

Efeitos da radiação laser de dióxido de carbono (CO₂) na mucosa de revestimento bucal: estudo histológico em ratos*

MÔNICA CESAR DO PATROCINIO**, WALTER NICCOLI-FILHO***

RESUMO

Este trabalho avaliou histologicamente a reparação da mucosa bucal de 45 ratos brancos *Wistar*, frente à radiação laser de CO₂ com diferentes potências. Os animais foram, aleatoriamente, divididos em três grupos de 15 ratos cada, irradiados com potências de 2, 7 e 10 watts, por 0,5 segundo, modo simples, com foco de 0,8mm, sendo sacrificados imediatamente após irradiação e, após três e sete dias. As peças seguiram técnica histológica de rotina para parafina, e coloração hematoxilina/eosina (H.E.). Os resultados imediatos mostraram em todos os grupos necrose por coagulação, atingindo o tecido muscular com maior profundidade no grupo III; aos três dias foi evidenciada no grupo I (2 watts) área lesada revestida com epitélio pavimentoso de fina espessura, no grupo II (7 watts) área de tecido de granulação atingindo a camada muscular e no grupo III (10 watts) extensa área de tecido de granulação atingindo camadas mais profundas do plano muscular; aos sete dias foi observada no grupo I, camada contínua de epitélio pavimentoso queratinizado recobrimdo a área irradiada, no grupo II camada uniforme de epitélio pavimentoso com área de tecido de granulação e no grupo III, epitélio queratinizado com presença de tecido de granulação em pequena área. Os resultados permitiram concluir que: o grupo de animais irradiado com 2 watts de potência (Grupo I) não

apresentou diferenças e/ou atraso significantes na cronologia de reparação tecidual e aqueles irradiados com 7 e 10 watts (Grupos II e III) mostraram comprometimento na cronologia de reparação quando comparados ao grupo I.

UNITERMOS

Laser de dióxido de carbono(CO₂); reparação tecidual; mucosa oral.

PATROCINIO, M.C., NICCOLI-FILHO, W. Effects of carbon dioxide laser (CO₂) in oral mucosa: histologic study in rats. **Pós-Grad Rev Odontol São José dos Campos**, v.3, n.2, p., jul./dez., 2000.

ABSTRACT

This research was an histologic evaluation of wound healing process in oral mucosa of 45 white Wistar rats irradiated by carbon dioxide (CO₂) laser used with different power settings. The animals were separated in 3 groups with 15 rats each and created wounds using a laser beam at 2, 7, 10 watts, at 0,5 second, in a simple way, with 0,8 mm focus, the animals were sacrificed immediately after surgery, others three days

* Resumo da Dissertação de Mestrado – Área de Concentração em Prótese Bucomaxilofacial - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP - 12245-000 – São José dos Campos - SP.

** Mestre – Área de Concentração em Prótese Buco Maxilo Facial – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP - 12245-000 – São José dos Campos - SP.

*** Coordenador do Grupo Acadêmico de Estudos e Pesquisas em Laser - Departamento de Biopatologia e Diagnóstico - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP -12245-000 – São José dos Campos - SP.

Endereço para correspondência: Praça Monsenhor Silva Barros, 171, Taubaté, São Paulo - 12020-070 - e-mail:mcpatrocinio@uol.com.br

thereafter, and others after seven days. The pieces follow histologic routine technique for paraffin, and hematoxylin/eosin coloration (H.E.). The immediate results showed in all groups coagulation necrosis, reached the muscular tissue in high deep in group III; in three days was evidenced on group I (2 watts) the injury area coated with thin density of floor epithelium, in group II (7 watts) area of granulation tissue reaching the muscular layer and in group III (10 watts) extensive area of granulation tissue reaching the high deep layers of muscular stratum; on seven days was observed on group I, continuous layer of floor keratinizing epithelium recovering the irradiated area, in group II uniform layer of floor epithelium with some granulation areas and in the group III, keratinizing epithelium with granulation tissue in small area. The results allow to conclude: animals irradiated by 2 watts (group I) showed no differences or delay of the wound healing process and those irradiated by 7 and 10 watts (groups II and III) showed compromised in the wound healing process when compared with group I.

