



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE FIBROBLASTOS SOBRE
SUPERFÍCIES APICECTOMIZADAS PELO *LASER* DE Er:YAG
E TRATADAS OU NÃO COM O *LASER* DE Nd:YAG**

ARCELINO DE MIRANDA LOBATO NETO

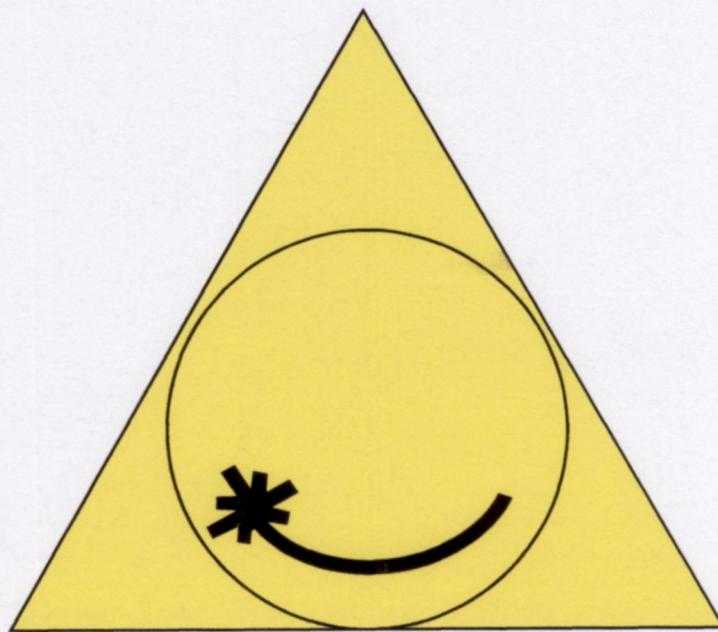
Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau de
Mestre Profissional na área de Lasers em
Odontologia.

Orientadora:
Profa. Dra. Sheila C. Gouw Soares

Co-orientadora:
Profa. Dra. Denise Maria Zzell

**São Paulo
2005**





**MESTRADO PROFISSIONALIZANTE DE LASER EM
ODONTOLOGIA**



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE FIBROBLASTOS SOBRE
SUPERFÍCIES APICETOMIZADAS PELO *LASER* DE Er:YAG E
TRATADAS OU NÃO COM O *LASER* DE Nd:YAG**

ARCELINO DE MIRANDA LOBATO NETO

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

Orientadora:

Profa. Dra. Sheila C Gouw

Co-orientadora:

Profa. Dra. Denise Maria Zezell

**São Paulo
2005**





**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE FIBROBLASTOS SOBRE
SUPERFÍCIES APICECTOMIZADAS PELO *LASER* DE Er:YAG E
TRATADAS OU NÃO COM O *LASER* DE Nd:YAG**

ARCELINO DE MIRANDA LOBATO NETO

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

**Orientadora:
Profa. Dra. Sheila C Gouw Soares
Co-orientadora:
Profa. Dra. Denise Maria Zezell**

**São Paulo
2005**



Há duas formas para viver sua vida:

Uma é acreditar que não existe milagre.

A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.

Albert Einstein - 1879- 1955

DEDICATÓRIA

à Jesus;

tentando seguir seus passos,

trilhamos o caminho da Fé, Esperança e Paz,

essenciais à excelência da vida.

aos meus amados pais Eladio e Vitorina (in memoriam),

que tornearam meus caminhos e proporcionaram-me

um alicerce sólido, baseado em seriedade, trabalho

e acima de tudo humildade

à minha esposa, amiga e companheira Ângela,

pela patente cumplicidade estampada no sereno

e encorajador semblante de amor, carinho e compreensão.

aos meus preciosos filhos Rodolfo e Rodrigo,

catalisadores de meu humano e profissional

desenvolvimento, por seus sublimes carinhos.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profa. Dra. Sheila C. Gouw Soares, por sua paciência, competência, habilidade, dedicação e disponibilidade na orientação deste trabalho e acima de tudo por sua amizade.

À Prof. Dra. Denise Maria Zezzel, co-orientadora deste trabalho, por sua grande contribuição na elaboração do mesmo; com sua aptidão e competência vencemos as "barreiras" da física.

À Prof. Dra. Márcia Martins Marques que me conduziu ao "mundo celular" e não mediu esforços nos propósitos destinados

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Hildeberto Francisco Pesce "Bebeto" (in memoriam)

Ao Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, pela formação ética, acadêmica e profissional do *laser* na odontologia.

Ao Prof. Dr. Nilson Vieira Júnior

Ao Prof. Gessé Eduardo Calvo Nogueira

À todos os professores do IPEN e do LELO-USP

Aos estimados colegas do Mestrado

Ao Prof. Edyr de Brito Aives

À Sra. Maria Aparecida Barbosa

Ao Sr. Fernando José Moreira

Ao Sr. Wilson R. C. Azevedo

Ao Departamento de Patologia da FOUSP

À Gladys, à Elaine, à Lili e ao Haroldo

e aqueles que de uma forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE FIBROBLASTOS SOBRE SUPERFÍCIES APICECTOMIZADAS PELO LASER DE Er:YAG E TRATADAS OU NÃO COM O LASER DE Nd:YAG

Arcelino de Miranda Lobato Neto

RESUMO

Diante do insucesso do tratamento endodôntico, esgotados todos os recursos, há possibilidade da realização da cirurgia pararendodôntica, objetivando a manutenção do órgão dental. Este estudo teve como objetivo, avaliar, em dentes humanos extraídos, a adesão de fibroblastos do ligamento periodontal humano sobre superfícies apicectomizadas com diferentes métodos. Ao todo foram analisadas 12 amostras, sendo 3 para morfologia e 9 para adesão, divididas em três grupos. No grupo I as raízes foram apicetomizadas com ponta zekrya, em alta rotação; o grupo II utilizou-se o laser de Er:YAG no modo não contato utilizando-se os seguintes parâmetros: 140 mJ de energia/pulso, 10 Hz de taxa de repetição e densidade energia de 45 J/cm². As amostras do grupo III sofreram os mesmo procedimento do grupo II e em seguida foram tratadas com o laser de Nd:YAG, com a fibra óptica de 300 μm em contato, utilizando energia de 100mJ, taxa de repetição de 15 Hz, potência média de 1,5 W e densidade de energia de 125 J/cm². Para a análise de adesão, foi utilizado a linhagem celular FL3 estabelecida a partir de ligamento periodontal humano. Foram plaqueadas as mesmas quantidades de células sobre todas as amostras contendo 2 × 10³ por fragmento. Cada amostra foi dividida em quatro quadrantes (Q1, Q2, Q3 e Q4) e as eletronicografias foram obtidas no centro de cada quadrante. Foram tomadas doze imagens de cada grupo e sobreposta uma grade quadriculada (48 quadrados completos) para orientar a contagem das células aderidas sobre as superfícies. As células individualizadas foram contadas uma a uma. As imagens em MEV mostraram que houve adesão de fibroblastos sobre as amostras de todos os grupos. A análise estatística mostrou adesão de fibroblastos significativamente maior no grupo II quando comparado com o grupo I, entretanto não mostrou diferença estatística entre o grupo II e III.

EVALUATION OF FIBROBLASTS CELLS ADHESION ON DENTINE ROOT CANAL SURFACES AFTER APICOECTOMY BY Er:YAG LASER TREATED OR NOT BY Nd:YAG LASER

Arcelino de Miranda Lobato Neto

ABSTRACT

In face of root canal therapy failures with all resources exhausted, there is a possibility of a complementary root canal treatment procedure with the objective of the maintenance of the dental organ. The purpose of this study was to evaluate in extracted human teeth the fibroblasts cells adhesion of human periodontal ligament on surfaces after apicoectomy by different methods. Twelve samples were analyzed, 3 for morphology and 9 for adhesion, divided in three groups. In group I the samples were cut by a high speed Zekrya bur, in the group II the Er:YAG laser was used in a non contact mode using the following parameters: 140 mJ of energy/pulse, 10 Hz of repetition rate and energy density of 45 J/cm². The samples of the group III sustained the same procedure of the group II and afterwards they were treated with the Nd:YAG laser with the optic fiber of 300 μ m in contact mode with setting power of 100 mJ, 15 Hz and 1.5 W with an energy density of 125 J/cm². For the adhesion cells experiments the FL3 cells lineage was used determined from human periodontal ligament. The same amount of cells were grouped on all of the samples in a concentration of 2X10³ cells for fragment. Each sample was divided in four quadrants (Q1, Q2, Q3 and Q4) and the microelectrongraphs were obtained in the center of each quadrant. Twelve microelectrongraphs were obtained for each group and a squared graiting was placed on each to guide the counting of the cells adhered on the surfaces. The SEM images showed fibroblasts cells adhesion on the surfaces of all the experimental groups. The statistical analysis showed adhesion of the fibroblast cells significantly higher on the samples of the group II when compared with of the group I, however, there were no difference between the samples of the group II and III.

SUMÁRIO

Página

	RESUMO	
	ABSTRACT	
	LISTA DE FIGURAS	
	LISTA DE TABELAS	
	LISTA DE GRÁFICOS	
	LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	
	LISTA DE NOMENCLATURAS	
1-	INTRODUÇÃO	01
2-	OBJETIVOS	05
3-	REVISÃO DA LITERATURA	07
	3.1- Cirurgia Parendodôntica	08
	3.2- Utilização dos lasers de alta potência na apicectomia	12
	3.3- Estudos comparativos da adesão de fibroblastos sobre superfícies radiculares	23
4-	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
	4.1- MATERIAIS	29
	4.1.a- Equipamento de laser de Er:YAG de alta potência.....	29
	4.1.b- Equipamento de laser de Nd:YAG de alta potência.....	30
	4.1.c- Linhagem celular	31
	4.1.d- Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	31
	4.2- MÉTODOS	32
	4.2.a- Grupos Experimentais	32
	4.2.b- Cultura de células-	33
	4.2.c- Preparo das amostras para análise em MEV.....	35
	4.2.d-Análise de adesão celular	36
5-	RESULTADOS	38
6-	DISCUSSÃO	54
7-	CONCLUSÕES	63
8-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

LISTA DE FIGURAS

	Página
Fig. 4.1- Equipamento de <i>laser</i> de Er:YAG (Kavo Key 3).....	30
Fig. 4.2- Equipamento de <i>laser</i> de Nd:YAG.	31
Fig. 4.3- Amostras a serem submetidas a adesão celular: A) Amostras do Grupo I; B) Amostras do Grupo II; C) Amostras do Grupo III.	37
Fig. 4.4- A) Placa de Petry com fibroblastos linhagem celular FL3; B) Metalização das amostras submetidas a adesão celular.; C) Microscópio Eletrônico de Varredura LEO 430i.	37
Fig. 5.1- Eletronmicrografias de varredura da morfologia das superfícies dos fragmentos apicetomizadas com fresa zecrya endo.	46
Fig. 5.2- Eletronmicrografias de varredura da morfologia das superfícies dos fragmentos apicectomizados com <i>laser</i> de Er:YAG.	47
Fig.5.3- Eletronmicrografias de MEV da morfologia das superfícies dos fragmentos apicetomizadas com <i>laser</i> de Er:YAG e tratada com <i>laser</i> de Nd:YAG.	48
Fig. 5.4 – Eletronmicrografias de varredura ilustrativas da metodologia da contagem celular.	49
Fig. 5.5- Eletronmicrografias da superfície dentinária de corte evidenciando fibroblastos (linhagem FL3) aderidos sobre os fragmentos experimentais.	51

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela. 5.1- Tabela com o número de células aderidas em cada quadrante das três amostras dos grupos I, II e III.	43
Tabela 5.2: Valores médios de células de cada uma das três amostras	44

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 5.1- Representação gráfica da média do número de células aderidas sobre a superfície de cada um dos fragmentos.	53
Gráfico 5.2- Representação gráfica da média do número de células aderidas sobre a superfície de cada grupo.	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Er: YAG.....	Erbium: Yttrium, Alumínio, Garnet
Nd: YAG.....	Neodímium: Yttrium, Alumínio, Garnet
Ga-As-Al.....	Arseneto de Gálio e Alumínio
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
LELO	Laboratório Experimental de Laser em Odontologia
FOUSP	Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
FDA	Food and Drug Administration
pps.....	Pulsos por segundo
Hz.....	Hertz
J.....	Joule.
J/cm ²	Joule por centímetro quadrado
mm.....	Millímetro
mJ.....	Millijoule
µm.....	Micrômetro
µs.....	Microsegundo
µl.....	Microlitros
nm.....	Nanômetro
W.....	Watt
λ.....	Lâmbda; comprimento de onda
DME	Dulbecco's Modified Eagle = Eagle modificado por Dulbecco

PBSA.....Periodic Acid Schiff – Coloração com o acido periódico e reativo de Schiff

LISTA DE NOMENCLATURAS

Comprimento de onda – distância entre dois pontos correspondentes em uma onda periódica.

Densidade de Energia - ou fluência, refere-se à quantidade de energia laser entregue a uma dada superfície.

Emissão estimulada – é o processo que ocorre quando um elétron cai para um nível energético mais baixo e é estimulado por um outro fóton a emitir um fóton adicional. Tipicamente, o fóton que está promovendo a estimulação foi emitido a partir de um elétron que acabou de realizar a mesma transição.

Fóton - um quantum de energia radiante.

Hertz - unidade de frequência em ciclos por segundo.

Joule - unidade de energia.

Largura de pulso – Período ou intervalo de tempo que a energia do laser pulsado é emitida em cada pulso.

Laser – acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Luz Amplificada por Emissão Estimulada de Radiação). A emissão da luz ocorre a partir da oscilação natural dos átomos entre os níveis de energia para gerando radiação eletromagnética coerente nas regiões do ultravioleta, visível ou infravermelho do espectro eletromagnético.

Micrômetro - milionésima parte do metro, utilizado para medir o comprimento de onda. Sua ordem de grandeza é de 10^{-6} m.

Modo de emissão - uma condição estável de oscilação de um laser. Um laser pode operar em um ou mais modos: contínuo, pulsado e chaveado.

Nanômetro - bilionésima parte de um metro. Utilizado para medir o comprimento de onda. Sua ordem de grandeza é de 10^{-9} m.

Tempo de exposição - o período total que o tecido é exposto à energia laser.

Watt - unidade de potência. Um Watt é igual a um joule por segundo(J/s)

1- INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico, desde que realizado adequadamente, com todo o rigor da técnica, permeia a níveis de sucesso de 85% a 96% dos casos (Sjogren *et al.*, 1990). Os retratamentos, entretanto, tem seu índice de sucesso reduzido a níveis de 65% a 80% dependendo das dificuldades encontradas que levaram a necessidade do mesmo; como a presença de instrumentos fraturados, extravasamento apical de guta percha, desvios de canal, zip apical, perfurações, pinos intra-radulares com canais parcialmente tratados em dente suporte de próteses fixa e lesões apicais que não regrediram no pós-tratamento.

Contudo, diante do insucesso do tratamento endodôntico, esgotados todos os recursos, há necessidade da realização da cirurgia parendodôntica, objetivando a manutenção do órgão dental. O procedimento cirúrgico, quando indicado e realizado de forma precisa, apresenta elevado índice de sucesso (August-1996). A cirurgia parendodôntica consiste inicialmente na obtenção do retalho a partir da incisão da mucosa e osteotomia da cortical óssea; a partir da localização da loja cirúrgica, de acordo com o grau de complexidade, pode-se realizar desde a curetagem do tecido patológico da região apical até a retroinstrumentação seguida de retro-obturação. Contudo, a realização da apicectomia com obturação retrógrada é o procedimento de eleição.

