



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

EFEITOS *IN VIVO* DO LASER DE HÓLMIO EM  
ESTRUTURA DENTAL: MONITORAÇÃO TÉRMICA  
E ANÁLISE HISTOLÓGICA DO TECIDO PULPAR

CLÁUDIA STREFEZZA

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências na Área de Tecnologia  
Nuclear - Materiais

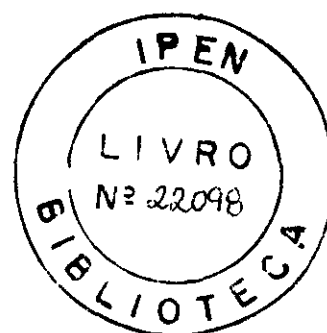
Orientadora:  
Profa. Dra. Denise M. Zezell

São Paulo  
2001

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**EFEITOS *IN VIVO* DO LASER DE HÓLMIO EM  
ESTRUTURA DENTAL: MONITORAÇÃO TÉRMICA E  
ANÁLISE HISTOLÓGICA DO TECIDO PULPAR**



**Cláudia Strefezza**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Denise M. Zezell

**São Paulo**

**2001**

Alguns homens lutam um dia e são bons;  
outros lutam um ano e são melhores;  
os que lutam vários anos são ótimos;  
mas os que lutam a vida toda...  
...esses são imprecindíveis.

(Bertold Brecht)

A Deus pela vida e a benção do aprendizado

Aos meus queridos pais, Ilda e Norberto

Que sempre souberam me ensinar os caminhos mais nobres e virtuosos

Meu eterno reconhecimento e gratidão.

Aos irmãos Liliana e Fábio  
sobrinho Maurício, e  
minha cunhada Estela  
Obrigada

A Profa. Dra. Denise Maria Zezell

Pela amizade, compreensão, apoio e brilhante orientação.  
Meu respeito, gratidão e grande admiração.

Ao Prof. Dr Carlos de Paula Eduardo

A quem admiro profundamente pelo direcionamento de sua vida profissional.

Agradeço por toda a confiança, crédito e por todas as portas que abriu em minha vida profissional.

**Professor** o senhor é um exemplo para todos nós.

Ao Prof. Dr. Jarbas Arruda Bauer

Pelos valiosos conhecimentos transmitidos ao longo deste trabalho.  
Pela amizade, recepção e amparo científico que sempre me ofereceu.  
Muito Obrigada

Ao Prof. Dr João Humberto Antoniazzi

Pela inestimável colaboração e acompanhamento neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Niklaus U. Wetter

Agradeço a participação em meu seminário de área contribuindo com  
valiosa orientação para o término desta dissertação.

Ao querido Eduardo pelo carinho, companheirismo, apoio, e pela paciência de todas as horas. Pelo incentivo constante acreditando que eu conseguiria ultrapassar todos os obstáculos. Pela bela e inestimável parceria. Muito do meu caminho se deve, com a mais absoluta certeza, aos seus valiosos e ponderados conselhos e atitudes.

*Mas acima de tudo obrigada por existir.*

Aos amigos do coração : Edgar, Patrícia, Sheila e Pelino, pela amizade e solidariedade que nos une em todos os momentos e nos muitos que virão neste novo milênio.

Ao querido Luciano pela colaboração e paciência incomensuráveis durante todo mestrado e na elaboração desta dissertação e outros trabalhos. Com certeza esta convivência resultou em uma grande amizade.

À Profa. Dra. Margareth Oda responsável pela minha volta à vida universitária e científica.

Aos amigos da FOU SP: Cíntia, Flávia, Renata, Rose e Vanessa.



À Dra. Marta Ribeiro Simões pela amizade e apoio sempre presentes.

À Dra. Elenice Nogueira Gonçalves que colaborou sempre que possível no direcionamento deste trabalho.

Aos : Prof. Dr. Abílio Albuquerque M. Moura, Prof. Dr. José Luiz Lage-Marques, e Prof. Dr. Sigmar de Mello Rode, pela gentil contribuição neste trabalho.

Ao Dr. Nilson Dias Vieira Jr. pela atenção e dedicação.

Ao Dr. Wagner Rossi, pela colaboração e permissão de utilizar seu laboratório para realização do experimento na fase do emprego do laser de hólmio.

Aos colegas do curso de pós graduação:

Andréa, Anderson, Daniela, Heloisa, Marcelo, Patrícia, Ricardo, Sandro, Tarso, Walter.

Pela convivência, companheirismo e aprendizados.

À Dra. Nancy responsável pelo biotério do IPEN e aos técnicos: Cícero e Calixto.

Aos mais novos e queridos amigos do ICB: Margot e Edilson.

Margot agradeço a imensa colaboração e ensinamentos durante todo o árduo trabalho com os nossos *coelhinhos*.

Às secretárias do CLA, Elza e Edna.

Às secretárias da Odontologia: Cida, katia, Liliane, e Neuza.

À minha secretária Maria.

Aos funcionários da CPG: Ana, Eliana, Fernando, Sandra e Vera.

Ao Cebola e Cebolinha responsáveis pela Microscopia eletrônica de varredura do IPEN.

À Maria Regina Machado pelo trabalho de revisão desta dissertação.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

A todos da FOUSP e IPEN que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

**EFEITOS *IN VIVO* DO LASER DE HÓLMIO EM ESTRUTURA DENTAL:  
MONITORAÇÃO TÉRMICA E ANÁLISE HISTOLÓGICA DO TECIDO PULPAR**

Cláudia Strefezza

**RESUMO**

Estudos prévios têm demonstrado que o laser de Ho:YLF pode induzir mudanças físicas e químicas na superfície do esmalte dental, com o intuito de promover a prevenção de cáries. A temperatura na câmara pulpar em razão da energia e frequência de irradiação laser na superfície oclusal foi avaliada *in vitro*. O objetivo deste trabalho é verificar a eventual ocorrência de inflamação pulpar causada pelo laser de Ho:YLF na superfície oclusal de dentes de coelhos. Os pré-molares e molares de dez coelhos (NZB) foram divididos em dois grupos e submetidos a diferentes valores de energia de irradiação por um protótipo de laser de Ho:YLF com comprimento de onda de 2,065 $\mu$ m, taxa de repetição de 0,5Hz e largura temporal 250 $\mu$ s. O grupo A foi irradiado com dez pulsos de energia média de 334mJ/pulso e densidade de energia de 286,7J/cm<sup>2</sup>, e o grupo B com dez pulsos de energia média de 512mJ/pulso e densidade de energia de 477,8J/cm<sup>2</sup>. Os animais foram sacrificados por perfusão transcardíaca e as amostras de polpa para análise histopatológicas foram preparadas. A monitoração da temperatura *in vitro* revelou uma elevação de temperatura de 1°C para a energia média de 334mJ/pulso, e 4,5°C para a energia de 512mJ/pulso. Foi observada por microscopia eletrônica de varredura a ocorrência de fusão e ressolidificação na superfície dental. A partir das análises *in vivo*, pode-se concluir que ambos os parâmetros empregados não induziram a nenhuma resposta inflamatória pulpar.

**EFFECTS OF HOLMIUM LASER ON DENTAL STRUCTURE *IN VIVO*: THERMAL EVALUATION AND HISTOLOGICAL ANALYSIS ON PULPAL TISSUE**

Cláudia Strefezza

**ABSTRACT**

Previous *in vitro* studies have demonstrated that Ho:YLF laser is capable of inducing physical and chemical changes on dental surfaces treated for caries prevention. The temperature in the pulp chamber was *in vitro* evaluated to as a function of the power and frequency of the laser irradiation. The purpose of this work is to verify the occurrence of pulp inflammation after Ho:YLF laser irradiation using different parameters in rabbits' teeth. The premolars and molars of ten rabbits (NZZ) were divided in two groups according to the irradiation energy values of a Ho:YLF laser prototype operating at 2.065 $\mu$ m of wave length, frequency of 0,5Hz and pulse length of 250 $\mu$ s. An group A teeth were irradiated with using ten pulses of 334mJ/pulse of a Ho:YLF laser prototype operating at 0.5Hz, and group B, with 512mJ/pulse. Animals were killed by transcardiac perfusion and the samples were prepared for histopathological analysis. The *in vitro* temperature monitoring revealed an increase of 1°C for the 334mJ/pulse energy and 4.5°C for the 512mJ/pulse energy. SEM observations showed the occurrence of melting and resolidification in dental surface. From the *in vivo* analysis it can be concluded that both employed laser parameters didn't induce to any inflammatory response from the pulp.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
<b>3.1. Laser .....</b>	<b>4</b>
<b>3.2. Laser de hólmio.....</b>	<b>7</b>
<b>3.3. Aumento de temperatura .....</b>	<b>12</b>
<b>3.4. Laser em prevenção de cáries.....</b>	<b>19</b>
3.4.1 Outros lasers .....	19
3.4.2 Prevenção com laser de hólmio.....	25
<b>3.5. A polpa dental <sup>II, II, II</sup> .....</b>	<b>27</b>
3.5.1 Aspectos citológicos .....	28
3.5.2 Alterações pulpareas .....	32
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1. Experimento <i>in vitro</i> .....</b>	<b>34</b>
4.1.1. Determinação do perfil térmico pulpar durante a irradiação <i>in vitro</i> .....	34
4.1.2. Preparação das amostras para a microscopia eletrônica de varredura.....	37
<b>4.2. Experimento <i>in vivo</i> .....</b>	<b>37</b>
4.2.1. Descrição do experimento .....	39
4.2.2. Preparação das amostras para avaliação histopatológica.....	40
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1. Experimento <i>in vitro</i> .....</b>	<b>45</b>
5.1.1. Perfil térmico pulpar .....	45

5.1.2.	Análise morfológica por MEV .....	48
<b>5.2.</b>	<b>Experimento <i>in vivo</i> .....</b>	<b>50</b>
5.2.1.	Análise histopatológica dos dentes irradiados do grupo A e dos dentes-controle .....	50
5.2.2.	Análise histopatológica dos dentes irradiados do grupo B e dos dentes-controle .....	52
5.2.3.	Interpretação histopatológica.....	53
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>63</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>64</b>

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> Espectro de absorção da água e hidroxiapatita .....	8
<i>Figura 2</i> Anatomia dental .....	28
<i>Figura 3</i> Fotomicrografia de polpa. Nota-se a camada de odontoblastos com prolongamentos citoplasmáticos (seta), zona acelular (A), zona rica em células e a zona central da polpa (C) com a presença de vasos (V). H.E. 220X[70]. .....	29
<i>Figura 4</i> Fotomicrografia de polpa, onde se vê dentina (D), região de pré-dentina (PD), uma camada de odontoblastos (O), tecido conjuntivo com fibras colágenas (X), vascularizado (V). H.E., 200X[70]. .....	30
<i>Figura 5</i> Laser de Ho:Er:Tm:LiYF <sub>4</sub> .....	35
<i>Figura 6</i> Sistema de acoplamento com fibra óptica de baixo teor de OH .....	35
<i>Figura 7</i> Montagem experimental do sistema de aquisição da temperatura .....	36
<i>Figura 8</i> Irradiação com laser de hólmio na superfície oclusal do segundo pré-molar .....	40
<i>Figura 9</i> Perfusão transcardíaca .....	42
<i>Figura 10</i> Obtenção de preparações histológicas permanentes, cortes semi-seriados com 6µm de espessura obtidos em microtomo (Microtome American Optical Corporation) .....	44
<i>Figura 11</i> O perfil térmico para energia média de 334mJ/pulso, atingiu uma .....	45
<i>Figura 12</i> O perfil térmico para energia média de 512mJ/pulso, alcançou uma temperatura máxima de 4,5 <sup>o</sup> C .....	46
<i>Figura 13</i> Superfície-controle: esmalte dental não irradiado. ....	49
<i>Figura 14</i> Superfície de esmalte dental irradiada com laser de Ho:YLF Observa-se a presença de áreas características de fusão e ressolidificação .....	49
<i>Figura 15</i> Grupo B, energia máxima, zero hora (controle absoluto), sacrificado imediatamente após irradiação .....	55
<i>Figura 16</i> Grupo B, energia máxima, após 6 horas com laser de hólmio .....	56
<i>Figura 17</i> Grupo B, energia máxima, após 6 horas da irradiação com laser de hólmio E= 512mJ/pulso, 10 pulsos, D= 477,8J/cm <sup>2</sup> , f=0,5 Hz .....	57
<i>Figura 18</i> Grupo B, energia máxima, após 24 horas com laser de hólmio .....	58
<i>Figura 19</i> Grupo B, energia máxima, após 24 horas com laser de hólmio .....	59

<i>Figura 20 Grupo B, energia máxima, após 72 horas com laser de hólmio.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 21 Grupo B, energia máxima, após 72 horas com laser de hólmio.....</i>	<i>61</i>



MEV: microscopia eletrônica de varredura

ML: microscopia de luz

PH: período hábil

PL: período de latência

PW: *P(ulsed) W(ave)*, onda pulsada

USP: Universidade de São Paulo

UV: ultravioleta

### **A1.2: Biologia**

HE: hematoxilina e eosina

MEC: matriz extracelular

pH: potencial hidrogeniônico

RE: retículo endoplasmático agranular

REG: retículo endoplasmático granular ou rugoso

### **A1.3: Física**

A: área

D: dose, fluência ou densidade de energia

E: energia

$E_p$ : energia do pulso

f: comprimento focal

f: frequência ou taxa de repetição

$\phi$  : diâmetro

I: intensidade

$\lambda$ : comprimento de onda

P: potência

$P_m$ : potência média

t: tempo

T: período

#### **A1.4: Química**

Ar: argônio

C: carbono

CO<sub>2</sub>: dióxido de carbono

Ca: cálcio

Er: érbio

H: hidrogênio

He: hélio

He-Ne: hélio e neônio

Ho: hólmio

Kr: criptônio

Li: lítio

Na: sódio

Nd: neodímio

Nd:YAG: matriz hospedeira YAG dopada com Nd

Ne: neônio

O: oxigênio

Tm: túlio

Y: ítrio

YAG: *Y*(ttrium) *A*(luminum) *G*(amet), granada de ítrio e alumínio

YLF: *Y*(ttrium) *L*(ithium) *F*(luoride), fluoreto de ítrio e lítio; LiYF<sub>4</sub>: tetrafluoreto de ítrio e lítio

### **A1.5: Unidades**

°C: graus Celsius ou graus centígrados

cm: centímetro

cm<sup>2</sup>: centímetro ao quadrado

eV: elétron-Volt

g: grama

h: hora

hs: horas

Hz: hertz

J: joule

m: metro

M: molar

min: minuto

mJ: milijoule

ml: mililitro

mm: milímetro

ms: milissegundo

mW: miliwatt

μm: micrômetro

μm<sup>2</sup>: micrômetro ao quadrado

$\mu$ s: microssegundo

nm: nanômetro

s: segundo

W: Watt

## 1. INTRODUÇÃO

Diversos lasers têm sido empregados no intuito de promover um aumento da resistência do esmalte dental à dissolução dos ácidos produzidos por bactérias existentes na microflora bucal, bem como de aumentar a incorporação de íons flúor à superfície dental. Alguns trabalhos demonstram que as superfícies de esmalte irradiadas com determinado comprimento de onda podem sofrer fusão seguida de solidificação, com aumento da microdureza deste esmalte [1], [2], [3], [4], [5], [7]. Essas mudanças nas propriedades físicas e químicas do esmalte irradiado com laser contribuem para a inibição do surgimento da doença cárie. Nesse sentido novos comprimentos de onda de emissão laser têm sido pesquisados quanto ao seu potencial de prevenção de cáries.

O Centro de Lasers e Aplicações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN/SP desenvolveu um protótipo de laser de Ho:YLF para aplicações biomédicas em 1993. Desde então o Laboratório de Lasers em Ciências da Vida do IPEN vem colaborando com a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo-FOUSP, tendo direcionado grande parte das atividades de pesquisa com o laser de Ho:YLF para aplicações odontológicas. Dessa colaboração, em relação ao tema modificação superficial de esmalte visando à prevenção de cáries, resultaram dissertações de mestrado [6], [7], [8], [9], [10], [11] e várias publicações, algumas delas com laser de hólmio [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18]. Todos os trabalhos com laser de hólmio, porém, foram realizados *in vitro*.

A finalidade do presente trabalho é, portanto, a de utilizar o laser de Ho:YLF

em novos experimentos *in vitro*, assim como testar *in vivo* suas conseqüências histopatológicas no tecido pulpar quando da irradiação do esmalte dental com o laser de hólmio.

## 2. OBJETIVOS

Trabalhos *in vitro* desenvolvidos no Laboratório de Lasers em Ciências da Vida [1], [6], [9], [14] mostraram que o esmalte de dentes irradiados com o laser de Ho:YLF apresenta mudanças em suas propriedades físicas e químicas, tais como aumento na incorporação de flúor e na resistência ao ataque ácido, o que pode ser útil para a prevenção de cáries.

Com base nestes resultados anteriores, este trabalho pretende verificar a viabilidade de uso desta metodologia para prevenção de cáries *in vivo*.

São objetivos do presente trabalho:

1. Monitorar *in vitro* a temperatura intrapulpar em dentes de coelhos irradiados em sua superfície oclusal com laser de hólmio.
2. Verificar *in vivo*, por meio de avaliação histopatológica, possíveis alterações histológicas na polpa dental, diante da irradiação do laser de hólmio em pré-molares e molares de coelhos.



### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1. Laser

As propriedades físicas da luz laser permitem vastas aplicações médicas e odontológicas e em muitas delas os efeitos se resumem na transformação da sua energia luminosa em calor. O efeito dessa transformação está na dependência de vários fatores, por exemplo, o comprimento de onda, modo de emissão, densidade de energia ou potência do feixe de luz e ainda, a composição do tecido alvo, esta responsável por sua interação com a referida radiação.

A energia da luz laser ao incidir no tecido alvo pode experienciar quatro processos ópticos: reflexão, transmissão, espalhamento e absorção. Dessa forma, uma porção do feixe pode ser refletida pela superfície, sem que haja penetração ou interação com o tecido; parte pode ser transmitida por intermédio do tecido, não provocando efeito sobre este. Quando o feixe laser é espalhado pelo tecido, e absorvido por uma vasta área, pode causar efeitos difusos e fracos, e em determinados casos ele poderá provocar danos distantes da área de focalização. Entretanto, para que haja algum efeito sobre o tecido é preciso que a energia da luz laser seja absorvida por um pequeno volume deste tecido.

A absorção da luz laser pelo tecido alvo pode produzir, do ponto de vista de alteração térmica, dois tipos de efeitos. São eles:

- a) efeito térmico: causa aumento da temperatura no tecido alvo podendo levar à sua coagulação, sua vaporização, seu corte ou sua carbonização.

A maior parte das aplicações odontológicas dos lasers utiliza fótons menos energéticos, na região do infravermelho, fazendo com que os átomos ou moléculas vibrem muito mais rapidamente, levando a um aumento de temperatura.

A energia transportada pelo feixe laser e absorvida pelo tecido causa efeito térmico com degradação local em calor, convertendo energia eletromagnética em energia térmica. A ação térmica é modulada pela condutividade térmica dos tecidos atingidos e pela vascularização local. O calor flui do tecido aquecido para os tecidos adjacentes à região de incidência do feixe laser.