UNITERMS

Carbon dioxide laser (CO₂); wound healing process; oral mucosa.

INTRODUÇÃO

Quando os primeiros pesquisadores obtiveram resultados concretos sobre as propriedades da radiação produzida pelo laser, talvez, não tivessem noção da quantidade de aplicações que esta nova tecnologia teria no campo das ciências médicas, onde diversos procedimentos clínico/cirúrgicos vêm sendo realizados, com as vantagens que este recurso terapêutico oferece.

Em 1992, Pinheiro & Frame¹⁸ relataram que os principais conceitos da radiação laser baseavam-se nos princípios da teoria quântica eletrodinâmica, proposta por Einstein em 1917. Em 1960, Maiman, baseado nos trabalhos de Gordon (1955) e Schawlow & Townes (1958), idealizou o primeiro laser operacional usando cristais de rubi. A partir deste foram desenvolvidos os lasers de hélio-neônio, neodímio-ítrio-alumínio-garnet (Nd:YAG), dióxido de carbono (CO₂) e argônio.

O laser de CO₂ foi desenvolvido no início dos anos 60 por Patel, sendo obtido pela estimulação de uma mistura de gás de CO₂, nitrogênio (N₂) e hélio (He) de acordo com Patel¹⁷, 1964, Fisher et al.⁸, 1983, Frame⁹, 1985, Cecchini⁴, 1995, Clayman & Kuo⁵, 1997.

As aplicações primordiais do laser de CO₂ estão na técnica de vaporização (ablação), incisão de tecidos moles e a extensão, na qual há interação entre o tecido biológico e o laser de CO₂, é determinada pelo conteúdo de água nos tecidos e pela irradiação, fluência e geometria do feixe de laser (Barak & Kaplan¹, 1988; Clayman & Kuo⁵, 1997).

Em virtude da ação do laser de CO₂ ser basicamente por absorção de água dos tecidos, quanto menor a quantidade de água, maior o dano tecidual. Por este motivo à aplicação deste tipo de laser em tecidos como osso, tendão ou gordura, pode provocar danos irreversíveis, estando sua indicação em estudos.

Segundo Fisher et al.⁸, 1983 e Niccoli-Filho et al.¹⁵, 1997, um dos inconvenientes apresentados pelo laser de CO₂ é a geração de altas temperaturas, que pode levar à necrose dos tecidos irradiados, comprometendo a cronologia da reparação tecidual, a qual difere quando os tecidos são incisionados pela técnica convencional, fato este que desperta o interesse de vários autores.

O laser de CO₂ oferece ao clínico uma variabilidade de vantagens, tais como: ausência de sangramento, campo limpo e estéril, excelente visibilidade, possibilidade de redução no tempo de trabalho, redução do edema e dor, melhora na reparação, desnecessidade de sutura, redução do trauma mecânico, diminuição na possibilidade de infecção e grande aceitação por parte do paciente (Niccoli-Filho & Okamoto¹⁴, 1994).

Segundo Niccoli-Filho¹³, 1995 a resposta fotobiológica obtida pelo uso da radiação laser é o resultado das mudanças fotoquímicas, fotofísicas e/ou fototérmicas produzidas pela absorção da radiação eletromagnética ionizada, e desta forma julgamos que o sistema de sensibilidade das células de um determinado tecido à radiação é produto de probabilidades, tais como, de que a luz laser, em um determinado comprimento de onda, venha a ser absorvida pelas células e que esta absorção cause mudanças químicas e/ou físicas benéficas à célula, contribuindo para uma resposta biológica efetiva.

Objetivando estabelecer parâmetros que permitam um mínimo de dano tecidual com um máximo de otimização cirúrgica, propomo-nos a estudar a qualidade da reparação da mucosa bucal de ratos submetida à radiação laser de dióxido de carbono (CO₂), com diferentes potências.

