



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

EFEITOS DO *LASER* DE GaAlAs SOBRE SUPERFÍCIE DE TITÂNIO:
AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E DE TEMPERATURA

Nelson Uzun Junior

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional na área de *Lasers* em Odontologia

Orientadora:

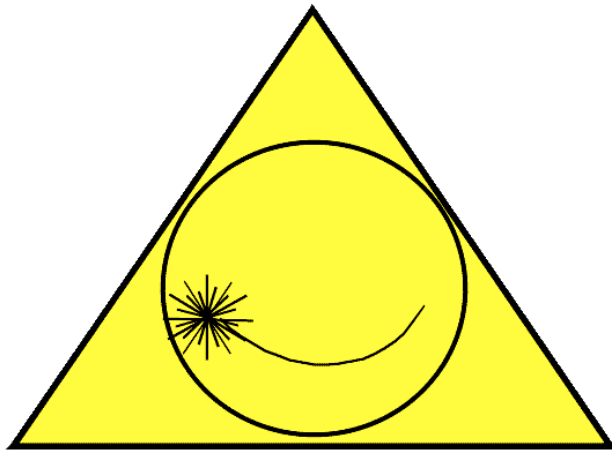
Profa. Dra. Patricia A. da Ana

Co-orientadora:

Profa. Dra. Denise Maria Zzell

SÃO PAULO
2010





MESTRADO PROFISSIONAL DE *LASER* EM ODONTOLOGIA

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

EFEITOS DO *LASER* DE GaAlAs SOBRE SUPERFÍCIE DE TITÂNIO:
AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E DE TEMPERATURA

Nelson Uzun Junior

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre Profissional na área de *Lasers* em Odontologia

Orientadora:

Profa. Dra. Patricia A. da Ana

Co-orientadora:

Profa. Dra. Denise Maria Zzell

SAO PAULO
2010

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus exemplos de vida, Nelson e Marlene. Estas duas pessoas com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação estiveram ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigado por serem meus pais, fonte de inspiração, apoio e ensino diário.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, que com sua clemência e misericórdia, me deu força em momentos difíceis e me guiou quando poderia ter-me perdido;

À minha esposa Maria Luisa, pelo companheirismo e compreensão quando da minha ausência;

À minha irmã Ana Paula, que tem sido junto dos meus pais, a responsável pelas minhas vitórias. Obrigado pelo carinho, companheirismo e apoio, sem os quais seria impossível a conclusão deste mestrado.

À minha orientadora Profa. Dra. Patrícia A. da Ana e minha co-orientadora Profa. Dra. Denise Maria Zezell que me apoiaram e deram condições para concluir este trabalho;

À todos os professores do IPEN e do LELO pelo conhecimento passado;

À turma do mestrado profissional pela amizade e companheirismo durante todo o curso;

Aos amigos e funcionários do IPEN e do LELO que me ajudaram direta ou indiretamente nestes 2 anos de curso.

EFEITOS DO LASER DE GaAlAs SOBRE SUPERFÍCIE DE TITÂNIO: AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E DE TEMPERATURA

Nelson Uzun Junior

RESUMO

A irradiação *laser* em alta intensidade tornou-se uma alternativa promissora no tratamento das periimplantites, promovendo descontaminação eficiente dos sítios e melhor recuperação pós-operatória. Contudo, os parâmetros devem ser corretamente observados para se garantir efetividade no processo de descontaminação e se evitar danos aos tecidos adjacentes. O presente estudo objetivou avaliar as mudanças morfológicas, na temperatura superficial de implantes de titânio, assim como no tecido ósseo adjacente ao implante instalado quando empregado um *laser* de GaAlAs para tratamento da periimplantite. Para tal, discos de titânio com diâmetro de 10 mm foram irradiados com *laser* de GaAlAs, sob densidade de energia de $0,17 \text{ J/cm}^2$, variando-se o modo de emissão (contínuo e pulsado). Durante as irradiações, a temperatura superficial nos discos, assim como o calor transmitido, foi verificada por meio de termografia no infravermelho. Ainda assim, os efeitos das irradiações na morfologia dos discos de titânio foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura. Em uma fase experimental posterior, as elevações de temperatura promovidas pela irradiação *laser* foram avaliadas no tecido ósseo adjacente a implantes já instalados. Para tal, foram empregados 20 implantes de titânio comercialmente disponíveis os quais, após inserção em osso suíno, foram irradiados e tiveram a temperatura na interface implante-osso monitorada por termopares de resposta

rápida. A análise estatística foi efetuada de forma individual para cada variável resposta, considerando-se o nível de significância de 5%. Observou-se que a irradiação do disco de titânio com *laser* no modo pulsado promoveu aumentos de temperatura na superfície do disco significativamente menores ($31 \pm 9 \text{ }^\circ\text{C}$) quando comparada ao valor de temperatura obtido no grupo irradiado no modo contínuo ($145 \pm 34 \text{ }^\circ\text{C}$). Porém, não foram observadas modificações morfológicas nas superfícies dos discos, independentemente do modo de emissão *laser* empregado. A análise de temperatura no tecido ósseo adjacente aos implantes evidenciou que a irradiação com *laser* de diodo sob modo contínuo promoveu aumentos de temperatura de $4,6 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ no terço apical anterior dos implantes, $4 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ no terço coronal posterior e $3 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ no terço apical posterior dos implantes irradiados. Em contrapartida, a irradiação da porção cervical dos implantes com *laser* de diodo sob o modo pulsado promoveu aumentos médios de $3 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ no terço apical anterior, $1,5 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ no terço coronal posterior e $1,5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ no terço apical posterior. Foi possível concluir que as temperaturas atingidas durante as irradiações, em ambos os modos contínuo e pulsado, mostraram-se seguras para o tecido ósseo adjacente, com potencial para descontaminação bacteriana. Ainda assim, as irradiações não exerceram efeitos sobre a morfologia do titânio, indicando que não ocorrem efeitos deletérios que possam prejudicar a reparação tecidual nas áreas irradiadas.

EFFECTS OF GaAlAs LASER ON TITANIUM SURFACE: MORPHOLOGICAL AND SURFACE TEMPERATURE EVALUATION

Nelson Uzun Junior

ABSTRACT

High intensity *laser* irradiation is a promissory alternative for periimplantitis treatment, promoting efficient decontamination of lesions and better post-operative healing. However, *laser* parameters should be correctly observed in order to assure the decontamination process and to avoid damages in surrounding tissues. The present study aimed to evaluate the changes in morphology and in surface temperature of titanium discs, as well in the bone tissue adjacent to the titanium implants, when using a GaAlAs *laser* for treatment of periimplantitis. For that, titanium discs of 10mm diameter were irradiated with GaAlAs *laser*, with energy density of 0,17 J/cm², adjusted for the continuous or pulsed mode. During irradiations, the surface temperature of discs, as well as the transmitted heat, was analyzed by infrared thermography. In addition, the effects of irradiation on the morphology of titanium discs were evaluated by scanning electron microscopy. In a subsequent experimental phase, the temperature increments promoted by *laser* irradiation were evaluated in the osseous tissue adjacent to installed titanium implants. For that, 20 commercially available titanium implants were inserted in pig bones; then, the implants were *laser* irradiated and the implant-bone interface temperature was monitored by fast-response thermocouples. The statistical analysis was performed individually for each variable of response, at 5% significance level. It was observed that *laser* irradiation of titanium discs at

pulsed mode promoted less temperature increment ($31 \pm 9 \text{ }^{\circ}\text{C}$) when compared to the temperature obtained in discs irradiated at continuous mode ($145 \pm 34 \text{ }^{\circ}\text{C}$). However, it was not observed any morphological changes on discs surfaces after *laser* irradiation. The temperature analysis on osseous tissue adjacent to titanium implants showed that *laser* irradiation at continuous mode promoted temperature increments of $4.6 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in the anterior apical third, $4 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in the posterior coronary third and $3 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in the posterior apical third of irradiated titanium implants. Nevertheless, *laser* irradiation at pulsed mode promoted temperature increments of $3 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in the anterior apical third, $1.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in the posterior coronary third and $1.5 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in the posterior apical third of irradiated titanium implants. It was possible to conclude that the temperature increments during *laser* irradiation, in both continuous and pulsed mode, are safe to the osseous adjacent tissue, demonstrating a potential to warranty a bacterial decontamination. Also, *laser* irradiations did not promote morphological effects on titanium discs, indicating that there is no harmful effect that can prejudice healing in the irradiated areas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 Tecido peri implantar	15
3.2 Mucosite peri implantar e peri implantite	16
3.3 Tratamento da peri implantite	18
3.3.1 Princípios básicos do <i>laser</i>	23
3.3.2 Descontaminação com utilização do <i>laser</i>	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 Delineamento experimental	30
4.2 Amostras	30
4.2.1 Discos de titânio	30
4.2.2 Implantes de titânio	31
4.2.3 Tecido ósseo	32
4.3 <i>Laser</i>	34
4.4 Avaliação da temperatura superficial nos discos de titânio	35
4.5 Avaliação morfológica por microscopia eletrônica de varredura	39
4.6 Avaliação da temperatura nas regiões adjacentes ao implante instalado	40
4.7 Análise estatística	43
5 RESULTADOS	45
5.1 Avaliação da temperatura superficial nos discos de titânio	45
5.2 Avaliação da temperatura superficial nos implantes de titânio	47
5.3 Avaliação morfológica por microscopia eletrônica de varredura	54
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1. INTRODUÇÃO

As pesquisas que envolvem o uso de implantes de titânio para reabilitação oral iniciaram-se há 60 anos. Em 1952 o Dr. Per-Ingvar Branemark ao estudar a micro-circulação e observar os fenômenos da cicatrização por meio de uma câmera filmadora de titânio inserida na medula da tíbia de coelhos evidenciou um mecanismo alternativo de fixação e uma grande afinidade óssea pelo titânio ¹. Este fato propiciou o início de pesquisas científicas com implantes dentais, buscando-se um desenho ideal que pudesse substituir raízes dentais perdidas, com biocompatibilidade e que, sobre estes implantes, pudessem ser confeccionadas próteses que devolvessem o conforto, a mastigação, a estética e a fonética do paciente¹.

O material de eleição utilizado na confecção dos implantes osseointegráveis com forma de parafuso e superfície lisa foi o titânio comercialmente puro (Ti CP), e o fenômeno pelo qual se demonstrou a enorme biocompatibilidade deste material, formando uma “conexão direta estrutural e funcional entre as células do tecido ósseo e a superfície funcional do implante submetido a cargas”, foi denominado, por Branemark, “osseointegração”.

A biocompatibilidade do titânio permite a adesão de células responsáveis pela formação óssea, resposta imunológica, cicatrização e tecido de manutenção. Essa adesão pode ser considerada determinante para o sucesso ou falha do implante ².

Os implantes dentais são circundados por três diferentes tecidos: epitélio, epitélio juncional e osso alveolar (a ausência de adesão entre o epitélio juncional e a superfície do implante pode ser o maior fator de falha do implante ³). Ao contrário do tecido encontrado ao redor da raiz dental, a mucosa periimplante possui menor número de células e mais fibras. Dessa forma, a mucosa periimplante é menos efetiva no combate a lesões associadas ao biofilme dental. Essas lesões são provocadas por microrganismos presentes no biofilme dental ^{4, 5} e

causam uma inflamação no conjuntivo ao redor do implante (o epitélio é o tecido mais externo que circunda o implante). Essa inflamação é chamada de mucosite periimplantar. Quando tal inflamação atinge todos os tecidos que circundam o implante, dá-se o nome de periimplantite e pode provocar a perda do implante ⁶.

A remoção de biofilme da superfície dos implantes é o pré-requisito para o tratamento das periimplantites ⁷. Várias formas de descontaminação têm sido utilizadas nos últimos anos. O tratamento tradicional para a doença inclui a remoção mecânica com instrumentos apropriados, como curetas de plástico ou taças de borracha, associadas à utilização de agentes químicos, pois apenas o tratamento mecânico não se mostrou eficaz. Os resultados do tratamento não são consistentes devido à falta de parâmetros homogêneos na coleta das informações, como coleta de dados acerca de profundidade das bolsas periodontais por operadores diferentes e falta de controle de higiene bucal ⁸. Nos últimos dez anos, a utilização do *laser* também tem sido pesquisada para a remoção do biofilme e descontaminação da superfície dos implantes, como mostra um estudo com Nd:YAG, CO₂ e *laser* de diodo, cujos resultados apresentam uma excelente ablação tecidual e bom efeito bactericida, comprovando sua eficácia na descontaminação ⁹.

Um fator essencial que deve ser considerado na utilização dos *lasers* para esse tipo de tratamento é a produção de calor durante a irradiação. O aumento excessivo de temperatura numa pequena área irradiada pode resultar em necrose óssea ao redor do implante. O sistema de entrega do *laser* também é um aspecto importante a ser considerado, pois muitas vezes a localização da doença dificulta a utilização do equipamento. Trabalhos apontam efeitos térmicos deletérios decorrentes da utilização do CO₂ e do Nd:YAG para a descontaminação da superfície dos implantes em caso de periimplantite ^{10, 11, 12, 13} devido a efeitos térmicos em função das

condições de irradiação. O *laser* de diodo parece ser uma boa alternativa de tratamento para tais lesões, pois permite realizar uma boa ablação do tecido de granulação infectado¹⁴.

Recentemente foi introduzido no mercado nacional um novo modelo de *laser* de diodo cirúrgico, o *Thera lase* (DMC Equipamentos, São Carlos, Brasil). Como todo *laser* de diodo apresenta vantagens como baixo custo e acessibilidade. O fabricante em seu manual, sugere parâmetros para tratamento de descontaminação de bolsas periodontais. Levando em consideração a similaridade dos tecidos e a etiologia e progressão da doença^{15, 16, 17, 18, 19, 20, 21}, motivamo-nos a realizar este estudo para confirmar a segurança dos parâmetros descritos pelo fabricante.

2. OBJETIVO

Este trabalho tem, como objetivos, avaliar as alterações morfológicas e de temperatura promovidas pela irradiação com *laser* de GaAlAs, sob parâmetros recomendados para tratamento de periimplantite, na superfície de discos de titânio, assim como no tecido ósseo adjacente a implantes instalados, visando-se indicar seu uso para uma futura aplicação clínica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Tecido periimplantar

As características anatômicas entre os tecidos periodontais e periimplantares possuem certas similaridades ^{15, 16, 17, 18, 19, 20, 21}. O periodonto é constituído pelo epitélio oral, epitélio oral do sulco gengival, epitélio juncional, tecido conjuntivo e o osso alveolar (FIGURA 1).

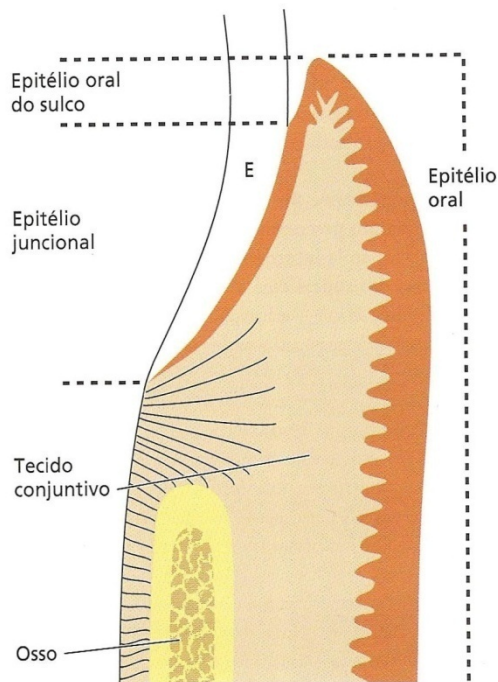


FIGURA 1 – Ilustração dos tecidos periodontais e peri implantares ²².

O tecido conjuntivo tem a função de proteção e “fixação” do dente ao osso alveolar através de fibras colágenas, que são chamadas de ligamento periodontal ²³. Já a relação entre o implante e o osso alveolar é íntima, ou seja, as células ósseas estão apostas à superfície do implante. Este fenômeno foi descrito por Branemark, e por ele chamado de osseointegração ¹. As fibras do tecido conjuntivo estão presentes tanto nos tecidos periodontais como nos tecidos periimplantares. Quando relacionados ao dente se dispõem perpendicularmente à raiz, e estão aderidas ao cemento. Quando relacionadas ao implante, estão paralelas ao longo eixo do

mesmo, mas não há inserção, apenas contato (FIGURA 2) ¹⁵.

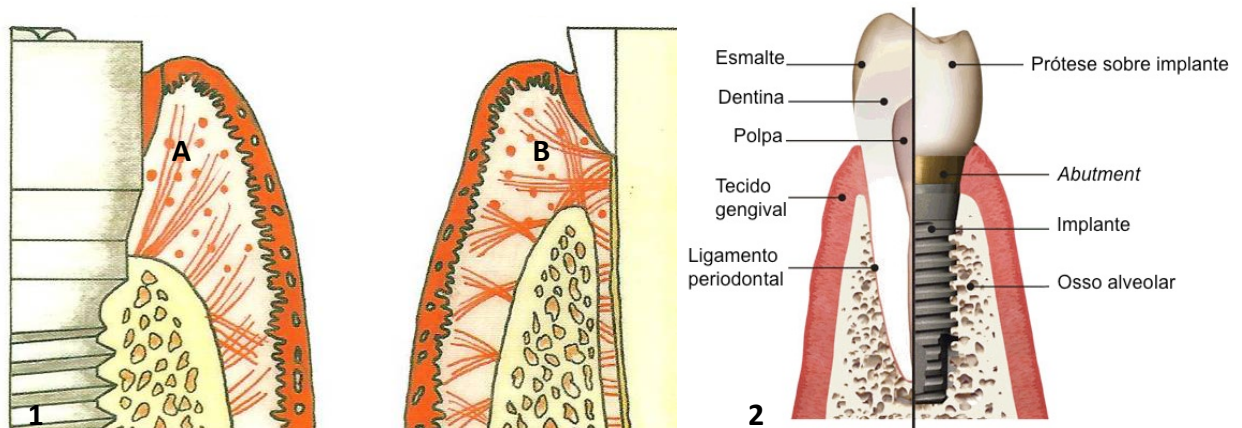


FIGURA 2 –1 - Desenho esquemático dos tecidos periimplantares e periodontais em condições saudáveis; fibras do tecido conjuntivo periimplantar se dispõem paralelas ao longo eixo da superfície de titânio (A); fibras do tecido conjuntivo periodontal se inserem perpendicularmente à superfície radicular (B) ²⁴. **2-** Ilustração das diferenças dos tecidos periodontais e periimplantares ²⁵.

Análises morfométricas do tecido conjuntivo periimplantar mostraram grande similaridade dos tecido próximo à superfície do implante com o tecido supracrestal gengival. A presença dessas células fibroblásticas em contato com o implante confirma o papel de selamento biológico perimucosal²¹.

Dessa forma pode-se afirmar que a presença dos fibroblastos em contato com o implante é uma situação muito importante para a manutenção e longevidade dos implantes osseointegrados, pois confere a primeira proteção das estruturas periimplantares contra agressão de bactérias presentes na cavidade oral²⁶.

3.2 Mucosite periimplantar e Periimplantite

Uma vez que a barreira de tecido conjuntivo periimplantar esteja comprometida, instala-se um processo inflamatório (mucosite e/ou periimplantite) no local, colocando em risco o sucesso e longevidade do implante. O conceito de que as bactérias desempenham um papel importante

na etiologia da mucosite periimplantar e na etiologia da periimplantite é bem documentada e comprovada na literatura^{20, 21, 26, 27}.

