



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**FLUXOMETRIA *LASER* DOPPLER DA POLPA DENTAL APÓS O
CLAREAMENTO COM O *LASER* DE DIODO**

MARIANA PETRONE DE MORAES

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

**Orientador:
Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira**

**Co-orientador:
Dr. José Eduardo Pelizon Pelino**

**São Paulo
2006**





AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**FLUXOMETRIA *LASER* DOPPLER DA POLPA DENTAL APÓS O
CLAREAMENTO COM O *LASER* DE DIODO**

MARIANA PETRONE DE MORAES

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

**Orientador:
Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira**

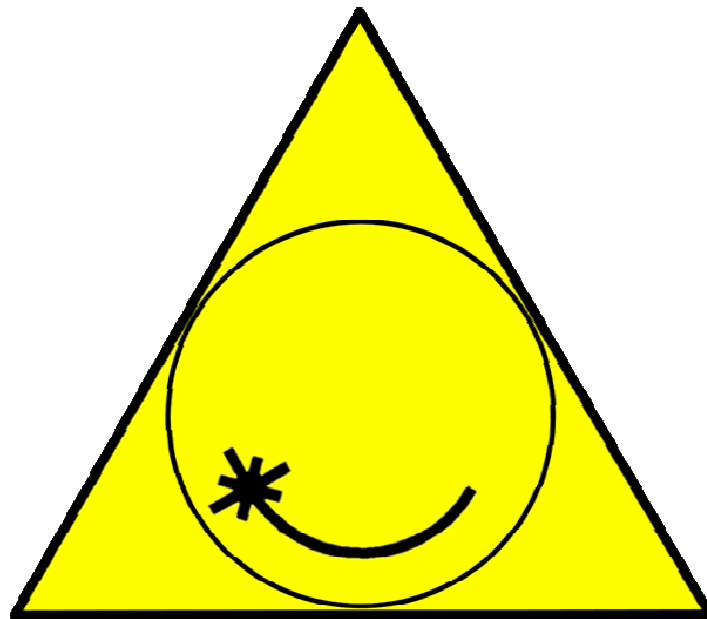
**Co-orientador:
Dr. José Eduardo Pelizon Pelino**

**São Paulo
2006**



Mestrado Profissionalizante

Lasers em Odontologia



Dedicatória

Aos meus pais *Maria Lucia e Jose Edison*
por todo amor, carinho, dedicação,
educação e exemplo de vida.

A minha irmã *Guga*, minha alma gêmea,
fonte eterna de força, amor e incentivo.

A minha avó *Sophia*,
exemplo de força e luta.

A toda minha *família* que me ensinou
a importância do amor e respeito,
em especial a meus avós que não
podem estar hoje ao meu lado.

A todos os meus *amigos*,
parte essencial da minha vida.

É para vocês que eu dedico este trabalho.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira, por dispor de seu conhecimento, tempo, dedicação e paciência durante a realização deste trabalho.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. José Eduardo Pelizon Pelino, suas contribuições para conclusão desta dissertação foram profundas e muito apreciadas.

Ao Prof. Dr. Abílio Albuquerque Maranhão de Moura por ser meu eterno mestre, partilhar comigo sua extraordinária sabedoria, me ensinar a importância do amor à profissão e da busca pelo conhecimento.

À querida amiga e colega de curso Melissa Santos Folgosi-Corrêa, pelo apoio e força constantes durante o meu trabalho.

Aos colegas do mestrado, pela adorável companhia ao longo do curso e pelas experiências trocadas durante todo o tempo em que estivemos juntos.

A todos os professores deste curso que partilharam comigo seu conhecimento e sabedoria.

À Profa. Dra. Denise Maria Zezell e à Profa. Dra. Márcia Turolla Wanderley por ter colaborado com a realização de experimentos.

Aos funcionários e do IPEN e LELO, em especial à Liliane, Joelma e Haroldo que sempre estiveram dispostos a me ajudar da melhor maneira possível.

A todos que de forma direta ou indireta me ajudaram na realização desse trabalho.

FLUXOMETRIA *LASER* DOPPLER DA POLPA DENTAL APÓS O CLAREAMENTO COM O *LASER* DE DIODO

Mariana Petrone de Moraes

RESUMO

No desenvolvimento de um protocolo de clareamento dental com laser é necessário verificar eventuais danos térmicos na polpa dentária. Mas os métodos usuais de avaliação da integridade pulpar são indiretos e limitados. Como eventuais danos na polpa geralmente resultam alterações no fluxo sanguíneo pulpar, a fluxometria laser Doppler (FLD) tem sido sugerida para a avaliação dinâmica e não-invasiva da integridade pulpar. O objetivo deste trabalho foi verificar alterações no fluxo pulpar via FLD em dentes incisivos centrais superiores submetidos a um tratamento de clareamento usando um diodo Laser. Para este propósito seis voluntários foram submetidos a um tratamento, seguindo um protocolo seguro segundo a literatura atual. Os fluxos dos dentes foram interrogados nos seguintes momentos: antes, imediatamente após, 72 horas após e uma semana após o clareamento. Nos resultados obtidos foram encontradas evidências estatísticas suficientes para inferir que há discreto aumento de fluxo pulpar 72h após serem irradiados, enquanto nos outros momentos investigados não foram encontradas evidências de alterações no fluxo.

LASER DOPPLER FLOWMETRY OF DENTAL PULP AFTER BLEACHING BY A DIODE LASER

Mariana Petrone de Moraes

ABSTRACT

To develop a dental bleaching protocol it is necessary to evaluate eventual thermal damage in the dental pulp. However the current methods to evaluate pulpal integrity are indirect and limited. Once damages in dental pulp results pulpal blood flow alterations, the laser Doppler flowmetry (LDF) have been suggested as a dynamic and non-invasive method of evaluation of pulp integrity. The purpose of this study was to evaluate the response of pulp blood flow by the LDF from upper central incisors submitted to a bleaching treatment using a laser diode. For this purpose 12 teeth from 6 volunteers had a bleaching treatment, following a secure protocol according to the current literature. The pulp blood fluxes from bleached teeth were measured in four moments: before, immediately after bleaching, 72 hours and one week later. From the results, it was found statistical evidences that pulp blood flow is increased 72 hours after the treatment, and no evidence of pulp blood flow alterations in other investigated moments.

SUMÁRIO

RESUMO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. O CLAREAMENTO DENTAL E A POLPA DENTÁRIA.....	13
2.1 Clareamento dental.....	13
2.2 Fisiopatologia pulpar: Inflamação neurogênica.....	17
2.3 Fluxometria laser Doppler.....	19
3. PROPOSIÇÃO.....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5. RESULTADOS.....	30
6. DISCUSSÃO.....	34
7. CONCLUSÃO.....	39
8. ANEXO I.....	40
9. ANEXO II.....	42
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de fluxo de doze dentes nos quatro momentos investigados.

TABELA 2 – Variações percentuais de fluxo de doze dentes nos quatro momentos investigados.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Aplicação da barreira gengival.

FIGURA 2 – Aplicação de gel de clareamento.

FIGURA 3 – Sistema de entrega de feixe por fibra óptica de quartzo com 300 μ m.

FIGURA 4 – Moldeira parcial metálica e silicona de condensação da marca Optosil Comfort/ Xantopren (Hereaus Kulzer - Alemanha).

FIGURA 5 – Confeção do orifício para posicionamento da sonda.

FIGURA 6 – Sonda posicionada no orifício.

FIGURA 7 – Sonda do fluxômetro laser Doppler fixada em posição de leitura através de um molde de silicona.

FIGURA 8 – Laser Diodo, marca ZAP Lasers, ajustado no modo contínuo com potência de 1,2W.

FIGURA 9 – Fluxômetro Laser Doppler, modelo FlowLab, marca Moor Instruments Ltd U. K.

FIGURA 10 – Kit de clareamento Lase Peroxide Sensy DMC.

FIGURA 11 – *Box-Plots* representando os parâmetros de fluxo.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC	corrente constante
°C	graus Celsius
CGRP	polipeptídeo relacionado ao gene da calcitonina
cm ²	centímetro quadrado
COP _P	pressão coleidosmótica no plasma capilar
COP _I	pressão coleidosmótica no fluido intersticial
EGF	fator de crescimento epidérmico
FC(%)	fluxo com manta (blindagem) percentual
FD(%)	fluxo medido de um dente desvitalizado em relação ao seu homólogo saudável
FLD	fluxômetro laser Doppler
FS(%)	fluxo sem manta (blindagem) percentual
F _{po}	fluxo da polpa
F _{ge}	fluxo gengival
F _{pe}	fluxo peridental
FSP	fluxo sangüíneo pulpar
FV(%)	variação de fluxo entre dentes homólogos saudáveis do mesmo indivíduo
F(UA)	fluxo em unidades arbitrárias
F(%)	variação percentual de fluxo
F(dif)	diferença entre fluxos
g	grama
HeNe	Hélio-Neônio
Hz	hertz
IC	Intervalo de confiança
<i>I</i> _{cc}	parcela corrente contínua da fotocorrente
kHz	kilohertz
Kg	kilograma

LASER	Light amplification by stimulated emission radiation
m	metro
mm	milímetro
mm ³	milímetro cúbico
m/s	metro por segundo
μm	micrômetro
mW	miliwatt
N	Newton
NGF	fator de crescimento nervoso
Niti	Níquel Titânio
NKA	neuroquinina A
NO	óxido nítrico
NPY	neuropeptídeo Y
nm	nanômetro
Pb	chumbo
PGDF	fator de crescimento derivado das plaquetas
Phc	pressão hidrostática capilar
P _c	pressão capilar
P _i	pressão fluido intersticial
S(f)	densidade espectral de potência da parcela alternante
Sn	estanho
SP	substância P
s	segundos
UA	unidades arbitrárias
VIP	polipeptídeo vasoativo intestinal
VLF	variações lentas de fluxo
VRF	variações rápidas de fluxo
V	velocidade de hemácias
v	velocidade média das hemácias
W	watt
σ	coeficiente de reflexão osmótico para proteínas plasmáticas

1. INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje o desejo por um sorriso mais estético faz com que o clareamento dental imediato seja um dos tratamentos mais procurados no consultório, graças à existência de técnicas simples e rápidas, onde em menos de uma hora o paciente pode obter “dentes mais brancos”. O uso do laser no clareamento dental vem sendo difundido como mais uma ferramenta para a otimização deste tratamento.

