleatoriamente em 6 grupos com 20 amostras cada. O G1 (controle)- não recebeu nenhum tratamento; o G2- recebeu aplicação tópica de EDTA 24%; G3- foi irradiado com laser de Er:YAG com $7,6 \text{ J/cm}^2$; o G4- irradiado com laser de Er:YAG com $12,9 \text{ J/cm}^2$; o G5 -irradiado com laser de Diodo com 90 J/cm^2 e o G6 - foi irradiado com laser de Diodo com 108 J/cm^2 . Após a realização dos tratamentos, em 10 amostras de cada grupo foi depositado imediatamente a sua punção, tecido sanguíneo originado da vascularização periférica de humano, sendo que 10 amostras não receberam tal tratamento. Após processamento laboratorial as amostras foram analisadas através de microscopia eletrônica de varredura. As fotomicrografias obtidas foram avaliadas através de dois índices:

adesão de elementos sanguíneos e de morfologia da superfície radicular e estatisticamente analisadas (Kruskall Wallis e Mann-Whitney). Os resultados demonstraram que em relação a adesão de elementos sanguíneos não houve diferenças estatisticamente significante entre o grupo controle e os tratados com o laser de Er:YAG ($p=0,7733$ e $0,7831$) ; O G5 mostrou-se menos efetivo que o controle na adesão de elementos sanguíneos ($p=0,0305$) e o G2 foi o menos efetivo de todos na adesão. Com relação a morfologia da superfície radicular houve diferenças significantes entre o controle e os grupos do laser de Er:YAG ($p= 0,0001$) e entre o G5 do Diodo ($0,0259$); entre o EDTA e os grupos do laser de Er:YAG ($p=0,0150$) e entre o Diodo (G6) e os do Er:YAG ($p= 0,0032$). Concluiu-se que nenhum tratamento proposto aumentou a adesão de elementos sanguíneos de forma significativa quando comparado ao controle; o EDTA inibiu a adesão do tecido sanguíneo; o laser de Er:YAG ($12,9 \text{ J/cm}^2$) foi mais efetivo que o Diodo (90 J/cm^2) na adesão e independente do parâmetro, promoveu alterações na morfologia das superfícies radiculares irradiadas, como micro-rugosidades e o laser de Diodo, dependendo do parâmetro utilizado, pode inibir a adesão.

PALAVRAS CHAVE

Lasers; raspagem dentária; aplainamento radicular; sangue; fibrina; estudo comparativo; raiz dentária.

THEODORO, L. H. Effect of Er:YAG and Diode lasers in the adhesion of blood components and in the morphology of irradiated root surfaces. A scanning electronic microscopy study. Araraquara, 2003.153f. Thesis (PhD Doctor in Periodontics) – Araraquara Dental School, State University of São Paulo.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate in vitro the adhesion of blood components on root surfaces irradiated with Er:YAG and Diode lasers and these lasers effects on root surfaces. It was obtained 120 samples of human teeth extracted by periodontal disease. They were planed and scaled previously with manual instruments and randomly divided into 06 groups of 20 samples each. The groups were treated according to the following procedures: G1 (Control Group) - received no treatment; G2- had a topical application of EDTA 24%; G3- was irradiated with Er:YAG laser (7,6 J/cm²); G4 - was irradiated with Er:YAG laser (12,9 J/cm²); G5 - was irradiated with Diode laser (90 J/cm²) and G6 was irradiated with Diode laser (108 J/cm²). After these treatments were conducted, 10 samples of each group received a stippler, a blood tissue originated from peripheral vascularization, and the reminiscent samples did not receive such treatment. After laboratorial analysis the samples were analyzed through a scanning electronic microscopy. The photomicrographs obtained were evaluated according to adhesion of blood components and morphology of root surface; and statistically analyzed (Kruskall Wallis and Mann-Whitney). With relation to the