MATERIAIS E MÉTODOS

Após a aprovação do protocolo da presente pesquisa pela Comissão Provisória de Ética da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos (FOSJC) - UNESP (Protocolo 003/98), foram selecionados 45 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Wistar*) machos, com peso aproximado de 250 gramas e divididos, aleatoriamente, em três grupos de acordo com o que segue:

a) grupo I - quinze ratos foram anestesiados por inalação de vapores de éter etílico P.A.*. Em seguida, irradiamos de forma puntiforme com laser de dióxido de carbono** de comprimento de onda de 10,6 μ m, em modo simples, com pulso de 0.5 segundos, foco de 0.8mm e potência de 2 watts, a mucosa da região jugal direita, sob aspiração constante da nuvem de fumaça. Tanto o cirurgião como equipe estavam protegidos com óculos de segurança, luvas e máscara (Figura 1);

b) grupo II - 15 ratos sofreram a mesma seqüência experimental do Grupo I, exceção da potência que foi de 7 watts;

c) grupo III - 15 ratos sofreram a mesma seqüência experimental do Grupo I, exceção da potência que foi de 10 watts.

Todos os animais foram acomodados em gaiolas e mantidos no Biotério Central FOSJC, com



temperatura ambiente (cerca de 25°C), sendo alimentados com ração apropriada e água “*ad libitum*”.

Após completada a seqüência experimental proposta, três ratos de cada grupo, foram sacrificados usando-se inalação excessiva de vapores de éter etílico, nos tempos imediatamente após a cirurgia, três e sete dias.

A seguir, a região de fórnix direito foi retirada por incisão ao nível da face distal do incisivo central até a mucosa jugal do mesmo lado.

As peças assim obtidas, foram fixadas em solução de Bouin, durante 24 horas, sendo posteriormente desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina, orientadas, de tal forma, a permitir cortes no sentido paralelo ao longo eixo da ferida cirúrgica.

Nos blocos pertinentes, foram realizados cortes semi-seriados com 5 μ m de espessura, os quais foram corados pela hematoxilina e eosina para leitura na microscopia de luz.

RESULTADOS

A partir da observação por microscopia de luz, damos os resultados considerando os tempos descritos no material e métodos utilizados.

FIGURA 1 - Aplicação da radiação laser de CO₂ realizada na região jugal direita.

* Reagentes Analíticos Dinâmica, São Paulo

** Sharplan 15F, Lasers Industries Ltd., Israel – equipamento obtido por doação da FAPESP: Processo 97/07645-2

1 RESULTADOS IMEDIATOS

a) 2 watts: os cortes histológicos mostraram a área lesada atingindo a camada muscular. Os tecidos envolvidos apresentaram necrose superficial por coagulação. O tecido conjuntivo adjacente tinha aspecto hialino, com poucas células (Figura 2);

b) 7 watts: os cortes histológicos mostraram maior profundidade da área atingida. Os tecidos adjacentes superficiais mostraram necrose por coagulação. As fibras musculares circunjacentes mostraram aspecto normal; entretanto, o tecido conjuntivo adjacente à lesão apresentava-se com aspecto hialino (Figura 3);

c) 10 watts: a mucosa atingida mostrava extensa área de necrose, alcançando profundamente a camada muscular. O tecido conjuntivo adjacente apresentava aspecto hialino com poucas células (Figura 4);

2 RESULTADO TRÊS DIAS

a) 2 watts: os cortes histológicos mostraram a área lesada revestida por epitélio pavimentoso de

fina espessura. A superfície basal do mesmo apresentava-se uniforme, sem presença de papilas conjuntivas. O córion subjacente tinha poucas células, na maioria fibroblastos e finas fibras colágenas de disposição irregular. As fibras musculares mostraram morfologia normal, porém, com disposição irregular;

b) 7 watts: os cortes histológicos evidenciaram uma extensa área de tecido de granulação localizado no córion e atingindo regiões profundas da camada muscular. Foi observada presença de algumas células entre as fibras colágenas de aspecto hialino, restos de tecido necrosado, células macrofágicas e fibras colágenas com disposição irregular nas margens do tecido de granulação (Figura 5);

c) 10 watts: foi observada extensa área de tecido de granulação extravasando a superfície da lesão e atingindo camadas profundas do plano muscular. Na região profunda, foram evidenciadas pequenas áreas de tecido conjuntivo hialinizado e, em outras, o aspecto era fibrosado com células macrofágicas e polimorfonucleares (Figura 6);



FIGURA 2 - Fotomicrografia de mucosa do rato, imediato, irradiada com laser de CO₂ potência de 2 watts, corte transversal, onde se observam, na região central, necrose por coagulação atingindo tecido muscular e tecido conjuntivo com aspecto hialino. H.E. (200X).