Durante a irradiação com o laser, a radiação sofre interações com os tecidos biológicos tais como espalhamento e absorção. A porção de radiação absorvida no esmalte e dentina se transforma em calor e é transferida por condução até a polpa dental. Além disso, outra parcela da radiação atinge o órgão pulpar, onde é absorvida e transformada em calor. Estes fatores podem gerar um aquecimento interno excessivo, e conseqüentemente lesões ao tecido pulpar que, dependendo da sua extensão podem ser reversíveis ou não, chegando até à perda da sua vitalidade. Devido tais circunstâncias é importante minimizar a possibilidade de efeitos colaterais à polpa dentária, verificando-se a segurança dos parâmetros de irradiação. Nessa óptica, associado ao desenvolvimento de um novo processo, no ato de se buscar melhor eficácia clínica, há a necessidade avaliar possíveis danos teciduais que por ventura possam ocorrer.

Os métodos mais comumente utilizados no estudo de efeitos adversos da radiação laser na polpa são: a avaliação de cortes histológicos de tecido pulpar após irradiação, a avaliação da alteração da temperatura na cavidade pulpar durante a irradiação, realizado em dentes extraídos (modelos físicos), e testes da vitalidade pulpar.

A avaliação de cortes histológicos é uma técnica invasiva e possibilita uma única observação de cada dente, portanto o estudo longitudinal em diferentes tempos é impraticável.

Os modelos físicos geralmente são construídos usando dentes extraídos: o dente é irradiado e um sensor mede alterações de temperatura na câmara pulpar. Segundo esta técnica, temperaturas acima de um valor limite podem significar danos na polpa. Alguns fatores associados podem resultar erros intoleráveis nas

respostas do modelo, tais como, as propriedades ópticas do esmalte e dentina que podem ser alteradas depois da extração; o meio em que o dente está fixado nem sempre simula as propriedades térmicas do alvéolo e tecidos subjacentes; a câmara pulpar geralmente é preenchida por um meio que não simula as propriedades térmicas e ópticas da polpa (Oliveira, 2004). Nesse aspecto, mesmo que o modelo físico simule adequadamente as propriedades térmicas do esmalte, dentina e alvéolo, esta técnica pode subestimar ou sobreestimar a resposta térmica à irradiação, pois não são conhecidas as propriedades ópticas da polpa dentária, necessárias na modelagem física (Farhat, 2003). Soma-se ao fato, que ainda não há consenso sobre a elevação de temperatura máxima segura para a polpa, pois a maioria dos trabalhos na literatura admite um acréscimo de até 5,5^oC como sendo seguro. Porém, segundo Zach e Cohen (1965), para um acréscimo de até 5,5^oC, cerca de 15% das polpas sofreram danos irreversíveis. Fato este bastante significativo, pois segundo os resultados este acréscimo não deve ser considerado seguro, se levarmos em consideração que 15% dos pacientes poderiam apresentar danos irreversíveis na polpa.

Os testes de vitalidade pulpar usuais, como testes térmicos e de estimulação elétrica, são sensitivos e podem falhar principalmente depois de traumas e em dentes jovens. E os testes não sensitivos, como descoloração da coroa, translucência, radioluscência e radiográfico, somente respondem tardiamente (Evans *et al.*, 1999).

O órgão pulpar pode ser alterado estruturalmente e funcionalmente, na ocorrência de injúrias, podendo resultar em um processo inflamatório diretamente proporcional ao dano causado a este tecido. É conhecido que o estado de suprimento sanguíneo da polpa é um indicador direto de sua integridade ou danos, constituindo, dessa forma, mais uma alternativa para a avaliação dos efeitos adversos da radiação laser.

Tendo seu uso relativamente recente na odontologia, a fluxometria Laser Doppler, FLD, é um método não-invasivo e que não oferece risco algum ao paciente, permitindo a medição de parâmetros hemodinâmicos da microvascularização, tais como o fluxo sanguíneo, a velocidade de fluxo e a concentração média das hemácias contidas num volume ao qual o fluxômetro é sensível (Nogueira *et.al.*, 2000).

Diversos trabalhos sugerem o uso da FLD na medição do fluxo sanguíneo pulpar (Vongsavan e Matthews, 1992; Odor *et. al.*, 1996b; Eduardo, 2004; Salles, 2006).

2. O CLAREAMENTO DENTAL E A POLPA DENTÁRIA

Uma das possíveis conseqüências não desejadas do uso do laser no clareamento dental é elevação da temperatura pulpar acima de um limite biologicamente tolerável. Caso a elevação seja excessiva, podem ocorrer desde estímulos sensoriais, resultando a dor ou o desconforto, até a morte celular. É conjecturado que estímulos sensoriais podem resultar uma inflamação neurogênia na polpa e que a morte celular resulta em processo inflamatório, sendo que em ambos os casos o fluxo microvascular da polpa é alterado.

Este capítulo apresenta brevemente os princípios dos mecanismos que resultam o clareamento usando lasers, focando na seqüência alguns estudos e métodos usados objetivando avaliar a integridade da polpa depois do procedimento de clareamento dental. Na seqüência é apresentada uma breve, mas abrangente síntese do conhecimento atual sobre a fisiologia e fisiopatologia da polpa, focando as alterações do fluxo microvascular, mostrando os eventos que se sucedem frente à injúria pulpar. Finalmente este capítulo apresenta os princípios de funcionamento e as principais limitações da fluxometria laser Doppler, buscando uma melhor compreensão do significado, tanto dos métodos usados na execução deste trabalho como dos resultados obtidos.

2.1 Clareamento dental

Atualmente um dos agentes clareadores mais utilizados para o clareamento dental é o gel de peróxido de hidrogênio. Este, por ser altamente instável, ao entrar em contato com o esmalte se decompõe em dois subprodutos: água (H_2O) e oxigênio nascente (O^{\cdot}). O oxigênio oriundo dessa reação, devido o seu baixo peso molecular, penetra nas porosidades do esmalte, se difundindo pelos túbulos dentinários, devido a sua alta permeabilidade, clareando o dente por ação mecânica e por reações químicas. Durante a fase inicial dessa reação anéis benzênicos altamente pigmentados são convertidos em cadeias abertas e as duplas ligações de carbono são convertidas em ligações simples devido à adição do oxigênio (Hanks *et. al.*, 1993).

Ames, em 1973, verificou que ao utilizar uma radiação eletromagnética, em cima de um gel de peróxido de hidrogênio a 35%, provocava um aquecimento que aumentava a eficácia no processo de clareamento. Trabalhos mais recentes comprovam que o gel de peróxido de hidrogênio também atua como foto-absorvedor da radiação laser, podendo ser ativado termicamente e quimicamente por uma fonte de radiação coerente ou incoerente (Lizarelli *et.al.*, 2002; Wetter *et. al.*, 2004a; Wetter *et. al.*, 2004b).

Durante o clareamento dental a laser parte da radiação é absorvida pelo gel, elevando sua temperatura, e o calor é transmitido pelos tecidos dentários até a polpa dental. O comprimento de onda dos lasers de alta potência comumente utilizados no clareamento dental é localizado entre 800 nm a 1100 nm. Nessa região do espectro a radiação é pouco absorvida pelo esmalte e dentina, mas altamente espalhada pela dentina (Fried *et. al.*, 1995). Desta maneira, uma fração significativa da radiação laser que não foi absorvida pelo gel de clareamento, atinge o dente e é absorvida ao longo do volume esmalte-dentina, aquecendo toda a estrutura. Nesta faixa do espectro uma parcela significativa da radiação se difunde pela dentina e também atinge a polpa. A parcela que atinge a polpa também é absorvida, provocando um aquecimento adicional, mesmo antes que o calor das estruturas mais remotas atinjam a polpa (Farhat, 2003) .

Robertson e Melfi (1980) relataram que o aumento de temperatura em conjunto com o peróxido de hidrogênio causavam irritação na polpa, levando a uma leve resposta inflamatória. Sendo, no entanto, esperada uma regeneração tecidual total.

Em 200, White *et al.*, realizaram experimentos com laser de diodo entre 800 nm a 830 nm, no modo contínuo, trabalhando com potências de 2 W, 4 W e 6 W, e verificaram que existia um aumento de temperatura muito maior na superfície dental, em relação à câmara pulpar, independente da marca do gel clareador utilizado. Os autores concluíram que as irradiações com até 2,0 W de potência são seguras para tempos de exposição de no máximo 30 segundos, com intervalos de 30 segundos de espera, evitando que a elevação da temperatura pulpar seja maior que a temperatura máxima de 5,5⁰C, considerada segura por muitos autores baseados nos achados de Zach e Cohen em 1965.

Pelino *et al.* (2001) concluíram que existe uma relação direta entre a presença do gel de peróxido de hidrogênio e o aumento de temperatura da câmara pulpar em dentes clareados com laser de Diodo de 830 nm, no modo contínuo, quando irradiados com 1,5 W e 3,0 W de potência, por 30 segundos. Os autores verificaram que nos grupos onde o gel foi aplicado houve um menor aumento de temperatura em relação aos grupos onde o produto não foi utilizado. Segundo os autores isto ocorre porque o retorno à temperatura inicial acontece de forma mais lenta nos dentes onde o gel clareador foi utilizado. Também foi observado que as elevações de temperatura não foram maiores que 5,0 °C.