adhesion of blood components, the results have shown that there were no significant differences between the Control Group and the groups treated with Er:YAG laser ($p=0,7733$ and $0,7831$); G5 was less effective than the Control Group in adhesion of blood components ($p=0,0305$) and G2 was the least effective of all groups in this case. With relation to the morphology of root surface there were significant differences among the Control Group, the Er:YAG laser groups ($p=0,0001$) and the Diode laser G5 ($p=0,0259$); between the EDTA and the Er:YAG laser groups ($p=0,0150$) and also between the Diode laser G6 and the Er:YAG laser groups ($p=0,0032$). Within the limit of this study, it is concluded that no proposed treatment increased the adhesion of blood components in a significant way when compared to the Control Group; EDTA inhibited the adhesion of the blood tissue; the Er:YAG laser ($12,9 \text{ J/cm}^2$) were more effective in the adhesion of blood components than Diode laser (90 J/cm^2) and caused more changes on the root surface and also Diode laser may inhibit the adhesion depending on the parameter it is applied.

Key Words

Lasers; dental scaling; root planing; blood; fibrin; comparative studies; tooth root.

11.1. APÊNDICE 1

Tabela 6 – Notas atribuídas às fotomicrografias para o Grupo Controle (Grupo 1).

		GRUPO 1		
	1 leitura	2 leitura	3 leitura	Grau da foto
070801	0	0	0	0
070802	2	2	2	2
070803	1	1	1	1
070834	1	1	1	1
070811	0	0	0	0
070812	3	3	3	3
070813	0	0	0	0
070831	3	3	3	3
070804	0	0	0	0
070805	3	3	3	3
070806	2	2	2	2
070832	1	1	1	1
070821	3	3	3	3
070822	3	3	3	3
070823	3	3	3	3
070824	1	1	1	1
070808	3	3	3	3
070809	3	3	3	3
070810	3	3	3	3
070807	5	5	5	5
070818	1	0	1	1
070819	3	3	3	3
070820	3	2	2	2
070833	1	1	1	1
070825	3	3	3	3
070826	3	3	3	3
070827	2	2	2	2
070837	3	3	3	3
070814	3	3	3	3
070815	3	3	3	3
070816	0	0	0	0
070836	1	1	1	1
070828	0	0	0	0
070829	0	0	0	0
070830	3	3	3	3
070835	1	1	1	1
140816	3	3	3	3
140817	0	0	0	0
140818	2	2	2	2
140853	3	3	3	3

Tabela 7 – Notas atribuídas às fotomicrografias para o Grupo EDTA 24% (Grupo 2).

	GRUPO 2			
Foto	1 leitura	2 leitura	3 leitura	Grau da foto
240737	0	0	0	0
240738	0	0	0	0
240739	0	0	0	0
240746	2	2	2	2
240713	0	0	0	0
240714	0	0	0	0
240715	0	0	0	0
240744	6	6	6	6
240719	0	0	0	0
240720	0	0	0	0
240721	0	0	0	0
240740	6	6	6	6
240734	0	0	0	0
240735	0	0	0	0
240736	0	0	0	0
240747	2	2	2	2
240725	0	0	0	0
240726	0	0	0	0
240727	0	0	0	0
240745	2	2	2	2
240722	0	0	0	0
240723	0	0	0	0
240724	0	0	0	0
240743	2	1	2	2
240701	0	0	0	0
240702	0	0	0	0
240703	0	0	0	0
270741	1	1	1	1
240728	0	0	0	0
240729	1	0	1	1
240730	0	0	0	0
240749	5	5	5	5
240731	0	0	0	0
240732	0	0	0	0
240733	0	0	0	0
240748	5	5	5	5
240716	0	0	0	0
240717	0	0	0	0
240718	0	0	0	0
240742	1	1	1	1

Tabela 8 – Notas atribuídas às fotomicrografias para o Grupo Laser de Er:YAG (Grupo 3).