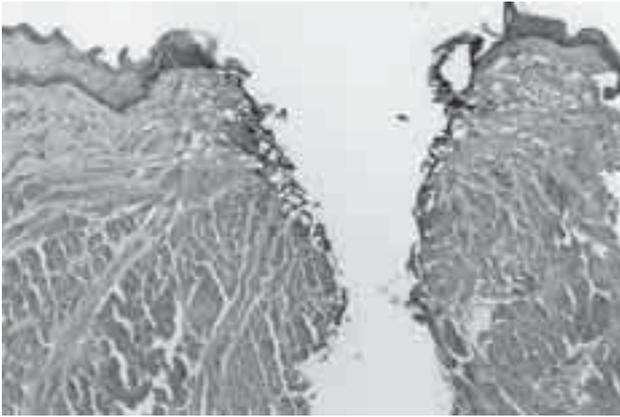


FIGURA 3 - Fotomicrografia de mucosa de rato, imediato, irradiada com laser de CO₂ potência 7 watts, corte longitudinal, onde se observam a profundidade da área atingida, necrose por coagulação, nas bordas da ferida. H.E. (100X).



FIGURA 4 - Fotomicrografia de mucosa de rato, imediato, irradiada com laser de CO₂ potência de 10 watts, onde se observam atingindo o tecido muscular com maior profundidade e tecido conjuntivo com aspecto hialino. H.E. (200X).

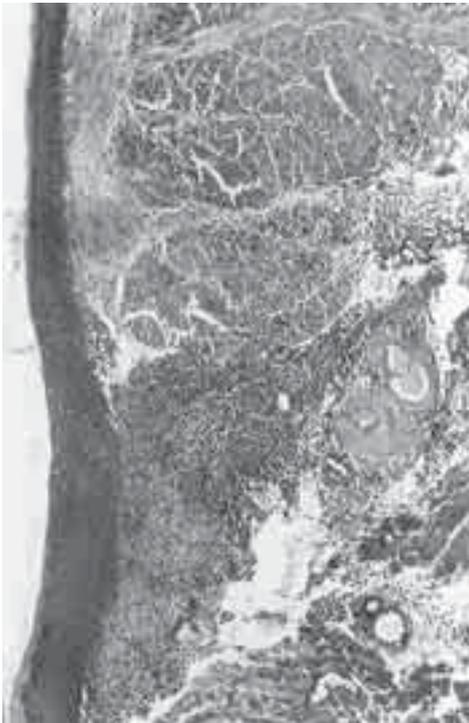


FIGURA 5 - Fotomicrografia de mucosa de rato, aos três dias, irradiada com laser de CO₂ potência de 7 watts, onde se observam extensa área de tecido de granulação atingindo a camada muscular e fibras colágenas com disposição irregular nas margens do tecido de granulação. H.E. (100X).



FIGURA 6 - Fotomicrografia de mucosa de rato, aos três dias, irradiada com laser de CO₂ potência de 10 watts, onde se observam tecido de granulação até a camada profunda do tecido muscular, tecido conjuntivo hialino e presença de polimorfonucleares. H.E. (100X).

