

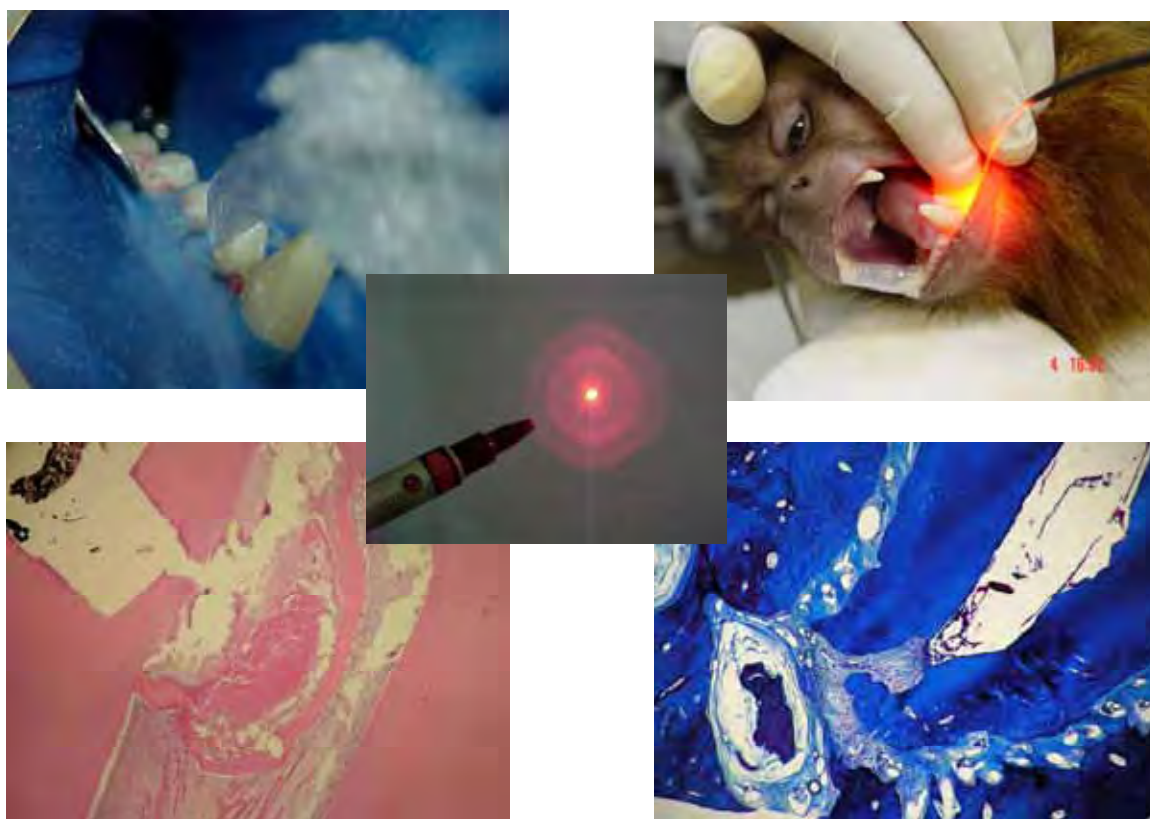


UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Fernando Simões Crisci

***Efeito do laser de baixa intensidade na
polpa e nos tecidos apicais e periapicais
em dentes de macaco***



Araraquara
2008



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Fernando Simões Crisci

***Efeito do laser de baixa intensidade na
polpa e nos tecidos apicais e periapicais
em dentes de macaco***

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Odontologia - Área de
Endodontia da Faculdade de Odontologia de
Araraquara, da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho, para
obtenção do título de Doutor em Endodontia.**

Orientadora:

Prof^a. Dra. Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho

Araraquara
2008

Crisci, Fernando Simões.

Efeito do laser de baixa intensidade na polpa e nos tecidos apicais e periapicais em dentes de macaco / Fernando Simões Crisci . – Araraquara: [s.n.], 2008.

117 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador : Profa. Dra. Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho

1. Capeamento da polpa dentária 2. Terapia a laser de baixa intensidade 3. Hidróxido de cálcio 4. Endodontia 5. Cimento de óxido de zinco e eugenol I. Título

Fernando Simões Crisci

***Efeito do laser de baixa intensidade na
polpa e nos tecidos apicais e periapicais
em dentes de macaco***

Comissão Julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor

Presidente e Orientadora: Prof^a. Dra. Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho

2º Examinador: Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert

3º Examinador: Prof. Dr. Welington Dinelli

4º Examinador: Prof. Dr. Manoel Damião de Souza Neto

5º Examinador: Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho

Araraquara, 05 de Setembro de 2008

Dados Curriculares

FERNANDO SIMÕES CRISCI

NASCIMENTO 10.07.1972 – Araraquara/SP

FILIAÇÃO Marcos Henrique Crisci
Dulce Simões Crisci

1990/1994 Curso de Graduação
Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP)

1995/1996 Curso de Especialização em Endodontia - Escola de
Aperfeiçoamento Profissional da Associação Paulista de
Cirurgiões-Dentistas - Regional de Araraquara

2000/2002 Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de
Mestrado, Faculdade de Odontologia de Araraquara -
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

2004/2008 Professor Responsável - Disciplina de
Métodos Diagnóstico, Curso de Odontologia,
Centro Universitário de Araraquara – UNIARA

2005/2008 Professor Responsável - Disciplina de
Endodontia, Curso de Odontologia, Centro
Universitário de Araraquara - UNIARA
de Araraquara

- 2005/2008** Professor Coordenador do Curso de Especialização em Endodontia ABO – Pouso Alegre
- 2005/2008** Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de Doutorado, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
- 2006/2008** Professor da Disciplina de Dentística, Curso de Odontologia, Centro Universitário de Araraquara - UNIARA
- 2006/2008** Professor Responsável - Disciplina de Clínica Integrada, Curso de Odontologia, Centro Universitário de Araraquara - UNIARA
- 2006/2008** Professor do Curso de Especialização em Endodontia - Escola de Aperfeiçoamento Profissional da Associação Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas – Regional Araraquara
- 2007/2008** Professor da Disciplina de Diagnóstico Bucal, Curso de Odontologia, Centro Universitário de Araraquara - UNIARA
- 2008/2008** Vice-Coordenador do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário de Araraquara - UNIARA

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, ***Marcos e Dulce***, por me darem a vida, por me ensinarem a vivê-la com dignidade, pelo amor incondicional que sempre me deram e por todas as vezes que renunciaram a si mesmos, para que eu pudesse realizar os meus sonhos. É simplesmente impossível expressar toda importância de vocês na minha vida. Amo vocês.....

Aos meus sobrinhos ***Bruno e Luca***, anjinhos que caíram do céu, que encham de alegria nossas vidas e que a distância não permite estar sempre com vocês. Beijos do “Tio Maluco”.

Ao meu irmão ***Marquinhos***, por compartilhar sua vida com a minha, pelo carinho, amizade e exemplo de luta. Continue sempre assim, você vai longe.

A minha avó ***Ruth Ramos Rodrigues Crisci***, exemplo de pessoa e de vida.

Aos meus avós ***Henrique Crisci, “Glória” e “Veio”***, saudades.

A minha sogra **Bete**, pessoa amável que me recebeu e me trata como um filho em seu lar e em sua vida. Obrigado pelo respeito, carinho e confiança que você me deposita.

As minhas cunhadas **Paula e Ana Paula**, pelo carinho, confiança, amizade e por hoje fazerem parte da minha família.

A toda minha **Família**, tios, tias, primos e em especial você “Zirdão”, obrigado por tudo que vocês sempre fizeram e fazem por mim.

Ao **Prof. Dr. Ariano Penteado Simões Filho**, que tão cedo deixou o convívio dos homens, deixando como exemplo a determinação, a honestidade, à vontade de viver, a capacidade de trabalho, o espírito científico, a amizade que sempre dedicou a todos e por tudo que fez em prol da Faculdade de Odontologia de Araraquara. A ele minha saudade e minha eterna gratidão

In Memoriam

Á minha querida esposa **Juliana**

Quantas palavras eu precisaria para descrever você. Você foi mais que um presente na minha vida. Encheu-me de esperança, paz e carinho. Você é meu porto seguro, uma pessoa em quem confio e me entrego, por que você só me traz felicidades. Gostaria de tê-la para sempre em minha vida. Amo você

Agradecimentos Especiais

A ***DEUS***, por sempre estar iluminando os caminhos a serem seguidos.

A ***Profa. Dra. Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho***, orientadora, amiga e “Tia”, pela presença, pela confiança, pelas incontáveis manifestações de carinho, pela amizade, pelas considerações, pelos estímulos constantes e pela valiosa e precisa orientação na realização deste trabalho.

Ao ***Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert***, amigo e “irmão”, que através de seus gestos, atitudes e sabedoria formou um discípulo e admirador; pelas suas orientações profissionais e pessoais; pelas incontáveis manifestações de carinho, amizade e considerações em todos esses anos de convívio; e pela valiosa e precisa orientação na realização deste trabalho.

Ao ***Prof. Dr. Welington Dinelli***, amigo e conselheiro, pela confiança depositada em meu trabalho e pessoa, pelo apoio, incentivo e por me tratar como um filho.

Ao ***Prof. Dr. Romeu Magnani***, pela consideração com que sempre me atendeu e pela grande contribuição na execução da análise estatística dos resultados desta pesquisa.

Aos ***amigos do Núcleo de Procriação do Macaco Prego, Claudinha, Junqueira, Arnaldo*** e em especial ***Prof. Dr. José Américo de Oliveira***, meu muito obrigado pela atenção, amizade e pelos momentos compartilhados.

Meu muito obrigado

Agradecimentos

À *Faculdade de Odontologia de Araraquara*, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, na pessoa do atual *Exmo. Diretor, Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla* e *Exma. Vice-Diretora, Profa. Dra. Andréia Affonso Barreto Montandon*.

Ao *Programa de Pós-Graduação em Odontologia*, área de Endodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

Aos *Professores da Disciplina de Endodontia* da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, *Dr. Roberto Miranda Esberard, Dr. Idomeo Bonetti Filho, Dr. Renato de Toledo Leonardi, Dr. Mário Tanomaru Filho e Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert*, meu respeito pelo aprendizado, companheirismo, amizade e atenção que sempre me dedicaram.

Ao *Professor Dr. Mário Roberto Leonardo*, humano, sensível, sensato, um pesquisador, um orientador, um grande líder formador de discípulos.

Ao Professor *Dr. Jayme Maurício Leal (In Memoriam)*, pelo aprendizado, companheirismo, amizade e atenção que sempre me dedicou.

Ao *Prof. Dr. Alceu Berbert*, pela consideração com que sempre me tratou, pela amizade e conselhos. Que Deus continue a iluminar seu caminho.

A todos os *Professores do Programa de Pós-Graduação*, pelos conhecimentos, apoio e amizade a mim dedicados.

Ao *Departamento de Morfologia*, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, - UNESP, em especial ao funcionário e amigo *Pedro Sérgio Simões*, pela amizade e profissionalismo na execução do processamento histológico.

Aos *funcionários da Seção de Pós-Graduação*, da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, especialmente a *Mara, Rosângela, Flávia e Alexandre*, pela disponibilidade e paciência.

Aos *funcionários da Biblioteca* da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Odete, Marlei, Ceres, Cidinha, Cristina, Silvia, Inês, Eliane e Adriano, em especial a sua diretora **Maria Helena Matsumoto Komasti Leves**, pela amizade e dedicação que sempre me trataram.

Aos *funcionários da Disciplina de Endodontia* da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, *Célia, Marinho e Pedro*, pela amizade, apoio, convívio, companheirismo e colaboração.

Aos *alunos do Programa de Pós-Graduação* na área de Endodontia, pelos momentos divididos, pelo convívio prazeroso e por sua amizade.

A *Celidalva Neres Moreira*, pela amizade, sinceridade, convivência do dia a dia e ajuda prestada na execução dessa pesquisa.

Ao **Prof. Henrique Somenzari Neto**, amigo, companheiro do dia a dia como Professor da UNIARA, companheiro de Doutorado, com quem convivi e aprendi muito, com seu jeito de ser. Saudades.....

Aos **Professores Thais, Flávia, Rogério, Webe e Lelo** companheiros de disciplina com os quais passamos horas agradáveis ensinando nossos alunos.

Ao amigo **Cláudio Tita**, pela convivência, sinceridade, amizade, além de ser meu companheiro em todas as disciplinas da UNIARA, saiba que a cada dia aprendo um pouquinho com você.

Aos meus **alunos** pela confiança e por estarem sempre me ensinando algo.

Ao amigo **Hermes Pretel**, pela contribuição e pelo tanto que me ajudou, somando e multiplicando conhecimentos na Ciência e pesquisas desenvolvidas em prol dos que precisam de nós.

Ao amigo **Frank Ikeda**, pela amizade e contribuição na execução dessa pesquisa.

A todas aquelas pessoas, que de alguma forma ou por algum momento tenham ajudado para que pudesse concluir o curso de Doutorado em Endodontia.

Aos **animais** utilizados nessa pesquisa, meu profundo respeito.

Em especial a aqueles que tem sido exemplos vivos do verdadeiro significado da palavra **amigo**, em todos os momentos.

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
INTRODUÇÃO	14
PROPOSIÇÃO	24
CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1	25
CAPÍTULO 2 – ARTIGO 2	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
REFERÊNCIAS	110
ANEXOS	117

Crisci FS. Efeito do laser de baixa intensidade na polpa e nos tecidos apicais e periapicais em dentes de macaco [tese doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito do laser de baixa intensidade diodo semiconductor de arseneto de gálio e alumínio em exposições pulpares induzidas e nos tecidos apicais e periapicais após tratamento endodôntico em dentes de macacos. Nas exposições pulpares, foi avaliado efeito do laser infra-vermelho associado ao hidróxido de cálcio, variando o tempo de aplicação, onde utilizou-se quatro macacos, totalizando 24 dentes, distribuídos em quatro grupos experimentais: Grupo I: Laser 2,5 segundos (dentes incisivos), Grupo II: Laser 40 segundos (dentes incisivos), Grupo III: Laser 40 segundos (dentes pré-molares) e Grupo IV: Controle sem Laser (dentes pré-molares), por um período de 55 dias. Quanto ao efeito do laser sobre a agressividade tecidual do cimento endodôntico óxido de zinco e eugenol (OZE), após tratamento endodôntico nos tecidos apicais e periapicais, foi comparando o laser vermelho com o infravermelho, utilizando quatro macacos, totalizando 24 dentes, distribuídos em três grupos experimentais: Grupo I (Laser Vermelho), Grupo II (laser Infra-Vermelho) e Grupo III (Controle: Sem Laser), por um período de 22 dias. Decorrido os períodos experimentais de cada estudo, os animais foram mortos, os dentes ou peças removidas e preparadas para análise histológica. De acordo com a proposta e as condições específicas deste trabalho, os resultados nos permitem concluir que nas exposições pulpares, a irradiação com laser infra-vermelho (40 segundos) diminuiu a reação inflamatória e induziu a organização tecidual, bem como na formação da barreira mineralizada, apresentando diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p < 0,05$), tendo como melhor resultado a irradiação com laser infra-vermelho (40 segundos), já nos tecidos apicais e periapicais a irradiação com laser infra-vermelho estimulou as células do periodonto de sustentação, induzindo a reparação periapical, apresentando diferença estatística não significante entre grupos ($p > 0,05$) para a reação inflamatória e organização tecidual e diferenças estatísticas não significantes entre grupos ($p > 0,05$) para contagem das células, a irradiação com laser infra-vermelho é indicada como terapia coadjuvante ao tratamento endodôntico.

Palavras-chave: Capeamento da polpa dentária; terapia a laser de baixa intensidade; hidróxido de cálcio; endodontia; cimento de óxido de zinco e eugenol.

Crisci FS. Effect of the laser of low intensity in the pulp and in apical and periapical tissue in teeth of monkey [tese doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of the laser of low intensity diode semiconductor of gallium aluminum arsenide in exposed pulp induced in apical and periapical tissues after endodontic treatment in teeth of monkeys. In the exposed pulp, the effect of the laser infra-red associated to the hydroxide of calcium was evaluated varying the time of application, being used 04 monkeys, totaling 24 teeth, distributed in four experimental groups: Group I: Laser 2,5 seconds (incisive teeth), Group II: Laser 40 seconds (incisive teeth), Group III: Laser 40 seconds (premolar teeth) and Group IV: Control without Laser (premolar teeth), for a period of 55 days. As for the effect of the laser on the tissue aggressiveness of the endodontic zinco oxide and eugenol (OZE) sealer, after endodontic treatment o in the apical and Periapical tissues, the red laser was compared with the laser infra-red, using 04 monkeys, totaling 24 teeth, distributed in 03 experimental groups: Group I (Red Laser), Group II (Infra-red laser) and Group III (it Controls: Without Laser), for a period of 22 days. After the experimental periods of each study, the animals were killed, the teeth or pieces were removed and prepared for histological analysis. In agreement with the proposal and the specific conditions of this study work, the results allow to conclude us that in exposed pulp infra-red laser irradiation (40 seconds.) reduced the inflammatory reaction and induced the tissue organization, as well as the mineralized barrier formation and in apical and periapical tissues infra-red laser irradiation stimulated the cells of the periodontal tissue inducing periapical repair.

Keywords: Dental pulp capping; laser therapy, low-level; calcium hydroxide; endodontics; zinc oxide-eugenol cement.

INTRODUÇÃO

A palavra LASER é uma expressão abreviada do termo **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation (Luz Amplificada por Emissão Estimulada de Radiação)^{7,35,41,42}.

A tecnologia do laser tem seu início em 1917, quando Einstein¹⁶ formulou a teoria da “Emissão Estimulada”, afirmando que a emissão estimulada de radiação é causada pela presença de um fóton indutor de energia interagindo com um átomo em seu estado excitado, resultando na liberação de dois fótons induzidos^{7,35,40,41,42,52}.

Em 1954, Schawlow, Townes⁴⁷ colocando em prática o princípio da emissão estimulada, conseguiu estimular o gás amônia a produzir um feixe de microondas por meio de um campo elétrico, criando o **M**icrowave **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation (MASER)^{7,35,41,42,52}. Em 1958, Schawlow, Townes⁴⁷ demonstraram que era possível usar o princípio do MASER para produzir luz visível. Era o nascimento do laser. Dois anos mais tarde (1960), Maiman³⁴ criou o primeiro equipamento capaz de emitir raios laser, usando um cristal de rubi que gerava luz vermelha^{7,17,19,35,41,42,52}.

Os lasers são classificados em lasers de alta e baixa intensidade, sendo que o que vai diferenciá-los é o tipo do meio ativo (sólido, líquido, gasoso e misto), que resulta em diferentes tipos de radiação e respectivos efeitos sobre o tecido irradiado⁴¹.

O laser de alta intensidade, também conhecido como, laser de alta potência ou laser cirúrgico ou **H**igh-**I**ntensity **L**aser **T**reatment (HILT), emite alta intensidade de potência e é indicado para procedimentos cirúrgicos e remoção de tecido cariado^{7,41,42}.

O laser de baixa intensidade, também conhecido como, laser de baixa potência ou laser não-cirúrgico ou soft laser ou LILT (**L**ow-**I**ntensity **L**aser **T**reatment), emite baixa intensidade de potência, não remove tecido e age sobre as moléculas^{7,41,52}.

Dentre os lasers de baixa intensidade vamos encontrar o laser vermelho com comprimento de onda de 670 nm e o laser infra-vermelho com comprimento de onda de 785 nm, sendo diferenciados pela profundidade de penetração, em que o laser vermelho possui uma atuação mais superficial em relação ao infra-vermelho^{11,26}.

O comprimento de onda (λ) é a distância percorrida por uma onda em sua oscilação completa, medida em m e a frequência de suas oscilações em Hertz (Hz). O comprimento de onda pode variar desde o infravermelho até os raios cósmicos e segundo seu meio ativo, onde é gerada a radiação. O comprimento de onda é de fundamental importância na interação laser-tecido. Cada comprimento de onda, portanto, terá um tipo diferente de interação segundo o tecido alvo²⁷.

Entre os lasers de baixa intensidade encontramos o laser de Arseneto de Gálio-Alumínio (As-Ga-Al), que é um laser semiconductor na forma

de um diodo, com excitação produzida por uma corrente elétrica e possui comprimento de onda de 688 nm (vermelho) e 785 nm (infravermelho próximo)⁵².

De um modo geral, o laser de baixa intensidade tem uma série de indicações, e pode ser usado isoladamente ou como coadjuvante para vários tipos de tratamentos, sempre que se necessite de um efeito local ou ainda quando se necessite de um efeito terapêutico geral^{9,33}, devido à sua ação analgésica, antiinflamatória, antiedematosa, bioestimuladora e indutora de reparo tecidual³³.

Na Odontologia o laser de baixa intensidade, vem sendo utilizado na potencialização do processo de reparo nos quadros de pós-operatório e cicatrização de tecido mole, tecido ósseo e nervoso (Garcia et al.¹⁸, 1996); nos quadros de edema instalado (onde se busca uma mediação do processo inflamatório) e nos quadros de dor crônica e/ou aguda (Almeida-Lopes¹, 2004).

Karu et al.²⁶, em 2004, relatam que as células têm um determinado limiar de sobrevivência, dependendo do tecido a qual pertence e também do seu estado fisiológico. Ao se utilizar o laser com a intenção de respeitar esse limiar de determinada célula, oferecemos uma baixa intensidade de energia, que será utilizada por ela de maneira a estimular todos os seus componentes membranosos e ou suas mitocôndrias. Dessa forma estaremos induzindo essa célula à biomodulação, ou seja, a célula trabalhará buscando um estado de normalização da região afetada, neste caso o laser trabalhará em baixa densidade de potência.

Quanto as aplicações clínicas em Odontologia temos: durante e após a execução de preparos cavitários³³, nos procedimentos periodontais^{10,25,36},

pós implantes³³, no pós operatório de cirurgias orais menores^{2,8,44}, antes de anestesia^{33,42}, na hipersensibilidade dentinária⁴², em úlcera aftosa recorrente^{8,24,42}, em herpes simples³³, em nevralgia do trigêmeo^{33,43}, na síndrome de dor e disfunção da ATM^{21,43}, para dor no tratamento ortodôntico²², na endodontia após instrumentação^{15,49}, no capeamento pulpar direto^{12,33} e pulpotomia^{33,45}.

Com o desenvolvimento do LASER, surge um novo aliado no tratamento conservador da polpa e também no tratamento endodôntico quanto a agressividade tecidual do cimento de óxido de zinco e eugenol nos tecidos apicais e periapicais em uma biopulpectomia, devido às suas propriedades analgésica, cicatrizante, antiinflamatória e de indução de reparo^{12,33}.

A polpa dental apresenta-se inicialmente como um tecido conjuntivo mucoso, tipo embrionário, que evolui gradativamente para tecido conjuntivo frouxo, chegando, por vezes, na senilidade, a apresentar prevalência de fibras colágenas (tecido conjuntivo denso). Como todo tecido conjuntivo de qualquer parte do nosso organismo, a polpa dental apresenta uma elevada capacidade reparativa, curando-se com facilidade, desde que colocada em condições favoráveis³².

Alterações pulpaes podem ser desencadeadas por diversos fatores, sendo que, na maioria das vezes, a remoção do agente etiológico será o suficiente para seu retorno à normalidade. Assim, diante de tais alterações, as vantagens na manutenção deste tecido são óbvias, porém dependentes do correto diagnóstico, que nos confirmará a oportunidade do tratamento conservador.

O capeamento pulpar direto consiste na cobertura ou proteção da

área exposta da polpa dental com um material que possibilite nova formação de tecido mineralizado, bem como manutenção de sua vitalidade e funções normais¹³. Ele é indicado quando há uma pequena exposição acidental da polpa, ocorrendo dilaceração tecidual seguida de hemorragia³²

O hidróxido de cálcio é o material de eleição para o capeamento pulpar^{38,39,50,53}, devido ao seu mecanismo de ação provocar a estimulação e reparo pulpar, neutralização da acidez da camada de dentina desmineralizada, promoção da remineralização e manutenção da vitalidade pulpar em casos de exposição¹⁴. Em 1883, Hunter relatou o uso de fezes de pardal inglês (continha resíduos de hidróxido de cálcio) misturadas com melado, para uso em capeamento pulpar⁴⁸. Entretanto, o hidróxido de cálcio foi introduzido na Odontologia por Nygreen³⁷ em 1838, sendo que o primeiro material devidamente controlado, à base de hidróxido de cálcio (Calxyl), foi indicado por Hermann em 1920, segundo De Deus¹³.

Com a finalidade de melhorar o efeito do hidróxido de cálcio sobre o tecido pulpar, algumas drogas são utilizadas em associação com o mesmo. As drogas associadas, segundo os vários autores, são: água destilada e corticosteróide (acetato de prednisolona) (Holland et al.²³, 1978); corticosteróide/antibiótico (acetato de prednisolona adicionado a nitrofurazona) (Russo et al.⁴⁶, 1982); corticosteróide/antibiótico por 48 horas, água e soro fisiológico (Aydos³, 1985); polietileno glicol 400, óxido de zinco mais polietileno glicol 400, e óxido de zinco mais carboximetilcelulose (Giro et al.²⁰, 1994) e resina de Copaíba, polietileno glicol 400 (Bandeira⁵, 1998).