Em 2002, Macri avaliou dois modelos freqüentemente usados no estudo da alteração da temperatura na cavidade pulpar. Neste estudo, os modelos foram irradiados com um laser de Diodo operando no comprimento de onda de 830 nm, em regime contínuo. Na sua primeira parte dois modelos foram testados: um utilizando fatia de dente bovino e outro utilizando dente inteiro extraído. Os resultados mostraram que o modelo mais adequado foi aquele que utilizou dente inteiro. Na segunda parte do estudo foram irradiadas as faces vestibulares de dois incisivos inferiores decíduos bovinos com potências de 1 W e 2 W, por 10 s, sempre utilizando um foto-absorvedor. Um termopar foi colocado em contato com parede da câmara pulpar, próximo à irradiação, e o outro no meio da câmara pulpar, que foi preenchida com algodão hidrófilo para que a água pudesse penetrar nesse espaço, simulando as propriedades térmicas da polpa. Os dentes tiveram suas raízes submersas em uma cuba com água, simulando as propriedades térmicas do alvéolo e tecidos subjacentes. Frente aos resultados obtidos, foi verificado que existe diferença de temperatura relevante entre os sítios pesquisados (parede e interior da câmara pulpar), e portanto há a necessidade de padronizar a localização do sitio onde a temperatura é medida.

Também em 2002, Pelino *et.al.* avaliaram a resposta térmica de dentes irradiados com um laser de Diodo. No estudo foram utilizados 16 dentes anteriores de antílopes, nos quais foram realizadas a abertura e a instrumentação do canal até a lima de número 45. Termopares tipo T (cobre-estanho) foram acoplados no interior da câmara pulpar, terço médio e ápice radicular, e também na região externa do cemento próximo à gengiva marginal livre dos dentes, que ficaram imersos (na face lingual) numa cuba térmica a 37° C. A irradiação foi feita

com um laser de Diodo modelo Softlaser, marca Zap Lasers, E.U.A. (808 nm), operando no modo contínuo, utilizando uma fibra óptica de quartzo de 400 micrometros. Os dentes foram distribuídos em 8 grupos descritos a seguir: Grupo 1, irradiados com 1,5 W, sem gel clareador; Grupo 2, irradiados com 2,5 W, sem gel clareador; Grupo 3, irradiados com 1,5W, com gel clareador; Grupo 4, irradiados com 2,5W, com gel clareador; Grupo 5, irradiados com 1,5W, no terço ápice, Grupo 6, irradiados com 1,5W, no terço médio radicular; Grupo 7, irradiados com 1,5W, a 0º na região da gengiva marginal livre e; Grupo 8, irradiados com 1,5W, a 90º na região da gengiva marginal livre. O produto clareador utilizado foi o Opalescence Extra (Ultradent, EUA) para testar a segurança no tratamento do clareamento dental. Os resultados demonstraram que nenhum dos grupos apresentou aumento de temperatura superior a 5,6º C.

Em 2003, Gaspar avaliou *in vitro* o efeito de corantes especiais e peróxido de hidrogênio a 35% irradiados por lasers de diodo e de argônio durante o clareamento dental. O autor irradiou uma parte das amostras com laser de diodo, comprimento de onda 808nm, no regime contínuo, utilizando 1.6W de potência, com tempo de 30 segundos por três vezes com um minuto de intervalo entre as irradiações. A outra parte foi irradiada com laser de argônio, comprimento de onda 488nm, com potência fixa de 200mW, com tempo de 30 segundos por três vezes com um minuto de intervalo entre as irradiações. O autor pode concluir que com a utilização desses parâmetros o laser de Argônio se mostrou mais seguro em relação ao aumento de temperatura, enquanto o laser de diodo apresentou um aumento de temperatura maior que 5,6ºC. Foram sugeridas novas pesquisas com laser de Diodo utilizando parâmetros de irradiação mais baixos.

De Micheli, em 2004, avaliou as respostas térmicas de 10 incisivos inferiores humanos irradiados por laser de diodo e LED. Os dentes foram divididos em 3 grupos distintos. O primeiro grupo foi o controle somente com gel de peróxido de hidrogênio 38%. O segundo grupo com gel de peróxido de hidrogênio 38%, foi irradiado com laser Diodo da marca ZAP Lasers, operando no modo contínuo com 1,4W de potencia, durante 30 segundos cada dente. E o terceiro grupo com gel de peróxido de hidrogênio 38%, irradiado com um LED da marca MMOptics. Estes grupos foram divididos em 2 subgrupos de acordo com a pasta térmica utilizada no interior da câmara pulpar, rosa ou branca. Os

resultados demonstraram os dentes que continham a pasta térmica branca apresentaram um aumento de temperatura menor dos que os dentes que continham a pasta térmica rosa. Também foi observada uma diferença significativa entre os grupos irradiados com laser e com LED. O aumento de temperatura foi maior no grupo irradiado com laser de Diodo, tendo 40% dos dentes uma variação térmica maior que 5,6° C.

2.2 Fisiologia pulpar: inflamação neurogênica

O estado de suprimento sanguíneo pulpar é de suma importância para sua nutrição, trocas gasosas, remoção de metabólitos e dejetos, assim como para seu mecanismo de defesa frente a injúrias (Tonder, 1983; Rodd e Boissonade, 2005). A vascularização aferente e eferente pulpar é constituída por pequenas vênulas e arteríolas que entram pelas inúmeras foraminas laterais e pelo forame apical em direção a câmara pulpar. O diâmetro das vênulas varia entre 100 a 200 µm e o das arteríolas entre 50 a 150 µm. Capilares com diâmetros na ordem de 5 µm a 10 µm são numerosos no tecido pulpar.

O segundo sistema circulatório pulpar é o sistema linfático, responsável por levar o líquido intersticial de volta à corrente sanguínea, controlando assim a pressão pulpar que varia de 8 a 15 mmHg³ (Pimenta e Gomes, 2003). O fluido intersticial é responsável pela nutrição celular e pela eliminação de dejetos, ao ser liberado pelo plexo capilar, por difusão, entrega os nutrientes necessários para manutenção celular e elimina os catabólitos ao ser absorvido. A pressão do fluido intersticial fora dos vasos é consideravelmente menor do que a pressão do sangue no interior dos capilares (Heyeraas e Berggreen, 1999).

As alterações inflamatórias pulpares estão intimamente relacionadas às alterações microvasculares. Dependendo da severidade de uma injúria, a polpa emite resposta inflamatória iniciada pela ruptura das membranas de lisossomos, seguida pela liberação de enzimas proteolíticas vasoativas, resultando no aumento da permeabilidade vascular, da filtração capilar e do volume de fluido intersticial e em vasodilatação, o que ocasionara um derrame de proteínas plasmáticas nos tecidos aumentando a concentração de soluto intersticial. Como

a polpa se encontra dentro de um tecido mineralizado ela não possui espaço para se expandir. Assim pequenas alterações nesses fatores levam a grandes alterações na pressão (Kim e Dorscher-Kim, 1989).

Em 1990, Kim conjecturou que o aumento na pressão intersticial pulpar gera compressão vascular e hipóxia, e que, de acordo com sua severidade, pode ocasionar sua necrose. No entanto outra possibilidade foi proposta por Heyeras e Kvinnsland (1992), que frente a um aumento de pressão, o fluido intersticial é drenado pelos vasos linfáticos e capilares levando a uma resposta mais favorável.

O sistema nervoso pulpar é composto por fibras sensitivas que geralmente acompanham o plexo vascular onde, independente do estímulo, todos os impulsos aferentes da polpa resultam em sensação de dor. Ele é composto pelo Plexo de Mummery, fibras amielínicas que penetram pelo forame apical e se abrem em direção à junção dentino-pulpar formando o Plexo de Raschkow ou Plexo Subodontoblástico. As fibras nervosas pulpares são divididas em duas categorias principais: as fibras A Delta e as fibras C. As fibras A Delta, possuem diâmetros entre 2 a 5 μm de diâmetro, estão localizadas próximas à junção dentino-pulpar e as fibras do tipo C, que possuem diâmetros entre 0,3 a 1,2 μm e estão localizadas na região central da polpa (Narhi *et al.*, 1992).

Frente a um estímulo, as células nervosas sensoriais geram impulsos elétricos que são transformados na região dos dendritos em sinal químico, levando a liberação de neurotransmissores que atravessam a sinapse nervosa e ativam o próximo neurônio formando um circuito nervoso sensorial.

Bayliss em 1901, notou que a ativação do gânglio da raiz dorsal nervosa resulta em uma vasodilatação periférica. Semelhante resposta obteve Lewis em 1927, ao estimular a pele com um objeto pontiagudo ele pode observar uma resposta trifásica composta por vasoconstrição, vasodilatação e edema. Ambos demonstram que a estimulação de axônios sensoriais pode resultar em uma resposta inflamatória denominada inflamação neurogênica (*apud* Pernow, 1983).

A inflamação neurogênica pulpar é uma associação de eventos iniciada por um estímulo a uma fibra nervosa sensorial pulpar que libera uma substância P, capaz de diminuir a pressão sanguínea, e outra substância denominada CGRP, um peptídeo relacionado ao gene da calcitonina que é um potente vasodilatador e

atua como guia no tráfego de células imunológicas através da parede dos vasos sanguíneos, atuando também sobre macrófagos e leucócitos (Vandevska-Radunovic et.al, 1997; Fristad *et al.* 1997).

Juntamente com a substância P e o CGRP, a neuroquinina A (NKA), o polipeptídeo vasodilatador intestinal (VIP) e o neuropeptídeo Y, são os neuropeptídeos mais liberados pelos axônios. O polipeptídeo vasodilatador intestinal (VIP) possui capacidade imunossupressora na qual, acredita-se, previne a excessiva produção de citocinas pró-inflamatórias. O neuropeptídeo Y possui capacidade vasoconstritora e amplificadora dos efeitos pós-sinápticos de outros vasoconstritores como a noradrenalina. A substância P e a NKA geram vasodilatação pela ação direta da musculatura lisa da célula vascular e indireta pela por estimularem a emissão de histamina pelos mastócitos (Lundy e Linden, 2004). A substância P ainda interage com outras células do processo inflamatório, como os macrófagos, levando a liberação de mediadores químicos da inflamação, citocininas, prostaglandinas e tromboxane A2 (Pernow, 1983).