3 RESULTADOS SETE DIAS

a) **2 watts:** os cortes histológicos mostraram uma camada contínua de epitélio pavimentoso queratinizado recobrimdo a superfície da área irradiada e presença de um tecido de granulação de extensão moderada, no córion subjacente, atingindo superficialmente a camada muscular. As fibras musculares apresentavam morfologia normal, porém, com disposição irregular (Figura 7);

b) **7 watts:** nesta potência, foi evidenciada uma camada uniforme de epitélio pavimentoso recobrin-



FIGURA 7 - Fotomicrografia de mucosa de rato, aos sete dias, irradiada com laser de CO₂ potência de 2 watts, onde se observam epitélio pavimentoso queratinizado de forma contínua, presença de tecido de granulação atingindo o tecido muscular que apresentava-se com fibras morfologicamente normais e disposição irregular. H.E. (200X).

do a superfície da lesão. Subjacente, observou-se extensa área de tecido de granulação com presença de pequenas porções de tecido conjuntivo hialino com escassas células. Também, foram evidenciados alguns restos de tecido necrótico (Figura 8);

c) **10 watts:** o epitélio mostrava-se queratinizado de forma uniforme e contínuo na superfície do corte histológico. Observou-se a presença do tecido de granulação ocupando uma pequena área do córion e finas fibras colágenas adjacentes. As fibras musculares tinham aspecto morfológico normal e disposição irregular (Figura 9).



FIGURA 8 - Fotomicrografia de mucosa de rato, aos sete dias, irradiada com laser de CO₂ potência de 7 watts, onde se observam epitélio pavimentoso recobrimdo a área lesada, presença de tecido de granulação, tecido conjuntivo hialino e restos de tecido necrótico. H.E. (100X).

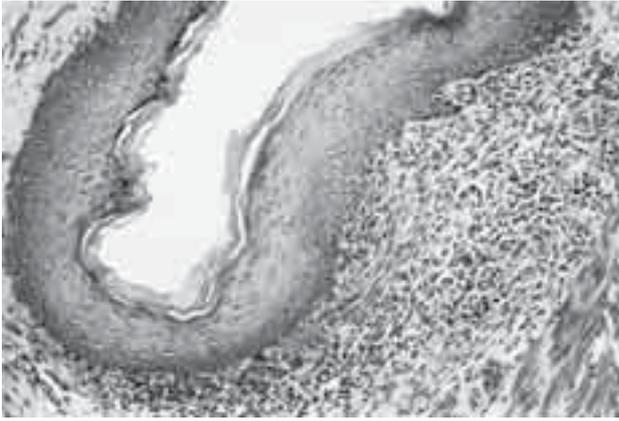


FIGURA 9 - Fotomicrografia de mucosa de rato, aos sete dias, irradiada com laser de CO₂ potência de 10 watts, onde se observam epitélio pavimentoso queratinizado com presença de tecido de granulação em menor quantidade, finas fibras colágenas adjacentes e fibras musculares com aspecto normal e disposição irregular. H.E. (200X).

DISCUSSÃO

A irradiação laser de dióxido de carbono com 10.6µm de comprimento de onda mostrou ser quase toda absorvida pelos tecidos irradiados, sendo diretamente convertida em energia térmica, levando os componentes aquosos à vaporização instantânea. Este fato é relevante para explicar os achados histológicos.

Observamos que as áreas irradiadas mostraram-se destruição tecidual devido aos efeitos da rápida vaporização e expansão dos líquidos extra e intracelulares envolvidos. Parte do tecido remanescente apresentou áreas com partículas de carbonização, não só na zona irradiada como nos tecidos adjacentes, relacionadas diretamente com as potências utilizadas. Por outro lado, a zona necrótica e o tecido de coagulação apresentaram-se estreitos quando do uso da potência baixa (2 watts), mostrando relação de proporcionalidade entre o grau de lesão dos tecidos e o aumento da potência, como observado por nós, estando em concordância com Duarte et al.⁶, 1984 e Fisher & Frame⁷, 1984.

A fina camada de colágeno desnaturado observada clinicamente na superfície da área irradiada nos primeiros tempos subseqüentes à irradiação, poderia agir como um curativo biológico impermeável, reduzindo o grau de irritação dos tecidos envolvidos. Segundo Fisher et al.⁸, 1983 e Frame¹⁰, 1985, a diferença marcante na extensão e intensidade do infiltrado inflamatório entre feridas realizadas com bisturi e a laser de CO₂, somada ao atraso na formação de fibrina sobre a superfície irradiada, suportam esta hipótese.