A apicectomia tradicional seguida da obturação retrógrada consiste na realização da ressecção apical de aproximadamente 3 milímetros do ápice, com brocas tronco-cônicas de baixa rotação em motor elétrico para rotatórios ou de brocas zekrya de alta rotação, e o preparo de uma cavidade nicho na

porção apical remanescente, removendo aproximadamente 2 mm da obturação do canal, por meio de brocas esféricas de alta rotação ou com pontas de ultra-som; seguida do selamento desta cavidade com material biocompatível.

O *laser* de Er:YAG, emitido no comprimento de onda de 2940 nanômetros, tem grande afinidade pela água e hidroxiapatita, principais componentes da dentina e do esmalte, apresentando a capacidade de remover dentina e esmalte, pelo processo de ablação mecânica por microexplosões, sem provocar danos térmicos significativos aos tecidos (Hibst e Keller, 1989; Keller e Hibst, 1989; Armengol *et al.*, 2000), promovendo o corte do ápice e a remoção do smear layer, além da desinfecção dos tecidos adjacentes (Gouw-Soares *et al.*, 1999).

O *laser* de Nd:YAG, emitido no comprimento de onda de 1640 nanômetros, tem sido utilizado como um excelente coadjuvante no tratamento endodôntico, promovendo significativa redução microbiana (GUTKNECHT *et al.*, 1996) e o selamento superficial dos túbulos dentinários em superfícies apicectomizadas (STABHOLZ *et al.*, 1992).

A literatura mostra que os *lasers* de Er:YAG e Nd:YAG têm sido utilizados com sucesso nas cirurgias apicais (Komori *et al.*, 1997; Marques *et al.*, 1995; Gouw-Soares *et al.*, 1996). Por outro lado cada um dos comprimentos de onda promove uma determinada alteração na superfície dentinária de corte; os *lasers* de Er:YAG produzem a abertura dos túbulos dentinários enquanto que os *lasers* de Nd:YAG deixam a superfície menos

permeável promovendo a obliteração de grande parte dos túbulos, por meio da fusão e recristalização da estrutura dentinária.

Diante destas evidências, este trabalho têm como objetivo avaliar a capacidade de adesão dos fibroblastos do ligamento periodontal humano sobre superfícies apicectomizadas com o *laser* de Er:YAG e tratados ou não com o *laser* de Nd:YAG, comparando com superfícies apicais de corte realizados com pontas zekrya endo montadas em alta rotação.

2- OBJETIVO

2- OBJETIVO

Analisar a adesão de fibroblastos do ligamento periodontal humano sobre a superfície dentinária após apicectomia com *laser* de Er:YAG tratados ou não com *laser* de Nd:YAG.

3- Revisão da Literatura

3- Revisão da Literatura

3.1- Cirurgia Parendodôntica

A cirurgiaarendodôntica é considerada uma excelente escolha para a resolução de problemas não solucionados pelos tratamentos convencionais dos canais radiculares mas não destinasse à substituição de um tratamento endodôntico deficiente nem é considerado uma alternativa do retratamento (Leal e Bampa, 1998).

O primeiro relato de cirurgiaarendodôntica vem do século V D.C., Aetius, um médico-dentista grego, drenou um abscesso apical agudo com um pequeno bisturi (Baumgartner e Falkler-júnior 1991).

Em 1843 Desirabode fez a primeira descrição da remoção da porção apical da raiz (apud Taylor e Bump, 1984).

Na América do Norte a Cirurgia Periapical foi introduzida por Farrar em 1884 e consistia na remoção do ápice contaminado ou danificado associado a uma adequada retrobturação, formando assim uma barreira entre o sistema de canais e os tecidos periapicais. (apud Rud & Andréäsen, 1972).

São indicações da cirurgia, *patologias* perirradiculares persistentes após o tratamento e / ou retratamento endodôntico, obstruções que impedem o acesso endodôntico como pinos intra-radulares, instrumentos fraturados, obturações com cones de prata, fraturas transversais do terço apical da raiz com ou sem patologias periapicais, reabsorções externas, interna comunicante e calcificações radiculares, impossibilidade de tratamento endodôntico adequado devido a grandes dilacerações radiculares, desvios e

perfurações do canal radicular, manutenção da sintomatologia dolorosa e presença de exsudado persistente (Moura e Cipelli, 1992; Moura *et al.*, 1995; Sayago *et al.*, 1999).

A existência de instrumentos endodônticos fraturados, principalmente no terço apical, dilacerações apicais, perfurações radiculares, forames acessórios, reabsorções crateriformes cementárias e dentinárias na porção apical, lesões em capuz e cistos radiculares são apontados como indicações de apicetomia radicular (Bevilacqua, 1962).

Tronstad *et al.* (1990) investigando através de microscopia eletrônica de varredura as superfícies apicais de raízes extraídas durante cirurgias parendodônticas, de dentes refratários ao tratamento endodôntico, conseguiram observar placas bacterianas nas irregularidades da superfície radicular.

Molven *et al.* (1991) usando a microscopia eletrônica de varredura, analisaram 6 dentes permanentes extraídos com polpas necrosadas e lesões periapicais discerníveis radiograficamente e puderam constatar a presença de microrganismos, nos 2mm apicais do canal radicular, em 83,3% dos casos.

Abou-Rass e Bogen (1998) descreveram a localização e o tipo de microrganismos presentes nas lesões perirradiculares fechadas, isto é, clinicamente isoladas do meio bucal, associadas aos casos refratários à terapia endodôntica e nas calcificações pulpares. Avaliaram 70 pacientes indicados para cirurgia parendodôntica. Os métodos de cultura foram realizados na loja cirúrgica, no corpo da lesão e no ápice radicular. Os resultados mostraram que dentes que apresentavam canais calcificados e

lesões refratárias ao tratamento endodôntico, continham bactérias, e que, frente à impossibilidade de erradicar os microrganismos durante o tratamento endodôntico, propicia a colonização bacteriana no terço apical da raiz e nos tecidos perirradiculares.

Em 1965, Nicholls relatou que a apicectomia permite avaliar a qualidade do selamento apical e evidencia ramificações apicais quando a ressecção apical era realizada entre 2 a 3mm do ápice.

Diferentes tipos de fresas são utilizadas para a realização da apicectomia. Puricelli (1992), recomenda as brocas 700 (tronco-cônica) ou fresas cirúrgicas em baixa rotação.

Gutmann e Pitt Ford (1993) mencionam que nenhum estudo relatou a vantagem de se utilizar uma broca específica. No entanto, a experiência clínica evidencia que a obtenção de uma superfície plana e lisa após apicectomia favorece a reparação tecidual apical. Constataram que a presença da camada residual de magma, por conter debris e microrganismos sobre a superfície ressectada, pode servir como irritante para os tecidos periapicais, retardando a reparação apical.

Morais (1997), analisando a lisura da superfície de corte de raízes e o deslocamento do material de obturação em apicectomias realizadas *in vitro*, fez uso de instrumentos rotatórios associados ou não entre si e em diferentes velocidades. Os resultados em MEV demonstraram que a broca Zekrya produziu superfície de corte mais regular e menor deslocamento do material obturador, com diferenças estatisticamente significativas. O corte com a ponta diamantada em alta rotação apresentou a superfície mais irregular, e a associação das brocas de número 700 com o instrumento periodontal 31-32,

provocou o maior deslocamento da obturação, também com diferenças significativas.

Bramante e Berbert (2000) analisando o corte da porção apical com brocas tronco-cônicas nº. 699, nº. 700, nº. 701 e nº. 702, em baixa rotação, sugerem que o diâmetro da broca a ser utilizada deveria estar na dependência do volume da raiz do dente a ser apicectomizado. Apontam que a broca de Batt (tronco-cônica de 29mm, com ponta inativa), deveria ser a de escolha quando houvesse o risco de se lesar outras raízes durante o corte.

Na técnica tradicional, a ressecção do ápice radicular é realizada com instrumento cortante rotatório "carbide" ou "diamantado" e, o preparo cavitário para receber a obturação retrógrada é realizado com instrumento cortante rotatório esférico ou cone-invertido, situações nas quais há produção de "spray" de aerossol que espalha material contaminado e dificulta, assim, a manutenção da cadeia asséptica (Camargo *et al.*, em 1999)

Morais e Bernardinei (2001) analisaram *in vitro*, por meio da MEV a ação de diferentes fresas e instrumentos no corte do ápice radicular e acabamento da superfície radicular apicectomizada. Foram avaliadas as brocas nº. 700 para baixa rotação, a ponta diamantada nº. 2082 para alta rotação, a broca Zekrya para alta rotação, a broca nº. 700 para baixa rotação seguida da utilização de ponta Shofu para alta rotação, a broca nº. 700 para baixa rotação seguida da utilização de lima apical modificada e a broca nº. 700 para baixa rotação seguida da utilização de broca de 12 lâminas para alta rotação. Os resultados mostraram que a broca Zekrya foi a que proporcionou superfícies mais regulares e lisas.

Pashley *et al.* (1981) evidenciaram que a remoção da camada residual de magma resultante da ressecção da porção apical radicular e do retropreparo é imperiosa, por estar agregada à matéria orgânica, se tornando, portanto, um agente irritante quando presente.

Tronstad *et al.*, em 1990, realizaram um estudo para avaliar, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), a superfície do ápice removido durante a cirurgia endodôntica. Depois da apicectomia os ápices foram armazenados e preparados para MEV. Os resultados mostraram uma superfície apical coberta com tecido mole, exceto no ápice das raízes, onde existia uma capa contínua, lisa e estruturada, aparentemente adjacente ao forame apical. Em maior aumento observou-se uma variedade de bactérias e também placa bacteriana, com predomínio de cocos e bastonetes.

3.2- Utilização dos *lasers* de alta potência na apicectomia

A partir da década de 90 foi difundido o uso dos *lasers* em cirurgias pararendodônticas. A radiação laser tem sido utilizada para a ressecção radicular apical, bem como também para o tratamento da porção remanescente.

LASER é um acrônimo na língua inglesa de *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*.

O laser é uma forma de energia eletromagnética que caminha com velocidade constante. Sua unidade básica é conhecida como fóton ou partícula de luz. A onda de fótons apresenta duas propriedades básicas, a amplitude e o seu comprimento, que representa a distância entre dois picos. O efeito da irradiação laser sobre o tecido depende basicamente das

características de absorção do tecido frente a um determinado comprimento de onda.

Quando átomos ou moléculas são excitados por uma fonte de energia, estes ocupam estados excitados. Esses elétrons emitem então a energia armazenada em forma de fótons, dada a existência de inversão de população, que por sua vez estimulam outros átomos excitados a liberar novos fótons. Obtém-se assim a amplificação da luz, produzindo a luz intensa, direcionada e monocromática do feixe laser.

As características da radiação laser são, monocromaticidade por emitirem em um mesmo comprimento de onda; coerência, onde as ondas de luz mantêm uma relação fixa de fase no espaço e no tempo, isto é, os raios vibram em fase e se propagam na mesma direção; pouca divergência, ou seja, a luz laser pode ser emitida através de grandes distâncias e ainda manter-se num feixe concentrado; além de apresentarem variabilidade de potência.

Os equipamentos de laser são classificados em função do meio físico em que operam, sólido, gasoso, líquido e semicondutores, podendo operar em modo contínuo ou pulsado e apresentando sempre os mesmos três componentes básicos, óptico, mecânico e elétrico. Os componentes ópticos estão relacionados com a obtenção de fótons e incluem a fonte de energia, cavidade óptica, meio ativo, refletores de fótons, lentes e filtros. O meio ativo do laser o elemento que é estimulado a emitir os fótons. Nos componentes mecânicos incluem-se o console, painéis de controle, os sistemas transmissores (fibras ópticas) e os mecanismos de refrigeração, sendo que

os componentes elétricos consistem das fontes de potência e mecanismo ativador.

O laser de rubi foi o primeiro a ser empregado na Odontologia. Os trabalhos precursores com laser de rubi, na Odontologia, tinham como finalidade pesquisar a utilização dessa nova ferramenta no preparo do esmaite e da dentina (Stern & Sognaes, 1964; Goldman *et al.*, 1965). Porém, as densidades de energia, geradas pelo laser de rubi, necessárias para promover a remoção da estrutura dental, promoviam um aumento da temperatura resultando em trincas, fissuras, carbonização nos tecidos duros e alterações irreversíveis à polpa.

O primeiro relato do uso do laser em ápices radiculares (*in vitro*) teve o objetivo de avaliar a capacidade de selamento do ápice radicular com laser de CO₂ ou de Nd:YAG, Weichman *et al.*, (1972), conduziram pesquisa, na qual a constrição apical foi irradiada internamente e como resultado, os autores relataram que à medida que houve aumento da potência, a dentina fundia e recristalizava, sendo que o fato era similar para os dois lasers.

Na década de 80 iniciou-se o uso do laser em cirurgias periapicais (*in vivo*), quando Miserendino e ILL (1988) se valeram do laser de CO₂ na realização de uma apicectomia de um dente incisivo central superior direito. Depois de decorridas 24 horas do ato cirúrgico o paciente não apresentou sintomatologia dolorosa, sendo que uma semana após, havia reparação parcial dos tecidos moles.

Ainda na década de 80, Hibst e Keller (1989); Keller e Hibst (1989) realizaram os primeiros estudos com o laser de érbio em tecidos duros dentais, se mostrando este, um laser promissor, desde que usado com

parâmetros adequados de potência, densidade de energia e frequência. Demonstraram também que o laser de Er:YAG, de $2,94 \mu\text{m}$, é altamente absorvido pelo esmalte e dentina, podendo em condições adequadas, promover o processo de ablação, removendo tecido dental duro sem causar danos térmicos aos tecidos adjacentes.

O laser de Er:YAG, pelo processo de ablação mecânica por microexplosões, promove remoção de dentina e esmalte sem efeitos térmicos significantes (Hibst e Keller, 1989; Keller e Hibst, 1989; Armengol *et al.*, 2000).

STABHOLZ *et al.*, em 1992, avaliaram os efeitos do laser de Nd:YAG na porção dental remanescente pós-apicectomia e pré-retrobturação, usando microscópio eletrônico de varredura. O laser Nd:YAG causou fusão da superfície dentinária apical, apresentando ressolidificação e recristalização.

Paghdiwala (1993) realizou a apicectomia em raízes obturadas de dentes humanos extraídos com o laser pulsado de Er:YAG com comprimento de onda de $2,94 \mu\text{m}$, largura de pulso de $250 \mu\text{m}$, utilizando 50 a 90 mJ de energia e 6 Hz de frequência. Ao MEV, a superfície dentinária de corte apresentou-se limpa, sem camada residual de magma, sendo os melhores resultados observados com energia de 70 mJ. Observou também a presença de bolhas na guta-percha e solução de continuidade na interface desta com as paredes do canal, provavelmente devido ao efeito térmico da irradiação.