Na tentativa de substituir o hidróxido de cálcio e suas associações, Wilder-Smith⁵⁴ (1988), realizando estudo em humanos utilizando o laser de baixa intensidade antes e após capeamento pulpar direto com cimento de hidróxido de cálcio, encontrou condições favoráveis durante os dois meses de período de observação.

Crisci¹² em 2002, associando o laser de baixa potência ao hidróxido de cálcio no capeamento pulpar encontrou resultados favoráveis quanto ao efeito anti-inflamatório aos sete dias e a formação de tecido minerallizado aos 30 dias, sendo que essa associação com três aplicações do laser gerou um colapso residual.

De acordo com Lopes, Brugnera³³ (1998), na indicação do capeamento pulpar direto, deve-se realizar as manobras rotineiras e, antes de colocar o material de capeamento, aplica-se o laser de baixa intensidade de forma pontual diretamente sobre a região a ser tratada utilizando uma dosimetria entre 2 a 3 J/cm².

O tratamento endodôntico de uma biopulpectomia consiste no tratamento do canal radicular de dentes com vitalidade pulpar, tendo como princípios fundamentais manutenção da cadeia asséptica, a limpeza e atribuição de uma forma cônica ao canal radicular (modelagem), a utilização de soluções irrigadoras biologicamente compatíveis, assim como, e conseqüentemente, a preservação da vitalidade do coto pulpar e dos demais remanescentes vivos do sistema de canal radicular³⁰.

Atualmente, a Endodontia é dividida em fases, que devem ser tratadas com mesma importância e atenção, pois são atos operatórios interdependentes entre si, e que a falha em uma dessas fases pode levar ao insucesso endodôntico³¹.

Dentre essas fases temos a obturação dos canais radiculares, onde devemos preencher todo o espaço anteriormente ocupado pela polpa dental, com um material que promova um selamento o mais hermético possível, que seja inerte aos tecidos e que possuam boas propriedades biológicas. Assim sendo, o material obturador não pode prejudicar e sim estimular o processo de reparo apical e periapical pós-tratamento endodôntico³¹.

O tratamento endodôntico tem como finalidade a remoção dos agentes físicos, químicos ou biológicos prejudiciais aos tecidos apicais e periapicais e que conseqüentemente a esta eliminação, permitirão ao organismo recuperar sua condição de normalidade fisiológica, ou seja, reparar os tecidos lesados³¹.

Dentre os requisitos para um material obturador ideal o mesmo deve possuir propriedades biológicas e físico-químicas, ou seja, boa tolerância tecidual, ser reabsorvível no periápice em casos de extravasamento acidental, estimular o reparo apical e periapical, estimular ou permitir a deposição de tecido mineralizado a nível foraminal, ter ação antimicrobiana, não ser mutagênico ou carcinogênico, ser de fácil inserção, permitir um selamento o mais hermético possível do canal radicular, boa viscosidade e aderência, ser radiopaco, ser de fácil remoção dentre outras³⁰.

Na obturação dos canais radiculares, os materiais de escolha são: em estado sólido (cones de guta-percha e/ou cones de resinas) e em estado plástico (cimentos obturadores)³¹.

Na Endodontia encontramos cimentos obturadores com diferentes composições, ou seja, o cimento à base de óxido de zinco e eugenol (OZE); cimento à base de resina epóxica; cimento à base de hidróxido de cálcio; cimento à base de silicone, cimento à base de ionômero de vidro, cimento à base de polímero de mamona e cimento à base de MTA.

Em 1936 Grossman introduziu no mercado o cimento OZE, que nos dias atuais, ainda são utilizados com grande difusão e frequência pelos diversos países e com diferentes marcas comerciais. Este cimento apresenta boas propriedades físico-químicas, no entanto não apresenta biocompatibilidade, sendo irritante aos tecidos apicais e periapicais. O potencial irritante do material obturador tem influência direta e significativa no reparo tecidual após o término do tratamento de canais radiculares, o cimento OZE apresentou infiltrado inflamatório severo quando comparado com ao cimento à base de hidróxido de cálcio Sealapex (Tanomaru Filho et al.⁵¹, 1998). O comportamento do cimento OZE não é adequado aos tecidos, levando à agressão, atribuída à presença de eugenol livre. Quanto aos resultados das reações histológicas do cimento à base de óxido de zinco e eugenol (OZE), foi comprovado que o eugenol é citotóxico (Langeland et al.²⁹, 1969, resultando em reações adversas em animais experimentais e humanos, provoca dermatite de contato (Barkin et al.⁶, 1984), e reação alérgica verdadeira (Koch et al.²⁸, 1973; Barkin et al.⁶, 1984).

Araújo⁴ 2008, avaliando histologicamente o efeito do laser de baixa intensidade (LBI) na resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos ao implante dos tubos com cimento Endofill à base de óxido zinco e eugenol (OZE), encontrou como resultado um tecido conjuntivo que reagiu de forma mais favorável ao Endofill quando submetido ao laser de baixa intensidade, especialmente o laser infravermelho, no decorrer do período pós-operatório de 30 dias, minimizando o efeito irritante oferecido pelo cimento, porém sem diferença estatística significativa; o tecido evidenciou maior presença de fibrose e menor número de mastócitos, com diferença estatística significativa.

O cimento à base de óxido de zinco e eugenol (OZE) é um material de baixo custo e de fácil aquisição que vem sendo utilizado em grande escala pelo mundo e também no Brasil. Portanto a idéia de buscar um recurso que vise minimizar a resposta tecidual ao efeito irritante deste cimento ainda é bastante pertinente nos dias atuais, sendo o laser uma opção a ser testada.

Apesar do crescente número de aparelhos Laser lançados no mercado nacional e internacional, são poucas as pesquisas sobre a eficácia e segurança no uso dessa tecnologia no tratamento conservador da polpa e também no tratamento endodôntico. Assim, algumas indagações permanecem sem resposta tais como: Qual a forma correta de aplicação dos mesmos quanto ao tempo de aplicação. Qual o melhor laser a ser aplicado para cada tipo de tratamento. Será que há diferença entre a profundidade de penetração entre o laser baixa intensidade vermelho e infra-vermelho. A aplicação exagerada do mesmo pode

comprometer os seus resultados. Será que há diferentes resultados entre as diferentes marcas de aparelhos.

PROPOSIÇÃO

OBJETIVO GERAL

Avaliar histologicamente o efeito do laser de baixa intensidade diodo semiconductor de arseneto de gálio e alumínio no reparo tecidual e formação de barreira de tecido mineralizado em exposições pulparez induzidas e também nos tecidos apicais e periapicais após tratamento endodôntico em dentes de Macacos-Prego (*cebus apella libidinosus*):

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Esta tese foi dividida em dois capítulos que correspondem a dois artigos científicos:

Capítulo 1: Avaliar histologicamente os efeitos antiinflamatório, de reparo tecidual e de formação de barreira de tecido mineralizado elaborado por células após capeamento pulpar direto com a pasta de hidróxido de cálcio somente ou associado ao laser diodo semiconductor de Arseneto de Gálio-Alumínio com comprimento de onda 785 nm (infra-vermelho), com variações nos tempos de aplicação (2,5 e 40 segundos), em dentes de macacos.

Capítulo 2: Avaliar histologicamente o efeito antiinflamatório e reparador do laser de baixa intensidade vermelho e infra-vermelho em relação ao efeito irritante, oferecido pelo cimento endodôntico Endo Fill (à base de óxido de zinco eugenol) em obturação do canal radicular realizadas em dentes de macacos.

***Resposta tecidual de exposições pulpares
em dentes de macacos-prego com variações
nos tempos de aplicação do laser de baixa
intensidade associado ao capeamento com
hidróxido de cálcio****

CAPÍTULO 1

* Artigo a ser submetido para publicação

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito do laser de baixa intensidade diodo semicondutor de arseneto de gálio e alumínio (GaAlAs, com comprimento de onda de 785 nm, Infra-vermelho, com potência de emissão de 50 mW, densidade de energia de 2 J/cm², em emissão contínua, por meio de ponta especial de fibra óptica), com variações nos tempos de aplicação do mesmo, em relação a resposta tecidual de exposições pulpares em dentes de macacos. Foram utilizados incisivos centrais e laterais superiores e primeiros, segundos e terceiros pré-molares inferiores de quatro macacos, totalizando 24 dentes, que foram distribuídos em quatro grupos experimentais: Grupo I: Hidróxido de cálcio + Laser 2,5 segundos (incisivos), Grupo II: Hidróxido de cálcio + Laser 40 segundos (incisivos), Grupo III: Hidróxido de cálcio + Laser 40 segundos (pré-molares) e Grupo IV: Controle (Hidróxido de cálcio sem Laser) (pré-molares). Decorrido o período experimental de 55 dias, os animais foram mortos, os dentes ou peças removidas e preparadas para análise histológica. De acordo com a proposta e as condições específicas deste trabalho, os resultados nos permitiu concluir que a irradiação com laser infra-vermelho (40 segundos) diminuiu a reação inflamatória e induziu a organização tecidual, bem como na formação da barreira mineralizada, apresentando diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p < 0,05$), tendo como melhor resultado a irradiação com laser infra-vermelho (40 segundos).

Palavras-chave: Capeamento da polpa dentária; terapia a laser de baixa intensidade; hidróxido de cálcio.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of the laser of low intensity diode semiconductor of gallium aluminum arsenide (GaAlAs, with wavelength of 785 nm, Infra-red, with potency of emission of 50 mW, energy density of 2 J/cm², with continuous emission, through special tip of optic fiber), with variations in the times of application of the laser, in relation to tissue answer in expose pulp induced in teeth of monkeys. Four monkeys were used, being them the central incisors and lateral superiors and the first, seconds and third inferior premolar, totaling 24 teeth, that were distributed in four experimental groups: Group I: Hydroxide of calcium + Laser 2,5 seconds (incisive), Group II: Hydroxide of calcium + Laser 40 seconds (incisive), Group III: Hydroxide of calcium + Laser 40 seconds (premolar) and Group IV: Control (Hydroxide of calcium without Laser) (premolar). After the experimental period of 55 days, the animals were killed, the teeth or pieces were removed and prepared for histological analysis. In agreement with the proposal and the specific conditions of this study, the results allow to conclude us that infra-red laser irradiation (40 seconds) reduced the inflammatory reaction and induced the tissue organization, as well as the mineralized barrier formation presenting significant statistical differences among the groups ($p < 0,05$), tends as better result the irradiation with infra-red laser (40 seconds)

Keywords: Dental pulp capping; laser therapy, low-level; calcium hydroxide.

INTRODUÇÃO

A palavra LASER é uma expressão abreviada do termo **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation (Luz Amplificada por Emissão Estimulada de Radiação)^{15,23,26}.

Os lasers são classificados em lasers de alta e baixa intensidade, sendo que o que vai diferenciá-los é o tipo do meio ativo (sólido, líquido, gasoso e misto), que resulta em diferentes tipos de radiação e respectivos efeitos sobre o tecido irradiado^{8,20}.

O laser de baixa intensidade, também conhecido como, laser de baixa potência ou laser não-cirúrgico ou soft laser ou LILT (**L**ow-**I**ntensity **L**aser **T**reatment), emite baixa intensidade de potência, não remove tecido e age sobre as moléculas^{8,20}.

De um modo geral, o laser de baixa intensidade tem uma série de indicações, e pode ser usado isoladamente ou como coadjuvante para vários tipos de tratamentos, sempre que se necessite de um efeito local ou ainda quando se necessite de um efeito terapêutico geral^{2,37}, devido à sua ação analgésica, antiinflamatória, antiedematosa, bioestimuladora e indutora de reparo tecidual¹⁴.

Com o desenvolvimento do LASER, surge uma nova alternativa no tratamento conservador da polpa devido às suas propriedades analgésica, cicatrizante, antiinflamatória e de indução de reparo tecidual^{3,8,16,20}.

Alterações pulpareas podem ser desencadeadas por diversos fatores, sendo que, na maioria das vezes, a remoção do agente etiológico será o

suficiente para seu retorno à normalidade. Assim, diante de tais alterações, as vantagens na manutenção deste tecido são óbvias, porém dependentes do correto diagnóstico, que nos confirmará a oportunidade do tratamento conservador.

O capeamento pulpar direto consiste na cobertura ou proteção da área exposta da polpa dental com um material que possibilite nova formação de tecido mineralizado, bem como manutenção de sua vitalidade e funções normais⁴.

O hidróxido de cálcio é o material de eleição para o capeamento pulpar, devido ao seu mecanismo de ação provocar a estimulação e reparo pulpar, neutralização da acidez da camada de dentina desmineralizada, promoção da remineralização e manutenção da vitalidade pulpar em casos de exposição⁶.

Com a finalidade de melhorar o efeito do hidróxido de cálcio sobre o tecido pulpar, algumas drogas foram associadas, ou seja, água, eugenol, Formagem, Creasil e formocresol (Russo, Holland²⁹, 1974); prednisolona (Deltacortril) mais um composto nitrofurânico (Furacin Oto-solução) (Francischone⁷, 1978); água destilada e prednisolona mais Furacin Oto-solução mais xilocaina (Mello et al.²¹, 1983); polietileno glicol 400, iodofórmio mais polietileno glicol 400 e óxido de zinco mais polietileno glicol 400 (Oliveira et al.²⁴, 1988); Ledermix mais soro fisiológico e soro fisiológico (Sazak et al.³⁰, 1996) e corticosteróide (Decradon) e corticosteróide/antibiótico (Otosprin) (Oliveira²⁵, 2000).

Na tentativa de substituir o hidróxido de cálcio e suas associações, Wilder-Smith³⁸ em 1988, realizando estudo em humanos utilizando o laser de baixa intensidade antes e após capeamento pulpar direto com cimento de

hidróxido de cálcio, encontrou condições favoráveis durante os dois meses de período de observação.

Crisci³ em 2002, associando o laser de baixa potência ao hidróxido de cálcio no capeamento pulpar encontrou resultados favoráveis quanto ao efeito anti-inflamatório aos sete dias e a formação de tecido minerallizado aos 30 dias, sendo que essa associação com três aplicações do laser gerou um coláps residual.

O objetivo deste trabalho foi de avaliar histologicamente os efeitos antiinflamatório, de reparo tecidual e de formação de barreira de tecido mineralizado elaborado por células após variações nos tempos de aplicação (2,5 e 40 segundos) do laser diodo semiconductor de Arseneto de Gálio-Alumínio com comprimento de onda 785 nm (infra-vermelho), associado ao capeamento pulpar direto com a pasta de hidróxido de cálcio em dentes de macacos.

MATERIAL E MÉTODO

Este estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, Ofício CEEA-FO/Ar nº 55/2003 (Anexo 1).

Para o experimento foram utilizados 04 Macacos-Prego (*cebus apella libidinosus*) machos com 08 anos de idade e peso aproximado de 5 Kg, do Núcleo de Procriação de Macaco-Prego do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Utilizamos os Incisivos

centrais e laterais superiores e os primeiros, segundos e terceiros pré-molares inferiores, totalizando 24 dentes, que foram distribuídos em 4 grupos com período experimental de 55 dias.

O procedimento operatório foi realizado inicialmente com sedação do animal com éter sulfúrico em câmara de sedação (Figura 1A) e posteriormente submetidos à anestesia geral, obtida por meio de injeção intraperitoneal de tiopental sódico (Thionembutal - Abbot Laboratórios do Brasil Ltda. – RJ, Brasil) na dosagem de 30 mg/kg de peso corporal e injeção intramuscular de diazepínico (Diazepan – Furp) na dosagem de 0,12 mg/kg de peso corporal (Figura 1B).

Foi realizada raspagem e polimento dental com pedra pomes, água e taça de borracha, a seguir foi efetuado o isolamento absoluto com dique de borracha (Figuras 1C e 1D), colocação de um mantenedor de abertura bucal (Figura 1D) e anti-sepsia do campo operatório com Clorexidina a 2%.

Todo o instrumental e material utilizados nos procedimentos operatórios foram esterilizados em autoclave a 120°C, por 20 minutos.

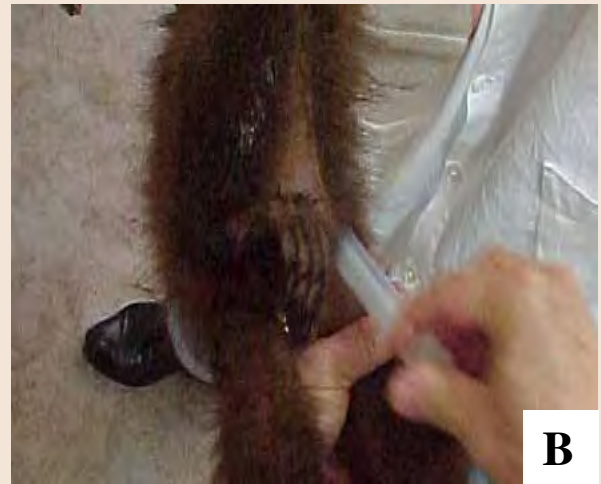
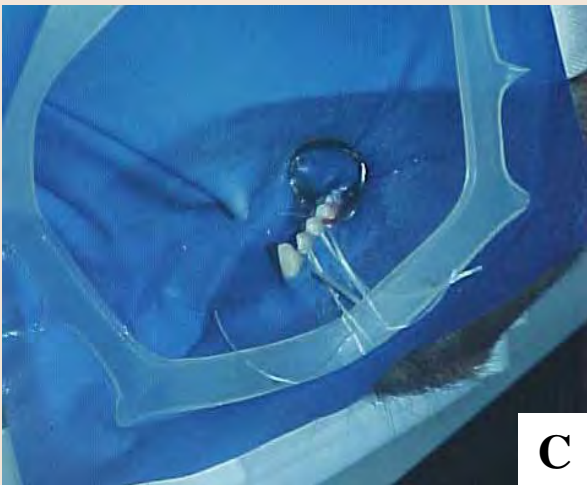
**A****B****C****D**

FIGURA 1 - Câmara de sedação (A), anestesia do animal (B) e isolamento absoluto com dique de borracha para os dentes pré-molares superiores (C) e incisivos superiores (D).

Em seguida, cavidades circulares profundas foram preparadas na face palatina dos incisivos centrais e laterais e na região cervical da face vestibular dos pré-molares (Figura 2A), com pontas diamantadas cônica invertida (Ponta diamantada 1033 - KG Sorensen, SP, Brasil) montadas em turbina de alta rotação com abundante refrigeração ar/água. A fresa foi substituída por uma nova a cada 06 preparos cavitários. A profundidade foi padronizada pelo comprimento de 1,2 mm de ponta ativa da fresa. Porém, quando foi observada, por transparência, uma coloração rósea no assoalho do preparo cavitário, indicando a proximidade da polpa, o procedimento clínico foi interrompido. A cavidade preparada foi irrigada com soro fisiológico para a remoção das raspas de dentina e, em seguida, foi empregada uma sonda nº5 (Figura 2B) que promoveu a exposição mecânica do tecido pulpar (Figura 2C), sem, no entanto, penetrar no interior da polpa coronária, evitando-se assim, a dilaceração tecidual que poderia dificultar o processo de reparação, interferindo nos resultados da pesquisa. A hemorragia proveniente da exposição pulpar foi contida através de irrigação com soro fisiológico e cuidadosa compressão utilizando-se pontas de papel absorvente estéril (Tanari - Tanariman Industrial Ltda., AM, Brasil) (Figura 2D).

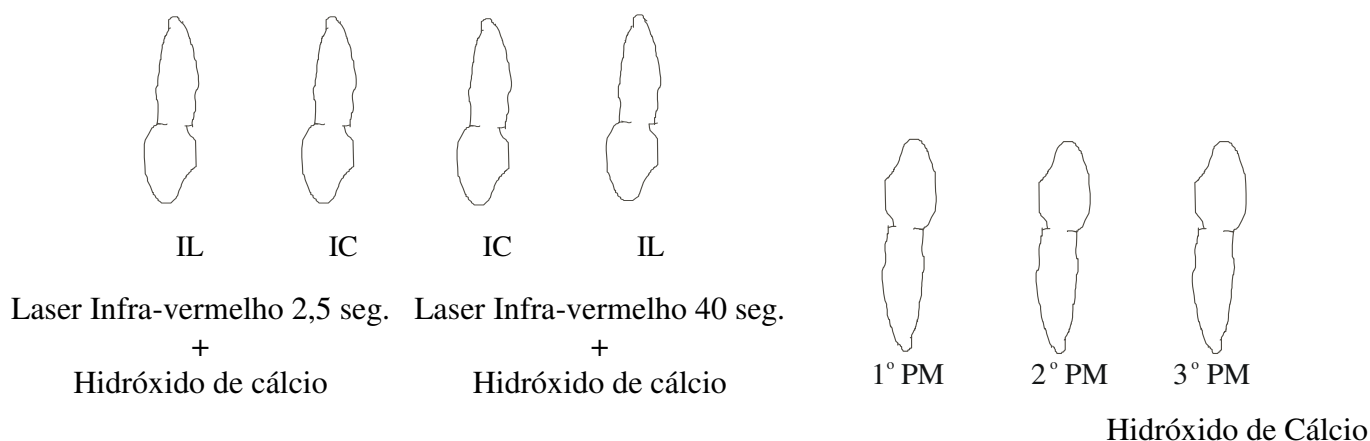


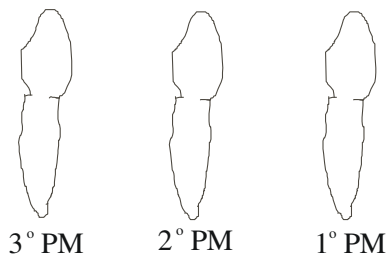
FIGURA 2 - Preparos de cavidades classe V região cervical da face vestibular dos pré-molares (A), seguida de exposição pulpar por meio de sonda exploradora nº 5 (B), exposições mecânicas do tecido pulpar (C) e contenção da hemorragia com cuidadosa compressão utilizando-se cone de papel absorvente estéril (D).

Quadro 1 - Distribuição dos números e tipos de dentes utilizados de acordo com os grupos experimentais

Legendas: IS - Incisivo superior
PMI – Pré-molar inferior

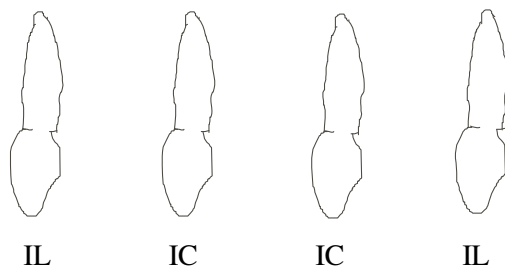
Animal 1:





Hidróxido de Cálcio

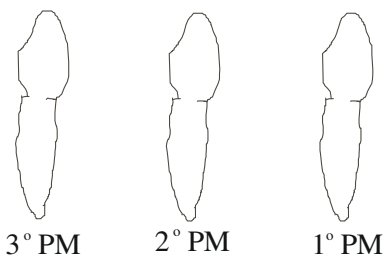
Animal 2:



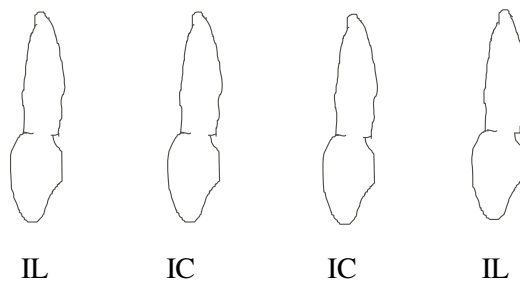
Laser Infra-vermelho 40 seg.
+
Hidróxido de cálcio

Laser Infra-vermelho 2,5 seg.
+
Hidróxido de cálcio

Animal 3:



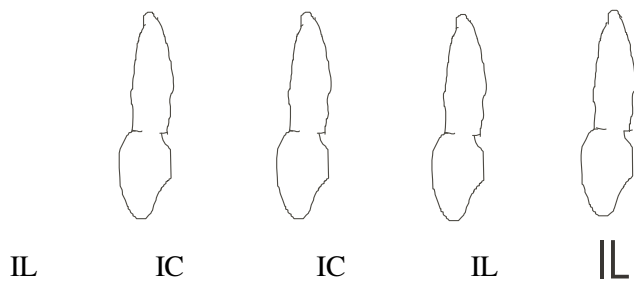
Laser Infra-vermelho 40 seg.
+
Hidróxido de cálcio



Laser Infra-vermelho 2,5 seg.
+
Hidróxido de cálcio

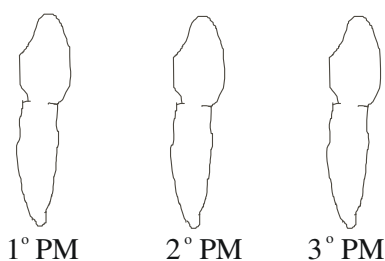
Laser Infra-vermelho 40 seg.
+
Hidróxido de cálcio

Animal 4:



Laser Infra-vermelho 40 seg.
+
Hidróxido de cálcio

Laser Infra-vermelho 2,5 seg.
+
Hidróxido de cálcio



Laser Infra-vermelho 40 seg.
+
Hidróxido de cálcio

Em todos os grupos (Quadro 1), as exposições receberam aplicações diretas de uma camada de hidróxido de cálcio pró-análise (PA) (Biodinâmica Química e Farmácia Ltda., PR, Brasil) em soro fisiológico (Esquemas 1A, 1B e Figura 3A) manipulada na proporção de 15 mg de hidróxido de cálcio P.A. para 20 µl de água destilada, que após remoção de seus excessos com auxílio de uma sonda exploradora, receberam aplicação do cimento de hidróxido de cálcio (Hidro-C – Dentsply Ind. E Com. Ltda., RJ, Brasil) (Esquemas 1A, 1B e Figura 3B) e restauração definitiva de amálgama de prata (Esquemas 1A, 1B, Figuras 3C e 3D).