A mucosite periimplantar caracteriza-se por ser uma inflamação reversível dos tecidos ao redor dos implantes dentais. Seu desenvolvimento acontece em resposta à colonização bacteriana do espaço entre mucosa e implante, e sua falta de tratamento leva à perda do osso ao redor do implante. Essa perda óssea é chamada de periimplantite^{20, 27}. Em níveis avançados, essa perda de osso leva ao insucesso do implante. A periimplantite afeta entre 5% e 10% dos implantes e é a principal causa de insucesso de implante em longo prazo²⁸. Trabalhos apontam que implantes instalados em pacientes com pré-disposição à doença periodontal estão mais suscetíveis à falha quando comparados a implantes instalados em pacientes sem esta pré-disposição. O índice de falha dos implantes neste tipo de paciente é de 8% contra 3.3%. Estes relatos demonstram mecanismos semelhantes entre a doença periodontal e a periimplantite²⁹.

Aproximadamente 65% de todas as doenças infecciosas, incluindo a doença periodontal e a periimplantite, estão associadas com o biofilme dental^{4, 5, 30}. O desenvolvimento do biofilme (placa bacteriana) aderido ao implante demonstra ser o fator inicial do desenvolvimento de doenças periimplantares, e pode ser o responsável pela alteração da biocompatibilidade da superfície dos implantes (FIGURA 3).

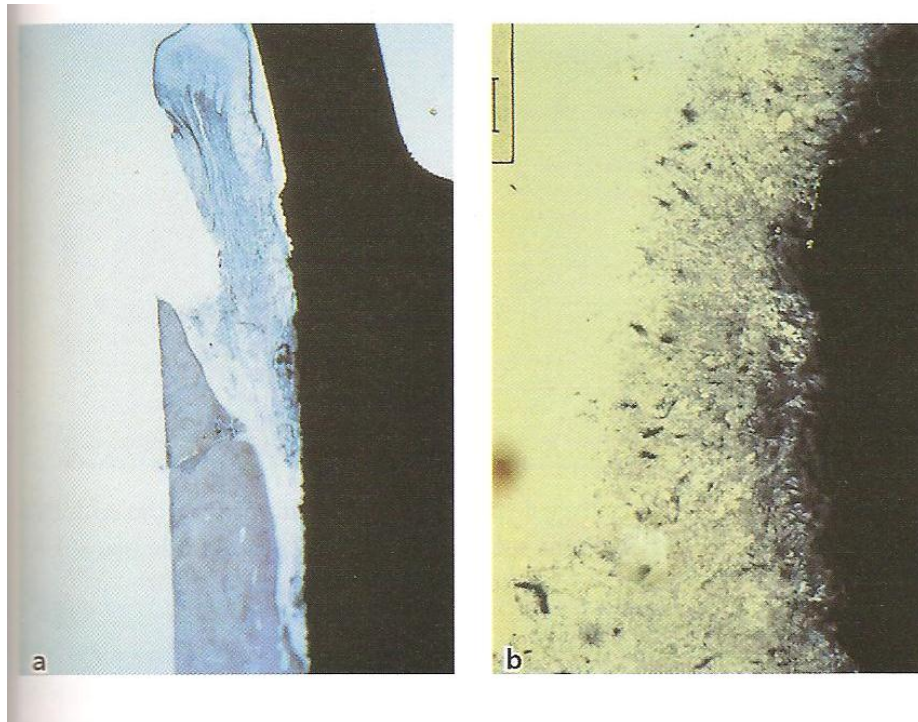


FIGURA 3 – Infecção periimplantar. (A) biópsia humana de um implante dental ITI afetado por periimplantite com uma lesão infra-óssea. A placa aderida assemelha-se muito à estrutura da microbiota subgingival encontrada em pacientes portadores de periodontite avançada. (B) Maior aumento da placa aderida à superfície do implante ³¹.

A literatura descreve bem o fator etiológico da mucosite periimplantar e periimplantite. Está bem claro que este é o fator inicial para a falha dos implantes, e que a remoção do biofilme dental é fundamental para impedir a instalação da patologia.

3.3 Tratamento da periimplantite

Várias técnicas para remoção e tratamento das doenças associadas à contaminação dos implantes osseointegrados são descritas pela literatura. Os tratamentos convencionais visam a remoção do biofilme dental ³². Técnicas como a remoção mecânica do biofilme com utilização de curetas plásticas ou fibra de carbono são descritas pela literatura ³³. Porém o tratamento descrito não se mostrou eficaz na descontaminação da superfície dos implantes ⁸. A morfologia superficial dos implantes dentais apresentam características que dificultam o tratamento

mecânico para esta patologia. Diferentes *designs* de diversos fabricantes de implantes dentais torna necessária a individualização do tratamento para descontaminação dos implantes. Um implante dental é dividido em corpo, região cervical, região apical. Os problemas com a remoção mecânica dos implantes começam com a morfologia, pois em todo o corpo do implante existem espiras que visam aumentar o contato e a estabilidade do implante com o osso adjacente ³⁴. A remoção do tecido infectado realizada com curetas não é eficaz, pois o princípio do tratamento é raspar o tecido da superfície do implante, e a presença das espiras dificulta a remoção completa do tecido. Além da dificuldade com as espiras, o tratamento da superfície dos implantes também servem como nichos para proliferação de bactérias. Este tratamento superficial mostra-se como a maior dificuldade para a raspagem mecânica, pois é praticamente impossível atingir os sulcos das rugosidades com as curetas (FIGURA 4 e FIGURA 5) ³⁵.

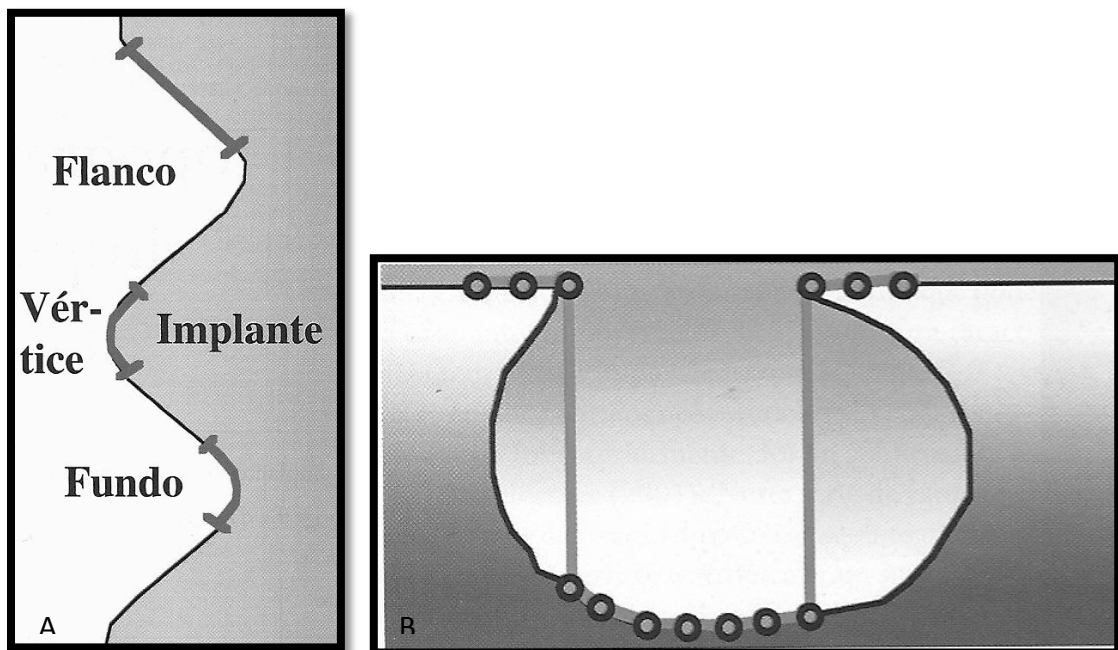


FIGURA 4 – Imagens mostram as irregularidades formadas pelo tratamento de superfície dos implantes. A figura A mostra os nichos entre as espiras do implante; a figura B mostra os nichos dentro das irregularidades formadas pelo tratamento da superfície ³⁶.

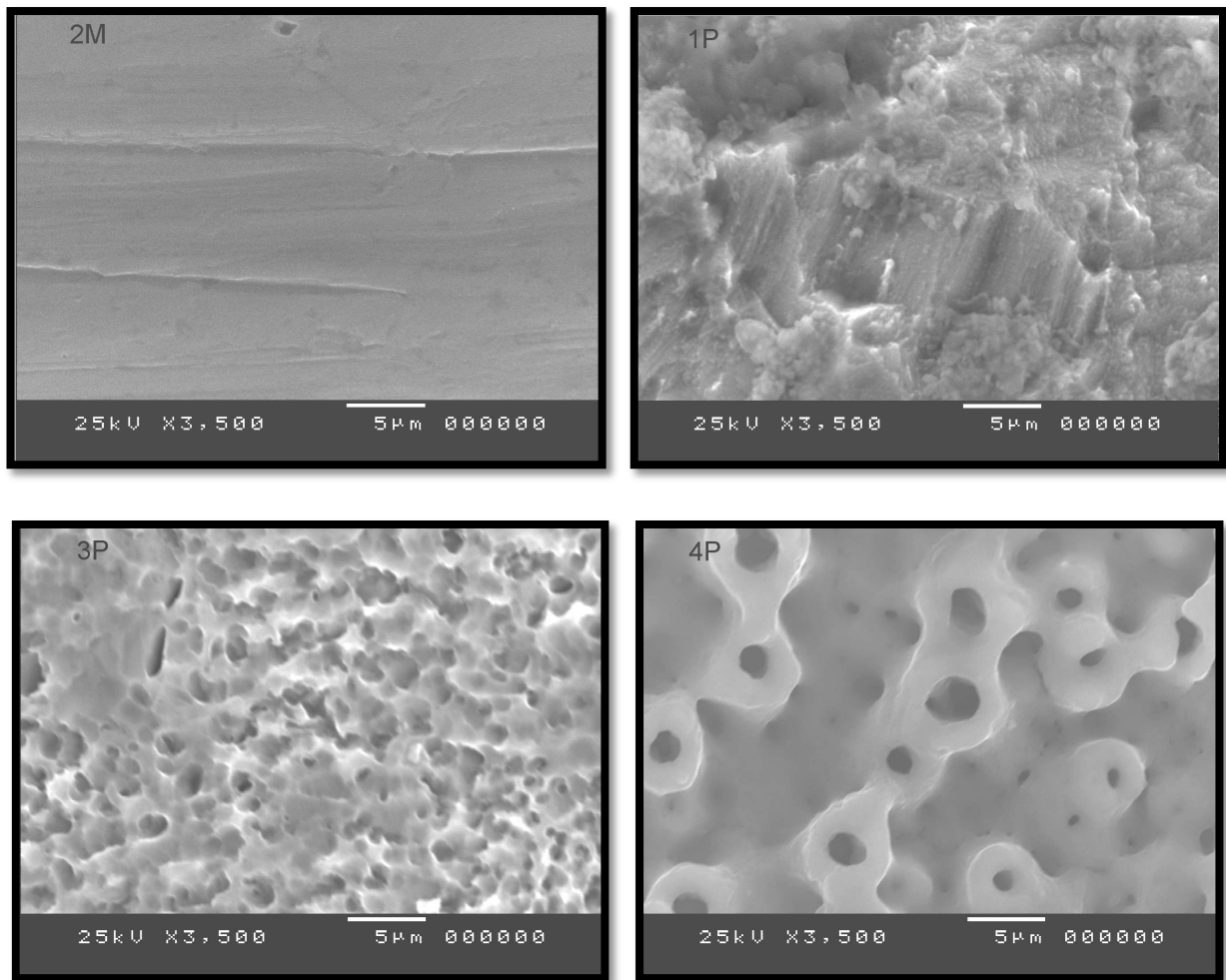


FIGURA 5 – Imagens mostram diferentes tratamentos de superfície de implante. **2M** – Superfície usinada apresenta poucas nichos para desenvolvimento bacteriano. **1P, 3P e 4P** – Superfícies com diferentes tipos de tratamento. Apresentam maior dificuldade ou impossibilidade de remoção mecânica do biofilme ³⁷.

Para tentar solucionar a dificuldade de remoção do tecido infectado nas regiões mencionadas, alguns autores preconizam a utilização de agentes químicos locais e sistêmicos ^{38,39}. O gluconato de clorexidina é o agente químico mais utilizado devido ao seu efeito antimicrobiano e inibidor do biofilme dental, porém em uso contínuo apresenta efeitos colaterais como manchas acastanhadas nos dentes, perturbação do paladar, erosão da mucosa oral e tumefação unilateral ou bilateral da parótida ⁴⁰. Ainda assim seus efeitos terapêuticos em relação ao biofilme são superiores aos agentes similares, principalmente quanto ao tempo de

efeito terapêutico ⁴¹. Além de seus efeitos colaterais alguns autores creditam à clorexidina um maior efeito preventivo, pois devido à sua natureza catiônica possui pouca penetrabilidade limitando sua ação em doenças pré-estabelecidas como a gengivite ⁴¹ ou mucosite periimplantar. Uma alternativa para este problema é a utilização de agentes antimicrobianos sistêmicos, pois estes podem atingir as bactérias invasoras dos tecidos periimplantares (FIGURA 6) ^{42,43, 44}.

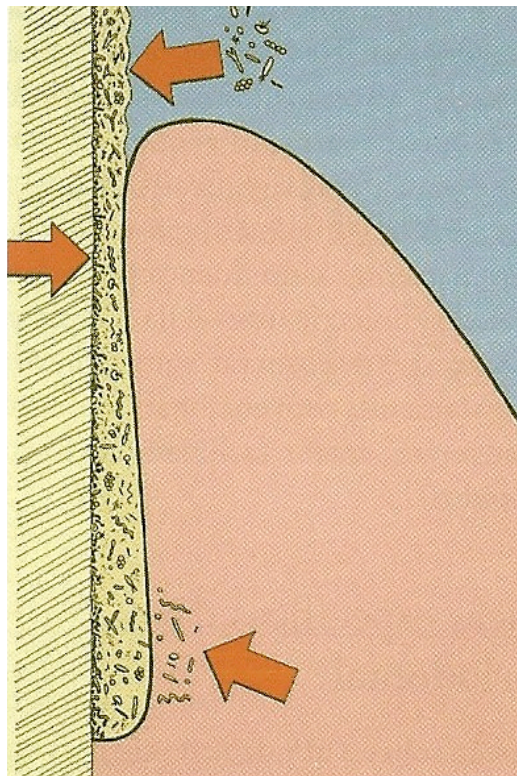


FIGURA 6 – Ilustração de invasão bacteriana do biofilme para os tecidos periodontais ⁴⁵

Ainda que os métodos de tratamento convencionais para eliminação da doença periimplantar tenham sido exaustivamente pesquisados, sua eficácia é contestada por alguns autores ^{8, 46, 47}, pois os resultados não são consistentes devido à falta de parâmetros homogêneos na coleta das informações, como coleta de dados acerca de profundidade das bolsas periodontais por operadores diferentes e falta de controle de higiene bucal ^{46, 47, 48}.

Como a remoção do biofilme e controle microbiano é um desafio para o tratamento clássico para periimplantite devido à topografia dos implantes dentais como visto acima, autores lançam mão de técnicas alternativas. Uma delas é a implantoplastia. Esta técnica consiste em diminuir ou eliminar as rugosidades da superfície do implante com utilização de brocas para desgaste e borracha para polimento do implante. O problema é que essa técnica é indicada para os casos onde técnicas regenerativas fracassaram ou não estão indicados, e, portanto ficarão expostos à cavidade oral^{49,50}. Dessa forma, para os casos onde necessita-se de uma regeneração tecidual, este procedimento não é indicado.

Além dos agentes químicos, o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos são influenciados pela temperatura. Sabe-se que os microrganismos presentes no corpo humano em sua maioria são mesofílicos, ou seja, microrganismos que sobrevivem e se multiplicam em temperaturas entre 36°C e 42 °C (graus Celsius). Temperaturas fora destes limiares influenciam negativamente na multiplicação das bactérias e conseqüentemente na lise da bactéria^{51, 52}. A partir destes dados equipamentos *laser* de alta intensidade passaram a ser considerados para a descontaminação de superfície de implantes dentais osseointegrados, devido ao aquecimento que provocam nos tecidos periimplantares.

3.3.1 Princípios básicos do *Laser*

Basicamente, um *laser* atua a partir da emissão de fótons que interagem com a matéria. É uma emissão estimulada, originada por uma fonte de energia que bombeia um meio capaz de emitir fótons, num comprimento de onda específico, que depende do meio bombeado. Este meio ativo pode ser sólido, líquido, gasoso ou semiconductor (FIGURA 7) ⁵³.

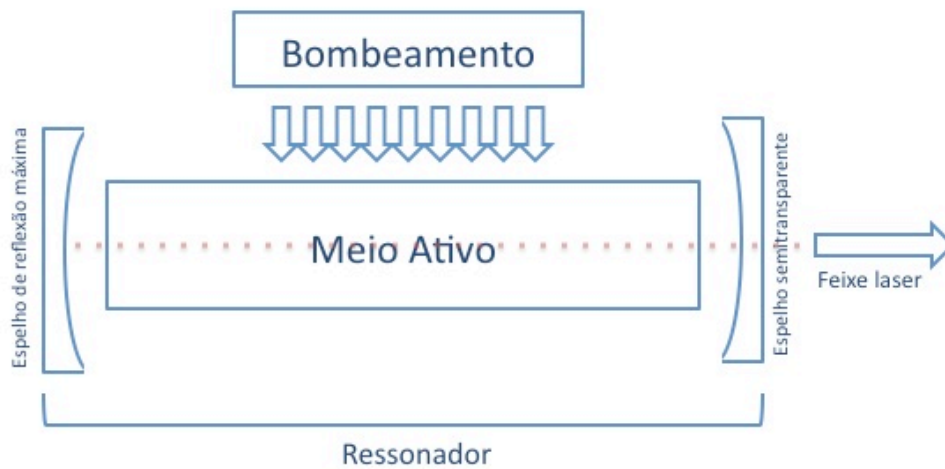


FIGURA 7: Ilustração do esquema básico de um *laser* ⁵³.

Os *lasers* de estado sólido são compostos por um hospedeiro (cristal, vidro ou cerâmica) e um íon ativo (terra rara, actínídeo ou metal de transição). O conjunto é chamado de meio ativo. O hospedeiro é obtido através da fusão de componentes químicos (óxidos, fosfatos, silicatos, borosilicatos, cerâmicas, etc.) e cresce sob forma cristalina a partir de uma semente (pequena parte do material desejado). Para que haja ação *laser*, a matriz hospedeira precisa ser “dopada” com um íon ativo. Esse fenômeno atuará como uma impureza ou “defeito” na arquitetura cristalina do hospedeiro que tornará esse meio, depois de estimulado por uma fonte bombeadora, capaz de produzir um feixe de luz colimado e amplificado que emitirá radiação.

Os *lasers* de estado líquido, gasoso e semiconductor, seguem o mesmo princípio de emissão explicado acima, porém o meio ativo é diferente. Os *lasers* de estado líquido utilizam um meio líquido que pode ser o próprio elemento ativo ou pode ter um soluto em uma solução como um elemento ativo. Os *lasers* de corante utilizam um gás atômico, molecular ou iônico como meio ativo. Por fim, os *lasers* de diodo ou semiconductor utilizam junções semicondutoras como meio *laser* ativo.

Para que esse meio ativo seja capaz de emitir luz *laser*, é necessário que receba energia para iniciar o sistema já comentado. Esse fenômeno é chamado de mecanismo de excitação. O meio ativo pode ser excitado ou bombeado por luz (bombeamento óptico – *laser* de estado sólido, líquido e alguns gasosos); colisões inelásticas com elétrons livres; colisões inelásticas com auxílio de átomos e moléculas ; bombeamento químico (*lasers* químicos); bombeamento por recombinação (*lasers* de excímeros) e bombeamento térmico (*lasers* de gásdinâmico).

Quando um *laser* recebe bombeamento óptico, quer dizer que a excitação do meio ativo ocorre pela emissão de luz causada pela descarga de uma corrente elétrica numa lâmpada. Esta lâmpada pode ter forma cilíndrica semelhante ao meio ativo, colocados paralelamente dentro de uma cavidade. Estas cavidades podem ser refletoras (elipsoidal, elíptica, cilíndrica, etc.) ou difusas (cilíndricas, close coupled, etc.).