Tem sido observado um aumento de neurotransmissoes em polpas dentárias depois de estímulos, (Vandevska-Radunovic, 1999). Assim tem sido conjecturado que toda região do periodonto e polpa respondem como um conjunto a estímulos nervosos, participando e regulando o processo inflamatório (Salles, 2006).

2.3 Fluxometria laser Doppler

Quando uma radiação é refletida por superfícies em movimento ela sofre uma alteração em frequência proporcional a velocidade do alvo. Estas alterações de frequência, observadas em ondas acústicas por Johann Christian Andreas Doppler, foram denominadas efeito Doppler. Baseada nestes princípios foi desenvolvida a fluxometria laser Doppler, que permite medir de forma não invasiva variações de parâmetros hemodinâmicos da microvascularização tais como o fluxo sanguíneo, a velocidade de fluxo e concentração das hemácias contidas num volume ao qual o fluxômetro é sensível.

Normalmente os fluxômetros comerciais usam um laser de Diodo com potência entre 1 a 2 mW, operando em comprimentos de onda entre 633 nm a

810 nm, acoplados a uma fibra óptica que entrega a radiação laser à região a ser estudada. A radiação emitida pelo fluxômetro, ao atingir os tecidos biológicos é espalhada pelas estruturas estáticas e móveis, a radiação espalhada pelas células sanguíneas em movimento, majoritariamente pelas hemácias devido a sua maior concentração, sofre um desvio em frequência, de acordo com os princípios do efeito Doppler. Uma parcela da radiação espalhada é captada por outra fibra óptica próxima à emissora, que conduz a radiação retro-espalhada a um fotodiodo que converte a radiação em sinais elétricos. O sinal elétrico, denominado sinal Doppler, é processado para a extração de informações sobre o fluxo sanguíneo (Nogueira *et.al.*, 2000).

As informações obtidas, denominadas fluxo, não podem ser calibradas como valores absolutos pois a área que o instrumento é sensível geralmente é desconhecida. Desta maneira o fluxo obtido é expresso em unidades de perfusão arbitrárias que são calculadas utilizando o primeiro momento da densidade de potencia do espectro do sinal de fotocorrente (LASER DOPLER BLOOD FLOW ASSESSMENT, 2006).

Como a faixa de frequências do sinal Doppler é diretamente proporcional às velocidades das hemácias, geralmente os fluxômetros comerciais limitam a faixa do sinal Doppler em bandas para uma melhor relação entre o sinal Doppler e ruídos do sistema. A faixa ou banda Doppler entre 20 Hz a 3 kHz é adequada para velocidades de até 1 mm/s, enquanto uma banda entre 20 Hz a 22 kHz é adequada para velocidades maiores, na ordem de 10 mm/s (LASER DOPLER BLOOD FLOW ASSESSMENT, 2006).

Em tecidos moles o fluxômetro laser Doppler é capaz de medir o fluxo sanguíneo a uma distância de aproximadamente 1 mm (Núñez, 2002). Porém o fluxômetro é sensível ao fluxo pulpar dental, a profundidades de até 5 mm. Acredita-se que isto ocorra porque a radiação laser é guiada pelos túbulos dentinários, que funcionam como fibras ópticas, guiando a radiação em direção à polpa (Odor *et al.*, 1996a).

A radiação laser no comprimento de onda utilizado pelos fluxômetros comerciais, entre 633nm a 810nm, é fortemente espalhada na dentina e atinge difusamente a polpa. Porém uma parte da radiação retro-espalhada pela dentina também atinge os tecidos periodontais e gengiva. Assim, quando a medição é efetuada de forma não-invasiva, ou seja, irradiando o esmalte intacto, parte do

sinal recebido origina da polpa, parte do periodonto e parte da gengiva. Tem sido sugerido que entre 40% a 70% do fluxo medido nestas condições são provenientes da gengiva e do periodonto (Hartmann *et al.*, 1996; Soo-Ampon *et al.*, 2003; Salles, 2006).

Com a intenção de diminuir as interferências causadas pelos tecidos circunvizinhos ao dente, diversas técnicas têm sido sugeridas. Uma delas é a limitação da banda Doppler, pois como o desvio em frequência sofrido pela radiação é diretamente proporcional à velocidade das hemácias uma banda Doppler diminuída capta majoritariamente arteríolas de menor calibre (Odor *et al.*, 1996b), diminuindo dessa maneira a interferência oriunda da região dos tecidos periodontais, onde os vasos são relativamente mais calibrosos que na polpa dental (Kerdvongbundit *et al.*, 2002; Kerdvongbundit *et al.*, 2003). Outra alternativa sugerida na literatura é a utilização de barreiras ópticas aplicadas na gengiva através do uso de isolamento de látex opaco a radiação (Hartmann *et al.*, 1996; Soo-Ampon *et al.*, 2003; Salles, 2006). Ou ainda, para minimizar a contaminação do fluxo medido, pode-se distanciar a sonda da margem gengival (Ramsay *et al.*, 1991; Odor *et al.*, 1996b). No entanto o afastamento da sonda da gengiva significa diminuir o volume de polpa irradiada e conseqüentemente o sinal Doppler diminui progressivamente, até o limite de detecção do instrumento. Um melhor compromisso entre a amplitude do sinal Doppler e contaminação tem sido sugerido ser entre 2 mm a 3 mm da margem gengival (Odor *et al.*, 1996b).

O fluxômetro laser Doppler é sensível a pequenos deslocamentos: na ordem de 0,01 mm/s. Assim pequenos movimentos entre a sonda e o esmalte, decorrente da respiração, contrações musculares involuntárias e movimentos da fibra óptica, resulta interferência no sinal Doppler. Para minimizar tais interferências é comum fixar a sonda ao esmalte usando suportes de silicone (Odor *et al.*, 1996b), acrílico (Hartmann *et al.*, 1996) e poliuretano (Soo-Ampon *et al.*, 2003).

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi verificar, em dentes humanos, a existência de alterações no fluxo sanguíneo pulpar decorrente da irradiação com laser de Diodo, após a realização do tratamento de clareamento dental, seguindo um protocolo considerado seguro de acordo com a literatura atual.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionados seis voluntários saudáveis de ambos os sexos, com idades entre 20 e 30 anos, dentre pacientes regularmente submetidos ao tratamento de clareamento dental no LELO (Laboratório Especial de Lasers em Odontologia) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, FOU SP. Os mesmos foram encaminhados ao LELO pelo departamento de dentística.

Os pacientes incluídos no estudo apresentavam os dentes, que foram submetidos ao tratamento, hígidos e sem sinais de inflamação gengival. Previamente ao tratamento, estes dentes foram submetidos testes de vitalidade pulpar (testes térmicos) e radiografias periapicais. Não existiram outros pré-requisitos na seleção dos voluntários.

A cada voluntário foi exposto o objetivo desta pesquisa e foi informado que a qualquer momento poderá abandonar o projeto. A concordância dos voluntários foi documentada por um termo de consentimento livre e esclarecido (modelo no ANEXO I), conforme as diretrizes da Resolução 196. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOU SP.

O tratamento foi executado com Laser de Diodo seguindo-se o seguinte protocolo:

- Profilaxia com pedra pomes e água.
- Isolamento gengival com o uso de barreira fotopolimerizável (Lase Protect - DMC), conforme mostra a FIG. 1.



Figura 1 – Aplicação da barreira gengival

- Aplicação do gel (Lase Peroxide Sensy - DMC) numa espessura de aproximadamente 4mm, FIG. 2, e marcação do tempo inicial.



Figura 2 – Aplicação de gel de clareamento.

- Irradiação com laser de diodo (ZAP Lasers, Califórnia, USA), no modo contínuo, com 1.2 W de potência, durante 30 segundos, com uma fibra óptica de 300 μ m de diâmetro, FIG. 3, a uma distância de 2 mm do gel clareador, fazendo movimentos nos sentidos cervico-apical, disto-mesial e circular para que haja uma exposição uniforme da radiação na face vestibular.



Figura 3 – Sistema de entrega de feixe por fibra óptica de quartzo com 300 μ m.

- Ativação do gel e tempo de espera de 3 minutos.
- Repetição da irradiação.
- Ativação do gel e tempo de espera até completar 20 minutos do tempo inicial.
- Remoção do gel com o sugador.
- Lavagem dos dentes.

A potência do laser de diodo foi medida utilizando um radiômetro marca Coherent (EUA), modelo FM.

As medições do fluxo sanguíneo pulpar foram feitas nos incisivos centrais superiores, usando um fluxômetro laser Doppler. A sonda do fluxômetro foi fixada em posição utilizando um molde de silicone de condensação da marca Optosil Comfort/ Xantopren (Hereaus Kulzer - Alemanha), FIG. 4.



Figura 4 – Moldeira parcial metálica e silicona de condensação.

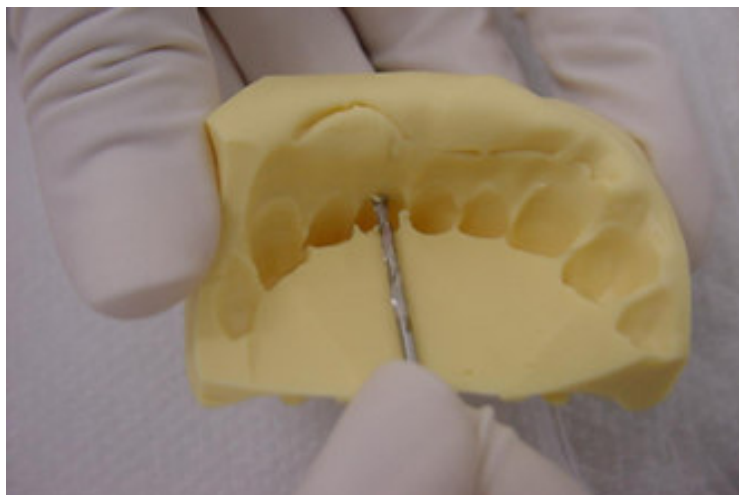


Figura 5 – Confeção do orifício para posicionamento da sonda.