Nos Grupos I, II e III (Quadro 1), antes das aplicações diretas com a camada de hidróxido de cálcio P.A. em soro fisiológico (Esquemas 1A, 1B e Figura 3A), as exposições pulpares receberam irradiação com o laser de baixa intensidade infra-vermelho (Laser Beam Multi Laser DR 500 - Laser Beam, Indústria e Tecnologia Ltda., RJ, Brasil) (Esquemas 1A, 1B e Figuras 4A e 4B), colocando-se a ponta do aparelho em contato direto com a exposição pulpar (face palatina para os incisivos e vestibular para os pré-molares) por um período de tempo de 2,5 segundos (Grupo I) determinado mediante a fórmula $DE = Pxt/S^{3,8}$ e Crisci⁸ e por um período de tempo de 40 segundos (Grupo II e III) determinado de acordo com o automático do aparelho, ambos com uma dosimetria de 2 J/cm^2 , de acordo com Crisci³, 2002.

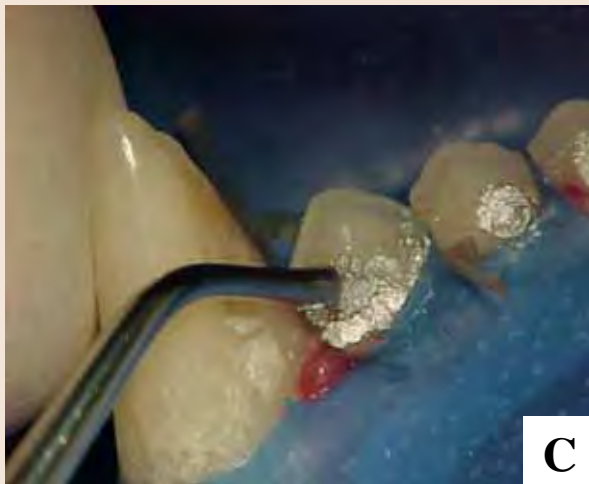
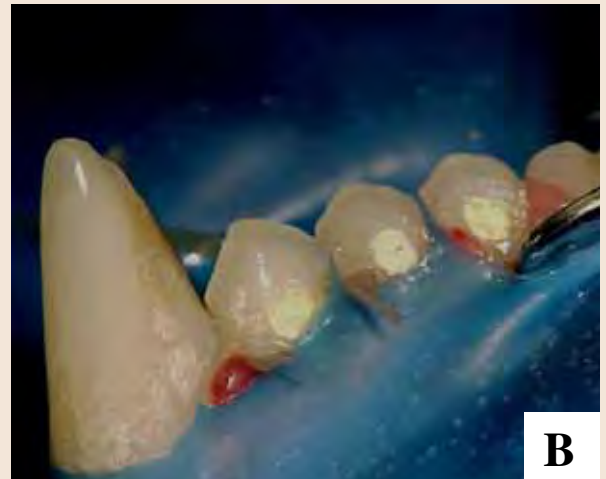


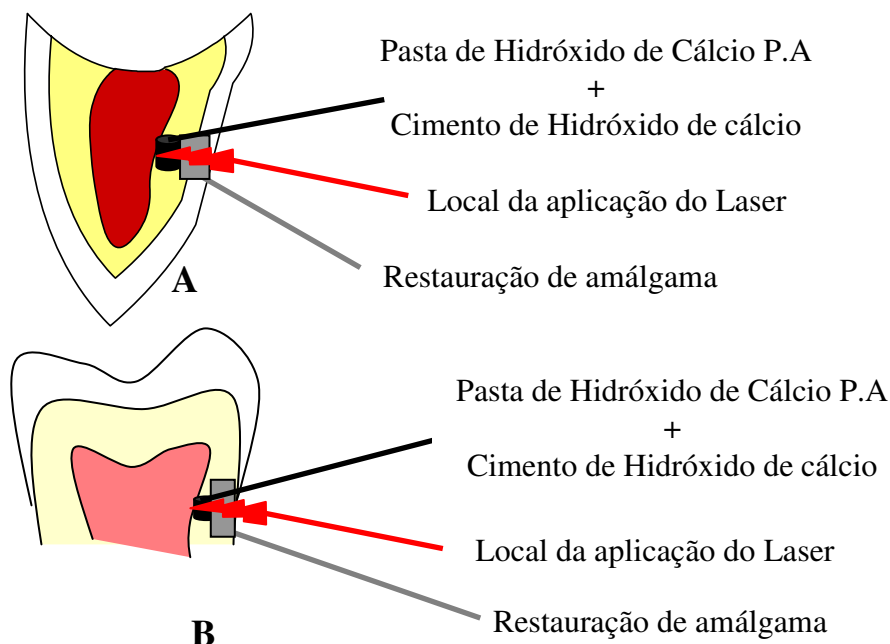
FIGURA 3 - Aplicação direta de uma camada de hidróxido de cálcio PA em soro fisiológico (A), seguida da aplicação de um cimento de hidróxido de cálcio (B) e restauração definitiva de amálgama de prata nos pré-molares (C) e incisivos com cimento de hidróxido de cálcio e iniciando a colocação de amálgama no ILSE (D).



FIGURA 4 - Aplicação do laser de baixa intensidade infra-vermelho, sobre as exposições pulpaes: nos incisivos (A) e nos pré-molares (B).

A Unidade Laser de baixa intensidade utilizada no experimento foi a Laser Beam Multi Laser DR 500 (Laser Beam, Indústria e Tecnologia Ltda., Niterói, RJ, Brasil), com as seguintes características:

- Semicondutor Diodo de Arseneto de Gálio-Alumínio (As-Ga-Al)
- Infravermelho com comprimento de onda 785 nm
- Potência de emissão de 50 mW
- Densidade de potência de 250 mW/cm²
- Tensão de alimentação: 110V ou 220V
- Emissão contínua
- Ponta especial de fibra óptica



Esquema 1 - Local da aplicação do Laser, do material capeador e da restauração com amálgama nos incisivos (A) e pré molares (B).

Após a remoção do isolamento absoluto, os animais foram mantidos em observação até total recuperação.

Durante todo o decorrer do experimento, os mesmos foram mantidos em gaiolas individuais, no biotério do núcleo de procriação de macacos-prego, até completar o período experimental. O estado geral dos animais foi avaliado diariamente.

Decorrido o período de 55 dias, os animais foram novamente sedados (Figura 1A) e anestesiados (Figura 1B), conforme descrito anteriormente e seus incisivos foram extraídos (Figura 5A), para obtenção dos pré-molares, realizamos a perfusão sanguínea, para remoção (Figura 5B) e redução (Figura 5C) das mandíbulas para serem submetidos à tramitação laboratorial para processamento histológico.

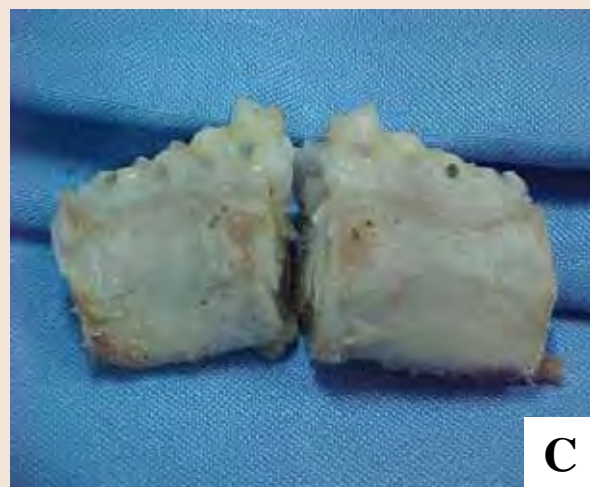


FIGURA 5 - Extração dos incisivos superiores (A) e remoção (B) seguida da redução (C) das mandíbulas para os macacos que sofreram perfusão sanguínea.

Processamento histológico

Os dentes e as peças (mandíbulas reduzidas) foram removidos e imersas em formol de Lillye a 10% tamponado (pH 7,2), permanecendo em processo de fixação por 96 horas¹³. Após as primeiras 24 horas, as peças foram recortadas com o auxílio de disco diamantado, de forma a individualizar cada dente, juntamente com o tecido ósseo adjacente. Estes foram devidamente identificados e fixados por mais 72 horas. A seguir, as peças foram lavadas em água corrente durante 24 horas, imersas em descalcificador de Morse com trocas a cada três dias até a completa descalcificação que ocorreu em um período aproximado de quatro meses. As peças foram armazenadas em cassetes identificados e permaneceram suspensas na solução descalcificadora. Após completa descalcificação, as peças foram neutralizadas em solução de sulfato de sódio durante 24 horas. Em seguida realizou-se o processamento para inclusão em parafina. Os dentes passaram por processo de desidratação em álcoois crescentes (70%, 90% e absoluto), diafanização em xilol, embebição em parafina, confecção do bloco e microtomia em micrótomo rotatório, obtendo-se cortes semi-seriados no sentido do longo eixo dos dentes, com 6µm de espessura^{3,25}.

Coloração

Todo o material foi corado em hematoxilina-eosina para análise morfológica e pelo Tricrômico de Masson para análise da substância intercelular fibrosa^{3,25}.

Análise histológica

A análise das lâminas foi realizada com o auxílio de microscópio óptico comum e os seguintes eventos histológicos foram avaliados: Inflamação Celular, Organização Tecidual e Formação de Tecido Mineralizado, Adaptados das normas da ISO¹¹. Estes eventos histológicos foram graduados como descrito nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1- Escores atribuídos ao evento **Inflamação Celular**

Escore	Caracterização
1	Ausência de Inflamação
2	Inflamação Discreta
3	Inflamação Moderada
4	Inflamação Intensa

Tabela 2 – Escores atribuídos ao evento **Organização Tecidual**

Escore	Caracterização
1	Tecido Normal
2	Organização Odontoblástica
3	Desorganização Celular
4	Necrose

Tabela 3 – Escores atribuídos ao evento **Formação de Tecido Mineralizado**

Escore	Caracterização
1	Espessura Acentuada
2	Discreta ou Moderada
3	Com Células Incorporadas
4	Ausência de Barreira

Análise Estatística

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para a comparação entre os grupos experimentais quanto aos escores dos eventos histológicos. O coeficiente de correlação de Spearman foi usado para avaliar o grau de associação entre os eventos histológicos. Adotou-se o nível de significância de 5% para a tomada de decisões.

RESULTADOS

Análise Histológica

Grupo I: Laser Infra-Vermelho (2,5 seg.) incisivo - 55 dias

Na visão geral ocorreu a formação de barreira mineralizada adjacente ao capeamento (Figura 6A). No conjuntivo pulpar ocorreu diminuição do número de células e aumento da substância intercelular amorfa, os vasos sanguíneos apresentaram ligeira congestão de células no seu interior, sendo que, a camada odontoblástica apresentou-se normal, porem ligeiramente distanciados uns dos outros. A camada de pré-dentina apresentou-se pouco delimitada (Figura 6B). Encontramos a formação de barreira mineralizada ao longo da exposição pulpar, com células incorporadas no seu interior (barreira osteóide) (Figura 6C), com menor número de células nas porções laterais da barreira. Pela coloração TM, em uma visão geral, temos uma barreira mineralizada formada adjacente ao capeamento (Figura 6D). Observou-se que ao redor das células rarefeitas há uma concentração de fibrilas colágenas preenchendo a substância intercelular e não se observou a camada de pré-dentina junto aos odontoblastos (Figura 6E). Encontramos a presença da barreira mineralizada rica em fibras colágenas, coradas em azul e presença de células no seu interior (Figura 6F).

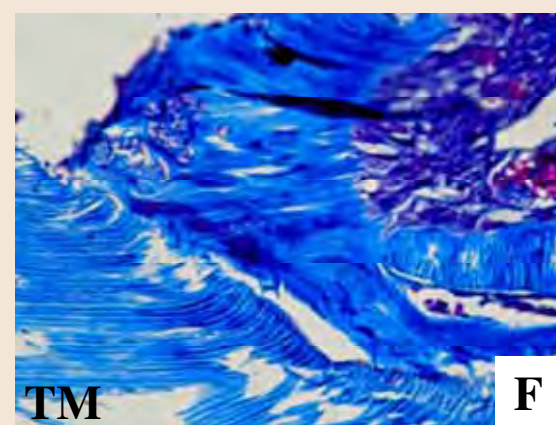
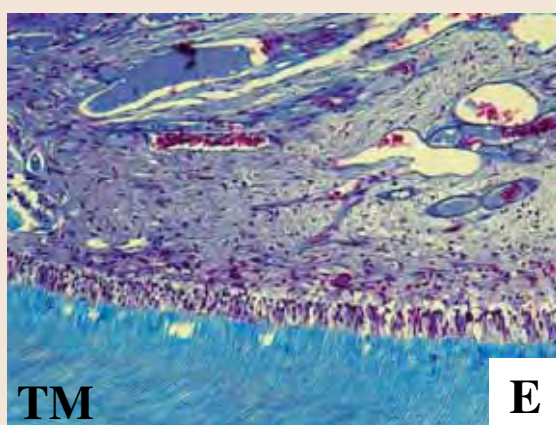
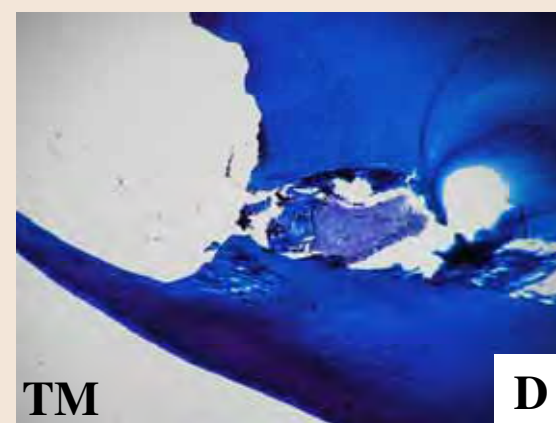
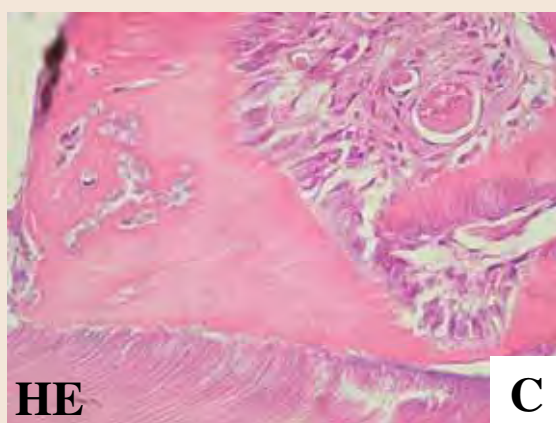
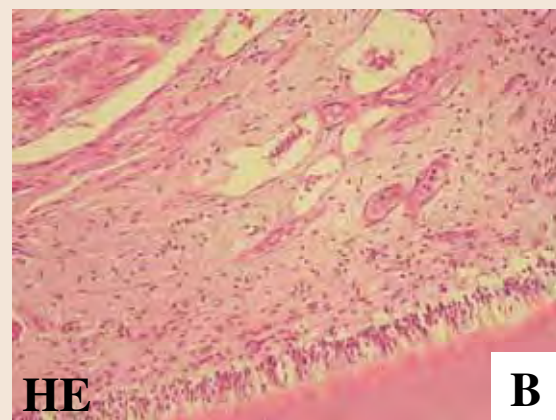


FIGURA 6 - Visão geral da barreira mineralizada, 40X (A). Polpa com rarefação celular, 200X (B). Barreira mineralizada com células incorporadas, 400X (C). Visão geral da barreira mineralizada, 40X (D). Neoformação das fibrilas junto as células pulpare, 200X (E). Barreira mineralizada rica em fibras, 400X (F).

Grupo II: Laser Infra-Vermelho (40 seg.) incisivo - 55 dias

Encontramos uma barreira mineralizada formada adjacente ao capeamento, visão geral (Figura 7A). As células da polpa apresentaram aspectos normais, ligeiramente rarefeitas com hiperemia dos vasos sanguíneos, acompanhadas da camada odontoblástica de aspecto normal, os vasos sanguíneos e linfáticos ligeiramente dilatados (Figura 7B). A barreira encontrada é constituída por fibras colágenas (Figura 7C)., densamente empacotadas com células abrigadas no seu interior e sua porção lateral formada em continuidade com a dentina canalicular. Analisando pela coloração TM, apresentou uma barreira mineralizada corada em azul (Figura 7D). As células da polpa apresentam uma rarefação celular acompanhada de hiperemia vascular (Figura 7E). A barreira apresenta-se fortemente corada, constituída por fibras colágenas, fortemente condensadas e observa-se a presença de inclusões celulares no interior da barreira além de ilhas de aumento da mineralização, sendo que a porção lateral da barreira está em contato com a dentina canalicular (Figura 7E).

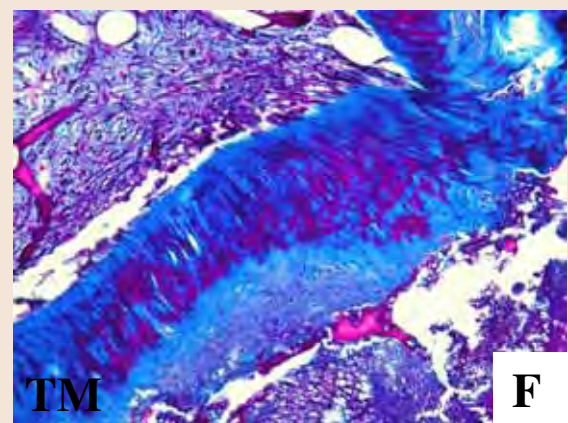
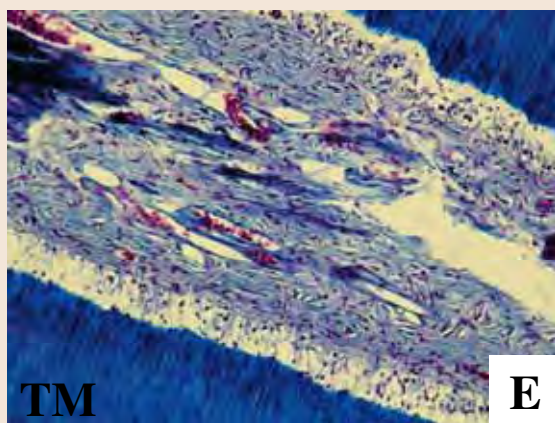
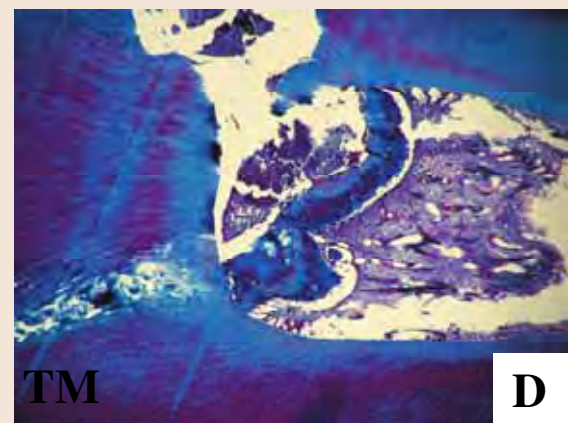
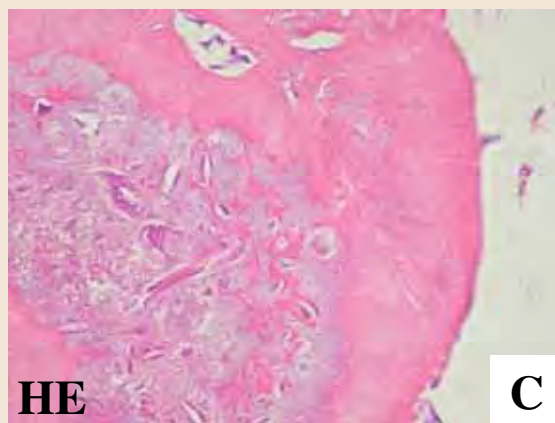
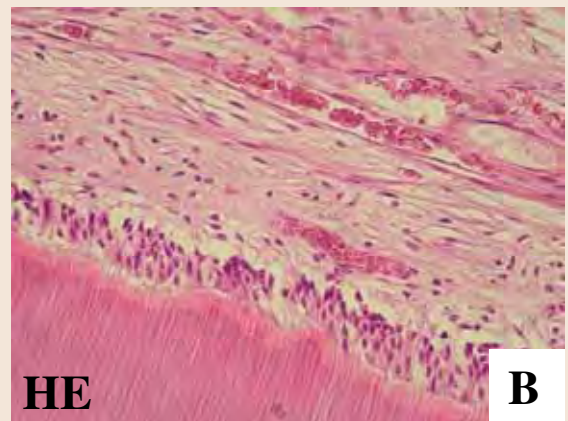
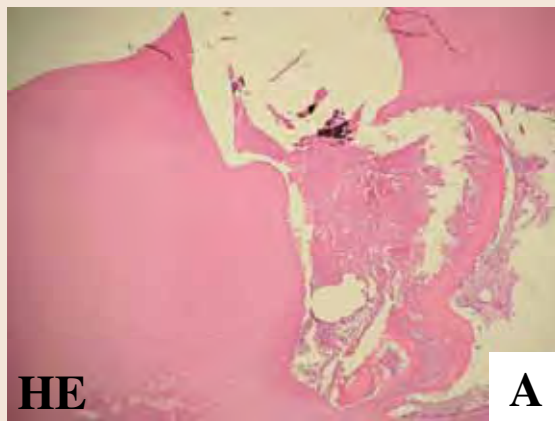


FIGURA 7 - Visão geral da barreira mineralizada, 40X (A). Dilatação vascular e células de aspecto normal, 200X (B). Barreira com muitas fibras, 400X (C). Visão geral da barreira mineralizada, 40X (D). Rarefação celular e hiperemia vascular, 200X (E). Inclusões celulares na barreira, 400X (F).

Grupo III: Laser Infra-Vermelho (40 seg.) Pré-molar- 55 dias

Quanto a uma visão geral, temos uma barreira mineralizada formada adjacente ao capeamento (Figura 8A). As células pulpares encontraram-se distribuídas de forma homogênea. A inflamação é pouco evidente e os vasos sanguíneos encontram-se distribuídos na camada sub odontoblástica e na porção média da polpa, aqui ligeiramente hiperemiados e de aspecto normal. Os odontoblastos formam uma faixa contínua ao longo da pré-dentina e o aspecto celular é normal (Figura 8B). A barreira formada é espessa, recobre toda a exposição pulpar, apresenta células no seu interior formando tecido osteóide e observamos nas porções laterais ou proximais do dente que o tecido mineralizado da barreira se continua com a parede dentinária lateral (Figura 8C). Pela análise das lâminas coradas pelo TM, observou-se as células pulpares concentradas ao longo do conjuntivo pulpar, os vasos sanguíneos com ligeira hiperemia e os odontoblastos constituindo uma camada celular homogênea ao longo da pré-dentina. Os prolongamentos odontoblásticos são bem visíveis quando corados pelo T.M., bem como são evidentes os fibroblastos pulpares (Figura 8D). Houve presença de inclusões celulares no interior da barreira, bem como, a presença dos odontoblastos ao longo da superfície pulpar da barreira (Figura 8E).