Segundo Fisher et al.⁸, 1983, a área irradiada requer um tempo mais longo para a re-epitelização,

porque a migração celular está comprometida pela ausência de contração da ferida, em conseqüência do pequeno número de miofibroblastos presentes. Nas feridas provocadas por bisturi, após a incisão, os miofibroblastos estão presentes em grande número, situando-se paralelamente à superfície, de tal maneira, que a contração no sentido de seu eixo longitudinal resulta em uma redução no tamanho do defeito. Ao contrário, quando usamos o laser de CO₂, observa-se um pequeno número de miofibroblastos, com distribuição sem uma orientação, o que leva a uma pequena contração da ferida. Os mesmos autores afirmam que este mecanismo encontra-se sem uma explicação científica conclusiva para os tecidos irradiados; provavelmente, seja resultado de um maior grau de irritação tecidual.

Segundo Hall¹², 1971 e Niccoli-Filho et al.¹⁵, 1997, um dos maiores inconvenientes apresentados pelo uso da radiação laser de dióxido de carbono é a possibilidade de iatrogênias, muitas vezes irreversíveis, proporcionadas pelo aumento da temperatura nos tecidos irradiados. Observamos que a potência de 2 watts mostrou resultado compatível com os princípios reparacionais desejados, como observado por Cechini⁴, 1995, Niccoli-Filho & Okamoto¹⁵, 1994, Clayman & Kuo⁵, 1997 e Bryant et al.², 1998.

A resposta fototérmica depende da temperatura, quantidade de água, composição e condições do tecido irradiado, sendo que o entendimento da interação destas variáveis não só aumenta nossa habilidade de prever a resposta tecidual após a irradiação, como também, contribui significativamente com nossos esforços em desenvolver parâmetros compatíveis com os procedimentos cirúrgicos.

Small et al.¹⁹, 1979, Catone & Alling³, 1997 e Friesen et al.¹¹, 1999 observaram um atraso no processo de reparo em feridas provocadas pela radiação laser de CO₂, quando comparadas às incisões com bisturi. Segundo estes autores, este fato relaciona-se com a demora na reabsorção do tecido carbonizado, diminuindo assim a atividade fibroblástica, formação do tecido de granulação e retardo do início da reepitelização, sendo a presença de tecido carbonizado, observada histologicamente em nossa pesquisa, a qual não foi observada nos tempos subseqüentes.

Concordamos com Niccoli-Filho¹³, 1995 que a resposta fotobiológica obtida pelo uso da radiação laser é resultado das mudanças fotoquímicas, fotofísicas e/ou fototérmicas produzidas pela absorção da radiação eletromagnética ionizada; e, desta forma, julgamos que o sistema de sensibilidade das células de um determinado tecido à radiação é produto de probabilidades, tais como, de que a luz laser, em um determinado comprimento de onda, venha a ser absorvida pelas células e que esta absorção cause mudanças químicas e/ou físicas, benéficas à célula, contribuindo para uma resposta biológica efetiva.

Nossos achados nos levam a concordar com Niccoli-Filho et al.¹⁶ 1999, que afirmaram que o laser de dióxido de carbono tem grande aplicabilidade na área de cirurgia buco maxilar, podendo realizar incisões com ausência de sangramento,

dissecção de retalhos, falta de necessidade de contato com a área operada, esterilização do campo, reparação compatível, desconforto pós-operatório mínimo, ausência de sutura e tempo de procedimento curto.

Acreditamos, com base em nossos estudos, que a potência de 2 watts é a que apresentou melhores resultados quanto a cronologia de reparo e segurança, em relação à possíveis iatrogênias de um aumento incompatível da temperatura na área irradiada.

Pela complexidade do assunto, acreditamos que o uso de tão sofisticada técnica merece novos experimentos, no intuito de estabelecermos protocolos cirúrgicos para diferentes aplicações nos tecidos bucais.