Os efeitos da irradiação do laser de Nd:YAG sobre a permeabilidade marginal apical após o corte de sobreobturações endodônticas, quando comparado com o método tradicional que utiliza brocas Zekrya de alta

rotação foram observadas por Lage-Marques *et al.* (1995b). Resultados da penetração do corante observados à luz da microscopia óptica e MEV indicaram que os espécimes tratados com laser de Nd:YAG apresentaram índices de penetração do corante significativamente menores. Análises da MEV demonstraram que a irradiação alterou a morfologia do ápice radicular e da guta-percha, indicando fusão e ressoidificação da área irradiada.

A permeabilidade e a alteração morfológica da superfície dentinária de raízes apicectomizadas a 3 mm da porção apical, em dentes tratados endodonticamente, foram avaliadas por Gouw-Soares *et al.* (1996). Neste estudo, empregou-se num grupo cortes com o laser pulsado de Er:YAG, utilizando parâmetros de 250 mJ, 6 Hz e densidade de energia de $35,31 \text{ J/cm}^2$, em outro, com o mesmo laser, porém com parâmetros de 400mJ, 6Hz e $56,50 \text{ J/cm}^2$ de densidade de energia, e por último, como grupo controle, as amostras foram seccionadas com ponta montada cilíndrica em alta rotação. O exame das amostras irradiadas mostrou ao MEV superfícies irregulares, homogêneas, sem camada residual de magma, não apresentando trincas e nem fusão da estrutura dentinária, com exposição dos túbulos dentinários.

Gouw-Soares *et al.*, em 1999, avaliaram "in vitro" a alteração morfológica da dentina após apicectomia com Er:YAG e seguida da irradiação com Nd:YAG. Trinta dentes humanos foram selecionados e, após tratamento endodôntico, foram divididos em 3 grupos: G1 - apicectomia com Er:YAG, retrobturação com amálgama; G2 - apicectomia com Er:YAG, retrobturação com amálgama e irradiação de Nd:YAG; G3 (controle) - apicectomia com Er:YAG sem retrobturação. Os parâmetros utilizados para o laser de Er:YAG foram 450mJ e 4Hz e, para o laser de Nd:YAG, 100mJ,

15Hz e 1,5W. A MEV mostrou que após a ressecção com Er:YAG a superfície encontrou-se limpa, sem lama dentinária e com os túbulos abertos; após aplicação do laser de Nd:YAG observou-se fusão e recristalização, sem fendas e rachaduras. A análise estatística mostrou maior penetração do corante azul de metileno no grupo 3. O grupo 2 infiltrou menos que o grupo 1, porém sem diferença estatisticamente significativa entre ambos. Os autores concluíram que nas condições propostas pelo trabalho, a associação do laser de Er:YAG e Nd:YAG pode ser considerada uma alternativa clínica.

Liu *et al.*, em 1997, avaliando a profundidade do selamento dos túbulos dentinários obtidos através da irradiação do laser de Nd:YAG em dentes humanos, observaram um selamento de aproximadamente $4\mu\text{m}$ no centro e $3\mu\text{m}$ nas margens. Analisaram também, através da MEV, modificações na superfície dentinária, apresentando fusão da dentina e fechamento dos túbulos sem formação de fendas.

Komori *et al.* (1997a) estudando alterações morfológicas produzidas na superfície dentinária de dentes extraídos, submetidos a apicectomia com o laser de Er:YAG, 350 mJ de energia e 6Hz de taxa de repetição e do laser de Ho:YAG com $2,10\mu\text{m}$ de comprimento de onda, com 1,0 J e 10 Hz de taxa de repetição, ambos irradiando com refrigeração à água, quando comparados com as alterações produzidas pela alta rotação e com a irradiação com o laser contínuo de CO_2 . À análise ao microscópio óptico e MEV revelaram que o laser de Er:YAG produziu superfícies lisas, limpas, sem sinais de danos térmicos, tais como carbonização ou fraturas. O laser de Ho:YAG produziu superfícies irregulares, sem carbonização, mas com sinais

de alterações cromáticas e fraturas na superfície intercaladas com áreas de fusão de dentina. O laser de CO₂ produziu alterações cromáticas profundas na dentina mostrando a superfície completamente carbonizada, provocando a ocorrência de interfaces entre a guta-percha e as paredes do canal radicular. Já a ação mecânica da ponta montada, em alta rotação, produziu superfície dentinária ligeiramente irregular, sem carbonização ou fraturas, presença de camada residual de magma, sem, contudo, deslocar a guta-percha.

Analisando *in vitro* a influência da modificação da estrutura dentinária sobre a permeabilidade da superfície, frente ao corante azul de metileno, de apicectomias realizadas com laser de Er:YAG e posterior tratamento da superfície dentinária ressectada, com laser de Nd:YAG, Gouw-Soares *et al.* em 1999 mostraram na análise da infiltração marginal e da superfície dentinária, uma maior infiltração nas amostras que foram apenas cortadas com o laser Er:YAG, sendo que as tratadas com o laser de Nd:YAG, após apicectomia, apresentavam menor infiltração. Na análise em MEV as micrografias das superfícies amputadas com o laser de Er:YAG evidenciaram-se limpas, sem lama dentinária, com exposição dos túbulos dentinários, apresentando-se mais permeáveis em comparação às que foram tratadas com o laser de Nd:YAG, que mostraram áreas de fusão e ressolidificação da dentina com aspecto mais liso e polido.

Gouw-Soares em 2001 analisou a permeabilidade superficial e marginal da dentina radicular após a apicectomia e retroobturação com IRM, seguido de tratamento do remanescente apical com os laser de CO₂, 9,6 μ m, ou laser de Er:YAG, 2940nm. O experimento foi realizado em ápices seccionados com brocas para alta rotação, em ápices apicectomizados da

maneira anterior, porém com a superfície tratada com o laser de CO₂, e com a superfície tratada com o laser de Er:YAG, apicectomizados e tratados com laser de CO₂, e por último apicectomizados e tratados com laser de Er:YAG. A análise qualitativa da infiltração do corante azul de metileno através da superfície dentinária e da retroobturação demonstrou que as amostras dos grupos que foram irradiadas com os lasers apresentaram índice de infiltração significativamente menor que as não tratadas. As amostras apicectomizadas e tratadas com o laser de CO₂, ao MEV apresentaram superfícies lisas, com fusão e recristalização de dentina, distribuídas de maneira homogênea em toda área irradiada, vedando os túbulos dentinários. Da mesma maneira, as apicectomizadas e tratadas com o laser de Er:YAG também se apresentavam limpas, sem camada residual de magma, no entanto, ligeiramente rugosas, compatíveis com aspecto de dentina ablacionada e com a evidenciação de túbulos dentinários.

A análise no microscópio eletrônico de varredura da parede dentinária do canal, irradiada com laser de Nd:YAG, mostra resultados que variam desde nenhum efeito, passando pela desorganização do smear-layer até a dissolução e recristalização da dentina. Essa variação de efeitos depende da variação de potência, duração da exposição e cor da dentina. (DEDERICH, 1984).

Dederich *et al.*, em 1985, buscaram quantificar os parâmetros necessários para que o laser de Nd:YAG fosse capaz de promover a fusão das paredes dentinárias dos canais radiculares. Para isto, utilizaram 18 dentes que foram seccionados, divididos em áreas circulares e corados por tinta da Índia. Os espécimes foram irradiados utilizando o laser de Nd:YAG

com potência variando de 5 a 90 W e 0,1 a 1,0 s. Através de MEV, verificaram as rachaduras causadas pelo calor e a quantidade de fusão dentinária, chegando à conclusão de que tanto a potência quanto a duração de pulso, quando consideradas individualmente, influenciaram no aparecimento de rachaduras causadas pelo calor e, quando consideradas associadas, apresentaram resultados mais significantes do que individualmente.

MAILLET et al ,em 1996 , analisaram a resposta do tecido conectivo das raízes apicectomizadas com o laser de Nd: YAG ou brocas . Concluíram uma significativa intensidade e extensão da inflamação nos tecidos conectivos adjacentes às raízes apicectomizadas convencionalmente , e uma pequena inflamação em resposta às superfícies destinatarias ressectadas com laser. Foram também observadas as diferenças sugestivas no encapsulamento fibroso.

Fegan & Steiman, em 1995, com o objetivo de verificar a capacidade de redução microbiana do laser de Nd:YAG, realizou um estudo "in vitro" no qual realizou o preparo químico cirúrgico em oitenta espécimes, até a lima #35. Posteriormente os mesmos foram esterilizados com óxido de etileno. Depois da esterilização, receberam inoculação de *Bacillus stearothermophilus*. Os espécimes foram divididos em oito grupos: (1) controle estéril; (2) controle positivo, sem tratamento; (3) instrumentação manual com água estéril; (4) instrumentação manual com NaOCl a 5,25%; (5) instrumentação ultra-sônica com água estéril; (6) instrumentação ultra-sônica com NaOCl; (7) laser Nd:YAG (3W, 20 pulsos, 1 minuto) com água estéril e

(8) laser de Nd:YAG nas mesmas condições com NaOCl. Os resultados obtidos a partir das unidades formadoras de colônia em ágar-sangue indicaram: (a) todos os grupos tratados com NaOCl efetivamente tiveram o número de bacilos inibidos; (b) instrumentação manual e ultra-sônica com água estéril não desinfetaram efetivamente o canal; (c) o Nd:YAG foi efetivo na inibição do crescimento do *Bacillus stearothermophilus*, que faz parte da flora microbiana intra-canal, sugerindo que o laser de Nd:YAG contribui de maneira importante para a redução microbiana dos canais radiculares.

Gutknecht *et al.*, em 1996a, em estudo clássico, pesquisaram o efeito bactericida da aplicação do laser de Nd:YAG no canal radicular, utilizando canais radiculares de dentes humanos extraídos "in vitro". Foi realizado o preparo químico cirúrgico e posteriormente os mesmos foram esterilizados e inoculados com 10 μ l de suspensão de *Enterococcus faecalis* e divididos em 2 grupos: (a) controle e (b) irradiados intra-canal com o laser de Nd:YAG, modo pulsado, duração de pulso de 100 μ s através de fibra óptica de quartzo flexível, utilizando parâmetros de 100mJ de energia, 15Hz de frequência e 1,5W de potência média, com o tempo de exposição total de 40 segundos. A fibra óptica introduzida no interior do canal no comprimento real de trabalho, com a extremidade na região do ápice, foi utilizada para irradiar com movimento helicoidal de apical para cervical, durante 10 segundos por 4 vezes. A concentração de bactérias na suspensão retirada do interior de cada canal era calculada correlacionando o número de colônias às diluições correspondentes. Os resultados foram equivalentes a uma redução bacteriana média de 99,91% com a utilização do laser. Os autores

mencionam ainda que os parâmetros do laser utilizados nesse trabalho podem ser considerados como ideais para se utilizar "in vivo" intra-canal.

Gutknecht *et al.* (1996b) avaliaram "in vivo" a ação do laser de Nd:YAG como coadjuvante para a desinfecção do canal radicular. Durante três anos acompanharam clínica e radiograficamente 517 dentes, correspondendo a 863 canais, com processos periapicais de 5mm de diâmetro ou mais, que foram submetidos a retratamento endodôntico. Após o procedimento de desobturação, os canais foram irradiados com o laser de Nd:YAG, utilizando-se os seguintes parâmetros: 100mJ de energia, 1,5W de potência média e 15Hz de frequência, em duas sessões: após o PQC e imediatamente antes da obturação. Nos casos considerados mais complicados ou com lesões periapicais mais extensas, esse procedimento foi realizado 2 ou 3 vezes por semana. O sucesso no tratamento foi considerado a partir da redução da imagem radiolúcida ao exame radiográfico após 3 a 12 meses, livres de sinais e sintomas. Como resultado os autores obtiveram sucesso em 86% dos retratamentos realizados.

Moritz *et al.*, em 1999, realizaram estudo "in vitro" para avaliar a ação bactericida dos lasers de Er:YAG, Nd:YAG e Ho:YAG. Dentes extraídos, endodônticamente tratados foram inoculados com suspensão de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. Utilizaram o equipamento ONYX-multiwave fabricado pela LMS (Laser Medical Devices, Eisenstadt, Áustria) que apresenta 3 comprimentos de onda diferentes: Er:YAG (2,94 μ m); Nd:YAG (1,064 μ m) e Ho:YAG (2,10 μ m). Os parâmetros de irradiação intra-

canal com os lasers foram de 10Hz de taxa de repetição com 0,8 W ou 1,5 W de potência média, com extremidade da fibra óptica no comprimento real de trabalho, irradiando 4 vezes durante 5s, perfazendo um total de 20s, com movimentos helicoidais de apical para cervical. Os resultados mostraram que o laser de Er:YAG teve eliminação bacteriana média de 99,64%, seguida do laser de Nd:YAG com 99,16% e o laser de Ho:YAG com 99,05%, não havendo, no entanto, diferença estatisticamente significante entre os três valores médios.

3.3- Estudos comparativos da adesão de fibroblastos sobre superfícies radiculares.

Fibroblastos são células lábias, derivadas da linhagem mesenquimal, presentes no tecido conjuntivo da região do periodonto apical que se reproduzem quando lesadas. O aparecimento dos fibroblastos e células endoteliais, com suas respectivas funções em atividade, constitui a base para o tecido de reparo.

A cultura de células periodontais humanas permitem a avaliação primária da biocompatibilidade das raízes. A aderência de células progenitoras na superfície das raízes é um pré-requisito para a formação de um novo colágeno. A formação do ligamento periodontal é seguida da eliminação da infecção. A produção de colágeno é proporcional ao número de células aderentes. A redução destas células *in vitro* pode estar relacionado às endotoxinas das bactérias patogênicas periodontais as quais penetram nas raízes, fazendo-as inibir suas funções (KREISLER, 2001).

Aleo *et al.* (1975), compararam a adesão e o crescimento de fibroblastos de gengiva humana sobre superfícies radiculares expostas à doença periodontal. A amostra foi dividida em três grupos: a) tratadas com raspagem e aplanamento; b) tratadas com fenol a 45% e c) não tratadas. Dentes sadios foram usados como controle. Todos os espécimes foram autoclavados antes de serem plaqueados com 1×10^5 células e incubados por 24 e 48 horas. Após a incubação, alguns espécimes foram corados e outros processados para MEV. Os dentes sadios permitiram a adesão celular. As raízes não tratadas não apresentaram adesão celular, ou muito pouca. Quando a endotoxina foi removida da raiz com raspagem e aplanamento ou fenol a 45%, as células aderiram e cresceram normalmente sobre toda a superfície radicular. No final das 48 horas, uma monocamada confluenta podia ser encontrada sobre as superfícies e as células mostravam pontos definidos de adesão.

Thomas *et al.* (1994) pesquisaram o efeito do laser de Nd:YAG, combinado ou não com raspagem e aplanamento ou com jato abrasivo, sobre a adesão de fibroblastos de gengiva humana. A aplicação do laser de Nd:YAG (American Dental Laser Inc., Binningham, MI) sobre raízes de dentes sadios foi realizada com a fibra ótica de $320 \mu\text{m}$ de diâmetro, paralela à superfície radicular, com energia de 75mJ, frequência de 20Hz e tempo de 1 minuto. O aplanamento foi realizado com cureta abrangendo toda a superfície. O jato abrasivo foi aplicado por 10 segundos a uma distância de 5mm. Os fragmentos foram plaqueados com $2,5 \times 10^5$ células, incubados por 8 horas e processados para MEV. Os autores concluíram que o grupo tratado só com laser apresentou número de células significativamente menor que os

demais grupos. O maior número de células dos grupos laser + aplanamento e laser + jato abrasivo sugeriram que as alterações provocadas pelo laser eram superficiais e reversíveis.