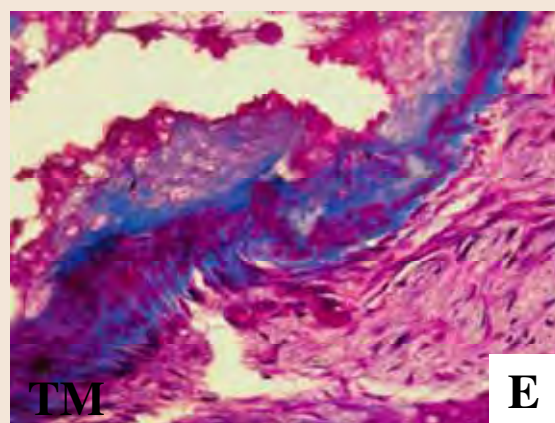
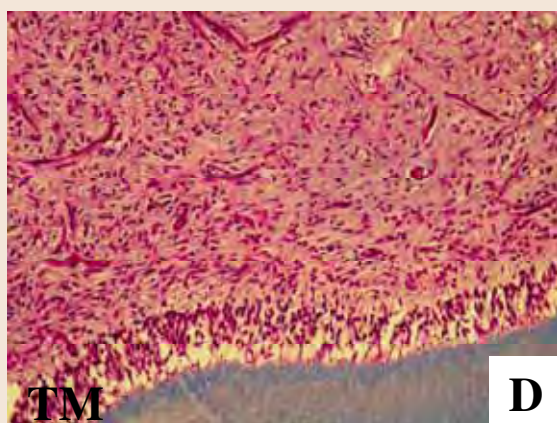
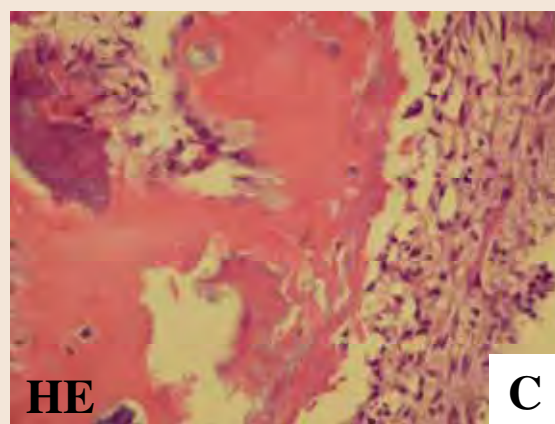
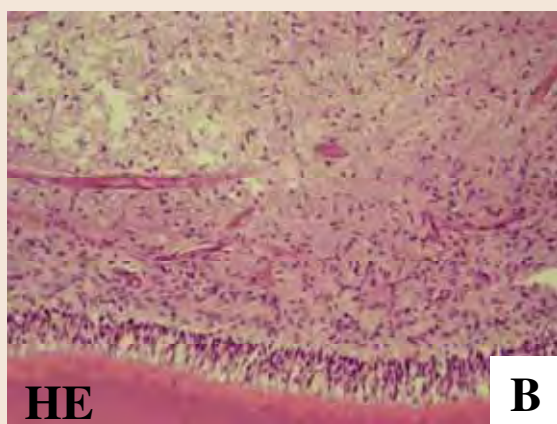
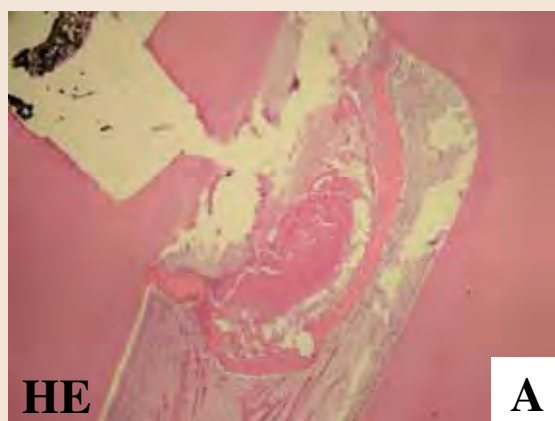


FIGURA 8 - Visão geral da barreira mineralizada, 40X (A). Distribuição homogênea das células, 200X (B). Espessa barreira recobrendo a exposição, 400X (C). Concentração de células e ligeira hiperemia vascular, 200X (D). Inclusões celulares no interior da barreira, 400X (E).

Grupo IV: Controle Pré-molar - 55 dias

Por uma visão geral, verificamos a presença da barreira mineralizada formada adjacente ao capeamento (Figura 9A). As células da polpa apresentaram-se organizadas e dispostas no tecido conjuntivo, delimitando a camada média da polpa ocupada por vasos sanguíneos. Os odontoblastos formaram espessa camada ao longo da pré-dentina, sendo que, as células mais numerosas são os fibroblastos (Figura 9B). A barreira formada ao longo da exposição era espessa com inclusões celulares ocasionais e a parede pulpar apresentou-se preenchida por células odontoblásticas e suas porções laterais se continuam com as paredes dentinárias laterais ou proximais (Figura 9C). Pelo T.M., os odontoblastos apresentam-se bem organizados e é visível os vasos sanguíneos localizados na porção média da polpa (Figura 9D). A barreira apresentou-se com duas tonalidades de coloração que demonstra os diferentes graus de mineralização da mesma, sendo que, a porção central apresenta-se com alto teor mineral (Figura 9E).

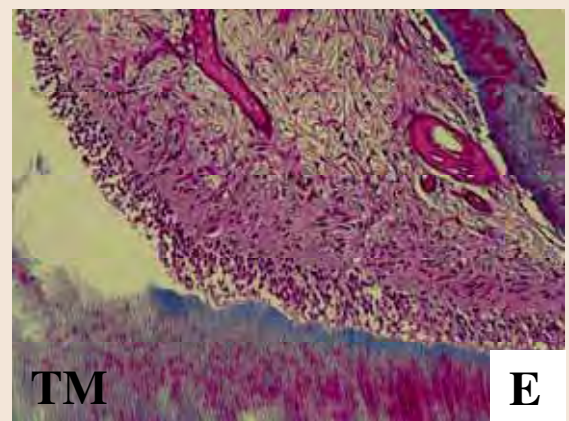
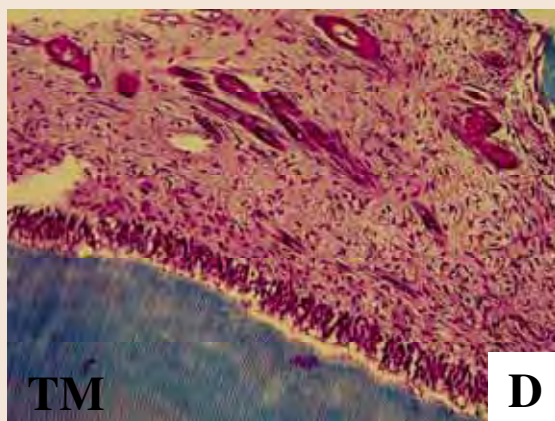
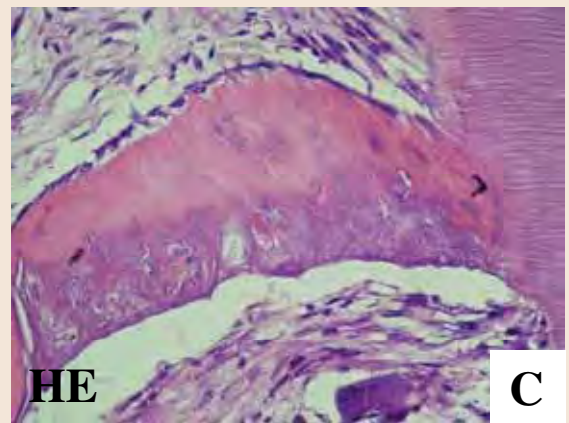
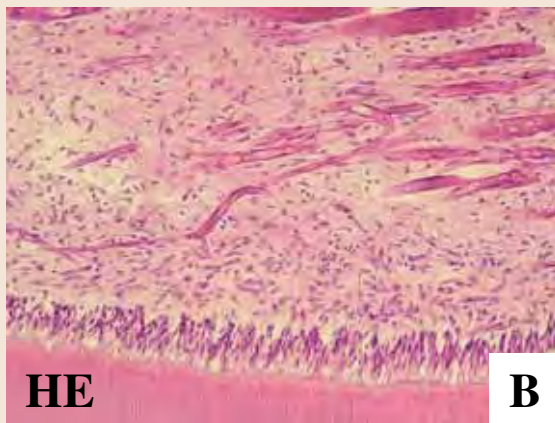
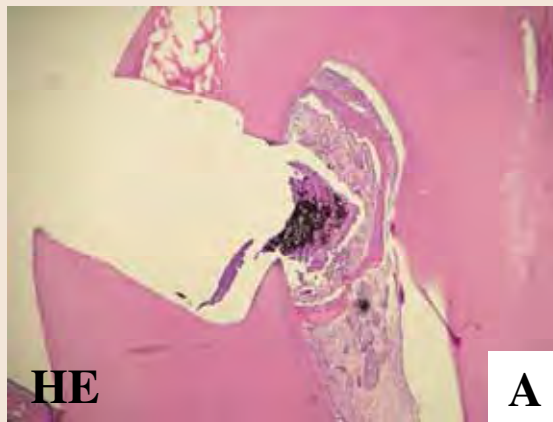


FIGURA 9 - Visão geral da barreira mineralizada, 40X (A). Células pulpare organizadas, 200X (B). Espessa barreira com inclusões celulares ocasionais, 400X (C). Organização celular e hiperemia vascular leve, 200X (D). Diferentes graus de mineralização da barreira, 200X (E).

Análise Estatística

Em cada dente irradiado foram realizadas três avaliações dos eventos histológicos: inflamação celular, organização tecidual, ponte mineralizada, adotando-se como representativo do dente a média de três diferentes profundidades de três escores para cada evento, com os grupos experimentais correspondendo ao laser aplicado: Grupo I: Laser Infra-Vermelho (2,5 seg.), Grupo II: Laser Infra-Vermelho (40 seg.), Grupo III: Laser Infra-Vermelho (40 seg.) e Grupo IV: Controle (sem Laser).

O teste de Kruskal-Wallis acusou, nos três eventos, diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,05$), podendo-se separá-los em dois conjuntos. Um formado pelos Grupos I e II e outro formado pelos Grupos III e IV, com escores mais baixos. Ainda que o teste de Kruskal-Wallis se baseie em postos médios, para facilitar a interpretação do resultado, são apresentadas na Tabela 4 a média, mínimo e máximo dos escores de cada grupo, nos três eventos histológicos. Na Figura 10 estão representadas as porcentagens de ocorrência de cada escore. Tanto na Tabela, como na Figura, ficam evidenciadas a predominância de escores 2 ou superior nos Grupos I e II e a predominância dos escores 2 ou 1 nos Grupos III e IV, independentemente do evento considerado.

Na Tabela 5 são dados os coeficientes de correlação de Spearman, os quais indicam a existência de correlação entre os eventos histológicos em estudo. Portanto, escores altos de um evento histológico em um

mesmo animal são acompanhados de escores também altos dos outros eventos, com comportamento análogo em relação aos escores baixos.

Tabela 4 - Estatísticas descritivas dos escores de eventos histológicos: inflamação celular, organização tecidual e ponte mineralizada de acordo com o grupo experimental

Grupo	Estatística	Inflamação celular	Organização tecidual	Ponte mineralizada
I (2,5)	Mínimo	2,0	2,0	3,0
	Máximo	4,0	3,0	4,0
	Média	2,8	2,5	3,3
II (40)	Mínimo	2,0	2,0	1,0
	Máximo	3,0	3,0	4,0
	Média	2,5	2,3	3,0
III (40)	Mínimo	1,0	1,0	1,0
	Máximo	2,0	2,0	2,0
	Média	1,3	1,3	1,5
IV (C)	Mínimo	1,0	1,0	1,0
	Máximo	3,0	3,0	3,0
	Média	1,5	1,5	1,8
Kruskal-Wallis (p)		0,007*	0,015*	0,008*

* significativo ao nível de 5%

Legendas: (2,5) – Laser infra-vermelho 2,5 segundos

(40) – Laser infra-vermelho 40 segundos

(C) – Controle: hidróxido de cálcio

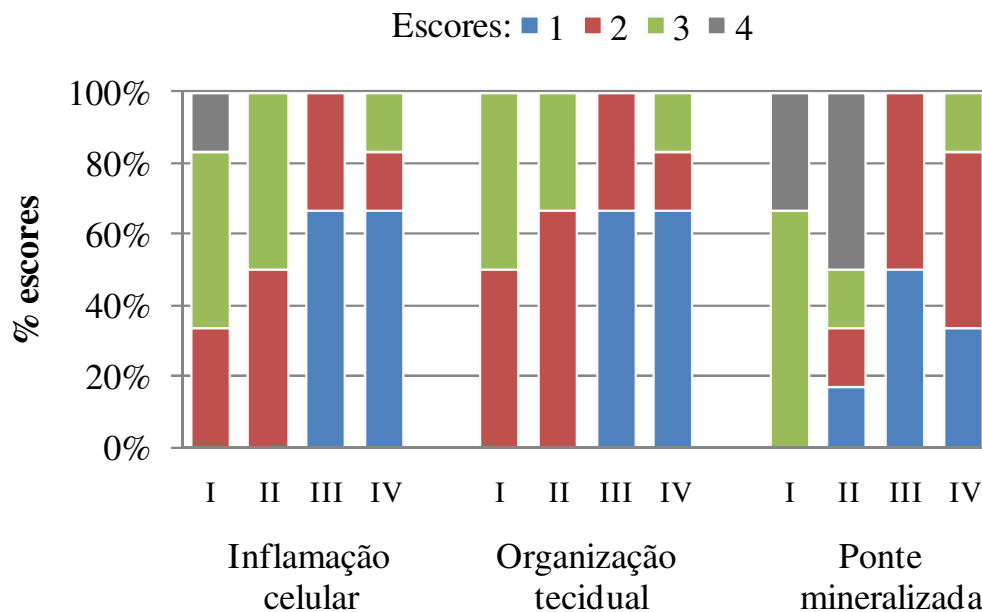


FIGURA 10 - Porcentagens de ocorrência de escores dos eventos histológicos: inflamação celular, organização tecidual e ponte mineralizada de acordo com o grupo experimental.

Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Spearman para avaliar associações entre os eventos histológicos

Relação entre eventos	Coeficiente de Spearman	valor p
Inflamação celular x Organização tecidual	0,859	<0,001 *
Inflamação celular. x Ponte mineralizada	0,610	<0,001 *
Organização tecidual x Ponte mineralizada	0,564	<0,001 *

* altamente significativo

DISCUSSÃO

Utilizou-se no presente trabalho o capeamento pulpar com hidróxido de cálcio em soro fisiológico (grupo controle), devido os seus resultados favoráveis encontrados em vários trabalhos na literatura, quando foi estudado sua resposta frente a polpa. Holland et al.,¹⁰ em 1978, estudando histologicamente o processo de reparo após pulpotomia e capeamento, em 20 dentes de cães, tratados com hidróxido de cálcio em água destilada, encontraram 18 deles livres de inflamação e com formação de ponte de dentina completa aos 30 dias. Turner et al.³⁴ (1987), compararam histopatologicamente, a resposta pulpar de capeamentos pulpares diretos com Dycal, Life, Nu-Cap e hidróxido de cálcio p.a. em solução salina em caninos decíduos de humanos, encontrando a formação de ponte de dentina mais espessa em todas as exposições tratadas com o hidróxido de cálcio em solução salina no período entre 7 e 63 dias. Heys et al.⁹ (1990), encontraram em dentes de macacos capeados com hidróxido de cálcio (Life e hidróxido de cálcio em soro fisiológico) resolução da inflamação aos 10 dias de pós-operatório e formação de ponte de tecido duro aos 21 dias ou períodos posteriores. Já Sazak et al.³⁰, em 1996, estudando os efeitos da pasta Ledermix associada ao hidróxido de cálcio e soro fisiológico e do hidróxido de cálcio com soro fisiológico, em capeamento pulpar em dentes de cães, encontraram entre sete e trinta dias, melhores resultados com o hidróxido de cálcio e soro fisiológico, obtendo formação de ponte de dentina reparadora.

Quando realizado o capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio, o processo de reparo se inicia com a formação de uma zona superficial de necrose, sob a qual pode ser observada uma reação inflamatória^{25,33}. Posteriormente, aparece intensa proliferação celular, tendendo a isolar a área de exposição e consequentemente a formação de uma barreira mineralizada^{1,28}.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que no capeamento pulpar com hidróxido de cálcio, o processo de reparo se inicia com a formação de uma zona superficial de necrose, sob a qual pode ser observada uma reação inflamatória, estando de acordo com Tronstad³³ (1974). Posteriormente, aparece intensa proliferação celular, tendendo a isolar a área de exposição e consequentemente a formação de uma barreira mineralizada seguida da formação de uma ponte de dentina. Estes fenômenos histológicos também foram encontrados por Schröder³¹ em 1985.

Como é sabido, a polpa é protegida dos agentes irritantes externos pelo esmalte, pelo cemento e por paredes da própria dentina, que formada ao seu redor, caracteriza uma cavidade que a aloja¹², sendo que quando ocorre exposição da mesma, nos períodos iniciais é observada uma reação inflamatória, fazendo com que ocorra sua expansão, então há a necessidade da utilização de um agente antiinflamatório na tentativa de controlar a inflamação²⁵. O uso do laser passa a ser uma opção para a redução da reação inflamatória, além do que possui propriedades analgésica, cicatrizante e de indução de reparo.

Neste trabalho utilizamos o laser de baixa intensidade, tendo em vista os achados de Mello et al.¹⁹ (2001) e Crisci³ (2002). Embora não haja um

padrão de potência e técnica de emprego, o laser de baixa intensidade pode ser usado isoladamente ou como coadjuvante de outros tratamentos, sempre que se necessite de um efeito antiálgico (alívio da dor), efeito bioestimulante do trofismo celular (reparação celular) e efeito antiinflamatório, antiedematoso e normalizador circulatório (redução de edema e de hiperemia). No nosso experimento, a ponta da fibra óptica do laser^{3,36,38} foi colocada em contato direto com a exposição pulpar comparando o automático do aparelho com a fórmula no modo manual do mesmo^{3,17-19}, utilizando uma dosimetria de 2 J/cm^2 , segundo Crisci³. Tempo esse calculado segundo a fórmula: $DE = P \times t / A^{3,8}$.

Villa et al.³⁶ (1988), estudando o efeito do laser de baixa intensidade em polpas de ratos, obteve, nos grupos irradiados, neoformação dentinária, com processo inflamatório de menor intensidade quando comparado com o grupo não irradiado o qual mostrou intenso processo inflamatório que, por vezes, evoluiu para necrose. Wilder-Smith³⁸ (1988), investigando o efeito do laser de baixa intensidade no capeamento pulpar em humanos, encontrou condições consideradas favoráveis, durante os dois meses do período de tratamento, não tendo sido possível avaliar, contudo, o papel desempenhado pelo laser nesse resultado como favorável. Em 1996, Ribeiro²⁷ avaliando a resposta pulpar frente à aplicação do laser de baixa intensidade, encontrou aos 7 dias, melhor resposta pulpar para os elementos irradiados, que diminuiu no período de 15 dias, sendo que quando comparados com os não irradiados, nos Grupos I e II, os dentes irradiados apresentaram menor inflamação em relação aos não irradiados, contudo houve um agravamento das condições da polpa radicular, tanto nos irradiados

como nos não irradiados, com necrose total da polpa em 60 por cento desses elementos, aos 30 dias. Van Breugel, Bär³⁵ (1992), estudando fibroblastos humanos in vitro, relataram que tanto a estimulação quanto a inibição das propriedades celulares podem ser obtidas com um mesmo laser, dependendo diretamente do tempo de exposição e da densidade de energia para sua aplicação.

Segundo Crisci³ em 2002, os resultados satisfatórios obtidos com a aplicação da fórmula em substituição ao uso do automático do aparelho padronizado pelo fabricante, surgiu uma dúvida a respeito do uso do automático e da fórmula, assim neste trabalho decidimos comparar os dois procedimentos, que apresentou como melhores resultados o uso do automático do aparelho.

Os nossos resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o laser de baixa intensidade promoveu uma recuperação acentuada das células pulpares quando comparadas ao grupo do hidróxido de cálcio, estando de acordo com Ribeiro²⁷ (1996), cujos resultados sugeriram que a ocorrência de uma melhor resposta pulpar para os elementos pulpotomizados e irradiados com o laser de baixa intensidade em dentes decíduos de cães, quando comparados aos não irradiados.

Os resultados encontrados demonstraram que a irradiação do laser de baixa intensidade, nas condições experimentais conduzidas neste trabalho, vieram a confirmar, o efeito antiinflamatório do laser.

Os resultados encontrados demonstraram que a irradiação do laser de baixa intensidade, quando associado à aplicação do hidróxido de cálcio, sob as condições experimentais conduzidas neste trabalho, vieram a confirmar, no

período de 55 dias seu efeito antiinflamatório, relatado por Wilder-Smith³⁸ (1988), Thiphova, Karu³² (1989) e Neiburger²² (1997) em outras modalidades de experimentos e por Crisci³ (2002) no capeamento pulpar.

No período de 55 dias, o laser associado ao hidróxido de cálcio interferiu no processo de reparo pulpar, pois a polpa submetida a esta associação respondeu com melhores resultados quando comparado ao grupo do hidróxido de cálcio isoladamente.

No tecido livre de inflamação, o processo de secreção celular ocorre rapidamente, enquanto que nos tecidos inflamados tal processo demora a acontecer, pois as células estão ocupadas em debelar a inflamação. No caso do conjuntivo pulpar, o laser age como agente antiinflamatório^{3,20,27} e como bioestimulador acelerando a recuperação tecidual e, desta forma, estimulando a formação da barreira mineralizada³.

Encontramos resultados diferentes entre os dentes incisivos e pré-molares, devido a anatomia dental, pois nos pré-molares a câmara pulpar é única e totalmente achatada no sentido mesio distal, portanto apresenta saliências no sentido vestibulo lingual (Della Serra, Ferreira⁵), assim a aplicação do laser incidiu diretamente sobre as células da câmara pulpar do pré-molar que apresenta maior volume que a câmara pulpar dos incisivos, que também é única porem achatada no sentido vestibulo lingual (Della Serra, Ferreira⁵).

Utilizamos apenas uma única aplicação do laser na exposição pulpar como protocolo de aplicação, em concordância com os achados de Crisci³ (2002), que avaliando a reação histológica do efeito do laser de baixa intensidade

em exposições pulpare induzidas em dentes de ratos, verificou que a associação de uma única aplicação do laser associado com o hidróxido de cálcio foi o melhor resultado.

CONCLUSÃO

Nas condições experimentais em que esta pesquisa foi conduzida, julgamos válidas as seguintes conclusões:

1- a irradiação com laser infra-vermelho associado ao capeamento com hidróxido de cálcio no modo automático (40 seg.) diminuiu a reação inflamatória e induziu a organização tecidual, bem como a formação da barreira mineralizada;

2- os resultados estatísticos indicaram diferenças significantes entre grupos para a inflamação, a organização tecidual e a formação de barreira mineralizada, sendo os grupos III e IV os melhores resultados entre os grupos;

3- a aplicação laser infra-vermelho no modo automático (40 seg.) é indicada como terapia coadjuvante ao capeamento pulpar direto.

REFERÊNCIAS

1. Bandeira MFCL. Estudo comparativo da compatibilidade biológica do óleo essencial da resina da copaífera multijuga, associados ao hidróxido de cálcio, em diferentes níveis de pesquisa: farmacológico, microbiológico em molares de rato [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1998.

2. Byrnes KR, Waynant RW, Anders JJ. Low power laser irradiation alters gene expression of olfactory ensheathing cells in vitro. *Lasers Surg Med.* 2005; 99: 1–11.
3. Crisci FS. Reação histológica de exposições pulparem em dentes de ratos à aplicação do laser de baixa intensidade somente ou em associação ao capeamento com hidróxido de cálcio [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2002.
4. De Deus QD. Tratamento conservador da polpa dental. In: De Deus QD. *Endodontia*. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica; 1992. p 189-204.
5. Della Serra O, Ferreira F. *Anatomia dental*. São Paulo: Artes Médicas; 1979.
6. Dias DB, Bausells HII, Lia RCC, Esberard RM. Efeito de materiais à base de hidróxido de cálcio, em polpas de dentes de cães expostas experimentalmente. *Rev Odontol UNESP.* 1988; 17: 27-42.
7. Francischone CE. Avaliação clínica e radiográfica feita a curto e longo prazo de uma técnica de pulpotomia em função da idade do paciente, do grupo de dentes e da propedêutica pré-operatória [tese doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 1978.
8. Genovese WJ. *Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia*. São Paulo: Editora Lovise; 2000.
9. Heys DR, Fitzgerald M, Heys RJ, Chiego JR DJ. Healing of primate dental pulps capped with teflon. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1990; 69: 227-37.