Alguns fatores afetam o desempenho de uma cavidade de bombeamento: a eficiência radiativa (quantidade de energia elétrica fornecida à lâmpada que realmente é transformada em energia luminosa), eficiência de transferência (a quantidade de energia emitida que realmente atinge o meio ativo), eficiência de absorção (capacidade de absorção do meio ativo para com os fótons bombeados) e eficiência quântica (capacidade de excitação dos elétrons). Durante o processo, sempre há produção de calor gerado pela energia que não é transformada em luz

(geralmente a quantidade de calor é maior do que a quantidade de luz). Esse calor produzido precisa ser removido da cavidade por meio de refrigeração.

Ainda existe mais um mecanismo necessário para produzir um feixe *laser*. São os ressonadores ópticos. A função dos ressonadores é direcionar o conjunto de fótons produzidos pela excitação do meio ativo fazendo com que estes se propaguem na mesma direção, amplificando o feixe *laser*. Os ressonadores são compostos de dois espelhos posicionados nas extremidades do bastão (meio ativo), sendo que um deles apresenta 100% de reflexão e o espelho de saída permite uma pequena transmissão. Esta parte transmitida é o feixe *laser* propriamente dito (feixe útil). O feixe *laser* produzido apresenta como característica uma distribuição espacial geométrica, chamada de modos espaciais do feixe *laser*. Também podem apresentar aberrações e espalhamento que distorcem a distribuição espacial de intensidades do feixe *laser*.

A interação e os efeitos da luz *laser* com a matéria dependem ainda de alguns fatores, como qualidade desse feixe, que pode ser medida de acordo com o fator M2; a focalização do feixe, que é obtida pelo uso de lentes e pelo sistema com que esse feixe vai chegar aos tecidos, o que chamamos de sistemas de entrega. As lentes estão relacionadas com a capacidade de convergência do feixe. O ponto de maior convergência é o que chamamos de foco.

Após o início de emissão da luz *laser*, é necessário que haja um sistema que leve esse feixe até seu objeto de interação. Este processo chamado de sistema de entrega do feixe *laser* pode ser composto por: fibras ópticas, que permite contato direto com o tecido; braço articulado, que consiste de espelhos localizados nas curvaturas do braço que direcionam o feixe até o alvo; guia de onda óptica, que consiste de um tubo flexível com o interior refletor; ou endoscópio que permite a acoplagem a um microscópio.

As fibras ópticas têm um papel importante para o uso dos *lasers* na odontologia, pois permitem a interação direta, ou muito próxima, do feixe com o tecido. Essa propriedade possibilita um maior controle sobre o procedimento. Essas fibras podem ser compostas por sílica fundida, sílica cristalizada, seleneto de zinco ou quartzo e são constituídas de duas camadas que confinam o feixe, fazendo com que ele se propague no interior das fibras, sem que haja perdas significativas da luz.

Os *lasers* apresentam diferentes formas de emissão. Essa emissão ou regime de operação se descreve como a entrega do feixe em função do tempo. A emissão pode ser contínua, que se caracteriza por um feixe constante, sem nenhuma interrupção durante o tempo de trabalho. A emissão pode se dar em regime pulsado, que é controlado pelo modo de bombeamento, ou seja, a emissão tem potência de saída oscilante variando entre um valor máximo e zero durante um período. Quase todos os *lasers* podem funcionar nesse último regime de operação. Também podem emitir por desencadeamento ou destravamento, conhecido por Q-switch. Esse método utiliza oscilações muito intensas e muito rápidas. O último modo de operação é chamado de *modelocking*. Esse fenômeno também é chamado de modo sincronizado, e opera semelhantemente ao modo de desencadeamento. A modulação executada tem ordem de grandeza entre a potência e frequência.

A interação de um *laser* com os tecidos biológicos se dá por alguns fenômenos, também físicos, que resultarão de uma resposta tecidual: a reflexão, refração, absorção, espalhamento e transmissão. Todos esses fenômenos ocorrem quando um feixe *laser* incide em um tecido, porém, o mais importante para a terapia de um tecido é o feixe absorvido. A absorção ocorre quando a onda eletromagnética emitida é absorvida pelos cromóforos localizados nos tecidos. Nesse sentido, fica mais claro o fato da interação de diferentes comprimentos de onda com seus

respectivos cromóforos, localizados também em diferentes tipos de tecidos biológicos. Existem vários *lasers* com comprimentos de onda indicados para interagir com os tecidos moles e duros dos seres humanos. Em odontologia, os *lasers* mais utilizados são o Argônio (488nm e 514,5nm – ressonante com hemoglobina, melanina e hemosiderina); CO₂ e TEA CO₂ (9300nm, 9600nm e 10600nm – ressonante com hidroxiapatita e água); Érbio e Érbio; Cromo (2940nm e 2790nm – ressonantes com água e hidroxiapatita); Neodímio (1064nm – ressonante com melanina, oxihemoglobina e hemoglobina); Diodo (808nm, 940nm – ressonante com melanina, oxihemoglobina e hemoglobina) ⁵³.

Durante a interação com os tecidos, as ondas eletromagnéticas ressonantes agitam as moléculas da matéria gerando calor nos tecidos. O aumento de temperatura não deve ser excessivo para não provocar dano. Esse fato pode ser controlado pelo modo de emissão do feixe. Operando em modo pulsado ou interrompido, existe um tempo entre as irradiações suficientes para que ocorra o resfriamento do tecido. Este espaço de tempo é chamado de tempo de relaxação térmica e permite a interação com o tecido de forma eficiente com pouca dano térmica ⁵³.

3.3.2 Descontaminação com utilização do *laser*

Com o avanço tecnológico, a utilização de *laser* operando tanto em baixa como em alta intensidade passou a ser amplamente utilizado na área da saúde. Dentre todas as suas utilizações na odontologia, especificamente na implantodontia, os protocolos para descontaminação tem sido amplamente utilizados e apresentam resultados muito satisfatórios^{54, 55, 56}. Algumas vantagens do *laser* de alta intensidade para este tipo de tratamento estão relacionadas à ablação do tecido de granulação presente nos locais de infecção e a hemostasia⁵⁷, porém, existe grande preocupação com relação à danos térmicos e alterações morfológicas na superfície dos implantes^{57, 11, 10, 13}.

Romanos *et al* (2009) publicaram um artigo de revisão de literatura das aplicações de *laser* na implantodontia, apontando 27 publicações com os melhores resultados de descontaminação com *lasers* de Nd:YAG, Er:YAG, CO₂ e diodo. Neste estudo o autor relata trabalhos indicando alterações na superfície dos implantes quando da utilização dos *lasers* de Nd: YAG e Er:YAG, ainda que sua eficácia na descontaminação seja comprovada. Dessa forma o autor aponta que os melhores resultados foram alcançados com a utilização do CO₂^{57, 9, 58} e do diodo^{57, 9, 12}.

Outro estudo compara os efeitos da irradiação com *lasers* de Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, CO₂, e GaAlAs com relação às alterações morfológicas produzidas na superfície de implantes de titânio, concluindo que apenas o diodo não produziu nenhuma alteração superficial¹¹. A eficácia destes *laser* para o tratamento em questão é creditada à interação que possuem com a água no caso do Ho:YAG, Nd:YAG, Er:YAG e CO₂; e interação com a hemoglobina no caso do GaAlAs (FIGURA 8).

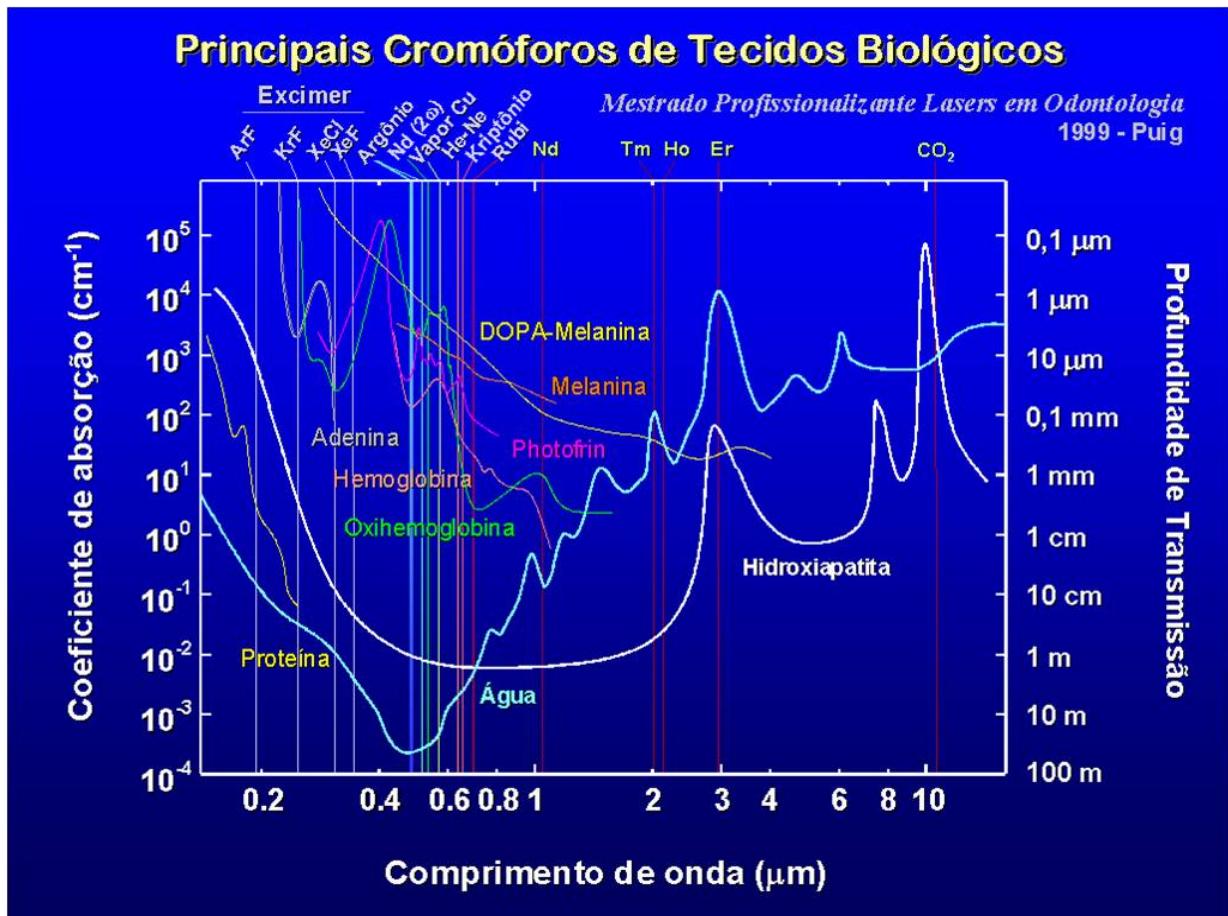


FIGURA 8 – O Gráfico mostra o coeficiente de absorção dos cromóforos em função do comprimento de onda e a profundidade de transmissão nos tecidos⁵³.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Delineamento experimental

O presente estudo *in vitro* avaliou os efeitos dos diferentes modos de emissão do *laser* de GaAlAs (contínuo x pulsado) quando empregado para descontaminação de sítios acometidos por periimplantite. Para tal, o presente estudo encontra-se dividido em três partes experimentais. Na primeira parte, foram avaliadas as modificações na temperatura superficial de discos de titânio decorrente das irradiações; para tal, foram empregados 20 discos de titânio, os quais foram avaliados durante as irradiações por termográfica no infravermelho. Na segunda parte experimental, foram avaliadas as modificações morfológicas dos mesmos discos antes e após as irradiações, quando foram empregados 6 discos de titânio que, após preparo específico, foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura. Na terceira parte experimental, as elevações de temperatura promovidas pela irradiação *laser* foram avaliadas no tecido ósseo adjacente a implantes já instalados. Para tal, foram empregados 20 implantes comercialmente disponíveis os quais, após inserção em osso suíno, foram irradiados e tiveram a temperatura óssea monitorada por termopares de resposta rápida. A análise estatística foi efetuada de forma individual para cada metodologia de análise, considerando-se o nível de significância de 5%.

4.2 Amostras

4.2.1 Discos de titânio

Foram utilizados 29 discos de titânio (Bionnovation Implantes e Biomateriais, Bauru, SP) comercialmente puro (Titânio Grau II - ASTM F67), com superfície tratada por subtração ácida e esterilizados por óxido de etileno, de forma semelhante aos implantes comercialmente disponíveis. Os discos (FIGURA 9) foram padronizados a 1,5 mm (milímetros) de espessura e 10

mm de diâmetro; apresentam uma superfície porosa que promove uma irregularidade superficial com diâmetro dos seus poros variando entre 1,5 e 2 μm (micrometros) segundo informações do fabricante. Dos discos assim descritos, 9 discos foram empregados para análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV), enquanto que os demais 20 discos foram empregados para análise de temperatura na superfície do titânio decorrente das irradiações por termografia no infravermelho.

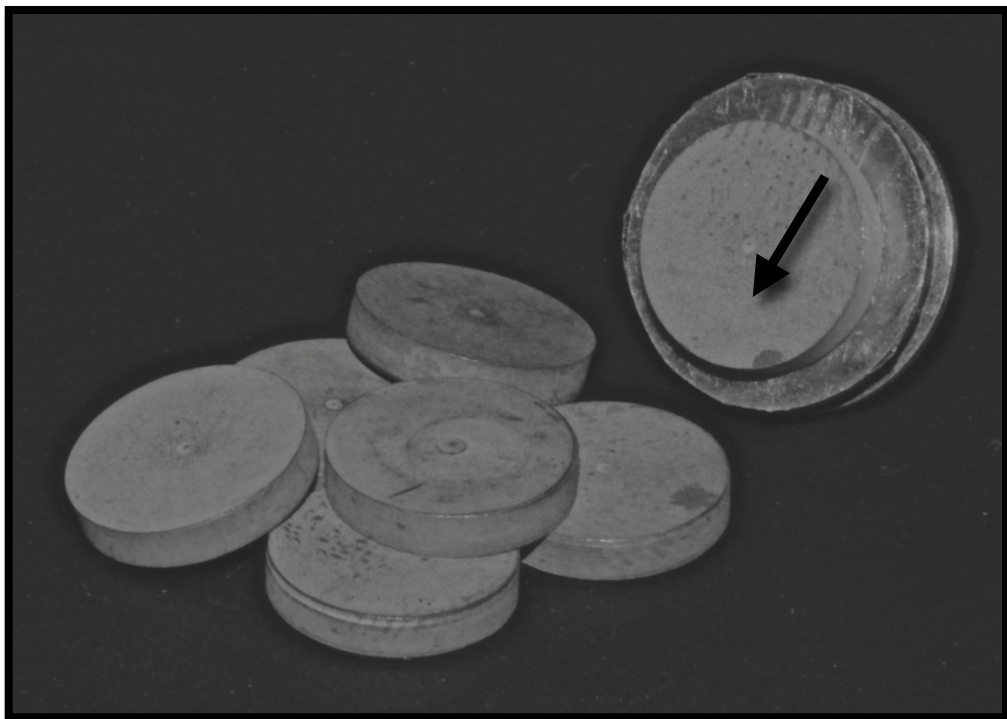


FIGURA 9 – Discos de titânio utilizados no experimento. A seta indica o disco fixado ao stub para análise em MEV.

4.2.2 Implantes de titânio

Para o estudo de temperatura no tecido ósseo adjacente ao implante instalado, foram utilizados 20 implantes de titânio (Bionnovation Implantes e Biomateriais, Bauru, SP) comercialmente puro (Titânio Grau II – ASTM F67), com superfície tratada por subtração ácida e esterilizados de fábrica com protocolo de esterilização para uso clínico. Os implantes (FIGURA 10) apresentam dimensões de 3,75 mm de diâmetro e 7 mm de comprimento; apresentam

superfície porosa que promove uma irregularidade superficial com diâmetro dos seus poros variando entre 1,5 e 2 μm (segundo informações do fabricante).

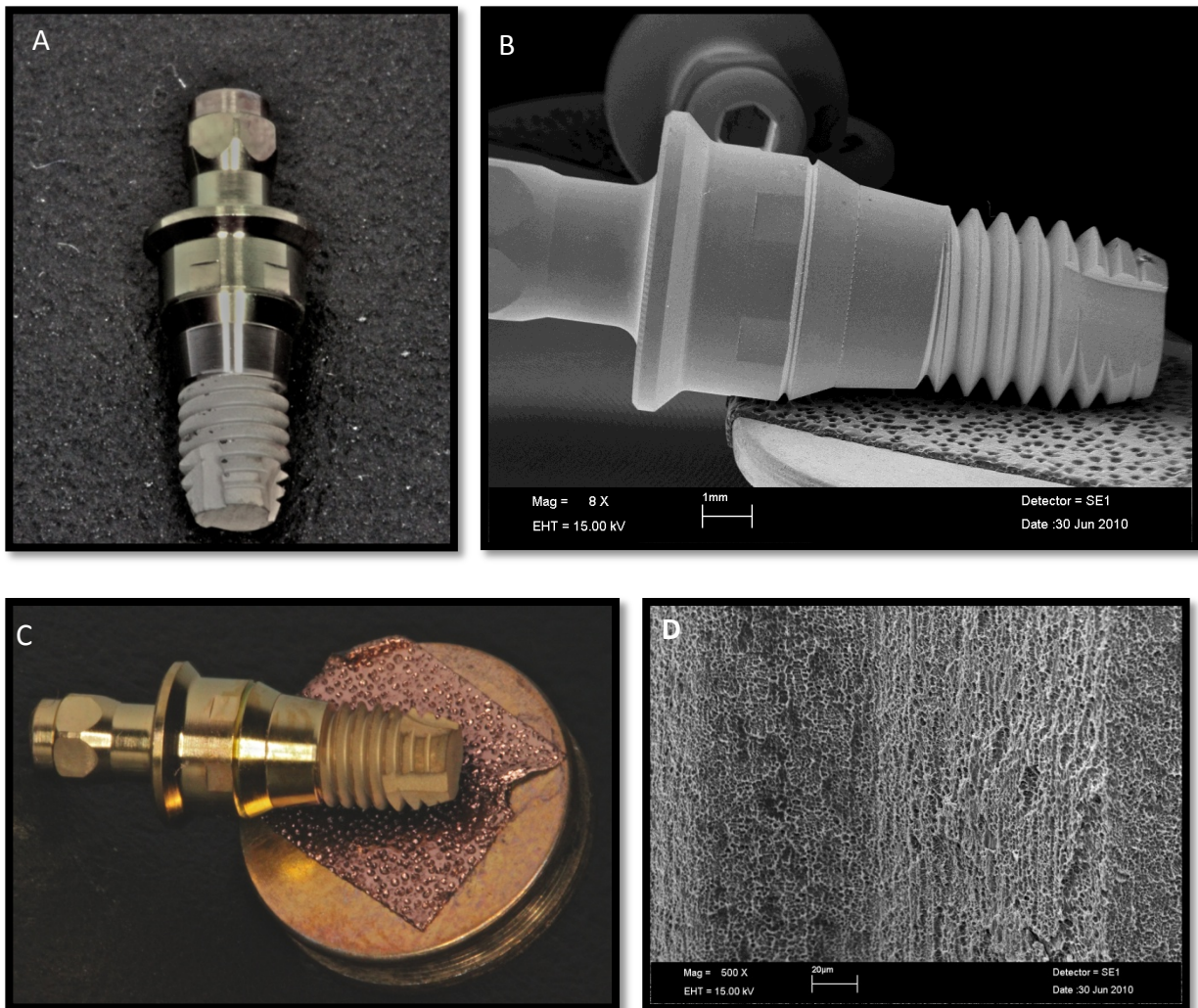


FIGURA 10 – A - Implante bionnovation utilizado no experimento. B - Implante fixado no stub recoberto com ouro para análise em MEV. C e D - Eletromicrografia do implante e em maior aumento mostrando a morfologia de superfície.