Tewfik *et al.* (1994) avaliaram a ação do laser de Nd:YAG (Laserscope Co., San Jose, CA, L Model KTP/532) em superfícies radiculares sadias através da adesão de fibroblastos de gengiva humana. Foram selecionados dentes humanos extraídos, estes foram raspados e aplanados e a amostra dividida em quatro grupos: a) controle; b) aplicação do laser a 5mm de distância; c) aplicação do laser a 3mm de distância ou d) aplicação do laser a 1mm de distância. A irradiação foi realizada com fibra ótica de 600 μ m de diâmetro, perpendicular à superfície radicular, com potência de 4 watts e tempo de aplicação de 1 segundo. Os espécimes foram plaqueados com $7,5 \times 10^3$ células, incubados por 24 horas e processados para MEV.

O grupo controle (só raspagem) apresentou uma superfície plana, com textura granulosa, decorrente da presença do "smear layer". Com relação a adesão dos fibroblastos, esse grupo mostrou uma monocamada de células aderida ao cimento. Nos grupos irradiados, a quantidade de células estava diretamente relacionada com a quantidade de energia recebida: quando o laser incidiu a 5mm de distância, os resultados foram semelhantes aos encontrados no grupo controle; conforme a distância diminuía, aumentando a densidade de energia, o número de células também ficava menor. Os autores concluíram que a adesão celular foi influenciada pela aplicação do laser, decrescendo a medida que aumentava a densidade de energia liberada na superfície radicular.

Babay (2001) analisou *in vitro* a adesão de fibroblastos de gengiva humana utilizando amostras de superfícies radiculares com doenças periodontal e tratadas com raspagem e / ou condicionamento. Os dentes selecionados foram divididos em três grupos e 1/2 face foi tratada mecanicamente com os seguintes instrumentos: a) cureta Gracey 7/8; b) ultra-som piezo-elétrico EMS (Nyon, Suíça) ou c) ultra-som piezo-elétrico Amdent (Nynashamm, Suécia). Obtiveram fragmentos contendo 1/2 face instrumentada e 1/2 face não instrumentada. Esses foram redivididos em quatro grupos que receberam, por 3 minutos, os seguintes tratamentos: 1) solução salina; 2) ácido cítrico; 3) hidrocloreto de tetraciclina e 4) EDTA 8%. Todos os espécimes foram plaqueados com 1×10^5 células, incubados por 72 horas e processados para MEV.

Observou que os fibroblastos não aderiram nas faces não instrumentadas. As superfícies radiculares raspadas encontravam-se lisas e apianadas, com grupos de células localizadas; quando tratadas quimicamente apresentavam-se mais rugosas e com fibroblastos espalhados. As superfícies tratadas com ultra-som, SEM ou Amdent, não apresentaram células; porém, quando condicionadas, houve um aumento significativo do número de fibroblastos aderidos. O autor concluiu que os fibroblastos não aderiram em dentes com doença periodontal não tratados; apresentaram-se em pequeno número sobre superfícies raspadas e eram abundantes nas raízes condicionadas, sem diferença entre os agentes utilizados. Além disso, notaram que as células aderiram mais sobre superfícies rugosas do que lisas.

Feist (2002) realizou estudo "in vitro" quanto a adesão e proliferação de fibroblastos da gengiva humana sobre superfícies radiculares tratadas

com *laser* de Er:YAG e instrumento manual. Selecionou 27 dentes unirradiculares com doença periodontal. As amostras foram divididas em 3 grupos: Grupo A- Superfícies aplanadas com curetas de Gracey N° 3/4; Grupo B - superfícies radiculares aplanadas com ponta periodontal do *laser* de Er:YAG (Kavo Key II) com energia de 35 mJ/pulso, taxa de repetição de 10 Hz com duas aplicações de 10 segundos cada e intervalo de 10 segundos; Grupo C – superfícies irradiadas da mesma forma que no grupo anterior, com energia de 59 mJ/pulso. Os fragmentos de 5 mm e 6 mm foram plaqueados com 1×10^3 células e acompanhados por 1, 2 e 3 dias. Foram processados em MEV e a contagem das células feita sobre as eletronicografias. Os fibroblastos da gengiva humana aderiram e proliferaram em todas as superfícies tratadas. Nos dias 1 e 2, a mediana do número de células sobre os fragmentos do grupo B foi significativamente maior do que sobre os fragmentos dos outros dois grupos. Baseados nos resultados encontrados concluiu que as superfícies tratadas com *laser* de Er:YAG (35 mJ/pulso) favoreceram a adesão e a proliferação de fibroblastos, com um número de células e a velocidade de proliferação maiores que nos demais grupos.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4.1- MATERIAIS

Coleta de material

Foram utilizados 12 dentes unirradiculares, cedidos pelo banco de dentes humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da FOU SP.

4.1.a- Equipamento de laser de Er:YAG de alta potência

Utilizamos o *laser* de Er:YAG – Kavo Key 3 do Laboratório Especial de Laser em Odontologia – LELO - FOU SP.

Características do equipamento:

Comprimento de onda: 2940 nm.

Energia de 60 a 600 mJ/pulso.

Taxa de repetição de 1 a 25 Hz.

Laser guia de He-Ne emitindo em 632 nm.

Modo de emissão: pulsado .

Largura temporal: 250 a 500 μ s .

Monitor de fácil compreensão e fácil ajuste dos parâmetros.

Comando de pé com segurança.

Peça de mão 2060 acoplável através de ajuste rápido.

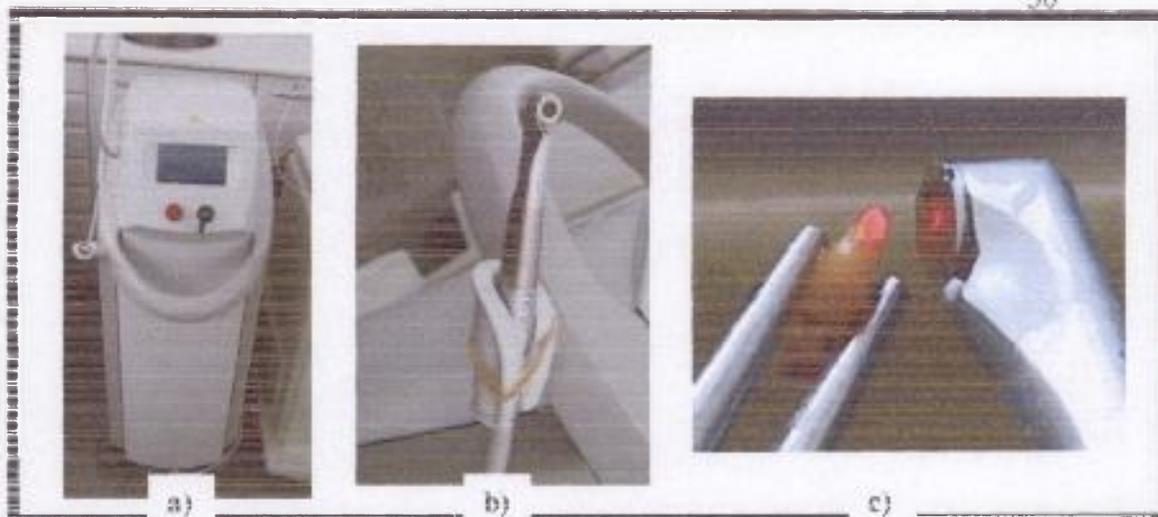


Fig. 4.1- Equipamento de laser de Er:YAG (Kavo Key 3); a) Vista frontal, b) peça de mão 2060; c) posicionamento da ponta sobre o dente

4.1.b- Equipamento de laser de Nd:YAG de alta potência

Foi utilizado o laser de Nd:YAG Pulsemaster 1000 ADT pertencente ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia – LELO - FOU SP.

Características do equipamento:

Comprimento de onda: 1064 nm.

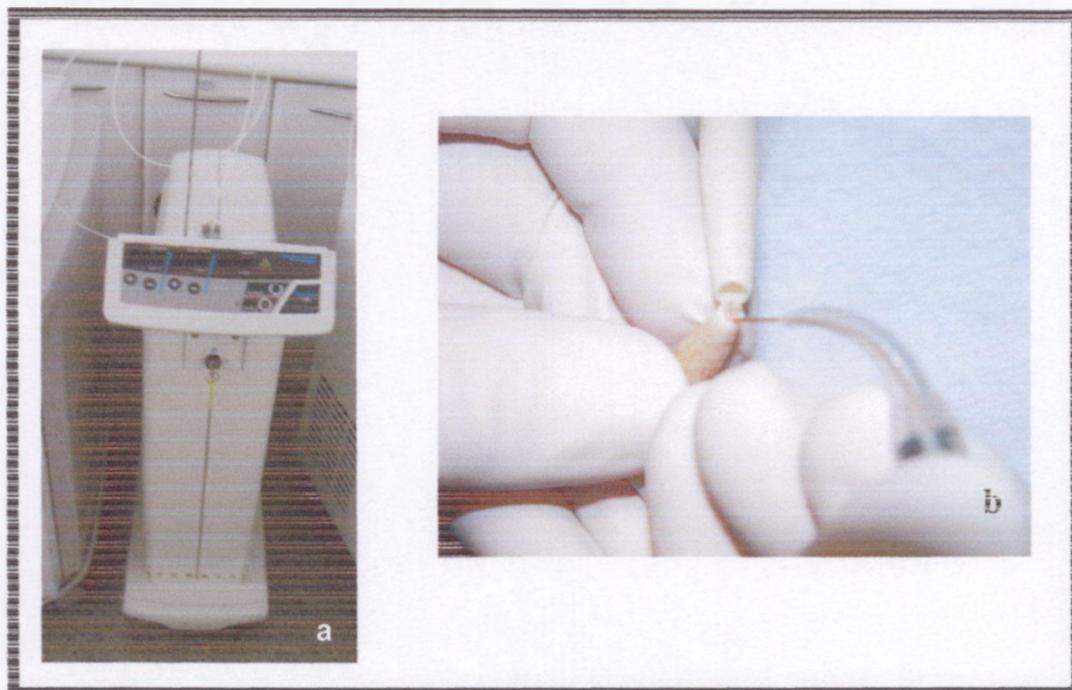
Potência máxima de saída : 10 W.

Diâmetro da fibra óptica de 300 μ m.

Laser guia de HeNe emitindo em 632 nm.

Modo de emissão: pulsado.

Largura temporal: 150 μ s.



**Fig. 4.2- Equipamento de laser de Nd:YAG (PulseMaster 1000 ADT);
a) Vista frontal; b) posicionamento da fibra sobre o dente**

4.1.c- Linhagem celular

Para análise da adesão de células sobre as superfícies dentinárias de corte foram utilizadas a linhagem celular FL3 de fibroblastos (Fig. 4.4-A) oriundos do ligamento periodontal humano (Azevedo 2003).

4.1.d- Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A MEV foi realizada no microscópio eletrônico de varredura LEO 430i, pertencente ao Departamento de Patologia Bucal – FOUSP-SP (Fig 4.4-C). Todos os procedimentos com os lasers de Er:YAG e de Nd:YAG foram realizados seguindo as normas de segurança: óculos de proteção, interrupção automática dos equipamentos (inter locker), ativação do laser somente quando o pedal for acionado.

4.2- MÉTODOS

4.2.a- GRUPOS EXPERIMENTAIS:

Obtidos os 12 dentes (9 para cultura + 3 para morfologia), os mesmos tiveram as coroas separadas das raízes e desprezadas. Em seguida foram realizados tratamento endodôntico, com preparo químico-cirúrgico, utilizando-se solução de hipoclorito de sódio a 1% (Solução de Milton) como substância química auxiliar e irrigadora, limas de níquel titânio tipo *profile* de 15- 40 e 45- 80, conidade .06, acionadas por motor Driller, com 250 rotações por minuto, obturados pela técnica da condensação lateral, com cones de guta-percha e cimento obturador N-Rickert.

Os espécimes foram divididos em 3 grupos de quatro amostras cada, sendo 3 para cultura e uma para análise das alterações morfológicas após apicectomia.

GRUPO I:

As raízes dentárias foram cortadas a 3 milímetros do ápice com ponta Zekrya, em motor de alta rotação super torque da Kavo, com refrigeração, seguida da remoção de 2 milímetros da guta percha apical com broca esférica.

GRUPO II:

As raízes dentárias foram cortadas a 3 milímetros do ápice com o *laser* de Er:YAG modelo KAVO KEY 3 (Fig. 4.1-a), no modo não contato, com a peça de mão 2060 (Fig. 4.1b), focalizado a 12 mm da superfície dental que corresponde a cintura focal(Fig. 4.1- C). Os seguintes parâmetros foram utilizados: 140 mJ de energia/pulso, 10 Hz de taxa de repetição e densidade de energia de 45 J/cm². Em seguida foram removidos 2 milímetros da guta

percha apical com o *laser* de Er:YAG Kavo Key 3.

GRUPO III

Os dentes deste grupo foram submetidos aos mesmos procedimentos do grupo II e em seguida as superfícies apicectomizadas foram tratadas com o *laser* de Nd:YAG, modelo Pulsemaster 1000 (Fig. 4.2-A), irradiando toda a superfície dentinária com a fibra óptica de 300 μ m (Fig. 4.2-B), utilizando energia de 100 mJ, taxa de repetição de 15 Hz, potência média de 1,5 W e densidade de energia de 125 J/cm², com 3 irradiações de 10 segundos e intervalo de 30 segundos entre as irradiações, totalizando 30 segundos.

Todas as raízes apicetomizadas foram novamente seccionadas, com disco de aço em peça de baixa rotação, obtendo-se amostras com 2 milímetros de espessuras (Fig. 4.3 – A, B e C).

As superfícies dentinárias cortadas com Zecrya (Grupo I), *laser* de Er:YAG (Grupo II) e *laser* de Er:YAG irradiada com *laser* de Nd:YAG (Grupo III) foram avaliadas em MEV quanto à capacidade de adesão de fibroblastos.

Após a conclusão dos tratamentos experimentais as amostras foram esterilizadas em autoclave a 136° C por 20 minutos antes de serem plaqueadas, eliminando-se qualquer contaminação durante a manipulação das amostras.

4.2.b- Preparo dos fragmentos para análise de adesão dos fibroblastos:

Cultura de células-

Os fibroblastos da linhagem celular FL3 (Fig. 4.4- A) foram cultivados em meio de cultura de Eagle modificado por Dulbecco (DME) contendo 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução antibiótica-antimicótica. As células foram

incubadas em meio ambiente a 37° C, numa atmosfera contendo 95 % de oxigênio e 5 % de dióxido de carbono. A monitoração do crescimento celular foi realizada utilizando-se um microscópio invertido de fase. Quando atingiram a sub-confluência, o meio do frasco de cultivo foi aspirado, e a monocamada celular lavada duas vezes com solução tampão fosfato salina sem cálcio e sem magnésio (PBSA), pH 7,2. A seguir, as células foram separadas com 2 ml de uma solução de tripsina 0,25 % durante 2 minutos a 37° C. A tripsina foi então inativada com 5 ml de meio de cultura contendo soro fetal bovino. As células em suspensão foram transferidas para um tubo de ensaio e centrifugadas a 300 g durante 5 minutos à temperatura ambiente. O precipitado de células resultante da centrifugação foi ressuspensionado em 1 ml de meio fresco, e a suspensão de células foi então replaqueada em novos frascos de cultivo.