A silicona foi aplicado a uma moldeira parcial para a região anterior superior, em seguida foi feita a moldagem e a remoção de excessos do molde obtido. Logo após foi confeccionado um orifício de entrada para sonda, conforme mostrado na FIG.5. O orifício foi posicionado na área dos dentes a serem estudados, três milímetros acima da margem gengival, FIG. 6.

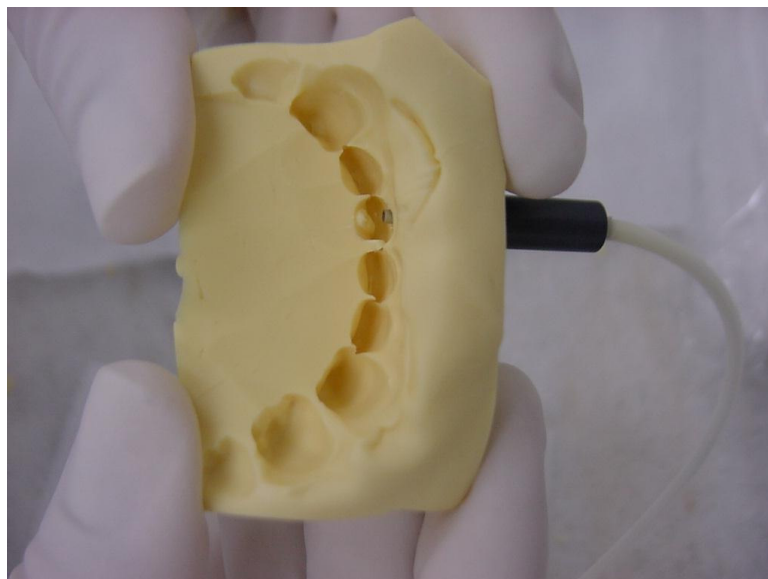


Figura 6 – Sonda posicionada no orifício.

O molde foi colocado em posição na boca do paciente por um profissional, FIG. 7, e os voluntários permaneceram sentados e imóveis durante os registros, isto porque a sonda é extremamente sensível a pequenos movimentos, o que poderia ocasionar um erro de leitura.



Figura 7 – Sonda do fluxômetro laser Doppler fixada em posição de leitura através de um molde de silicone.

Quatro medições de fluxo foram executadas em cada voluntário em quatro momentos distintos:

- Antes do clareamento;
- Imediatamente após o clareamento;
- 72hs após o clareamento;
- 7 dias após o clareamento.

Em cada momento foram efetuados três registros dos incisivos centrais superiores, de cerca de 1,30 minuto cada. Para a leitura de cada registro foi avaliado o valor médio de fluxo em três regiões diferentes, com a intenção de mediar as variações de fluxo que ocorrem decorrentes dos ajustes fisiológicos do

fluxo pulpar (vasomotilidade). Destes valores foram efetuadas as médias de fluxo de cada dente em cada sessão, expressos em unidades arbitrárias, aqui denotados fluxos médios, expressos em F(UA).

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística onde as variações de fluxo de cada sessão e de cada indivíduo foram analisadas usando o indicador de variação de fluxo, F(%), definido na seqüência:

$$F(\%) = \frac{F_B}{F_A} \cdot 100,$$

onde F_A é o valor do fluxo inicial em UA (unidades arbitrárias), e F_B são valores de fluxo nas sessões posteriores (após, 72 horas e 1 semana). Assim, F(%) em cada momento significa a variação percentual de fluxo do momento interrogado em relação ao momento inicial.

Especificações dos equipamentos e do gel de clareamento:

- Radiômetro marca Coherent (USA), modelo FM.

- *Laser* – Diodo Classe IV, meio ativo de GaAlAs, marca ZAP Lasers, modelo ZAP Alta 3,5W, com comprimento de onda de 808 nm (+/- 5 nm), modo de operação contínuo ou interrompido, potência máxima de 3,5W, sistema de entrega de feixe por fibra óptica de quartzo com 200µm, 300µm ou 600µm e feixe guia usando um diodo *laser* emitindo em 620 nm, FIG. 8.



Figura 8 – Laser Diodo, marca ZAP Lasers, ajustado no modo contínuo com potência de 1,2W.

- Laser Doppler – fluxômetro modelo FlowLab, marca Moor Instruments Ltd U. K, emitindo em 780 nm, com potência de aproximadamente 1 mW e diâmetro da fibra óptica de 0,25mm, FIG. 9.

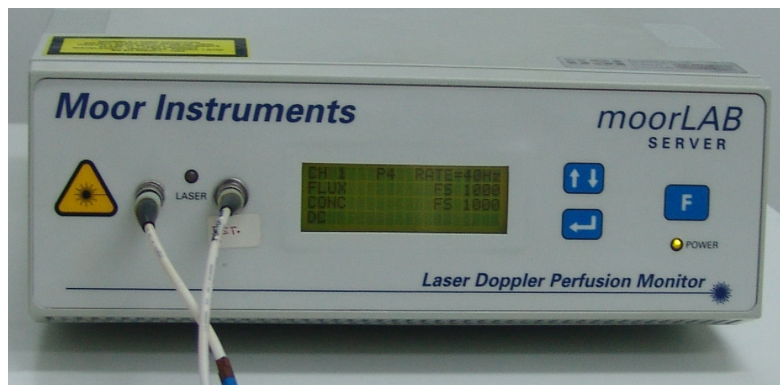


Figura 9 – Fluxômetro Laser Doppler, modelo FlowLab, marca Moor Instruments Ltd U. K.

- Lase peroxide sensy DMC – peróxido de hidrogênio 35%, FIG. 10. Registro na ANVISA – 80030810009.



Figura 10 – Kit de clareamento Lase Peroxide Sensy DMC.

5. RESULTADOS

Os valores de fluxo e as variações percentuais de fluxo de doze dentes nos quatro momentos investigados estão apresentados, respectivamente, nas TAB. 1 e 2, onde pode ser verificado que imediatamente após o clareamento houve redução de fluxo em cinco dentes, aumento em seis dentes e um dente teve o fluxo inalterado. Não houve, portanto, predominância acentuada de dentes que apresentaram fluxos aumentados ou diminuídos, mas o valor médio da variação percentual de fluxo indica discreto aumento de fluxo.

Tabela 1 – Valores de fluxo de doze dentes nos quatro momentos investigados.

Dente	Fluxo – F(UA)			
	Antes	Após	72h	1 semana
1	6,4	5,9	7,3	6,4
2	6	6,5	8,8	6,8
3	7,4	6,8	6,6	7
4	8,1	8,1	8,3	7,2
5	6,5	7,3	7,8	6,6
6	6,3	7,8	7	7,1
7	7,1	6,7	6	4,4
8	7,1	6,5	7,4	5,2
9	4,2	4,8	4,6	4,7
10	5	4,9	5,3	6,2
11	5,5	7,8	10,1	7,8
12	7,5	9,3	9,3	9,7
Média	6,4	6,9	7,4	6,6
Desvio Padrão	1,1	1,3	1,6	1,4

Setenta e duas horas depois do clareamento, dez dentes apresentaram aumento de fluxo e dois tiveram fluxos diminuídos. Neste momento houve predominância de dentes que apresentaram fluxo aumentado e o valor médio da variação percentual de fluxo indica discreto aumento de fluxo.

Uma semana após o clareamento houve redução de fluxo em cinco dentes, aumento em seis dentes e um teve o fluxo praticamente inalterado. Novamente não houve predominância acentuada de dentes que apresentaram fluxos aumentados ou diminuídos, mas o valor médio da variação percentual de fluxo indica discreto aumento de fluxo.

As variações percentuais de fluxo calculadas (TAB. 2) são apresentados como *Box-Plots* na FIG. 11, com marcas, do topo acima de cada caixa para baixo, representando o valor máximo, os percentis 95, 75, 50, 25 e 5, e o valor mínimo. O valor médio é representado por um quadrado.

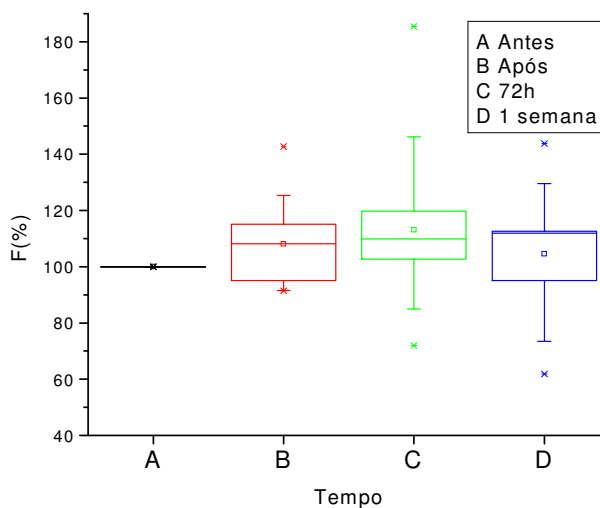


Figura 11 – *Box-Plots* representando as variações percentuais de fluxo nos momentos investigados: Antes, após, 72h e 1 semana depois do clareamento.

Não foram encontradas evidências suficientes (teste Ryan-Joiner) para rejeitar a hipótese nula de que as distribuições de valores de variação percentual de fluxo nas sessões estudadas sejam normais. Valores elevados de correlação

(sugerindo normalidade), segundo o teste Ryan-Joiner, somente ocorrem em algumas sessões.