4.2.3 Tecido ósseo

Para execução da segunda fase experimental deste trabalho, foram utilizados 20 blocos de tecido ósseo de origem suína (epífise femoral) para receber os implantes citados no item 4.2.2. Os tecidos ósseos foram mantidos congelados até 2 horas antes da execução dos experimentos. Este tecido foi selecionado de acordo com suas características anatômicas e

estreita semelhança ao tecido ósseo humano ^{59, 60}. Os blocos foram padronizados a 2 cm de comprimento, 1,5 cm de espessura e 2 cm de altura.

Em cada bloco, foi instalado 1 implante de titânio descrito no item anterior, mediante utilização de brocas e instrumental adequado para o sistema de implantes em questão. Visando-se simular um defeito clínico proporcionado por lesão de periimplantite, foi executado um defeito ósseo após a instalação dos implantes, o qual foi realizado com broca cirúrgica 703 PM (peça de mão) e cinzéis. Os defeitos foram criados em apenas uma região do implante, na face anterior dos mesmos, padronizados nas dimensões de 4 mm de largura e 3 mm de altura, como mostra a figura 11.

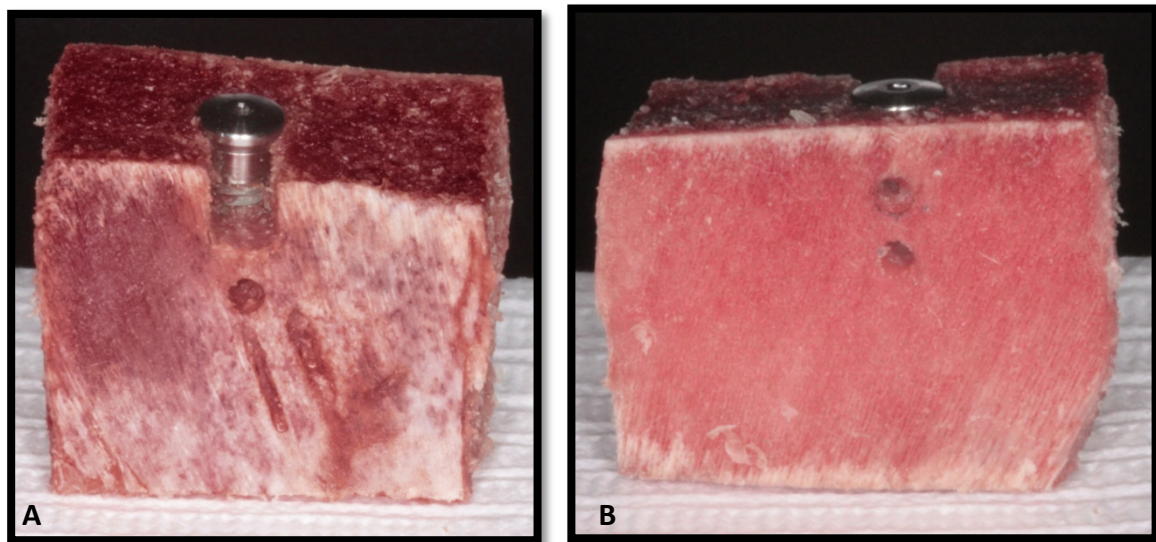


FIGURA 11 – Dimensões do bloco de osso suíno com implante instalado. **A** - osteotomia em forma de caixa para simular periimplantite. **B** - perfuração realizada para instalação dos termopares.

4.3 Laser

Neste trabalho foi empregado um *laser* de GaAlAs (Thera Laser, DMC Equipamentos, São Carlos, Brasil), com comprimento de onda de 808 nm (nanômetros), fibra óptica de 300 μm como sistema de entrega do feixe *laser*, o ciclo útil informado pelo fabricante é de 50%. Para este trabalho, dois modos de emissão foram analisados: modo pulsado e modo contínuo. O equipamento (FIGURA 12) possui ajustes pré-determinados pelo fabricante, chamado de modo assistido, que dispõe de uma opção para descontaminação de periimplantite, utilizada neste trabalho.

Neste trabalho foram utilizados os seguintes parâmetros para irradiação:

- (A) Modo de emissão “contínua”: este modo é escolhido pelo operador. Potência de 1 W (Watt); O tempo de irradiação dos discos e dos implantes foi de 10 s (segundos). Este tempo foi determinado após a simulação de uma situação clínica de irradiação para tratamento de periimplantite;
- (B) Modo de emissão “pulsada”: este é o modo assistido do equipamento. Potência média no display de 1 W, com uma taxa de repetição de 15 Hz (Hertz). A energia por pulso medida foi de 12 mJ (mili-Joules), e a densidade de energia de $0,17 \text{ J/cm}^2$. O tempo de irradiação dos discos foi de 10 segundos.

No momento das irradiações, a potência emitida foi verificada por um medidor de energia (Coherent FieldMaster GS + Detetor LM45; Coherent, CA, USA) a cada cinco amostras irradiadas.

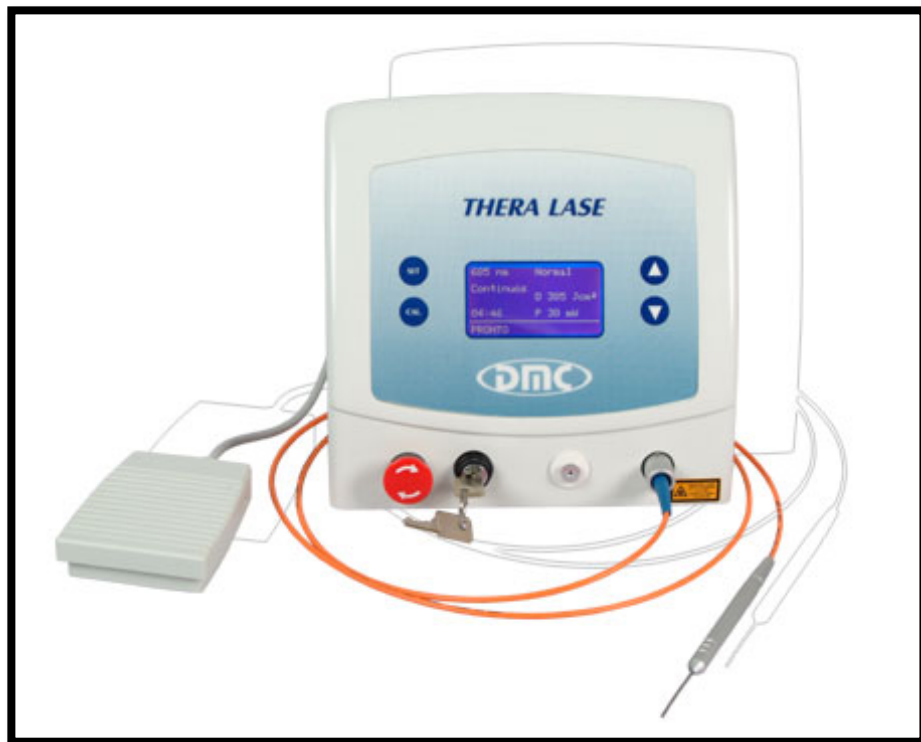


FIGURA 12 – Equipamento *laser* de diodo DMC

4.4 Avaliação da temperatura superficial nos discos de titânio

Para análise da elevação da temperatura atingida nas superfícies de titânio durante as irradiações, foram selecionados 20 discos de titânio (descritos anteriormente) os quais foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos experimentais ($n = 10$), a saber:

Grupo *Laser* Contínuo: discos irradiados com *laser* de diodo ajustado para modo contínuo. As irradiações foram realizadas durante 10 segundos, de forma manual sempre mantendo contato da fibra com o disco em trajeto de varredura segundo esquema mostrado na Figura 14.

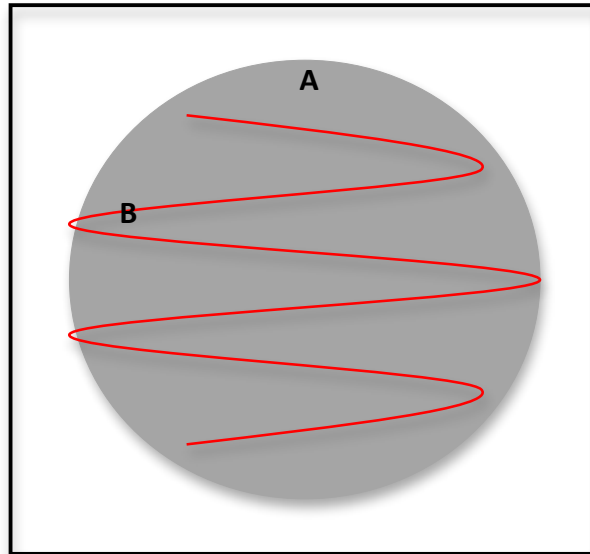


Figura 14 – Esquema de irradiação.
(A) Disco de titânio
(B) Trajeto da irradiação.

Grupo *Laser Pulsado*: discos irradiados com *laser* de diodo ajustado para modo pulsado. As irradiações foram realizadas seguindo os mesmos padrões de trajeto de irradiação por varredura do grupo *laser* contínuo.

As análises de temperatura foram realizadas utilizando-se a câmera termográfica ThermaCam SC3000 (FLIR Systems, Boston, EUA), do Laboratório de Biofotônica do IPEN - CNEN/SP. A câmera termográfica capta imagens no infravermelho e gera diferentes tons de cinza ou cores correspondentes aos diferentes valores de temperatura em cada pixel da imagem, como as imagens de um filme contínuo. Estas imagens demonstram o padrão de dissipação de calor e variação de temperatura. Esta câmera é dotada de um detector do tipo Quantum Well Infrared Photodetector (QWIP) refrigerado a 70 K, capaz de registrar temperaturas na faixa de -20° C a 2000° C, com variação de $\pm 0.01^\circ$ C.

Os experimentos foram realizados em temperatura ambiente controlada de 25° C, umidade relativa do ar de 47% e considerando a emissividade do titânio igual a 0,63⁶¹. Para as irradiações, os discos de titânio foram posicionados em suportes ópticos (Newport Corp., Irvine, EUA) com cera utilidade, a 10 cm da câmera termográfica, sendo as irradiações realizadas de forma manual, varrendo-se toda a superfície do disco com velocidade constante aproximada de 5 mm/s, simulando-se uma aplicação clínica manual. Para a irradiação de cada disco, o tempo foi padronizado em 10 s, mantendo-se a fibra do *laser* em contato com a superfície do titânio. A área de interesse foi isolada a uma distância focal de 10 cm, com o auxílio de lentes apropriadas.

As imagens em infravermelho foram obtidas com resolução de 0,01° C, utilizando-se frequência de 60 Hz para gravação. De cada amostra, foi obtido um filme, o qual se iniciou o registro de dados 2 segundos antes das irradiações e se encerrou 10 segundos após, para que fosse possível verificar o decaimento da temperatura do titânio após as irradiações. Para a análise das imagens das amostras do presente estudo, foram selecionados cinco pontos:

1 – no centro da superfície do disco de titânio, 1 frame antes do início das irradiações, de modo a se identificar a temperatura *inicial* do disco;

2 – na borda direita da superfície do disco de titânio, 1 frame após ao término das irradiações, de modo a se identificar a temperatura *final* do disco (considerando que a varredura iniciou-se na borda esquerda e finalizou na borda direita do disco);

3 – na superfície do disco, imediatamente abaixo da fibra do *laser*, durante as irradiações. Como a irradiação foi efetuada sob a forma de varredura, foram selecionados vários pontos no filme, sendo computado apenas o de *maior* valor;

4 – 1,5 mm abaixo da borda direita da superfície do disco de titânio, 1 frame após ao término das irradiações, de modo a se identificar a temperatura *transmitida* pelo disco;

5 – no centro da fibra do *laser* durante as irradiações. Como a irradiação foi efetuada sob a forma de varredura, foram selecionados vários pontos no filme, sendo computado apenas o de *maior* valor.

A imagem a seguir (FIGURA 15) ilustra o posicionamento disco-fibra durante a tomada das imagens.

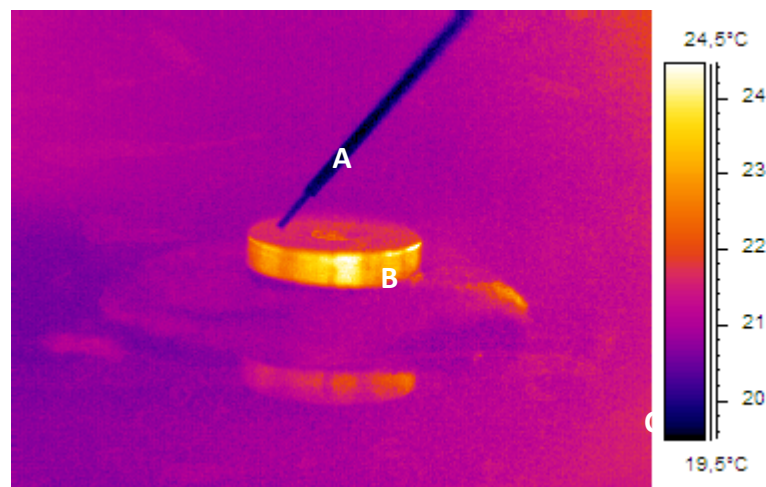


Figura 15: Imagem em infravermelho obtida do posicionamento do disco de titânio e fibra do *laser* durante as irradiações. (A) Fibra óptica do *laser*. (B) Disco de titânio. (C) Escala de temperatura da imagem em infravermelho

4.5 Avaliação morfológica por microscopia eletrônica de varredura

Para avaliação morfológica decorrente das irradiações, foram empregados 6 discos de titânio, os quais foram aleatoriamente distribuídos em 3 grupos experimentais ($n = 2$):

Grupo 1 - discos sem qualquer tratamento (controle);

Grupo 2 - discos irradiados com *laser* de diodo sob modo pulsado;

Grupo 3 - discos irradiados com *laser* de diodo sob modo contínuo.

As irradiações dos discos foram efetuadas conforme descrito no item anterior. Após os tratamentos, as amostras foram preparadas para visualização em microscópio eletrônico de varredura. Para tal as amostras foram imersas em álcool absoluto por 30 min, seguidas de banho ultrassônico por 15 min entre cada imersão. Este procedimento foi repetido 2 vezes e, em seguida, as amostras foram posicionadas em porta-amostras (*stubs*) apropriados para visualização em microscópio eletrônico de varredura. Para a tomada das imagens foi empregado o microscópio eletrônico de varredura JEOL *Scanning Microscope* (modelo 6100, Tóquio, Japão) pertencente ao Laboratório Especial de *Laser* em Odontologia (LELO-FOUSP). De cada disco, foram tiradas 8 imagens com as seguintes magnificações: 75x, 250x, 500x e 1000x. Toda a área superficial das amostras foi analisada, e dois pontos contralaterais foram selecionados para as tomadas de imagem (FIGURA 13).

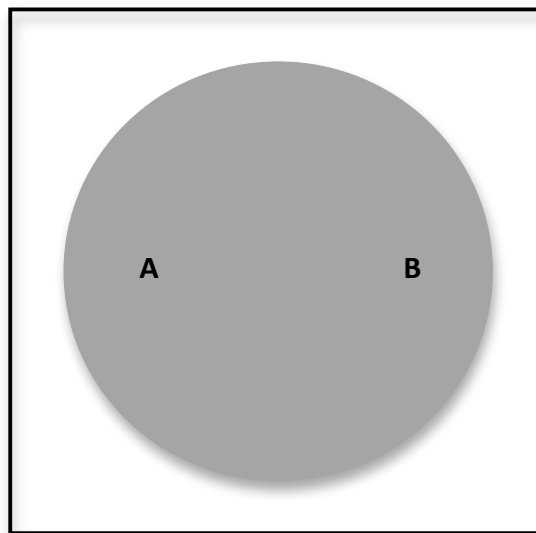


Figura 13 – Esquema de análise em MEV.
(A) e (B) representam os pontos de tomada de imagem

4.6 Avaliação da temperatura nas regiões adjacentes ao implante instalado

Para esta análise, foram empregados 20 blocos de tecido ósseo previamente preparados, conforme descrito no item 4.1.3, nos quais foram instalados 20 implantes de titânio descritos no item 4.1.2.

Antes da instalação dos implantes, três orifícios de acesso foram confeccionados para possibilitar a passagem de termopares até a superfície dos implantes. Os orifícios de diâmetro de 0,5 mm foram criados usando-se pontas diamantadas esféricas sob refrigeração, buscando-se o contato dos termopares nos terços apical anterior, apical posterior e coronal posterior de cada implante.

Os implantes de titânio foram instalados nos blocos de tecido ósseo, de forma que cada implante foi instalado em um bloco de tecido ósseo distinto. Após a instalação dos implantes e a colocação de um parafuso de cobertura foi efetuada, foram criados defeitos ósseos nas regiões anteriores dos implantes conforme descrito no item 4.1.3., de forma a simular uma situação clínica de perda óssea.

Para a análise da elevação de temperatura atingida durante as irradiações, os três orifícios criados com pontas diamantadas esféricas foram preenchidos com pasta térmica (Implastec, Votorantim, Brasil), de condutividade térmica equivalente a $0.4 \text{ cal s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ K}^{-1}$, com auxílio de seringas descartáveis. Em seguida, foram posicionados três termopares tipo K (chromel-alumel – NiCr-NiAl, Omega Eng. Inc., Stamford, USA, com espessura de $127 \text{ }\mu\text{m}$ e resolução de $0,2 \text{ }^\circ\text{C}$) em cada um dos orifícios criados, de forma que as extremidades dos termopares estivessem em contato com a superfície dos implantes, o que foi monitorado por meio de radiografias periapicais. A porção externa dos orifícios dos termopares foi selada com resina composta (Z100,

3M ESPE, SP, Brasil), a qual foi foto-ativada por 40 segundos (Optilight Plus, Gnatus, SP, Brasil), visando evitar a entrada de água para o interior do tecido ósseo.

Durante a realização das análises, as amostras (blocos de tecido ósseo e implantes) foram posicionadas em banho térmico com temperatura controlada a $37 \pm 1^\circ \text{C}$ (Precision Scientific Co., Chicago, USA), de forma que somente o defeito ósseo não ficasse submerso, fato que simularia a influência da temperatura corporal sobre a propagação do calor. Os termopares foram, então, conectados a um sistema de monitoração de temperatura composto de um registrador, com resolução temporal de 0,05 segundos (National Instruments, USA), conectado a um computador.

As amostras assim preparadas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos distintos, a saber:

Grupo *Laser* Contínuo: implantes irradiados com *laser* de diodo ajustado para modo contínuo. As irradiações foram realizadas durante 10 segundos no interior do defeito ósseo criado, de forma manual, paralelamente à superfície do implante, sob a forma de varreura, sempre mantendo contato da fibra com a superfície lateral do implante. .

Grupo *Laser* Pulsado: implantes irradiados com *laser* de diodo ajustado para modo pulsado. As irradiações foram realizadas seguindo os mesmos padrões de trajeto de irradiação por varredura do grupo *laser* contínuo.

As análises das variações de temperatura durante e após as irradiações foram realizadas empregando-se software LabView. Para a tomada dos dados, iniciou-se a tomada dos dados 30 segundos antes das irradiações; decorridos os 10 segundos de irradiação, prolongou-se o monitoramento da temperatura por mais 120 segundos, o que possibilitou o registro do tempo necessário para o decaimento da temperatura até os valores iniciais. Para as análises dos dados,

considerou-se a seguinte classificação, de acordo com o posicionamento dos termopares (FIGURA 16):

- análise da temperatura no terço apical anterior do implante, imediatamente abaixo do defeito ósseo;

- análise da temperatura no terço coronal posterior do implante, posteriormente ao defeito ósseo;

- análise da temperatura no terço apical posterior do implante, posteriormente ao defeito ósseo.