10. Holland R, Souza V, Mello W, Nery MJ, Pannain R, Bernabé PFE, et al. Healing process of dental pulp after pulpotomy or curettage and calcium hydroxide protection. Effect of corticosteroid dressing. Rev Fac Odontol Araçatuba. 1978; 7: 153-61.
11. International Standard Organization. ISO/TR 7405 - 1984: biological evaluation of dental materials. Genebra; 1984.
12. Leonardo MR, Lia RCC. Alterações pulpaes: semiologia, diagnóstico clínico e indicações de tratamento. In: Leonardo MR, Leal JM. Endodontia: tratamento de canais radiculares. São Paulo: Editorial Médica Panamericana; 1991. p. 29-39.
13. Lillye RD. Histopathologic technic and practical histochemistry. New York: Mc Graw Hill; 1954.
14. Lizarelli RFZ. Protocolos clínicos odontológicos - uso do laser de baixa intensidade. São Carlos: Bons Negócios; 2005.
15. Lopes LA. Análise in vitro da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa potência [dissertação mestrado]. Vale do Paraíba: Universidade Vale do Paraíba; 1999.
16. Macarimi VG. Influência do laser em baixa intensidade (660 nm) no processo de reparo de feridas cutâneas provocadas em ratos tratados com nicotina: estudo histológico [dissertação mestrado]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2004.

17. Mas JR. Bioenergia e propriedades ópticas dos tecidos. In: Brugnera JR A, Pinheiro ALB. Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast; 1998. p. 65-78.
18. Mello JB. Interação laser/tecido. In: Mello JB, Mello GPS. Laser em odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2001. p.25-38.
19. Mello JB, Mello GPS, Mello LS. Laser de baixa potência. In: Mello JB, Mello GPS. Laser em odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2001. p. 73-85.
20. Mello JB, Mello GPS. Tipos de laser e indicações. In: Mello JB, Mello GPS. Laser em odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2001.p. 41-51.
21. Mello W, Holland R, Berbert A. Estudo histopatológico da polpa dental inflamada de dentes de cães após pulpotomia ou curetagem pulpar e proteção com hidróxido de cálcio: efeito de um agente flogístico. Rev Odontol UNESP. 1983; 12: 7-19.
22. Neiburger EJ. Accelerated healing of gingival incisions by the helium-neon diode laser: a preliminary study. Gen Dent. 1997; 45: 166-70.
23. Niccoli-Filho WD, Okamoto T, Cardenuto N, Picon LC. Efeitos da radiação laser do tipo hélio-neônio verde (550 nm) no processo de reparo em feridas de extração dental: estudo histológico em ratos. Rev Odontol UNESP. 1993; 22: 213-21.

24. Oliveira DC, Lia RCC, Benatti Neto C. Efeito de pastas à base de hidróxido de cálcio sobre a polpa de molares de ratos, exposta experimentalmente. Estudo histopatológico comparativo. Rev Odontol UNESP. 1988; 17: 43-61.
25. Oliveira MF. Resposta do tecido pulpar à aplicação da pasta à base de hidróxido de cálcio precedida do emprego do curativo de corticosteróide ou corticosteréide/antibiótico. Estudo histológico em dentes de ratos [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2000.
26. Pinheiro ALB. Normas de segurança quando da utilização de laser. RGO. 1995; 43: 227-31.
27. Ribeiro RA. Resposta pulpar de dentes decíduos pulpotomizados e irradiados, ou não, por um laser de baixa potência semicondutor de arseneto de gálio-alumínio: estudo conduzido em cães [dissertação mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1996.
28. Rowe AHR. Reaction of the rat molar putp to various materials. Br Dent J. 1967; 122: 291-300.
29. Russo MC, Holland R. Microscopical findings after protection with various dressings in pulpotomized deciduous teeth of dogs. Rev Fac Odontol Araçatuba. 1974; 3: 113-23.
30. Sazak H, Gunday M, Alatti C. Effect of calcium hydroxide and combinations of Ledermix and calcium hydroxide on inflamed pulp in dog teeth. J Endod. 1996; 22: 447-9.

31. Schröder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res.* 1985; 64: 541-8.
 32. Tiphlova O, Karu T. Role of primary photoacceptors in low-power laser effects: action of He-Ne laser radiation on bacteriophage T4-Escherichia coli interaction. *Lasers Surg Med.* 1989; 9: 67-9.
 33. Tronstad L. Reaction of the exposed pulp to Dycal treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974; 38: 945-53.
 34. Turner C, Courts FJ, Stanley HR. A histological comparison of direct pulp capping agents in primary canines. *J Dent Child.* 1987; 54: 423-8.
 35. Van Breugel HHFI, Bär D. Power density and exposure time of He-Ne laser irradiation are more important than energy dose in photo-biomodulation of human fibroblasts in vitro. *Lasers Surg Med.* 1992; 12: 528-37.
 36. Villa RG, Brugnera Júnior A, Aun CE. Estudo histológico da atuação do raio laser HE:NE na neoformação dentinária em polpas de ratos. In: *Anais da 5ª Reunião Científica da Sociedade Brasileira de Pesquisas Odontológicas - SBPqO*; 1988 jul. 10-13; Pirassununga (SP). São Paulo: SBPqO; 1988; p. 101.
 37. Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry.* 2004; 69: 81-90.
- Wilder-Smith P. The soft laser: therapeutic tool or popular placebo? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988; 66: 654

***Efeito do laser de baixa intensidade sobre a
agressividade tecidual do cimento de óxido
de zinco e eugenol nos tecidos apicais e
periapicais de dentes de macacos-prego
após tratamento endodôntico em
biopulpectomia****

CAPÍTULO 2

* Artigo a ser submetido para publicação

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito do laser de baixa intensidade diodo semiconductor de arseneto de gálio e alumínio (GaAlAs, com comprimento de onda de 785 nm (Infra-vermelho) e com comprimento de onda de 688 nm (Vermelho), ambos com potência de emissão de 50 mW, densidade de energia de 2 J/cm^2 , em emissão contínua, por meio de ponta especial de fibra óptica), sobre a agressividade tecidual do cimento de óxido de zinco e eugenol após tratamento endodôntico em sessão única em biopulpectomia nos tecidos apicais e periapicais de dentes de macacos. Foram utilizados dentes de quatro macacos, assim distribuídos: dezesseis incisivos inferiores e oito pré-molares inferiores, totalizando 24 dentes, que foram divididos em três grupos experimentais: Grupo I (laser Vermelho), Grupo II (laser Infra-Vermelho) e Grupo III (Controle: Sem laser). Decorrido o período experimental de 22 dias, os animais foram mortos, as peças removidas e preparadas para análise histológica. De acordo com a proposta e as condições específicas deste trabalho, os resultados nos permitem concluir que a irradiação com laser infra-vermelho estimulou as células do periodonto de sustentação, induzindo a reparação periapical, apresentando diferença estatística não significativa entre grupos ($p>0,05$) para a reação inflamatória e organização tecidual e diferenças estatísticas não significantes entre grupos ($p>0,05$) para contagem das células, a irradiação com laser infra-vermelho é indicada como terapia coadjuvante ao tratamento endodôntico.

Palavras-chave: Endodontia; terapia a laser de baixa intensidade; cimento de óxido de zinco e eugenol.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of the laser of low intensity diode semiconductor of gallium aluminum arsenide (GaAlAs, with wavelength of 785 nm (Infra-red) and with wavelength of 688 nm (Red), with potency of emission of 50 mW, energy density of 2 J/cm², with continuous emission, through special tip of optic fiber), on the tissue aggressiveness of the endodontic zinc oxide and eugenol sealer (ZOE) after endodontic treatment in vital pulp in the apical and periapical tissues of teeth of monkeys. Four monkeys were used, being them sixteen inferior incisors and eight inferior premolar, totaling 24 teeth that were distributed in three experimental groups: Group I (Red Laser), Group II (Infra-red laser) and Group III (Control: without Laser). After the experimental period of 22 days, the animals were killed, the pieces were removed and prepared for histological analysis. In agreement with the proposal and the specific conditions of this study, the results allow to conclude us that infra-red laser irradiation stimulates the cells of the periodontal tissue, inducing periapical repair.

Keywords: Endodontics,; laser therapy, low-level; zinc oxide-eugenol cement.

INTRODUÇÃO

A Endodontia é dividida em fases, que devem ser tratadas com mesma importância e atenção, pois são atos operatórios interdependentes entre si, e que a falha em uma dessas fases pode levar ao insucesso endodôntico¹⁶.

Dentre essas fases temos a obturação dos canais radiculares, fase de extrema importância, onde para se perpetuar o sucesso, necessitamos de um material obturador que possua propriedades biológicas e físico-químicas compatíveis com os tecidos dentais.

Dentre esses materiais obturadores temos o cimento à base de óxido de zinco eugenol, cimento de baixo custo, fácil aquisição e utilizados em grande escala pelo mundo e também pelo Brasil.

Esse cimento apresenta propriedades físico-químicas, razoáveis, porém não apresenta boas propriedades biológicas, sendo irritante aos tecidos apicais e periapicais^{8,25}, ou seja, apresenta um comportamento nocivo aos tecidos biológicos, levando à injúria atribuída à presença de eugenol livre. Os resultados das reações histológicas do cimento OZE foram bem evidenciados há décadas, foi comprovado que o eugenol é citotóxico (Rodrigues et al.²⁴, 1976; Lindqvist, Otteskog¹⁸, 1980; Barbosa et al.², 1993), resultando em reações adversas em animais experimentais e humanos (Lindqvist, Otteskog¹⁸, 1980), provoca dermatite de contato e reação alérgica verdadeira (Barkin et al.³, 1984).

Com o desenvolvimento do LASER, surgiu uma nova alternativa no tratamento endodôntico quanto a agressividade tecidual dos cimentos nos tecidos apicais e periapicais em uma biopulpectomia.

Araújo¹ 2008, avaliando histologicamente do efeito do laser de baixa intensidade na resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos ao implante dos tubos com cimento de óxido zinco e eugenol (OZE) Endofill, encontrou como resultado um tecido conjuntivo que reagiu de forma favorável ao Endofill quando submetido a laserterapia de baixa intensidade.

Os lasers são classificados em lasers de alta e baixa intensidade, sendo que o que vai diferenciá-los é o tipo do meio ativo (sólido, líquido, gasoso e misto), que resultará em diferentes tipos de radiação e respectivos efeitos sobre o tecido irradiado^{7,21}.

O laser de baixa intensidade é indicado sempre que se necessite de um efeito local ou ainda quando se necessite de um efeito terapêutico geral^{4,5} devido à sua ação analgésica, antiinflamatória, antiedematosa, bioestimuladora e indutora de reparo tecidual¹⁹.

Dentre os lasers de baixa intensidade vamos encontrar o laser vermelho (comprimento de onda de 670 nm) e o laser infra-vermelho (comprimento de onda de 785 nm), diferenciados pela profundidade de penetração, o laser vermelho possui uma atuação mais superficial em relação ao infra-vermelho^{7,10-15,20}.

O comprimento de onda é de fundamental importância na interação laser-tecido. Cada comprimento de onda, portanto, terá um tipo diferente de interação segundo o tecido alvo (Vladimirov et al.²⁸, 2004).

Visando, os efeitos reparador e antiinflamatório do laser de baixa intensidade, verificaremos sua ação sobre os tecidos biológicos sob o efeito irritante, oferecido pelo cimento endodôntico Endo Fill (a base de óxido de zinco eugenol) em obturações realizadas em dentes de macacos.

MATERIAL E MÉTODO

Este estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP do Centro Universitário de Araraquara (UNIARA), com o parecer do projeto nº 424 (Anexo 2).

Para o experimento foram utilizados de 4 Macacos-Prego (*cebus apella libidinosus*) machos com 08 anos de idade e peso aproximado de 5 Kg do Núcleo de Procriação de Macaco-Prego do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

Utilizamos dezesseis incisivos inferiores e oito pré-molares inferiores com vitalidade pulpar, totalizando 24 dentes, distribuídos em 3 grupos com o período experimental de 22 dias.

O procedimento pré-operatório foi realizado por sedação com éter sulfúrico em câmara de sedação. Posteriormente foram submetidos à anestesia geral, obtida por meio de injeção intraperitoneal de tiopental sódico

(Thionembutal - Abbot Laboratórios do Brasil Ltda. – RJ, Brasil) na dosagem de 30 mg/kg de peso corporal e injeção intramuscular de diazepínico (Diazepan – Furp) na dosagem de 0,12 mg/kg de peso corporal.

Foi realizada raspagem e polimento dental com pedra pomes, água e taça de borracha, a seguir os dentes foram radiografados com películas radiográficas pediátricas (Kodak – Eastman Kodak Company, NY, Estados Unidos) (Figura 1A e 1B). Anestesia local infiltrativa (Figura 1C) foi realizada na região dos dentes selecionados empregando-se anestésico à base de Cloridrato de Prilocaína com Felipressina – Citanest a 3% com Octapressim (Astra Química e Farmacêutica, SP, SP) e efetuado o isolamento absoluto com dique de borracha e colocação de um mantenedor de abertura bucal (Figura 1D) e anti-sepsia do campo operatório com Clorexidina a 2%.

Todo o instrumental e material utilizados nos procedimentos operatórios foram esterilizados em autoclave a 120°C, por 20 minutos.

Em seguida, os dentes foram submetidos à abertura coronária com broca esférica diamantada número (1011 - KG Sorensen, SP, Brasil) montadas em turbina de alta rotação (Figura 1E e 1F) e exploração dos canais radiculares com limas tipo K (Dentsply/Maillefer- Suíça) de série especial número 06 para os incisivos inferiores (Figura 2A) e número 15 para os pré-molares inferiores (Figura 2B), seguido de nova tomada radiográfica que foi analisada em negatoscópio com auxílio de lupa, determinado um comprimento de trabalho 01 mm aquém do ápice radiográfico (Figura 2C). Os canais radiculares foram preparados pela técnica clássica até a lima tipo K número 20 para os incisivos e

lima tipo K número 35 para os pré-molares. Todo o preparo, desde a abertura coronária foi acompanhado de irrigação, aspiração e inundação com líquido de Dakin (Inodon Laboratório – RS, Brasil) (Figura 2D) e concluído com secagem dos canais com cones de papel absorventes (Tanari - Tanariman Industrial Ltda., AM, Brasil) correspondentes ao último instrumento empregado. A limpeza final dos canais radiculares foi realizada com aplicação de EDTA trissódico (Biodinâmica Química e Farmácia Ltda., PR, Brasil) por três minutos, irrigação com soro fisiológico e secagem final dos canais como já descrito.

A seguir, foi realizada a prova do cone principal de gutta-percha (Tanari - Tanariman Industrial Ltda., AM, Brasil), de modo que este, de número correspondente ao último instrumento utilizado, estava inserido no canal radicular e travado no comprimento real de trabalho.

A obturação dos canais radiculares foi realizada pela técnica de condensação lateral com cone de gutta percha (Tanari - Tanariman Industrial Ltda., AM, Brasil) e com o cimento à base de óxido de zinco e eugenol (Endo Fill – Dentsply, RJ, Brasil) e cones de gutta percha acessórios XF (Tanari - Tanariman Industrial Ltda., AM, Brasil). Em seguida, a obturação foi cortada ao nível cervical e condensada com condensadores verticais (Irmãos Aronson, SP, Brasil) verticalmente e a abertura coronária restaurada com Amálgama (Figura 2E). Por fim, foi tomada a radiografia final da obturação (Figura 2F).

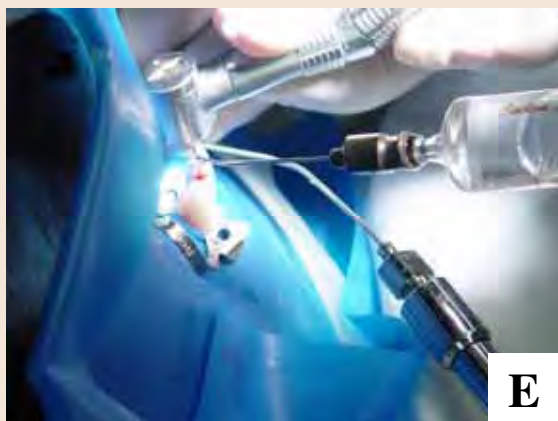
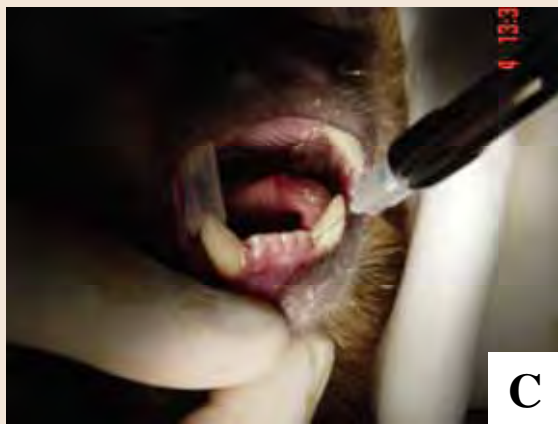


FIGURA 1 - Tomada radiográfica e radiografia inicial dos incisivos inferiores e pré-molares inferiores (A e B). Anestesia terminal infiltrativa (C). isolamento absoluto com dique de borracha (D). Abertura coronária na face palatina dos incisivos inferiores (E e F).

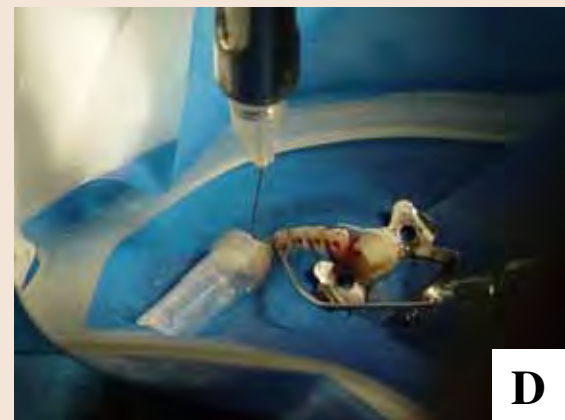
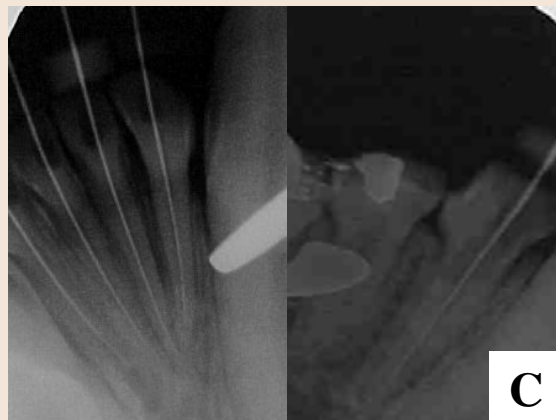
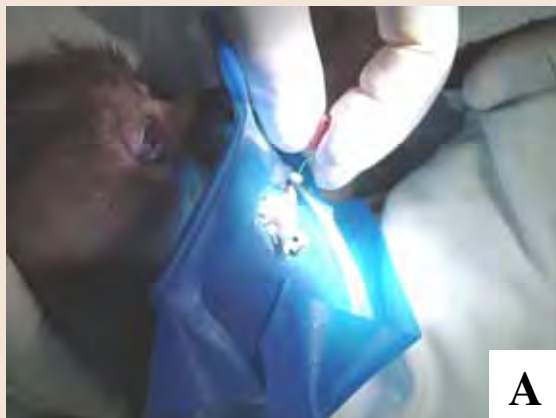


FIGURA 2 - Exploração dos canais radiculares com lima tipo K nº 06 para os incisivos inferiores (A) e limas K nº 15 para os pré-molares inferiores (B). Radiografia de odontometria para os incisivos inferiores e pré-molares inferiores (C). Irrigação, aspiração e inundação dos canais radiculares (D). Restauração definitiva de amalgama de prata (E). Radiografia final da obturação dos canais radiculares (F).

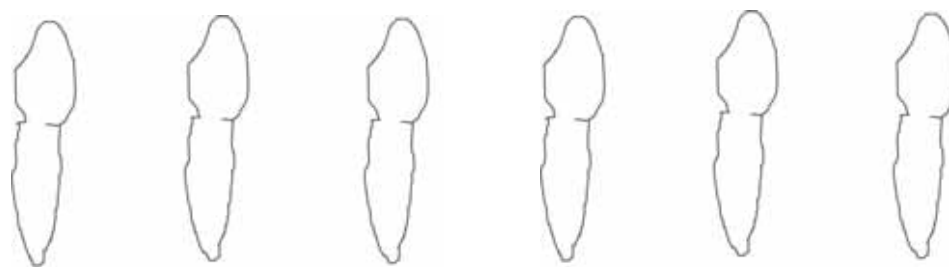
A distribuição dos animais foi feita de modo que tivemos 08 dentes tratados para cada grupo experimental e o período de análise foi de 22 dias (Quadro 1).

Quadro 1 - Distribuição dos números de dentes de acordo com os períodos e os grupos experimentais

Grupos	Aplicação ou não do laser	22 dias
I	Laser vermelho	08 dentes
II	Laser infra-vermelho	08 dentes
III	Grupo controle	08 dentes

A distribuição dos dentes seguiu uma sequência na qual cada grupo teve 01 PMID, 01 PMIE, 01 ILID, 01 ILIE, 01 ICID, 01 ICIE e dois outros dentes sorteados aleatoriamente entre os animais, totalizando os oito dentes. Assim o esquema foi:

Animal 1:

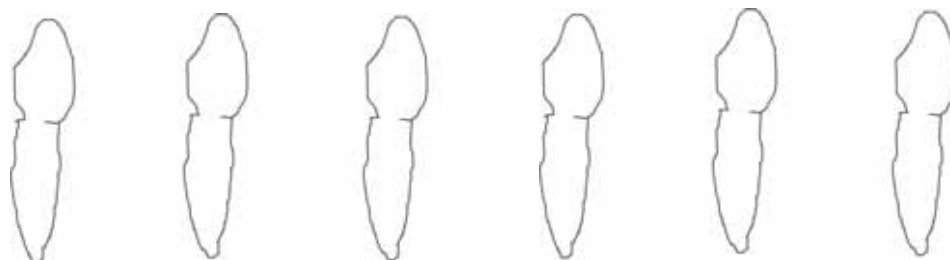


	1ºPMID						ILID	ICID	ICIE	ILIE	1º PMIE
	CAD	CTP	CRD	CRT	IAI	IM	LASER				
ILID	10	10	11	10	06	20	Vermelho 2 J/cm ²				
ICID	10	10	11	10	06	20	Vermelho 2 J/cm ²				
ICIE	10	10	11	10	06	20	Vermelho 2 J/cm ²				
ILIE	10	10	11	10	06	20	Vermelho 2 J/cm ²				
1º PMID	15	14	15	14	15	35	Infra-Vermelho 2 J/cm ²				
1º PMIE	15	13,5	15	14	15	35	Sem Laser				

Legendas: 1ºPMID - primeiro pré-molar inferior direito
 ILID - incisivo lateral inferior direito
 ICID - incisivo central inferior direito
 ICIE - incisivo central inferior esquerdo
 ILIE - incisivo lateral inferior esquerdo
 1º PMIE - primeiro pré-molar inferior esquerdo

CAD - Comprimento aparente do dente
 CTP - comprimento trabalho provisório
 CRD - comprimento real do dente
 CRT - comprimento real de trabalho
 IAI - instrumento apical inicial
 IM - instrumento memória

Animal 2:



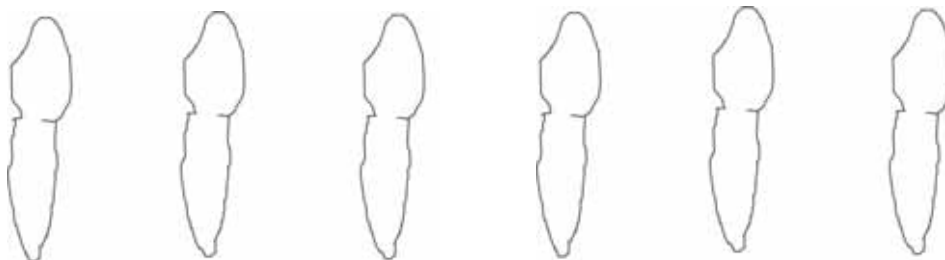
1°PMID ILID ICID ICIE ILIE 1° PMIE

	CAD	CTP	CRD	CRT	IAI	IM	LASER
ILID	12	10	11	10	06	20	Sem Laser
ICID	12	10	11	10	06	20	Sem Laser
ICIE	12	10	11	10	06	20	Sem Laser
ILIE	12	10	10,5	9,5	06	20	Sem Laser
1° PMID	14	13	15	14	15	35	Vermelho 2 J/cm ²
1° PMIE	14	14	15,5	14,5	15	35	Vermelho 2 J/cm ²

Legendas: 1°PMID - primeiro pré-molar inferior direito
 ILID - incisivo lateral inferior direito
 ICID - incisivo central inferior direito
 ICIE - incisivo central inferior esquerdo
 ILIE - incisivo lateral inferior esquerdo
 1°PMIE - primeiro pré-molar inferior esquerdo

CAD - Comprimento aparente do dente
 CTP - comprimento trabalho provisório
 CRD - comprimento real do dente
 CRT - comprimento real de trabalho
 IAI - instrumento apical inicial
 IM - instrumento memória

Animal 3:



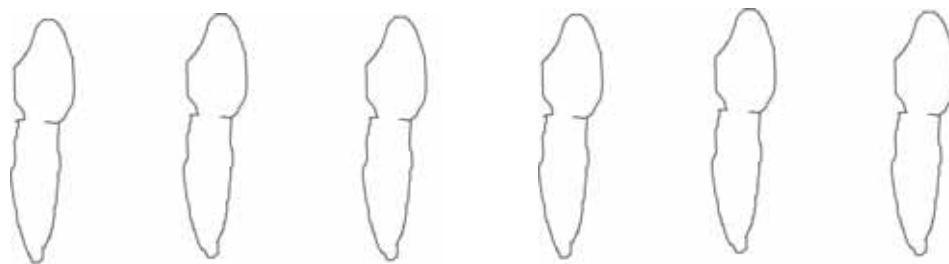
1°PMID ILID ICID ICIE ILIE 1° PMIE

	CAD	CTP	CRD	CRT	IAI	IM	LASER
ILID	11	08	11	10	06	20	Infra-Vermelho 2 J/cm ²
ICID	11	10	11	10	06	20	Vermelho 2 J/cm ²
ICIE	11	10	11	10	06	20	Sem Laser
ILIE	11	08	11	10	06	20	Sem Laser
1° PMID	15	14	15,5	14,5	15	35	Infra-Vermelho 2 J/cm ²
1° PMIE	14	13	14,5	13,5	15	35	Infra-Vermelho 2 J/cm ²

Legendas: 1°PMID - primeiro pré-molar inferior direito
 ILID - incisivo lateral inferior direito
 ICID - incisivo central inferior direito
 ICIE - incisivo central inferior esquerdo
 ILIE - incisivo lateral inferior esquerdo
 1°PMIE - primeiro pré-molar inferior esquerdo

CAD - Comprimento aparente do dente
 CTP - comprimento trabalho provisório
 CRD - comprimento real do dente
 CRT - comprimento real de trabalho
 IAI - instrumento apical inicial
 IM - instrumento memória

Animal 4:



1°PMID

ILID

ICID

ICIE

ILIE

1° PMIE

	CAD	CTP	CRD	CRT	IAI	IM	LASER
ILID	11	08	11	10	06	20	Infra-Vermelho 2 J/cm ²
ICID	11	08	11	10	06	20	Infra-Vermelho 2 J/cm ²
ICIE	11	08	11	10	06	20	Infra-Vermelho 2 J/cm ²
ILIE	11	08	11	10	06	20	Infra-Vermelho 2 J/cm ²
1° PMID	15	14	15	14	15	35	Sem Laser
1° PMIE	15	14	16	15	15	35	Vermelho 2 J/cm ²

Legendas: 1°PMID - primeiro pré-molar inferior direito
 ILID - incisivo lateral inferior direito
 ICID - incisivo central inferior direito
 ICIE - incisivo central inferior esquerdo
 ILIE - incisivo lateral inferior esquerdo
 1°PMIE - primeiro pré-molar inferior esquerdo

CAD - Comprimento aparente do dente
 CTP - comprimento trabalho provisório
 CRD - comprimento real do dente
 CRT - comprimento real de trabalho
 IAI - instrumento apical inicial
 IM - instrumento memória

Em todos os grupos experimentais I, II e III (Quadro 1), após a realização do tratamento endodôntico e obturação do canal radicular com cimento de óxido de zinco e eugenol, os dentes receberam restauração definitiva de amálgama de prata.

