



BR0645267



INIS-BR--3988

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE GaAIAs($\lambda=660\text{nm}$) EM
BAIXA INTENSIDADE NA INTERFACE DENTINA-POLPA
PÓS-PREPARO CAVITÁRIO CLASSE 1**

BRUNO MIRANDA GODOY

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

Orientador:
Profa. Dra. Martha Simões Ribeiro

Co-orientador:
Prof. Dr. Eduardo de Bortoli Groth

**São Paulo
2003**

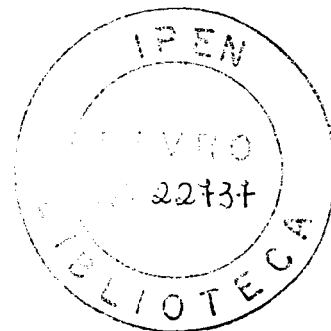
..314.14:
89e



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

EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE GaAlAs ($\lambda=660\text{nm}$) EM BAIXA
INTENSIDADE NA INTERFACE DENTINA-POLPA PÓS-PREPARO
CAVITÁRIO CLASSE I

BRUNO MIRANDA GODOY



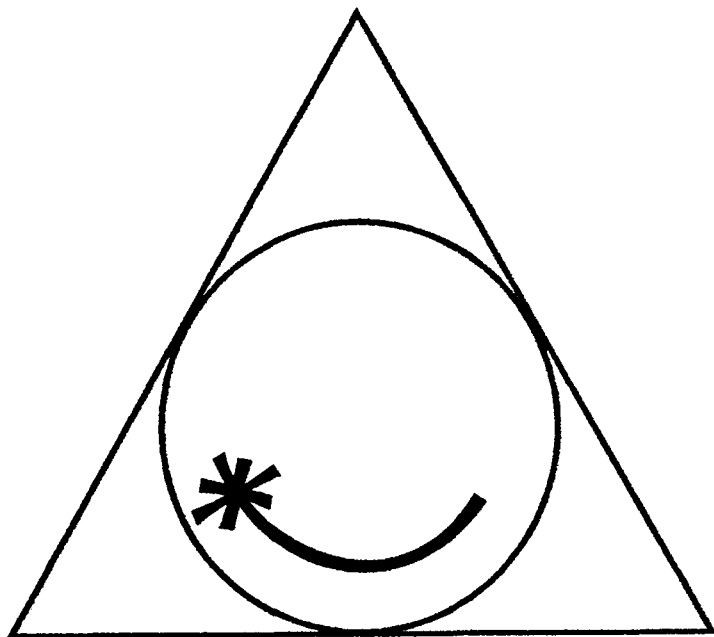
Dissertação apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Mestre Profissional em
Lasers em Odontologia.

Orientador : Prof^ª .Dra. Martha Simões Ribeiro

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo de Bortoli Groth

São Paulo

2003



**MESTRADO PROFISSIONALIZANTE DE LASER EM
ODONTOLOGIA**

DEDICATÓRIAS

*Aos meus queridos pais Alaor e
Bel, que sempre estiveram ao meu lado
me apoiando e me incentivando.*

*Aos meus amados avós Vó Méla,
Popôio e Vó Cidinha, que cuidaram de
mim e sempre me estimularam nos
estudos.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Martha Simões Ribeiro, sempre amiga e companheira.

Sem você não conseguiria...

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Eduardo de Bortoli Groth, por compartilhar a idéia do trabalho.

Ao Prof. Dr. Victor Arana-Chavez, do Laboratório de Biologia dos Tecidos Mineralizados do ICB/USP, mentor da Histologia, e a toda equipe do ICB, em especial à Sabrina, que me ajudaram em todas as etapas deste trabalho.

À minha querida amiga Babi e à Clélia, por terem colaborado com seus dentinhos.

Ao meu melhor amigo e irmão Paulinho, por ser a pessoa que é.

À minha irmã Andréa, que entrará em breve nessa mesma batalha.

Aos meus primos Júnior, Cacá e Gui: mesmo estando longe não esqueço de vocês e à Alessandra pela tradução.

Ao meu irmão companheiro Prof. Marcio Mollo, que me agüenta todos os minutos.

À minha cunhada Renata Sampaio Goes pelas risadas e colaboração nos agradecimentos.

A todos os professores da FOU SP e do IPEN que se empenharam ao máximo para nos transmitir todos os seus conhecimentos.

A todos meus colegas do MPLO, em especial ao Luis Mário, Patrícia, Silvinha e Rosely Cordon.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	04
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	05
3.1. O LASER.....	05
3.2. A TERAPIA COM LASERS EM BAIXA INTENSIDADE	08
3.3. O COMPLEXO DENTINA-POLPA	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
5. RESULTADOS	21
6. DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÃO.....	30
ANEXO 1.....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

**EFEITOS DA RADIAÇÃO LASER DE GaAlAs ($\lambda=660\text{nm}$) EM BAIXA
INTENSIDADE NA INTERFACE DENTINA-POLPA PÓS-PREPARO
CAVITÁRIO CLASSE I**

BRUNO MIRANDA GODOY

Resumo

O presente trabalho foi realizado com a finalidade de investigar ultra-estruturalmente os efeitos do laser de GaAlAs de emissão vermelha e em baixa intensidade na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I preparado convencionalmente. Foram selecionadas duas pacientes de faixa etária similar com indicação de extração de pré-molares por motivos ortodônticos. Em seis dentes foram confeccionadas cavidades classe I, sem exposição pulpar, e divididos em dois grupos. No grupo que recebeu tratamento laser, utilizou-se um laser de GaAlAs de emissão contínua, $\lambda=660\text{ nm}$, emissão vermelha com potência máxima de 30 mW. A dosimetria aplicada foi de aproximadamente $2\text{J}/\text{cm}^2$, diretamente e perpendicularmente à cavidade, em apenas uma sessão. Após irradiação, as cavidades foram restauradas com resina composta. O segundo grupo recebeu o mesmo tipo de preparo e restauração, porém, não recebeu a terapia laser. Vinte e oito dias pós-preparo, os dentes foram extraídos e receberam procedimento padrão para preparação de amostras a serem estudadas por microscopia eletrônica de transmissão. Dois dentes sadios, sem preparo, também foram investigados. Os resultados obtidos sugerem que o grupo irradiado apresenta prolongamento odontoblástico em maior contato com a matriz extracelular e que as fibras colágenas apresentam-se mais agregadas e organizadas que o grupo controle, assemelhando-se à histologia do dente sadio, indicando, portanto, uma aceleração na recuperação das estruturas dentárias envolvidas durante o preparo cavitário em nível de pré-dentina.

**EFFECTS OF LOW-INTENSITY GaAlAs LASER RADIATION ($\lambda=660$ nm)
ON DENTINE-PULP INTERFACE AFTER CLASS I CAVITY PREPARATION**

BRUNO MIRANDA GODOY

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of low-intensity irradiation with GaAlAs laser (red emission) on the ultrastructure of dentine-pulp interface after conventionally prepared class I cavity preparation. Two patients with 8 premolars indicated for extraction for orthodontic reasons. Class I cavities were prepared in these teeth that were then divided into two groups. The first group received a treatment with a GaAlAs laser with continuous emission, $\lambda=660$ nm, with maximum power output of 30 mW. The dosimetry applied was of approximately $2\text{J}/\text{cm}^2$, directly and perpendicularly into the cavity in only one section. After the irradiation, the cavities were filled with composite resin. The second group received the same treatment, except by the laser therapy. Twenty-eight days after the preparation, the teeth were extracted and were processed for transmission electron microscopy analysis. Two sound teeth, without any preparation, were also studied. The irradiated group presented odontoblastic processes in higher contact with the extracellular matrix and the collagen fibers appeared more aggregated and organized than those of control group. These results were also observed in the healthy-teeth. Thus, we suggest that laser irradiation accelerates the recovery of the dental structures involved in the cavity preparation at the pre-dentine level.

1. INTRODUÇÃO

Entre os acontecimentos tecnológicos dos últimos tempos, o laser sem dúvidas ocupa um lugar de destaque. O laser está presente na pesquisa básica, na indústria e nas áreas da Saúde de maneira marcante. É usado para melhorar técnicas já existentes ou para fazer tarefas que antes não eram possíveis. A Medicina e a Odontologia, atualmente, são grandes beneficiárias desta tecnologia.

O crédito pelo desenvolvimento da teoria do laser é dado a Albert Einstein, que em 1917, publicou a teoria de que a emissão de luz por um átomo pode ser estimulada pela própria radiação incidente, o que constitui a emissão estimulada¹. Outros passos importantes foram dados por Arthur Schawlow, Charles Townes e Theodore Maiman. Maiman², em 1960, gerou o primeiro feixe laser usando um bastão de rubi e a partir do desenvolvimento deste laser, o interesse pelos efeitos biomédicos desta radiação aumentaram perante a comunidade científica.