A coagulação ocorre quando o tecido é aquecido a temperaturas superiores a 60°C, provocando mudanças estruturais as quais podem ser observadas macroscopicamente por uma área esbranquiçada, ocorrendo ainda a denaturação de proteínas.

A vaporização ocorre com a elevação da temperatura do tecido, ou seja, acima de 100°C, ocorrendo assim a ebulição da água celular e sua conseqüente explosão.

A carbonização tecidual ocorre quando sua temperatura alcança níveis entre 300 e 400°C.

b) efeito não-térmico: ocorre quando a temperatura do tecido alvo permanece inalterada, levando a efeitos fotoquímicos, fotoelétricos e fotomecânicos, entre outros.

Considerando-se que apenas a luz absorvida será útil nas aplicações biomédicas terapêuticas, torna-se importante conhecer a absorção óptica dos

tecidos em razão do comprimento de onda. Dessa forma, dependendo da composição e das características do tecido alvo, determinado comprimento de onda será mais ou menos absorvido. A variação da penetração da radiação nos tecidos, fator dependente do comprimento de onda, é também importante na escolha do laser para determinado procedimento clínico.

Os sistemas biológicos são complexos e constituídos de uma grande variedade de elementos celulares e fluidos teciduais, cada um com diferentes características de absorção. Uma vez que o corpo humano é predominantemente constituído por água, a absorção da luz pela água é de fundamental importância quando se visam aplicações biomédicas.

Os elementos do tecido que exibem um alto coeficiente de absorção de certo comprimento de onda, ou por uma região do espectro, são chamados de cromóforos. Além da água, outros cromóforos como a melanina, a hemoglobina, as proteínas e no caso de tecidos dentais mineralizados, a hidroxiapatita também exercem significativa influência sobre a interação da radiação com o tecido.

A avaliação dos efeitos da radiação laser deve ser considerada em todas as diferentes estruturas da cavidade oral. O conhecimento desses efeitos é de primordial importância quando se deseja estabelecer padrões de irradiações visando à manutenção da saúde tecidual e à ausência de efeitos indesejáveis.

O elemento dental apresenta-se constituído por esmalte, pela dentina e pela polpa. Este último tecido é altamente vascularizado e responsável pela formação da dentina e da nutrição do dente. Efeitos deletérios ao tecido pulpar, por exemplo, o aumento de temperatura na câmara pulpar, podem ocasionar diversas

respostas como o aumento da microvascularização neste tecido e formação de dentina mineralizada por meio da ativação dos odontoblastos [16].

### 3.2. Laser de hólmio

O primeiro relato da ação laser do íon de hólmio, com comprimento de onda de  $2,065\mu\text{m}$ , data de 1962, em pesquisa publicada por Johnson Boyd e Nassau, nos laboratórios de *AT&Bell Telephone* sob condições de bombeamento com lâmpada [19].

Lasers de hólmio são lasers de matrizes sólidas dopados com terras raras, sendo os principais hospedeiros ou meio ativos: YAG ( $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ : ítrio-alumínio-granada), YLF ( $\text{LiYF}_4$ : fluoreto de ítrio-lítio) e YVO ( $\text{YVO}_4$ : ítrio-vanádio-oxigênio).

A matriz hospedeira YLF origina-se da mistura de  $\text{YF}_3$  e de LiF, possuindo uma estrutura tetragonal. Em virtude das características térmicas e estruturais, esta matriz hospedeira possui uma qualidade de feixe superior ao YAG.

A terra rara hólmio pode dopar cristais de óxidos de estrutura ordenada como o YAG (óxido de ítrio e alumínio) e fluoretos simples de estrutura desordenada.

Este laser possui uma luz guia, tipicamente um laser hélio neônio vermelho, e pode ser transmitido por uma fibra de quartzo com baixo teor de radical hidroxila. Assim como o laser de Nd:YAG, o laser de hólmio pode ser usado em odontologia com emissão pulsado, com fibra em contato ou não contato com o tecido alvo. A absorção do comprimento de onda de emissão de determinado laser depende das

propriedades específicas de cada tecido, de sua pigmentação e porcentagem de água [17].

O comprimento de onda de emissão do laser de Ho:YLF, 2,065 $\mu\text{m}$ , coincide com um dos picos de absorção da água, o que propicia uma menor profundidade de penetração quando comparado ao laser de Ho:YAG, o qual emite em 2,1 $\mu\text{m}$ , o Ho:YLF apresentando assim maior absorção pela água (Figura 1).

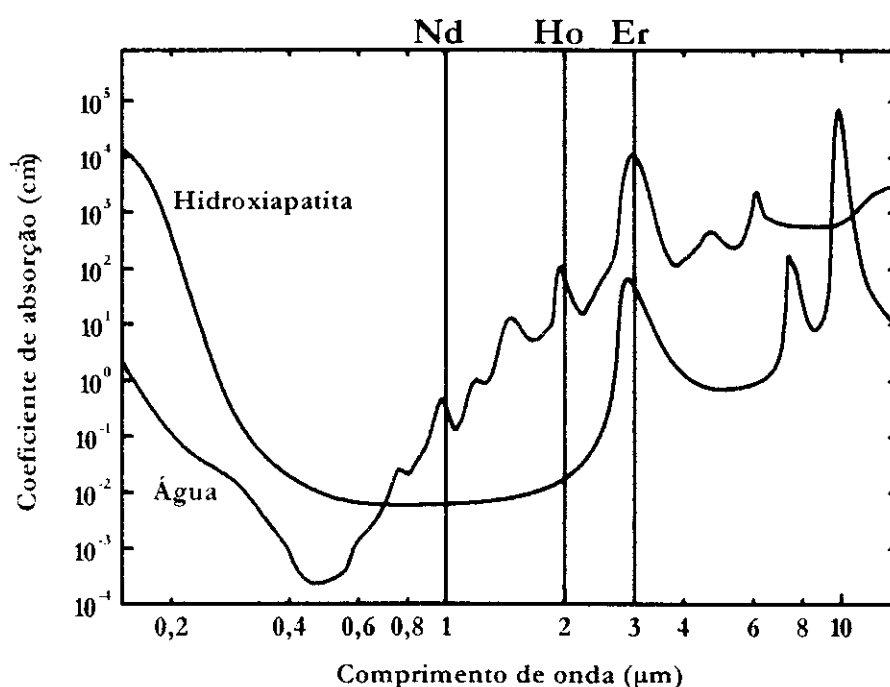


Figura 1 Espectro de absorção da água e hidroxiapatita

O laser de hólmio tem sido aplicado em diversas áreas biomédicas como: ortopedia, oftalmologia, cardiologia, urologia, ginecologia e otorrinolaringologia [14], [16], [20], [21].

O laser de Ho:YLF emite em comprimento de onda de 2.065nm, próximo a um pico de absorção da água, e apresenta afinidade com a hidroxiapatita. Graças

à sua capacidade de ser absorvido pela água e, como consequência, proporcionar coagulação, tornou-se uma excelente escolha para cirurgias de precisão em cartilagens e tecidos duros similares, cirurgias orais maxilofaciais, assim como artroscopia da articulação temporomandibular, somando-se ao seu uso em tecidos moles [15], [22], [23].

Por apresentar uma absorção maior pela água do que o laser de Nd:YAG, o laser de hólmio provoca menor dano térmico, produzindo zonas de necrose da ordem de 50 micrômetros. O laser de Ho:YAG é menos eficiente na remoção de estrutura dental do que o laser de érbio e o laser de excimer, o que conduz à uma especulação de que o laser de hólmio causaria um aumento de temperatura na estrutura dental. O comprimento de onda do laser de érbio provoca menor dano térmico quando usado com refrigeração, mas a vantagem que o laser de hólmio tem sobre ele é a de que numa emissão de 2.100nm não há perdas significativas de energia na fibra. O maior desafio ainda persistente no desenvolvimento do laser de hólmio para a ablação dental de tecidos duros é limitar o dano térmico para a polpa e minimizar o dano térmico na ablação do esmalte para a adequada adesão de materiais restauradores [24].

O corte de esmalte e dentina com o laser de hólmio é possível, no entanto, é produzida uma parte considerável de esmalte ressolidificado. Tem-se demonstrado que, durante a ablação, o laser de hólmio pulsado sem refrigeração é capaz de produzir danos mecânicos significativos em forma de fissuras e fraturas. Este dano é indesejável em muitas aplicações clínicas, e pode ser um fator limitante do uso deste laser. Uma forma de reduzir estes efeitos mecânicos seria modificar a duração dos pulsos, introduzir refrigeração a água, ou utilizá-lo

com o intuito de provocar apenas fusão de esmalte. Isso poderia efetivamente causar a ablação de tecidos moles, provocando excelente hemostasia e sem injúria mecânica [21].

Um fator de relevância é a absorção de diferentes comprimentos de ondas, como Nd:YAG, Tm:YAG, Ho:YAG e Er:YAG, pelo tecido dental provocando efeitos diversos. No IV médio espectro, a absorção da água e da hidroxiapatita muda bastante em relação ao comprimento de onda. O laser de Er:YAG é bem absorvido pela água e pela hidroxiapatita, o Tm:YAG e o Ho:YAG têm boa absorção pela água, ao passo que o laser de Nd:YAG apresenta baixa absorção nesses meios. Um estudo destes quatro sistemas lasers foi realizado em dentes humanos extraídos. Como resultado: 1) para o laser de Nd:YAG (50-150mJ/pulse, 150 $\mu$ s) houve zonas de debris e carbonização quando usados baixos pulsos de energia, e microcrateras quando usada energia acima de 100mJ/pulse; 2) a ablação de tecidos mineralizados por Ho:YAG (200mJ, 200 $\mu$ s) e Tm:YAG (300mJ, 200 $\mu$ s) não foi efetiva; 3) para o laser de Er:YAG (150-300mJ, 200 $\mu$ s) observou-se uma pequena zona de carbonização. Abaixo das superfícies carbonizadas constataram-se largas zonas de necrose e microcrateras, promovendo ablação efetiva (no esmalte, crateras e largas zonas de debris, e na dentina, pequenas cavidades). Em decorrência da interação desses comprimentos de onda com os tecidos ocorrem diferentes efeitos. A alta transmissão do laser de Nd:YAG através da água contida nos tecidos mineralizados pode causar uma interação térmica com largas zonas de necrose. Efeitos térmicos também ocorrem predominantemente no uso do Ho:YAG e do Tm:YAG lasers. Da mesma forma ocorrem efeitos termomecânicos com o laser de Er:YAG, pelo fato de este

comprimento de onda ter grande absorção pela água e pela hidroxiapatita; o aquecimento da água promove microexplosões na fase líquida, estes microfragmentos então são removidos pela pressão causada pelo vapor, ocorrendo a vaporização efetiva dos tecidos [25].

Outro estudo avaliou a capacidade do laser de Ho:YAG, com sistema de entrega do feixe por fibra óptica, de promover ablação da dentina e determinar a possibilidade de uso de MEV e da estereofotogrametria para correlacionar várias energias com o volume de dentina ablacionada. O laser utilizado foi o de Ho:YAG ( $\lambda=2,1\mu\text{m}$ , largura de pulso de  $100\mu\text{s}$ , fibra de  $400\mu\text{m}$  de diâmetro). Foram irradiados dentes humanos com energias de 25, 50, 75, 100, 135, 150, 195, 275, 330, 350, 680, 800, 1.200, 1.500 e 1.750mJ. Após as irradiações as regiões foram submetidas à MEV. Como resultado: energias de 25, 55, 75, 100, e 135mJ não produziram crateras suficientemente profundas para a análise utilizando-se a estereofotogrametria. Entre 150 e 1.500mJ essa análise foi possível. Níveis de energia de 195, 275 e 330mJ produziram crateras bastante irregulares para esse tipo de análise. Este estudo demonstrou que o laser de Ho:YAG é capaz de promover ablação da dentina, e o grau desta ablação está relacionado com o nível de energia empregado [26].

O laser de Ho:YAG assim como o laser de Nd:YAG removem camada de esfregaço e promovem redução bacteriana na dentina [27]. Este comportamento indica que o laser de hólmio poderia também ser adequado como complementar para a terapia pulpar. Recentemente demonstrou-se que este laser alcança um efeito bactericida intrapulpar em proporções iguais às de outros lasers, como o



laser de Nd:YAG [28], [29].

A efetividade dos lasers de Nd:YAG, Ho:YAG e Er:YAG foi comparada em canais infectados. Quarenta dentes infectados por *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* foram utilizados no experimento. Os resultados mostraram que a atuação dos três comprimentos de onda diminuiu substancialmente a população de bactérias, com poucas diferenças nas suas atividades bactericidas. Cada grupo de amostras foi irradiado com 0,8 e 1,5W nos parâmetros de cada laser. Com 1,5W os melhores resultados obtidos foram com o uso do laser de Er:YAG, havendo uma redução bacteriana de 99,64%, seguido pelo laser de Nd:YAG com 99,16%, e o laser de Ho:YAG com 99,05%. Este estudo comprova a ação bactericida do laser de Ho:YAG intracanal [30].

Mediante investigações do efeito bactericida do laser de Ho:YAG em dentina contaminada, empregando-se 1W e 5Hz em espessuras de dentina de 300 $\mu$ m, obtendo-se redução bacteriana de 83,65%. Para 2W e 5Hz em espessura dentinária de 100 $\mu$ m, demonstrou-se um decréscimo da população bacteriana em profundidade de 98,46% [31].

### **3.3. Aumento de temperatura**

De acordo com Zach e Cohen [42], um aumento de temperatura da polpa acima de 5<sup>o</sup>C provoca a necrose pulpar, e ainda segundo Eriksson e Albrektsson [45], o aumento acima de 10<sup>o</sup>C na superfície radicular externa, durante um minuto, provoca a necrose do ligamento periodontal, com anquilose e reabsorção radicular externa.

Em 1971 foi realizado um dos primeiros estudos correlacionando as alterações histológicas e morfológicas da resposta pulpar à radiação laser. Foram irradiados dentes de cães com laser de rubi, *in vivo*, com densidades de energia de 1.800 a 2.330J/cm<sup>2</sup>. Após dois dias, extraíram-se os dentes e foram preparados cortes histológicos para avaliação em MEV. Em nenhum dente foram observadas alterações na superfície do esmalte irradiado, a não ser pequenas manchas esbranquiçadas. A análise histológica mostrou alterações pulpares, em todos os níveis, como infiltrado de células inflamatórias, edema e necrose [41].

Respostas pulpares foram comparadas utilizando-se o laser de Nd:YAG irradiando superfície vestibular de dentes incisivos de macacos e laser de rubi em dentes de cães. A análise histológica revelou que, mesmo com maiores densidades de energia (4.494J/cm<sup>2</sup>), a área afetada no tecido pulpar mantinha-se sempre delimitada por tecido conjuntivo normal, sugerindo que a polpa é mais resistente à injúrias com o laser de Nd:YAG do que com o laser de rubi [32]

Miserandino et al. mediram alterações térmicas ocorridas na cavidade pulpar de molares recém erupcionados irradiados com laser de CO<sub>2</sub>, modo contínuo. Os dentes foram irradiados na sua superfície vestibular, com potências de 2, 4, 6, 8 e 10W, diâmetro focal de 1mm e duração de exposição 0,5 a 2,5s. Como resultado eles obtiveram uma elevação de temperatura de até 5,5°C [33].

Outros autores também empregam o laser de CO<sub>2</sub>, com emissão modo contínua, em faces vestibulares de dentes molares de cães, com densidade de energia variando de 13 a 102J/cm<sup>2</sup>, potência de 2 a 8W, e tempo de exposição de 0,5 e 10s. Após dois dias, os dentes foram extraídos e realizados preparos

histológicos do tecido pulpar. A avaliação histológica não mostrou nenhuma alteração pulpar [34].

Estudo, *in vivo*, examinando os efeitos pulpares da irradiação do esmalte dental com laser de Nd:YAG demonstrou que em nenhum corte histológico houve injúria à polpa. Os autores irradiaram as faces vestibulares de 30 dentes terceiros molares, hígidos, erupcionados, com testes de vitalidade pulpar positivos, os quais apresentavam extração indicada. Os parâmetros de irradiação empregados foram: 0,3 a 3,0W, pulsos com energia entre 30 e 150mJ, taxa de repetição de 10 a 30Hz, fibra de 320 $\mu$ m de diâmetro durante 2min. As extrações foram realizadas após um mês da irradiação, ocasião em que os dentes continuavam vitais [35].

Em 1992, foi avaliado o efeito biológico nos tecidos adjacentes ao cimento radicular após a irradiação intracanal do laser de Nd:YAG, pulsado e comprimento de onda de 1,064 $\mu$ m. Vinte pré-molares inferiores de cães foram convencionalmente instrumentados com solução de NaOCl a 2,5% e, em seguida, divididos em dois grupos. O grupo teste foi tratado com laser, e o grupo convencional não tratado com laser. No grupo tratados com laser, os canais foram irradiados com o laser de neodímio, através de fibra óptica de 320 $\mu$ m de diâmetro, a 1mm aquém do ápice. Após a inserção da fibra óptica no comprimento de trabalho estabelecido, o laser era ativado no interior do canal com movimento helicoidal de apical para cervical, durante um período máximo de 30 segundos. Os parâmetros de irradiação utilizados foram 3W de potência; 25Hz de taxa de repetição. Os dentes foram examinados histologicamente em intervalos de um, 15 e 30 dias após a irradiação [36].

Os autores observaram necrose das células do ligamento periodontal um dia após o tratamento com laser, fato não ocorrido nos canais tratados convencionalmente. Entretanto, 15 dias após o tratamento tanto com laser como convencionalmente, houve aumento do tamanho e do número dos osteócitos e dos osteoclastos do tecido ósseo perirradicular. Naqueles tratados com laser houve sinais de início de reabsorção óssea. No término de 30 dias, os dentes tratados de modo convencional apresentaram-se novamente normais quanto ao aspecto morfológico, enquanto os tratados com laser exibiam necrose e anquilose [36].

Ainda em relação ao aumento de temperatura provocado na superfície externa radicular, Cohen et al., empregaram o laser de hólmio intracanal, irradiando através de uma fibra óptica de 245µm de diâmetro, com a extremidade apresentando uma estrutura anelar. Os autores verificaram que utilizando potências e frequências de 0,5W e 5Hz; 0,75W e 0,5Hz e 1W e 5Hz, não houve aumento superior a 5<sup>o</sup> C na região do cimento, quando a fibra percorre o conduto de apical para cervical em velocidade de 4mm/s [43].

Avaliando o aumento de temperatura na superfície externa radicular decorrente da aplicação do laser de Ho:YAG intracanal, Nubler-Moritz et al. [37] demonstram que a eficiência do laser de hólmio na remoção dos debrís e camada de esfregaço intracanal. Com o microscópio eletrônico de varredura, eles verificaram a alteração morfológica da superfície dentinária radicular e, por intermédio de sensor térmico (*thermocouples*) fixo na região do cimento, mediram a temperatura durante a irradiação com laser. Canais de 98 dentes unirradiculares recentemente extraídos foram preparados mecanicamente com instrumentos do

tipo Kerr a 1mm aquém do comprimento real do dente, irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 2,6%, secos com pontas de papel absorvente e, em seguida, irradiados com o laser de Ho:YAG. Os canais foram irradiados com o laser de hólmio (Quantronix, Darmstadt, Alemanha), com comprimento de onda de 2,10 $\mu$ m, e fibra óptica de 320 $\mu$ m, durante 20 segundos, por duas vezes em movimentos helicoidais de apical para cervical, com potências de 1 a 2 Watts, e freqüências de 5 a 10 hertz, com duração de pulso de 200  $\mu$ s. O aumento de temperatura foi registrado 30 segundos antes da irradiação do laser permanecendo até 60 segundos após. Os dados a seguir mostram o aumento máximo de temperatura de acordo com as potências e freqüências empregadas:

Potência (W)	Freqüência (Hz)	$\Delta T$ ( $^{\circ}$ C)
1.0	5	6.5
1.0	10	9.0
1.5	5	9.8
1.5	10	14.1
2.0	5	15
2.0	10	22.3

Tabela 1 Aumento máximo de temperatura de acordo com as potências e freqüências empregadas segundo N-Moritz [37].