Analisando as FIG. 11 verifica-se em algumas sessões diferenças entre os valores medianos e médios (sugerindo distribuições não normais), mas as distribuições são aproximadamente simétricas em torno das respectivas medianas. Desta forma o teste Wilcoxon para uma amostra foi usado nas inferências seguintes.

Tabela 2 – Variações percentuais de fluxo de doze dentes nos quatro momentos investigados.

Variação percentual de fluxo – F(%)				
Dente	Antes	Após	72h	1 semana
1	100	91,4	113,9	100,3
2	100	108,1	146,2	112,6
3	100	91,8	89,2	95
4	100	100	102,7	88,7
5	100	113,1	119,7	101,4
6	100	124,6	110,6	112,1
7	100	95,1	84,9	61,8
8	100	91,6	104,2	73,5
9	100	115,1	109,8	112
10	100	98,4	106,8	123,4
11	100	142,7	185,3	143,8
12	100	125,3	124,3	129,6
Média	X	108,1	116,5	104,5
Desvio Padrão	X	16,5	26,9	23,1

Para verificar se as medianas das variações percentuais de fluxo em cada sessão são diferentes da mediana inicial (i. e., se há evidências de variação), foram testadas as hipóteses alternativas de superioridade das medianas de F(%) de cada uma das sessões posteriores ao clareamento, quando comparadas com o valor inicial de 100% (a mediana inicial é, por definição, igual a 100%). Os resultados obtidos indicam que os dados disponíveis não evidenciam diferenças estatísticas significativas, para significância igual ou superior a 95%, nas sessões Após e 1 Semana ($p = 0,128$ e $p = 0,183$ respectivamente), mas há evidências suficientes para inferir que a mediana na sessão 72h é superior a 100% ($p = 0.027$).

Utilizando o método de Wilcoxon para estimar os intervalos de confiança das medianas dos valores das variações percentuais de fluxo nas sessões investigadas, foram obtidos os seguintes valores:

- Imediatamente após: entre 95,8% a 118,9%;
- 72hs após: entre 101,6% a 132,9%;
- 1 semana após: entre 88,7% a 119,4%.

Em todos os intervalos a significância obtida é de 94,5%.

Assim há evidências estatísticas suficientes para inferir aumento de fluxo na sessão 72h e o intervalo de confiança é entre 101,6% a 132,9%.

6. DISCUSSÃO

Os pacientes selecionados possuíam idades na faixa estaria entre 20 e 30 anos de idade, buscando maior homogeneidade nos resultados, pois a dentina apresenta alterações estruturais e a polpa dentária apresenta alterações no seu sistema vascular e função conforme sua idade (Morse, 1991; Ikauwa, 2003).

Na TAB.1 pode ser observado que, dentre os dentes avaliados, o valor mínimo de fluxo medido antes do clareamento (controle) foi 4,2 UA e o valor máximo foi 8,1 UA, resultando um acréscimo percentual de 93%. Este fato tem sido relatado na literatura (Salles, 2006). Ou seja, há elevada variação nos valores de fluxo entre indivíduos. Este fato provavelmente decorrente, dentre outros fatores, das variações normais de fluxo entre indivíduos, das variações das propriedades ópticas nos tecidos dentários entre indivíduos e das variações nas parcelas de fluxo contaminantes entre indivíduos, oriundas da gengiva e periodonto. Ainda assim tem sido comum na literatura o uso de um grupo controle, onde o valor médio do fluxo do grupo é derivado, em unidades arbitrárias, e os demais grupos são comparados ao grupo controle (Hartmann *et al.*, 1996; Odor *et al.*, 1996b; Evans *et al.*, 1999; Soo-Amplon *et al.*, 2003).

Assim, dada a grande variabilidade de fluxo entre indivíduos, os resultados obtidos foram aqui avaliados utilizando a variação percentual de fluxo, onde cada indivíduo é seu próprio controle (Núñez, 2002; Salles, 2006), conforme definida no capítulo anterior.

Os dados disponíveis não evidenciam diferenças estatísticas significativas imediatamente após e uma semana depois da irradiação. Mas há evidências suficientes para inferir um discreto aumento de fluxo no terceiro dia.

Existem, *a priori*, três causas prováveis para esse aumento de fluxo: um dano térmico na polpa causado pelo aquecimento excessivo provocado pelo laser de Diodo; ou um dano químico devido ao uso do peróxido de hidrogênio a 35%; ou uma pequena resposta inflamatória gengival.

Conforme já comentado anteriormente, uma parcela do fluxo medido pelo fluxômetro vêm dos tecidos circunvizinhos ao dente (Hartmann *et al.*, 1996; Kerdvongbundit *et al.*, 2002; Soo-Ampon *et al.*, 2003; Salles, 2006). Assim o

aumento de fluxo após 72 horas poderia ter sido causado por uma pequena resposta inflamatória gengival. No entanto dois fatores indicam a exclusão desta possibilidade. O primeiro é o fato de a gengiva ser o único tecido do complexo: polpa, ligamento peridental e osso alveolar, que pode ser facilmente visualizado e qualquer alteração na textura ou cor, que indicasse anormalidade, seria facilmente observada. Tais alterações não foram observadas.

Não foi utilizada neste trabalho, a técnica de blindagem óptica da gengiva para minimizar a parcela de fluxo gengival pelas seguintes razões: com a blindagem óptica o sinal Doppler poderia decrescer aquém do limite de detecção do instrumento (Soo-Ampon *et al.*, 2003) e, as origens e frações dos fluxos contaminantes ainda não estão claros e uma eventual compressão da gengiva (produzida pelo lençol de isolamento) poderia causar instabilidades nas medições (Salles, 2006).

Dentre os protocolos apresentados na literatura, a escolha da potência, fixada em 1,2 W durante as irradiações, foi baseada no trabalho de Pelino *et al.* (2001), onde o aumento de temperatura se mostrou seguro de acordo com os estudos de Zach e Cohen (1965), ou seja, admitindo o limite de 5,5⁰C. Estudo semelhante foi realizado em 1997 por Baldissara *et al.*, porém desta vez em dentes humanos. Os autores estimularam termicamente os dentes estudados, mas usaram uma fonte que entregava lentamente e de forma controlada calor, diferente da fonte de calor usada por Zach e Cohen que entregava calor rapidamente e com pouco controle. Os autores observaram que, para uma elevação máxima de temperatura de 14,7^o C com tempo de permanência acima da funcional de 170 segundos, nenhuma polpa apresentou alteração histológica até 91 dias após o experimento. Os pacientes não relataram dor e todos os testes térmicos de vitalidade responderam negativamente à perda de vitalidade. Assim há evidências sugerindo que a temperatura que a polpa pode ser submetida acima da funcional pode ser superior a 5,5⁰C, dependendo do tempo em que a temperatura permaneceu acima da funcional. Porém, estudos recentes demonstram que os modelos físicos atualmente utilizados não reproduzem as propriedades ópticas da polpa e podem, dessa maneira, subestimar ou sobre estimar a elevação da temperatura (Farhat, 2003).

Outra hipótese que explica o aumento de fluxo pulpar é que o gel de clareamento possa ter gerado uma agressão química à polpa, pois alguns autores demonstram que agentes clareadores, tais como peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida, possuem a capacidade de penetrar na câmara pulpar através dos túbulos dentinários (Thitinthapan *et. al.*,1999). Dessa maneira o peróxido pode atingir as fibras A Delta, que se localizam próximas da parede dentinária na câmara pulpar. No entanto Fugaro *et. al.*, em 2004, avaliaram a presença de neuropeptídeos relacionados à inflamação após ação do peróxido de carbamida a 10% sobre a polpa dental, e não encontraram evidências estatísticas suficientes que comprovassem alterações no número de substância P ou de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP).

Em 2005, Fugaro *et al.* analisaram cortes histológicos de polpas cujos dentes foram submetidos ao peróxido de carbamida a 10% e observaram que este agente pode causar uma inflamação leve e localizada na polpa, a depender do tempo de utilização do gel. Mas foi observado que a inflamação é localizada e não é prejudicial ao tecido pulpar como um todo: após duas semanas do uso os efeitos observados foram reparados.

Não foram encontrados, na literatura relacionada, trabalhos avaliando a ação do gel de peróxido de hidrogênio a 35% sobre a polpa dental. Mas, no grupo estudado, não houve relato de dor ou desconforto imediatamente ou depois dos processos de clareamento. Assim há poucas suspeitas de uma agressão química às polpas de dentes submetidos ao peróxido de hidrogênio a 35%.

Independente do mecanismo que origine um dano à polpa, seja térmico ou químico, é esperado que o órgão pulpar emita uma resposta que pode levar a um processo inflamatório. Como as alterações inflamatórias pulpares estão intimamente ligadas a alterações microcirculatórias a FLD foi utilizada neste trabalho, por ser uma técnica sensível a alterações de fluxo microvascular.

Em condições de normalidade na polpa, os nervos simpáticos são responsáveis pela vasoconstrição e os nervos sensitivos são responsáveis pela vasodilatação. Porém, na presença de injúrias pode ocorrer uma alteração no fluxo de controle vascular (Tonder, 1983; Kim, 1990; Kim *et. al.*, 1992; Olgart, 1996).

Sasano *et al.*, em 2002, observaram que ao aplicar um estímulo frio na superfície dentária ocorre uma queda estável do fluxo sangüíneo pulpar e quando o estímulo aplicado eleva a temperatura, o fluxo não apresenta um aumento estável como o que ocorre na pele (Andresen *et al.*, 1994), podendo em alguns casos apresentar até mesmo um declínio. O autor também comenta ter observado que, quando o padrão de fluxo do paciente é alto, a vasoconstrição domina levando a uma diminuição do fluxo pulpar e quando esse valor padrão é baixo a vasodilatação é que prevalece, levando a um aumento do fluxo.