Para os experimentos de adesão, foram plaqueadas as mesmas quantidades de células sobre todos os fragmentos (9 no total, 3 em cada grupo) de todos os grupos, na quantidade de 2×10^5 de células por fragmento.

Para a obtenção dessas células foi realizada a contagem de células viáveis através do uso de hemocitômetro e o método da exclusão de células coradas pelo azul de Trypan (Freshney, 2000), a saber: as células que cresceram nos frascos foram separadas através da tripsinização e após a obtenção da suspensão de células, estas foram centrifugadas por 5 minutos (300 g) e o precipitado de células ressuspensionado em 1 ml de PBSA.

Parte desta suspensão de células (0,1 ml) foi transferida para um novo tubo de ensaio, onde foram adicionados 0,8 ml de PBSA e 0,1 ml de azul de

Trypan.

Ambas as câmaras de um hemocitômetro receberam uma gota dessa nova suspensão de células, as quais foram contadas sob microscópio de luz. O número total de células viáveis foi obtido através da seguinte sentença matemática, onde foram excluídas as células mortas coradas em azul, a saber : Número total de células não coradas x diluição x 10^4 / Número de quadrados do hemocitômetro usados para a contagem.

De posse do número de células disponíveis através de diluição foram plaqueados 2×10^3 por fragmentos dos vários grupos experimentais.

4.2.c- Preparo das amostras para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

Vinte e quatro horas depois do plaqueamento os fragmentos de cada grupo experimental foram fixados em solução de glutaraldeído a 2 % em tampão fosfato de sódio 0,1 M por 2 horas à temperatura ambiente. A seguir, foram feitas duas lavagens com solução fisiológica mais sacarose para eliminação da substância fixadora. A pós-fixação foi feita, no dia seguinte, utilizando-se solução de tetróxido de ósmio a 1 % no tampão por 20 minutos. Para remover a solução pós-fixadora, foram feitas três lavagens, em intervalos de 5 minutos, com solução fisiológica mais sacarose. Em seguida as amostras foram desidratadas em etanol em série crescente, a 50 %, 70 %, 90 %, 96 % e álcool absoluto, posteriormente imersas em hexa metil (HMDS) por 30 minutos e secas no ar dentro da capela. As amostras foram montadas nas bases metálicas apropriadas (*Stubs* de alumínio), divididas por grupo experimental, a seguir foram submetidas ao processo de *sputtering*, sendo

cobertas com uma camada de ouro de 10 nm (Fig. 4.4- B).

4.2.d- Análise de adesão celular

Todos os fragmentos foram eletronicografados no microscópio eletrônico de varredura (Fig. 4.4- C) com distância focal de 20 mm e aumento de 500 x. Cada amostra foi dividida em quatro quadrantes (Q1, Q2, Q3 e Q4) e as eletronicografias foram feitas no centro de cada quadrante. Como os grupos eram formados por 3 amostras cada para adesão celular, foram obtidas 12 eletronicografias por grupo.

Sobre estas eletronicografias foi sobreposta uma grade quadriculada (48 quadrados completos) para orientar a contagem das células aderidas sobre as superfícies



Fig. 4.3- Amostras a serem submetidas a adesão celular: A) Amostras do Grupo I; B) Amostras do Grupo II; C) Amostras do Grupo III.

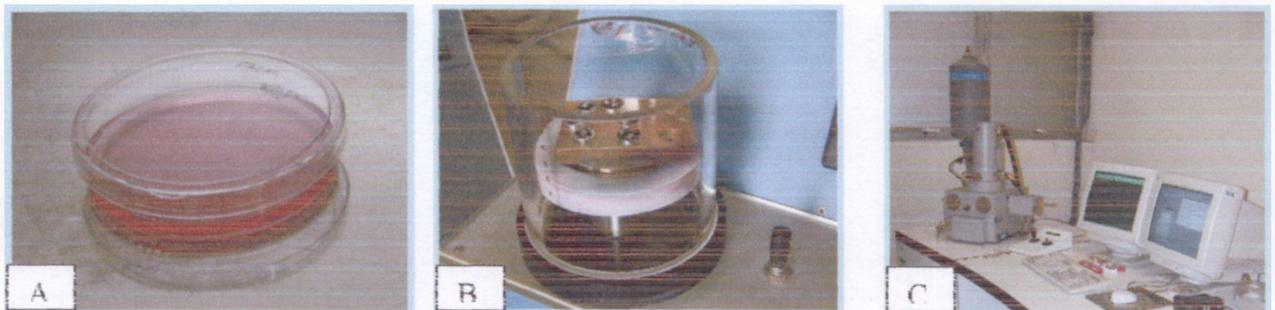


Fig. 4.4- A) Placa de Petry com fibroblastos linhagem celular FL3; B) Metalização das amostras submetidas a adesão celular; C) Microscópio Eletrônico de Varredura LEO 430i

5- RESULTADOS

RESULTADOS

As células da linhagem FL3 aderiram sobre todos os fragmentos das amostras dos três grupos experimentais (Gráficos 5.2 e 5.3; Tabela 5.1).

Cada amostra foi dividida em quatro quadrantes. As eletronicografias, foram realizadas no centro de cada quadrante e tiveram suas células contadas (Figura 5.4). Em todas as eletronicografias foi observada adesão celular.

O grupo I (Apicetomizados com Fresa Zekrya Endo) apresentou 70 células na primeira amostra, 43 na segunda e 70 na terceira, com um total de 183 este grupo foi o que apresentou o menor número de células.

A amostra do Grupo I reservada para análise da morfologia em Eletronicografia obtida no MEV apresentou as superfícies apicetomizadas com ranhuras decorrentes da ação da broca e presença de camada residual de magma (Fig. 5.1).

O grupo II, apicetomizados com *laser* de Er:YAG, mostrou 78 células na primeira amostra, 86 na segunda e 107 na terceira, com um total de 271 células aderidas, este grupo foi o que apresentou o maior número de fibroblastos do ligamento periodontal humano aderidos a superfície radicular apicetomizada.

Morfologicamente a amostra do Grupo II apresentou as superfícies apicetomizadas com irregularidades homogêneas, sem camada residual de magma, com exposição dos túbulos dentinários não apresentando trincas e nem fusão da estrutura dentinária (Fig. 5.2).

O grupo III, apicectomizados com *laser* de Er:YAG e com posterior irradiação com *laser* de Nd:YAG, teve 84 células aderidas na primeira amostra, 65 na segunda e 105 na terceira, num total de 254 células aderidas.

A amostra do Grupo III reservada para análise da morfologia em Eletronmicrografia obtida no MEV apresentou as superfícies apicetomizadas com fusão e recristalização, sem fendas ou trincas (Fig. 5.3).

GRUPO I - Fresa Zecrya Endo – Total de 183 células contadas

Primeira amostra – Total 70 Células

Quadrante 1 (G1a-2) : 21 células

Quadrante 2 (G1a-3) : 12 células

Quadrante 3 (G1a-4) : 12 células

Quadrante 4 (G1a-5) : 25 células

- Valor médio: 17,5

Segunda amostra – Total 43 células

Quadrante 1 (G1b-2) : 3 células

Quadrante 2 (G1b-3) : 5 células

Quadrante 3 (G1b-4) : 28 células

Quadrante 4 (G1b-5) : 7 células

- Valor médio: 10,75

Terceira amostra -70 células

Quadrante 1 (G1c-2) : 10 células

Quadrante 2 (G1c-3) : 18 células

Quadrante 3 (G1c-4) : 24 células

Quadrante 4 (G1c-5) : 18 células

- Valor médio: 17,5

GRUPO II: Laser de Er:YAG - Total de 271 células contadas

Primeira amostra – Total 78 células

Quadrante 1 (G2a-2) : 17 células

Quadrante 2 (G2a-3) : 16 células

Quadrante 3 (G2a-4) : 34 células

Quadrante 4 (G2a-5) : 11 células

- Valor médio: 19,5

Segunda amostra – Total de 86 células

Quadrante 1 (G2b-2) : 20 células

Quadrante 2 (G2b-3) : 30 células

Quadrante 3 (G2b-4) : 17 células

Quadrante 4 (G2b-5) : 19 células

- Valor médio: 21,5

Terceira amostra – Total de 107 células

Quadrante 1 (G2c-2) : 26 células

Quadrante 2 (G2c-3) : 27 células

Quadrante 3 (G2c-4) : 29 células

Quadrante 4 (G2c-5) : 25 células

- Valor médio: 26,75

Grupo III: Laser de Er:YAG + Laser de Nd:YAG - Total de 254 células contadas.

Primeira amostra – Total 84 células

Quadrante 1 (G3a-2) : 31 células

Quadrante 2 (G3a-3) : 22 células

Quadrante 3 (G3a-4) : 17 células

Quadrante 4 (G3a-5) : 14 células

- Valor médio: 21

Segunda amostra – Total de 65 células

Quadrante 1 (G3b-2) : 5 células

Quadrante 2 (G3b-3) : 19 células

Quadrante 3 (G3b-4): 24 células

Quadrante 4 (G3b-5) : 17 células

- Valor médio: 16,25

Terceira amostra – Total de 105 células

Quadrante 1 (G3c-2) : 18 células

Quadrante 2 (G3c-3) : 17 células

Quadrante 3 (G3c-4) : 39 células

Quadrante 4 (G3c-5) : 31 células

- Valor médio: 26,25

GRUPO	AMOSTRA	QUADRANTES				CONTAGEM CÉLULAR	
		Q1	Q2	Q3	Q4	Subtotal (Amostra)	Total(Grupo)
GI	A1	21	12	12	25	70	183
	A2	3	5	28	7	43	
	A3	10	18	24	18	70	
GII	A1	17	16	34	11	78	271
	A2	20	30	17	19	86	
	A3	26	27	29	25	107	
GIII	A1	31	22	17	14	84	254
	A2	5	19	24	17	65	
	A3	18	17	39	31	105	

Tabela 5.1- Tabela com o número de células aderidas em cada quadrante das três amostras dos grupos I, II e III.

Análise estatística

A tabela 5.2 contém dos valores médios de células de cada uma das 3 amostras. Observa-se que o grupo II apresenta a mediana de células aderidas maior e o grupo I a menor mediana.

	G1	G2	G3
Amostra 1	17.50	19.50	21.00
Amostra 2	10.75	21.50	16.25
Amostra 3	17.50	26.75	26.25
Mediana	17.50	21.50	21.00

Tabela 5.2- Valores médios de células de cada uma das 3 amostras.

Como o número de amostras é pequeno, apesar de cada amostra ser dividida em quatro quadrantes, não é possível verificar a normalidade. Assim o teste não-paramétrico Mann-Whitney foi usado para verificar se:

1) Teste Mann-Whitney para verificar se a mediana de G1 é menor que a mediana de G2

Resultando $p = 0,04$. Ou seja, há evidências estatísticas suficientes para afirmar que a mediana de G1 é menor que a mediana de G2, para $p < 0,05$.

2) Teste Mann-Whitney para verificar se a mediana de G1 é menor que a mediana de G3

Resultando $p = 0,19$. Portanto, não há evidências estatísticas suficientes para afirmar que a mediana de G1 é menor que a mediana de G3.

3) Teste Mann-Whitney para verificar se a mediana de G2 é diferente da mediana de G3, testando a hipótese nula de que a mediana de G2 é igual à mediana de G3,

Resultando $p = 0,66$. Portanto não há evidências estatísticas suficientes para rejeitar a hipótese de que as medianas sejam iguais.

Assim, embora a quantidade de amostras seja pequena, há evidências estatísticas suficientes para afirmar que a quantidade de células aderidas no grupo II foi maior que no grupo I.

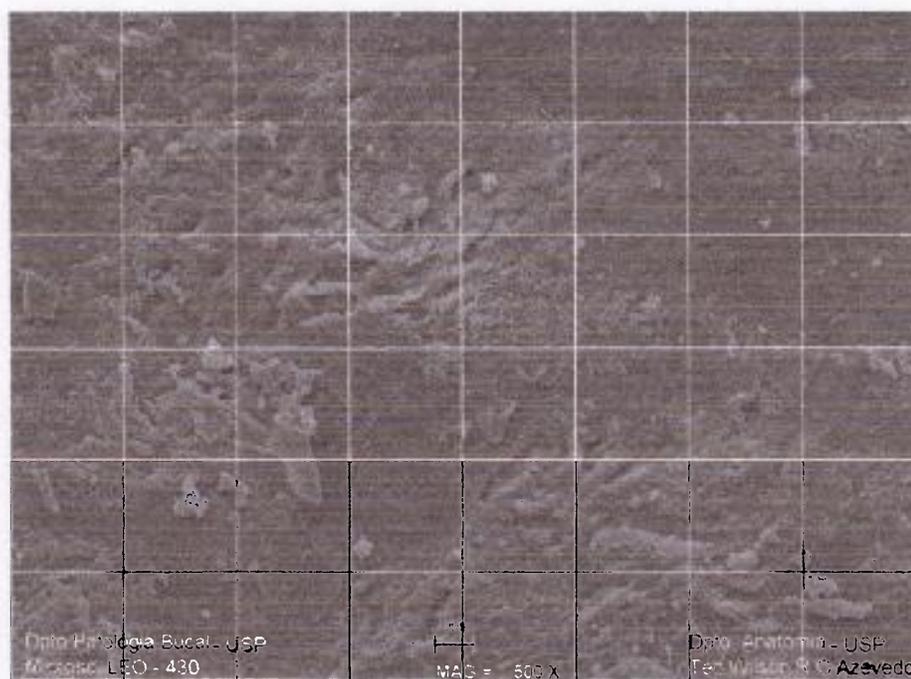
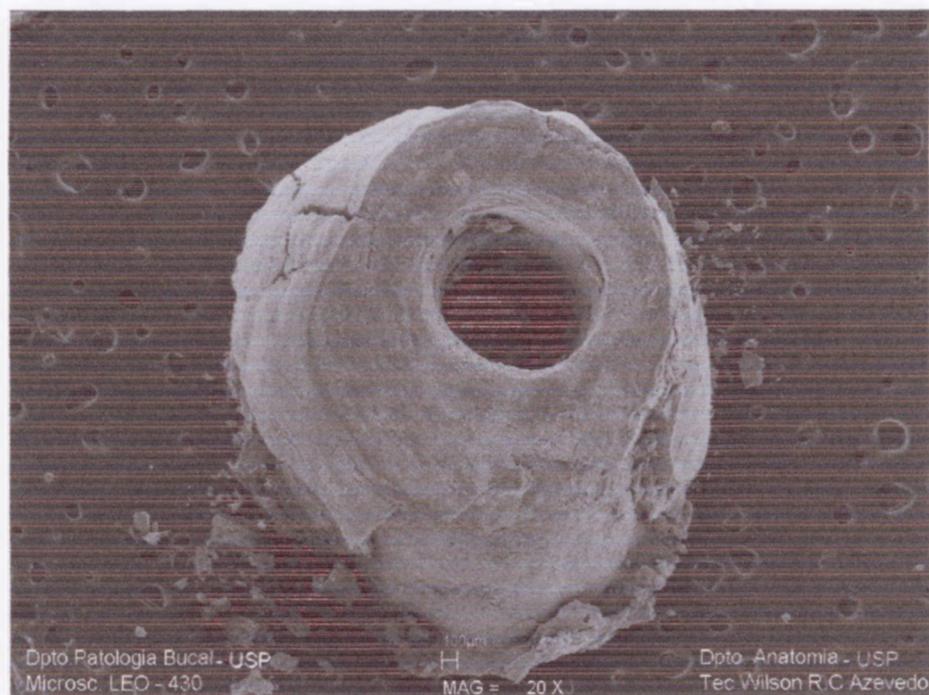