As imagens sob microscopia eletrônica de varredura mostraram a superfície dentinária radicular limpa, sem camada de esfregaço e com túbulos dentinários abertos, porém, ela se alterna com áreas morfológicamente inalteradas, correspondentes às regiões onde não houve irradiação do laser. A partir desses resultados, sob condições deste estudo, os autores concluíram que o laser de Ho:YAG pode ser utilizado como coadjuvante em tratamento endodôntico. Aspectos esses semelhantes àqueles encontrados quando da irradiação do laser de Er:YAG intracanal [38] e em apicectomias com laser de Er:YAG [39].

Tentando quantificar as alterações de temperatura intrapulpar, com a espessura da dentina presente no elemento dental durante a irradiação com laser de Nd:YAG, autores utilizaram dentes unirradiculares, recém-extraídos. Um termômetro foi introduzido no interior do canal radicular preparado para esta finalidade. Os parâmetros empregados foram: 0,3 a 3W de potência, 10 a 20Hz de taxa de repetição, fibra de 320 $\mu$ m de diâmetro e densidade de energia de 37,5 a 187,5J/cm<sup>2</sup>. Eles concluíram que a temperatura no interior do canal aumenta à medida que aumenta os parâmetros do laser: potência média e taxa de repetição; e a temperatura intrapulpar diminui com a espessura de dentina remanescente, todavia quando a espessura de dentina é menor do que 1mm, o aumento de temperatura intrapulpar é mais acentuado [40].

O aumento de temperatura na câmara pulpar é diretamente proporcional à quantidade de energia aplicada e, conseqüentemente, o tempo de exposição é de fundamental importância. A polpa suporta uma elevação de até 5°C sem danos histológicos [18], [41], [42], [43], ao passo que temperaturas superiores a 10°C, quando transmitidas à superfície externa da raiz, podem ser responsáveis por

danos ao osso alveolar [44], [45], 46].

Deve-se estabelecer uma dose limiar da irradiação laser para que não ocorram mudanças histológicas e/ou morfológicas detrimenais nos tecidos moles e duros. O limiar mínimo de resposta pulpar ocorre entre doses de  $1,880\text{J}/\text{cm}^2$  e  $2,330\text{J}/\text{cm}^2$ . Doses superiores a essas produziram uma perda significativa de cálcio da estrutura dental, assim como severas necroses pulpares [41].

Estudos verificaram que um aumento de temperatura intrapulpar de aproximadamente  $2,2^\circ\text{C}$  permite que o tecido pulpar permaneça histologicamente idêntico ao grupo controle. Com um aumento de  $5,5^\circ\text{C}$ , inicia-se uma destruição dos odontoblastos, causando necrose em 15% do tecido pulpar. Elevando-se a temperatura a  $11^\circ\text{C}$ , teremos 60% de necrose, e 100% quando a marca for de  $17^\circ\text{C}$  [13].

Em 1996 Zezell et al. estudaram as alterações de temperaturas no interior da câmara pulpar, utilizando o laser de Ho:YLF na superfície do esmalte de dentes humanos recém-extraídos. O ápice radicular foi removido e por seu intermédio foi introduzido um termopar. No Grupo 1, a cavidade pulpar se encontrava vazia, no Grupo 2, foi preenchida para simular a circulação sanguínea no interior da polpa. Os parâmetros empregados para ambos os grupos foram:  $500\text{mJ}/\text{pulso}$ , com 30 pulsos, na mesma posição e com densidade de energia de  $2,079\text{J}/\text{cm}^2$ . No Grupo 1 a temperatura aumentou  $2^\circ\text{C}$  e no Grupo 2,  $3,8^\circ\text{C}$ . Os resultados estão dentro dos limiares de tolerância de temperatura pela polpa [13].

Substâncias empregadas para clareamento dental são ativadas com o aumento da temperatura. Com base neste fato, autores utilizando o laser de diodo

e fotopolimerizadores para clareamento dental monitoraram *in vitro* a elevação de temperatura na superfície dental e na polpa. Os parâmetros utilizados para tal estudo mantiveram os limiares suportáveis para a polpa [47].

### **3.4. Laser em prevenção de cáries**

#### **3.4.1. Outros lasers**

Desde 1964, época em que Stern e Sognaes [48] relataram as primeiras aplicações dos lasers em odontologia, vários sistemas lasers têm sido estudados e utilizados em tecidos moles e duros [20], [49]. As aplicações em tecidos moles em odontologia incluem biópsia excisional de fibrolipomas, tumores benignos, fibromas traumáticos e etc. Em tecidos duros, lasers podem ser eficazes em articulações temporomandibulares, na modificação da superfície do esmalte dental e, conseqüentemente, na atuação de prevenção de cáries, na preparação de cavidades para endodontia e em propósitos restauradores [14], [16], [20], [21], [50].

Métodos de prevenção de cáries são primordiais para a manutenção da integridade do elemento dental, especialmente em regiões de sulcos e fissuras. Sabe-se que selantes e soluções de flúor são amplamente utilizados para aumentar a resistência do esmalte à dissolução ácida, contudo este flúor não penetra efetivamente no fundo da fissura por causa dos remanescentes de tecido.

O uso da irradiação laser na prevenção de cárie dental foi primeiramente demonstrado em 1964 por Stern e Sognaes, os quais utilizaram o laser de rubi



sobre a superfície do esmalte dental, local em que os autores constataram *in vitro* que havia um aumento da resistência à dissolução de ácidos [48].

Estudos indicaram pela primeira vez *in vivo* que o uso do laser de CO<sub>2</sub> sobre o esmalte dental produz uma maior resistência do esmalte à ação de ácidos. Duas amostras de esmalte de diferentes dentes foram utilizadas, *in vitro*, irradiando-se uma delas com laser de CO<sub>2</sub> superpulsado, com densidade de energia entre 10 e 15J/cm<sup>2</sup> e a outra amostra sem irradiação. As duas amostras foram colocadas na boca de um "carregador", acopladas a um dente por meio de uma prótese de ouro. Esta prótese apresentava uma janela de fácil remoção e, no seu interior, foram colocadas as amostras por um período de três a cinco semanas. A análise das amostras submetidas à MEV mostrou que ambas foram atacadas pela ação dos ácidos, no entanto, o esmalte irradiado não sofreu desmineralização.[51].

A partir desses estudos, diversos pesquisadores demonstraram que o laser permite um decréscimo da permeabilidade e da solubilidade do esmalte, resultando portanto numa alteração da composição mineral da estrutura dental [18], como o laser de neodímio [52] e o laser de Er:YAG (2,94μm), mostrando-se comprimentos de ondas efetivos para prevenção de cáries, pois provocam uma modificação da superfície dental tornando-o mais ácido resistente [53].

Amostras de esmalte de dentes humanos foram irradiadas com laser de Nd:YAG, taxa de repetição de 20pps, por 0,5 segundo, e densidade de energia de 0 a 100mJ/cm<sup>2</sup>. Sete grupos foram formados: no primeiro foi aplicado somente flúor fosfato acidulado; no segundo grupo, laser e flúor fosfato acidulado; no terceiro, flúor fosfato acidulado e em seguida laser; no quarto grupo, somente

fluoreto de sódio; no quinto, laser seguido de fluoreto de sódio; no sexto grupo fluoreto de sódio e laser; e o sétimo, grupo controle. Todas as amostras foram então expostas a 1ml de solução de ácido perclórico a 0,5M, por 30 segundos. Como resultado, o esmalte tratado com laser de Nd:YAG (densidade de energia maior do que  $30\text{J}/\text{cm}^2$ ) seguido da aplicação do flúor fosfato acidulado, por 24 horas, foi o mais resistente à ação do ácido perclórico com 90% de inibição da dissolução do cálcio [54]. Outros pesquisadores utilizando o laser de  $\text{CO}_2$  com comprimento de onda em  $10,6\mu\text{m}$  também obtiveram uma menor desmineralização diante dos ácidos no esmalte irradiado [55], [56].

O mecanismo que possibilita o aumento da resistência do esmalte irradiado foi elucidado mediante investigações das propriedades ópticas e a composição e mudanças estruturais ocorridas no esmalte irradiado. Segundo a proposição dos autores, a irradiação do esmalte com o laser de Nd:YAG criaria espaços microscópicos, pela perda das substâncias orgânicas, que poderiam atuar como sítios para a deposição de íons flúor [57].

A utilização do laser de Nd:YAG (densidade de energia de  $3,4\text{mJ}/\text{cm}^2$ , 30pps, 1Hz de taxa de repetição) anteriormente ao uso de selantes foi sugerida com a finalidade de se removerem detritos orgânicos e inorgânicos, e ela se mostrou efetiva na vaporização desses detritos sem causar injúria pulpar [58].

Realizaram-se estudos para se verificar o fechamento dos túbulos dentinários com o emprego do laser de Excimer (cloreto de xenônio)  $\lambda=308\text{nm}$ . Ressolidificação e fechamento dos túbulos dentinários foram encontrados na MEV após a irradiação dos espécimes com uma densidade de energia de  $0,7\text{J}/\text{cm}^2$  [59].

Procedeu-se à análise de fluorescência de raio X e à microscopia eletrônica de varredura do esmalte dentário, *in vitro*, irradiado com laser de Nd:YAG. Foram usados quatro grupos de dentes recém-extraídos. No primeiro grupo foi aplicado laser mais flúor fosfato acidulado, no segundo, somente laser, no terceiro, apenas o flúor fosfato acidulado, e no quarto, o ácido perclórico. Os espécimes foram analisados antes e depois do tratamento final com ácido perclórico. A conclusão deste estudo foi a de que os dentes que tiveram maior resistência ao ataque ácido foram os do Grupo 1. Não houve diferença de absorção de flúor nos grupos 1 e 3. A microscopia eletrônica de varredura mostrou áreas de fusão e ressolidificação do esmalte, com crateras de tamanho e profundidade diferentes [8], [60].

Seguindo metodologia semelhante, experimentos recentes [61], [62] utilizaram quatro grupos de dentes recém-extraídos, onde se aplicaram, respectivamente, ácido perclórico, ácido perclórico e flúor fosfato acidulado, laser de Nd:YAG (80mJ, 25Hz) mais flúor fosfato acidulado e ácido perclórico e laser de Nd:YAG (80mJ, 25Hz) mais ácido perclórico. Numa segunda etapa alguns dentes dessas amostras foram submetidos a um meio de cultura com *estreptococos mutans* por um período de 15 a 21 dias. O exame com raio X fluorescente apresentou uma grande resistência das amostras de esmalte que foram irradiadas, sem presença de cavitações.

Featherstone et al.(1996) pesquisaram os vários comprimentos de onda do laser de CO<sub>2</sub> (9,3μm; 9,6μm; 10,3μm e 10,6μm), 25 pulsos de 100μs, densidade de energia de 0 a 6J/cm<sup>2</sup>, a fim de verificar qual o potencial desses lasers para diminuir a solubilidade do esmalte dental. Para os autores, as alterações químicas ocorridas no esmalte dental, como a perda do componente carbonato e a

diminuição da reatividade do esmalte, são responsáveis pela maior resistência do esmalte irradiado. A maior perda de carbonato ocorreu com comprimentos de onda de 9,3 $\mu$ m e 9,6 $\mu$ m, e densidade de energia de 4J/cm<sup>2</sup>. Esses comprimentos de onda requerem menor quantidade de energia laser que os de 10,3 $\mu$ m e 10,6 $\mu$ m para o mesmo efeito final no esmalte dental [4].

Em 1998 o laser de CO<sub>2</sub> pulsado com os mesmos comprimentos de onda do estudo anterior foi empregado com pulsos de 25, 50, 100, 200 e 250mJ; 10Hz e 25Hz; densidade de energia variando de 1 a 2,5J/cm<sup>2</sup>, para verificar o potencial destes lasers na inibição de cáries artificiais. A diferença entre os coeficientes de absorção dos diferentes comprimentos de onda dos lasers de CO<sub>2</sub> explica por que a energia empregada é menor para que o comprimento de onda de 9,6 $\mu$ m produza o mesmo efeito do laser de comprimento de onda de 10,6 $\mu$ m. Os autores concluíram que densidades de energias relativamente baixas, ou seja, de 2,5 a 5J/cm<sup>2</sup> são suficientes para a inibição de cáries para os comprimentos de onda de 9,3 $\mu$ m e 9,6 $\mu$ m [5].

Foi realizado estudo comparando mudanças morfológicas ocorridas pós-irradiação, *in vitro*, de superfície dentinária com e sem camada de esfregaço, utilizando-se o laser de Nd:YAG e de CO<sub>2</sub>. Metade das amostras foi tratada com EDTA a 14% por dois minutos para remoção da camada de esfregaço. Os espécimes foram irradiados perpendicularmente por quatro segundos. Os parâmetros foram: 1) para o laser de Nd:YAG : 50mJ, 100mJ e 150mJ a 10pps, 20pps e 30pps; 2) para o laser de CO<sub>2</sub> 2W, 3W e 4W a 5ms x 20pps, 10ms x 10pps, 20ms x 20pps, 50ms x 2pps, 100ms x 2pps e 200ms x 2pps. Os resultados

mostraram que o laser de neodímio produziu crateras e fusão da dentina, especialmente nos espécimes com camada de esfregaço, ao passo que o laser de CO<sub>2</sub> ocasionou extensas crateras nos espécimes com e sem camada de esfregaço [63].

O laser de Er:YAG (2,94µm) mostra-se efetivo para prevenção de cáries, pois provoca uma modificação da superfície dental tornando-a mais ácido resistente [53].

O laser de Nd:YAG foi avaliado clinicamente quanto à sua eficiência na prevenção de cáries em sulcos e fissuras de crianças e adolescentes, associado ao flúor fosfato acidulado. Neste estudo foi avaliado e determinado o pigmento potencializador mais adequado dos efeitos do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dental. Foram selecionados 242 dentes posteriores hígidos de 33 crianças e adolescentes entre 7 e 15 anos. Nos dentes do primeiro grupo foi utilizado o laser de Nd:YAG (60mJ, 10Hz, 0,6W, 84,9J/cm<sup>2</sup>) na presença de um pigmento fotoabsorvedor (carvão em pó misturado em partes iguais de água e álcool). O laser foi aplicado em movimentos de varredura sobre toda a superfície oclusal numa seqüência de quatro vezes, em seguida, aplicou-se flúor fosfato acidulado por quatro minutos. No segundo grupo aplicou-se somente flúor fosfato acidulado. Após um ano foi efetuada a avaliação final, em que foi constatada a presença de cáries e manchas brancas. O resultado final indicou diferença estatisticamente significativa ao nível de 1% entre os grupos laser+flúor e o grupo controle. O estudo concluiu que a técnica utilizada pode ser considerada um método alternativo para a prevenção de cáries oclusais [11].

### 3.4.2. Prevenção com laser de hólmio

Estudos foram desenvolvidos utilizando-se o laser de hólmio para mudar as propriedades físicas do esmalte, medindo-se mudanças de microdureza, afim de melhorar a resistência do esmalte contra a desmineralização [15], [18], [52].

Foi observado um aumento da microdureza associado a uma elevação da absorção do flúor pelo esmalte, indicando ser positiva a combinação entre a irradiação laser e o tratamento do esmalte com flúor. Portanto, obteve-se a comprovação de que o laser de hólmio é viável na prevenção de cáries [15], [18].

Observou-se o aumento de resistência do esmalte irradiado pelo laser de Ho:YLF e, mesmo quando amostras foram expostas ao ácido perclórico, a perda de cálcio foi menor do que a do grupo controle, indicando a possibilidade do uso deste laser para prevenção de cáries em trabalhos recentemente realizados [3], [64], [65], [9].

Modificações físicas na superfície dentinária foram examinadas a partir de densidades mínimas de energias para que elas ocorressem. Os comprimentos de onda empregados foram de 1,06 $\mu$ m (Nd:YAG) e 2,10 $\mu$ m (Ho:YAG). Foram utilizados 30 molares humanos extraídos, isentos de cáries e restaurações. Fatias de 3mm de espessura foram feitas da região média da superfície oclusal dentinária. Após a preparação das amostras com discos de polimento, a camada de esfregaço foi removida usando-se 0,5M de EDTA por 2min. Potência e energia por pulso (mJ/p) foram aumentadas para cada comprimento de onda, até que se verificasse alguma modificação estrutural. As fibras utilizadas foram de 200, 320, e

550 $\mu\text{m}$  de diâmetro. As alterações na superfície dentinária foram verificadas pela MEV. Modificações de superfície de fusão e ressolidificação foram encontradas para os dois comprimentos de onda. O limiar mínimo de alteração ocorreu para o laser de Nd:YAG com 207J/cm<sup>2</sup> e para o laser de Ho:YAG com 83J/cm<sup>2</sup>. Com isso demonstrou-se que a absorção da energia do laser pela dentina aumenta à medida que se aumenta o comprimento de onda; e para os dois comprimentos de onda, o limiar da alteração morfológica superficial da dentina ocorre a uma densidade de energia relativamente baixa [66].

Efeitos dos comprimentos de onda do Nd:YAG e do Ho:YAG foram verificados em esmalte de dentes humanos extraídos. Os parâmetros utilizados foram para o laser de hólmio 650mJ/cm<sup>2</sup> de dose, 250 $\mu\text{m}$  e para o laser de neodímio 3.300mJ/cm<sup>2</sup>, 200 $\mu\text{m}$ . O laser de Ho:YAG produziu um ponto na dentina com fusão e ressolidificação menores do que o de Nd:YAG, o qual produziu fusão e ressolidificação significativas da dentina [67].

Estudos foram realizados utilizando-se um protótipo do laser de Er:Tm:Ho:YLF, com emissão pulsada, de comprimento de onda de 2,065 $\mu\text{m}$ , com energia máxima aproximada de 2J/pulso. Neste trabalho empregaram-se pulsos de energia aproximada de 300mJ/pulso, com largura de pulso de 250 $\mu\text{m}$ , densidade de energia de 617,73J/cm<sup>2</sup> e densidade de potência de 2,47 x 10<sup>6</sup> W/cm<sup>2</sup>, irradiando-se esmalte a fim de avaliar a microdureza da estrutura. Os resultados em relação à profundidade da cratera foram de 260 $\mu\text{m}$ . Este valor indica que toda a superfície do esmalte contida na grade de pulsos foi afetada termicamente (segundo grandezas apresentadas por Barton [68]). Concluiu-se,

portanto, que a irradiação do esmalte dental com o laser de hólmio, nas condições deste trabalho, resultou em esmalte com maior resistência da superfície à corrosão mecânica e química, indicando a possibilidade desse laser ser empregado na prevenção de cáries [9].