No início da década de setenta, Endre Mester e grupo publicaram um dos primeiros trabalhos científicos mostrando os efeitos não-térmicos do laser em baixa intensidade na pele de ratos³. Nos anos seguintes, artigos foram publicados sobre os efeitos do laser em feridas e em cultura de leucócitos. Os lasers em baixa intensidade são, talvez, os lasers mais estudados mundialmente, e com certeza já fazem parte da rotina de uma grande quantidade de consultórios em países como Alemanha e Japão⁴. Uma das razões da popularidade deste tipo de laser está relacionada ao baixo custo do equipamento e a objetividade e simplicidade dos procedimentos clínicos terapêuticos a que se destina. A terapia laser é mais uma opção de tratamento que se pode oferecer ao paciente na clínica diária. Observa-se que clínicos de todas as áreas estão se integrando cada vez mais a essa nova ferramenta de trabalho que nos é apresentada.

Experimentos sobre os efeitos médicos e biológicos do laser são relatados desde 1964⁵. Desde então, sabe-se que a irradiação de um tecido vivo com lasers em baixa intensidade provoca, em nível biológico funcional, um aumento na síntese de proteínas na célula, além de mudanças na distribuição de cargas elétricas na membrana celular. Há relato de casos em que existem respostas fisiológicas tais como, supressão da dor e aceleração de cicatrização^{6,7,8}. Sob o ponto de vista físico, é útil definir a possível ação dos lasers em baixa intensidade como efeitos não-térmicos, por causarem aumento de temperatura inferior a 0,5°C^{9,10}.

No caso específico da terapia com lasers em baixa intensidade (LILT – *Low Intensity Laser Therapy*), é proposto que componentes da cadeia respiratória sejam os primeiro absorvedores do quantum de luz, desencadeando uma cascata de eventos que conduz à resposta final, logo, as características do laser e as propriedades ópticas do tecido são importantes para o melhor aproveitamento da luz laser, e isto explica o fato dos lasers com emissão vermelha, por exemplo Hélio e Neônio (He-Ne) ($\lambda = 632,8$ nm) e infravermelho, por exemplo o laser de Arseneto de Gálio e Alumínio (GaAlAs) ($\lambda = 790$ ou 830 nm) e laser de Arseneto de Gálio (GaAs) ($\lambda = 904$ nm), serem o mais os mais utilizados na LILT¹¹.

Os efeitos terapêuticos obtidos com estes lasers de baixa potência são utilizados para diversas finalidades na Odontologia, tais como aceleração do processo de cicatrização, regeneração óssea, atenuação dos processos dolorosos, prevenção de cárie, etc^{12,13,14,15}. Alguns trabalhos sugerem a influência biomoduladora da radiação laser sobre o processo inflamatório e reparacional em tecido pulpar, mostrando que o laser em baixa intensidade pode ser utilizado como um coadjuvante na formação de dentina secundária ou dentinogênese^{16,17,18,19,20}. Nesses trabalhos, entretanto, a radiação laser em baixa intensidade foi utilizada após preparos cavitários, com exposição pulpar. No entanto, tal

preparo é agressivo e só se justifica quando existe a cárie ou quando necessita-se do acesso à polpa para tratamento endodôntico. Portanto, a proposta deste trabalho é avaliar ultra-estruturalmente, por microscopia eletrônica de transmissão, os efeitos do laser com emissão vermelha na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I conservador, sem exposição pulpar.

2. OBJETIVOS:

- Investigar ultra-estruturalmente os efeitos do laser de GaAlAs de emissão vermelha e em baixa intensidade na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I;
- Comparar os resultados com amostras preparadas e não-irradiadas e amostras sadias.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O LASER²¹

O laser surgiu a partir da concepção física da “Teoria da Emissão Estimulada” elaborada por Einstein no início do século¹. A palavra LASER é formada pelo acrônimo de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, que significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação.

Para que a maioria dos equipamentos lasers possa operar, devem ser satisfeitas três condições fundamentais, isto é, três elementos são simultaneamente necessários. Os elementos constituintes de um laser são:

- meio ativo ou meio amplificador;
- mecanismo de excitação ou bombeamento;
- ressonador ou cavidade ressonante (onde se encontram um espelho totalmente refletor e um espelho parcialmente refletor, por onde o feixe laser se propaga para fora da cavidade).

O meio ativo possui níveis de energia excitáveis e capaz de armazenar a energia recebida do exterior. Este meio ativo pode se apresentar em forma sólida, líquida ou gasosa. O meio ativo determina o comprimento de onda pelo qual o laser opera.

O segundo componente é uma fonte de energia usada para estimular os átomos do meio ativo. A excitação do meio ativo pode ocorrer através de diversos mecanismos de bombeamento, onde se pode incluir até mesmo um outro laser como fonte externa de excitação. Conforme o tipo de meio ativo considerado, um determinado tipo de bombeamento é necessário.

O meio ativo está localizado em uma cavidade óptica ressonante, ou ressonador óptico, que se constitui de dois espelhos refletores paralelos, colocados frente a frente. Tais

refletores enviam a onda eletromagnética em múltiplas passagens de ida e volta no meio ativo, amplificando o campo eletromagnético na cavidade. Um dos espelhos, sendo semitransparente ou apresentando um orifício, permite que haja o acoplamento óptico em direção ao exterior. O comprimento do ressonador na ausência do meio ativo permite que as interferências entre as ondas que se propagam seja construtiva. Os espelhos do ressonador formam, assim, uma cavidade ressonante para tal comprimento de onda. Em um laser em funcionamento, os átomos são excitados sob a influência de um bombeamento. A emissão espontânea ocorre em todas as direções, inclusive seguindo o sentido óptico do ressonador. Através de múltiplas reflexões entre os espelhos, essa radiação amplifica-se por emissão estimulada a cada passagem no meio ativo.

A figura 1 mostra o esquema básico de um laser.

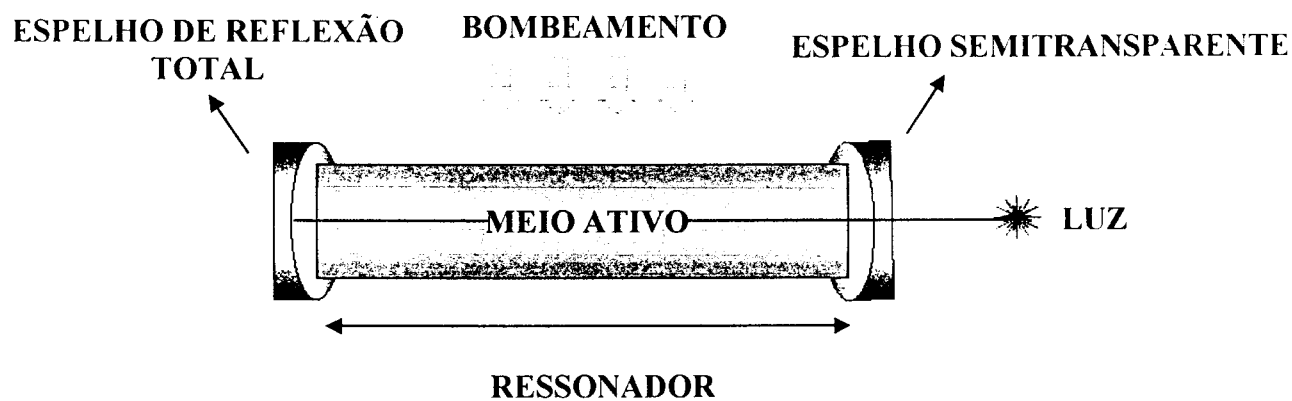


Figura 1: Elementos fundamentais constituintes de um laser¹¹.

Apesar dos conceitos físicos necessários para entender o funcionamento do laser serem complexos, as propriedades básicas do mesmo podem ser descritas sem recorrer a fórmulas matemáticas. A luz laser se diferencia da luz comum por suas propriedades de monocromaticidade, isto é, composta de fótons de mesmo comprimento de onda; coerência, ou seja, os fótons de mesmo comprimento de onda se propagam na mesma direção e vibrando na mesma taxa e colimação/direcionalidade, que é a propriedade que os fótons têm de se propagar em uma única direção, sem divergência significativa. Quando a luz laser incide em um tecido biológico (figura 2), uma parte da luz é refletida, uma parte da luz remanescente e que foi transmitida é espalhada dentro do tecido. Parte da luz remanescente pode ser absorvida, tanto pela água no tecido como por algum outro cromóforo absorvedor, como a hemoglobina e a melanina, e finalmente uma parte da luz pode ser transmitida ao longo de toda a espessura do tecido. A figura 3 mostra o coeficiente de absorção dos principais cromóforos absorvedores do tecido biológico. Pode-se observar que o comprimento de onda utilizado neste estudo ($\lambda = 660 \text{ nm}$) é pouco absorvido pela água e, por esta razão, tem maior profundidade de penetração no tecido.