Fig.5.1- Eletromicrografias de varredura da morfologia das superfícies dos fragmentos apicetomizadas com fresa zecrya endo, com ranhuras decorrentes da ação da broca e presença de camada residual de magma. A) Aumento original de 20 X, B) Aumento original de 500 X

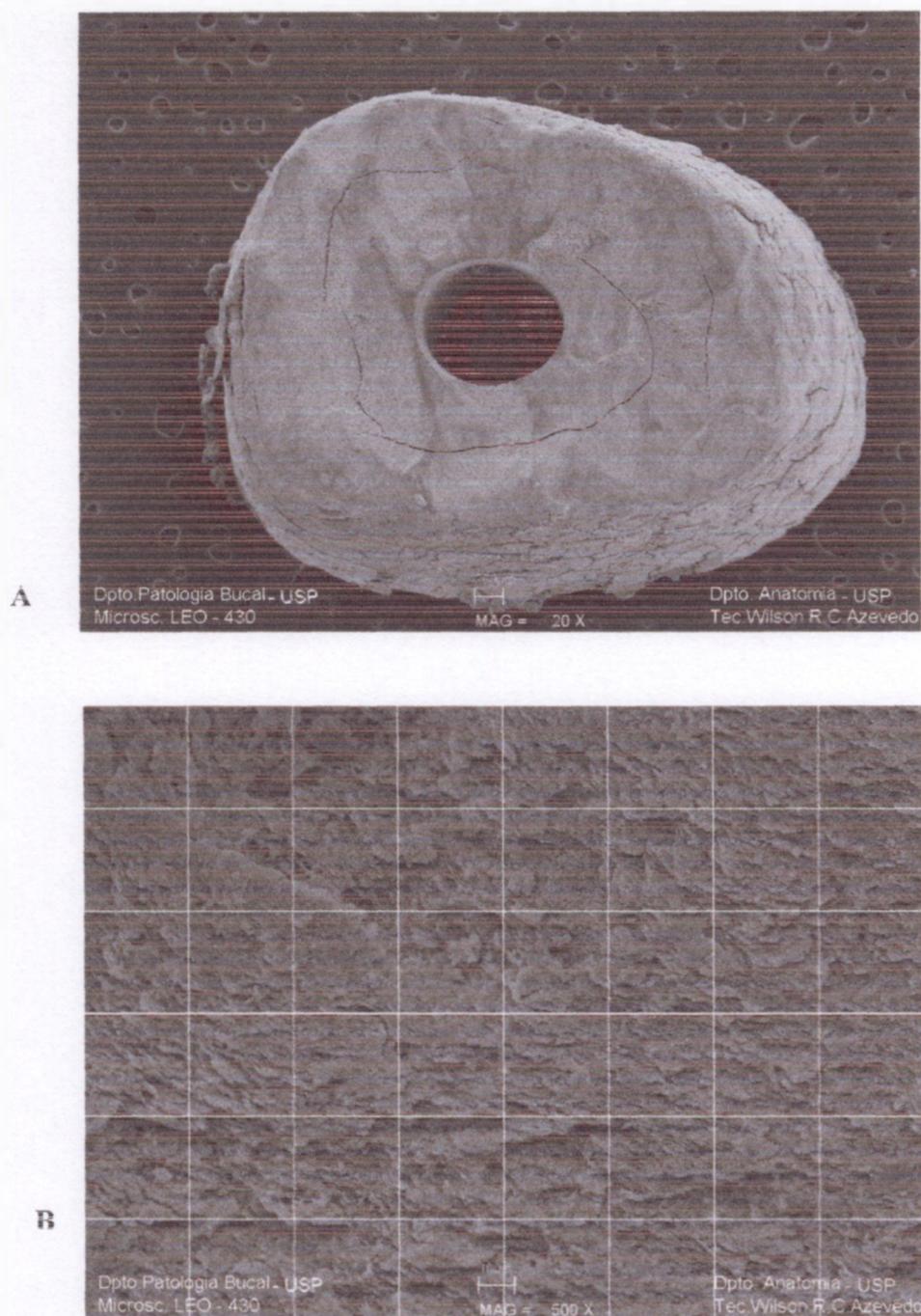


Fig.5.2- Eletromicrografias de varredura da morfologia das superfícies dos fragmentos apicetomizadas com laser de Er:YAG, apresentado irregularidades homogêneas, sem camada residual de magma, com exposição dos túbulos dentinários e não apresentando trincas e nem fusão da estrutura dentinária.

. A) Aumento original de 20 X, B) Aumento original de 500 X

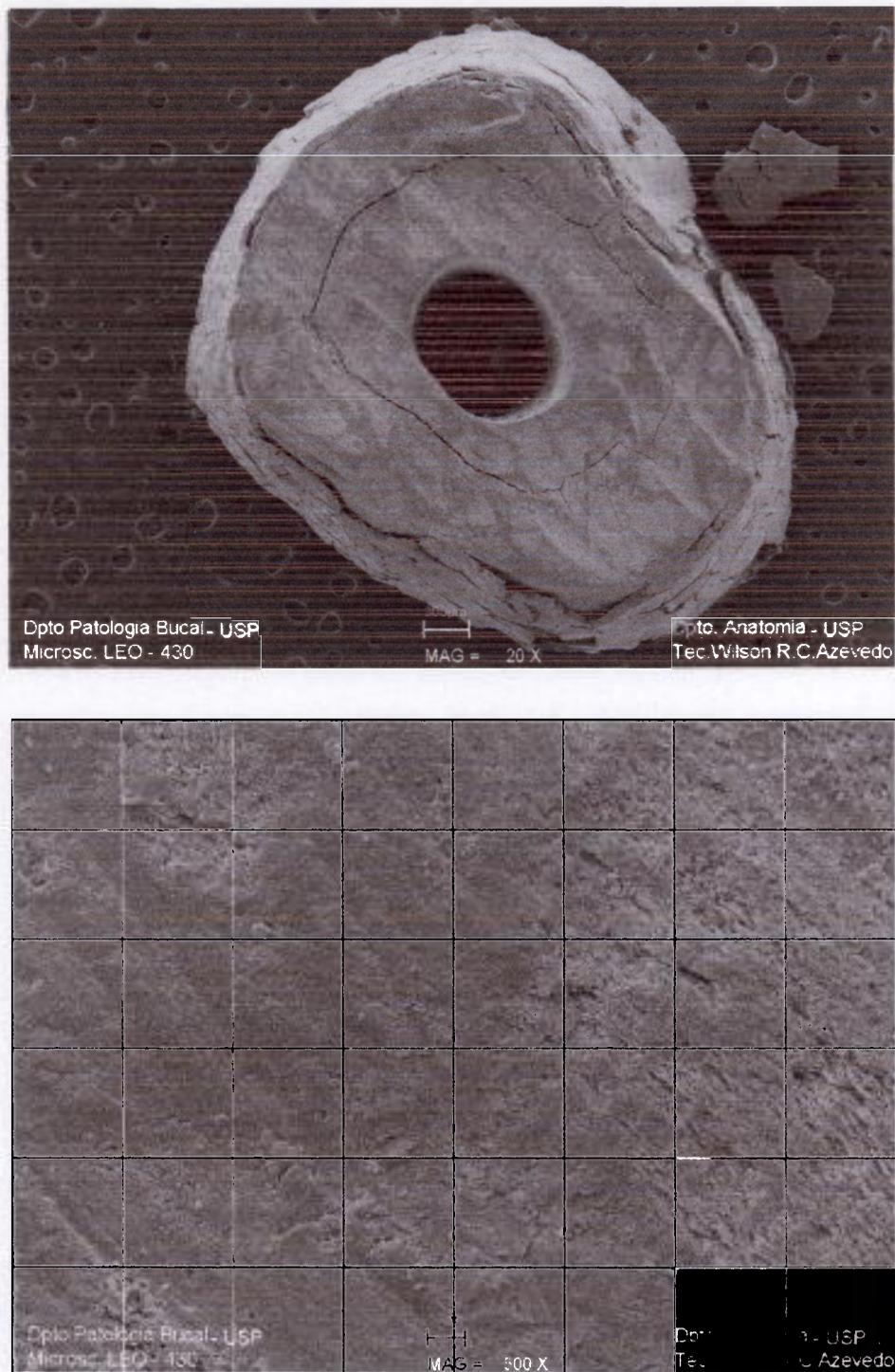


Fig.5.3- Eletronmicrografias de varredura da morfologia das superfícies dos fragmentos apicetomizadas com *laser* de Er:YAG e tratada com *laser* de Nd:YAG. Observou-se fusão e recristalização, sem fendas ou trincas A) Aumento original de 20 X, B) Aumento original de 500 X

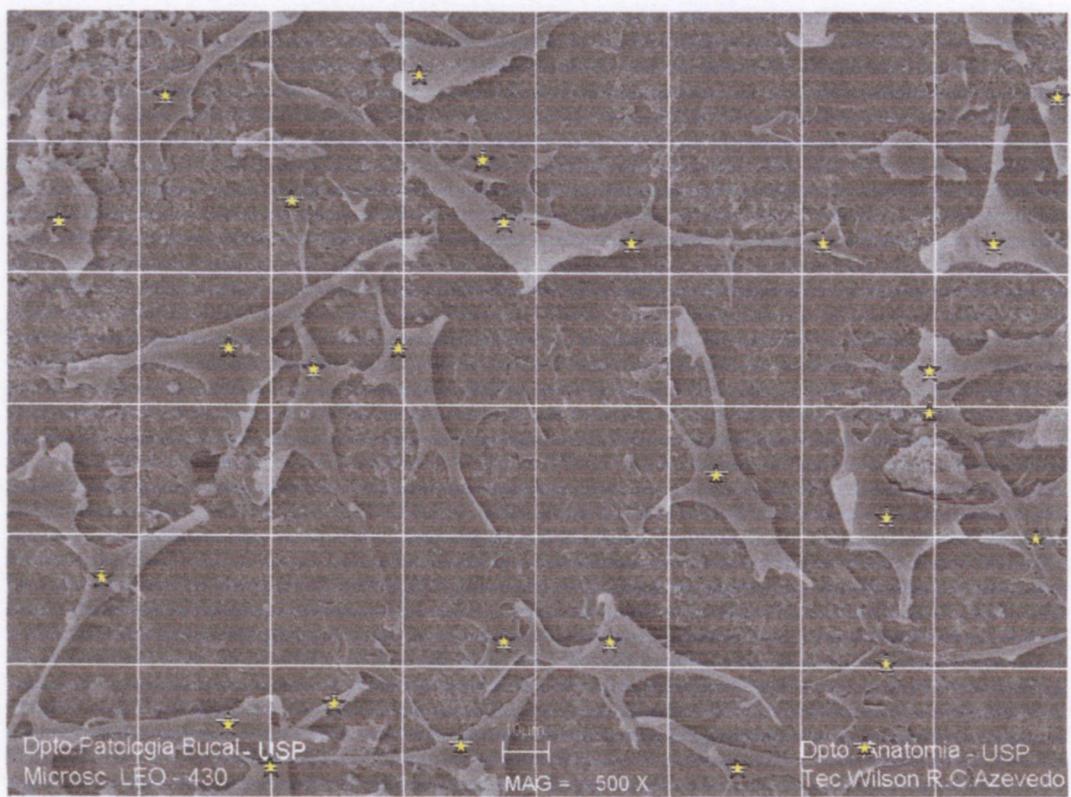
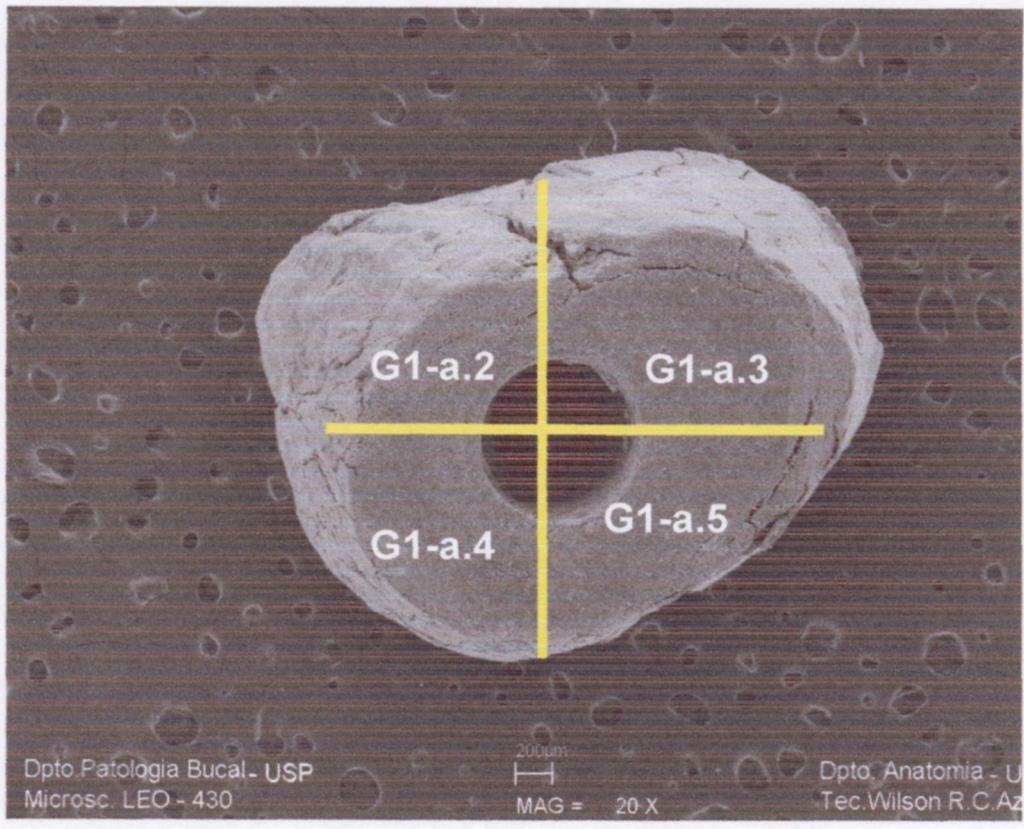


Figura 5.4

Figura 5.4 – Eletromicrografias de varredura ilustrativas da metodologia da contagem celular. Em (A) aspecto de fragmento inteiro, onde a2, a3, a4 e a5 representam os quatro quadrantes utilizados para contagem. As eletromicrografias foram tomadas no centro de cada quadrante. Em (B) observa-se um dos campos, sobre o qual foi sobreposto uma grade de 48 quadrados para orientar a contagem dos corpos celulares. Aumento original de 20x(A) e 500X(B).