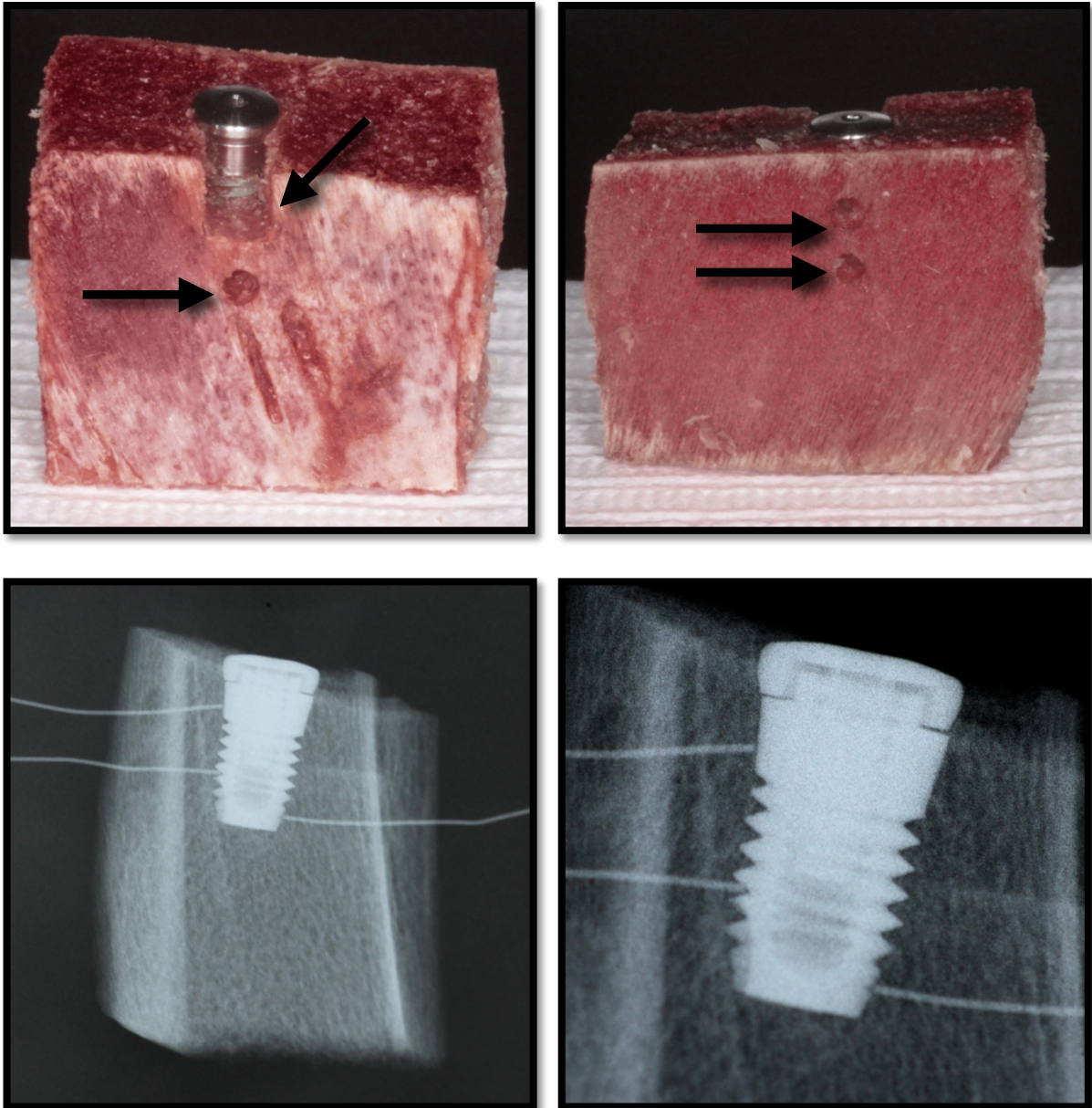


FIGURA 16 – Imagens superiores mostram o implante instalado no bloco de osso. As setas mostram as perfurações para instalação dos termopares e a osteotomia criada para simular um defeito ósseo causado por peri implantite . As imagens inferiores mostram uma radiografia como termopares em contato com o implante.

4.7. Análise estatística

Neste estudo, as variáveis resposta analisadas estatisticamente foram temperatura superficial nas diferentes regiões dos discos dos implantes e a temperatura atingida nas diferentes regiões do tecido ósseo adjacente aos implantes, tendo os modos de emissão *laser*

(contínuo X pulsado) como fator de variação. As análises estatísticas foram realizadas empregando-se o software BioStat 5.0.

Para cada variável resposta foi realizada uma análise estatística distinta. Para se selecionar o teste estatístico mais adequado para cada caso, foram testadas, inicialmente, a independência, a normalidade e homogeneidade de variâncias dos dados experimentais.

Para os dados de temperatura superficial nos discos de titânio, os pontos considerados (temperatura inicial do disco, temperatura transmitida do disco, temperatura final do disco, temperatura do disco durante as irradiações e temperatura da fibra do *laser*) foram analisados de forma segmentada, não sendo comparados entre si. Os dados desta análise apresentavam distribuição normal. Como havia apenas um fator de variação (modo de emissão *laser*) em duas amostras independentes, as comparações estatísticas foram efetuadas empregando-se o teste *t* de *Student*, considerando-se 5% de significância.

Da mesma forma, para os dados de temperatura no tecido ósseo adjacente ao implante, os dados referentes a cada posição do termopar (terço apical anterior, terço apical posterior e terço cervical posterior) foram analisados individualmente, não sendo comparados entre si. Porém, como não foi verificada normalidade na distribuição dos dados experimentais, para esta análise foi empregado o teste estatístico de *Mann-Whitney* para um fator de variação (modo de emissão *laser*) em duas amostras independentes, considerando-se 5% de significância.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação da temperatura superficial nos discos de titânio.

A Figura 17 mostra imagens em infravermelho obtidas antes, durante, imediatamente após e durante o resfriamento do disco de titânio quando irradiado com *laser* de diodo.

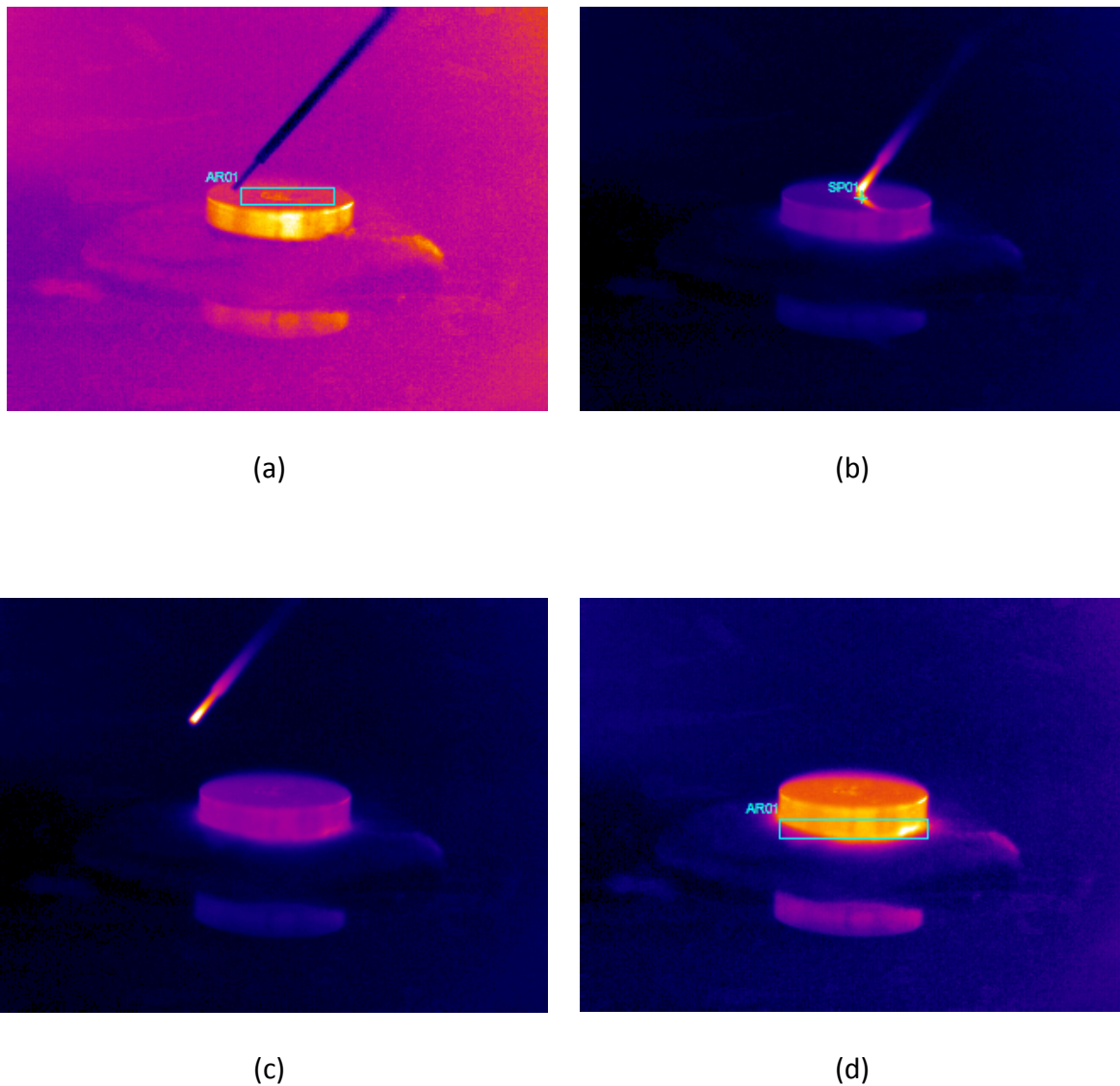


Figura 17: Imagens no infravermelho, representativas obtidas durante a irradiação de disco de titânio com *laser* de diodo: (a) – no início das irradiações; (b) – durante as irradiações; (c) – no término das irradiações; (d) – durante o resfriamento do disco, após as irradiações.

Na Tabela 1 são evidenciadas as médias dos valores obtidos, assim como seus respectivos desvios-padrão. Pode-se observar que a irradiação do disco de titânio com *laser* no modo pulsado promoveu aumentos de temperatura médios na superfície do disco significativamente menores ($55 \pm 8 \text{ }^\circ\text{C}$) quando comparada ao valor médio de temperatura obtido no grupo irradiado no modo contínuo ($170 \pm 33 \text{ }^\circ\text{C}$). Este fenômeno ocorre independentemente da temperatura inicial do disco, a qual foi estatisticamente igual para ambos os grupos ($p > 0,05$). Desta forma, a média de elevação de temperatura, isto é, o Delta T (ΔT) foi $32 \text{ }^\circ\text{C}$ para o grupo irradiado no modo pulsado e $146 \text{ }^\circ\text{C}$ para o grupo irradiado no modo contínuo.

Pode-se também observar que estes aumentos de temperatura estão diretamente relacionados com a temperatura atingida na fibra durante a irradiação, o que foi verificado como sendo $70 \pm 17 \text{ }^\circ\text{C}$ para o modo pulsado e $224 \pm 32 \text{ }^\circ\text{C}$ para o modo contínuo. Estes aumentos também refletem na transmissão do calor pelo material, de tal forma que a irradiação com *laser* no modo pulsado acarretou em pequena transmissão do calor (elevação de temperatura abaixo do disco de até $29 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), enquanto que a irradiação no modo contínuo levou a aumentos de temperatura abaixo do disco de titânio de até $38 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Contudo, embora tenha sido observada uma tendência de aumento de temperatura na superfície do disco imediatamente após as irradiações no modo contínuo, não se observou médias estatisticamente diferentes entre os dois grupos ($30 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ para o *laser* pulsado e $47 \pm 20 \text{ }^\circ\text{C}$ para o *laser* contínuo).

Tabela 1: Valores de temperatura máxima (média \pm desvio padrão) obtidas durante a irradiação dos discos de titânio com *laser* de diodo.

Parâmetros analisados	Grupo	Grupo
	<i>Laser Pulsado</i> (° C)	<i>Laser Contínuo</i> (° C)
Temperatura máxima inicial na superfície do disco (imediatamente antes das irradiações)	24 \pm 1 ^a	25 \pm 1,5 ^a
Temperatura máxima nos pontos de irradiação (imediatamente abaixo da fibra)	55 \pm 8 ^b $\Delta t = 32^{\circ}\text{C}$	170 \pm 33 ^c $\Delta t = 146^{\circ}\text{C}$
Temperatura máxima final na superfície do disco (imediatamente após o término das irradiações)	30 \pm 4 ^d	47 \pm 20 ^d
Temperatura máxima imediatamente abaixo do disco após irradiações (transmissão de calor)	29 \pm 1 ^e $\Delta t = 6^{\circ}\text{C}$	38 \pm 2 ^f $\Delta t = 13^{\circ}\text{C}$
Temperatura máxima da fibra do <i>laser</i> durante irradiações	70 \pm 17 ^g	224 \pm 32 ^h

Letras iguais significam médias estatisticamente semelhantes de acordo com o teste *t de Student*.

5.2 Avaliação da temperatura superficial nos implantes de titânio.

Os dados referentes aos aumentos médios de temperatura nas diferentes regiões de implante encontram-se descritos na Tabela 2. Pode-se observar que a irradiação com *laser* de diodo sob modo contínuo promoveu aumentos de temperatura médios de 4,6 \pm 2 °C no terço anterior apical dos implantes, 4 \pm 3 °C no terço coronal posterior e 3 \pm 2 °C no terço apical posterior dos implantes irradiados. Em contrapartida, a irradiação da porção cervical dos implantes com *laser* de diodo sob o modo pulsado promoveu aumentos médios de 3 \pm 3 °C no terço médio anterior, 1,5 \pm 0,5 °C no terço coronal posterior e 1,5 \pm 1 °C no terço apical posterior.

Tabela 2: Média das elevações de temperatura observadas nas diferentes posições dos implantes e elevação máxima observada decorrente de cada modo de irradiação. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Modo de irradiação	Posição avaliada	Varição de temperatura (° C) (média ± D.P.)	Elevação máxima de temperatura encontrada (° C)
Contínuo	Terço apical anterior	4,6 ± 2	8
	Terço coronal posterior	4 ± 3	10
	Terço apical posterior	3 ± 2	6,5
	Terço apical anterior	3 ± 3	9,5
Pulsado	Terço coronal posterior	1,5 ± 0,5	2
	Terço apical posterior	1,5 ± 1	3

A análise estatística realizada empregando-se o teste de Mann-Whitney evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos contínuo e pulsado no terços coronal e apical posterior ($p < 0,05$). Desta maneira, considerando-se a densidade de energia empregada no presente estudo, pode-se inferir que a irradiação dos implantes empregando-se o *laser* de diodo sob o modo contínuo aumenta significativamente a temperatura do implante nos terços coronal e apical posterior, não promovendo diferenças, contudo, na temperatura do terço apical anterior dos implantes ($p > 0,05$). Os resultados da análise estatística efetuada encontram-se nas Tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3: Resultados da análise estatística efetuada, empregando-se o teste de Mann-Whitney, considerando-se a região do terço coronal posterior. Evidencia-se, pelos valores de p, diferença estatisticamente significativa entre as médias de temperatura decorrentes dos modos de irradiação *laser*. Dados originais.

Resultados	Pulsado	Contínuo
Tamanho da amostra	10	10
Soma dos postos (Ri)	21	57
Mediana	1,29	3,12
U	0,00	
Z(U)	2,8823	
p-valor (unilateral)	0,0020	
p-valor (bilateral)	0,0039	

Tabela 4: Resultados da análise estatística efetuada, empregando-se o teste de Mann-Whitney, considerando-se a região do terço apical posterior. Evidencia-se, pelos valores de p, diferença estatisticamente significativa entre as médias de temperatura decorrentes dos modos de irradiação *laser*. Dados originais.

Resultados	Pulsado	Contínuo
Tamanho da amostra	10	10
Soma dos postos (Ri)	25	53
Mediana	1,3	2,65
U	4,00	
Z(U)	2,2418	
p-valor (unilateral)	0,0125	
p-valor (bilateral)	0,0250	

Tabela 5: Resultados da análise estatística efetuada, empregando-se o teste de Mann-Whitney, considerando-se a região do terço médio anterior. Neste caso, não foi possível evidenciar médias estatisticamente diferentes entre os grupos pulsado e contínuo. Dados originais.

Resultados	Pulsado	Contínuo
Tamanho da amostra	10	10
Soma dos postos (Ri)	24	42
Mediana	1,62	4,13
U	9,00	
Z(U)	1,0954	
p-valor (unilateral)	1,1367	
p-valor (bilateral)	0,2733	

A Figura 18 ilustra os aumentos médios de temperatura atingidos nas diferentes regiões do implante de acordo com o modo de irradiação, assim como os valores de erro padrão.

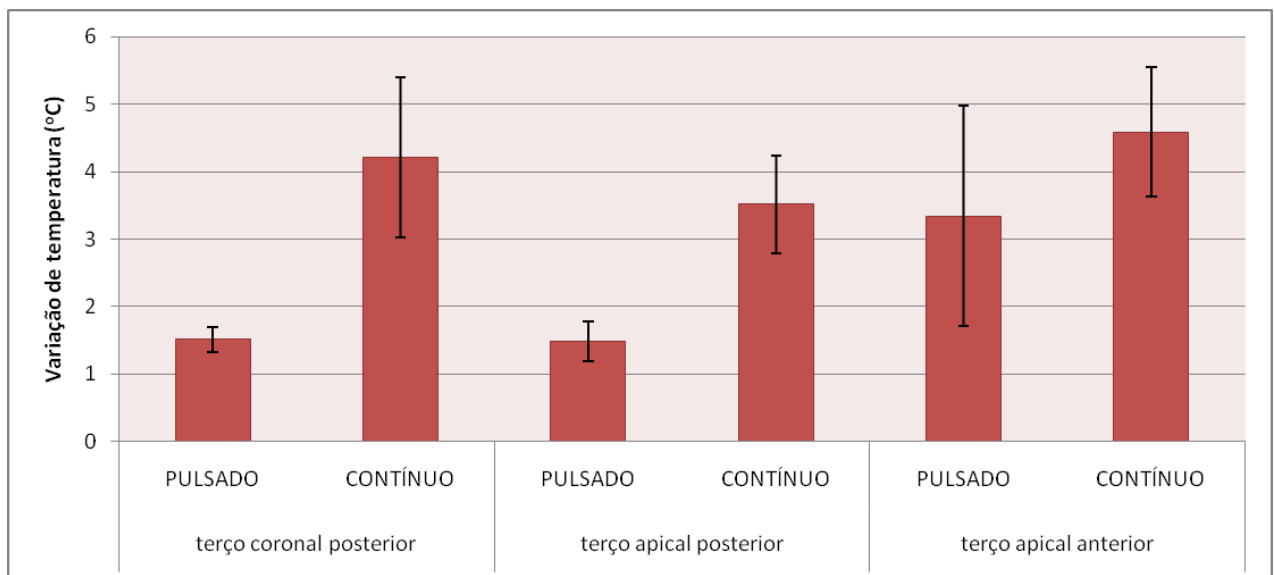


Figura 18: Valores médios de elevação de temperatura observados nas diferentes regiões dos implantes de acordo com o modo de aplicação do *laser* de diodo. As barras indicam erro padrão.

As figuras a seguir evidenciam o comportamento da temperatura com o decorrer do tempo. Pode-se observar que, independentemente do modo de irradiação, a temperatura no terço apical anterior, isto é, no ponto imediatamente abaixo das irradiações, sofre grande elevação durante os 10 segundos de irradiação, iniciando seu decaimento exponencialmente após o término das irradiações. Na região posterior dos implantes, contudo, o comportamento observado difere-se evidenciando a propagação do calor, isto é, a temperatura eleva-se após o término das irradiações, decaindo em seguida. Vale a pena ressaltar que, para atingir os valores de temperatura iniciais, são necessários mais de 150 s (2min30s).