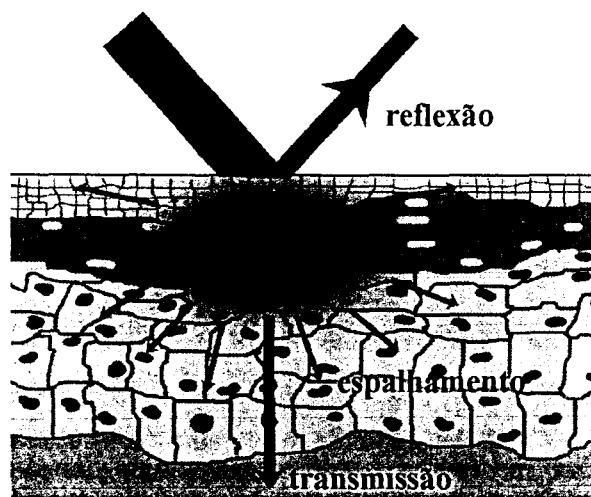


Figura 2: Interação da luz com tecidos²²

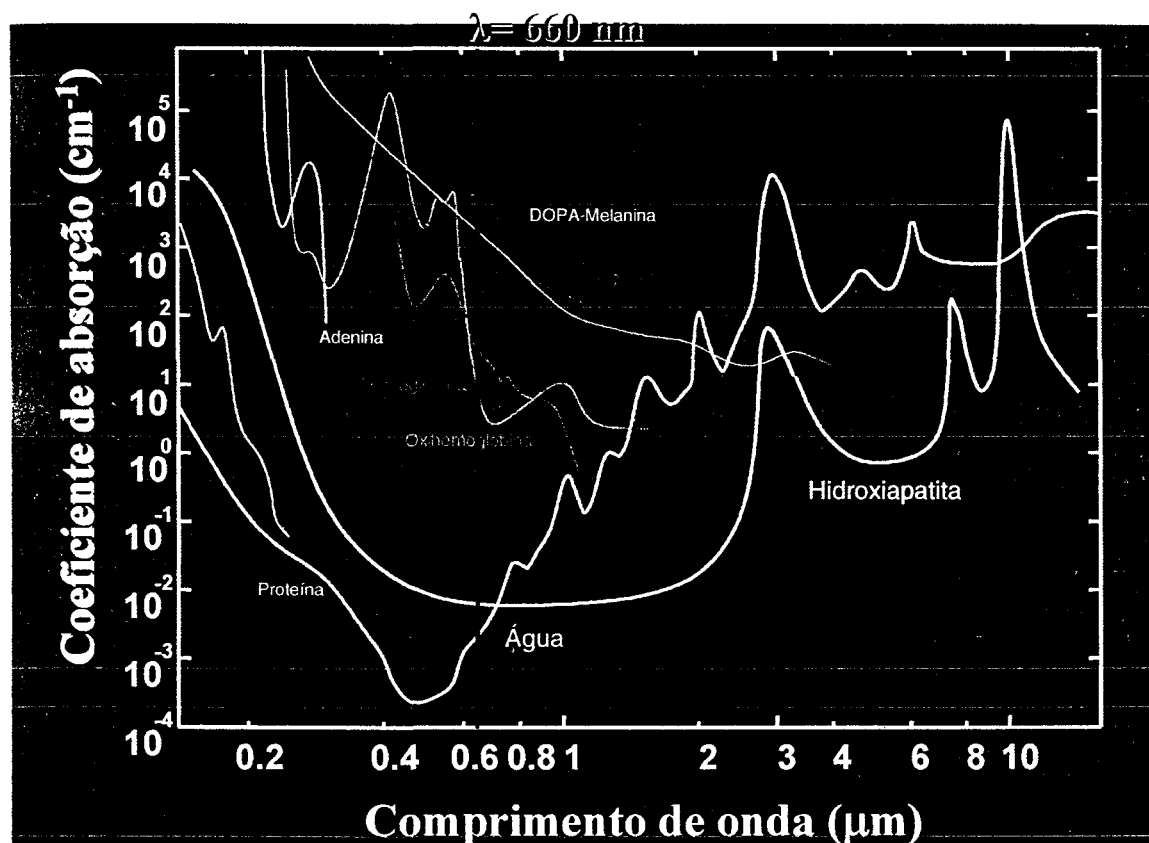


Figura 3: Absorção óptica de alguns cromóforos do tecido biológico²³.

3. 2. A TERAPIA COM LASERS EM BAIXA INTENSIDADE

A terapia utilizando lasers em baixa intensidade não é baseada em aquecimento, ou seja, a energia dos fótons absorvidos não será transformada em calor, mas sim, nos efeitos fotoquímicos, fotofísicos e/ou fotobiológicos nas células e no tecido. Quando a luz interage com as células ou tecido, dependendo da dose administrada, certas funções celulares poderão ser estimuladas ou inibidas. Quando a dose é aquela adequada, o efeito é particularmente evidente se a célula em questão tem a sua função debilitada²⁴. Trabalhos encontrados na literatura mostram que a terapia com luz laser em baixa intensidade tem efeitos mais pronunciados sobre órgãos ou tecidos enfraquecidos, tais como em pacientes

que sofrem algum tipo de desordem funcional ou de injúria ao tecido²⁵. Karu relata ainda que os efeitos terapêuticos obtidos com o laser de baixa potência podem ser explicados pelo aumento na proliferação celular ou pela mudança na atividade fisiológica de células excitáveis²⁴. No modelo de Karu, a luz visível produz mudanças fotoquímicas nos fotorreceptores das mitocôndrias, que alteram o metabolismo, conduzindo à transdução do sinal a outras partes da célula (incluindo membranas), que finalmente conduzem à fotorresposta (biomodulação).

Segundo Aun et al.²⁶, os lasers de baixa potência produzem efeitos fotoquímicos, que estão ligados à ação seletiva dos tecidos pela intensidade luminosa, que é depositada no tecido, transformando-se em energia vital, produzindo diversas reações bioquímicas. Mencionaram que a LILT pode estimular e liberar substâncias pré-formadoras como histamina, serotonina e bradicinina; modificar reações enzimáticas, tanto no sentido de excitação como de inibição; estimular seletivamente as mitocôndrias celulares, com aumento na produção de ATP e aumento na velocidade da mitose celular; aumentar a atividade respiratória celular e a microcirculação; produzir ação analgésica através do reequilíbrio do potencial da membrana celular; aumentar a velocidade e melhorar a qualidade de cicatrização. Além disso, são relatados benefícios da bioestimulação por laser nos preparos protéticos: além dos efeitos analgésicos no pós-operatório, incluindo o período de cimentação provisória, o seu efeito antiinflamatório *a posteriori* possibilita a indicação de maior número de preparos em dentes vivos, pois o selamento por deposição de dentina secundária que ocorre após o uso de lasers em baixa intensidade pode diminuir a ocorrência de problemas pulpares após preparo protético. Isso possibilita uma conduta mais conservadora do que as até então estabelecidas.

De acordo com Re e Viterbo²⁷, o efeito bioestimulante do laser em baixa intensidade atua como um fator coadjuvante da terapia clássica e não em substituição a ela. Em tratamentos odontológicos conservadores, a bioestimulação facilita a rápida formação de dentina secundária. Durante e após o tratamento cirúrgico, limita o uso de antibióticos e antiinflamatórios; reduz rapidamente o edema pós-cirúrgico; induz à aceleração de processos ósseos reparativos, induz a um menor tempo de cicatrização, minorando o tempo de formação do tecido de granulação. Aos reimpalntes dentais, estimula a fibrose, levando à redução do tempo para a mobilização dental. Em cirurgias plásticas, melhora a reparação tecidual.

No trabalho de Kurumada²⁸, investigou-se os efeitos da irradiação com laser semiconductor de GaAs sobre a ativação de células inflamatórias e sobre pulpotomia vital. Os efeitos da irradiação laser sobre a ativação de macrófagos e fibroblastos foram examinados para determinar a taxa de utilização de glicose dentro da célula e a atividade de lactato-dehidrogenase em cultura sobrenadante. Os macrófagos (preparados a partir de células de exsudato peritoneal) irradiados pelo laser não demonstraram qualquer intensificação, enquanto linhagens de células de fibroblastos foram ativadas pelo laser. Estes resultados sugeriram que irradiação laser foi efetiva para o crescimento de fibroblastos e induziram efeitos supressores para os macrófagos. Em adição, foram investigados os efeitos da irradiação laser sobre pulpotomia vital. Observou-se que a irradiação laser induziu a intensificação na superfície da ferida e estimulou a formação de tecido calcificado, permitindo ao autor indicar a terapia com laser em baixa intensidade como um método útil para a pulpotomia vital.