	GRUPO 3			
Foto	1 leitura	2 leitura	3 leitura	Grau da foto
140825	3	3	3	3
140826	3	3	3	3
140827	3	3	3	3
070857	5	5	5	5
140844	3	3	3	3
140845	3	2	2	2
140846	2	3	2	2
070840	5	5	5	5
140864	1	1	2	1
140865	2	1	2	2
140866	3	3	3	3
070846	5	5	5	5
140834	2	2	2	2
140835	3	3	3	3
140836	2	2	2	2
070839	5	5	5	5
140850	2	2	2	2
140851	2	2	2	2
140852	1	1	2	1
070848	5	5	5	5
140813	1	1	1	1
140814	1	1	1	1
140815	1	1	1	1
070850	5	5	5	5
140861	1	1	2	1
140862	2	2	2	2
140863	1	1	1	1
070847	5	5	5	5
140828	0	0	0	0
140829	0	0	0	0
140830	1	1	1	1
070841	5	5	5	5
140837	3	3	3	3
140838	3	3	3	3
140839	3	3	3	3
070852	5	5	5	5
140847	1	2	3	2
140848	1	2	2	2
140849	3	3	2	3
070855	5	5	5	5

Tabela 9 – Notas atribuídas às fotomicrografias para o Grupo Laser Er:YAG (Grupo 4).

	GRUPO 4			
Foto	1 leitura	2 leitura	3 leitura	Grau da foto
140801	1	1	1	1
140802	1	1	1	1
140803	1	2	1	1
070842	5	5	5	5
140807	3	3	3	3
140808	3	3	3	3
140809	3	3	3	3
070843	5	5	5	5
140858	1	1	1	1
140859	1	1	1	1
140860	2	2	2	2
070849	5	5	5	5
140819	3	3	3	3
140820	3	3	3	3
140821	1	1	1	1
070844	5	5	5	5
140854	2	2	2	2
140855	2	2	2	2
140857	2	2	2	2
070860	5	5	5	5
140841	1	1	2	1
140842	1	1	2	1
140843	2	2	3	2
070851	5	5	5	5
140831	2	3	3	3
140832	3	3	3	3
140833	3	3	3	3
070854	5	5	5	5
140804	3	3	3	3
140805	3	3	3	3
140806	1	1	2	1
070853	5	5	5	5
140822	2	2	2	2
140823	3	2	3	3
140824	2	2	2	2
070838	5	5	5	5
140811	3	3	3	3
140812	2	2	2	2
140813	1	1	1	1
070845	5	5	5	5

Tabela 10 – Notas atribuídas às fotomicrografias para o Grupo Laser de Diodo (Grupo 5).

	GRUPO 5			
Foto	1 leitura	2 leitura	3 leitura	Grau da foto
251119	3	3	3	3
251120	3	3	3	3
251121	3	3	3	3
251164	3	3	3	3
251122	2	1	2	2
251123	0	0	0	0
251124	3	3	3	3
251170	3	3	3	3
251104	0	0	0	0
251105	0	0	0	0
251106	0	0	0	0
251171	3	3	3	3
251159	3	3	3	3
251160	0	0	0	0
251161	0	0	0	0
251176	5	5	5	5
251156	0	1	1	1
251157	0	0	0	0
251158	3	3	3	3
251175	5	5	5	5
251141	1	1	1	1
251142	0	0	0	0
251143	0	0	0	0
251179	5	5	5	5
251110	0	0	0	0
251111	0	0	0	0
251112	0	0	0	0
251162	3	3	3	3
251113	0	0	0	0
251114	0	0	0	0
251115	1	1	1	1
251167	5	5	5	5
251116	1	0	1	1
251117	0	0	0	0
251118	0	0	0	0
251161	3	3	3	3
251131	1	1	1	1
251132	0	0	0	0
251133	3	3	3	3
251163	3	3	3	3

Tabela 11 – Notas atribuídas às fotomicrografias para o Grupo Laser de Diodo (Grupo 6).