Nos grupos experimentais I e II (Quadro 1), após a realização do tratamento endodôntico e restauração definitiva de amálgama de prata, os dentes receberam irradiação laser de baixa intensidade (Laser Beam Multi Laser DR 500 - Laser Beam, Indústria e Tecnologia Ltda., R.J., Brasil) vermelho (Figura 3A) e infra-vermelho (Figura 3B) respectivamente, colocando-se a ponta do aparelho em contato direto com região do ápice de cada dente (região apical vestibular) com uma dosimetria de 2 J/cm² (modo automático), de acordo com Araujo¹ em 2008.



FIGURA 3 - Aplicação do laser de baixa intensidade na região periapical: laser vermelho (A) e infra-vermelho (B).

A Unidade Laser de baixa intensidade utilizada no experimento foi a Laser Beam Multi Laser DR 500 (Laser Beam, Indústria e Tecnologia Ltda., Niterói, RJ, Brasil), com as seguintes características:

- Semicondutor Diodo de Arseneto de Gálio-Alumínio (As-Ga-Al)
- Vermelho com comprimento de onda 688 nm
- Infravermelho com comprimento de onda 785 nm
- Potência de emissão de 50 mW
- Densidade de potência de 250 mW/cm²
- Tensão de alimentação: 110V ou 220V
- Emissão contínua
- Ponta especial de fibra óptica

Após a remoção do isolamento absoluto, e a aplicação do laser de baixa intensidade os animais foram mantidos em observação até total recuperação.

Devido ao risco de sensibilidade pós-operatória após o tratamento endodôntico, foi administrado aos animais analgésico via oral (Paracetamol 0,3mL de 6 em 6 horas durante 5 dias).

Decorrido o período experimental de 22 dias, os animais foram mortos, para remoção e redução das mandíbulas com os dentes para serem submetidos à tramitação laboratorial para processamento histológico.

Processamento histológico

As peças com os dentes (mandíbulas reduzidas) foram removidos e imersas em formol de Lillye a 10% tamponado (pH 7,2), permanecendo em processo de fixação por 96 horas¹⁷. Após as primeiras 24 horas,

as peças foram recortadas com o auxílio de disco diamantado, de forma a individualizar cada dente, juntamente com o tecido ósseo adjacente. Estes foram devidamente identificados e fixados por mais 72 horas. A seguir, as peças foram lavadas em água corrente durante 24 horas, armazenadas em cassetes identificados e permaneceram suspensas na solução descalcificadora de Morse com trocas a cada 3 dias até a completa descalcificação que ocorreu em um período aproximado de 4 meses. Após a descalcificação, as peças foram neutralizadas em solução de sulfato de sódio durante 24 horas. Em seguida os dentes passaram por processo de desidratação em álcoois crescentes (70%, 90% e absoluto), diafanização em xilol, realizou-se o processamento para inclusão, embebição em parafina, confecção do bloco e microtomia em micrótomo rotatório, obtendo-se cortes semi-seriados no sentido do longo eixo dos dentes, com 6µm de espessura^{5,23}.

Coloração

Todo o material foi corado em hematoxilina-eosina (HE) para análise morfológica e pelo tricrômico de Masson (TM) para análise da substância intercelular fibrosa^{5,23}.

Análise histológica

A análise das lâminas foi realizada com o auxílio de microscópio óptico comum e os seguintes eventos histológicos foram avaliados: Inflamação Celular, Organização Tecidual e Reações Celulares ao Tratamento de

Canal, Adaptados das normas da ISO⁹. Estes eventos histológicos serão graduados como descrito nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1- Escores atribuídos ao evento **Inflamação Celular**

Escore	Caracterização
1	Ausência de Inflamação
2	Inflamação Discreta
3	Inflamação Moderada
4	Inflamação Intensa

Tabela 2 – Escores atribuídos ao evento **Organização Tecidual**

Escore	Caracterização
1	Tecido Normal
2	Formação Cementária
3	Nichos de Reabsorção Cementária
4	Neoformação Vascular

Tabela 3 – Escores atribuídos ao evento **Reações Celulares ao Tratamento de canal**

Contagem de Células	Caracterização
nº de células	PMN (Polimorfonucleares)
nº de células	MCF (Macrófago)
nº de células	Cementoblastos

Análise Estatística

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para a comparação entre os grupos experimentais quanto aos escores dos eventos histológicos e quanto à avaliação das reações celulares através de contagens de células. Esse teste foi complementado pelo procedimento de Dunn, adotando-se em ambos o nível de significância de 5% para a tomada de decisões.

RESULTADOS

Análise Histológica

Grupo I: Laser Vermelho - 22 dias - HE

Visão geral da região periapical dos incisivos (Figura 4A). O tecido do ligamento apical apresenta-se normal com muitos fibroblastos, os vasos sanguíneos situados na porção média, o contorno da superfície cementária é homogêneo e recoberto por cementoblastos (Figura 4B). Na porção lateral do ligamento periodontal dos incisivos centrais, houve a formação de um acentuado calo de cimento, sem a ocorrência de anquilose (Figura 4C).

Grupo I: Laser Vermelho - 22 dias - TM

Visão geral da região periapical (Figura 4D). Observou-se a organização das fibras colágenas da porção apical do ligamento e a localização central dos vasos sanguíneos (Figura 4E). O calo formado na porção lateral dos incisivos centrais é bem visível, sem, no entanto provocar anquilose junto ao osso alveolar (Figura 4F)..

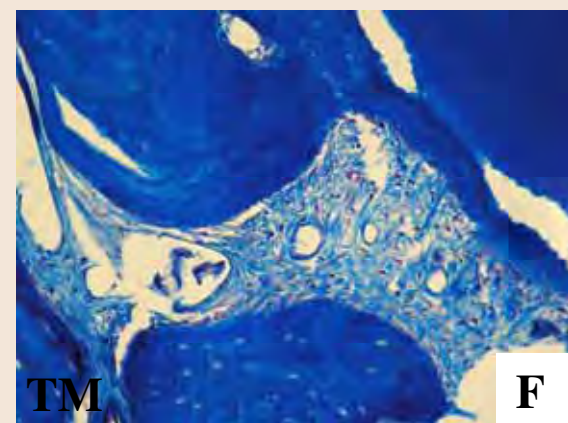
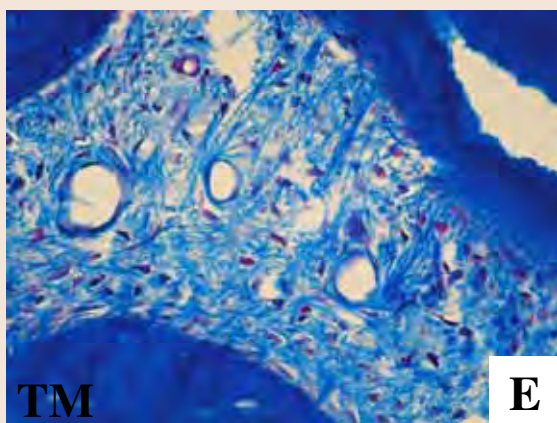
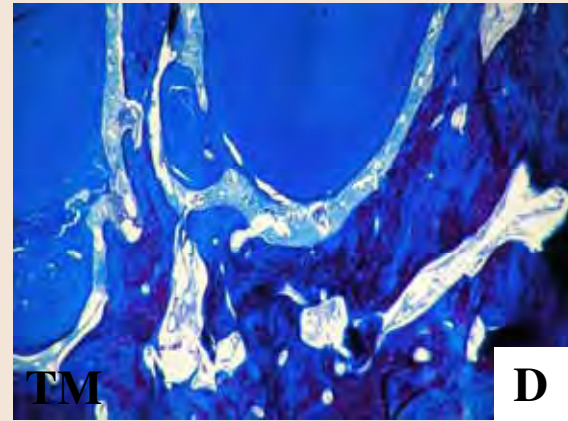
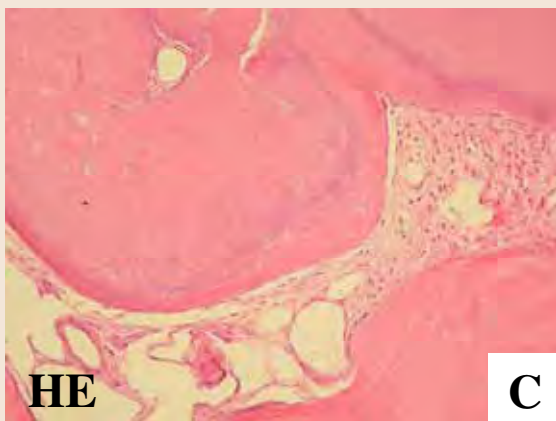
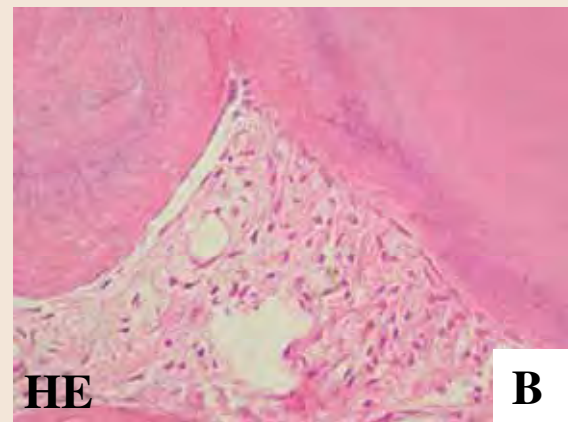
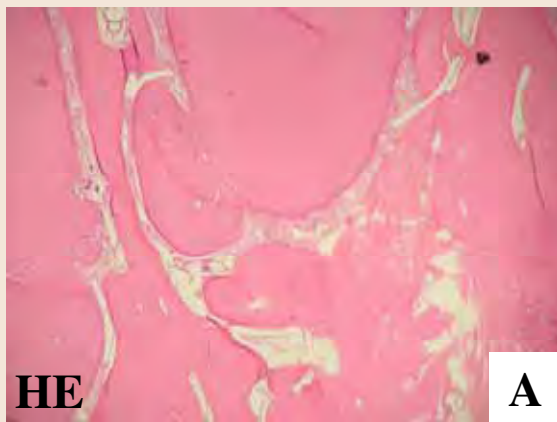


FIGURA 4 - Visão geral da região periapical dos incisivos inferiores, 40X (A). Contorno homogêneo da superfície cementária, 400X (B). Formação de células no cimento, 200X (C). Visão geral da região periapical dos incisivos inferiores, 40X (D). Organização tecidual na região periapical, 400X (E). Formação de calo cementário na porção lateral, 200X (F).

Grupo I: Laser Vermelho - 22 dias - HE

Visão geral da região periapical do pré-molar (Figura 5A). Na região periapical junto ao limite apical da instrumentação houve uma concentração de células e presença de capilares linfáticos aumentados (Figura 5B). As células junto ao limite apical da instrumentação são fibroblastos, macrófagos, algumas células linfocitárias e capilares sanguíneos em meio a fibras colágenas. Observou-se no interior dos vasos linfáticos restos amorfos. O restante do ligamento periodontal era normal, com células, fibras colágenas e capilares sanguíneos em corte transversal (Figura 5C).

Grupo I: Laser Vermelho - 22 dias - TM

Visão geral da região periapical do pré-molar (Figura 5D). Observou-se as fibras colágenas, coradas em azul, em meio as células e vasos de aspecto normal, sendo que os vasos linfáticos apresentavam-se bem dilatados com restos amorfos aderidos a sua parede interna (Figura 5E). O restante do ligamento periapical tinha aspecto normal (Figura 5F). Observou-se junto ao ligamento na porção apical o canal alveolar contendo o nervo alveolar, visto o corte transversal pelo TM.

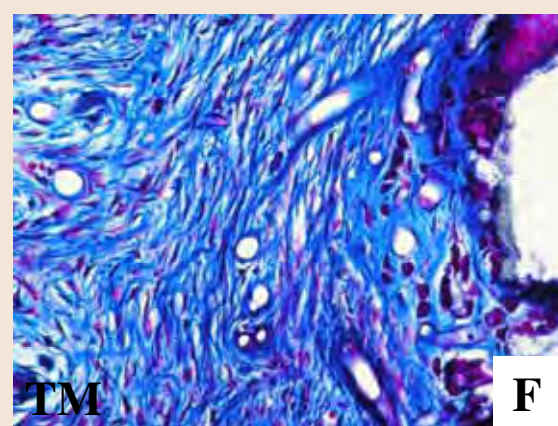
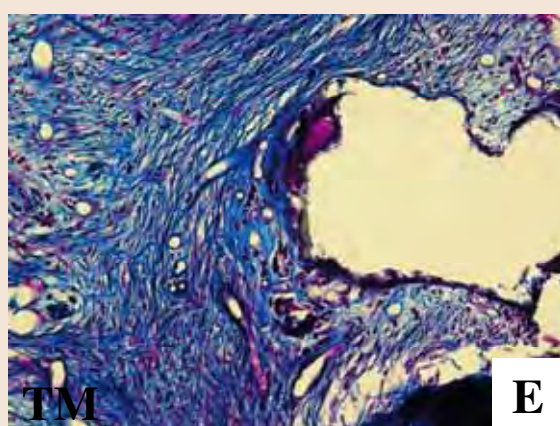
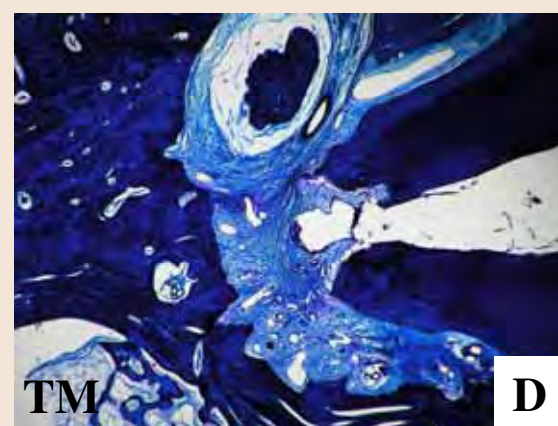
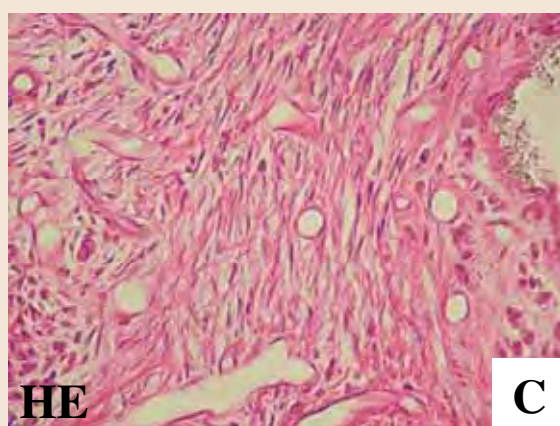
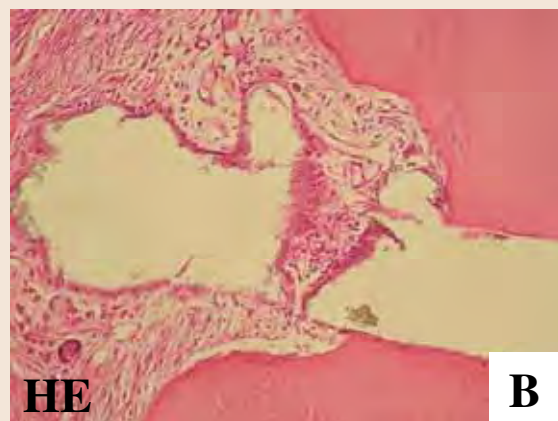
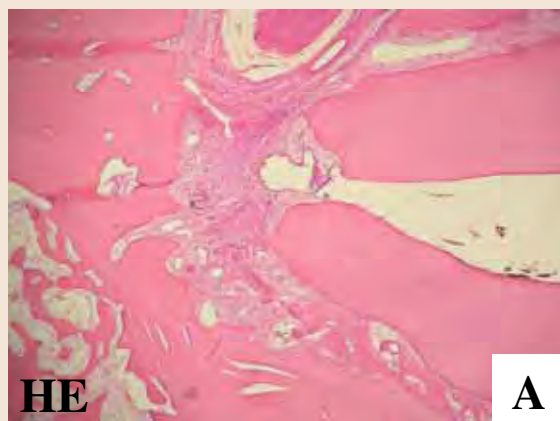


FIGURA 5 - Visão geral da região periapical do pré-molar inferior, 40X (A). Aumento de capilares de células na região periapical, 200X (B). Ligamento periapical de aspecto normal na região periapical, 400X (C). Visão geral da região periapical do pré-molar inferior, 40X (D). Fibras colágenas de aspecto normal e vasos dilatados, 200X (E). Ligamento periapical de aspecto normal, 400X (F).

Grupo II: Laser Infra-Vermelho - 22 dias - HE

Visão geral da região periapical dos incisivos (Figura 6A). O ligamento periapical apresentou-se com aspecto normal, tendo as extremidades formadas por cemento do lado dentário, contendo linha reversa de crescimento, revestido em toda a superfície por membrana celular de cementoblasto, encontramos também, estímulo celular de toda a população do ligamento periapical, bem como a neoformação cementária e do osso alveolar, com células blásticas ao longo de todo tecido mineralizado e inserção das fibras colágenas de Sharpey de forma acentuada em toda matriz cementária e óssea (Figura 6B).

Grupo II: Laser Infra-Vermelho - 22 dias - TM

Visão geral da região periapical (Figura 6C). Foi nítida a presença da linha reversa de crescimento no cemento, sendo recoberta pela membrana de cementoblastos, entremeada pelas fibras de Sharpey, inseridas profundamente na matriz cementária e óssea. Houve equilíbrio entre células, fibras e os vasos sanguíneos que estão localizadas na porção média do ligamento e junto à superfície óssea alveolar (Figura 6D).

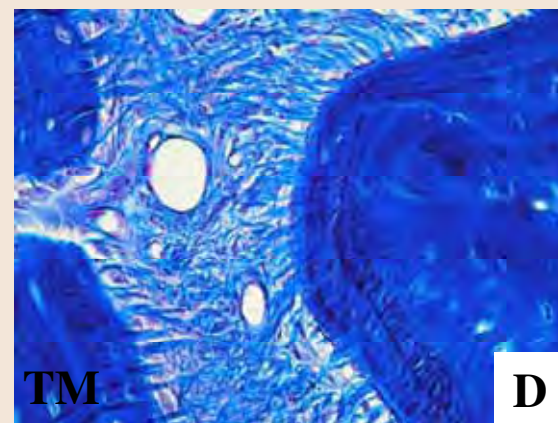
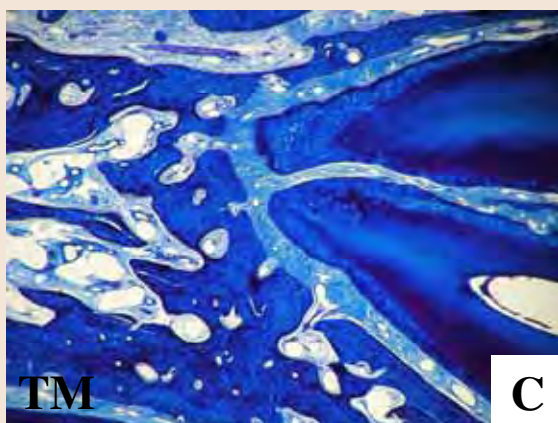
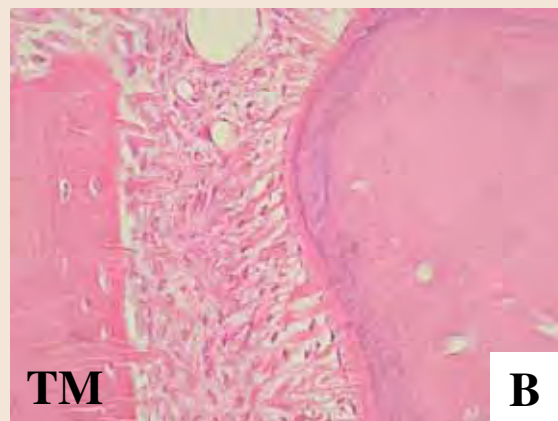
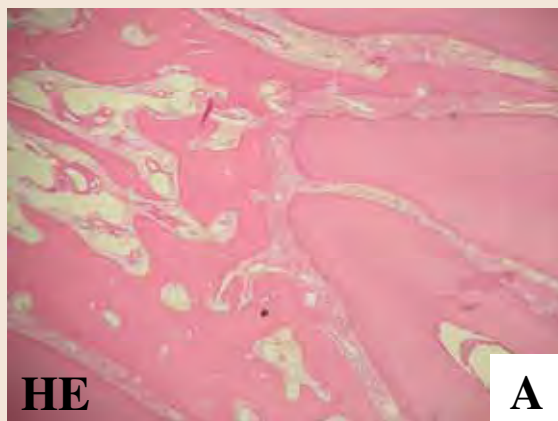


FIGURA 6 - Visão geral da região periapical dos incisivos inferiores, 40X (A). Ligamento periapical de aspecto normal, 400X (B). Visão geral da região periapical dos incisivos inferiores, 40X (C). Equilíbrio entre células, vasos e fibras de sharpey no ligamento periapical, 400X (D).

Grupo II: Laser Infra-Vermelho - 22 dias - HE

Visão geral da região periapical do pré-molare (Figura 7A). Não houve inflamação, as células estavam em equilíbrio com as fibras e os vasos sanguíneos e linfáticos (Figura 7B). A superfície cementária era normal, revestida pelos cementoblastos com pequenos nichos de proliferação cementária (Figura 7C).

Grupo II: Laser Infra-Vermelho - 22 dias - TM – Pré-molares

Visão geral da região periapical do pré-molar (Figura 7D). Observou-se que a neoformação cementária ocorreu ao longo da superfície e com pequenos pontos de uma formação mais acentuada (Figura 7E). O restante do ligamento apresentou as fibras colágenas organizadas e coradas em azul em meio a células e vasos sanguíneos (Figura 7F). O osso alveolar apresentou remodelação com osteoblastos e osteoclastos na superfície alveolar.