Brugnera e colaboradores¹⁶ usaram a LILT em polpa dental de ratos exposta mecanicamente (CW, $\lambda = 632,8 \text{ m}$, $P = 6\text{mW}$; secção transversal do feixe 1.8 mm^2 , tempo de

exposição 240 s varrendo cada dente, considerando uma área oclusal de aproximadamente 1 cm²). Os animais foram irradiados uma vez por semana durante um mês e sacrificados após 7, 14, 21 and 28 dias. Os controles foram sacrificados ao mesmo tempo. Os resultados mostraram que os animais irradiados apresentaram um aumento na produção de dentina e vedamento dos túbulos dentinários. Em contraposição, o grupo não irradiado mostrou sinais de reação inflamatória intensa e, em alguns casos, até necrose ao mesmo tempo. Os dentes irradiados não mostraram degeneração celular.

Yvan Paschoud e Jacques Holz¹⁷ relataram o efeito da LILT na neoformação de ponte de dentina em capeamento pulpar em dentes humanos à base de hidróxido de cálcio. Nesse estudo, foi utilizado um laser de He-Ne ($\lambda = 632,8$ nm) em 32 dentes humanos sadios indicados à extração por motivos ortodônticos ou de higienização. Foram feitos preparos cavitários classes I ou V e as polpas foram expostas e submetidas a capeamento pulpar com três produtos diferentes à base de hidróxido de cálcio. Depois, estes três grupos de dentes foram irradiados e no grupo controle não foi utilizado nenhum curativo, somente foi, ou não, exposto ao laser. Os resultados obtidos indicaram que a neoformação dentinária é dependente do produto químico utilizado e estimulada pela radiação laser de He-Ne.

Nagasawa¹⁸ reportou intensa formação de dentina secundária quando ratos receberam tratamento com laser de Nd:YAG em doses dentro do intervalo de bioestimulação. Estes resultados foram confirmados em achados clínicos.

Utsunomiya¹⁹ investigou os efeitos da radiação laser de baixa potência em polpa exposta de cachorros. A radiação foi aplicada à superfície exposta da polpa e foram observadas mudanças histopatológicas em 1, 3 e 7 semanas pós-operatório. Os resultados

mostraram formação de matriz fibrosa e mudanças na formação de ponte de dentina mais cedo no grupo irradiado que no grupo controle.

Dcabrowska e colaboradores²⁹ realizaram 30 capeamentos pulpres ou amputações junto com hidróxido de cálcio e LILT. Trinta e seis dentes foram tratados com hidróxido de cálcio somente. O grupo que recebeu tratamento a laser teve um pós-operatório mais favorável.

Segovia-Ferreira²⁰, em recente estudo, avaliou qualitativamente os efeitos do laser de GaAlAs sobre as células pulpres e na dentinogênese reacional, além da expressão do colágeno tipo I e tipo III, da tenascina e fibronectina nos tecidos dentais. Para o estudo foram selecionados dentes pré-molares com indicação de exodontia por motivos ortodônticos e divididos em grupos irradiados e não irradiados, sendo após realizados preparos cavitários classe V de Black. Para os grupos irradiados utilizou-se o laser GaAlAs de $\lambda = 670$ nm na potência de 50 mW e densidade de energia de 4 J/cm^2 . As cavidades de ambos os grupos foram restauradas com cimento de ionômero de vidro, sendo as exodontias realizadas em 14 e 42 dias, após o preparo cavitário. Os dentes extraídos foram processados histologicamente e analisados ao microscópio de luz. Os resultados demonstraram ausência de reações inflamatórias ou reações inflamatórias menos intensas nos grupos irradiados em relação aos não-irradiados. Na análise por imuno-histoquímica pelo método da estreptoavidina-biotina não foram evidenciadas diferenças significativas na expressão do colágeno tipo I em ambos os grupos. Entretanto, a expressão do colágeno tipo III da tenascina e a fibronectina foi maior nos grupos irradiados.

3.3. COMPLEXO DENTINA-POLPA³⁰

A dentina é um tecido mineralizado de natureza conjuntiva que constitui a maior parte do dente, sendo recoberta pelo esmalte, na porção coronária, e pelo cemento, na porção radicular. A polpa encontra-se alojada na dentina e ambas se desenvolvem junto e com características muito semelhantes.

A dentina é uma estrutura avascular que não apresenta células no seu interior. Pode-se observar a presença de prolongamentos odontoblásticos da polpa até o esmalte. A dureza dessa estrutura está relacionada com a quantidade de hidroxiapatita, ou seja, mineral que chega até à 70% da sua composição, sendo o restante 18% de material orgânico e 12% de água. Quanto à sua elasticidade, possui boa resiliência, que amortece as cargas mastigatórias exercidas através do esmalte que é mais duro.

A dentina apresenta cor branco-amarelada e é responsável pela cor do dente devido a translucidez do esmalte. Existem vários tipos de dentina sendo eles classificados conforme a sua formação. A dentina primária é formada até o fechamento do ápice radicular, compreendendo a dentina do manto responsável pela junção com o esmalte e a dentina circumpulpar, que é constituída pela dentina peritubular, que por sua vez constitui as paredes dos túbulos dentinários e pela dentina intertubular.

Os túbulos dentinários constituem a característica principal da estrutura dentinária. São originados pela formação de dentina mineralizada em volta dos prolongamentos odontoblásticos. Os túbulos possuem trajeto sinuoso em forma de "s" e sofrem muitas ramificações principalmente perto da região de esmalte. Na região de dentina próximo a polpa apresentam-se mais retilíneos e em maior densidade, quase 2,5 a mais. Estes se

comunicam através de canalículos denominados canalículos dentinários. Podemos observar a presença de fluídos dentinários além dos próprios prolongamentos odontoblásticos.

Quando realizamos um preparo cavitário em um dente vivo, observa-se a dificuldade de manter a cavidade seca e estéril devido à formação de uma camada amorfa denominada *smear layer*, que oblitera os túbulos dentinários. A parede desses túbulos é constituída por um tipo de dentina denominada peritubular, que fica mais espessa cada vez que nos aproximamos da pré-dentina. Sua formação ocorre a vida inteira principalmente quando há algum estímulo como atrição.

A dentina intertubular recebe esse nome devido a sua localização entre os túbulos dentinários. É responsável pela maior parte do volume da dentina.

A dentina interglobular são áreas hipomineralizadas localizadas na porção mais externa da dentina coronária.

Como já citado, a deposição de dentina ocorre a vida inteira, sendo o seu ritmo desacelerado com o passar dos anos. Depois da formação da dentina primária, que ocorre até completar o ápice radicular, começa a formação de dentina secundária. É muito semelhante à dentina primária apresentando diferenças na direção dos túbulos. Como existe a constante deposição de dentina durante toda a vida, podemos concluir a dificuldade de acessar a polpa em pacientes de idade avançada.

A dentina terciária possui estrutura irregular e pode ser de dois tipos, reacional e reparativa. Quando o dente sofre estímulos como atrição e cárie nota-se a formação de dentina terciária do tipo reacional, que constitui uma tentativa dos odontoblastos de formar uma barreira, restabelecendo a espessura de dentina. A dentina reparativa é formada por células indiferenciadas da polpa, originando-se, na maioria das vezes, de um tecido do tipo osteóide.

A pré-dentina, a região investigada ultra-estruturalmente neste trabalho, é uma camada não mineralizada, que permanece no dente adulto separando os odontoblastos da dentina mineralizada. Ela evita o contato da dentina mineralizada com a polpa, que poderia reabsorvê-la se esse contato ocorresse.

Na pré-dentina, a matriz extracelular é também constituída principalmente por fibrilas colágenas e contém uma maior quantidade de proteoglicanas/glicosaminoglicanas do que a dentina mineralizada.

Quando ocorre a necrose pulpar, a camada de pré-dentina não está mais presente. O prolongamento odontoblástico possui poucas organelas citoplasmáticas, tendo entretanto, um bem desenvolvido sistema de microtúbulos e microfilamentos que se dispõem seguindo seu longo eixo. Após atravessar a pré-dentina, o prolongamento penetra no túbulo dentinário, contendo, às vezes, lisossomas no seu interior. Este possui maior diâmetro na sua base e afina-se progressivamente até sua extremidade. A figura 4 ilustra um corte transversal do dente.