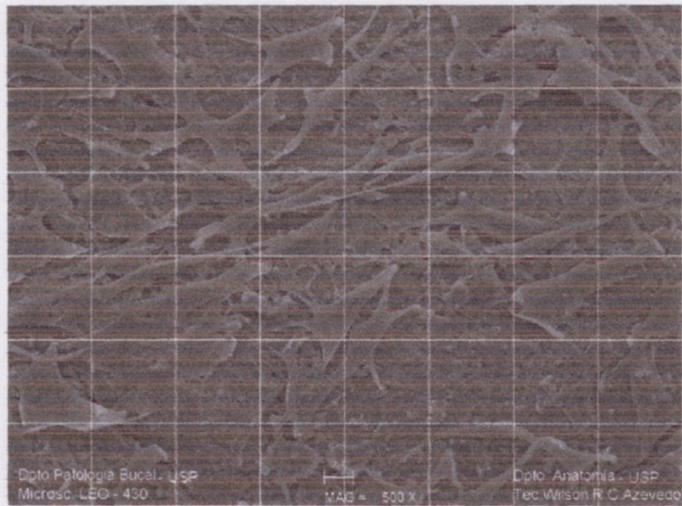
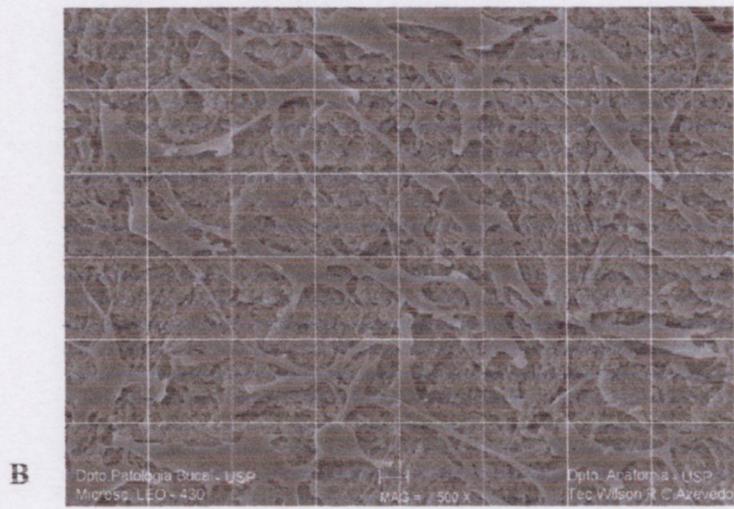
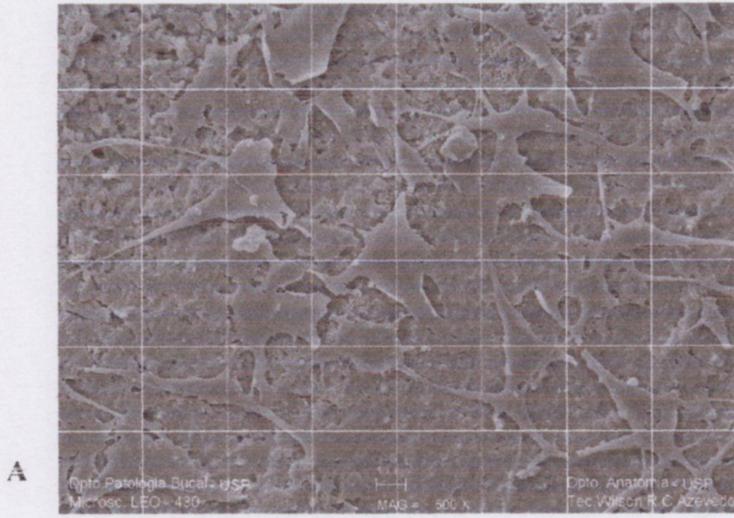


Figura 5.5- Eletromicrografias da superfície dentinária de corte evidenciando fibroblastos (linhagem FL3) aderidos sobre os fragmentos experimentais. (A) Grupo I – Apicetomia com Fresa Zecrya Endo; (B) Grupo II – Apicetomizados com laser de Er:YAG e (C) Grupo III – Apicetomizados com laser de Er:YAG + laser de Nd:YAG.

Em (B) houve o maior número de adesão celular. Amostra do grupo III (C) apresentou o quadrante com o maior número de células aderidas. A amostra A apresentou menor número de fibroblastos. Aumento original de 500 X.

Estatisticamente houve diferença significativa entre o Grupo I e o Grupo II, não havendo diferença significativa entre o Grupo II e o Grupo III. .

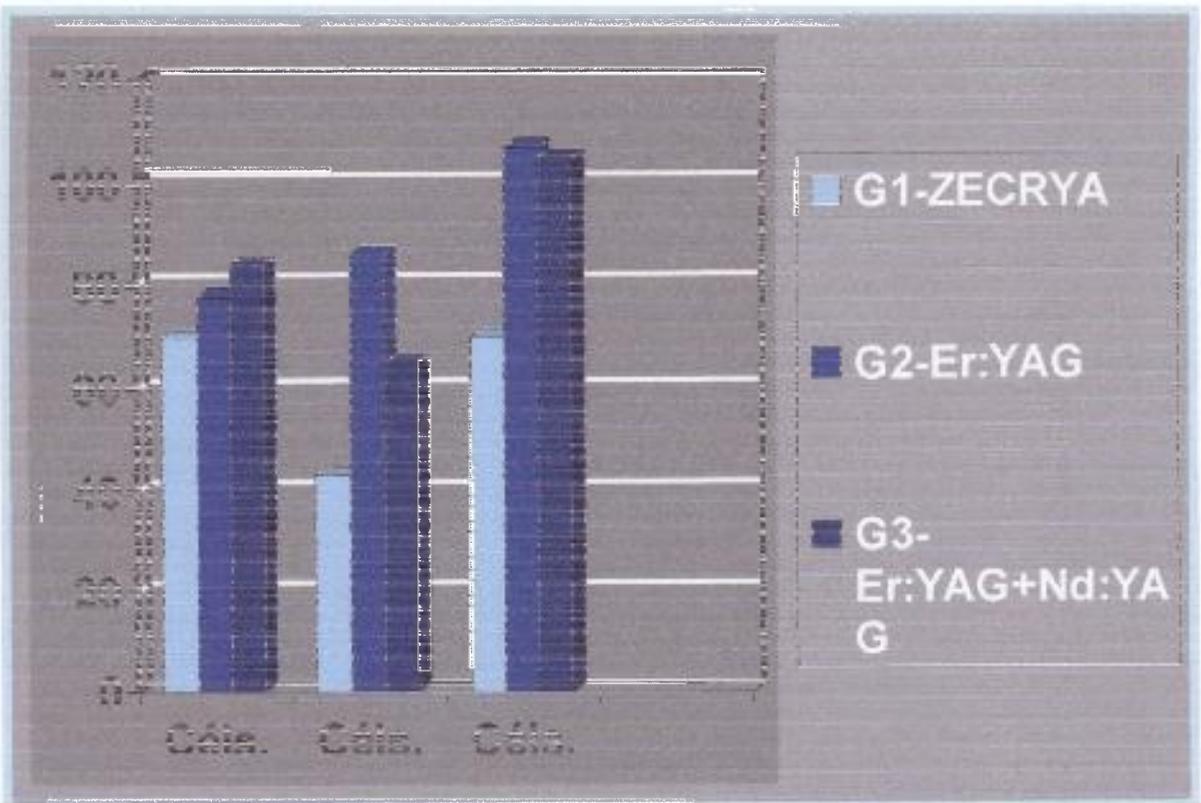


Gráfico 5.1- Representação gráfica da média do número de células aderidas sobre a superfície de cada um dos fragmentos.

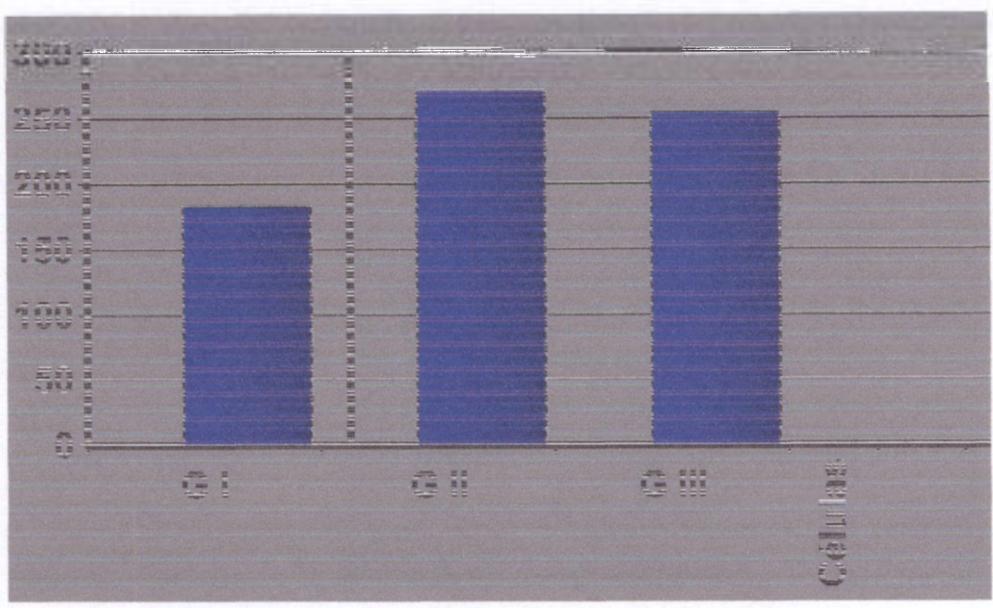


Gráfico 5.2- Representação gráfica da média do número de células aderidas sobre a superfície de cada grupo .

6- DISCUSSÃO

6- DISCUSSÃO

A necessidade da cirurgia paraendodôntica, objetivando a manutenção do órgão dental, se faz na existência de patologias perirradiculares persistentes após o tratamento e / ou retratamento endodôntico; na presença de instrumentos endodônticos fraturados, principalmente no terço apical; dilacerações apicais; desvios e perfurações radiculares; reabsorções externas, internas comunicante e calcificações radiculares, reabsorções crateriformes cementárias e dentinárias na porção apical; manutenção da sintomatologia dolorosa; presença de exsudato persistente; lesões em capuz e cistos radiculares (Bevilacqua, 1962; Moura e Cipelli, 1992; Moura *et al.*, 1995; Sayago *et al.*, 1999).

A curetagem apical chegou a ser considerada uma modalidade cirúrgica; atualmente é aceita somente como um recurso que permeia os demais. Não deve ser instituída como único procedimento quando a patologia estiver relacionada com o canal radicular, devendo ser acompanhada pela remoção da porção radicular apical (Sayago *et al.*, 1999). A apicetomia consiste na ressecção do ápice da raiz que pode ser realizado com diferentes tipos de fresas. Puricelli (1992), indica as brocas 700 (tronco-cônica) ou fresas cirúrgicas em baixa rotação, Lecanda, 1968; Grossman, 1973; Arens *et al.*, 1981; Taylor *et al.*, 1984 sugerem o uso de brocas de fissura picotada nº. 701 para baixa rotação, visando a obtenção de uma superfície mais lisa e com menor quantidade de resíduos. Estudos em MEV demonstram que a broca Zekrya produz superfície de corte mais regular e menor deslocamento

do material obturador, com diferenças estatisticamente significativas (Morais, 1997; Moraes e Bernardineli, 2001). De acordo com Molven *et al.* 1991, o corte apical deve ser realizado removendo-se de 2 a 3 mm por ser esta considerada a porção radicular do dente com polpa necrosada contaminada e lesão periapical discernível radiograficamente e presença de microrganismos em 83,3% dos casos.

Neste presente estudo, as raízes dentárias, de dentes humanos extraídos e tratados endodônticamente, foram cortadas a 3 mm do ápice. No Grupo I, com a fresa Zekrya; no Grupo II, com o laser de Er:YAG com densidade de energia de $45\text{J}/\text{cm}^2$ e no Grupo III com o laser de Er:YAG associado ao laser de Nd:YAG com densidade de energia de $45\text{J}/\text{cm}^2$ e $145\text{J}/\text{cm}^2$, respectivamente.

O laser de Er:YAG foi aprovado pelos órgão dos Estados Unidos da América, Food and Drug Administration (FDA), para ser utilizado nos tecidos duros dentários em 1997 (Cozean *et al.*, 1997). Com comprimento de onda de $2,94\ \mu\text{m}$, promove a remoção de dentina e esmalte, pelo processo de ablação mecânica por microexplosões, sem provocar danos térmicos aos tecidos e com a vantagem da irrigação concomitante à irradiação (Hibst e Keller, 1989; Keller e Hibst, 1989; Armengol *et al.*, 2000).

O laser de Nd:YAG, comprimento de onda $1,064\ \mu\text{m}$, promove na superfície de corte pós-apicectomia e pré-retrobturação, fusão, ressolidificação e recristalização da dentina observados em microscópio eletrônico de varredura (STABHOLZ *et al.*, 1992; Lage-Marques *et al.*, 1995)

Esses recursos vem sendo utilizados na realização das apicectomias em cirurgias pararendodônticas: o *laser* de Er:YAG, seguido ou não da aplicação do *laser* de Nd:YAG (Paghdiwala, 1993; Lage-Marques *et al.*, 1995; Gouw-Soares *et al.* 1996; Gouw-Soares *et al.* 1999 e 2001; Komori *et al.* 1997a; Camargo *et al.* 1998, Camargo *et al.*, 1999).

Gouw-Soares *et al.*, em 1999, verificaram em MEV que após a ressecção da porção apical das raízes dentárias, realizadas em cirurgias pararendodônticas, com *laser* de Er:YAG, a superfície encontrou-se limpa, sem lama dentinária e com os túbulos abertos. Após irradiação do *laser* de Nd:YAG com parâmetros de 100mJ, 15Hz e 1,5W observou-se fusão e recristalização, sem fendas ou trincas. Os mesmos parâmetros do *laser* de Nd:YAG foram utilizados neste experimento para a irradiação da superfície dentinária de corte.

Morfologicamente, observou-se neste estudo, nas eletronicografias obtidas no microscópio eletrônico de varredura, que a amostra do Grupo I, apicectomizada com a fresa zekrya endo apresentou ranhuras decorrentes da ação da broca e presença de camada residual de magma (Fig. 5.1); a amostra do Grupo II (com *laser* de Er:YAG) apresentou-se com irregularidades homogêneas, sem camada residual de magma, com exposição dos túbulos dentinários sem trincas e nem fusão da estrutura dentinária (Fig. 5.2) e a amostra do Grupo III (com o *laser* de Er:YAG e tratadas com *laser* de Nd:YAG) apresentou fusão e recristalização, contudo, sem fendas ou trincas (Fig. 5.3).

As observações do Grupo II coincidem com os resultados morfológicos observados em MEV por STABHÖLZ *et al.*, 1992; Lage-Marques *et al.*, 1995; Gouw-Soares *et al.*, em 1999.