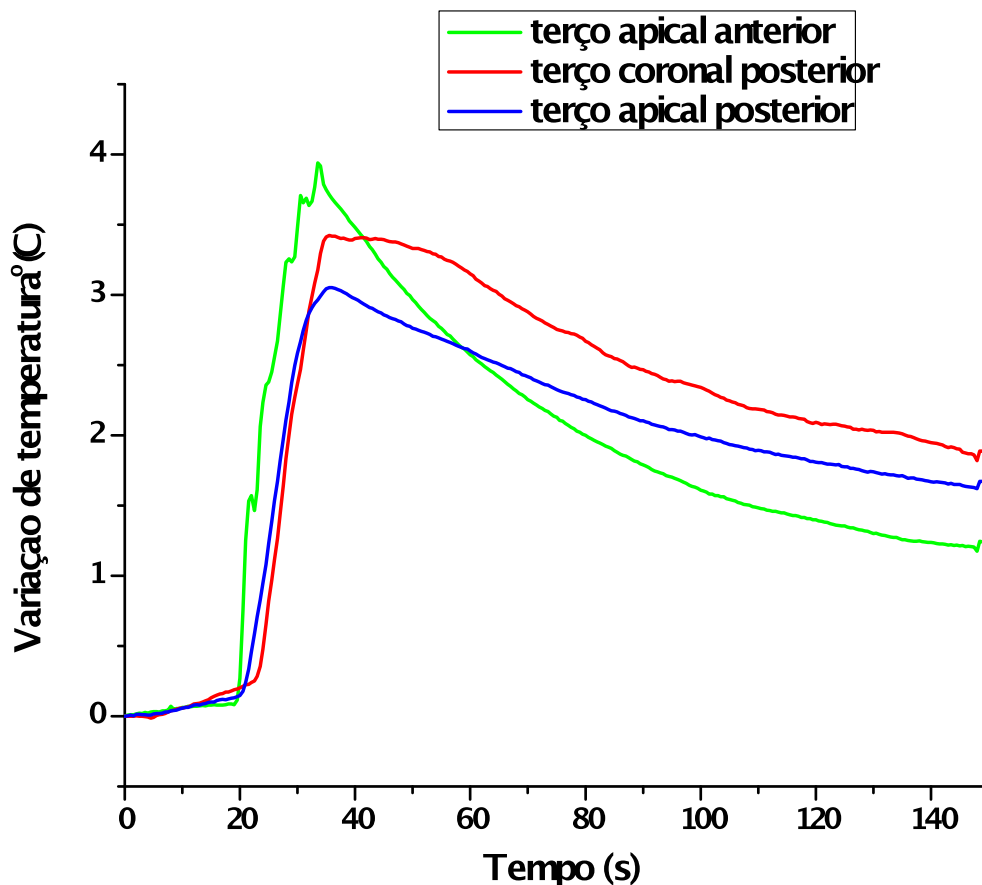


Figura19 : Padrões médios dos aumentos de temperatura registrados pelos termopares de resposta rápida nas diferentes regiões dos implantes durante as irradiações com o *laser* de diodo sob o modo pulsado.

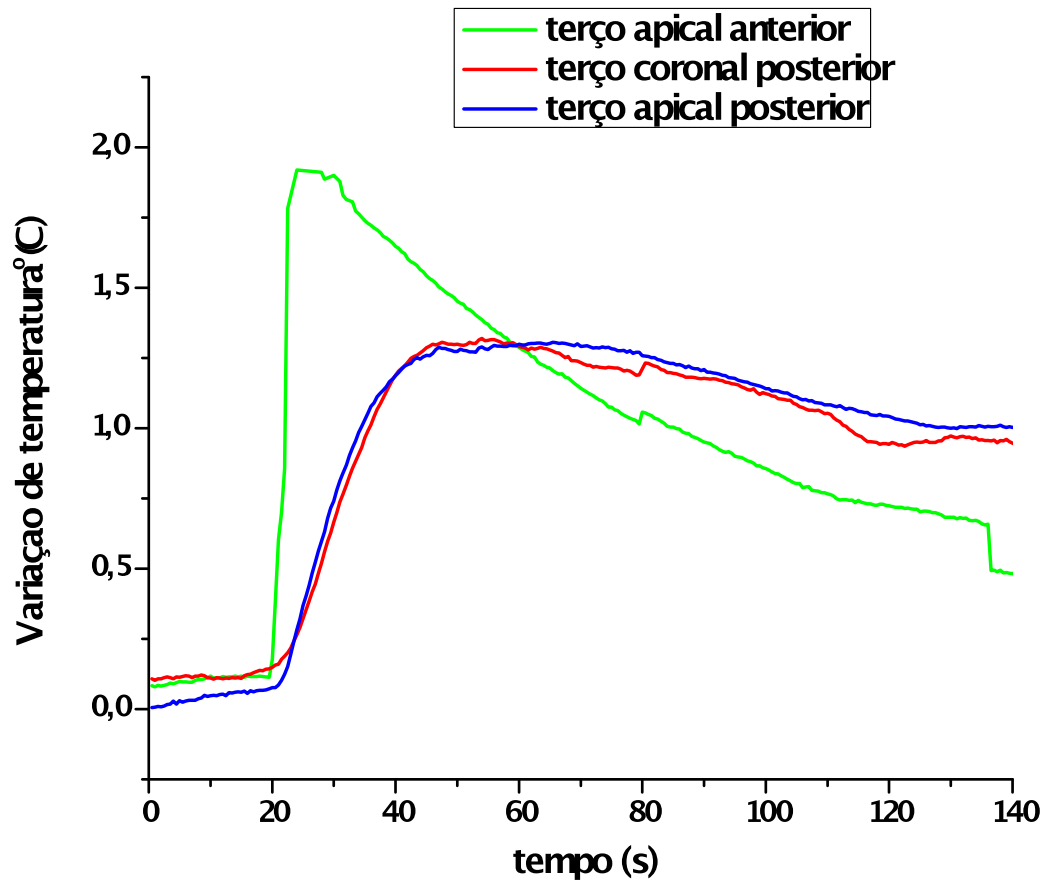
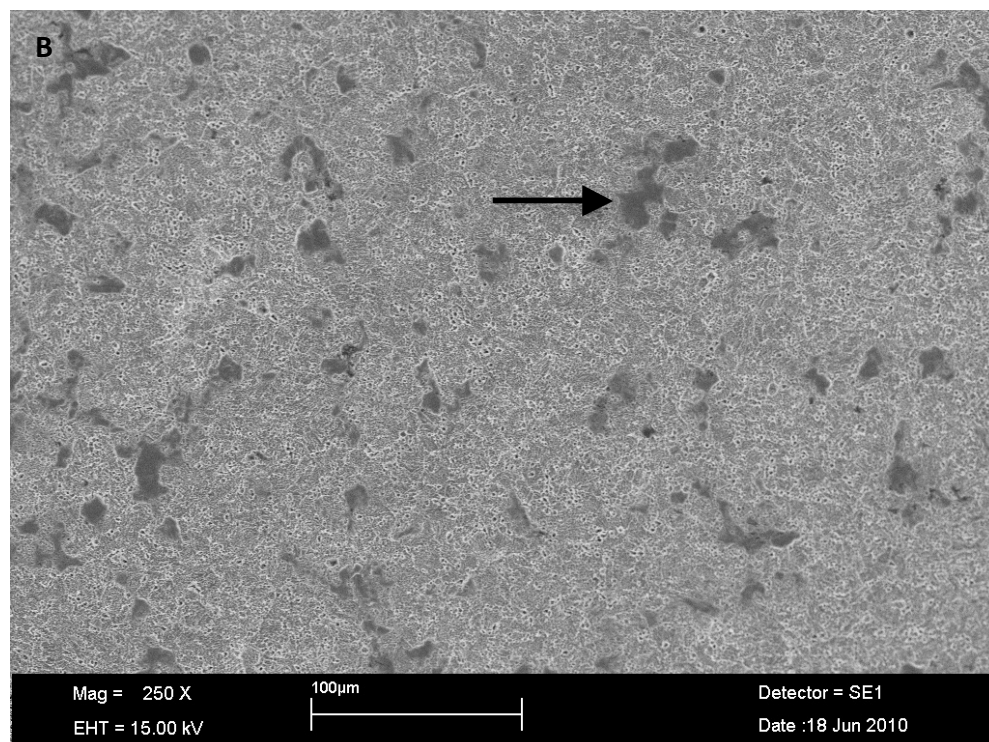
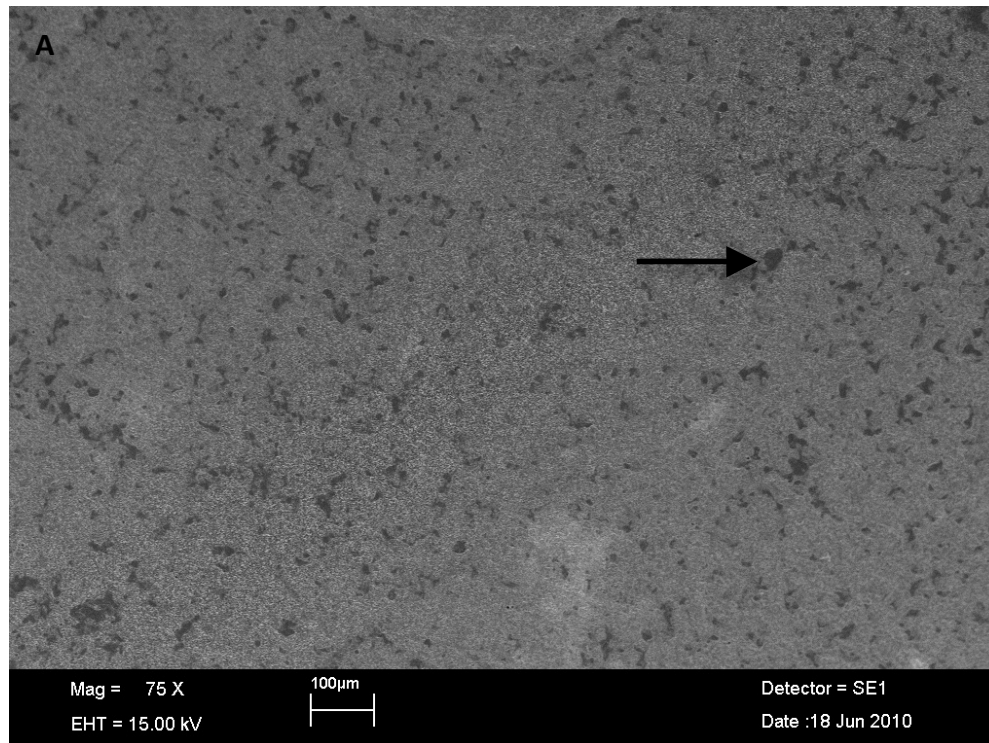


Figura 20: Padrões médios dos aumentos de temperatura registrados pelos termopares de resposta rápida nas diferentes regiões dos implantes durante as irradiações com o *laser* de diodo sob o modo contínuo.

5.3 Avaliação morfológica por microscopia eletrônica de varredura

As figuras a seguir mostram eletromicrografias das superfícies dos discos de titânio irradiados com *laser de GaAlAs*.



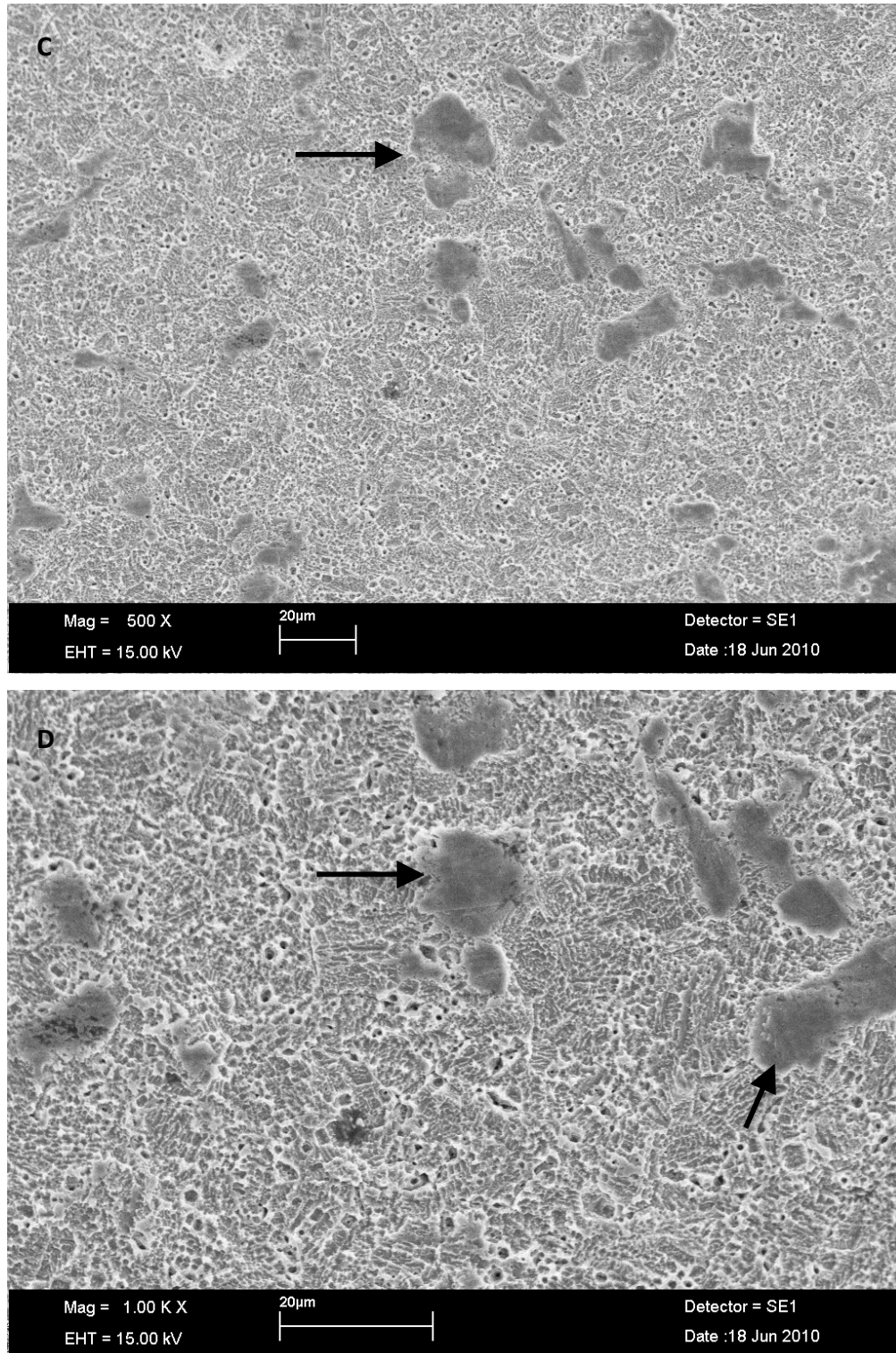
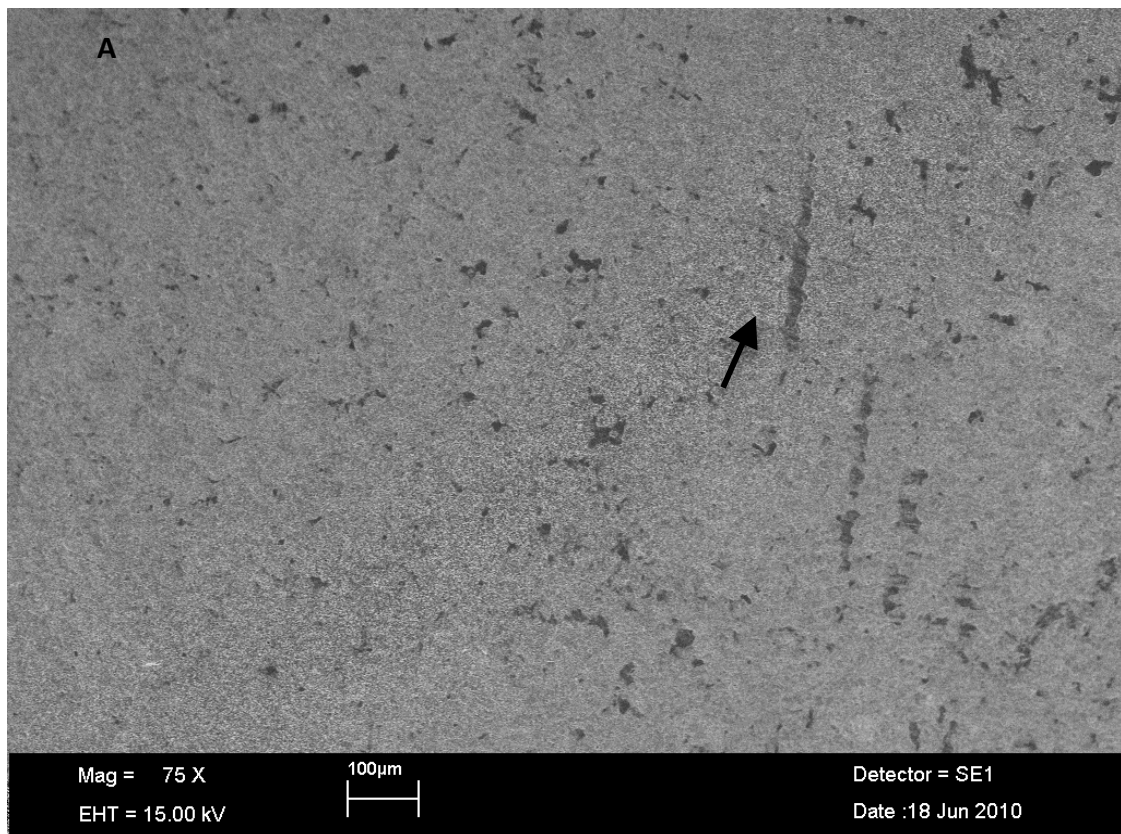
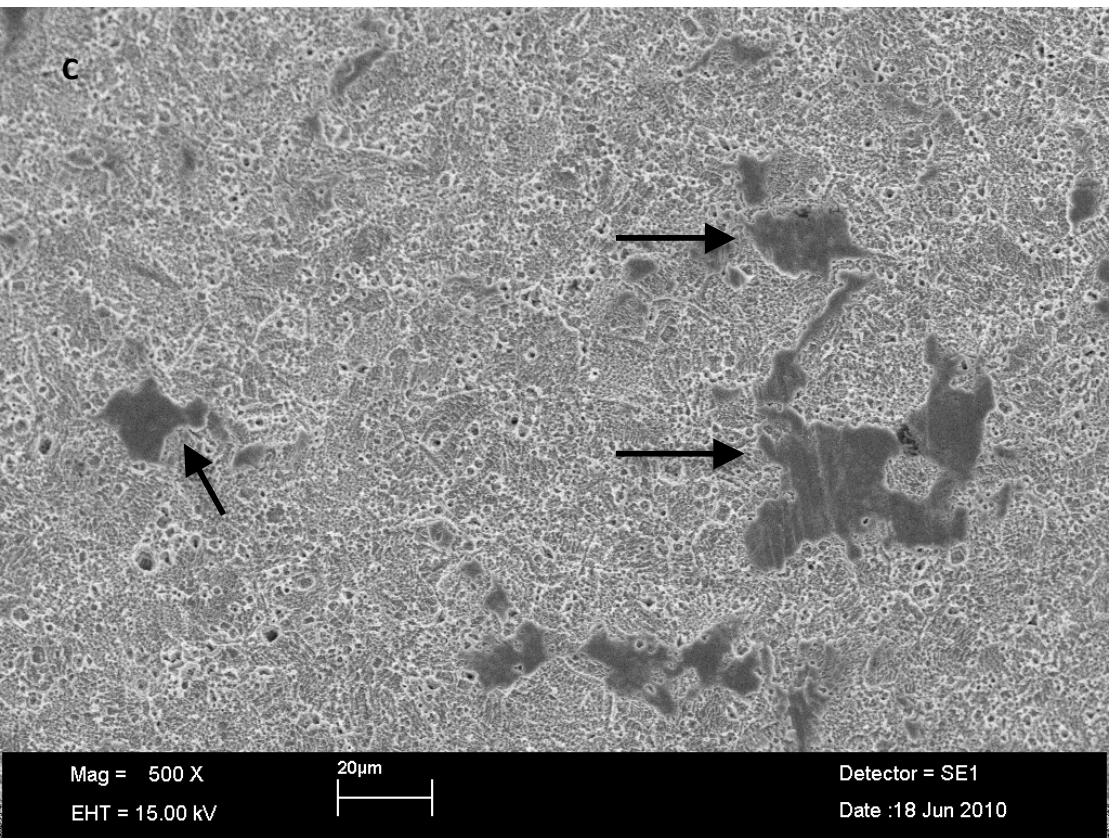
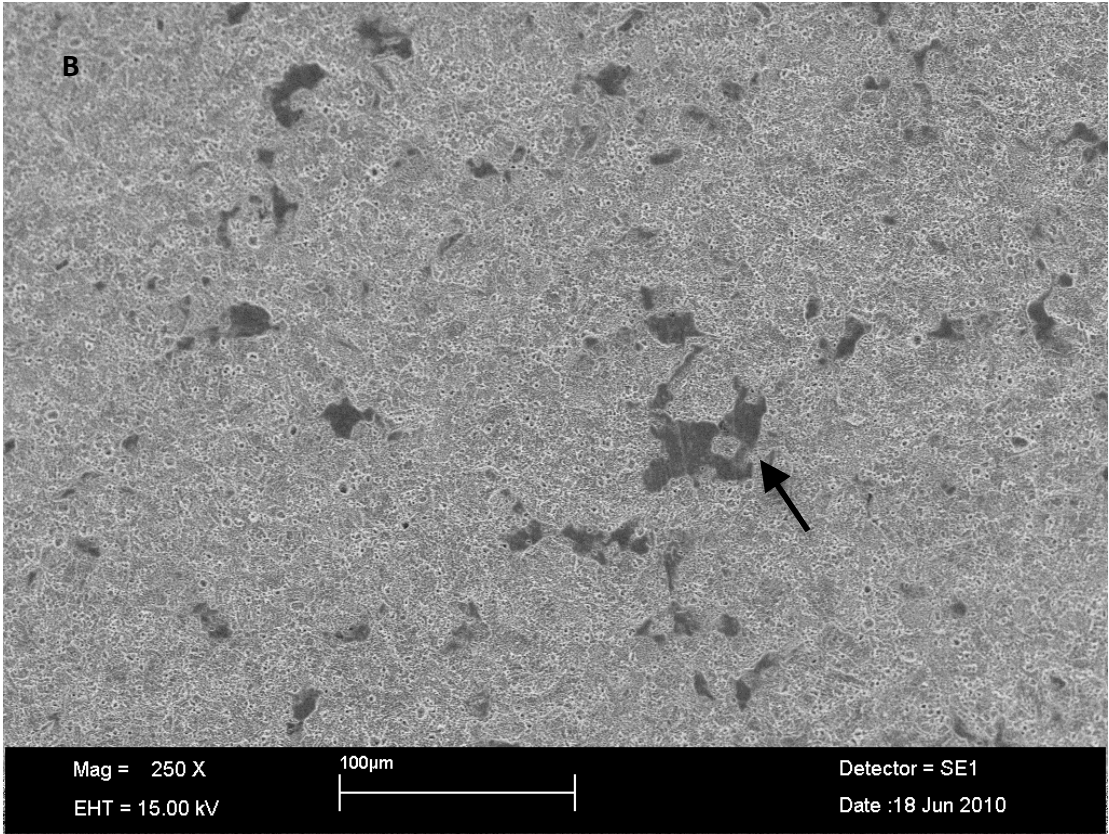