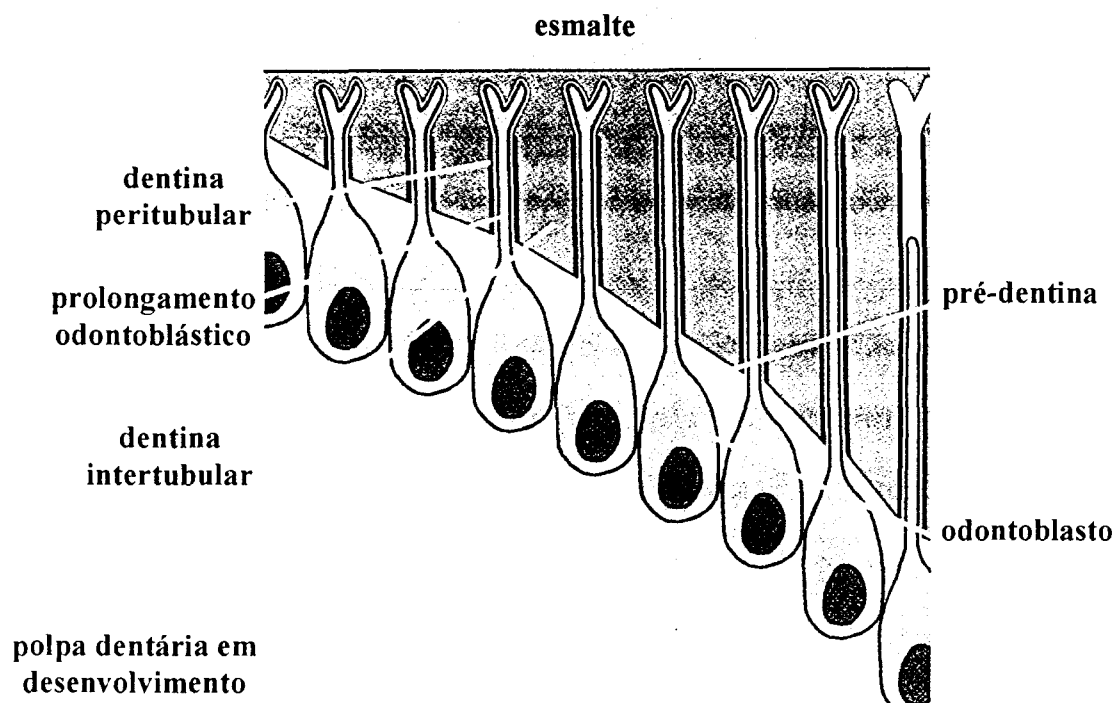


Figura 3: Corte longitudinal de dente, onde observa-se a interface dentina-polpa no processo de formação de dentina³⁰.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionados duas pacientes do sexo feminino, de 24 e 27 anos, com indicação para extração de pré-molares por motivos ortodônticos por cirurgião dentista habilitado. Ambas as pacientes assinaram o termo de consentimento informado (anexo 1). Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo sob nº 67/ 03 (anexo 2). As pacientes foram anestesiadas e procedeu-se ao isolamento absoluto destes dentes, que eram hígidos (figura 5), onde oito cavidades padrão do tipo Classe I de Black foram confeccionadas com brocas cilíndricas diamantadas KOMET em nível de dentina com 2 mm x 5 mm (figura 6). As cavidades foram padronizadas em largura e profundidade (figura 7), de forma a não expor-se a polpa. Após preparo, as cavidades foram lavadas com pedra-pomes e água. As amostras foram, então, divididas em dois grupos:

- Primeiro grupo – a cavidade foi irradiada com laser de GaAlAs, modelo Biowave LLLT (Kondortech, S. Carlos, Brasil), cujas especificações são: diodo laser de GaAlAs de emissão contínua, diâmetro do feixe na ponteira de 2 mm, divergência do feixe de 20º graus, $\lambda = 660$ nm, emissão vermelha com potência máxima de 30 mW. A dosimetria aplicada foi de aproximadamente $2\text{J}/\text{cm}^2$ baseada em literatura^{16,17} diretamente e perpendicularmente à cavidade em apenas uma sessão. Após irradiação, as cavidades foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% por 30 s, forradas com adesivo dentinário *Single Bond*, segundo instruções do fabricante, e restauradas com resina composta Z250, 3M (São Paulo, Brasil) (figuras 8 e 9).

- Segundo grupo: Foram preparadas cavidades, conforme descrito anteriormente, e restauradas, porém, os dentes não receberam irradiação laser.

Dentes sadios (sem preparo cavitário) também foram estudados.

Os dentes de cada grupo foram extraídos após 28 dias do procedimento realizado e imersos em glutaraldeído 2% + formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,4. Então, foram colocados em um *becker* contendo 40 ml de fixador, sendo este recipiente colocado em cuba com gelo para então serem expostos a irradiação em forno de microondas Pelco 3440 (Ted Pella; Redding, CA, EUA) por períodos de 5 min, com temperatura programada para o máximo de 37°C³¹. Após a irradiação, as amostras foram transferidas para fixador fresco e permaneceram por uma noite a 4°C. Os espécimes foram então lavados em solução tampão de sódio cacodilato 0,1M, pH 7,2, por uma hora. A descalcificação foi feita em solução aquosa de EDTA 4,13%, por tempo acumulativo aproximado de 6 meses, sendo esta solução substituída a cada 48 h, desidratadas em concentrações crescentes de etanol e incluídas em resina Spurr. Cortes com 1 µm de espessura, corados com azul de toluidina, foram analisados ao microscópio de luz para seleção da interface dentino-pulpar. Foram feitos cortes ultrafinos da região escolhida (80 nm) utilizando faca de diamante em ultramicrótomo Leica Ultracut E. Os espécimes foram analisados em microscópio eletrônico de transmissão JEOL 1010, operando a 80kV. Todo este processo foi desenvolvido no Laboratório de Biologia dos Tecidos Mineralizados – Instituto de Ciências Biomédicas da USP, em colaboração com o Prof. Dr. Victor E. Arana-Chavez.



Figura 5: Primeiro quadrante superior do lado direito mostrando apinhamento dentário e dente 14 hígido.

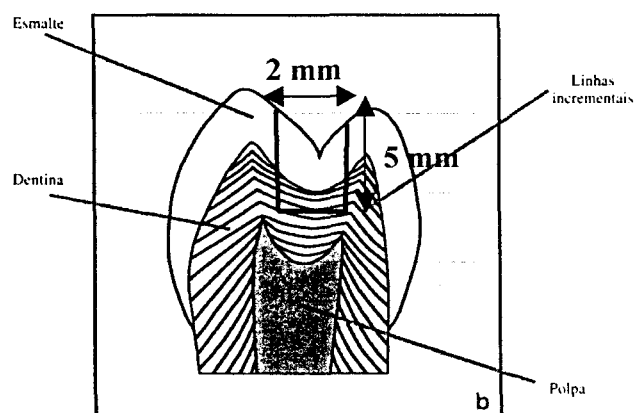


Figura 6: Esquema das dimensões do preparo cavitário³⁰.



Figura 7: Dente 14 com isolamento absoluto e pós-preparo cavitário classe I.



Figura 8: Dente 14 sob irradiação laser.



Figura 9: Dente 14 após restauração com resina composta.

5. RESULTADOS

A análise ultra-estrutural da região de pré-dentina da interface dentina-polpa 28 dias pós-preparo mostrou que os dentes irradiados com laser de GaAlAs apresentaram fibras colágenas mais organizadas e menor retração do prolongamento odontoblástico, quando comparada aos pré-molares que foram preparados e não-irradiados. Em relação aos corpos celulares dos odontoblastos, em sua região juncional, nenhuma alteração significativa foi observada.

5.1- Grupo controle

Nas amostras do grupo controle, onde não houve preparo cavitário, pôde ser observado prolongamento odontoblástico totalmente em contato com as fibrilas colágenas da matriz extracelular (figura 10). Também foi observada a região juncional de dois corpos celulares de odontoblastos (figura 11).

5.2- Grupo sem tratamento laser

Vinte e oito dias pós-preparo, as amostras deste grupo, onde foi feito o preparo cavitário, porém, não recebeu tratamento laser, mostraram espaço entre as fibrilas colágenas da matriz extracelular com prolongamento odontoblástico retraído (figura 12). Também pôde ser observado na região de pré-dentina, fibrilas colágenas que se juntam, formando feixes de colágeno ainda esparsos (figuras 12 e 13). Nenhuma diferença morfológica significativa foi observada na região juncional entre os odontoblastos comparado ao grupo controle (figura 13).