	GRUPO 6			
Foto	1 leitura	2 leitura	3 leitura	Grau da foto
251134	3	3	3	3
251135	2	2	2	2
251136	1	2	2	2
251178	3	3	3	3
251138	0	0	0	0
251139	3	3	3	3
251140	0	0	0	0
251169	3	3	3	3
251101	0	0	0	0
251102	3	3	3	3
251103	3	3	3	3
251168	3	3	3	3
251125	3	3	3	3
251126	3	3	3	3
251127	0	0	0	0
251166	3	3	3	3
251107	1	1	2	1
251108	0	0	0	0
251109	0	0	0	0
251174	3	3	3	3
251128	0	0	0	0
251129	1	1	1	1
251130	0	0	1	0
061202	3	3	3	3
251150	0	0	0	0
251151	0	0	0	0
251152	0	0	0	0
251165	3	3	3	3
251153	0	0	0	0
251154	1	1	1	1
251155	0	0	0	0
251173	3	3	3	3
251144	0	0	0	0
251145	0	0	0	0
251146	0	0	0	0
251177	3	3	3	3
251147	3	3	3	3
251148	2	2	2	2
251149	3	3	3	3
251172	3	3	3	3

11.2. APÊNDICE 2

Os parâmetros para a utilização do laser de Diodo no presente estudo foram determinados em uma fase laboratorial, que precedeu a fase experimental do presente estudo.

Para determinar as potências que não promovessem aumento excessivo de temperatura na câmara pulpar, avaliou-se a variação da temperatura com a potência aplicada nos modos de emissão contínuo e interrompido. Para esta análise foram utilizados dois dentes unirradiculares perdidos por doença periodontal, que não foram utilizados como amostras no estudo, após serem raspados e aplainados com instrumentos manuais. Os dentes foram irradiados no terço cervical radicular das faces mesiais e distais, através de movimento de varredura, com a ponta da fibra em contato, simulando um procedimento clínico periodontal, com as potências de 0,4 à 2,2 W, durante 30 segundos, nos modos de emissão contínuo e interrompido. Durante a irradiação a variação da temperatura da câmara intra-pulpar foi monitorada e gráficos de variação da temperatura foram obtidos.

Para o monitoramento da temperatura intra-pulpar foram acoplados termopares tipo T de cobre estanho (SR 510, Standford Research System, Sunnyvale, CA, USA) na câmara pulpar dos dentes

unirradiculares, os quais ficaram apoiados entre duas placas de resina fixadas com parafusos em um banho térmico com temperatura de 28 °C.

Com a monitoração da temperatura durante a irradiação determinou-se a máxima elevação térmica e pode-se verificar que a temperatura (T) pulpar durante a irradiação laser está relacionada com a potência (P) sendo $T = -0,4 + 3,7P$ para a irradiação no modo contínuo e $T = -0,2 + 2P$ no modo interrompido (Gráfico 3).

Desta forma, selecionou-se as potências de 1,0 W (0,9 W) e 1,2 W (1,08 W) nos modos interrompidos por não promover aumentos indesejáveis da temperatura e a seguir dez dentes unirradiculares foram irradiados no modo interrompido com as potências de 0,9 W (1,0 W) na superfície mesial e 1,08 W (1,2 W) na distal e gráficos de variação da temperatura foram obtidos durante a irradiação (Gráfico 4). Com a monitoração da temperatura durante a irradiação, determinou-se a máxima elevação térmica e obteve-se as médias e desvio-padrão. A variação térmica durante a irradiação com 0,9 W foi de $3,4 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ e com 1,08 W foi de $4 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ que estavam no limite da temperatura máxima permitida pelos tecidos pulpares, que é de 5°C (Zach & Cohen, 1965)⁹⁷.