### **3.5. A polpa dental** <sup>[69], [70], [71]</sup>

A polpa dental é um tecido conjuntivo frouxo especializado, altamente vascularizado, com características próprias, originada da papila dentária. Este tecido fica circunscrito e protegido pela dentina, à qual está intimamente ligado biológica e fisiologicamente, formando o complexo dentinopulpar e constituindo a maior porção do dente (Figura 2).

O tecido pulpar exerce a função de formação, de nutrição, sensorial e de defesa do elemento dental.



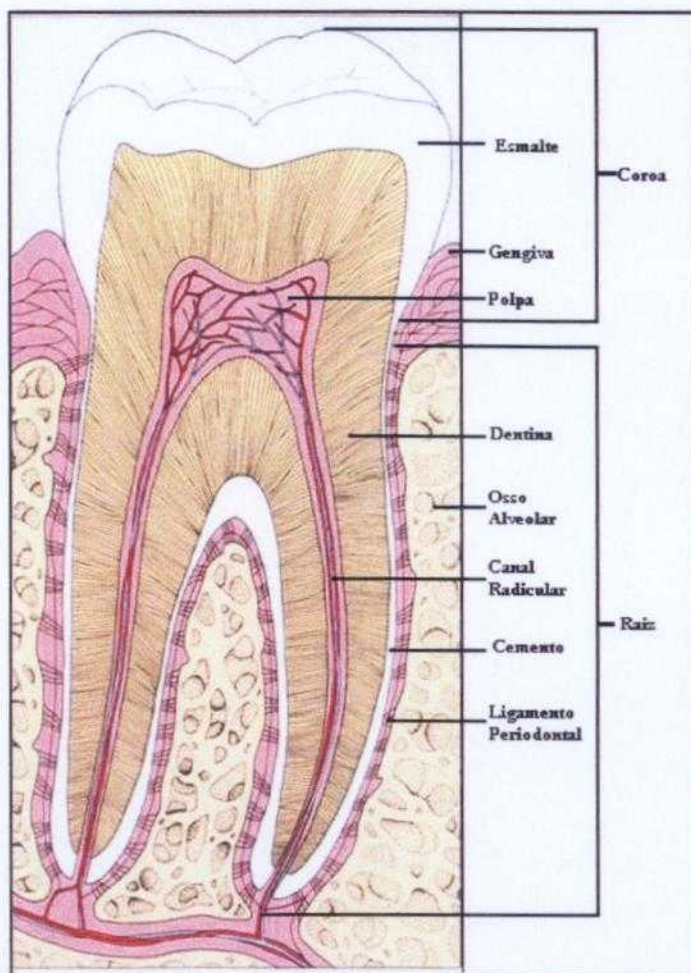


Figura 2 Anatomia dental

### 3.5.1. Aspectos citológicos

Na região periférica da polpa encontram-se os odontoblastos, e a região central é rica em células (fibroblastos, células mesenquimáticas indiferenciadas), fibras nervosas e vasos sangüíneos e linfáticos. Entre as duas regiões, há uma camada praticamente acelular (camada basal de Weil), porém atravessada por feixes de fibras nervosas, vasos e prolongamentos celulares(Figura 3).

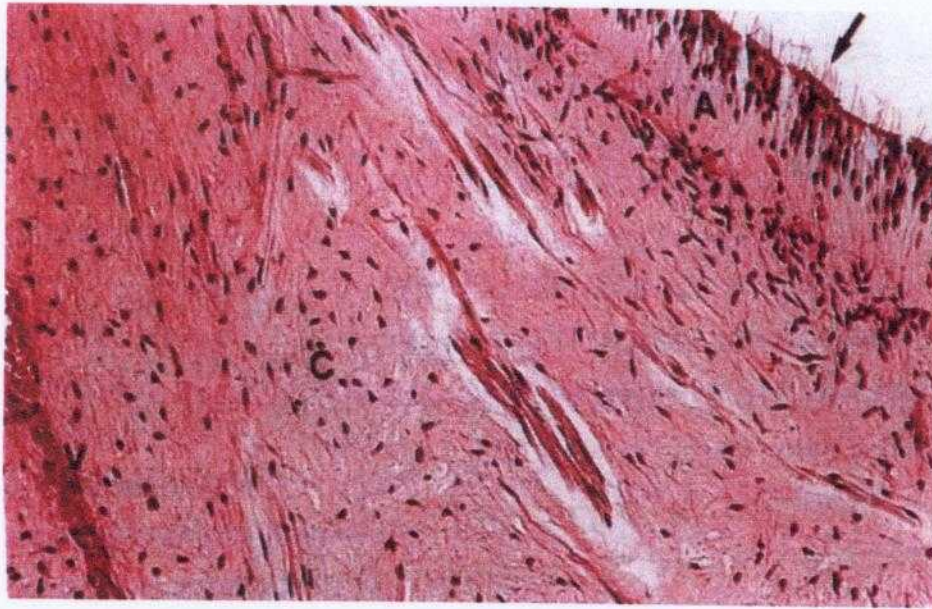


Figura 3 Fotomicrografia de polpa. Nota-se a camada de odontoblastos com prolongamentos citoplasmáticos (seta), zona acelular (A), zona rica em células e a zona central da polpa (C) com a presença de vasos (V). H.E. 220X[70].

Os elementos da polpa estão dispostos na substância intercelular amorfa (glicosaminoglicanas, proteoglicanas), e as fibras são principalmente colágenas. Os odontoblastos (células altamente diferenciadas), os fibroblastos, as células mesenquimáticas (indiferenciadas).

Os odontoblastos são células polarizadas, altas e de formato colunar localizados na câmara pulpar e cubóide no terço cervical e médio da raiz. Eles estão dispostos como em paliçada na periferia da polpa e são responsáveis pela formação da dentina. Os odontoblastos mantêm íntima relação com a dentina, pois enviam prolongamentos citoplasmáticos aos túbulos dentinários.

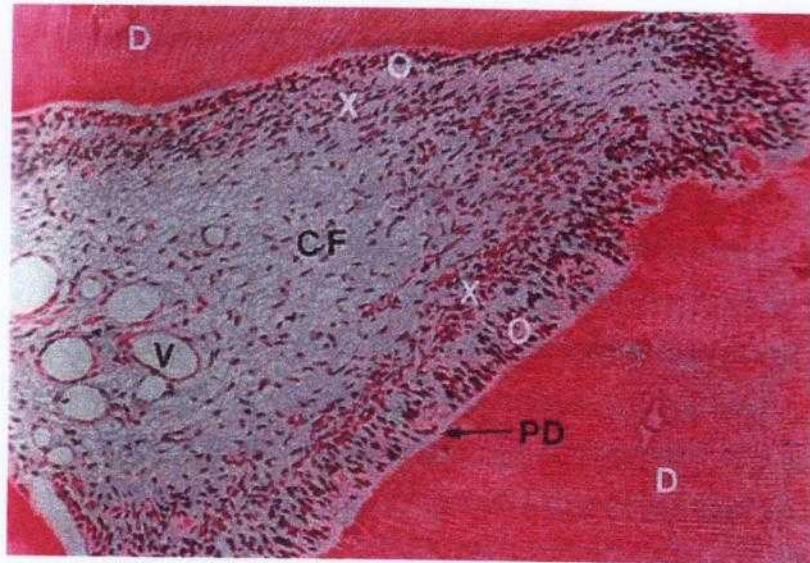


Figura 4 Fotomicrografia de polpa, onde se vê dentina (D), região de pré-dentina (PD), uma camada de odontoblastos (O), tecido conjuntivo com fibras colágenas (X), vascularizado (V). H.E., 200X[70].

Os fibroblastos são as células mais numerosas na polpa, e estão localizados principalmente na porção coronária, na região central, responsáveis portanto pela elaboração das substâncias intercelulares ali presentes. Na polpa jovem, apresentam-se como células globosas com núcleos de cromatina frouxa, exibindo extensos prolongamentos citoplasmáticos. Quando observados em microscopia eletrônica, o citoplasma perinuclear se caracteriza por apresentar um complexo de Golgi abundante, extensas áreas de retículo endoplasmático granular, bem como mitocôndrias esparsas.

Na estrutura pulpar encontram-se ainda as células mesenquimáticas, com poucas organelas; são uma reserva tecidual que, dependendo do estímulo, podem se diferenciar em odontoblastos e fibroblastos. Seu número diminui com a idade, portanto, o potencial regenerativo da polpa também decresce.

As células de defesa são, basicamente, macrófagos e linfócitos T, típicas do

sistema imunológico, e em casos de inflamação crônica também se observam plasmócitos.

As células existentes na polpa estão dispostas na substância intercelular, anteriormente denominada amorfa. Nos dentes jovens a polpa é pobre em fibras colágenas e rica em substância intercelular. Com a idade, a polpa dentária se modifica em virtude do aumento de fibras colágenas arranjadas em feixes mais calibrosos concentrados na região apical, e ocorrem também transformações de fibroblastos em fibrócitos, com diminuição da sua capacidade regenerativa. A substância intercelular é composta principalmente por macromoléculas, como as glicosaminoglicanas, as quais têm a função de: sustentação; calcificação tecidual; influenciar a produção e arranjo da matriz fibrilar e possibilitar a difusão de líquido intersticial e o transporte de íons e moléculas na matriz extracelular. Estas trocas metabólicas podem sofrer alterações com a idade da polpa, bem como irregularidades na deposição mineral.

O tecido pulpar é ricamente vascularizado. Os vasos sanguíneos da polpa e do periodonto originam-se da mesma artéria. A intercomunicação entre polpa e periodonto se dá por meio de forâmens radiculares, apicais e laterais. De um modo geral, os vasos da polpa possuem paredes delgadas para uma luz ampla.

A inervação da polpa é abundante e acompanha o trajeto dos vasos sanguíneos, formando um extenso plexo nervoso junto à camada de Weil e aos odontoblastos, denominado plexo de Raschkow ou subodontoblástico. A maioria das fibras nervosas terminam na zona subodontoblástica, porém, algumas passam por entre os odontoblastos originando receptores de dor na pré-dentina, bem

como no espaço periodontoblástico dos túbulos dentinários.

### **3.5.2. Alterações pulpares**

A polpa sofre modificações com a idade, tais como: diminuição da câmara pulpar coronária e radicular por deposição contínua de dentina, podendo levar até a uma obliteração da cavidade; esclerose fisiológica dos túbulos dentinários do terço apical em decorrência da deposição contínua de dentina peritubular; diminuição do fluxo sanguíneo e redução do tamanho e número de células. Por outro lado, há um aumento de fibras colágenas, tornando a polpa um tecido mais fibroso e com menor capacidade de regeneração.

Além das mudanças fisiológicas ocorridas com a idade as quais alteram a capacidade de resposta do tecido, a polpa pode estar sujeita à ação de estímulos externos cuja intensidade e frequência são bastante variáveis. Esses fatores podem acarretar desde um comprometimento funcional temporário até a perda da vitalidade pulpar.

Para se compreender a evolução de um processo inflamatório pulpar é importante ressaltar que a polpa é um tecido conjuntivo muito delicado, que em geral apresenta um número relativamente reduzido de fibroblastos e fibras colágenas, dispersas em abundante substância fundamental amorfa. Este tecido conjuntivo responde a qualquer irritação por meio de uma resposta inflamatória, a qual adquire uma característica especial na polpa pelo fato dessa estar dentro de um arcabouço mineralizado e sua irrigação sanguínea ser do tipo terminal.

Clinicamente, a intimidade e a dependência biológica entre a dentina e a polpa fazem com que qualquer estímulo, mesmo que na superfície do esmalte, tenha repercussão na câmara pulpar mediante processos de defesa caracterizados por uma reação inflamatória. A resposta pulpar depende da intensidade e da frequência do estímulo.

Quando os estímulos (mecânicos, térmicos, químicos ou microbianos) passam a exercer uma ação mais direta sobre a polpa, instala-se um fenômeno inflamatório caracterizado inicialmente por alterações vasculares (vasodilatação dos arteriolar, aumento da permeabilidade capilar e venular), situado na área diretamente atingida pelo estímulo. Essa vasodilatação e aumento da permeabilidade facilita a saída do plasma sanguíneo, provocando edema do tecido pulpar. Este tipo de inflamação poderá cessar se o estímulo for removido. Inativa-se a vasodilatação arteriolar, os capilares linfáticos drenam o excesso de fluido tissular, a pressão hidrostática interna do tecido pulpar diminui e há a volta à normalidade.

Caso o estímulo não seja eliminado diante da repetição contínua dessa irritação, a fase reversível dá lugar ao aparecimento de um infiltrado celular linfoplasmocitário.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Experimento *in vitro*

#### 4.1.1. Determinação do perfil térmico pulpar durante a irradiação *in vitro*

Utilizou-se, para esse experimento, um protótipo do laser de Ho:YLF desenvolvido no Laboratório de Desenvolvimento de Lasers do CLA (sob responsabilidade do Prof. Dr. Wagner Rossi). Este laser utiliza um cristal crescido no CLA, sendo uma matriz hospedeira de fluoreto de ítrio-lítio dopada com terras-raras hólmio, érbio e túlio. O laser de Ho:YLF emite comprimento de onda de 2.065nm, com energia por pulso variável de 120mJ a 1.500mJ, com largura temporal de pulso de 250 $\mu$ s. O sistema de entrega de feixe utilizado foi uma fibra óptica (teor de OH, modelo FG 365, LER-3M-USA) com diâmetro de 365 $\mu$ m.

Na realização do experimento *in vitro* e *in vivo* foram utilizados coelhos [41], [45]. Para tanto 20 molares recém-extraídos de coelhos da raça NZB (cedidos pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo), foram estocados em soro fisiológico. Estes animais já haviam passado por outras pesquisas e, quando foram sacrificados, tiveram seus arcos dentais mantidos, resfriadas em *freezer* para possibilitar sua utilização nesta fase experimental, evitando o desperdício desnecessário dos referidos animais.

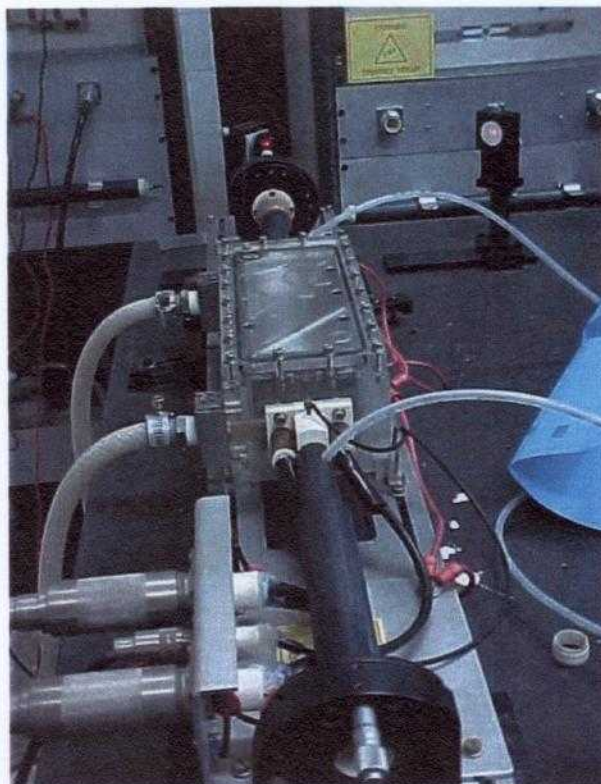


Figura 5 Laser de Ho:Er:Tm:LiYF<sub>4</sub>.

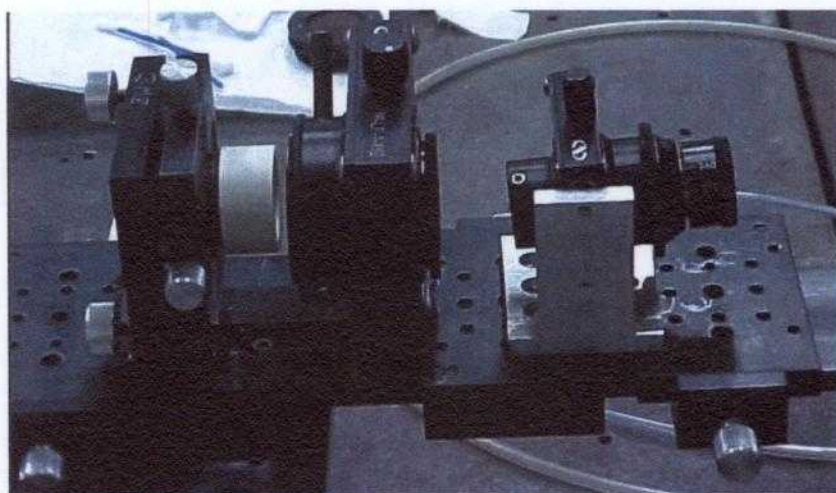


Figura 6 Sistema de acoplamento com fibra óptica de baixo teor de OH<sup>-</sup>

Foram utilizados 334mJ/pulso e 512mJ/pulso de energia, taxa de repetição de 0,5Hz e um total de dez pulsos emitidos pelo laser de hólmio. A irradiação foi realizada com a fibra óptica posicionada perpendicularmente à superfície oclusal em um único ponto (Figura 6).

Para o controle da temperatura, os dentes tiveram a cavidade pulpar



preenchida por pasta térmica (ÔMEGA), na qual foi introduzido via ápice, até tocar o teto da câmara pulpar, um termopar tipo T (cobre-constantan), com diâmetro de 130 $\mu$ m. A verificação do correto posicionamento do termopar deu-se por meio radiográfico. A região de forâmen apical foi vedada com resina fotopolimerizável (Herculite), para se evitar o deslocamento do termopar, e cada dente foi colocado em banho térmico simulando a temperatura corpórea(Figura 7).

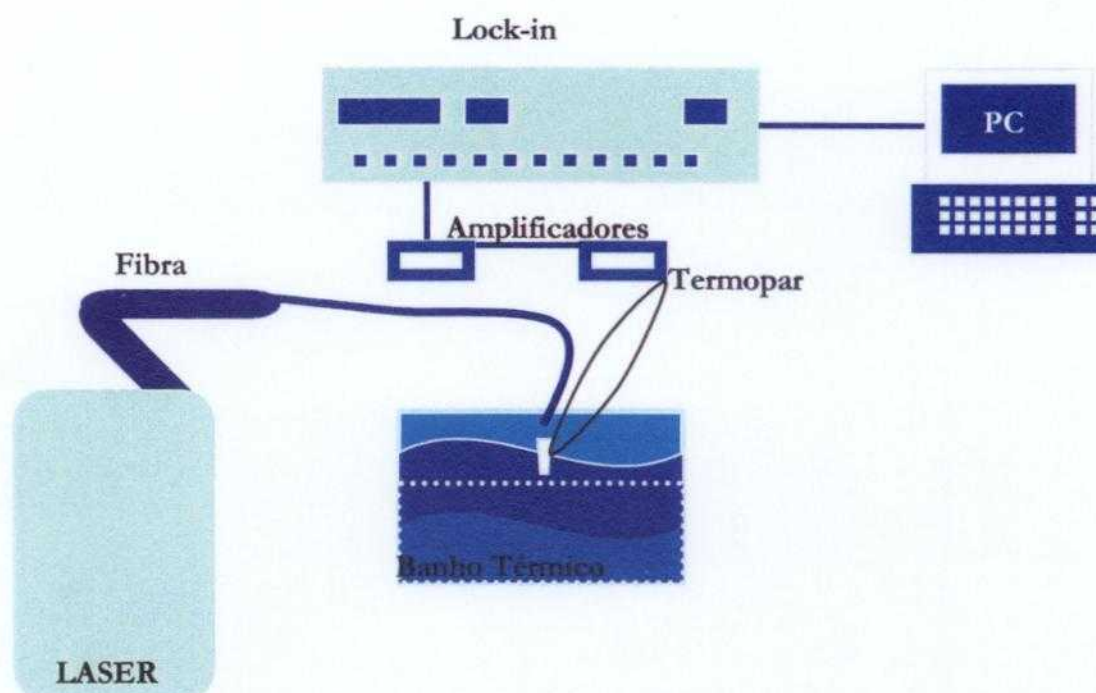


Figura 7 Montagem experimental do sistema de aquisição da temperatura

Após esse procedimento, os dentes foram irradiados em sua superfície oclusal. A temperatura foi monitorada em função do tempo por um amplificador (*lock-in*), que recebe o sinal através de um amplificador de voltagem conectado ao termopar.