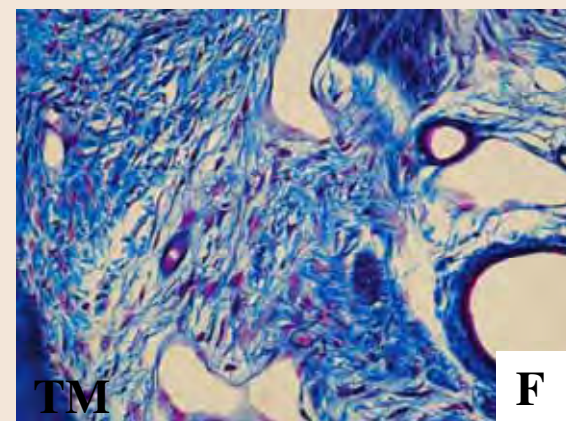
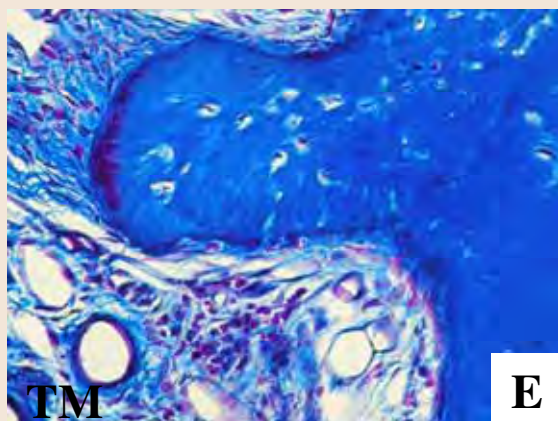
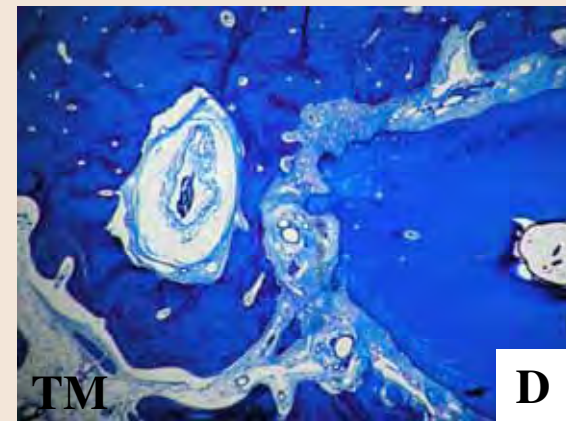
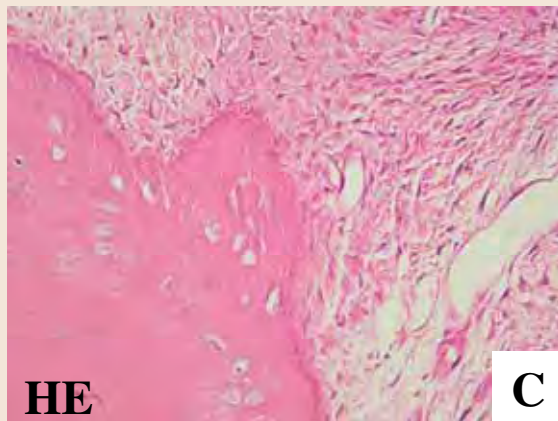
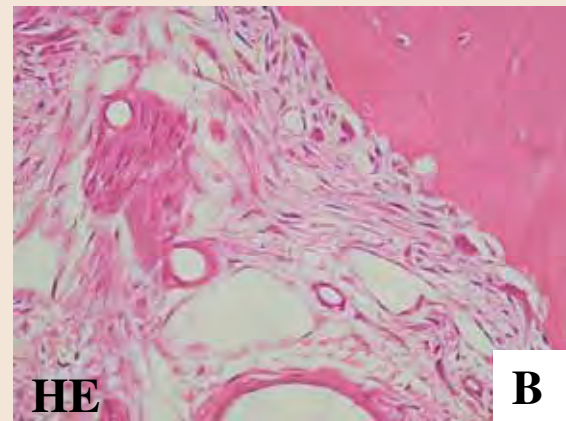
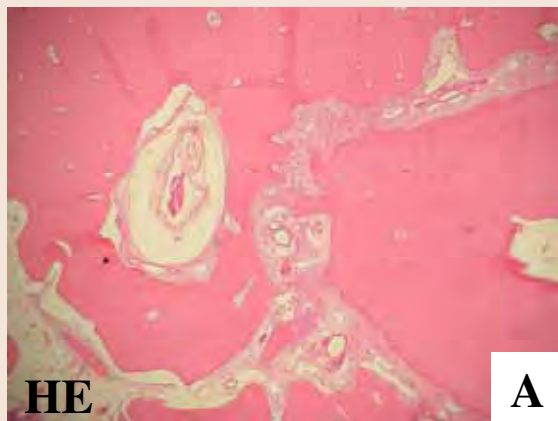


FIGURA 7 - Visão geral da região periapical do pré-molar inferior, 40X (A). Equilíbrio entre células, fibras e vasos sanguíneos do ligamento periapical, 400X (B). Superfície cementária com pequenos nichos de proliferação, 400X (C). Visão geral da região periapical do pré-molar inferior, 40X (D). Neoformação cementária acentuada, 400X (E). organização das fibras colágenas em meio as células e vasos sanguíneos, 400X (F).

Grupo III: Controle (sem laser) - 22 dias – HE

Visão geral da região periapical dos incisivos (Figura 8A). As células na maioria fibroblastos, rodeavam as fibras bem como os vasos sanguíneos, visualizados em corte transversal com aspecto normal situados na porção média do ligamento e junto ao osso alveolar (Figura 8B). A raiz apresentou contornos definidos, revestidos por faixas de cemento celular adjacente às fibras colágenas do ligamento periodontal com inserções ao longo da matriz cementária, essas fibras se continuaram através de todo ligamento que apresentou-se com dimensões normais e ausência de infiltrado inflamatório (Figura 8C).

Grupo III: Controle (sem laser) - 22 dias - TM

Visão geral da região periapical dos incisivos (Figura 8D). As fibras colágenas que se inseriam no cemento e no osso eram bem visíveis e marcantes, inserindo-se ao longo de toda superfície cementária que era lisa e homogênea, recoberta por uma membrana de cementoblastos (Figura 8E). Os fibroblastos eram numerosos em meio às fibras e notou-se também a presença de macrófagos ativos em pequeno número e os capilares sanguíneos normais situados na porção média e junto à superfície óssea alveolar (Figura 8F).

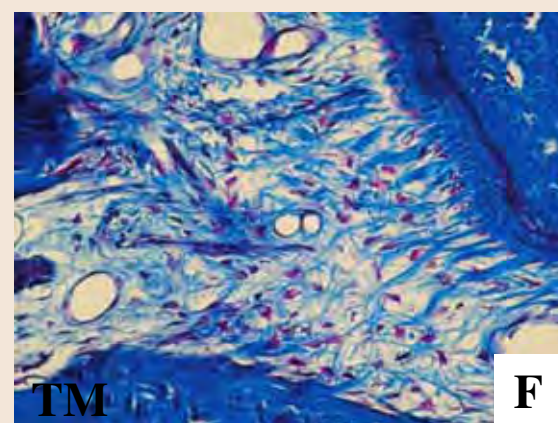
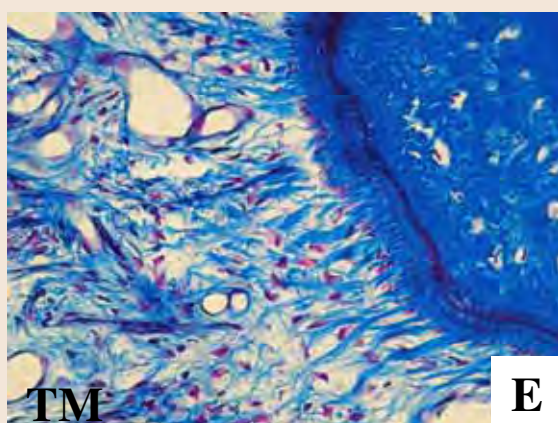
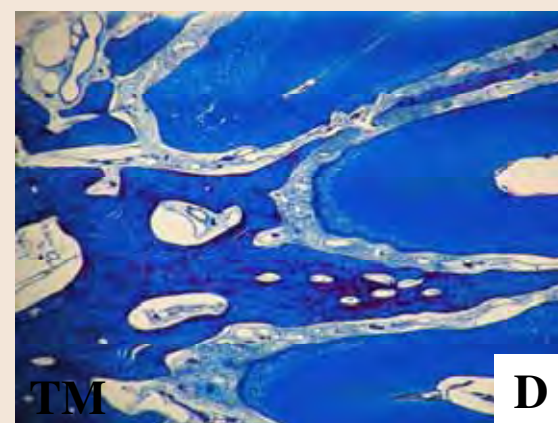
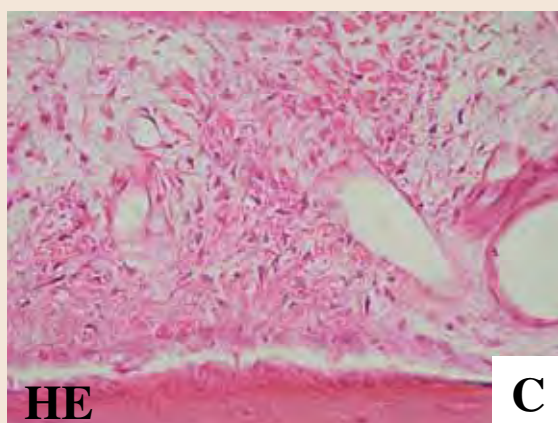
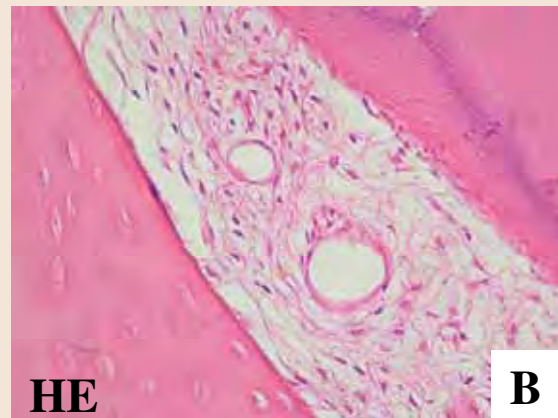
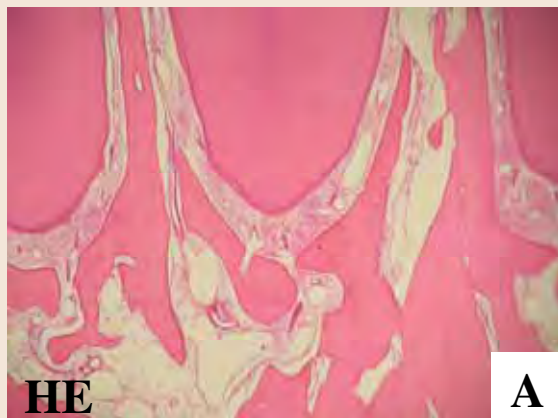


FIGURA 8 - Visão geral da região periapical dos incisivos inferiores, 40X (A). Porção média do ligamento periapical de aspecto normal, 400X (B). Faixa de cimento celular adjacente as fibras colágenas do ligamento, 400X (C). Visão geral da região periapical dos incisivos inferiores, 40X (D). Inserção das fibras colágenas no cimento, 400X (E). população celular numerosa em meio as fibras colágenas, 400X (F).

Grupo III: Controle (sem laser) - 22 dias - HE - Pré-molares

Visão geral da região periapical do pré-molar (Figura 9A). O canal cementário não apresentou reação inflamatória, o contorno da superfície era irregular, recoberto por uma membrana de células, cementoblastos e algumas células clásticas, o restante do tecido era preenchido por fibroblastos e macrófagos bem como os vasos sanguíneos de aspecto normal localizados na porção central do tecido (Figura 9B).

Grupo III: Controle (sem laser) - 22 dias - TM - Pré-molares

Visão geral da região periapical do pré-molar (Figura 9C). Na porção apical, no limite do canal dentinário e cementário, a superfície da dentina sofreu ligeira reabsorção, formando um nicho preenchido por células clásticas, fibroblastos e fibras colágenas (Figura 9D). O restante do conjuntivo do canal cementário apresentou-se de aspecto normal, com vasos sanguíneos centralizados, rodeados por células e fibras colágenas bem como a membrana de cementoblastos ao longo da superfície do cimento. Ao longo de todo o ligamento apical, o tecido conjuntivo apresentou-se de aspecto normal com ausência de células inflamatórias (Figura 9E).

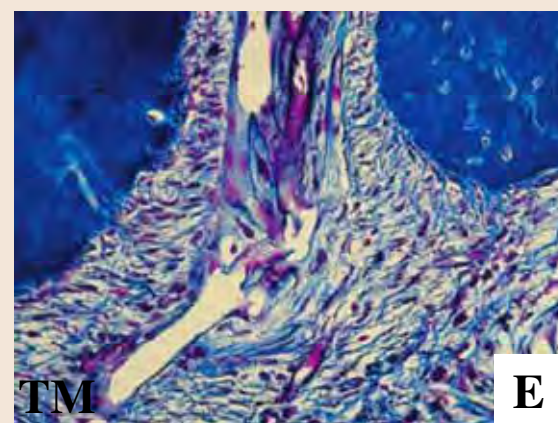
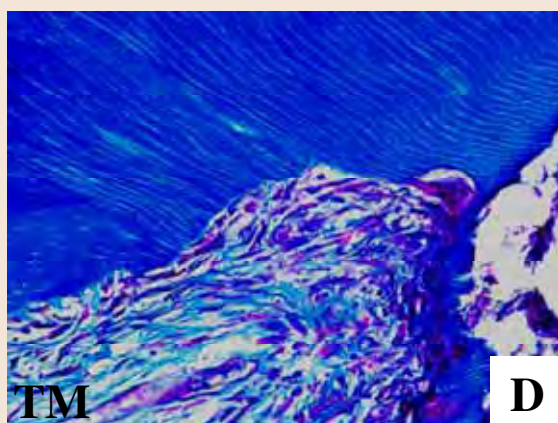
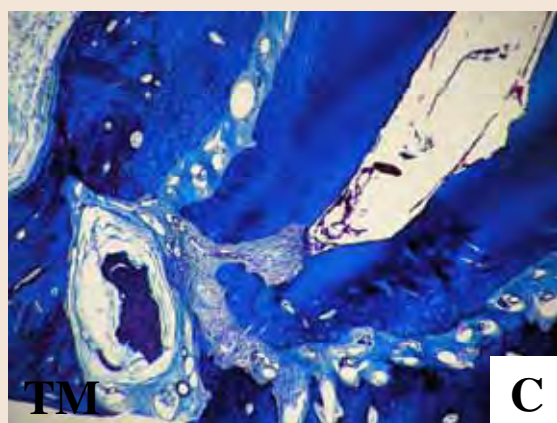
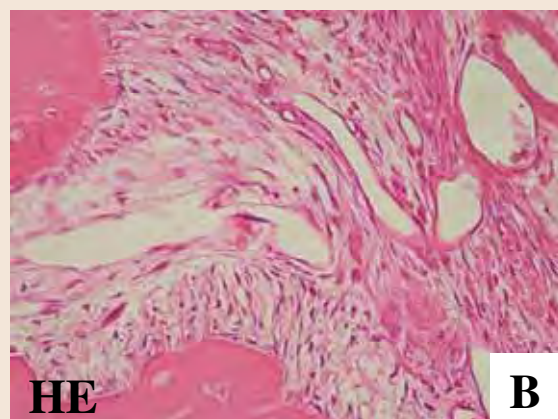
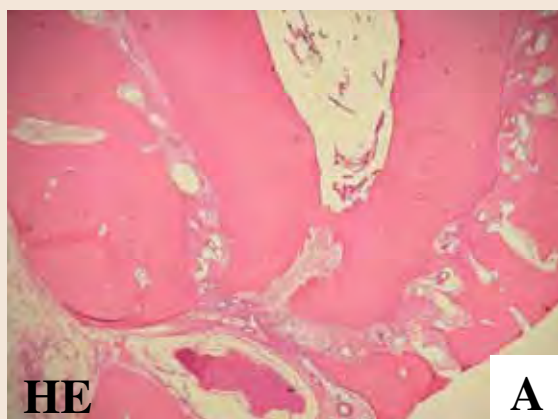


FIGURA 9 - Visão geral da região periapical do pré-molar inferior, 40X (A). Porção periapical preenchida por células e vasos sanguíneos de aspecto normal, 400X (B). Visão geral da região periapical do pré-molar inferior, 40X (C). Ligeira reabsorção formando um nicho com células clásticas e fibroblastos, 400X (D). Tecido conjuntivo de aspecto normal, 400X (E).

Análise Estatística

Em cada dente irradiado foram realizadas três avaliações dos eventos histológicos: inflamação celular e organização tecidual, adotando-se como representativo do dente a média de três escores em profundidades diferentes do mesmo dente para cada evento, com os grupos experimentais correspondendo ao laser aplicado: Grupo I (Laser Vermelho), Grupo II (laser Infra-Vermelho) e Grupo III (Controle: Sem Laser).

O teste de Kruskal-Wallis não indicou diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$), tanto para a inflamação celular como para a organização tecidual. Ainda que o teste de Kruskal-Wallis se baseie em postos médios, para facilitar a interpretação dos resultados, são apresentadas na Tabela 4 a média, mínimo e máximo dos escores de cada grupo, nos dois eventos histológicos. Na Figura 10 estão representadas as porcentagens de ocorrência de cada escore. Tanto pela tabela, como pela figura, não se nota evidências de diferenças entre os grupos quanto aos escores de inflamação celular ou de organização tecidual como sugerido pelo teste estatístico.

Tabela 4 - Estatísticas descritivas dos escores de eventos histológicos: inflamação celular e organização tecidual de acordo com o grupo experimental

Grupo	Estatística	Inflamação Celular	Organização tecidual
I	Mínimo	1,0	1,0
	Máximo	2,0	4,0
	Média	1,6	1,9
II	Mínimo	1,0	2,0
	Máximo	2,0	2,0
	Média	1,5	2,0
III	Mínimo	1,0	2,0
	Máximo	3,0	3,0
	Média	2,0	2,4
Kruskal-Wallis (p)		0,187*	0,101*

* não significativo ao nível de 5%

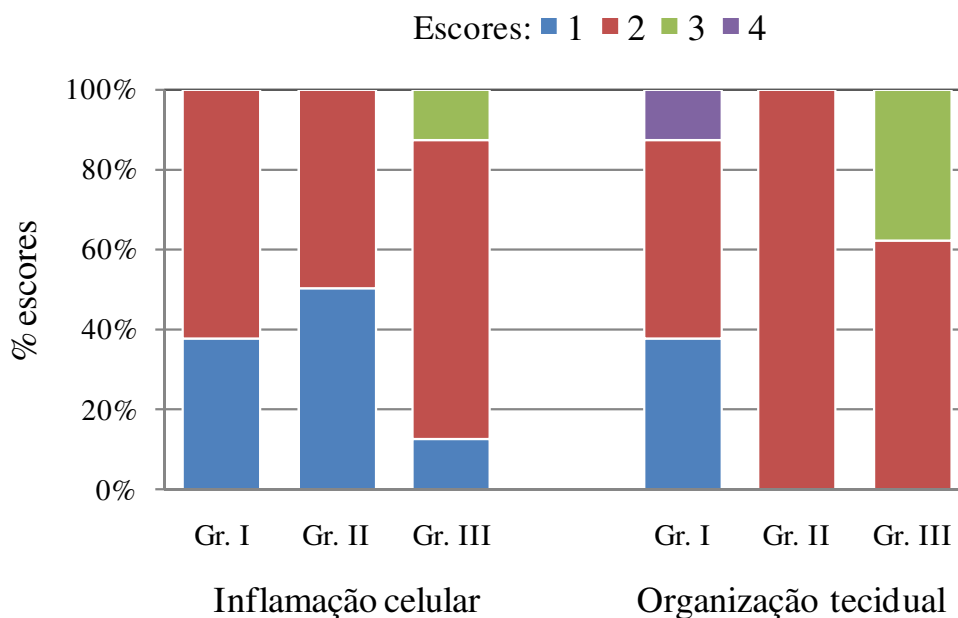


FIGURA 10 - Porcentagem de escores dos eventos histológicos: inflamação celular e organização tecidual de acordo com o grupo experimental.

Quanto à contagem das células do sistema imune presentes após o tratamento de canal: PMN (Polimorfonucleares), MCF (Macrófago) e Cementoblastos, também foram realizadas três avaliações em cada dente e adotada a média como representativa. Não ficaram evidenciadas correlações significativas entre as reações celulares, tendo sido aplicado o teste de Kruskal-Wallis na avaliação dos nove grupos formados pela combinação dos grupos experimentais (3) e reações celulares (3). O teste indicou diferença significativa entre grupos ($p < 0,001$). Essa avaliação foi complementada pelo teste de Dunn para a comparação dos grupos dois a dois. Não foi identificada diferença significativa entre grupos em qualquer das reações celulares ($p > 0,05$). Entretanto, entre as reações celulares as contagens menores são para os polimorfonucleares e as maiores para os cementoblastos, sendo as contagens de macrófagos intermediárias, não significativamente diferentes das outras duas.

Na Tabela 5 são apresentadas algumas estatísticas descritivas das contagens de células, as quais estão representadas graficamente na Figura 11. A média é uma medida de centro da distribuição de contagens e o mínimo e máximo indicam a dispersão dessas contagens. Esses valores explicam o resultado do teste estatístico, levando-se em conta a quantidade de dados experimentais disponíveis.

Tabela 5 - Estatísticas descritivas dos números de células observados em cada grupo experimental para as reações celulares ao tratamento de canal (reações celulares com letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Dunn ao nível de 5%)

Grupo	Estatística	Reações celulares		
		PMN	Macrófago	Cementoblasto
I	Mínimo	0,0	3,0	4,0
	Máximo	2,0	7,0	9,0
	Média	1,1 a	4,8 ab	6,9 b
II	Mínimo	2,0	3,0	4,0
	Máximo	3,0	5,0	11,0
	Média	2,4 a	3,6 ab	7,8 b
III	Mínimo	2,0	4,0	5,0
	Máximo	5,0	11,0	15,0
	Média	2,6 a	6,1 ab	9,6 b

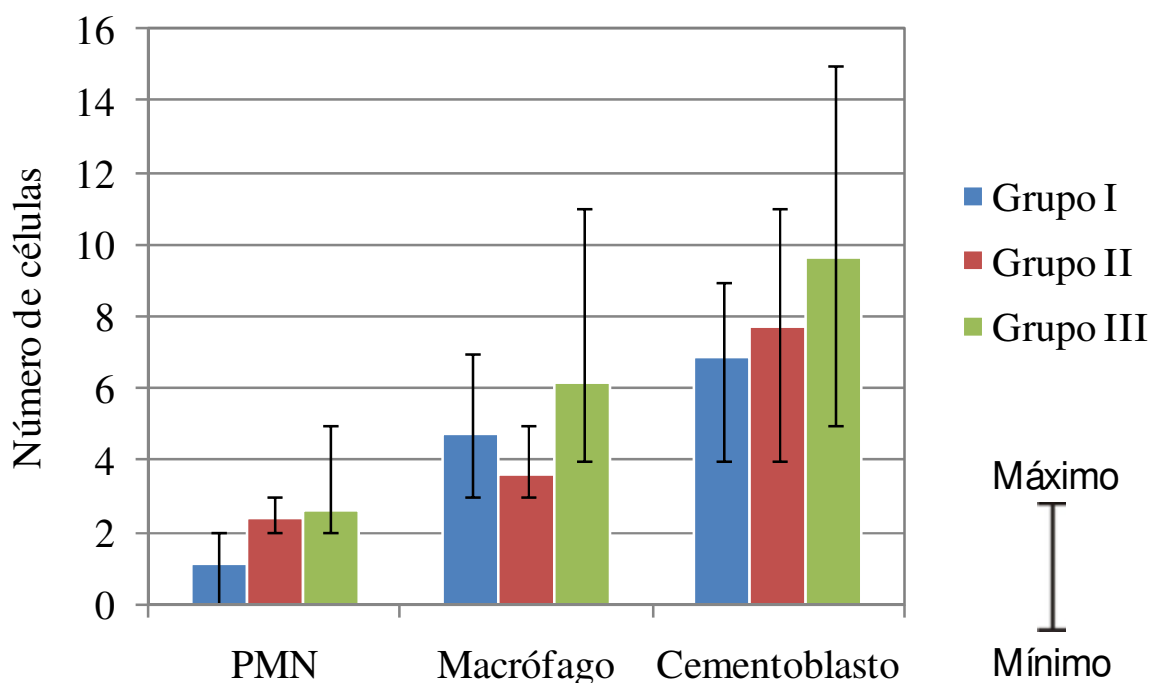


FIGURA 11 - Médias dos números de células (colunas) das reações celulares ao tratamento de canal

DISCUSSÃO

O cimento obturador ideal deve possuir propriedades biológicas e físico-químicas, que promova um selamento o mais hermético possível, que seja inerte aos tecidos e que possuam boas propriedades biológicas. Assim sendo, o material obturador não pode interferir e sim estimular o processo de reparo apical e periapical pós-tratamento endodôntico¹⁶.