5.3- Grupo com tratamento laser

Os dentes deste grupo tiveram suas cavidades classe I preparadas e irradiadas com laser. Vinte e oito dias pós-preparo, observou-se o prolongamento odontoblástico numa região de maior contorno em contato com a matriz extracelular (figura 14). O corpo celular dos odontoblastos não mostrou alterações morfológicas significantes em relação à amostra de pré-dentina sadia (figura 15).



Figura 10: Elétron-micrografia da região de pré-dentina na interface dentina-polpa de um dente pré-molar sem preparo cavitário. Nota-se prolongamento do odontoblasto (O) totalmente em contato com as fibrilas colágenas (C) da matriz extracelular. X 12.000.



Figura 11: Elétron-micrografia da região de pré -dentina na interface dentino-pulpar de um dente pré-molar sem preparo cavitário. Observa-se dois odontoblastos (O) e a região juncional (J) entre eles. X 40.000.

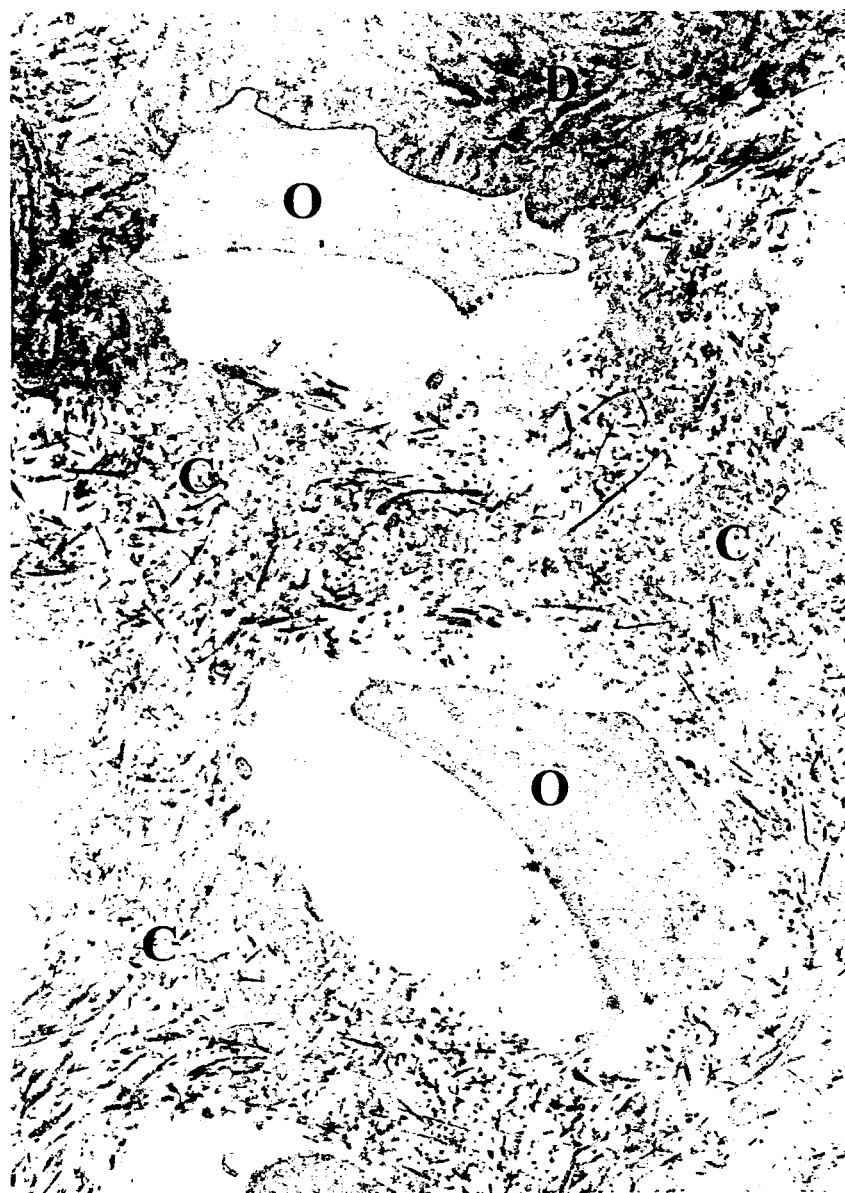


Figura 12: Elétron-micrografia da região de pré-dentina na interface dentina-polpa de um dente pré-molar que foi preparado com cavidade classe I e não recebeu tratamento laser 28 dias pós-preparo. Observa-se prolongamento odontoblástico (O) retraído não preenchendo totalmente o espaço em contato com as fibrilas colágenas (C) da matriz extracelular. D- dentina. X 15.000.

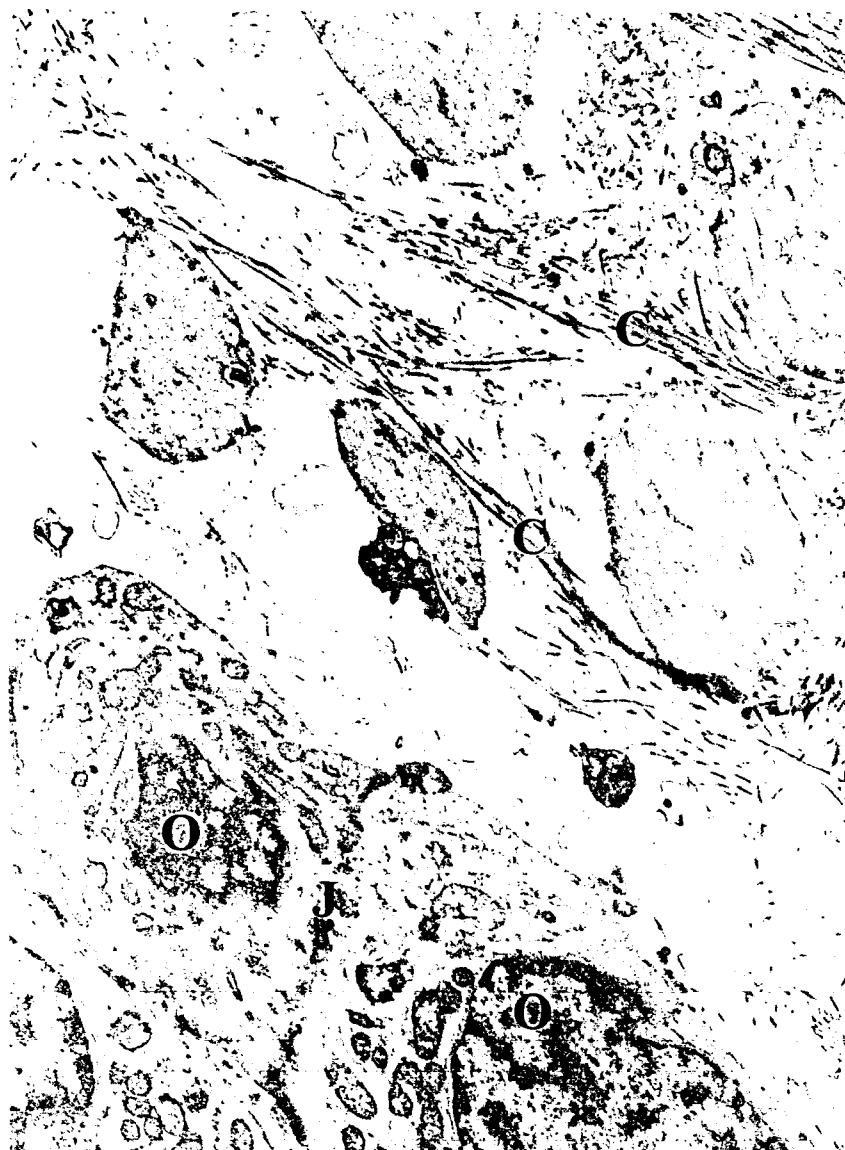


Figura 13: Elétron-micrografia da região de pré-dentina na interface dentina-polpa de um dente pré-molar que foi preparado com cavidade classe I e não recebeu tratamento laser 28 dias pós-preparo. Observam-se dois odontoblastos (O) e fibrilas colágenas (C), que se juntam formando feixes de colágeno, não ficando mais esparsas.

J- região juncional. X 10.000.



Figura 14: Elétron-micrografia da região de pré-dentina na interface dentino-pulpar de um dente pré-molar que foi preparado com cavidade classe I e recebeu tratamento laser 28 dias pós-preparo. É possível observar prolongamento odontoblástico (O) em maior contato com as fibrilas de colágeno (C) da matriz extracelular, que estão mais agregadas, formando feixes de colágeno. D- dentina. X 22.500.



Figura 15: Micrografia eletrônica da região de pré-dentina na interface dentina-polpa de um dente pré-molar que foi preparado com cavidade classe I e recebeu tratamento laser 28 dias pós-preparo. Observam-se dois odontoblastos (O) e a região juncional (J). Não existem diferenças significantes nos corpos celulares quando comparados às amostras sadias. X 40.000.