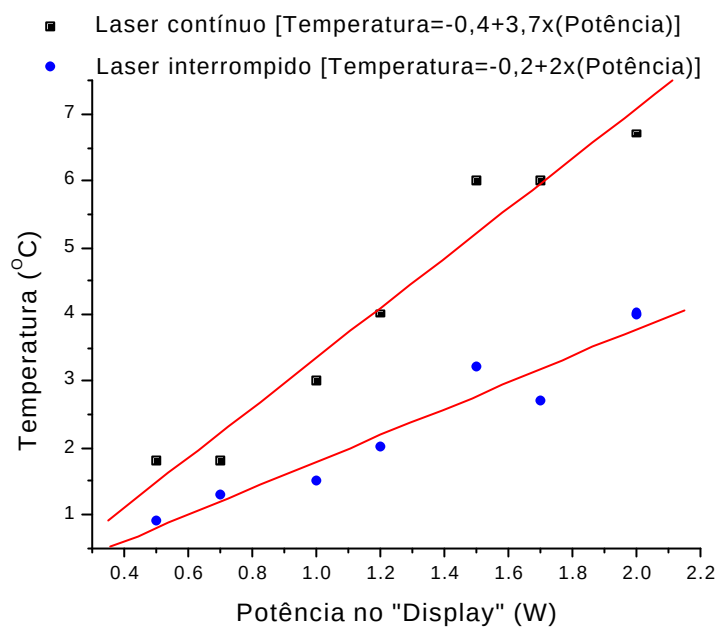


GRÁFICO 3 - Gráfico da correlação da potência com a temperatura nos modos contínuo e interrompido.

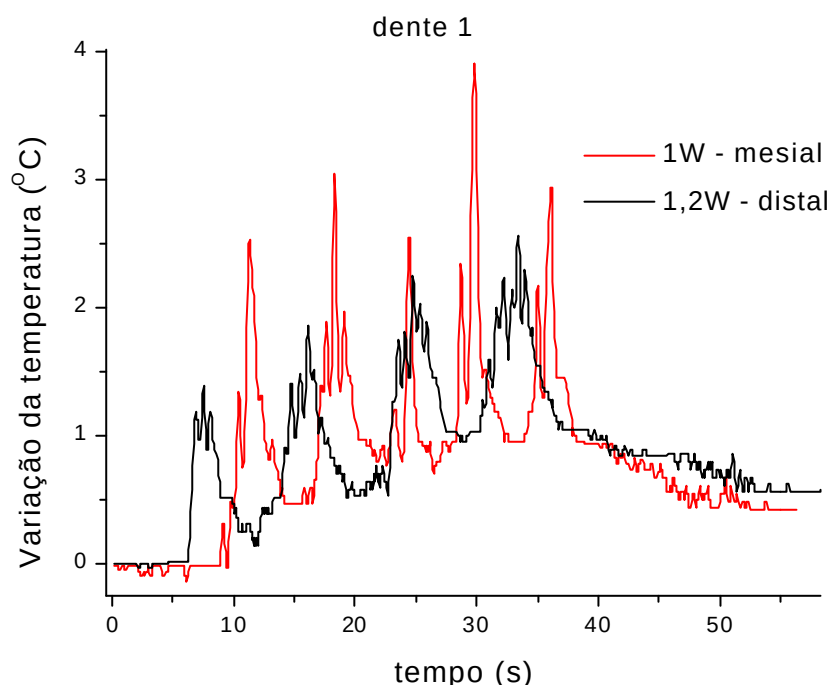


GRÁFICO 4. Variação da temperatura intra-pulpar em graus Celsius de um elemento dentário, durante a irradiação (30 s) na superfície mesial e distal, com laser de Diodo.

O fator de transmissão da fibra do laser de Er:YAG utilizado no presente estudo é 0,71 e é dado pelo fabricante, já o fator de transmissão

da fibra óptica do laser de Diodo que é de 0,9 foi calculado através de uma análise laboratorial prévia, em que se pode fazer uma correlação entre a potência dada no painel do equipamento laser e a potência de saída através de um medidor de potência no Laboratório de Aplicações e Lasers do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.

12. ANEXO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE ARARAQUARA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



Rua Humaitá, 1680 - 14801-903 Araraquara-SP - FONE: (0xx16) 2016434 - FAX: (0XX16) 2016433

Araraquara, 26 de junho de 2002

Ofício CEP-FO/CAr. nº 220/2002

Senhora Pesquisadora:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia, reunido em sessão de 25.06.2002, após apreciar a avaliação final do projeto de sua responsabilidade intitulado ***"Ação da irradiação de superfície radiculares com os lasers de Er: YAG e de Diodo. Análise através de microscopia eletrônica de varredura"***, considerou-o APROVADO, devendo o relatório ser apresentado em Junho/2003.

Atenciosamente

Prof.ª Dr.ª Merian Aparecida Onofre

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
da Faculdade de Odontologia