Os dados do *lock-in* foram enviados a um computador, por uma interface (*Lock-in SR510 - USA*) em tempo real e analisados mediante interpolação gráfica

realizada com o programa *Origin*.

#### **4.1.2. Preparação das amostras para a microscopia eletrônica de varredura**

Após a irradiação descrita no item 4.1.1, as amostras foram submetidas a cortes longitudinais e desidratadas em uma série de concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%) por um período de uma hora em cada concentração, em ultra-som. Em seguida à desidratação, as amostras foram fixadas em suportes metálicos com cola prata condutora, e sobre a superfície a ser analisada depositou-se um filme fino de ouro com o aparelho *Sputter Coater* SCD-050 (Bal-Tec, Liechtenstein). E, assim, foram mantidas em desumidificador para posterior análise em MEV (Philips XL, série 30, Holanda) no Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais - IPEN.

#### **4.2. Experimento *in vivo***

Na realização deste experimento foram utilizados dez coelhos da raça NZB, machos adultos, com massa corpórea individual de aproximadamente 3 quilos.

Utilizou-se a região posterior do arco maxilar, cada hemiarco possui três pré-molares seguidos de três molares. Foram irradiados os segundos pré-molares e primeiros molares, mantendo-se como dentes controles não irradiados (controle intragrupo) os primeiros pré-molares e os segundos molares.

Os parâmetros de irradiação usados neste experimento *in vivo*, foram os mesmos que na fase *in vitro* não causaram uma elevação de temperatura deletéria

à polpa.

O hemiarco superior esquerdo foi irradiado com: energia média  $E1 = 334\text{mJ/pulso}$ , densidade de energia =  $286,7\text{J/cm}^2$ , 10 pulsos, e taxa de repetição de 0,5Hz.

O hemiarco superior direito foi irradiado com: energia média  $E2 = 512\text{mJ/pulso}$ , densidade de energia =  $477,8\text{J/cm}^2$ , 10 pulsos, e taxa de repetição de 0,5Hz.

Após a irradiação os animais foram sacrificados em períodos predefinidos, a fim de se propiciar adequada análise histopatológica da polpa.

Os 20 hemiarcos foram irradiados como descrito a seguir:

Um hemiarco não sofreu irradiação, sendo considerado o controle negativo e o hemiarco correspondente teve um de seus dentes irradiados com  $E1$  e outro com  $E2$ , sendo considerado portanto o controle positivo; este animal foi sacrificado imediatamente após o experimento (zero hora). Este grupo, portanto, será o grupo absoluto do experimento.

Os 18 hemiarcos remanescentes foram divididos em dois grupos:

Grupo A = energia média  $E1$  de  $334\text{mJ/pulso}$ , densidade de energia de  $286,7\text{J/cm}^2$ , 10 pulsos e taxa de repetição de 0,5Hz.

Grupo B = energia média  $E2$  de  $512\text{mJ/pulso}$ , densidade de energia de  $477,8\text{J/cm}^2$ , 10 pulsos e taxa de repetição de 0,5Hz.

Em seguida à irradiação os animais foram sacrificados nos tempos de 6, 24 e

72 horas.

#### 4.2.1. Descrição do experimento

Os animais foram mantidos no Biotério do IPEN. Depois da realização de exame clínico (para detectar estado de alerta, padrão respiratório, presença de secreções nasais ou oculares e diarreia), tiveram sua massa corpórea registrada previamente ao experimento, para fins de determinação da dosagem anestésica.

A técnica anestésica utilizada foi a associação das substâncias xilazina 5mg/kg (Rompun – Bayer, Alemanha) e quetamina 50mg/kg (Francotar – Virbac, Brasil), com administração intramuscular (IM) na face posterior da coxa, o que proporciona um período hábil (PH) de 30-40 minutos [72], [73], [74].

Aguardado o período de latência (PL) de 4-5 minutos, foram realizados os seguintes procedimentos:

1. Limpeza dos dentes posteriores do arco superior, com o auxílio de cotonetes embebidos em clorexidina a 2%.
2. Manutenção da abertura bucal por meio de afastadores cirúrgicos.
3. Determinação da energia média entre dez medidas de energia de emissão do laser, com o *Power/Energy Meter*, na fase pré-irradiação.
4. Irradiação dos segundos pré-molares e primeiros molares de ambos os hemiarcos, sendo que para o lado direito utilizou-se a energia E1 e para o esquerdo, a energia E2.
5. Determinação da energia média do laser pós-irradiação, como no passo 3.

6. Sacrifício dos animais dentro dos períodos estipulados de 0, 6, 24 e 72 horas [75], [76], pela fixação dos tecidos mediante a técnica de perfusão transcardíaca.

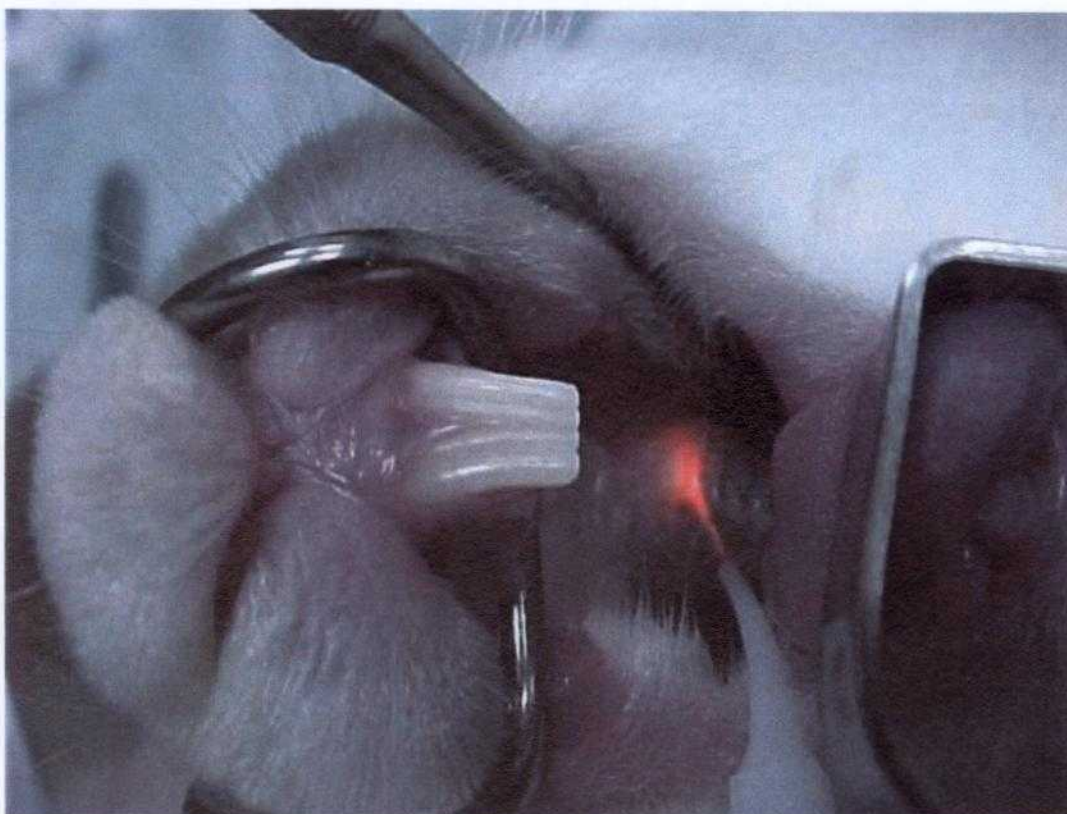


Figura 8 Irradiação com laser de hólmio na superfície oclusal do segundo pré-molar

#### **4.2.2. Preparação das amostras para avaliação histopatológica**

A preparação das amostras para avaliação histopatológica foi realizada no Laboratório de Neurobiologia do Sistema Trigeminal, coordenado pelo Prof. Dr. Jarbas Arruda Bauer do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

- **Procedimento cirúrgico com a técnica de Perfusão Transcardíaca**

1. Anestesia do animal, conforme descrito no item 4.1.1.
2. Tricotomia da região do tórax.
3. Abertura da caixa torácica.
4. Injeção intracardíaca de 0,1ml do anticoagulante (Liquemine-Roche 0,1ml).
5. Incisão transversal do ápice do coração, expondo as duas cavidades ventriculares.
6. Introdução de uma cânula, por intermédio de perfuração da parede do ventrículo esquerdo até a aorta, que foi mantida em posição através de fixação externa por meio de um "buldog". Esta cânula está conectada a uma máquina de perfusão (Masterflex Pump Controller-Model 7518-10), que inicialmente injetará solução salina (cloreto de sódio NaCl a 0,9%). A partir deste momento todo o sangue corpóreo é trocado pela solução salina(Figura 9).
7. Bloqueio da injeção da solução salina e liberação da injeção da solução fixadora (solução de formaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M, com solução tampão de ph=7,4).

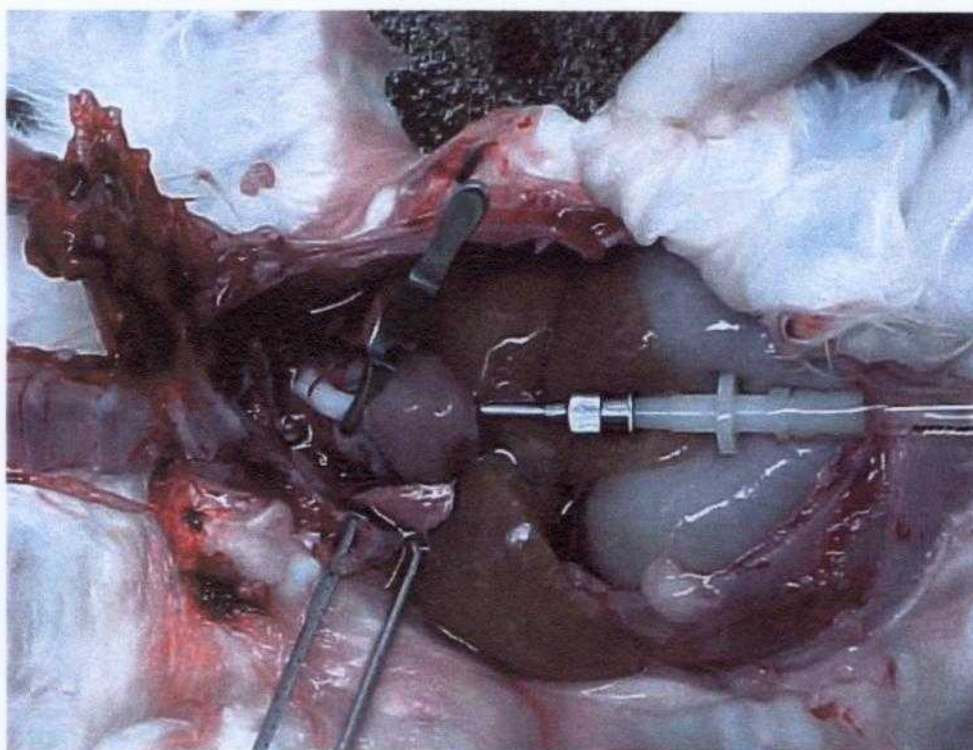


Figura 9 Perfusão transcárdica

- **Processo de descalcificação das amostras**

Para a análise de tecido conjuntivo pulpar envolto por tecidos mineralizados (esmalte e dentina) é necessário que se promova a descalcificação destes, a qual se completa em tempo variável de acordo com o tipo de agente descalcificador e as características do espécime.

Após a finalização da perfusão, promoveu-se a dissecação dos hemiarcos superiores direito e esquerdo da maxila.

Prosseguiu-se com a pós-fixação destes blocos na mesma solução fixadora por 48 horas, conforme mencionada no item 4.2.1.

Concluído este período, aguardou-se a descalcificação em solução de Morse (citrato de sódio e ácido fórmico), com trocas desta a cada 48 horas.

O tempo necessário para que os blocos tivessem o processo de descalcificação completo foi de três meses.

- **Preparação das amostras para a obtenção de preparações histológicas permanentes**

1. O processo iniciou-se pela desidratação das amostras, as quais necessitam de lavagem prévia durante 12 horas. Em seguida a esta efetuou-se a desidratação com soluções crescentes de álcool 50% a álcool absoluto.
2. Prossegue-se à diafanização com xilol e banhos de parafina até a inclusão.
3. Após a inclusão das amostras em parafina, estas foram submetidas a microtomia em micrótomo (Microtome American Optical Corporation).
4. Foram selecionados cortes semi-seriados com 6 $\mu$ m de espessura, obtidos paralelamente ao plano sagital.
5. As amostras foram corados em HE (hematoxilina e eosina).





Figura 10 Obtenção de preparações histológicas permanentes, cortes semi-seriados com 6 $\mu$ m de espessura obtidos em microtomo (Microtome American Optical Corporation)

Após a finalização dos procedimentos descritos, procedeu-se à análise histopatológica da polpa. As preparações histológicas permanentes foram analisadas ao microscópio de luz (Olympus CH 2, Japão), do Departamento de Dentística e Endodontia da FOUSP, e fotografadas em microscópio (Nikon, XL Japão) sob supervisão do Prof. Dr. Jarbas Arruda Bauer, no ICB.

Essa análise foi realizada para avaliar a presença ou não de inflamação pulpar.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Experimento *in vitro*

#### 5.1.1. Perfil térmico pulpar

Durante a monitoração *in vitro* da temperatura intrapulpar em amostras dentais irradiadas com laser de Ho:YLF, realizada com termopar, a elevação máxima de temperatura obtida foi de 1°C para a energia média de 334mJ/pulso, e de 4,5°C para energia média de 512mJ/pulso, conforme se verifica nas Figura 11 e

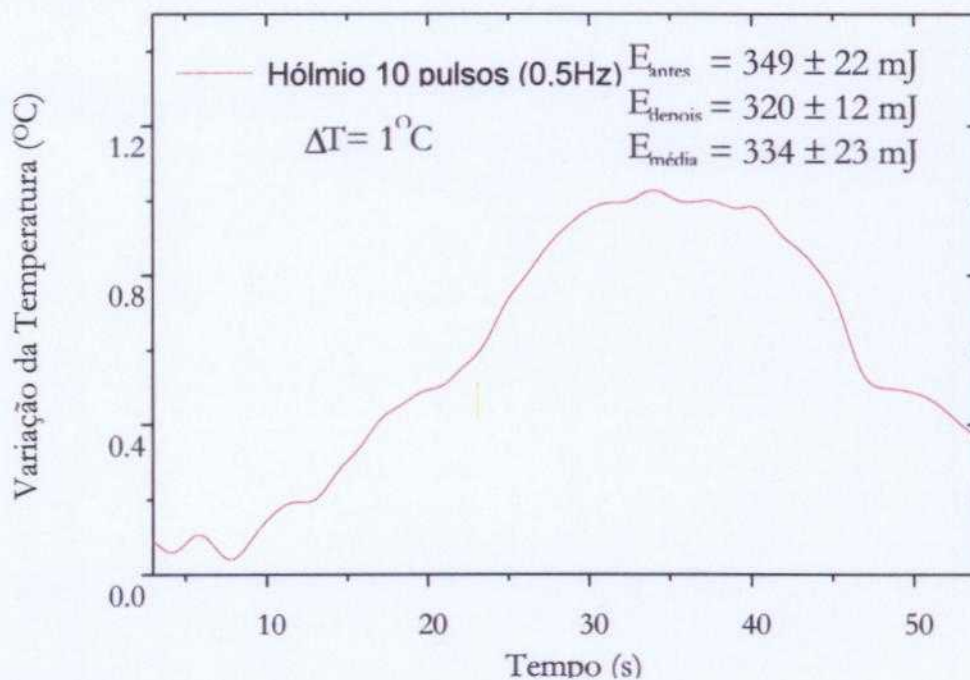


Figura 12.

Figura 11 O perfil térmico para energia média de 334mJ/pulso, atingiu uma elevação máxima de temperatura de 1°C

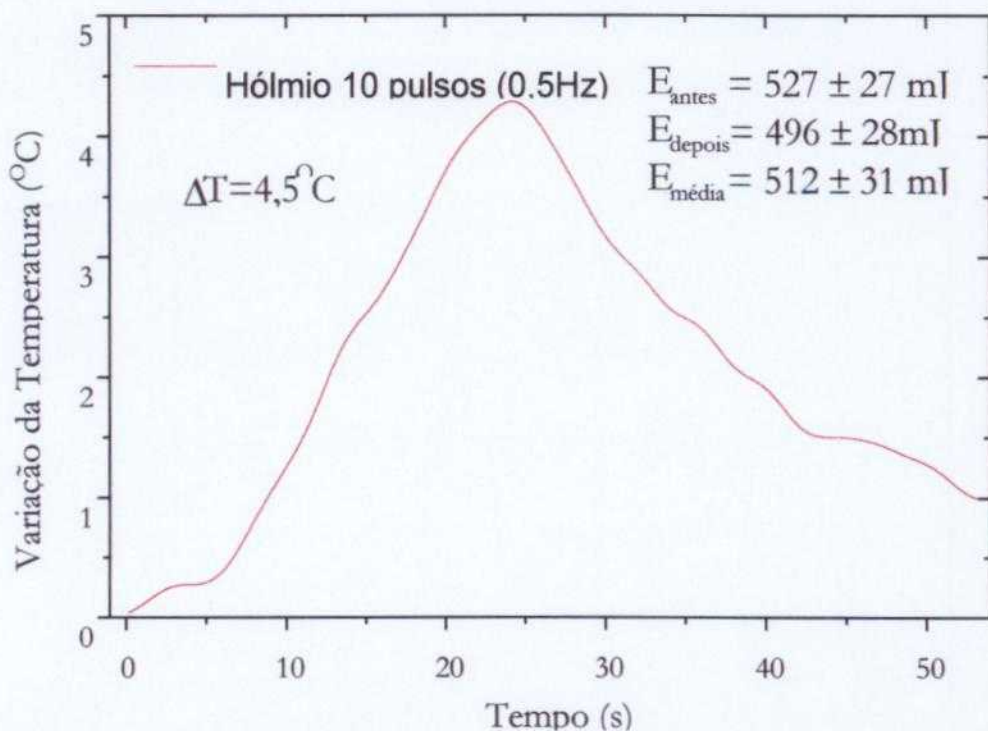


Figura 12 O perfil térmico para energia média de 512mJ/pulso, alcançou uma temperatura máxima de  $4,5^\circ \text{C}$

A irradiação dos dentes *in vitro* com o laser de hólmio não ocasionou uma elevação significativa da temperatura intrapulpar, de modo que está assegurada a prevenção da injúria ao tecido pulpar, considerando que esses valores estão abaixo do limiar de elevação de temperatura suportados pela polpa (até  $5,5^\circ \text{C}$ ), de acordo com Zach e Cohen, 1965 [42].