6. DISCUSSÃO

Mesmo com um número pequeno de amostras, a análise ultra-estrutural da região de pré-dentina da interface dentina-polpa 28 dias pós-preparo cavitário classe I mostrou que dentes irradiados com laser de GaAlAs ($\lambda = 660\text{nm}$), $D = 2 \text{ J/cm}^2$, aplicação única, apresentaram fibras colágenas mais organizadas e menor retração do prolongamento odontoblástico, quando comparada aos pré-molares que foram preparados e não-irradiados. Morfologicamente, as amostras deste grupo assemelhavam-se àquelas do grupo controle, sem preparo cavitário. Em relação aos corpos celulares dos odontoblastos, em sua região juncional, nenhuma alteração significativa foi observada entre os três grupos.

No grupo de dentes onde não houve tratamento laser, observou-se prolongamento odontoblástico retraído. Esta retração observada poderia ser um artefato de técnica, no entanto, as amostras do grupo irradiado receberam o mesmo processamento para preparação das amostras e foram todas processadas ao mesmo tempo. Além disso, o grupo não irradiado mostrou fibras colágenas mais esparsas na matriz extracelular quando comparado ao grupo que recebeu tratamento laser.

É bem conhecido que num processo de cicatrização, as fibras colágenas distribuem-se inicialmente de modo randômico³². Sendo assim, os achados deste trabalho sugerem que o laser pode acelerar a recuperação das estruturas dentinárias, pois o estágio de organização das fibrilas de colágeno observado na matriz extracelular das amostras irradiadas ainda não é observado nas amostras preparadas e não tratadas com laser, vinte e oito dias pós-preparo cavitário.

Trabalhos na literatura^{16,17,18} indicam que a terapia com lasers em baixa intensidade pode ser utilizada como um coadjuvante na formação de dentina. Também, Sergovia-Ferreira, recentemente, avaliou qualitativamente os efeitos do laser de GaAlAs sobre as células pulpare e na dentinogênese reacional²⁰. Além disso, a terapia com lasers em baixa intensidade sobre o tecido pulpar vem sendo preconizada por alguns autores, devido ao seu potencial analgésico e antiinflamatório^{16,19,28}. Entretanto, neste trabalho, optou-se por um preparo cavitário conservador, onde não houve exposição pulpar, visto que os dentes eram sadios, livres de cáries, não havendo necessidade da agressão. Neste caso, sempre há a recuperação das estruturas dentinárias.

Segundo Bertella³³, se o tipo de preparo cavitário na face oclusal é de médio a profundo, há ausência de reação inflamatória. Sendo assim, a não exposição pulpar evitou qualquer tipo de incômodo ao paciente, pois possibilitou a restauração da cavidade imediatamente, sem haver a necessidade de usar materiais restauradores intermediários. Não foi também necessário a utilização de materiais para forramento cavitário, como por exemplo o hidróxido de cálcio, ionômero de vidro ou fosfato de zinco. As cavidades foram preparadas com brocas diamantadas em alta rotação refrigerada para evitar danos de aquecimento à polpa.

De acordo com Faraco Junior e Holland³⁴, polpas dentárias capeadas com o sistema adesivo *single bond* exibiram-se inflamadas ou necrosadas e não evidenciaram nenhum caso de reparo aliado à formação de ponte de tecido duro completa. Entretanto, neste estudo a cavidade foi restaurada com resina composta e seu adesivo dentinário (*single bond*, 3M), que foi adequada para vedamento do dente preparado e é usada rotineiramente em dentística restauradora.

Segundo Katchburian e Arana-Chavez³⁰, existe deposição de dentina durante toda a vida. Desta maneira, foram selecionadas duas pacientes com faixa etária entre 24 e 30 anos, já que a polpa apresenta-se em condições semelhantes quanto ao tamanho e quantidade de material proporcional.

O comprimento de onda de 660 nm utilizado, baseado na literatura^{16,17,20}, apresenta maior profundidade de penetração no tecido biológico, já que sua absorção pela água ou sangue é pouco intensa. Neste caso, propõe-se que componentes da cadeia respiratória sejam os primeiros absorvedores do quantum da luz, desencadeando uma cascata de eventos fotoquímicos e/ou fotofísicos até observação da resposta final.

Neste trabalho, em virtude do pequeno número de amostras, optou-se por extrair os dentes vinte e oito dias depois do preparo cavitário, já que, segundo Brugnera e colaboradores, neste período de tempo, molares de rato irradiados apresentaram aumento da produção de dentina quando comparados àqueles não irradiados¹⁶.

É importante ressaltar também, que para verificação dos efeitos positivos da LILT, parâmetros clínicos, como a dose, por exemplo, deve ser adequada. Neste trabalho, a dosimetria utilizada foi de 2 J/cm^2 , em aplicação única, baseada no trabalho de Paschoud et al.¹⁷.

Os parâmetros utilizados neste estudo mostraram ser apropriados para aceleração da recuperação das estruturas dentinárias envolvidas no preparo cavitário oclusal. Entretanto, os mecanismos que fundamentam estes achados ainda não estão claros. Trabalhos posteriores são necessários para obtenção de uma explicação mais completa e dar segurança científica aos usuários da terapia com lasers em baixa intensidade.

CONCLUSÃO

A observação ultra-estrutural da região de pré-dentina da interface dentina-polpa de pré-molares preparados com cavidades classe I e irradiados com laser de GaAlAs ($\lambda=660\text{nm}$), $D = 2 \text{ J/cm}^2$, aplicação única, e extraídos 28 dias pós-preparo, sugere uma aceleração no processo de recuperação das estruturas dentárias, quando comparada aos dentes preparados e não-irradiados.

ANEXO 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este documento tem a finalidade de fornecer informações necessárias para você avaliar a possibilidade de participar da pesquisa “Efeitos da radiação laser de GaAlAs ($\lambda=660\text{nm}$) em baixa intensidade na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I”.

O objetivo deste trabalho é verificar se o uso do laser de emissão visível em baixa intensidade é capaz de acelerar a recuperação de estruturas dentárias quando se faz um preparo cavitário conservador de classe I. O grupo de dentes que receber laser será comparado com um que não receberá, ou seja, o controle, e também com o dente sadio.

Para participar do estudo, os voluntários devem ter idade entre 18 e 28 anos, podendo ser de ambos os sexos, ter boa saúde geral e, se do sexo feminino, não estar grávida ou amamentando e possuir indicação de extração de pré-molares por motivos ortodônticos e que estes sejam hígidos.

Os voluntários do grupo deverão comparecer à consulta no dia da aplicação e retornar após 28 dias para a extração, sem que isso acarrete atraso em seu tratamento ortodôntico.

Nenhum tipo de medicamento ou solução deverá ser usado sem que o pesquisador seja consultado.

Durante o atendimento, serão feitas fotos da cavidade oral para acompanhamento do estudo, mas elas não serão identificadas, mantendo-se sigilo absoluto de todas as informações obtidas quando da publicação dos resultados do trabalho.

Este estudo não traz risco ao paciente, já que o preparo cavitário será do tipo conservador, sem exposição pulpar. O tratamento a laser não envolve nenhum risco, nem aquecimento do tecido, pois o laser a ser utilizado emite em baixa intensidade. Para se evitar qualquer risco ou problema na visão decorrente do feixe laser, os voluntários deverão usar os óculos de proteção fornecidos pelo pesquisador e nenhuma outra pessoa sem óculos poderá permanecer na sala durante o tratamento com o laser. Como benefício, espera-se que o laser acelere a formação de dentina, deixando o dente mais resistente à agressão.

O responsável pela pesquisa responderá a qualquer dúvida do participante e informará o resultado do estudo. O voluntário poderá se recusar a continuar participando

do estudo, sem que isso traga qualquer prejuízo ao tratamento ortodôntico que ele estará realizando. No caso de algum dano decorrente do tratamento, o cirurgião-dentista assumirá inteira responsabilidade e prestará assistência total.

Qualquer dúvida ou problema, o voluntário poderá entrar em contato com Bruno Miranda Godoy, cirurgião dentista, CRO/SP: 69854 nos telefones 11- 31686688 ou 11-3079-3322;

Eu, _____ confirmo que recebi de maneira clara todas as informações com relação à pesquisa intitulada **Efeitos da radiação laser de GaAlAs ($\lambda=660\text{nm}$) em baixa intensidade na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I**. Assim, após ter compreendido os meus direitos, deveres e obrigações para com a pesquisa, informo que doarei, por livre e espontânea vontade, meus dentes pré-molares, os quais foram recomendados para extração pelo C.D. _____, CRO _____.