Na Endodontia encontramos cimentos obturadores com diferentes composições, ou seja, o cimento à base de óxido de zinco e eugenol (OZE); cimento à base de resina epóxica; cimento à base de hidróxido de cálcio; cimento à base de silicone, cimento à base de ionômero de vidro, cimento à base de polímero de mamona e cimento à base de MTA. No nosso experimento, utilizamos o cimento à base de óxido de zinco e eugenol (EndoFill), pois o mesmo tem satisfatório desempenho em relação a suas propriedades físico-químicas, contudo, não apresenta comportamento biológico adequado^{8,25}.

Grossman em 1936 introduziu no mercado o cimento à base de óxido de zinco e eugenol, cimento esse ainda muito utilizados atualmente por apresentar boas propriedades físico-químicas, no entanto não apresenta boa biocompatibilidade, sendo irritante aos tecidos apicais e periapicais.

O comportamento do cimento OZE não é adequado aos tecidos, levando à injúria atribuída à presença de eugenol livre. Quanto aos resultados das reações histológicas do cimento à base de óxido de zinco e eugenol (OZE), ficou comprovado que o eugenol é citotóxico^{18,24,25}, resultando em reações adversas em

animais experimentais e humanos¹⁸, provoca dermatite de contato³ e reação alérgica verdadeira³.

Tanomaru Filho et al.²⁷ (1998), verificaram que o potencial irritante do material obturador tem influência direta e significativa no reparo tecidual após o término do tratamento de canais radiculares, sendo que o cimento OZE apresentou infiltrado inflamatório severo quando comparado ao cimento à base de hidróxido de cálcio Sealapex.

Conhecendo as propriedades biológicas não satisfatórias do cimento OZE, utilizamos em nosso estudo o laser de baixa intensidade vermelho ou infra-vermelho, para verificarmos qual deles apresenta resposta tecidual mais favorável quanto ao efeito irritante deste cimento .

O laser de baixa intensidade promove a bioestimulação e biomodulação, ou seja, fornece a célula uma baixa intensidade de energia, para estimular a membrana celular e as organelas, reparando o tecido lesado. Como a ação terapêutica do laser de baixa intensidade levam a aumento na microcirculação local, angiogênese, proliferação de células epiteliais e fibroblastos, aumento da síntese de colágeno pelos fibroblastos, ação antiinflamatória^{5,7}, o emprego do laser de baixa intensidade em nosso estudo pode ser justificado com a finalidade de minimizar o efeito irritante do Endofill.

O laser de baixa intensidade apresenta efeitos primários ou diretos, como bioquímicos, bioelétricos e bioenergéticos, e efeitos secundários ou indiretos, como, estímulo a microcirculação e estímulo ao trofismo celular. Na atuação sistêmica do laser de baixa intensidade, a resposta fotobiológica age

diretamente na célula e produz efeito imediato ou primário, levando ao aumento do metabolismo celular, atuando sobre as cristas mitocondriais, favorecendo a produção de energia celular¹².

A variação no comprimento de onda dos lasers vermelho e infra-vermelho levantou uma dúvida a respeito da atuação sobre as moléculas, células e membranas celulares¹¹. Neste trabalho decidimos compará-los a fim de responder tal pergunta. Verificamos que o comprimento de onda de 785 nm do laser infra-vermelho promoveu os melhores resultados.

Segundo Mochizuki-Oda et al.²² (2002), o laser infra-vermelho promove um aumento na produção da adenosina trifosfato (ATP) enquanto que o laser vermelho não altera a produção do mesmo. A homeostase celular necessita de permanente produção e consumo de energia. O ATP é o maior componente de energia para a célula. Sua síntese ocorre nas mitocôndrias, local onde se realiza a fosforilação oxidativa (Sztark et al.²⁶, 1999).

Os parâmetros de utilização do laser de baixa intensidade desse trabalho foram determinados devido aos resultados encontrados em estudos realizados em tecido conjuntivo por Araújo¹ (2008), ou seja, uma dosimetria de 2 J/cm².

Araújo¹ (2008), avaliando histologicamente o efeito do laser de baixa intensidade na resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos com o cimento Endofill à base de óxido zinco e eugenol, encontrou como resultado um tecido conjuntivo que reagiu de forma mais favorável ao Endofill

quando submetido ao laser de baixa intensidade, especialmente o infravermelho, minimizando o efeito irritante oferecido pelo cimento.

De acordo com os respectivos parâmetros do laser de baixa intensidade utilizados, nossos resultados demonstraram uma melhor resposta tecidual ao cimento Endofill nos grupos irradiados com laser de baixa intensidade, quando comparados com o grupo controle, concordando com outros estudos Araújo¹, Basford⁴ e Enwemeka, Reddy⁶. Tanto o laser vermelho quanto o infravermelho (GI e GII) abreviaram o processo de reparo no tecido conjuntivo, sendo o laser infra-vermelho o melhor resultado.

Os resultados deste estudo podem servir como um guia, para futuros trabalhos direcionados nesta linha de pesquisa, onde o mecanismo de ação do laser de baixa intensidade na reação do tecido periapical ao cimento OZE ainda é pouco estudada até o presente momento.

CONCLUSÃO

Considerando-se os padrões de condições de execução deste trabalho e de acordo com a metodologia empregada, os resultados nos permitem concluir que:

- 1- a irradiação com laser infra-vermelho estimula as células do periodonto de sustentação, induzindo a reparação periapical;
- 2- os resultados não indicaram diferença estatística significativa entre grupos para a reação inflamatória e organização tecidual;

3- a análise estatística das contagens das células não indicou diferenças estatísticas significantes entre grupos, porém houve diferença intra grupos;

4- a irradiação com laser infra-vermelho é indicada como terapia coadjuvante ao tratamento endodôntico.

REFERÊNCIAS

1. Araújo GS. Avaliação histológica do efeito do laser de baixa intensidade na resposta do tecido conjuntivo ao cimento Endofill [tese doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.
2. Barbosa SV, Araki K, Spangberg LS. Cytotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1993; 75: 357-61.
3. Barkin ME, Boyd JP, Cohen S. Acute allergic reaction to eugenol. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1984; 57: 441-2.
4. Basford JR. Low-intensity laser therapy: still not an established clinical tool. Lasers Surg Med. 1995; 16: 331-342.
5. Crisci FS. Reação histológica de exposições pulpares em dentes de ratos à aplicação do laser de baixa intensidade somente ou em associação ao capeamento com hidróxido de cálcio [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2002.

6. Enwemeka CS, Reddy K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective tissue repair processes. *Laser Ther.* 2000; 12: 22-30.
7. Genovese WJ. *Laser de baixa intensidade: Aplicações terapêuticas em Odontologia.* São Paulo: Editora Lovise; 2000.
8. Hume WR. Effect of eugenol on respiration and division in human pulp, mouse fibroblasts, and liver cells in vitro. *J Dent Res.* 1984; 63: 1262-5.
9. International Standard Organization. ISO/TR 7405 - 1984: biological evaluation of dental materials. Geneva; 1984.
10. Karu TI. Cellular mechanism of low power laser therapy: new questions. *Lasers in Medicine and Dentistry.* 2003; 3: 79-100.
11. Karu TI. Low power laser therapy. *Biomedical Photonics Handbook.* Florida: CRC Press; 2003.
12. Karu TI. High-tech helps to estimate cellular mechanisms of low power laser therapy. *Lasers Surg Med.* 2004; 34: 298-299.
13. Karu TI, Pyatibrat LV, Afanasyeva NI. A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. *Photochem Photobiol.* 2004; 80: 366-72.
14. Karu TI, Pyatibrat LV, Afanasyeva NI. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide. *Lasers Surg Med.* 2005; 36: 307-14.
15. Karu TI, Pyatibrat LV, Kalendo GS. Photobiological modulation of cell attachment via cytochrome c oxidase. *Photochem Photobiol Sci.* 2004; 3: 211-6.

16. LEONARDO MR. Filosofia do tratamento de canais radiculares: Conceitos biológicos e princípios técnicos. In: LEONARDO MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares – princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 99-122.
17. LILLYE RD. Histopathologic technic and practical histochemistry. New York: Mc Graw Hill; 1954.
18. LINDQVIST L, OTTESKOG P. Eugenol: liberation from dental materials and effect on human diploid fibroblast cells. Scand J Dent Res. 1980; 88: 552-6.
19. LIZARELLI RFZ. Protocolos clínicos odontológicos - uso do laser de baixa intensidade. São Carlos: Bons Negócios; 2005.
20. LOCCI JUNIOR A. Estudo biométrico e histológico do processo de reparo em feridas cutâneas, provocadas na região dorsal de ratos, submetidas ao tratamento com laser em baixa intensidade. Influência da associação de dois diferentes comprimentos de onda (685 e 780 nm) [dissertação mestrado]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2003.
21. MELLO JB, MELLO GPS. Tipos de laser e indicações. In: MELLO JB, MELLO GPS. Laser em odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2001. p. 41-51.
22. MOCHIZUKI-ODA N, KATAOKA Y, CUI Y, YAMADA H, HEYA M, AWAZU K. Effects of near-infra-red laser irradiation on adenosine triphosphate and adenosine diphosphate contents of rat brain tissue. Neuroscience Letters. 2002; 323: 207-10.

23. OLIVEIRA, M. F. Resposta do tecido pulpar à aplicação da pasta à base de hidróxido de cálcio precedida do emprego do curativo de corticosteróide ou corticosteréide/antibiótico. Estudo histológico em dentes de ratos [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2000.
24. RODRIGUES HH, SPANGBERG L, LANGELAND K. Efeitos biológicos de pastas obturadoras de canal sobre células HeLa in vitro. Rev Endodencia. 1976; 1: 3-8.
25. SPANGBERG L, LANGELAND K. Biologic effect of dental materials: 1. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1973; 35: 402-14.
26. SZTARK F, PAYEN JF, PIRIOU V, RIGOULET M, VENTURA-CLAPIER R, MAZAT JP, et al. Cellular energetic metabolism: physiological and pathological aspects. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation. 1999; 18: 261-9.
27. TANOMARU FILHO M, LEONARDO MR, SILVA LAB, UTRILLA LS. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic periradicular periodontitis. Int Endod J. 1998; 31: 85-9.
28. VLADIMIROV YA, OSIPOV AN, KLEBANOV GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. Biochemistry, 2004; 69: 81-90.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo ideal para avaliação da reação histológica seria em humanos, porém as demandas da sociedade moderna para os padrões apropriados de ética e segurança limitam severamente o número de ocasiões em que estes testes possam ser efetuados, pelo menos em relação a uma avaliação inicial. Sendo assim, modelos alternativos são necessários, levando assim à utilização de animais. Como consequência, diferentes espécies animais são utilizadas para testar a resposta do tecido conjuntivo frente a vários materiais, sendo que na literatura os mais encontrados são cães, roedores e macacos. Nos presentes trabalhos utilizamos o macaco, pois procuramos respeitar os níveis de pesquisa antes da sua indicação em seres humanos, já que o laser atualmente é muito utilizado em diferentes áreas da medicina (dermatologia, reumatologia, etc.) e pouco estudado na odontologia como capeador pulpar e no tratamento endodôntico.

Devido a inúmeras pesquisas em animais desenvolvidas em caráter mundial, hoje é de extrema importância a submissão dos projetos a um Comitê de Ética. Nós pesquisadores temos o dever de apresentar responsabilidades no tratamento humanitário com os animais. Por essa, e outras razões esses trabalhos foram submetido à apreciação do Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA, e obtiveram aprovação do mesmo (anexos).

O macaco é um animal muito utilizado na avaliação dos diferentes materiais odontológicos, porém a sua procriação para essa finalidade só

é conseguida em alguns centros especializados de difícil acesso aos pesquisadores, sendo que, estes animais permitem a obtenção de resultados dentro de períodos de tempo semelhantes aos humanos. Selecionamos apenas Macacos-Prego (*cebus apella libidinosus*) machos, devido não ser permitido a realização de pesquisa nas fêmeas, pois essas são apenas destinadas à procriação.

As arcadas dentárias destes animais são constituídas por quatro incisivos, dois caninos, três pré-molares e três molares, sendo que os dentes selecionados foram os incisivos superiores (centrais e laterais) e os pré-molares superiores e inferiores, devido à facilidade de acesso para tratamento.

REFERÊNCIAS*

1. Almeida-Lopes L. Laserterapia na odontologia. Biodonto. 2004; 1: 9-90.
2. Anneroth G, Hall G, Rydén H, Zetterqvist L. The effect of low-energy infra-red laser radiation on wound healing in rats. Br J Oral Maxillofac Surg. 1988; 26: 12-7.
3. Aydos JM. Tratamento da polpa dental inflamada. Rev Fac Odontol. 1985; 27: 153-71.
4. Araújo GS. Avaliação histológica do efeito do laser de baixa intensidade na resposta do tecido conjuntivo ao cimento Endofill [tese doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.
5. Bandeira MFCL. Estudo comparativo da compatibilidade biológica do óleo essencial da resina da copaífera multijuga, associados ao hidróxido de cálcio, em diferentes níveis de pesquisa: farmacológico, microbiológico em molares de rato [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1998.
6. Barkin ME, Boyd JP, Cohen S. Acute allergic reaction to eugenol. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1984; 57: 441-2.
7. Barr RE, Coluzzi DJ. Ciência básica, interação com o tecido, segurança, características, e terminologia para utilização de laser em odontologia. São Paulo; 1998.

* De acordo com Vancouver. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

8. Bosatra M, Jucci A, Olliaro P, Quacci D, Sacchi S. In vitro fibroblast and dermis fibroblast activation by laser irradiation at low energy. *Dermatologica*. 1984; 168: 157-62.
9. Byrnes KR, Ilev IK, Wu X, Barna L, Smith K, Heckert R, et al.. Light Promotes Regeneration and Functional Recovery and Alters the Immune Response After Spinal Cord Injury. *Lasers Surg Med*. 2005; 36: 171–85.
10. Chomette G, Auriol M, Zeitoun R, mousques T. Effet du soft-laser sur le tissu conjonctif gingival II - effet sur la cicatrisation. Etude en microscopie optique, histoenzymologie et microscopie électronique. *J Biol Buccale*. 1987; 15: 51-7.
11. Chow TR, Les Barnsley B. Systematic review of the literature of low-level laser therapy (LLLT) in the Management of Neck Pain. *Lasers Surg Med*. 2005; 37: 46–52.
12. Crisci FS. Reação histológica de exposições pulpares em dentes de ratos à aplicação do laser de baixa intensidade somente ou em associação ao capeamento com hidróxido de cálcio [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2002.
13. De Deus QD. Tratamento conservador da polpa dental. In: De Deus QD. *Endodontia*. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica; 1992. p 189-204.
14. Dias DB, Bausells HII, Lia RCC, Esberard RM. Efeito de materiais à base de hidróxido de cálcio, em polpas de dentes de cães expostas experimentalmente. *Rev Odontol UNESP*. 1988; 17: 27-42.

15. Duarte MAH, Moraes IG, Ogata M. Laser na endodontia. Rev Fac Odontol Lins. 1993/1994; 6/7: 36-9.
16. Einstein A. Zur quententheorie der strahlung. Phys. Z. 1917; 18: 121-8
apud MELLO JB. Laser: física e aplicações. In: Mello JB, Mello GPS. Laser em odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2001. p. 13-21.
17. Garcia VG, Milanezi LA, Kina JR. Avaliação biométrica de feridas cutâneas provocadas na região dorsal de ratos e submetidas ao tratamento com raio laser com diferentes frequências e potências. Rev Fac Odontol Lins. 1995; 8: 36-42.
18. Garcia VG, Okamoto T, Kina JR. Reparação das feridas cutâneas submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo histológico em ratos. Rev Odontol UNESP. 1996; 25: 37-48.
19. Garcia VG, Okamoto T, Kina JR, Fonseca RG, Theodoro LH. Reparação de feridas de extração dental submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo histológico em ratos. Rev Fac Odontol Lins. 1996; 9: 33-42.
20. Giro EMA, Iost HI, Lia RCC. Análise histopatológica comparativa em polpa de dentes de cães, após pulpotomia e utilização de pastas a base de hidróxido de cálcio em diferentes veículos. Rev Odontol Unesp. 1994; 23: 191-201.
21. Hansson TL. Infrared laser in the treatment of craniomandibular disorders, artbrogenous pain. J Prosthet Dent.. 1989; 61: 614-7.
22. Harazaki M, Isshiki Y. Soft laser irradiation effects on pain reduction in orthodontic treatment. Bull Tokyo Dent Coll. 1997; 38: 291-5.

23. Holland R, Souza V, Mello W, Nery MJ, Pannain R, Bernabé PFE, et al. Healing process of dental pulp after pulpotomy or curettage and calcium hydroxide protection. Effect of corticosteroid dressing. Rev. Fac. Odontol. Araçatuba. 1978; 7: 153-61.
24. In De Braekt MMH, Van Alphen FAM, Kuijpersjagtman AM, Maltha JC. Effect of low level laser therapy on wound healing after palatal surgery in beagle dogs. Lasers Surg Med. 1991; 11: 462-70.
25. Iwase T, Saito T, Nara Y, Morioka T. Inhibitory effect of He-Ne laser on dental plaque deposition in hamsters. J Periodontal Res. 1989; 24: 282-3.
26. Karu TI, Pyatibrat LV, Kalendo GS. Photobiological modulation of cell attachment via cytochrome c oxidase. Photochem and Photobiol Sci. 2004; 3: 211-6.
27. Knappe V, Frank F, Rohde E. Principles of lasers and biophotonic effects. Photomed Laser Surg. 2004; 22: 411-7.
28. Koch G, Magnusson B, Nobreus N, Nyquist G, Soderholm G. Contact allergy to medicaments and materials used in dentistry. Sensitizing effect of eugenol-colophony in surgical dressing. Odontol Revy. 1973; 24: 109-14.
29. Langeland K, Guttuso J, Langeland LK, Tobon G. Methods in the study of biologic response to endodontic materials. Oral Surg. 1969; 27: 522-42.
30. Leonardo MR. Filosofia do tratamento de canais radiculares: Conceitos biológicos e princípios técnicos. In: Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares – princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 99-122.

31. Leonardo MR, Leal JM. Materiais obturadores de canais radiculares. In: Leonardo MR. Endodontia - tratamento de canais radiculares. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 1063-145.
32. Leonardo MR, Lia RCC. Alterações pulpare: semiologia, diagnóstico clínico e indicações de tratamento. In: Leonardo MR, Leal JM. Endodontia: tratamento de canais radiculares. São Paulo: Editorial Médica Panamericana; 1991. p. 29-39.
33. Lopes LA, Brugnera JR A. Aplicações clínicas do laser não-cirúrgico. In: Brugnera JR A, Pinheiro ALB. Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast.; 1998. p. 101-20.
34. Maiman TH. Stimulated Optical radiation in ruby. Nature. 1960; 187: 493-4.
35. Mello JB. Introdução. In: Mello JB, Mello GPS. Laser em odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 2001. p. 3-9.
36. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. Lasers Surg Med. 1985; 5: 31-9.
37. Nygreen JA. Radgivare anghende blaen satted att varda och bevara tanderunn friskhet. Stokholm, 1838 apud Martin DM, Crabb HSM. Calcium hydroxide in root canal therapy. A review. Br Dent J. 1997; 142: 277-83.
38. Paterson RC, Radford JR, Watts A. The response of the rat molar pulp to two proprietary calcium hydroxide preparations. Br. Dent. J. 1981; 151: 184-6.

39. Pereira JC, Bramante CM, Berbert A, Mondelli J. Effect of calcium hydroxide in powder or in paste form on pulp-capping procedures: histopathologic and radiographic analysis in dog's pulp. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980; 50: 176-86.
40. Pinheiro ALB. Normas de segurança quando da utilização de laser. *RGO*, 1995; 43: 227-31.
41. Pinheiro ALB. Evolução histórica. In: Brugnera Jr A, Pinheiro ALB. *Lasers na odontologia moderna*. São Paulo: Pancast; 1998. p. 19-26.
42. Pinheiro ALB, Frame JW. Laser em odontologia. Seu uso atual e perspectivas futuras. *RGO*. 1992; 40: 327-32.
43. Pinheiro ALB, Cavalcanti ET, Pinheiro TITNR, Alves MJPC, Manzi CTA. Low-level laser therapy in the management of disorders of maxillofacial region. *J Clin Laser Med Surg.* 1997; 15: 181-3.
44. Pretel H. Ação de biomateriais e laser de baixa intensidade na reparação tecidual óssea: estudo histológico em ratos [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2005.
45. Ribeiro RA. Resposta pulpar de dentes decíduos pulpotomizados e irradiados, ou não, por um laser de baixa potência semicondutor de arseneto de gálio-alumínio: estudo conduzido em cães [dissertação mestrado]. São Paulo, Faculdade de Odontologia USP; 1996.
46. Russo MC, Holland R, Souza V. Radiographic and histological evaluation of the treatment of inflamed dental pulps. *Int Endod J.* 1982; 15: 137-42.

47. Schawlow AL, Townes CH. Infrared and optical maser. Phys Rev 1958; 102: 1940-9, apud Pinheiro ALB. Evolução histórica. In: Brugnera Jr A, Pinheiro ALB. Lasers na odontologia moderna. São Paulo: Pancast; 1998. p. 19-26.
48. Seltzer S, Bender IB. The dental pulp. Philadelphia: Lippincot; 1984.
49. Silva FT, Puglisi NS, Araújo VC. Resposta do tecido conjuntivo pulpar frente ao hidróxido de cálcio P. A. associado à água destilada e ao hidróxido de cálcio P. A. associado ao soro fisiológico. RPG. 1996; 3: 59-65.
50. Tagger M, Tagger E. Pulp capping in monkeys with Reolit and Life, two calcium hydroxide bases with different pH. J Endod. 1985; 11: 394-400.
51. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic periradicular periodontitis. Int Endod J. 1998; 31: 85-9.
52. Universidade Ibirapuera. Curso de Odontologia. Bases para a prática clínica do laser na odontologia [apostila]. São Paulo; 2001.
53. Watts A, Paterson RC. A comparasion of pulp responses to two different materiais in the dog and the rat. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1981; 52: 648-52.
54. Wilder-Smith P. The soft laser: therapeutic tool or popular placebo? Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1988; 66: 654-8.

Anexos

ANEXO 1

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



Rua Humaitá, 1680 - C.P. 14801-903 - Caixa Postal 331 Fax (0xx16) 2014-433 - Araraquara - SP
Fone: (0xx16) 2014-431 - e-mail: diretor@foar.unesp.br / home page: <http://www.foar.unesp.br>
Comitê de Ética na Experimentação Animal - CEEA

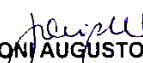
Araraquara, 09 de dezembro de 2003

Ofício CEEA-FO/Ar. nº 55/2003

Senhor(a) Pesquisador(a):

O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara, reunido em 01/dezembro/2003, após a avaliação final do Projeto de sua responsabilidade intitulado **“Resposta tecidual de exposições pulpares em dentes incisivos superiores de macacos-prego (*Cebus apella*) com variações nos tempos de aplicação do laser de baixa intensidade associado ao capeamento com hidróxido de cálcio”** (Proc. 17/2003) considerou-o **APROVADO**, devendo o relatório final ser apresentado em setembro/2005.

Atenciosamente,


Prof. Dr. JONIAUGUSTO CIRELLI
Coordenador do CEEA

Ao
C.D. FERNADO SIMÕES CRISCI
DD. Pesquisador Responsável
Nesta

ANEXO 2



Centro Universitário de Araraquara

Rua Voluntários da Pátria, 1309 - Centro - Araraquara - SP
CEP 14801-320 - Caixa Postal 58 - Fone/Fax: (16) 3301-7100

www.uniara.edu.br

Araraquara, 15 de fevereiro de 2006

Parecer do projeto nº 424

ILMO. PROF. FERNANDO SIMÕES CRISCI

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em análise do projeto de pesquisa "Efeito do laser de baixa intensidade sobre a agressividade tecidual do cimento de óxido de zinco e eugenol nos tecidos apicais e periapicais de dentes de macaco-prego (*cebus apella*) após tratamento endodôntico em biopulpectomia" de vossa autoria, concluem que o mesmo está adequado as orientações contidas no regimento deste comitê e em conformidade com os princípios internacionais para pesquisa biomédica envolvendo animais de laboratório. Sendo assim, salvo melhor juízo, o projeto está **APROVADO**.