Irradiando dentes humanos recém-extraídos com o laser de  $\text{CO}_2$  e procedendo-se a emissão contínua, Miserandino et al. [33] registraram um aumento de temperatura da ordem de  $5,5^\circ \text{C}$ , para potências de 2 a 10W, por um período de 0,5 a 2,5 segundos.

Cohen et al., em 1996 [43], empregando o laser de Ho:YAG como coadjuvante na redução bacteriana intracanal, demonstraram que não foi

período de 0,5 a 2,5 segundos.

Cohen et al., em 1996 [43], empregando o laser de Ho:YAG como coadjuvante na redução bacteriana intracanal, demonstraram que não foi alcançado um aumento de temperatura superior a 5°C, utilizando potências e frequências de 0,5W e 5Hz; 0,75W e 0,5Hz e 1W e 5Hz.

Nubler-Moritz et al. em 1997 [37], investigando a efetividade do laser de Ho:YAG na remoção de debris e camada de esfregaço intracanal, obtiveram, para potências de 1 a 2W e frequências de 5 a 10Hz, variações de temperatura da ordem de 6,5°C a 22,3°C, sendo o aumento de temperatura na câmara pulpar proporcional à quantidade de energia aplicada. As condições de irradiação usadas nesta dissertação de mestrado resultaram em potências médias de cerca de 0,15W e 0,25W, para frequência de 0,5Hz e energias de 334mJ/pulso e 512mJ/pulso, respectivamente. A temperatura máxima atingida nestas condições foi de 4,5 °C, como já seria esperado ao considerarmos as condições utilizadas no trabalho de Nubler-Moritz et al. [37].

Zezell et al. em 1996 [13], avaliaram *in vitro* alterações de temperatura na câmara pulpar, com o laser de Ho:YLF durante simulação de preparo cavitário classe I. Para tanto foi utilizada energia de 500mJ/pulso e densidade de energia de 2.079J/cm<sup>2</sup>, elevando-se a temperatura a 3,8°C. Naquele experimento os valores de temperatura obtidos assegurariam a manutenção da vitalidade pulpar para o caso de um experimento *in vivo*. Embora nesta dissertação a irradiação laser não tenha objetivado a realização de preparo cavitário, utilizamos estes parâmetros como limites referenciais.

White et al. em 1994 [40], relacionaram a espessura da dentina durante a irradiação com o laser de Nd:YAG diante das alterações de temperaturas ocorridas. Ao quantificarem os resultados, eles concluíram que, além dos parâmetros do laser utilizados, a espessura da dentina contribui para mudanças térmicas intrapulpares. Quando a espessura da dentina for menor do que 1mm, a elevação de temperatura é mais acentuada.

### **5.1.2. Análise morfológica por MEV**

As amostras irradiadas submetidas à análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura para verificação de alterações de superfície de interesse para prevenção de cáries, revelaram a ocorrência de alterações morfológicas na superfície dentinária.

As Figura 13 e a Figura 14 representam as micrografias eletrônicas de varredura, respectivamente de áreas não irradiadas e áreas irradiadas.



Figura 13 Superfície-controle: esmalte dental não irradiado.



Figura 14 Superfície de esmalte dental irradiada com laser de Ho:YLF. Observa-se a presença de áreas características de fusão e ressolidificação

A Figura 13 mostra área de esmalte dental não irradiada em que podemos observar apenas camada de esfregação numa superfície relativamente plana e lisa. Observa-se na Figura 14 que toda a superfície irradiada sofreu fusão de forma uniforme, concluindo-se portanto que o método de irradiação tratou toda a

superfície.

Autores relatam o emprego de vários comprimentos de onda com a finalidade de promover alterações no esmalte visando à prevenção de cáries[14], [20], [21], [50].

Os resultados da presente pesquisa estão de acordo com os trabalhos citados anteriormente, uma vez que o aspecto característico de fusão e ressolidificação também foi observado para o comprimento de onda de 2,065 $\mu$ m. Estas alterações contribuem para o aumento da microdureza do esmalte, tornando-o mais resistente à dissolução dos ácidos e, conseqüentemente, auxiliando na prevenção da descalcificação da superfície dental.

## **5.2. Experimento *in vivo***

As preparações histológicas permanentes foram analisadas ao microscópio de luz do Departamento de Dentística e Endodontia da FOU SP, com a colaboração do Prof. Dr. João Humberto Antoniazzi.

### **5.2.1. Análise histopatológica dos dentes irradiados do grupo A e dos dentes-controle**

#### **Zero hora – Controle-Absoluto e Controle Intragrupo**

Ambos os dentes com irradiação (controle-absoluto) e sem irradiação (controle intragrupo) apresentaram: camada odontoblástica organizada em paliçada e ausência de células inflamatórias.

## **6 horas**

Foi observada a presença de camada de odontoblastos uniforme e em paliçada para os seis dentes irradiados, assim como ausência de infiltrado inflamatório.

Os seis dentes-controle (controle intragrupo) apresentaram-se com padrão da camada odontoblástica organizada, e sem sinais de processo inflamatório.

## **24 horas**

Nos seis dentes irradiados pôde-se observar que a disposição da camada odontoblástica manteve-se organizada em paliçada, e com ausência de células inflamatórias.

Os seis dentes-controle (controle intragrupo) apresentaram-se com camada odontoblástica organizada em paliçada e ausência de infiltrado inflamatório.

## **72 horas**

Camada odontoblástica organizada em paliçada e ausência de células inflamatórias, foram constatadas nos seis dentes irradiados.

Os seis dentes-controle (controle intragrupo) apresentaram-se com camada odontoblástica organizada em paliçada e ausência de infiltrado inflamatório.



## **5.2.2. Análise histopatológica dos dentes irradiados do grupo B e dos dentes-controle**

### **Zero hora - Controle absoluto e Controle Intragrupo**

Ambos os dentes (com e sem irradiação, respectivamente controle-absoluto e controle intragrupo) apresentaram: camada odontoblástica organizada em paliçada e ausência de células inflamatórias.

### **6 horas**

Nos seis dentes irradiados pôde-se observar que a disposição da camada odontoblástica manteve-se organizada em paliçada, e com ausência de células inflamatórias.

Os seis dentes-controle (controle intragrupo) apresentaram-se com camada odontoblástica organizada em paliçada e com ausência de infiltrado inflamatório.

### **24 horas**

Os seis dentes irradiados apresentaram-se com camada odontoblástica organizada em paliçada e com ausência de células inflamatórias.

Os seis dentes-controle (controle intragrupo) apresentaram-se com camada odontoblástica organizada em paliçada e com ausência de células inflamatórias.

## 72 horas

Nos seis dentes irradiados pôde-se observar que a disposição da camada odontoblástica manteve-se organizada em paliçada, e com ausência de células inflamatórias.

Os seis dentes-controle (controle intragrupo) apresentaram-se com camada odontoblástica organizada em paliçada e com ausência de células inflamatórias.

### 5.2.3. Interpretação histopatológica

Os parâmetros de irradiação laser utilizados para os grupos A e B mantiveram a polpa em padrões de normalidade para os dentes-controle e para os dentes irradiados, demonstrando que nessas condições não há reação adversa da polpa, nos períodos avaliados.

O laser de Nd:YAG tem sido empregado em tratamentos *in vivo* nos quais a vitalidade do elemento dental é preservada empregando-se parâmetros seguros de irradiação. Estudos anteriores testaram vários parâmetros *in vitro*, observando-se por análises histológicas a ocorrência de mudanças celulares, a fim de que se possa defini-los para a aplicação *in vivo*.

Autores verificaram que para um aumento de temperatura de 2,2°C o tecido pulpar permanece histologicamente inalterado, ao passo que para aumentos de

temperatura superiores a 5,5°C tem início a ocorrência de uma destruição da camada dos odontoblastos, causando necrose em 15% do tecido pulpar, e, elevando-se a temperatura em níveis superiores a 11°C observa-se necrose do tecido pulpar [13].

Adrian et al. concordam que se deve estabelecer parâmetros seguros de irradiação laser, de modo que não venham a ocorrer danos aos tecidos mole e mineralizado [41].

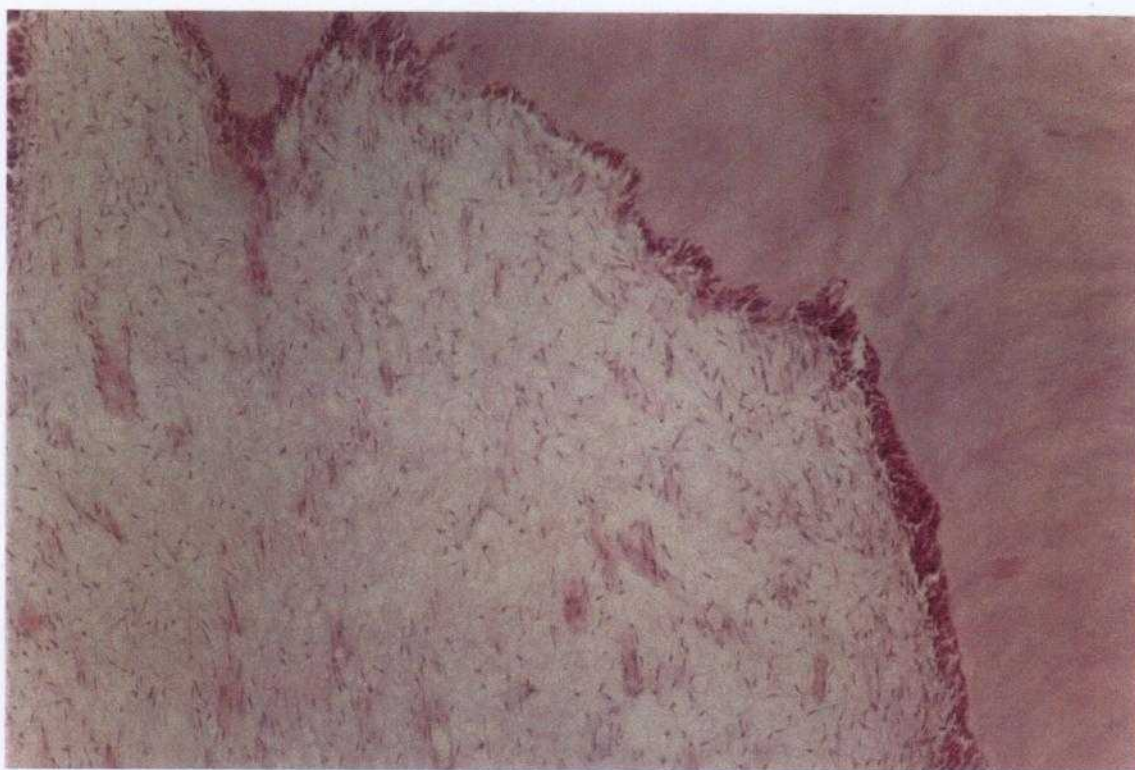


Figura 15 Grupo B, energia máxima, zero hora (controle absoluto), sacrificado imediatamente após irradiação

Fotomicrografia de preparação histológica permanente, semi-seriada (6 $\mu$ m), obtida paralelamente ao plano sagital do dente de coelho do grupo controle absoluto, corada com hematoxilina e eosina. Observa-se um padrão de organização dos odontoblastos (O) em paliçada na periferia da polpa, assim como ausência de infiltrado inflamatório.

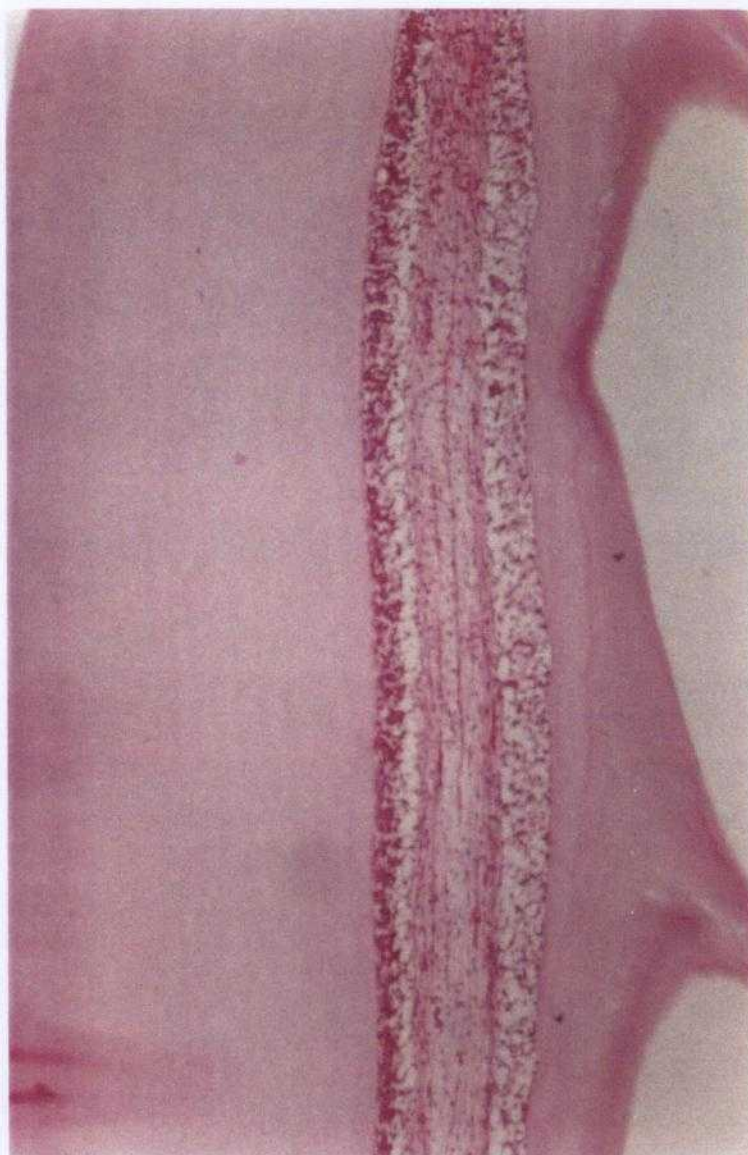


Figura 16 Grupo B, energia máxima, após 6 horas com laser de hólmio

$$E= 512\text{mJ/pulso}, 10 \text{ pulsos}, D= 477,8\text{J/cm}^2, f=0,5 \text{ Hz}$$

Na Figura 16 e Figura 17 observam-se fotomicrografias de preparações histológicas permanentes, semi-seriadas ( $6\mu\text{m}$ ), obtidas paralelamente ao plano sagital do dente de coelho do grupo de 6 horas pós-irradiação, coradas com hematoxilina e eosina. Observa-se para ambos os aumentos que: não há

alteração da organização da camada de odontoblastos (CO) e inexistência de células de processo inflamatório.

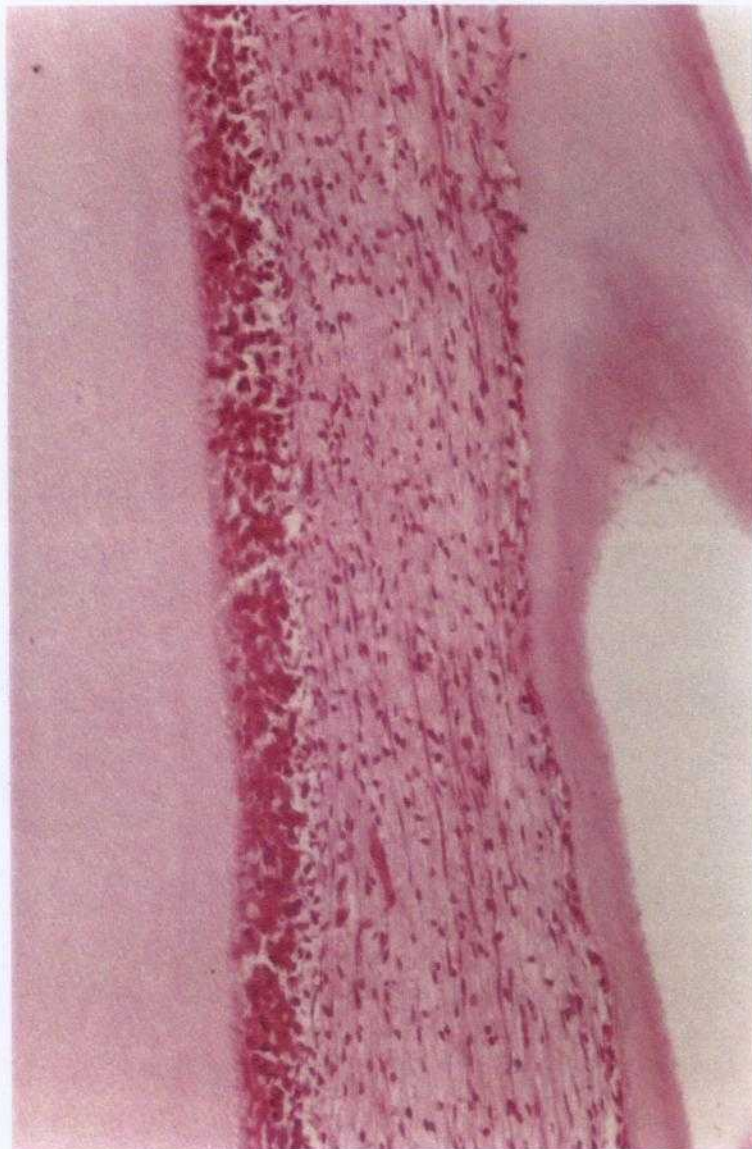


Figura 17 Grupo B, energia máxima, após 6 horas da irradiação com laser de hólmio E= 512mJ/pulso, 10 pulsos, D= 477,8J/cm<sup>2</sup>, f=0,5 Hz