São Paulo, ____ de _____ de 2002.

NOME: _____

RG: _____

Assinatura: _____

ANEXO 2- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo



PARECER nº 67/03
Protocolo 29/03

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Efeitos da radiação laser de GaAlAs($\lambda=660\text{nm}$) em baixa intensidade na interface dentina-polpa pós-preparo cavitário classe I*", de responsabilidade do Pesquisador **Bruno Miranda Godoy**, sob orientação da Professora Doutora **Martha Simões Ribeiro**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios referentes ao andamento da pesquisa em 24 de outubro de 2003 e em 24 de abril de 2004. Ao término da pesquisa, cópia do trabalho em "cd" ou "disquete", deve ser encaminhada a este CEP.

São Paulo, 24 de abril de 2003

Prof.ª DR. ROSA HELENA MIRANDA GRANDE
Coordenadora do CEP-FOUSP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- EINSTEIN, A. Zur quantum theorie der Strahlung. **Phys. Z.**, v.117, p.218, 1917.
- 2- MAIMAN, T.H. Stimulated optical radiation in rubi. **Nature**, v.107, 493-4, 1960.
- 3- MESTER, E.; SPIRY, T.; SZENDE, B.; TOTA, J.G. Effect of laser rays on wound healing. **Am. J. Surg.**, v.122, p.532-5, 1971.
- 4- TÚNER, J.; HODE, L. **Low level laser therapy: clinical practice and scientific background**. Prima Books, Sweden, 1998.
- 5- GOLDMAN L. AND RICHFIELD D.F. The effect of repeated exposure to laser beams. **Acta Derm. Venereol.**, v.44, 264-8, 1964.
- 6- SIMUNOVIC, Z; TROBONJACA, T.; TROBONJACAM, Z. Treatment of Medial and Lateral Epicondylitis – Tennis and Golfer’s Elbow – with low level laser therapy: a multicenter double blind, placebo-controlled clinical study on 324 patients. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v.16, p.145-151, 1998.
- 7- SCHINDL, M.; SCHINDL, A.; PÖLZLEITNER, D.; SCHINDL, L. Healing of bone affections and gangrene with low intensity laser irradiation in diabetic patients suffering from foot infections. **Forsch Komplementäimed**, v.5, p.244-7, 1998.
- 8- TAM, G. Low power laser therapy and analgesic action. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v.17, p.29-33, 1999.
- 9- LOEVSCHALL, H.; ARENHOLT-BINDSLEV, D. Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts *in vitro*. **Lasers Surg. Med.**, v.14, p.347-354, 1994.

-
- 10- COULTER, A.H. Low-energy laser research in wound healing. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.12, p.117-8, 1994.
- 11- RIBEIRO, M.S. Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele. *Tese de Doutorado*. IPEN-CNEN/SP: 2000.
- 12- EDUARDO, C.P.; CECCHINI, S.C.M.; CECCHINI, R.C.M. Benefits of low power lasers on oral soft tissues. In: *Lasers in Dentistry II*, H.A. Wigdor, J.D.B. Featherstone, J.M. White, J. Neev, eds., Proc. SPIE v.2672, p. 27-33, 1996.
- 13- COWEN, D.; TARDIEU, C.; SCHUBERT, M.; PETERSON, D.; RESBEUT, M.; FAUCHER, C.; FRANQUIN, J.C. Low energy He-Ne laser in the prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplant: results of a double blind randomized trial. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, v.38, p.697-703, 1997.
- 14- KUNIN, A.A; DERGUNOVA, E.; KAZMINA, S. Laser methods of caries prophylaxis. In: *Effects of Low-Power Light on Biological Systems*, T.I. Karu, A.R. Young, A. Katzir, eds., Proc. SPIE v.2630, p.94-103, 1995.
- 15- DÖRTBUDAK, O.; HAAS, R.; BERNHART, T.; MAILATH-POKORNY, G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. *Clin. Oral Impl. Res.* 12:104-108, 2001.
- 16- BRUGNERA JR., A. LLLT in treating dentinary hypersensibility: A histologic study and clinical application. http://garm.dyndns.org/whelan_lab/01/html/%20brugnera.html

-
- 17- PASCHOUD, Y. AND HOLZ, J. Effect du soft-laser sur la néoformation d'un pont dentinaire après coiffage pulpaire direct de dents humaines à l'hydroxyde de calcium. I-étude histologique et au microscope électronique à balayage. **Rev. Mens. Suisse Odontostomatol.**, v.98, p.345-356, 1988.
- 18- NAGASAWA A. Application of LLLT in Dentistry. In: *Low-Reactive Laser Therapy-Practical Application*. T. Oshiro. John Wiley&Sons. p.76, 1991 *apud* TUNER,J.;HODE,L., **Low level laser therapy: clinical practice and scientific background**. Sweden: Prima Books, 1999.
- 19- UTSUNOMIYA, T. A histopathological study of the effects of low-power laser irradiation on wound healing of exposed dental pulp tissues in dogs, with special reference to lectins and collagens. **J. Endodont.**, v.24, p.187-193, 1998.
- 20- SEGOVIA-FERREIRA, A.N. A ação do laser terapêutico de arseniato de gálio e alumínio na indução da dentinogênese reacional em dentes humanos. **Pesq. Odontol. Bras.**, v.16 (Sup.2002), p.196, 2002.
- 21- MAILLET, H. **O Laser: Princípios e técnicas de aplicação**. Manole Ltda., São Paulo, Brasil, 1987.
- 22- DOMINGOS, M.M. Aplicação do laser de CO₂ ou Er-YAG em rugas faciais. Estudo Comparativo. **Dissertação de Mestrado, FMUSP, 1999.**
- 23- MALDONADO, E.P. Interação da luz laser com tecidos biológicos: aplicações. **Apostila do curso de Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia, IPEN/FOUSP, 1999.**
- 24- KARU, T. Photobiology of low-power laser effects. **Health Phys.**, v.56, p.691-704, 1989.

-
- 25- TÚNER, J.; HODE, L. It's all in parameters: a critical analysis of some well-know negative studies on low-level laser therapy. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, v.16, p. 245-8, 1998.
- 26- AUN, C.E.; BRUGNERA JR., A.; VILLA, R.G. Raio Laser-Hipersensibilidade dentinária, *Revista da APCD*, v. 43, p.65-68, 1984.
- 27- RE, F.; VITERBO, S. Indicazione sul uso della soft-laser terapia nistomatologia. *Minerva Stomat.*, v.34, p. 563-72, 1985.
- 28- KURUMADA, F. A study on the application of GaAs semiconductor laser to endodontics. The effects of laser irradiation on the activation of inflammatory cells and vital pulpotomy. *Ohu Daigaku Shigakushi*, v.17, p. 233-244, 1990. *apud* Ribeiro, R.A. Resposta pulpar de dentes decíduos de cães pulpotomizados e irradiados, ou não, por um laser de baixa potência semicondutor de arseneto de gálio-alumínio, *Dissertação de Mestrado*, Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 1995.
- 29- DCABROWSKA, E. et al. Intravital treatment of the pulp with simultaneous laser biostimulation. *Rocz Akad. Med. Bialymst.*, v.42, p.168-176, 1997 *apud* TUNER,J.;HODE,L., **Low level laser therapy: clinical practice and scientific background**. Sweden: Prima Books, 1999.
- 30- KATCHBURIAN, E., ARANA-CHAVEZ, V. E. *Histologia e Embriologia Oral*.1 ed. São Paulo : Editorial Médica Panamericana, 1999.
- 31- MASSA, L.F. AND ARANA-CHAVEZ, V.E. Ultrastructural preservation of rat embryonic dental tissues after rapid fixation and dehydration under microwave irradiation. *Eur. J. Oral Sci.*, v.108, p.74-77, 2000.

³²- SMITH, E.L.; HILL, R.L.; LEHMAN, R.; LEFKOWITZ, R.J.; HANDLER, P.; WHITE, A. **Bioquímica: mamíferos**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1985.

33- BERTELLA, C. Estudo histopatológico dos efeitos da irradiação laser em baixa intensidade ($\lambda = 650$ nm) em tecido pulpar pós-preparo cavitário. **Dissertação de Mestrado**, Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia, IPEN/FOUSP, 2001.

34- FARACO JR., I.M.; HOLLAND, R. Comportamento da polpa dentária diante do capeamento com sistema adesivo single bond. **Revista da APCD**, v.54, p. 282-286, 2000.



M22737



Ministério
da Ciência
e Tecnologia

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Diretoria de Ensino & Informação Científica e Tecnológica
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3816 - 9148
SÃO PAULO - São Paulo - Brasil
<http://www.ipen.br>

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Turismo do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência e Tecnologia, e associada à Universidade de São Paulo.