FIGURA 21 – Eletromicrografias de discos de titânio sem tratamento. (A) Aumento original = 75x; (B) Aumento original= 250x; (C) Aumento original = 500x; (D) Aumento original = 1000x. As setas mostram áreas de irregularidades provocadas pelo tratamento de superfície dos discos. Barra dimensional inserida abaixo das imagens.

As imagens da figura 21 mostram eletromicrografias do grupo 1 (sem nenhum tratamento). Os quadros A, B, C e D mostram ampliações de 75x, 250x, 500x e 1000x respectivamente. Analisando as quatro imagens, podemos observar pequenas áreas de irregularidades provocadas pelo próprio tratamento da superfície dos implantes, as demais áreas da superfície evidenciam o resultado de subtração de material causado pelo tratamento ácido realizado pelo fabricante.





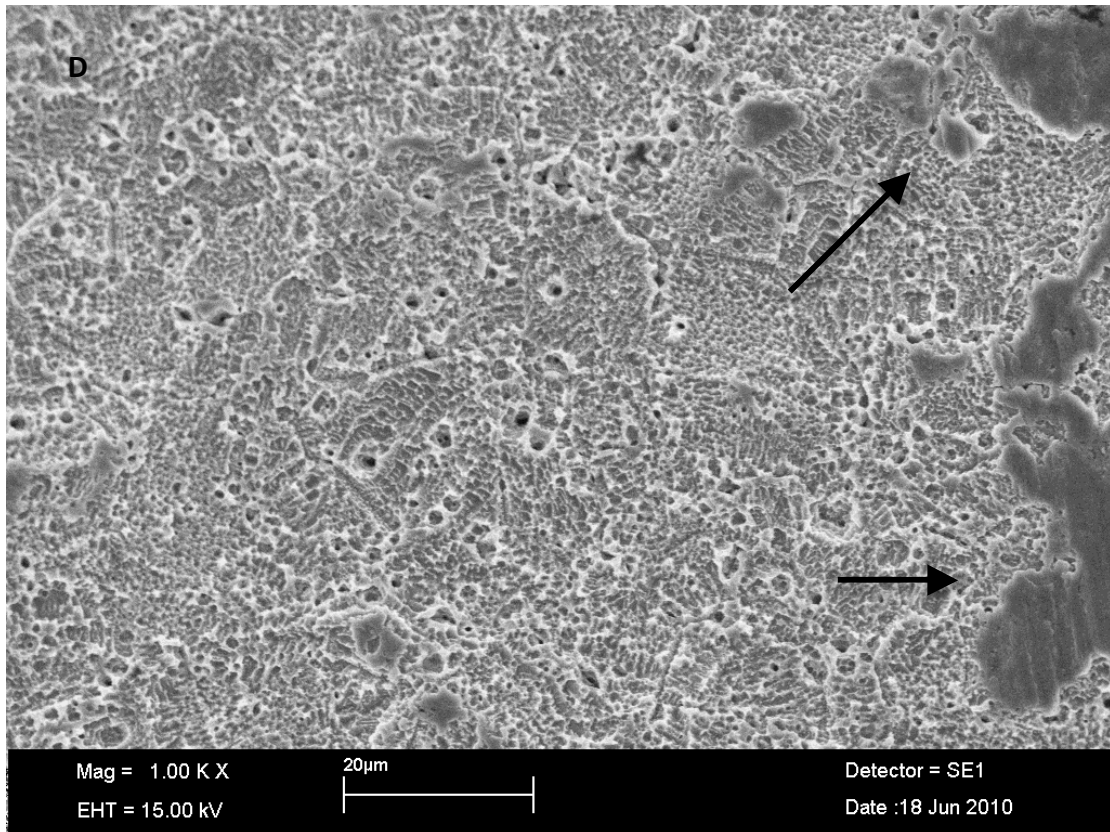
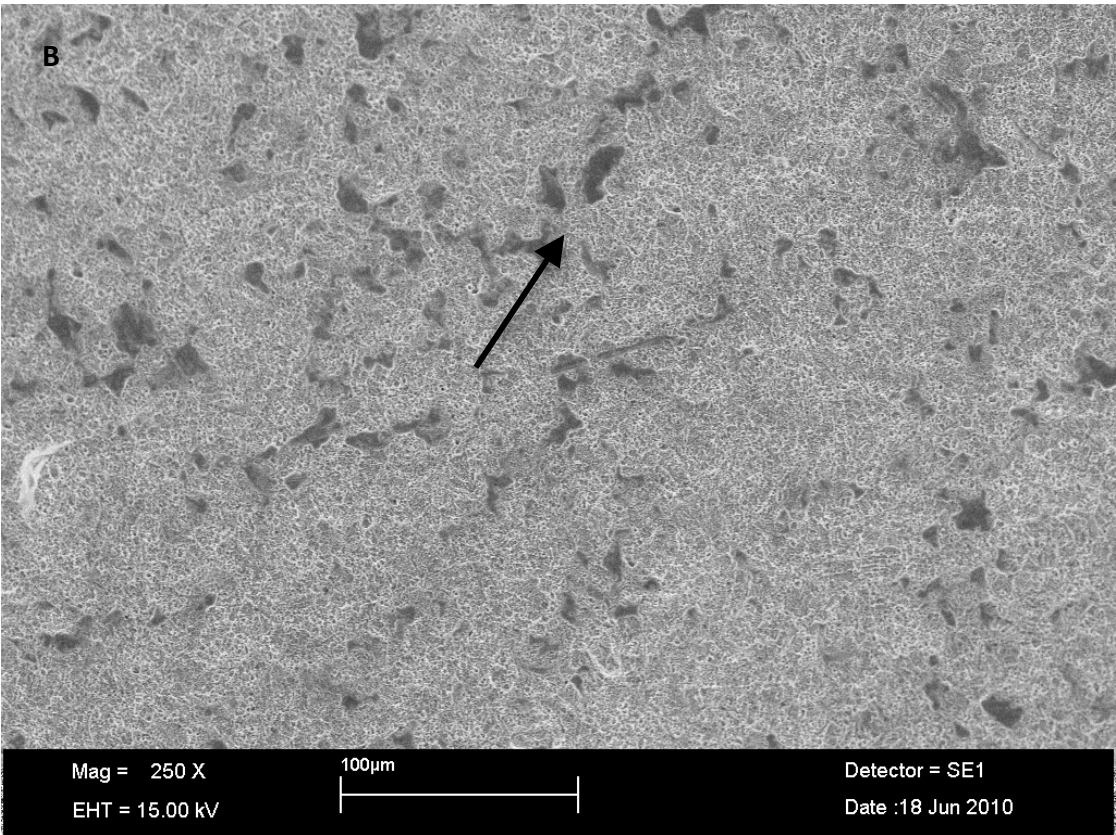
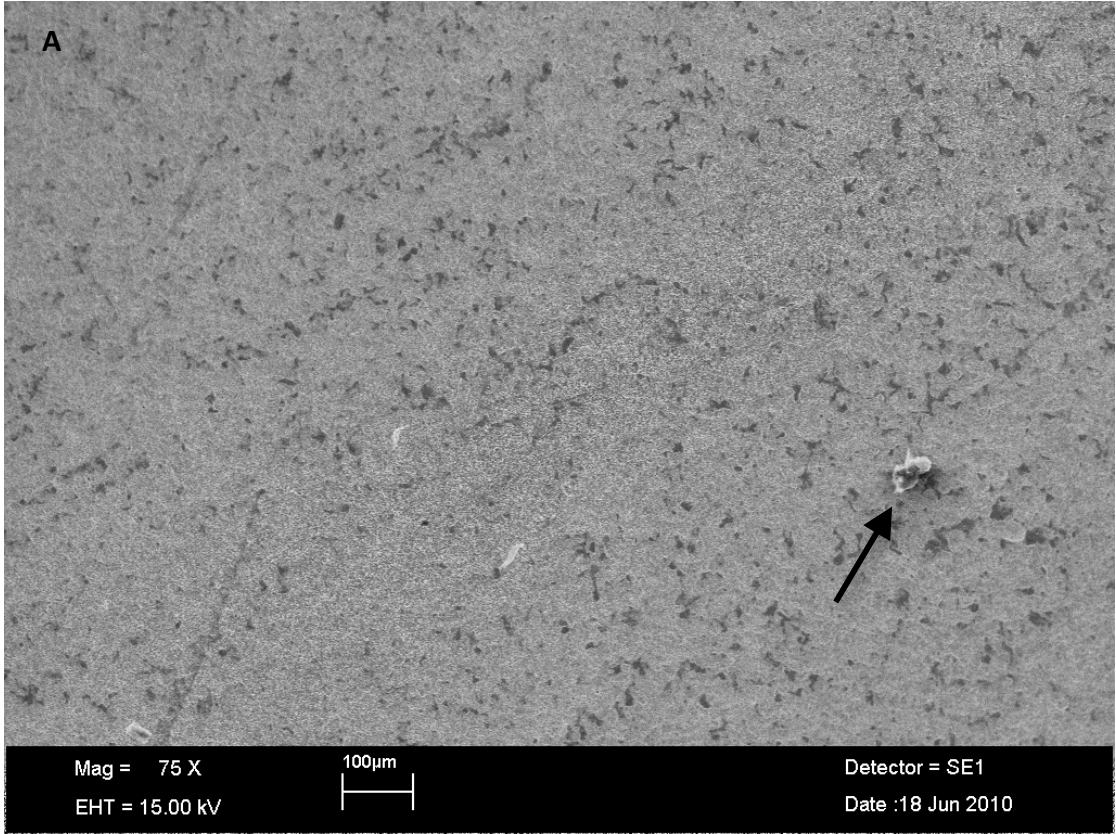


FIGURA 22 – Eletromicrografias de discos de titânio irradiados com *laser* GaAlAs em modo pulsado. (A) Aumento original = 75x; (B) Aumento original= 250x; (C) Aumento original = 500x; (D) Aumento original = 1000x. As setas mostram áreas de irregularidades provocadas pelo tratamento de superfície dos discos. Barra dimensional inserida abaixo das imagens.

As imagens da figura 22 mostram eletromicrografias do grupo 2 (irradiados com *laser* GaAlAs em modo pulsado). Os quadros A , B, C e D mostram ampliações de 75x, 250x, 500x e 1000x respectivamente. Analisando as quatro imagens, podemos observar os mesmos padrões encontrados nas imagens da figura 8. Não foram observadas irregularidades provocadas pela irradiação *laser*, tais como trincas, áreas de carbonização nem áreas de derretimento da superfície.



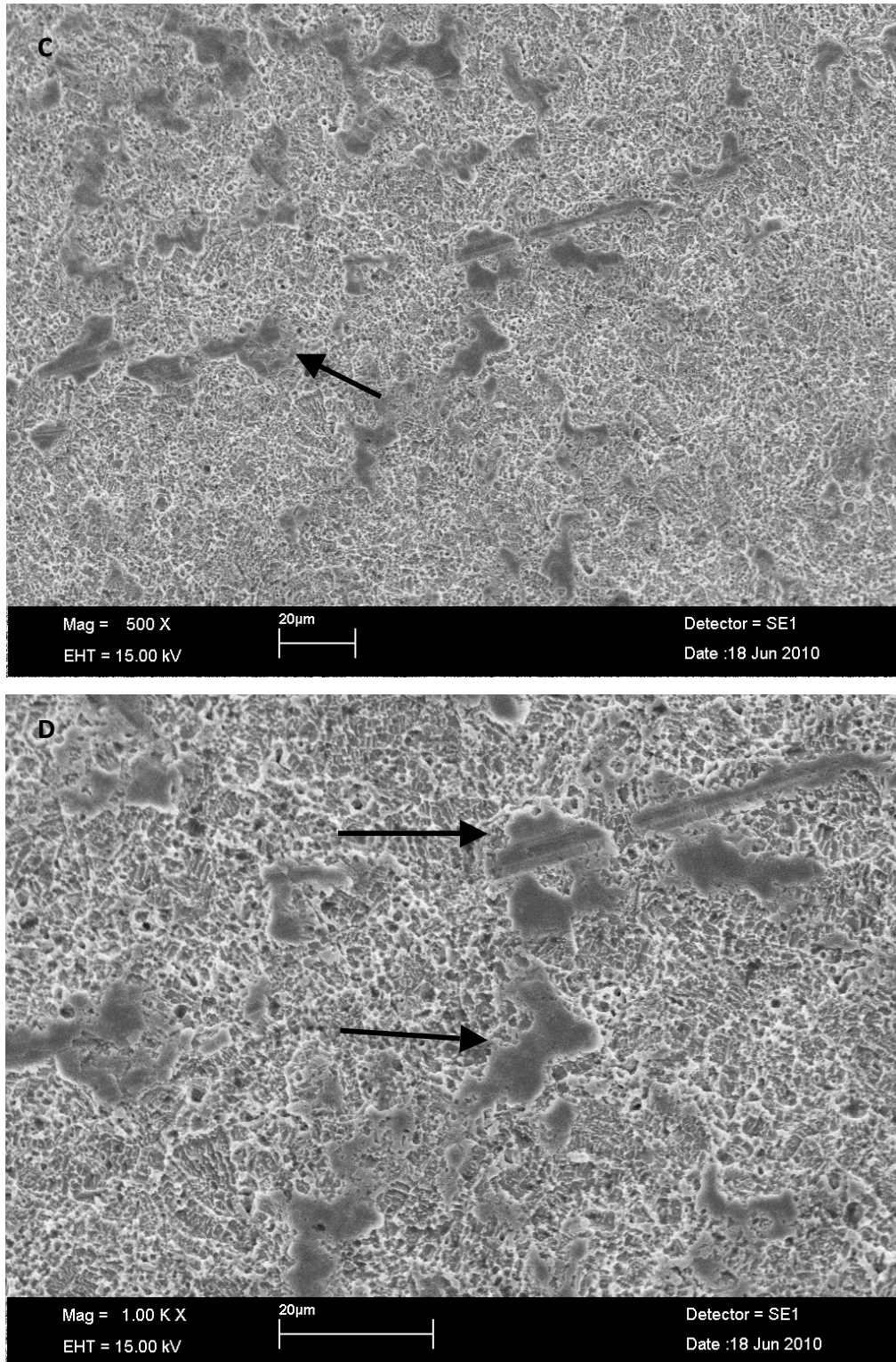


FIGURA 23 – Eletromicrografias de discos de titânio irradiados com *laser* GaAlAs em modo contínuo. (A) Aumento original = 75x; (B) Aumento original= 250x; (C) Aumento original = 500x; (D) Aumento original = 1000x. As setas mostram áreas de irregularidades provocadas pelo tratamento de superfície dos discos. Barra dimensional inserida abaixo das imagens.

As imagens da figura 23 mostram eletromicrografias do grupo 3 (irradiados com *laser* GaAlAs em modo contínuo). Os quadros A , B, C e D mostram ampliações de 75x, 250x, 500x e 1000x respectivamente. Analisando as quatro imagens, podemos observar os mesmos padrões encontrados nas imagens da figura 8 e 9. Também não observamos nenhuma área de irregularidades provocadas pela irradiação realizada. Não foram observadas áreas de carbonização nem áreas de derretimento da superfície.

6. DISCUSSÃO

Os *lasers* de diodo têm se tornado bastante populares para diferentes aplicações clínicas em odontologia, tendo em vista a construção de equipamentos portáteis, versáteis e com menor custo que os demais *lasers* de alta intensidade. Uma das aplicações dos *lasers* de GaAlAs é a descontaminação de superfícies de implantes, o que garantiria maior eficácia do tratamento contra periimplantites. Desta forma, este estudo avalia se os parâmetros indicados pelo fabricante do Thera Lase (DMC Equipamentos LTDA, São Carlos, SP) podem causar aumento significativo na temperatura do titânio durante a irradiação, o que poderia acarretar em defeitos deletérios nos tecidos biológicos adjacentes. Este trabalho também avalia a presença de alterações na estrutura morfológica do titânio após as irradiações, assim como avalia o aumento de temperatura que pode ser gerado no tecido ósseo adjacente, o qual deve ser avaliado com cautela pois, em caso excessivo, pode contra-indicar o uso do *laser* para tal finalidade.