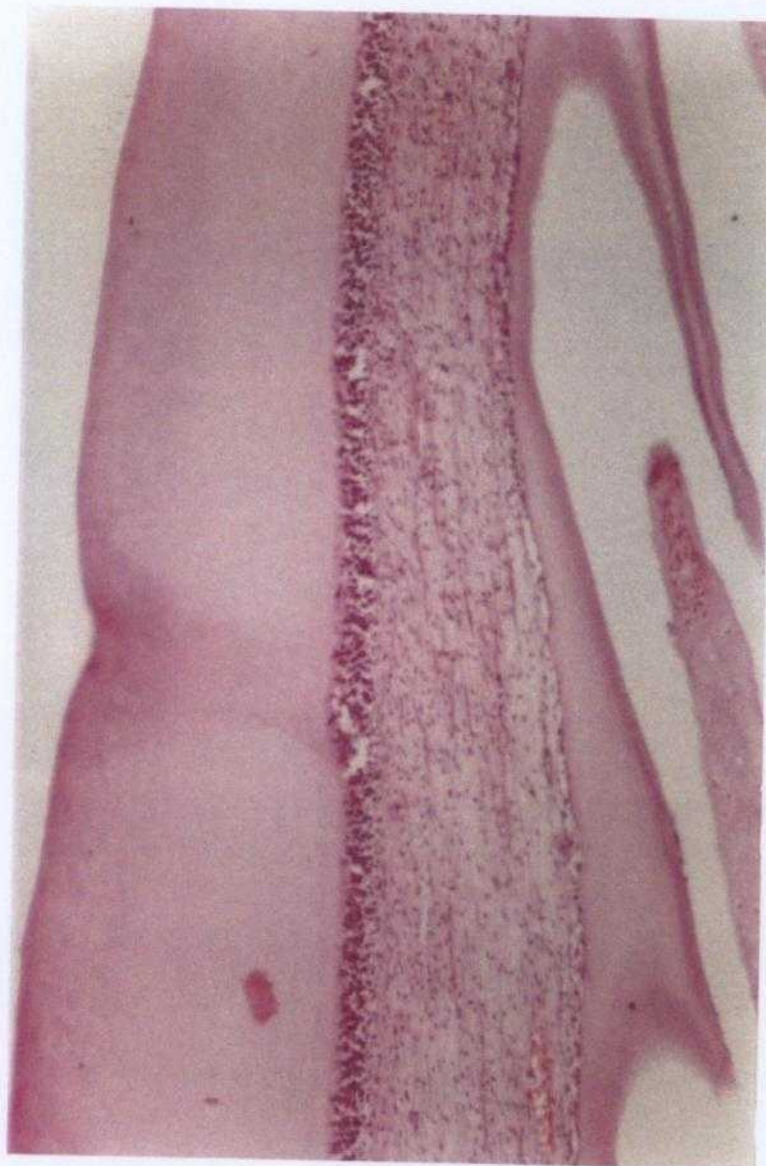


Figura 18 Grupo B, energia máxima, após 24 horas com laser de hólmio

$E= 500\text{mJ}$ , 10 pulsos,  $D= 477,8\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $\lambda=0,5\text{ Hz}$

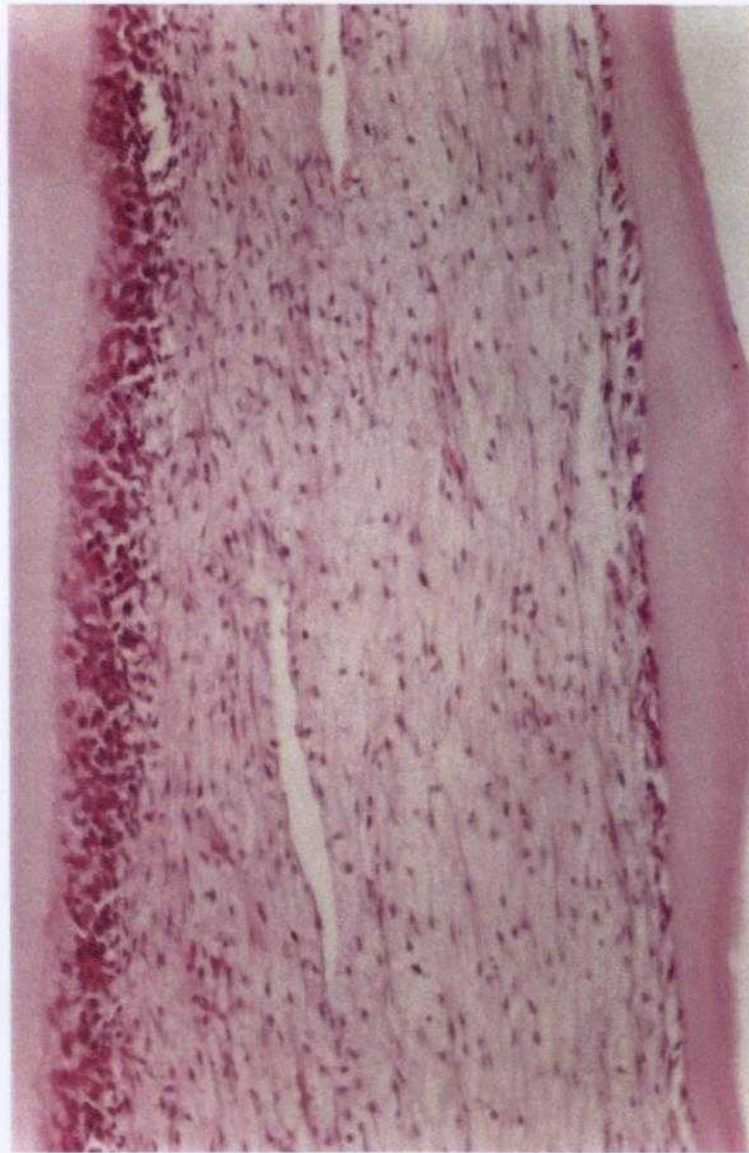


Figura 19 Grupo B, energia máxima, após 24 horas com laser de hólmio

$E= 512\text{mJ/pulso}$ , 10 pulsos,  $D= 477,8\text{J/cm}^2$ ,  $f=0,5\text{ Hz}$

Na Figura 18 e Figura 19 observam-se fotomicrografias de preparações histológicas permanentes, semi-seriadas ( $6\mu\text{m}$ ), obtidas paralelamente ao plano sagital do dente de coelho do grupo de 24 horas pós-irradiação, coradas com hematoxilina e eosina. Pode-se observar a uniformidade da camada



odontoblástica para ambos os aumentos, assim como ausência de infiltrado inflamatório.

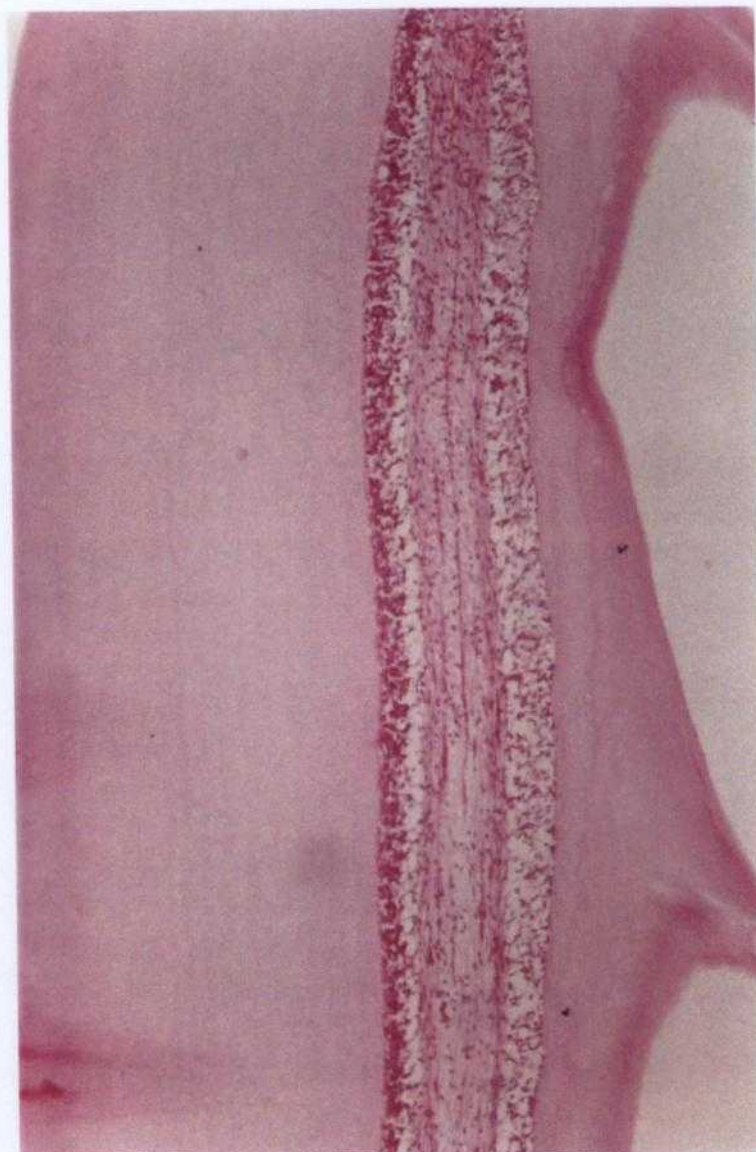


Figura 20 Grupo B, energia máxima, após 72 horas com laser de hólmio

$E = 512 \text{ mJ/pulso}$ , 10 pulsos,  $D = 477,8 \text{ J/cm}^2$ ,  $f = 0,5 \text{ Hz}$

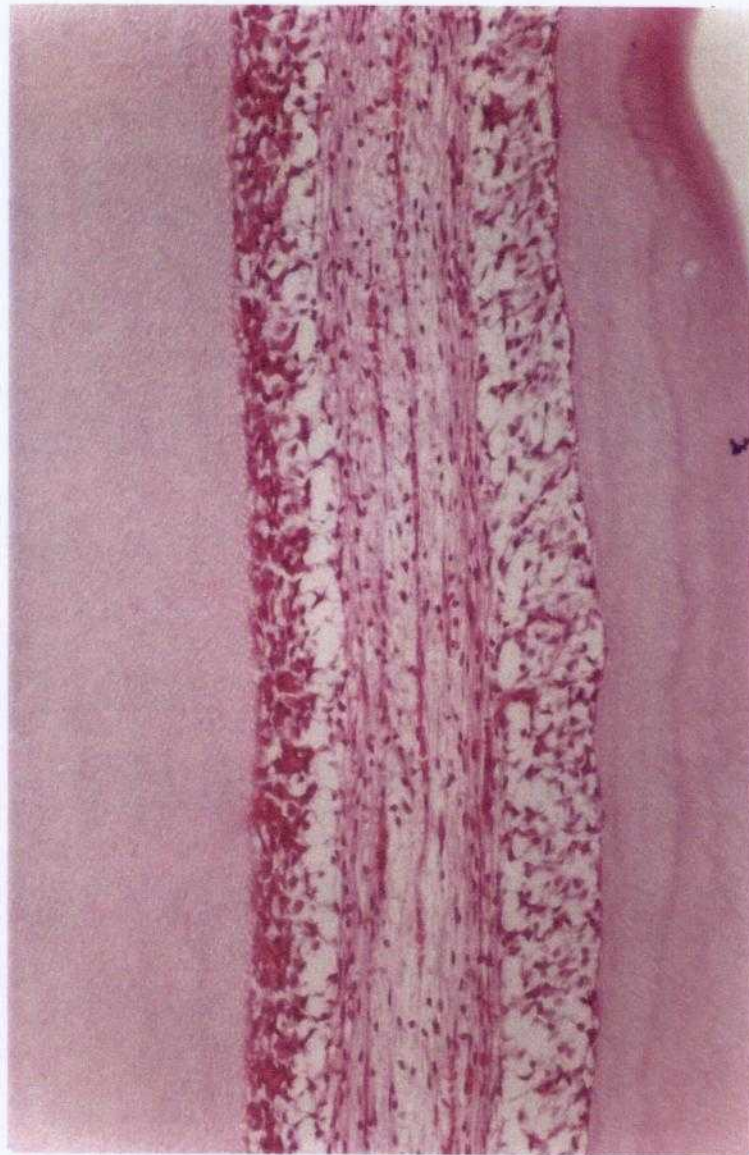


Figura 21 Grupo B, energia máxima, após 72 horas com laser de hólmio

$E = 512 \text{ mJ/pulso}$ , 10 pulsos,  $D = 477,8 \text{ J/cm}^2$ ,  $f = 0,5 \text{ Hz}$

Na Figura 20 e Figura 21 observam-se fotomicrografias de preparações histológicas permanentes, semi-seriadas ( $6 \mu\text{m}$ ), obtidas paralelamente ao plano sagital do dente de coelho do grupo de 72 horas pós-irradiação, coradas com

hematoxilina e eosina. Para ambos os aumentos observa-se camada odontoblástica em paliçada e ausência de infiltrado inflamatório.

## 6. CONCLUSÕES

A monitoração da temperatura *in vitro* durante a irradiação da superfície oclusal de dentes de coelhos resultou, para a condição de 334mJ/pulso, 0,5Hz, 286,7J/cm<sup>2</sup>, num aumento máximo de temperatura de 1°C; e para 512mJ/pulso, 0,5Hz, 477,8J/cm<sup>2</sup>, numa elevação máxima de temperatura da ordem de 4,5°C, mostrando que estes valores não deverão causar danos pulpares em verificação *in vivo*.

A análise histopatológica sob as condições de irradiação determinadas no experimento *in vitro* não revelou alterações no tecido pulpar para nenhuma das densidades de energias utilizadas, no período de zero a 72 horas após a irradiação.

Estes resultados indicam que este laser poderá ser usado para pesquisa clínica em virtude de seu potencial de prevenção de cáries.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 EDUARDO, C.P.; ZECELL, D.M.; CECCHINI, S.C.M.; ROSSI, W.; RANIERI, I.M.; MORATO, S.P.; MATSUMOTO, K. Scanning electron microscopy analysis of enamel and dentine irradiated by Holmium laser. *Proceedings of 4<sup>th</sup> International Congress on Lasers in Dentistry -Singapura* , pp. 6-10, agosto, 1994.
- 2.LIPPAS, M.G.; ARCORIA, C.J.; KHADEMI, J.A. Surfaces analyses of Ho:YAG, CO<sub>2</sub>, Nd:YAG e Ar:F lasers. In: *Proceedings of International Society for Lasers in Dentistry-ISLD*, pp. 139-40, 1992.
- 3 ZECELL, D.M.; BONK, P.A ; SALVADOR, V.L.R.; VIEIRA JR, N.D.; EDUARDO, C.P. Potencial of Ho:YLF and Fluoride in Prevention of dental caries.In: *Proceedings of 6<sup>th</sup> International Congress on Lasers in Dentistry* , pp. 63-65, Havaí, EUA, 28-30 Julho, 1998.
- 4.FEATHERSTONE, J.D.B.; BARRET-VESPONI, N.A.; FRIED, D.; KANTAROWTZ, Z.; SIKKA, W. CO<sub>2</sub> inhibition of artificial caries like lesion progression in dental enamel. *Journal of Dental Research*, v.7 (6), pp. 1397-1403, 1996.
- 5.FEATHERSTONE, J.D.B.; FRIED, D.; BITTEN, E.R. Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel. In: *Proceedings of International Symposium on Biomedical Optics SPIE*, v.2973, pp. 112-6, Bellingham, 1997.
- 6.CECCHINI, S.M. Estudo *in vitro* das aplicações do laser de Hólmio:YLF em

esmalte e dentina visando à realização de cirurgia de acesso endodôntico e preparo cavitário. *Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-IPEN. São Paulo, 1995.*

7.MYAKI, S.I. Efeitos da irradiação da luz laser Nd:YAG nos sulcos e fissuras de pré-molares humanos: estudo *in vitro*, empregando a MEV. *Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo - FOU SP. São Paulo, 1995.*

8.CECCHINI, R.C.M. Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG em esmalte dental: análise de fluorescência de raios x e microscopia eletrônica de varredura. *Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo-FOUSP. São Paulo, 1997.*

9.BONK, P.A. Avaliação da mudança da microdureza na superfície de esmalte dentário irradiado com laser de hólmio e modelamento das microexplosões. *Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-IPEN. São Paulo, 1999.*

10.BACHMANN, LUCIANO. Sistema de entrega de feixe para laser de Ho:YLF e aplicações em endodontia. *Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-IPEN. São Paulo, 2000.*

11.BOARI, H.G.D. Avaliação clínica da eficiência do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado na prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças

e adolescentes. *Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN*. São Paulo, 2000.

12. ZEZELL, D.M.; CECCHINI, S.M.; EDUARDO, C.P.; MATSUMOTO, K.; ROSSI, W.; NOGUEIRA, G.E.C.; BERRETTA, J.R.; VIEIRA, N.D.; MORATO, S.P. Experimental studies of the applications of the holmium laser in dentistry. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, v. 13 (4), pp. 283-9, 1995.

13. ZEZELL, D.M.; CECCHINI, S.M.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Temperature changes under Ho:YLF irradiation. In: *Proceedings of International Symposium on Biomedical Optics*, v. 2672, pp. 34-9, 1996.

14. ZEZELL, D.M.; BONK, P.A.; SALVADOR, V.L.R.; ROSSI, W.; RANIERI, I.M.; BACKMANN, L.; EDUARDO, C.P.; VIERA JR, N.D.; MORATO, S.P. Combined effect of holmium laser and fluoride in prevention of dental caries *in vitro*. In: *Proceedings of Symposium on Laser and their Applications*, pp.162-2, dezembro 3-5, Campinas - São Paulo, 1997.

15. CECCHINI, S.C.; ZEZELL, D.M.; BACHMANN, L.; STREFEZZA, C.; PINOTTI, M.; GESSÉ, E.; EDUARDO, C.P. Evaluation of two laser systems for intracanal irradiation. In: *Proceedings of Lasers in Dentistry*, v. 3593, pp. 31-5, USA, 1999.

16. STREFEZZA, C.; ZEZELL, D.M.; BACHMANN, L.; CECCHINI, S.C.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Lasers parameters for safe endodontical procedures. In: *Proceedings of 8<sup>th</sup> International Congress of The German Society for Lasers in*

*Dentistry - DGL*, janeiro 22-24, Alemanha, 1999.

17. STREFEZZA, C.; ZECELL, D.M.; BACHMANN, L.; CECCHINI, S.C.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Efeitos térmicos da irradiação intracanal do laser de Nd:YAG. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO*, p. 17, Águas de São Pedro, São Paulo, setembro, 1999.

18. STREFEZZA, C.; ZECELL, D.M.; BACHMANN, L.; CECCHINI, S.C.; PINOTTI, M.; EDUARDO, C.P. Thermal effects during *in vitro* intracanal application of Nd:YAG laser. *Journal of Dental Research*, v. 79 (5), p. 1074, maio, 2000.

19. L.F., JOHNSON BOYD; K., NASSAU. Optical Maser characteristics of  $Tm^{+3}$  in  $CaWO_4$ . In: *Proceedings IRE*; G.D., 50, n.86, 1962.

20. WHITE, J.M.; NEEV, J.; GOODIS, H.; BERNIS, M.W. Surface temperature and thermal penetration depth of Nd:YAG laser applied to enamel and dentine. In: *Proceedings of Lasers Surgery*, SPIE 1643, pp. 423-36, 1992.

21. DOMANKEVTZ, Y.; McMILLAN, K.; NISHIOKA, N.S. Characterization of tissue ablation with a continuous wave holmium laser. *Lasers in Surgery and Medicine*, v. 19, pp. 97-102, 1996.

22. PICK, R.M. Using lasers in clinical dental practice. *Journal American of Dental Association - JADA*, v. 124, pp. 37-47, 1993.

23. EDUARDO, C.P.; CECCHINI, R.M.; CECCHINI, S.M.; ZECELL, D.M. Os benefícios do laser ao cirurgião-dentista - uma nova realidade. *Jornal da*



*Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas - APCD*, pp. 24-25, maio, 1993.

24. WIGDOR, H.A.; WALSH JR, J.T.; FEATHERSTONE, J.D.B.; VISURI, S.R.; FRIED, D.; WALDVOGEL, J.L. Lasers in dentistry. *Lasers and Surgery and Medicine*, v. 16, pp 103-33, 1995.