No presente trabalho as medições logo depois do clareamento dentário não indicaram alterações significativas de fluxo. Este fato provavelmente ocorreu porque as constantes de tempo das respostas térmicas dos dentes investigados são da ordem de dezenas de segundos (Oliveira, 2004), enquanto as medições aqui apresentadas foram realizadas entre 20 min. a 30 min. depois das irradiações. Portanto presumidamente os fluxos já haviam retornado aos seus níveis basais.

Durante o processo de clareamento investigado, a irradiação com o laser de Diodo resultou um aumento de temperatura no interior da câmara pulpar, pois tanto a radiação absorvida pela dentina como a radiação remanescente que atinge a polpa e por ela absorvida aquecem todo o volume (Oliveira, 2004).

O aquecimento e eventualmente uma agressão pela ação do peróxido de hidrogênio, podem ter levado a uma estimulação de fibras nervosas na polpa, que possuem em seus terminais neuroquininas, que ao serem liberadas estimulam a formação de prostaglandinas, bradiquininas, leucotrienos e histamina que levam a um aumento de fluxo sangüíneo e da permeabilidade capilar devido a suas propriedades vasodilatadoras (Okabe, 1989; Lundy e Linden, 2004).

Como a polpa dentária possui capacidade de expansão limitada, por se localizar em um compartimento fechado, um aumento de fluxo e da permeabilidade vascular pode causar grandes alterações na pressão dentro da câmara pulpar. Se a pressão tissular for muito intensa pode ocorrer compressão de vasos na câmara pulpar (Kim, 1990) e diminuição do fluxo. No entanto Heyeras e Kvinnsland, em 1992, mediram simultaneamente o fluxo sangüíneo e a pressão do fluido intersticial, de polpas dentárias de gatos com inflamação neurogênica, usando a fluxometria laser Doppler e da técnica de micropuntura.

Neste experimento foi observado que a inflamação neurogênica causou o aumento do fluxo sanguíneo e da pressão intersticial simultaneamente, mas num segundo momento a pressão tissular decresceu, supostamente (segundo os autores) decorrente da capacidade de ajuste de drenagem via vasos linfáticos e capilares.

Têm sido observados processos inflamatórios regionais, confinados em pequenas frações da polpa, e que alteram a permeabilidade das paredes dos vasos sanguíneos, levando a um possível aumento de fluxo apenas numa região limitada (Heyeraas et al., 1994). Ainda, é razoável supor que um pequeno processo inflamatório resulte somente as primeiras respostas inflamatórias (vasodilatação e aumento de fluxo), que é o caso que provavelmente foi observado no grupo estudado, comuns nas duas hipóteses citadas acima. Ou seja, supostamente a pressão pulpar permaneceu baixa, ou porque a injúria foi pequena e ou localizada a pequenas regiões, ou porque ocorreu um mecanismo efetivo de controle da pressão intersticial. Qualquer que seja o caso, supostamente a lesão ou estímulo foi pequeno, caso contrário maiores alterações de fluxo seriam encontradas.

Em torno do sétimo dia num processo de reparação tecidual há um aumento máximo de fluxo, quando a quantidade de vasos é máxima (neoangiogênese), diminuindo depois do sétimo dia (Núñez, 2004). Assim o discreto aumento de fluxo sanguíneo observado somente 72h depois das irradiações pode ser um indicador de que ocorreu somente uma leve resposta inflamatória, pois caso ocorresse lesão tecidual, um processo de reparação tecidual teria ocorrido e detectado no sétimo dia: fato este que não foi observado.

7. CONCLUSÃO

Dentro das condições experimentais, nos resultados obtidos foram encontradas evidências estatísticas suficientes para inferir que há discreto aumento de fluxo nos dentes 72h depois de irradiados. Não foram encontradas alterações de fluxo imediatamente após e uma semana depois das irradiações.

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

(Obrigatório para pesquisas científicas em seres humanos - Resolução no. 1 de 13.6.98 – CNS)

Pesquisa: FLUXOMETRIA *LASER* DOPPLER DA POLPA DENTAL APÓS O CLAREAMENTO COM O *LASER* DE DIODO.

PREZADO PACIENTE

Você está participando voluntariamente de um trabalho de pesquisa clínica. O trabalho tem o objetivo de medir o fluxo sanguíneo da polpa dental após o tratamento de clareamento dental utilizando laser de diodo de alta intensidade. O clareamento dental utilizando laser de diodo é um procedimento usado rotineiramente. A medição do fluxo da polpa usando um laser em baixa intensidade é um procedimento não rotineiro, mas já é bem conhecido na literatura científica, não há efeito doloroso e não significa risco de qualquer dano à saúde.

A pesquisa envolve voluntários saudáveis, maiores de 18 anos, de ambos os sexos, e que não estejam medicados.

Será utilizado um fluxômetro laser Doppler com a finalidade de medir possíveis alterações no fluxo sanguíneo da polpa dental. Inicialmente será realizada uma moldagem dos dentes anteriores para a fixação da sonda do fluxômetro e as medições serão feitas antes e após o tratamento.

Será necessário o uso de óculos de proteção durante as irradiações com o laser de diodo, não sendo permitida a permanência dentro da sala sem o uso dos mesmos. O risco de lesão ocular será evitado com o uso de óculos de proteção. O laser do fluxômetro possui uma baixa intensidade (1mW), sendo totalmente inócuo à saúde, desde que não visualizado com magnificadores (binóculos, microscópios, etc), segundo a norma IEC 825-1:2001.

Você possui toda a liberdade de se recusar a participar ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalidade alguma e sem

qualquer prejuízo. Os dados coletados na pesquisa são confidenciais, preservando a privacidade dos voluntários.

O operador responsabiliza-se por eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Em caso de urgência, procurar o serviço de urgência desta faculdade ou em meu consultório localizado na Av. São Gabriel, número 149, conjunto 401.

ANEXO II**AUTORIZAÇÃO DO PACIENTE**

Eu, _____,
R.G. _____ autorizo as medições de fluxo da polpa dentária, bem
como a documentação do caso, ciente da possibilidade de insucesso desta
técnica que visa o desenvolvimento científico de sua utilização em Odontologia,
através do binômio clínica-pesquisa.

São Paulo, ____ de _____ 2006.

Eu, Mariana Petrone de Moraes, CROSP 83272, responsabilizo-me
por eventuais danos que a utilização do laser possa causar em qualquer
fase da pesquisa.

São Paulo, ____ de _____ 2006.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMES, J. W. Removing stains from mottled enamel. *J Am Dent Assoc*, v. 94, p. 1674 – 1677, 1973.
2. ANDERSEN, E.; AARS, H.; BRODIN, P. Effects of cooling and heating of the tooth on pulpal blood flow in man. *Endod Dent Traumatol.*, v. 10, p. 256 – 259, 1994.
3. BALDISSARA, P.; CATAPANO, S.; SCOTTI, R. Clinical and histological evaluation of thermal injury thresholds in human teeth: a preliminary study. *Journal of Oral Rehabilitation*, v. 24, p. 791-801, 1997.
4. DE MICHELI, P. R. *Análise termográfica e espectrofotométrica do clareamento dental extrínseco utilizando laser de diodo e sistema de LED. Estudo in vitro.* São Paulo: 2004. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
5. OLIVEIRA, A. P. *Modelagem dos efeitos térmico e óptico na câmara pulpar durante a irradiação do laser de Nd:YAG no tratamento da hipersensibilidade dentinária.* São Paulo: 2004. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
6. EDUARDO, F. T. O. P. *Avaliação da fluxometria laser doppler como teste de vitalidade pulpar.* São Paulo: 2004. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
7. EVANS, D.; REID, J.; STRANG, R.; STIRRUPS, D. A comparison of laser Doppler flowmetry with other methods of assessing the vitality of traumatized anterior teeth. *Endodot. Dent. Traumat*, v. 15, p. 284 – 290, 1999.
8. FARHAT, P. B. DE A. *Modelagem dos efeitos térmicos e ópticos na polpa dentária durante a irradiação com os lasers de diodo e de neodímio.* São Paulo: 2003. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
9. FRIED, D.; GLENA, E. R.; FEATHERSTONE, J. D. B.; SEKA, W. Nature of light scattering in dental enamel and dentin at visible and near-infrared wavelengths, *Applied Ópticas*, v. 34, n. 7, p. 1278-1285, 1995.
10. FRISTAD, I.; KVINNSLAND, I. H. ; JONSSON, R.; HEYERAAS, K. J. Effect of intermittent long-lasting electrical tooth stimulation on pulpal blood flow and immunocompetent cells: a hemodynamic and immunohistochemical study in young rat molars. *Exp Neurol.* v. 146, n. 1, p. 230-239, 1997.
11. FUGARO, J. O.; NODAHL, I.; FUGARO, O. J.; MATHIS, M.; MATIS B. A.; MJÖR, I. A. Pulp reaction to vital bleaching. *Operative Dentistry*, v. 29, n. 4, p. 363-368, 2004.