CONCLUSÕES

Fundamentados na nossa metodologia e nos resultados obtidos, julgamos poder concluir que:

a) o grupo de animais irradiados com 2 watts de potência (Grupo I) não apresentaram diferenças e/ou atraso significantes na cronologia de reparo, mostrando-se esta potência, adequada para o uso em mucosa;

b) animais irradiados com 7 e 10 watts (Grupos II e III) apresentaram comprometimento na cronologia de reparo, quando comparados ao grupo I.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARAK, S., KAPLAN, I. The CO₂ laser in the excision of gingival hyperplasia caused by nifedipine. **J Clin Periodontol**, v.15, n.10, p.633-5, 1988.
2. BRYANT, G.L. et al. Histologic study of oral mucosa wound healing: a comparison of a 6.0 to 6.8 mm pulsed laser and a carbon dioxide laser. **Laryngoscope**, v.108, n.1, p.13-7, Jan. 1998.
3. CATONE, G.A.; ALLING, C.C. **Laser applications in oral and maxillofacial surgery**. Philadelphia: W.B.Saunders, 1997. 307p.
4. CECCHINI, S.C.M. **Estudo *in vitro* das aplicações do laser de Hólmio:YLF em esmalte e dentina, visando à realização de cirurgia de acesso endodôntico e preparo cavitário**. 1995. 148f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo – São Paulo.
5. CLAYMAN, L.; KUO, P. **Lasers in maxillofacial surgery and dentistry**. New York:Thieme, 1997. 188p.
6. DUARTE, C.A. et al. Estudos dos efeitos biológicos do raio laser CO₂ sobre tecidos gengivais de ratos. **Rev Paul Odontol**, v.6, n.5, p.50-5, 1984.

7. FISHER, S.E.; FRAME, J.W. The effects of the carbon dioxide surgical laser on oral tissues. **Br J Oral Maxillofac. Surg.**, v.22, n.6, p.414-25, 1984.
8. FISHER, S.E. et al. A comparative histological study of wound healing following CO₂ laser and conventional surgical excision of canine buccal mucosa. **Arch Oral Biol**, v.28, n.4, p.287-91, 1983.
9. FRAME, J.W. Carbon dioxide laser surgery for benign oral lesions. **Br. Dent. J.**, v.158, n.4, p.125-8, Feb. 1985.
10. FRAME, J.W. Removal of oral soft tissue pathology with the CO₂ laser. **J Oral Maxillofac Surg**, v.43, p.850-5, 1985.
11. FRIESEN, L.R. et al. Laser irradiation of bone: II healing response following treatment by CO₂ and Nd:YAG lasers. **J. Periodontol.**, v.70, n.1, p.75-83, 1999.
12. HALL, R.R. The healing of tissues incised by a carbon dioxide laser. **Br J Surg**, v.58, n.3, p.222-5, Mar. 1971.
13. NICCOLI-FILHO, W. **Eficácia da radiação de dois diferentes tipos de laser de baixa energia (He-Ne e GaAIAs) na prevenção de mucosites orais em pacientes submetidos a transplante de medula óssea**. 1995. 62f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Odontologia

de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos – SP.

14. NICCOLI-FILHO, W., OKAMOTO, T. Effects of the helium-neon laser radiation on the healing extractions wounds: histologic study in rats. **J Laser Applic**, v.6, p.237-40, 1994.

15. NICCOLI-FILHO, W. et al. Intrapulpal temperature during continuous CO₂ laser irradiation in human molars: an *in vitro* study. **J Laser Applic**, v.9, n.6, p.291-4, 1997.

16. NICCOLI-FILHO, W. et al. Removal of epulis fissuratum associated to vestibuloplasty with carbon dioxide laser. **Lasers Med Sci**, v.14, p.203-6, 1999.

17. PATEL, C.K.N. Continuous-wave laser action on vibrational-rotational transitions of CO₂. **Phys Rev**, v.136, n.5A, p.1187-93, Nov. 1964.

18. PINHEIRO, A.L.B., FRAME, J.W. Laser em Odontologia. **Rev Gaúcha Odontol**, v.40, n.5, p.327-32, set./out. 1992.

19. SMALL, I.A. et al. Observation of carbon dioxide laser and bone osteotomy of the rabbit tibia. **J Oral Surg**, v.37, n.3, p.159-66, Nov. 1979.