25. FRENTZEN, M; KOORT, H.J.. Histological investigation of mid infrared laser ablation of dental hard tissues. In: *Proceedings of International Society Laser in Dentistry*, p. 243, 1992.

26. STEVENS, B.H.; TROWBRIDGE, D.; HARRISON, G.; SILVERSTON, S.F. Dentin ablation by Ho:YAG laser: Correlation of energy versus volume using stereophotogrammetry. *Journal of Endodontics*, v. 20 (5), pp. 246-248, 1994.

27. GOODIS, H.E.; WHITE, J.M.; MARSHAL, S.J.; MARSHAL, G.W. Evaluation of the Nd:YAG and Ho:YAG laser in root canal preparation and sterilization. In: *Proceedings of 3<sup>rd</sup> International Congress on Lasers in Dentistry*, Salt Lake City, pp. 79-80, 1992.

28. GUTKNECHT, N.; MORITZ, M.N.; BURGHARDT, S.F.; LAMPERT, F. The efficiency of root canal disinfection using a Holmium: Yttrium-Aluminum-Garnet laser *in vitro*. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, v. 15 (2), pp. 75-8, 1997.

29. MORITZ, M.N.; GUTKNECHT, N.; SAILER, H.F.; HERING, P.; PRETTL, W. Laboratory investigation of the efficacy of Holmium: YAG laser irradiation in

removing intracanal debris. In: *Proceedings of International Symposium on Biomedical Optics*, v. 2973, pp. 150-6, 1997.

30.MORITZ, A ; SHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; JAKOLISTSCH, S.; KLUGER, W.; WERNISCH, J.; SPERR, W. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal : na *in vitro* comparison. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, v. 17 (4), pp. 161-4, 1999.

31.GOUW-SOARES, S.; GUTKNECHT, S.N.; CONRADS, G.; LAMPERT, F.; MATSON, E.; EDUARDO, C.P. The bactericidal effect of Ho:YAG laser irradiation within contaminated root dentinal samples. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, v. 18(2), pp. 81-7, 2000.

32.ADRIAN, J.C.; Pulps effects of Nd:YAG laser. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Patholgy*, v. 44, pp. 831-2, 1980.

33.MISERENDINO, L.; NEIBURGER, E.J.; WALIA, H.; BRANTLEY, W. Effects of continuous wave CO2 laser exposure on human teeth: na *in vitro* study. *Journal of Endodontics*, v, 15 (7), pp. 302-5, julho, 1989.

34.POWELL, G.L.; MORTON, T.H.; LARSEN, A E. Pulpal response to irradiation of enamel with continuous wave CO2 laser. *Journal of Endodontics*, v.15 (12), pp.581-3, dezembro, 1989.

35.GOODIS, H.E.; WHITE, J.M.; HARLAN, L. Absence of pulpal response from ND:YAG laser exposure on enamel. *Journal of Dental Research*, v. 71, p. 162,

1992.

36. BAHCALL, J.; HOWARD, P.; MISERANDINO, L.; WALIA, H. Preliminary investigation of the histological effects of laser endodontic treatment on the periradicular tissues in dogs. *Journal of Endodontics*, v. 18 (2), pp. 47-51, 1992.

37. NUBLER-MORITZ, M.; GUTKNECHT, N.; SAILER, H.F.; HERRING, P.; PRETTL, W. A laboratory investigation of the efficacy of Holmium:YAG laser irradiation in removing intracanal debris. In: *Proceedings of International Symposium on Biomedical Optics*, San Jose, EUA, pp. 150-6, 1997.

38. TANJI, E.Y.; GOUW-SOARES, S.; GROTH, E.B.; EDUARDO, C.P.; M.E.V. de canais radiculares irradiados com Er:YAG e Nd:YAG lasers. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO*, p.47, Águas de São Pedro, São Paulo, setembro, 1998.

39. GOUW-SOARES, S.C.; TANJI, E.; MATSON, E.; LAGE-MARQUES, J.L.; EDUARDO, C.P. Er:YAG e Nd:YAG lasers em apicectomia. Análise morfológica/permeabilidade dentinária. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO*, p. 133, Águas de São Pedro, São Paulo, setembro, 1998.

40. WHITE, J.M.; FAGAN, M.C.; GOODIS, H.E. Intrapulpal temperatures during pulsed Nd:YAG laser treatment of dentin *in vitro*. *Journal of Periodontology*, pp. 255-259, março, 1994.

41. ADRIAN, J.C.; BERNIER, J.L.; SPRAGUE, W.G. Laser and the dental pulp. *Journal American of Dental Association - JADA*, v. 83, pp. 113-7, 1971.
42. ZACH, L ; COHEN, G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Patholgy*, v. 19, pp. 515-30, 1965.
43. COHEN, B.I.; DEUTSCH, A.S.; MUSIKANT, B.L. Effect of power setting on temperature change at the root surface when using a Holmium:YAG laser in enlarging the root canal. *Journal of Endodontics*, v. 22, pp. 596-99, 1996.
44. ERIKSSON, A.; ALBREKTSSON, T.; GRANE, B.; MCQUEEN, D. Thermal injury to bone: a vital-microscopic description of heat effects. *International Journal Oral Surgery*, v. 11, pp.115-21, 1982.
45. ERIKSSON, A.R.; ALBREKTSSON, T. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital study in the rabbit. *Journal Prosthet Dent*, v. 50, pp. 101-7, 1983.
46. ERIKSSON, A.R.; ALBREKTSSON, T. The effect of heat on bone regeneration. *Oral Surgery*, v. 42, pp. 705-11, 1984.
47. WHITE, J.M.; PELINO, J.E.P.; RODRIGUES, R.O ; ZWHALEN, B.J.; NGUYEN, M.H.; WU, E.H. Surface and pulpal temperature comparison of tooth whitening using lasers and curing lights. In *Lasers in Dentistry VI - Proceedings of International Symposium on Biomedical Optics SPIE*, v. 3910, 2000.
48. STERN, R.H.; SOGNAES, R.F. Laser beam effect on dental hard tissue.

*Journal of Dental Research*, v. 43, p. 873, 1962.

49. WHITE, J.M.; GOODIS, H.E.; SETCOS, J.C.; EAKLE, W.S.; HULSCHER, E.; ROSE, C.L. Effect of pulsed Nd:YAG laser energy on human teeth. *Journal American of Dental Association - JADA*, v. 124 (7), pp. 45-51, 1995.

50. NEEV, J.; PHAM, K.; LEE, J.P.; WHITE, J.M. Dentin ablation with three infrared lasers. *Lasers and Surgery and Medicine*, v. 18, pp. 121-8, 1993.

51. STERN, R.H.; SOGNAES, R.F. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests *in vivo*. *Journal American of Dental Association - JADA*, v. 85, pp. 1087-90, 1972.

52. CERNAVIN, I. A comparison of the effects of Nd:YAG laser irradiation on dentine and enamel. *Australian Dental Journal*, v. 40 (2), pp. 79-84, 1995.

53. HOSSAIN, M. ; NAKAMURA, Y.; KIMURA, Y.; YAMADA, Y.; ITO, M.; MATSUMOTO, K. Caries preventive effect of Er:yag laser irradiation with or without water mist. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, v.18 (2), pp.61-5, 2000.

54. TAGOMORI, S.; MORIOKA, T. Combined effects of laser and fluoride on resistance of human dental enamel. *Caries Research*, v. 23, p.p 225-31, 1989.

55. FOX, J.L.; YU, D.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W.I.; WONG, J.; POWELL, G. Combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. *Caries Research*, v. 26, pp. 333-9, 1992.

- 56.NAMMOUR, S.; SQUILBIN, C.R.; BEHETS, C.N. Increased resistance to artificial caries-like lesions in dentin treated with CO<sub>2</sub> laser. *Caries Research*, v. 26, pp. 170-5, 1992.
- 57.OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Research*, v. 24, pp. 86-92, 1990.
- 58.MYERS, T.D.; MYERS, W.D. The use of a laser for debridment of incipient caries. *Journal Prost. Dent.*, v. 53 (6), pp. 776-9, 1992.
- 59.STABHOLZ, A. ; NEEV, J.; LIAW, L.H.L.; STABHOLZ, A. ; KHAYAT, A. .Sealing of human dentinal tubules by XeCl 308nm Excimer laser. *Journal of Endodontics*, v. 19 (6), pp. 267-71, 1993.
- 60.CECCHINI, R.; ZECELL, D.; SALVADOR, V.; EDUARDO, C.P. *In vitro* analysis of the Nd:YAG laser in enamel using X-ray fluorescence and scanning electron microscopy. In: *Proceedings of Symposion on Lasers and and their Applications.*, dezembro 3-5, Campinas São Paulo, 1997.
- 61.PELINO, J.L. Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd:YAG sobre o esmalte dental humano: análise por microscopia óptica e MEV. *Dissertação (Mestrado) São José dos Campos*, São Paulo, 1998.
- 62.CECCHINI, R.C.; PELINO, J.E.; MELLO, J.B.; CARDOSO, J.B.; SALVADOR, V.I.; EDUARDO, C.P. Acid resistance of enamel treated with Nd:yag laser associated with fluoride and exposed to a s. mutans cuture media. In: *Proceedings*

of 6<sup>th</sup> *International Congress on Lasers in Dentistry- ISLD.*, pp.53-7, 1998.

63.LAN, W.L.; CHEN, K.W.; JENG, J.H.; LIN, C.P. A comparison of the morfological changes after Nd:YAG and CO<sub>2</sub> laser irradiation of dentin. *Journal of Endodontics*, v. 26 (8), pp. 450-3, agosto, 2000.

64.ZEZELL, D.M.; BONK, P.A ; SALVADOR, V.L.R.; ROSSI, W.; RANILI, I.M.; BACHMANN, L.; EDUARDO, C.P.; VIEIRA, N.D.; MORATO, S.P. Combined effect of holmium laser and fluoride in prevention of dental caries *in vitro*. In: *Proceedings of Symposion on Lasers and and their Applications.*, pp. 162-4, Campinas, São Paulo, 3-5 dezembro 1997.

65.ZEZELL, D.M.; CECCHINI, S.C.M.; CECCHINI, R.C.M.; EDUARDO, C.P. Efeitos dos lasers de hólmio em esmalte e dentina .In: *VI Simpósio Estadual de Lasers e Aplicações*, pp. 72-5, São Carlos, São Paulo, 1994.

66.WHITE, J.M.; GOODIS, H.E.; MARSHALL, G.W.; MARSHALL, S.J. Identification of the physical modification threshold of dentin induced by neodymium and holmium YAG lasers using SEM. *Scanning Microscopy*, v. 7 (1), pp. 239-46, 1993.

67.CERNAVIN, I. A comparison of the effects of Nd:YAG and Ho:YAG laser irradiation on dentine and enamel : a preliminary study. In: *Proceedings of 4<sup>th</sup> International Congress of Laser in Dentistry-ISLD*, agosto, Singapore, 1994.

68.BARTON, T.G.; FOTH, H.J.; CHRISTH, M.; HORMANN, K.; Interaction of

holmium laser radiation and cortical bone: ablation and thermal damage in a turbid medium. *Applied Optics*, v. 36 (1), pp. 32-43, 1997.

69 PAIVA, S.G.; ANTONIAZZI, J.H. *Endodontia: Bases para a prática clínica*. 2ª ed. Porto Alegre, Artes Médicas, cap.1 (p.3-18) e cap.3 (pp.37-76), 886p., 1988.

70.RODE, S.M.; PENNA, L.A.P.; CAVALCANTI, B.N. Desvendando os mistérios da Polpa. In: FELLER, C.; GORAB, R. *Atualização na Clínica Odontológica*., Porto Alegre, Artes Médicas, v. 1, cap.4, pp.92-130, 2000.

71.BRAMANTE,C.M. Resolução das dores pulpares. In: TODESCAN, F.F.; BOTTINO, M.A *Atualização na Clínica Odontológica*., Porto Alegre, Artes Médicas, v. 1, cap. 9, pp. 201-10, 1996.

72.HOBBS, B.A.; ROLHALL, T.G.; SRENKEL, T.L.; ANTHONY, K.L. Comparison of several combinations for anesthesia in rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, v. 52 (5), pp.669-74, 1991.

73.LIPMAN, N.S.; MARINI, R.P.; ERDMAN, S.E. A comparison of ketamine/xylazine and ketamine/xylasine/acepromazine anesthesia in rabbit. *Laboratory Animal Science*, v. 40 (4), pp.395-8, 1990.

74.FLECKNELL, P. A.; Exotic animals dental abnormalities and treatmen. In: HARVEY, C.E.; ORR, H.S. *Manual of Small Animal Dentistry*. published by British Small Animal Veterinary Association, 1ª ed., cap. 11, pp131-6, 1990.

75.OKAMOTO, T.; PINTO, R.S.; AGUIAR, S.A. Implante de composto para



obturações retrógradas em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Estudo histológico. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas-APCD*, v. 35 (6), nov.dez., 1981.

76.CASTELO, P.S. Estudo experimental do comportamento da região periapical, em dentes molares de ratos (*Rattus norvegicus, albinus, Rodentia mammalia*) quando da utilização de algumas substâncias químicas durante o preparo do conduto radicular. *Monografia para obtenção de título de especialista em endodontia - Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas-APCD*, 1983.

## APÊNDICE[1]

O coelho pertence a ordem dos Lagomorfos , antigamente confundida com os roedores. Os membros desta ordem ocorrem em quase todo mundo, sendo ausentes nas regiões meridionais da América do Sul, em Madagáscar, na região centro-oriental do arquipélago malaio e na Austrália.

A principal característica desta ordem reside na presença de dois pares de incisivos superiores e um par na mandíbula. Por trás dos incisivos maxilares, visíveis, existem outros dois, menores e colados aos anteriores. Por essa razão, este grupo era classificado antigamente dentro da ordem dos Roedores sob o nome de Duplicidentados.

De dimensões médias, os Lagomorfos possuem uma pelagem densa. Os pelos táteis, são desenvolvidos, especialmente sobre o lábio superior. A região nua em torno das narinas e que se estende até o lábio tem a forma de um Y, cujos braços se orientam na direção das cavidades nasais; o pé do Y forma a fenda vertical do lábio superior, deixando entrever os incisivos. Dessa conformação particular vem a designação de lábio leporino.

As características dos representantes da ordem dos Lagomorfos são as seguintes:

- Tamanho médio ou pequeno.
- Dois pares de incisivos superiores, um anterior e um posterior, de crescimento contínuo e de tamanhos diferentes, separados dos molares por um espaço denominado diástema.
- A região dos dentes posteriores compreende três pré-molares e três primeiros molares, no arco superior; e dois pré-molares e três molares, no inferior(ver figura na página seguinte).

---

1 Wiggs, R. B.; Lobprise, H. B. Dental and oral disease in rodents and lagomorphs. In: Veterinary Dentistry – Principle & Practice Raven Publishers v.47, pp. 518-526, 1997.



M22098



***instituto de pesquisas energéticas e nucleares***

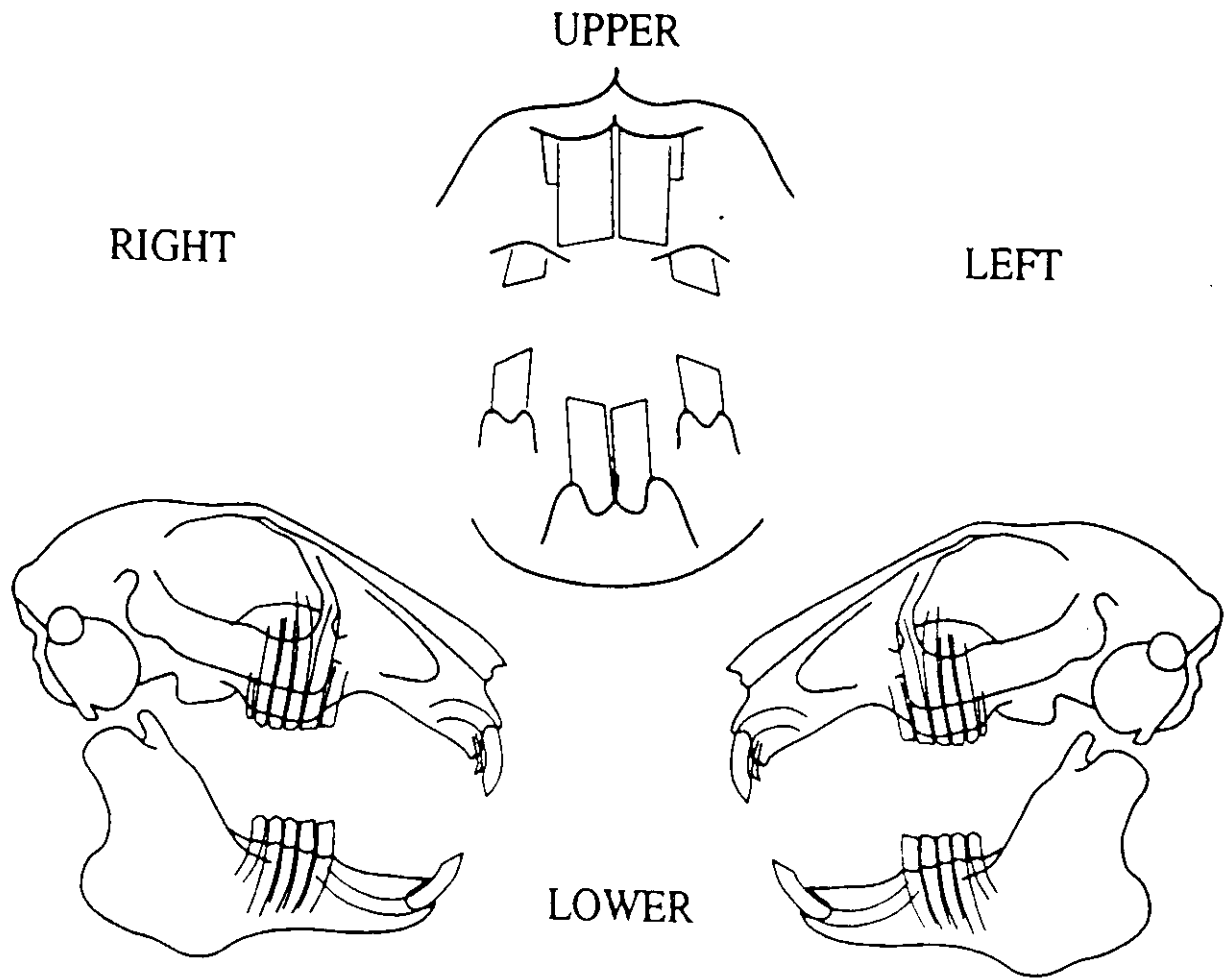
**Av. Prof. Lineu Prestes, 2.242 - Cidade Universitária**

**São Paulo - CEP.: 05508-900**

**Tel.: (011) 3816-9000 - Fax.: (011) 3812-3546**

**<http://www.ipen.br>**

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear e associada à Universidade de São Paulo para fins de ensino de Pós-Graduação.



David A. Crossley 1993



M22098



***instituto de pesquisas energéticas e nucleares***

**Av. Prof. Lineu Prestes, 2.242 - Cidade Universitária**

**São Paulo - CEP.: 05508-900**

**Tel.: (011) 3816-9000 - Fax.: (011) 3812-3546**

**<http://www.ipen.br>**

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear e associada à Universidade de São Paulo para fins de ensino de Pós-Graduação.