12. FUGARO, J. O.; FUGARO, O. J.; MATHIS, M.; GREGORY, R. L.; COCHIRAN, M. A.; MJÖR, I. A. The dental pulp: Inflammatory markers and vital bleaching. **Am. J. Dent.**, v. 18, p. 229-232, 2005.
13. GASPAR, J. A. **Avaliação do efeito de corantes especiais e peróxido de hidrogênio irradiados por laser de argônio e laser de diodo no clareamento dental in vitro.** São Paulo: 2003. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
14. HANKS, C. T.; FAT, J. C.; WATAHA, J. C.; CORCORAN, J. F. Cytotoxicity in dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials in vitro. **J. Dental Res.**, v.72, n. 5, p. 931 – 938, 1993.
15. HARTMANN, A.; AZÉRAD, J.; BOUCHER, Y. Environmental effects on laser Doppler pulpal blood-flow measurements in man, **Arch. Oral Biol.**, v. 41, n. 4, p. 333-339, 1996.
16. HEYERAAS, K.J.; KVINNSLAND, I. Tissue pressure and blood flow in pulpal inflammation. **Proc Finn Dent Soc.**, v. 88, n. 1, p. 393-401, 1992.
17. HEYERAAS, K.J.; KIM, S.; RAAB, W.H.; BYERS, M.R.; LIU, M. Effect of electrical tooth stimulation on blood flow, interstitial fluid pressure and substance P and CGRP-immunoreactive nerve fibers in the low compliant cat dental pulp. **Microvasc Res.**, v. 47, n. 3, p. 329-343, 1994.
18. HEYERAAS, K.J.; BERGGREEN, E. Interstitial fluid pressure in normal and inflamed pulp. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 10, n. 3, p. 328-336, 1999.
19. IKAWA, M.; KOMATSU, H.; IKAWA, K.; MAYANAGI, H.; SHIMAUCHI, H. Age-related changes in the human pulpal blood flow measured by laser Doppler flowmetry. **Dent. Traumatol.** v.19, p. 36-40, 2003.
20. KERDVONGBUNDIT, V.; SIRIAT, M.; SIRIKUSATHEAN A.; KASETSUWAN, J.; HASEGAWA, A. Blood flow in human periodontal status. **Odontology.**, v. 90, p. 52-56, 2002.
21. KERDVONGBUNDIT, V.; VONGSAVAN, N.; SOO-AMPON, S.; HASEGAWA, A. Microcirculation and micromorphology of healthy and inflamed gingiva. **Odontology.**, v. 91, n. 1, p. 19-25, 2003.
22. KIM, S.; Regulation on pulpal blood flow. **J. Dent. Res.**, v. 64, p. 590 – 596, 1985.
23. KIM, S.; DORSCHER-KIM, J. Hemodynamic regulation of the dental pulp in a low compliance environment. **J Endod.**, v. 15, n. 9, p. 404-408, 1989.
24. KIM, S.; Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. **J Endod.**, v.16, n. 2, p. 48-53, 1990.

25. KIM, S.; LIU, M.; SIMCHON S.; DORSCHER-KIM, J. Effects of selected inflammatory mediator on blood flow and vascular permeability in the dental pulp. ***Proc Finn Dent Soc.***, v. 88, n. 1, p. 387-392, 1992.
26. LASER DOPLER BLOOD FLOW ASSESSMENT. Desenvolvido por MOOR INSTRUMENTS. Disponível em: < <http://www.moor.co.uk/> >. Acesso em: jan. 2006.
27. LIZARELLI, R. F. Z.; MORIYAMA, L. T.; BAGNAO, V. S. A nonvital tooth bleaching technique whit laser and LED. ***J. Oral Laser Applications***, v. 2, p. 45 - 47, 2002.
28. LUNDY, F.T.; LINDEN, G.J. Neuropeptides and neurogenic mechanisms in oral and periodontal inflammation. ***Crit Rev Oral Biol Med.***, v. 15, n. 2, p. 82 - 98, 2004.
29. MACRI, R.T. ***Avaliação de variação de temperatura na câmara pulpar após a irradiação de diodo laser de alta potência de 830 nm em esmalte dental: estudo in vitro.*** São Paulo: 2002. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
30. MORSE, D. R. Age related changes in the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. ***Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.***, v. 72, p. 721-724, 1991.
31. NARHI, M.; JYVASJARVI, E.; VIRTANEN, A.; HUOPANIEMI, T.; NGASSAPA, D.; HIRVONEN, T. Role of intradental A- and C- type nerve fibers in dental pain mechanisms. ***Proc Finn Dent Soc.***, v. 88, n. 1, p. 507-516, 1992.
32. NOGUEIRA, G. E. C.; ZECELL, D. M.; EDUARDO, L. R. P.; VIEIRA JR., N. D.; BALDOCHI, S. L.; ROSSI, W. ***Desenvolvimento de um Sensor de Fluxo Sangüíneo via Técnica Laser Doppler.*** In: XVII ENC. NACIONAL DE FÍSICA DA MATERIA CONDENSADA, Florianopolis, p. 1-3, 2000.
33. NÚÑEZ, S. C. ***Efeito do laser de Hélio Neônio sobre a micirculação sangüínea durante a reparação tecidual. Estudo in vivo por meio de fluxometria laser doppler.*** São Paulo: 2002. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
34. NÚÑEZ, S. C.; NOGUEIRA, G. E. C.; RIBEIRO, M. S.; GARCEZ, A. S., LAGE-MARQUES, J. L. HE-NE laser effects on blood microcirculation during wound healing: A method of in vivo study through laser Doppler flowmetry. *Lasers in Surgery and Medicine*, v.35, p. 363 – 368, 2004.
35. ODOR, T. M.; WATSON, T. F.; PITT FORD, T. R.; MCDONALD, F. Pattern of transmission of laser light in teeth, ***Int. Endod J.*** v. 29, n. 4, p. 228-234, 1996a.

36. ODOR, T. M.; PITT FORD, T. R.; MCDONALD, F. Effect of probe design and bandwidth on laser Doppler readings from vital and root-filled teeth, **Med. Eng. Phys.**, v. 18, n. 5, p. 359-364, 1996b.
37. OKABE, E.; TODOKI, K.; ITO, H. Direct pharmacological action of vasoactive substances on pulpal blood flow: an analysis and critique. **J Endod.**, v. 15, n. 10, p. 473-477, 1989.
38. OLGART, L. Neural control of pulpal blood flow. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 7, n. 2, p. 159-171, 1996.
39. PELINO, J. E. P.; HAYPEK, P.; GOUW-SOARES, S.; TANJI, E.; BACHMAN, L.; EDUARDO, C. P. Avaliação da temperatura intrapulpal durante irradiação com lasers de diodo. **SBPqO. Águas de Lindóia, A033:** 74, 2001.
40. PELINO, J. E. P.; HAYPEK, P.; GOUW-SOARES, S. C.; BACHMANN, L.; ZECELL, D. M.; EDUARDO, C. P. Análise do comportamento térmico do laser de diodo no esmalte, dentina e cimento dental – estudo *in vitro*. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v.16, supl., p.15, res. H006, ago./set. 2002.
41. PERNOW B.: Substance P. **Pharmacol. Rev.**, v. 226, p. 547 – 549, 1983.
42. PIMENTA, F.J.; AS, A. R; GOMEZ, R.S. Lymphangiogenesis in human dental pulp **Int Endod J.**, v. 36, n. 12, p. 853-856, 2003.
43. RAMSAY, D. S.; ARTUN, J.; MARTINEN, S. S. Reliability of pulpal blood flow measurements utilizing laser Doppler flowmetry, **J. Dental Res.**, v. 70, n. 11, p. 1427-1430, 1991.
44. ROBERTSON, W. D.; MELFI, R. C. Pulpal response to vital bleaching procedures. **J. Endo**, v. 6, p. 645 – 649, 1980.
45. RODD, H. D.; BOISSONADE, F. M. Vascular status in human primary and permanent teeth in health and disease. **Euro J Oral Sci.**, v. 113, p.128-134, 2005.
46. SALLES; A. W. R. **Estudo da microcirculação na polpa dentária durante a movimentação ortodôntica via técnica laser doppler.** São Paulo: 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
47. SASANO, T.; SHOJI, N.; KURIWADA-SATOH, S.; IIBUK, M.; IZUMI, H.; KARITA, K. Dependence of pulpal blood-flow responses on baseline blood-flow in the cat. **Archives of Oral Biol**, v. 47, p. 131-137, 2002.
48. SOO-AMPON, S; VONGSAVAN, N; SOO-AMPON, M; CHUCKPAIWONG, S; MATTHEWS, B. The sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from human teeth. **Arch. Oral Biol.**, v. 48, n. 5, p. 353-360, 2003.

49. THITINANATHAPAN, W.; SATAMANONT, P.; VONGSAVAN, N. In vitro penetration of the pulp chamber by three brands of carbamide peroxide. **J Esthet Dent.**, v.11, n.5, p.259-64, 1999.
50. TONDER K. J. Vascular reactions on the dental pulp during inflammation. **Acta Odontol Scand.** v. 41, p. 247-256, 1983.
51. VANDESKA-RADUNOVIC, V.; KVINNLAND, S.; KVINNLAND, I. H. Effect of experimental tooth movement on nerve fibers immunoreactive to calcitonin gene-related peptide, protein gene product 9.5, and blood vessels density and distribution in rats. **Euro J Orthod.**, v. 19, p.517-529, 1997.
52. VANDEVSKA-RADUNOVIC, V. Neural modulation of inflammatory reactions in dental tissues incident to orthodontic tooth movement. **Eur J Orthod.**, v. 21, n. 3, p. 231-247, 1999.
53. VONGSAVAN, N.; MATTHEWS, B. The vascularity of dental pulp in cats. **J. Dent. Res.**, v. 71, p. 1913 – 1915,1992.
54. WETTER, N. U.; BARROSO, M. C. S.; PELINO, J. E. P. Dental bleaching efficacy with diode laser and LED irradiation: an in vitro study. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 35, p. 254 -258, 2004a
55. WETTER, N. U.; WALVERDE, D. A.; KATO, I. T.; EDUARDO, C. P. E. Bleaching efficacy of whitening agents activated by xenon lamp and 960-nm diode radiation. **Photomedicine and Laser Surgery**, v.22, p. 489 – 493, 2004b.
56. WHITE, J. M.; PELINO, J. E. P.; RODRIGUES, O. R.; ZWHALEN, B. J.; WU, E. H. Surface and pulpal temperature comparison of tooth whitening using lasers and curing ligts. **In Lasers in Dentistry VI**, v. 3910, p. 95 – 101, 2000.
57. ZACH, L.; COHEN, G. Pulp response to externally applied heat. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 19, p. 515 – 530,1965.