Embora estudos pré-existentes confirmem a eficácia dos *lasers* de Nd:YAG, Er:YAG, Ho:YAG, CO₂ e diodo^{9, 11, 12, 57, 58} na descontaminação de sítios infectados, há comprovação de alterações morfológicas na superfície de implantes de titânio após a irradiação com *laser* de Nd:YAG, Er:YAG, Ho:YAG e CO₂¹¹, sendo o CO₂ o *laser* que provoca menores alterações e o *laser* de diodo, nenhuma alteração quando comparado aos demais.

Sabe-se que o efeito térmico provocado pelo *laser* provoca aumento de temperatura no tecido biológico capaz de desnaturar proteínas e provocar a morte celular⁶². Porém uma exposição entre 47 e 50 °C *in vivo* além de 60 segundos pode provocar danos irreversíveis ao tecido biológico⁶³. A partir destes dados procuramos analisar se a elevação de temperatura provocada pela irradiação com *laser* de diodo é suficiente para provocar a lise bacteriana (experimento realizado com os discos de titânio); se a temperatura dissipada pode provocar

danos aos tecidos periimplantares (experimento realizado com blocos de osso suíno e implantes osseointegráveis) e se existe modificações morfológicas no titânio após irradiação com o *laser*.

Neste estudo pudemos observar diferentes alterações de temperatura durante a irradiação dos discos de titânio para os dois grupos avaliados. Considerando a temperatura máxima obtida logo abaixo da fibra como o parâmetro de maior importância num tratamento para descontaminação de periimplantite, os aumentos de temperatura encontrados durante a irradiação em modo pulsado são de 31,7 °C e 145,6 °C em modo contínuo. Esta variação de temperatura sugere a eficácia de tratamento em ambos os parâmetros. Quando da irradiação em modo pulsado, a temperatura máxima alcançada numa situação *in vivo* seria de 68,4°C (considerando a temperatura do corpo humano 36,7°C). Operando em modo contínuo, a temperatura chegaria a 182,3°C numa situação *in vivo*. Embora estas temperaturas pudessem provocar graves injúrias aos tecidos periimplantares^{51,52}, contribuindo negativamente no processo de reparo^{64, 63}, os resultados registrados durante a irradiação contínua dos implantes instalados em blocos de osso suíno mostraram que a propagação de calor não representa risco de necrose nos parâmetros do experimento, pois apesar da alta temperatura alcançada logo abaixo da fibra, os termopares TAA, TCP e TAP não registraram valores superiores a 46,81°C. Estes dados são importantes pois, numa situação clínica, haveria uma temperatura suficiente para eliminar bactérias logo abaixo da fibra, mas o tempo de irradiação não é suficiente para a dissipação do calor e conseqüentemente injúrias aos tecidos periimplantares.

Outro ponto importante a ser considerado é o fato da temperatura máxima final na superfície do disco apresentar uma variação de temperatura de 7,2 °C para a irradiação em modo pulsado, e 22,6 °C para irradiação em modo contínuo. Isso representa uma temperatura final de 43,2 °C contra 58,6°C, respectivamente. Ainda que não haja propagação suficiente para causar

danos ao tecido ósseo, como confirmado pelo registro dos termopares instalados a distância e próximos ao ponto de irradiação, a diferença na variação de temperatura entre as irradiações em modo pulsado e contínuo confirmam o efeito de relaxação térmica do *laser* quando utilizado em modo pulsado.

Quanto à transmissão de calor através do disco, pode-se afirmar que a irradiação da área a ser tratada deve seguir toda a extensão do defeito ósseo, pois apesar de os dados mostrarem um aumento de 6,1 °C abaixo do disco após a irradiação e isto significar uma temperatura de 42,1 °C numa situação *in vivo*, esta temperatura não é propagada da mesma forma no tecido biológico e, portanto, é insuficiente para que ocorra a descontaminação da área afetada. Caso algum local não seja varrido pela fibra do *laser* poderá ocorrer re-colonização bacteriana.

Embora seja comprovado pela literatura a existência de alteração morfológica na superfície de implantes tratados por alguns *lasers* como Er:YAG, CO₂, Nd:YAG e Ho:YAG^{9, 11, 12, 57, 58}, trabalhos mostram a eficácia na redução bacteriana por estes *lasers*. Er:YAG teve pequena alteração de temperatura, não excedendo do 47 °C⁵⁸.

A literatura mostra irradiação de implantes de titânio para tratamento de periimplantite com um *laser* de diodo e recomenda parâmetros de 10 segundos de irradiação a 2,0 W em modo contínuo⁵⁸. Após 13s a temperatura ultrapassou os 47°C, ou seja, uma variação de 10,3°C³³. Em nosso estudo, obtivemos uma variação de temperatura final na superfície do disco de 22,6°C utilizando 1W de potência durante o mesmo tempo em modo contínuo. Obtivemos menor aumento de temperatura utilizando os mesmos parâmetros, porém com o *laser* operando em modo pulsado. Neste último modo mencionado a variação de temperatura aferida na superfície do disco ao final da irradiação foi de 6,8°C.

Os experimentos realizados nos implantes instalados nos blocos de osso suíno foram realizados nos mesmos parâmetros das irradiações realizadas nos discos de titânio, justamente para relacionarmos a influência dos tecidos biológicos na propagação da temperatura durante a irradiação. Os resultados mostram que as irradiações nos parâmetros descritos são seguras para os tecidos biológicos. De acordo com o limite máximo de sobrevivência de bactérias mesofílicas e com o limite máximo de temperatura sem que haja injúria ao tecido ósseo^{51,52,63}, os resultados obtidos não oferecem riscos aos tecidos biológicos, pois nenhum dos termopares instalados registrou valores superiores a 46,81°C (termopar – TCP em modo contínuo). A mínima temperatura registrada foi de 37,49°C (termopar – TAP em modo pulsado).

Relacionando todos os dados térmicos obtidos neste estudo (temperatura registradas durante a irradiação dos discos de titânio, os valores máximos de temperatura registrados durante a irradiação dos implantes instalados nos blocos ósseos), os limites de temperatura para que não haja necrose óssea e a temperatura necessária para que haja lise bacteriana, podemos dizer que os parâmetros analisados nestes experimentos apresentam valores condizentes com o tratamento proposto sem que haja injúria ao tecido biológico.

Através dos resultados apresentados por este estudo, confirmamos que a temperatura é influenciada pela estrutura óssea e vascularização do tecido biológico⁶⁵.

Com relação à análise das superfícies dos discos confirmamos as afirmações dos trabalhos literários^{9, 11, 12, 57, 58} acerca da segurança do *laser* de diodo quanto às alterações morfológicas provocadas no titânio utilizando os parâmetros descritos. A semelhança das imagens foi observada nas amostras dos 3 grupos. Pudemos observar as irregularidades provocadas intencionalmente pelo fabricante através da subtração ácida da superfície, tornado-a rugosa. Também observamos imperfeições na superfície dos discos em todas as amostras. Não foi

observada nenhuma alteração morfológica provocada pela irradiação com *laser* de diodo nas amostras dos grupos 2 e 3 em relação ao grupo 1 em nenhuma das magnificações estudadas, ou seja, a irradiação *laser*, nos parâmetros empregados neste estudo, não promove efeitos deletérios sobre a superfície do titânio. Contudo mais estudos são necessários para se avaliar se os aumentos de temperatura promovidos podem afetar a regeneração tecidual após aplicação clínica.

7. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

1. O *laser* de GaAIs operando em modo contínuo apresentou melhores resultados comparado ao modo pulsado nos parâmetros avaliados neste estudo; promovendo aumentos de temperatura na superfície do titânio superiores ao limite de temperatura suportado pelos microrganismos mesofílicos nos pontos de irradiação, indicando que pode ser eficaz para a descontaminação bacteriana;
2. As altas temperaturas atingidas pelas irradiações em modo contínuo e pulsado parecem não representar risco aos tecidos biológicos, pois os testes realizados em tecido ósseo mostram que o calor dissipado chega ao tecido biológico com valores inferiores a 47°C;
3. A irradiação de titânio com *laser* de GaAIs nos parâmetros deste estudo não promoveu alterações morfológicas significativas na superfície do titânio, indicando que não ocorrem efeitos deletérios que possam prejudicar a regeneração tecidual nas áreas irradiadas.
4. Estudos *in vitro* em animais e microbiológicos deverão ser realizados para se definir o tempo das irradiações necessárias para a eficácia do tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ BRANEMARK, P.-I.; ZARB, G. A.; ALBREKTSSON, T. Tissue integrated prosthesis – osseointegration in clinical dentistry. Chicago, Quintessence, Cap. 4, p. 99-116, 1985.
- ² Hamdan, M., L. Blanco, *et al.* Influence of titanium surface charge on fibroblast adhesion. Clin Implant Dent Relat Res, v.8, n.1, p.32-8. 2006.
- ³ Comut, A. A., H. P. Weber, *et al.* Connective tissue orientation around dental implants in a canine model. Clin Oral Implants Res, v.12, n.5, Oct, p.433-40. 2001.
- ⁴ LINDHE J, KARRING T, LANG NP. Clinical periodontology and implant dentistry. 4th ed. Oxford, UK: Blackwell Munksgaard, 2003.
- ⁵ Schwarz, F., A. Sculean, *et al.* Influence of different treatment approaches on the removal of early plaque biofilms and the viability of SAOS2 osteoblasts grown on titanium implants. Clin Oral Investig, v.9, n.2, Jun, p.111-7. 2005.
- ⁶ Heitz-Mayfield, L. J. e N. P. Lang. Antimicrobial treatment of peri-implant diseases. Int J Oral Maxillofac Implants, v.19 Suppl, p.128-39. 2004.
- ⁷ ROMANOS, G.E. Treatment of periimplant lesions using different *laser* systems. *J Oral Laser Applications*. 2002
- ⁸ Kotsovilis, S., I. K. Karoussis, *et al.* Therapy of peri-implantitis: a systematic review. J Clin Periodontol, v.35, n.7, Jul, p.621-9. 2008.
- ⁹ Romanos, G. e G. H. Nentwig. Diode laser (980 nm) in oral and maxillofacial surgical procedures: clinical observations based on clinical applications. J Clin Laser Med Surg, v.17, n.5, Oct, p.193-7. 1999.
- ¹⁰ MAIORANA, C.; SALINA, S.; SANTORO, F. Treatment of periimplantitis with diode *laser*: A clinical report. *J Oral Laser Applications*. 2002
- ¹¹ Kreisler, M., H. Gotz, *et al.* Effect of Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, CO₂, and GaAlAs laser irradiation on surface properties of endosseous dental implants. Int J Oral Maxillofac Implants, v.17, n.2, Mar-Apr, p.202-11. 2002.
- ¹² Mouhyi, J., L. Sennerby, *et al.* Temperature increases during surface decontamination of titanium implants using CO₂ laser. Clin Oral Implants Res, v.10, n.1, Feb, p.54-61. 1999.
- ¹³ Kreisler, M., H. Al Haj, *et al.* Effect of simulated CO₂ and GaAlAs laser surface decontamination on temperature changes in Ti-plasma sprayed dental implants. Lasers Surg Med, v.30, n.3, p.233-9. 2002.

-
- ¹⁴PIRNAT, S. Versatility of an 810 nm Diode Laser in Dentistry: An Overview. *J. of Laser and Health Academy*. No. 4, 2007.
- ¹⁵ Berglundh, T., J. Lindhe, *et al.* Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*, v.3, n.1, Mar, p.1-8. 1992.
- ¹⁶ _____. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J Clin Periodontol*, v.21, n.3, Mar, p.189-93. 1994.
- ¹⁷ Ericsson, I., T. Berglundh, *et al.* Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clin Oral Implants Res*, v.3, n.3, Sep, p.99-103. 1992.
- ¹⁸ Leonhardt, A., T. Berglundh, *et al.* Putative periodontal pathogens on titanium implants and teeth in experimental gingivitis and periodontitis in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res*, v.3, n.3, Sep, p.112-9. 1992.
- ¹⁹ Lindhe, J., T. Berglundh, *et al.* Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res*, v.3, n.1, Mar, p.9-16. 1992.
- ²⁰ Moon, I. S., T. Berglundh, *et al.* The barrier between the keratinized mucosa and the dental implant. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*, v.26, n.10, Oct, p.658-63. 1999.
- ²¹ Schou, S., P. Holmstrup, *et al.* Autogenous bone graft and ePTFE membrane in the treatment of peri-implantitis. II. Stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Implants Res*, v.14, n.4, Aug, p.404-11. 2003.
- ²² LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a. edição. pags. 3-46. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ²³ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a. edição. pags. 3-46. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ²⁴ Dinato, J.C.; Polido, W.D. Implantes osseointegrados: Cirurgia e Prótese. Pag 516. São Paulo: Artes Médicas, 2004.
- ²⁵[HTTP://myrocklinimplantdentist.com/wp-content/uploads/2009/08/dentalimplants2.jpg](http://myrocklinimplantdentist.com/wp-content/uploads/2009/08/dentalimplants2.jpg)
acesso em 11-07 10hs
- ²⁶ Berglundh, T., J. Lindhe, *et al.* The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res*, v.2, n.2, Apr-Jun, p.81-90. 1991.
- ²⁷ Mombelli, A. e N. P. Lang. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol 2000*, v.17, Jun, p.63-76. 1998.

-
- ²⁸ Pontoriero, R., M. P. Tonelli, *et al.* Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. Clin Oral Implants Res, v.5, n.4, Dec, p.254-9. 1994.
- ²⁹ Hardt, C. R., K. Grondahl, *et al.* Outcome of implant therapy in relation to experienced loss of periodontal bone support: a retrospective 5- year study. Clin Oral Implants Res, v.13, n.5, Oct, p.488-94. 2002.
- ³⁰ Salcetti, J. M., J. D. Moriarty, *et al.* The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. Int J Oral Maxillofac Implants, v.12, n.1, Jan-Feb, p.32-42. 1997.
- ³¹ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a edição. pags. 81-101. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ³² Mombelli, A. Microbiology and antimicrobial therapy of peri-implantitis. Periodontol 2000, v.28, p.177-89. 2002.
- ³³ Matarasso, S., G. Quaremba, *et al.* Maintenance of implants: an in vitro study of titanium implant surface modifications subsequent to the application of different prophylaxis procedures. Clin Oral Implants Res, v.7, n.1, Mar, p.64-72. 1996.
- ³⁴ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a edição. pags. 799-803. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ³⁵ Romeo, E., M. Ghisolfi, *et al.* Peri-implant diseases. A systematic review of the literature. Minerva Stomatol, v.53, n.5, May, p.215-30. 2004.
- ³⁶ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a edição. pags. 799-803. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ³⁷ CASTILHO, G. A. A.; MARTINS, M. D.; MACEDO, W. A. A. Surface characterization of titanium based dental implants. Brazilian Journal of Physics, v. 36, n. 3B, 2006.
- ³⁸ Lang, N. P., A. Mombelli, *et al.* Clinical trials on therapies for peri-implant infections. Ann Periodontol, v.2, n.1, Mar, p.343-56. 1997.
- ³⁹ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a edição. pags. 988-995. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ⁴⁰ Flotra, L., P. Gjerme, *et al.* Side effects of chlorhexidine mouth washes. Scand J Dent Res, v.79, n.2, p.119-25. 1971.
- ⁴¹ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4^a edição. pags. 450-471. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

-
- ⁴² Listgarten, M. A. Electron Microscopic Observations on the Bacterial Flora of Acute Necrotizing Ulcerative Gingivitis. J Periodontol, v.36, Jul-Aug, p.328-39. 1965.
- ⁴³ Saglie, F. R., F. A. Carranza, Jr., *et al.* Identification of tissue-invading bacteria in human periodontal disease. J Periodontal Res, v.17, n.5, Sep, p.452-5. 1982.
- ⁴⁴ Saglie, R., M. G. Newman, *et al.* Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. J Periodontol, v.53, n.4, Apr, p.217-22. 1982.
- ⁴⁵ LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral 4ª edição. pags. 478-490. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ⁴⁶ Renvert, S., A. M. Roos-Jansaker, *et al.* Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. J Clin Periodontol, v.35, n.8 Suppl, Sep, p.305-15. 2008.
- ⁴⁷ Claffey, N., E. Clarke, *et al.* Surgical treatment of peri-implantitis. J Clin Periodontol, v.35, n.8 Suppl, Sep, p.316-32. 2008.
- ⁴⁸ Romanos, G., H. H. Ko, *et al.* The use of CO(2) laser in the treatment of peri-implantitis. Photomed Laser Surg, v.27, n.3, Jun, p.381-6. 2009.
- ⁴⁹ Romeo, E., M. Ghisolfi, *et al.* Peri-implant diseases. A systematic review of the literature. Minerva Stomatol, v.53, n.5, May, p.215-30. 2004.
- ⁵⁰ Rimondini, L., F. Cicognani Simoncini, *et al.* Micro-morphometric assessment of titanium plasma-sprayed coating removal using burs for the treatment of peri-implant disease. Clin Oral Implants Res, v.11, n.2, Apr, p.129-38. 2000.
- ⁵¹ DROFFNER, M.L.; BRINTON, W.F.; EVANS, E. Evidence for the prominence of well characterized mesophilic bacteria in thermophilic (50-70oC) composting environments. Biomass and bioenerg. V.8, n.3, p.191-195, 1995.
- ⁵² NERMELA, S.I.; SIVELA, C.; LUOMA, T.; TUOVINEN, O.H. Maximum temperature limits for acidophilic, mesophilic bacteria in biological leaching systems. Applied and Environmental Microbiology, v.60, n.9, p.3444-3446, sept, 1994.
- ⁵³ ZECELL, D.M. Interação da Luz Laser. Apostila do Curso de Mestrado Profissionalizante em Lasers em Odontologia. IPEN/FOUSP, p. 24-30, 2005.
- ⁵⁴ Deppe, H. e H. H. Horch. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. Lasers Med Sci, v.22, n.4, Nov, p.217-21. 2007.
- ⁵⁵ Kreisler, M., W. Kohnen, *et al.* Antimicrobial efficacy of semiconductor laser irradiation on implant surfaces. Int J Oral Maxillofac Implants, v.18, n.5, Sep-Oct, p.706-11. 2003.

-
- ⁵⁶ ANDRADE A.K.P.; DE MICHELE, G.; FEIST, I.S. Utilização do *laser* de diodo de alta potência em periodontia e implantodontia: revisão de literatura. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo set-dez; 19(3):312-9, 2007.*
- ⁵⁷ Mckee, M. D. Effects of CO2 laser irradiation in vivo on rat alveolar bone and incisor enamel, dentin, and pulp. *J Dent Res*, v.72, n.10, Oct, p.1406-17. 1993.
- ⁵⁸ Romanos, G. E., N. Gutknecht, *et al.* Laser wavelengths and oral implantology. *Lasers Med Sci*, v.24, n.6, Nov, p.961-70. 2009.
- ⁵⁹ Thorwarth, M., S. Schultze-Mosgau, *et al.* Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticulate hydroxyapatite. *J Oral Maxillofac Surg*, v.63, n.11, Nov, p.1626-33. 2005.
- ⁶⁰ Pearce, A. I., R. G. Richards, *et al.* Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*, v.13, p.1-10. 2007.
- ⁶¹ <http://www.dayootech.com/web/Titanium.htm> acessado em 11/05/2010
- ⁶² Kreisler, M., H. Al Haj, *et al.* Temperature changes at the implant-bone interface during simulated surface decontamination with an Er:YAG laser. *Int J Prosthodont*, v.15, n.6, Nov-Dec, p.582-7. 2002.
- ⁶³ Eriksson, A. R. e T. Albrektsson. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopic study in the rabbit. *J Prosthet Dent*, v.50, n.1, Jul, p.101-7. 1983.
- ⁶⁴ Kreisler, M., H. Al Haj, *et al.* Temperature changes induced by 809-nm GaAlAs laser at the implant-bone interface during simulated surface decontamination. *Clin Oral Implants Res*, v.14, n.1, Feb, p.91-6. 2003.
- ⁶⁵ Haider, R., G. Watzek, *et al.* Effects of drill cooling and bone structure on IMZ implant fixation. *Int J Oral Maxillofac Implants*, v.8, n.1, p.83-91. 1993.