No complexo processo de reparação, a migração e a adesão dos fibroblastos sobre a superfície radicular são fatores críticos (Pitaru & Melcher, 1983). Após a curetagem da loja cirúrgica, seguida do corte apical da raiz, os fibroblastos do ligamento periodontal entram em contato com a superfície apicectomizada, necessitando interagir com essa superfície, para a reconstituição da inserção conjuntiva (Fernyhough & Page, 1983). Por esta razão, neste estudo selecionou-se a linhagem celular FL3 estabelecida a partir de ligamento periodontal humano (Azevedo 2003) para analisar a biocompatibilidade das superfícies radiculares apicectomizadas. Foram plaqueadas 2×10^5 células de fibroblastos em cada fragmento.

Para avaliar os efeitos da superfície dentinária modificada com a fresa Zekrya e com os lasers de Er:YAG e de Nd:YAG, após a apicectomia, foi utilizada a técnica do cultivo celular (Aleo *et al.*, 1975).

Apesar dos resultados de experimentos *in vitro* não serem diretamente extrapolados para uma situação clínica, pode-se citar várias vantagens, tais como: condições experimentais controladas, baixo custo, rápida execução e menor envolvimento ético. Além disso, os estudos *in vitro* permitem investigar, separadamente, diferentes aspectos do complexo sistema *in vivo* (Schmaiz, 1994). Corroborando, Moura *et al.* (1978) verificaram que os métodos de estudo *in vivo* e *in vitro* se equivaleriam, quando se estuda a alteração morfológica do canal radicular, ou mesmo da superfície dentinária e cementária em dentes humanos.

A adesão celular sobre superfícies radiculares pode ser analisada de forma qualitativa ou quantitativa. A análise qualitativa permite verificar a presença e a morfologia das células aderidas. Para tanto, se a superfície do substrato for passível da passagem de luz, ou seja, for transparente, pode-se usar corantes, tais como: azul de metileno, azul de toluidina ou Giemsa (Cogen *et al.*, 1983; Fardal *et al.*, 1986).

Se a superfície não for transparente, pode-se lançar mão da microscopia eletrônica de varredura (Cogen *et al.*, 1984). A análise quantitativa pode ser feita a partir de culturas, independentemente da transparência ou não das superfícies do substrato onde as células aderiram. Três métodos diferentes podem ser utilizados na avaliação quantitativa da adesão celular: 1) Tripsinização e contagem em contador eletrônico ou hemocitômetro (Fernyhough & Page, 1983); 2) Marcação das células com isótopo radioativo e contagem no cintilador Gamma (Lowenberg *et al.*, 1984); 3) Contagem sobre eletromicrografias (Trylovich *et al.*, 1992). A técnica de tripsinização foi descartada porque os fragmentos eram muito pequenos. A marcação das células com isótopos radioativos não foi utilizada devido à indisponibilidade do material. Por isso, a contagem dos fibroblastos foi realizada sobre eletromicrografias padronizadas com aumento original de 500 X e distância focal de 20 mm. Thomas *et al.*, 1994, utilizando metodologia semelhante, mostraram que 3 eletromicrografias por espécime eram suficientes para representar a área total. Neste estudo utilizou-se 3 amostras para o experimento de adesão dos fibroblastos e obtidas 4 eletromicrografias, por amostra, tomadas do centro de cada quadrante.

Para a contagem dos fibroblastos, as eletronicografias das superfícies experimentais foram obtidas com uma grade quadriculada (contendo 48 quadrados). A seguir, um examinador calibrado, através de um estudo prévio, realizou as contagens (Feist *et al.*, 2001; por Trylovich *et al.* 1992 e Thomas *et al.* 1994). Os fibroblastos existentes em cada quadrado das eletronicografias foram contados separadamente. Quando havia confluência celular, o examinador calibrado fazia a contagem numa pequena área e calculava para a área total. De acordo com outros trabalhos prévios, neste experimento padronizou-se um número médio de células por quadrado onde havia confluência celular (Trylovich *et al.*, 1992; Thomas *et al.*, 1994; e Tewfik *et al.*, 1994).

Tewfik *et al.* (1994), observaram em superfícies radiculares que a adesão celular foi modificada pela aplicação do *laser* de Nd:YAG, estando diretamente relacionada à quantidade de energia liberada na superfície radicular, quanto maior a energia menor o número de células aderidas. A densidade de energia de 45 J/cm^2 (140 mJ / 10 Hz) com o *laser* de Er:YAG foi escolhida após um estudo piloto, contudo, torna-se imperioso a realização de outros estudos, com diferentes protocolos para que seja analisada interferência da quantidade de energia liberada na maior ou menor adesão de fibroblastos do ligamento periodontal humano na superfície radicular apicectomizada.

Feist (2002) em estudo realizado "in vitro" quanto a adesão e proliferação de fibroblastos da gengiva humana sobre superfícies radiculares tratadas com o *laser* de Er:YAG (Kavo Key II) com energia de 35 mJ/pulso e com energia de 59 mJ/pulso., concluiu que os fibroblastos aderiram e

proliferaram em todas as superfícies tratadas, no entanto, as superfícies tratadas com menor energia favoreceram a adesão e a proliferação de fibroblastos, com um número de células e a velocidade de proliferação maiores que nos demais grupos.

Os resultados deste estudo mostraram que todas as amostras dos 3 grupos experimentais apresentaram adesão das células de fibroblastos. As amostras do grupo II cortadas com o laser de Er:YAG (45 J/cm²; 140mJ/10Hz) totalizaram 271 células aderidas, seguido pelo grupo III cortadas com Er:YAG (45J/cm²; 140mJ/10Hz) e tratadas com o laser de Nd:YAG (145mJ/cm²; 1,5W; 100mJ e 15Hz) com um total de 254 células aderidas. No grupo I, cujas amostras foram cortadas com a fresa zekrya endo o menor número de fibroblastos aderidos totalizou 183 células.

Como o número de amostras utilizado foi pequeno, não foi possível verificar a normalidade. Assim o teste não-paramétrico Mann-Whitney foi usado.

Quando utilizou-se o Teste Mann-Whitney para verificar se a mediana de G1 era menor que a mediana de G2, o resultando foi $p = 0,04$, ou seja, há evidências estatísticas suficientes para afirmar que a mediana de G1 é menor que a mediana de G2, para $p < 0,05$.

Utilizando-se o Teste Mann-Whitney para verificar se a mediana de G1 era menor que a mediana de G3, o resultando $p = 0,19$, portanto, não há evidências estatísticas suficientes para afirmar que a mediana de G1 é menor que a mediana de G3.

Na hipótese do uso do Teste Mann-Whitney para verificar se a mediana de G2 era diferente da mediana de G3, testando a hipótese nula de que a mediana de G2 é igual à mediana de G3, o resultando foi $p = 0,66$, portanto não há evidências estatísticas suficientes para rejeitar a hipótese de que as medianas sejam iguais.

Os resultados mostram que, embora a quantidade de amostras seja pequena, há evidências estatísticas suficientes para afirmar que a quantidade de células aderidas no grupo II foi significativamente maior que no grupo I.

Os resultados desta pesquisa não puderam ser diretamente confrontados, porque, após exaustiva pesquisa de revisão de literatura não conseguiu-se localizar trabalho envolvendo adesão de fibroblastos em superfícies radiculares "apicectomizadas" com *laser* de Er:YAG. No entanto, constatou-se que as diferentes alterações morfológicas provocadas na dentina após a irradiação com o *laser* de Er:YAG e com o *laser* de Er:YAG + *laser* de Nd:YAG não interferiram na adesão dos fibroblastos sobre a superfície modificada, mantendo portanto a biocompatibilidade da superfície, fundamental para o processo de reparação.

Pode-se ainda acrescentar que a capacidade de redução microbiana destes lasers, demonstrado em inúmeros estudos e consagrado na literatura, torna-os excelentes instrumentos na cirurgia apical contribuindo significativamente no aumento do índice de sucesso, eliminando os microorganismos responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do processo periapical (Fegan & Steiman, em 1995; Gutknecht *et al.*, em 1996^a; Gutknecht *et al.* 1996b; Moritz *et al.*, em 1999),

7- CONCLUSÕES

7- CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia desenvolvida neste trabalho, baseado na análise das eletronicografias, obtidas em MEV, dos diferentes grupos experimentais, pode-se concluir que:

1- Todas as amostras dos 3 grupos experimentais apresentaram adesão dos fibroblastos do ligamento periodontal humano sobre as superfícies radiculares apicectomizadas.

2- A análise estatística demonstrou que o Grupo II apresentou quantidade de células aderidas significativamente maior que o Grupo I

3- As alterações morfológicas da superfície dentinária de corte produzidas pelas irradiações dos lasers de Er:YAG e de Nd:YAG e pelo uso da fresa Zekrya, mostraram serem viáveis para a adesão de fibroblastos do ligamento periodontal humano.

8-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-RASS, M.; BOGEN, G. Microorganisms in closed periapical lesions. *Int Endod J*, v.31, p.39-47, 1998

ALEO, J. J ; DE RENZIS, F. A. ; FARBER, P. A. In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces *J Periodontol*, Chicago, v 46,n 11,p 639-645, Nov. 1975.

ALLEN, R. K.; NEWTON, C. W.; BROWN, C. E. A statistical analysis of surgical and nonsurgical endodontic retreatment cases. *J Endod*, Baltimore, v. 15, n. 6, p. 261-266, Jun. 1989.

ARENS, D.E.; ADANS, W.R.; DeCASTRO, R.A. *Endodontic surgery*. Philadelphia: Harper& Row, p109-141, 1981. 239p.

ARENS, D.L.; LEVY, G.C.; RIZOIU, I.M.; A comparason of dentin permeability after bur and laser apicoectomy. *Compendium*, v.14, n.10, p.Oct. 1993.

ARMENGOL, V.; JEAN, A.; MARION, D. Temperature rise during Er:YAG end Nd:YAP laser ablation of dentin. *J Endod*, v.26, n.3, p.138-141, March 2000.

AUGUST, A. Long term, postsurgical results on teeth with periapical radiolucencies. *J Endod*, Baltimore, v. 22, n. 7, p.380-383, Jul. 1996.

BABAY, N. attachment of human gingival fibroblasts to periodontally involved root surface following scaling and/or etching procedures: a scanning electron microscopy study. *Braz Dent J*, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 17-21, 2001.

BADER, G., & LEJEUNE, S. Prospective study of two retrograde endodontic apical preparations with CO2 laser. *Endod Dent Traumatol*, Copenhagen, v. 14, p. 75-78, 1998.

BAUMGARTNER, J.C.; FALKLER-JÚNIOR, W.A. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod*, v. 17, p. 380-383, 1991

BERNABÉ, P. F. E., HOLLAND, R., KRÖLING, A. E., ZARDO, M., DEZAN Jr, E., SOUZA, W., NERY, M. J., OLIVEIRA FILHO, J. A. Influência do smear layer sobre a superfície dentinária exposta após a realização da apicectomia: remove-lo ou não? *R B O*, Rio de Janeiro, v. 5, n. 3, p. 120-125, maio/jun. 1999.

BEVILACQUA, S. Tratamento das periapicopatias. In: FIGUEIRA, J.; BEVILACQUA, S; MELLO, C.F. *Endodontia clínica*. Rio de Janeiro: Científica, 1962. p 321-327.

BRAMANT, C.M.; BERBERT, A. *Cirurgia Perendodôntica*. São Paulo. Santos, 2000. p.61-68, 131p.

CAMARGO, S.C.C.; GAVINI, G.; EDUARDO, C.P.; AUN, C.E.; COIL, J.M. In vitro evaluation of Er:YAG laser irradiation in apicoectomy and retrofilling cavity preparation compared to two different techniques. *Coil Spie proceedings series*, v.3248, p.196-205, jan. 1998.

CAMARGO, S.C.C.; GAVINI, G.; EDUARDO, C.P.; AUN, C.E.; RIBEIRO, L.W.; COIL, J.M. Association of Er:YAG and Nd:YAG irradiation for apicoectomy and retrofilling cavity preparation compared to conventional technique: a permeability study. In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM BIOMEDICAL OPTICS- LASER IN DENTISTRY*, V, San Jose, v. 3593, p. 2-6, jan. 1999.

COGEN, R. B.; GARRISON, D. C.; WEATHERFORD, T. W. Effect of various root surface treatments on the viability and attachment of human gingival fibroblasts. *J Periodontol*, Chicago, v. 54, n. 5, p. 277-282, 1983

DEDERCH, N. D.; ZAKARIASEN, K. L.; TULIP, J. Scanning Electron Microscopic Analysis of Canal Wall Dentin following Neodymium- Yttrium- Aluminum-Garnet Laser Irradiation. *J Endod*, Alberta, v. 10, n. 9p.428-431, set., 1984.

DEDERCH, N. D.; ZAKARIASEN, K. L.; TULIP, J. SEM analysis of dued canal dentin following Nd:YAG laser irradiation. *J Dent Res*, v.64, sp, Iss., p.239, 1985 (Abstract 581).

FARDAL, O.; AUBIN, J. E.; LOWENBERG, B. F.; FREEMAN, E. Initial attachment of fibroblast-like cells to periodontally-diseased root surfaces in vitro. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.13, n. 8, p. 735-739, 1986.

FEATHERSTONE, J. D. B. & NELSON, D. G. A. Laser effects on dental hard tissues, *Adv Dent Res*, v. 1, p. 21-26, 1987.

FEGAN, S. E.; STEIMAN, R. Comparative evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation: an in vitro study. *J Endod*, Chicago. V.21, n. 8, p. 415-417, Aug. 1995

FEIST, I.S. **Adesão e proliferação de fibroblastos de gengiva humana cultivados em superfícies radiculares tratadas com laser de Er:YAG.** 2002. Tese (Doutorado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FERNYHOUGH, W.; PAGE, R. C. Attachment, growth and synthesis by human gingival fibroblasts on demineralized or fibronectin-treated normal and diseased tooth roots. *J Periodontol*, Chicago, v.54, n. 3, p. 133-140, 1983.

FRESHNEY, R. I. **Culture of animal cells – a manual of basic technique.** 4th ed. New York: A John Wiley & Sons, 2000. 557p.

GOLDMAN, L.; GRAY, J.; GOLDMAN, B.; MEYER, R; Effect of laser beam impact on teeth **J Am Dent Assoc**, Chicago, v 70, p 601-606 1965

GOODIS,H.E et al. Effect of Nd: YAG laser on dentin permeability **J. Dent.Res.**v.71, p. 162,1992(Abstract 392).

GOUW-SOARES, S.C. **Avaliação da permeabilidade da superfície dentinária radicular após apicectomia e tratamento com os lasers de Er:YAG ou CO₂. Estudo in vitro.** 2001. Tese (Doutorado em Dentística) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GOUW-SOARES, S., LAGE-MARQUES, J. L; EDUARDO, C. P. Apicoectomy by Er:YAG laser: permeability and morphological study of dentine cut surface. In: **INTERNATIONAL LASER CONGRESS**, 1996, Greece. Proceedings..., Greece: Monduzzi, 1996 p 365-370

GOUW-SOARES, S., PELINO, J. E. P., HAYPEK, P., BACHMAN, L., EDUARDO, C. P. Temperature rise in cavities prepared by Er: YAG laser. **European Society for Oral Laser Applications Proceedings**, Viena, 2001(no prelo).

GOUW-SOARES, S., PELINO, J. E. P., HAYPEK, P., BACHMAN, L., EDUARDO, C. P. Temperature rise in cavities prepared by Er:YAG laser. **European Society for Oral Laser Applications Proceedings**, Viena, 2001(no prelo).

GOUW-SOARES, S., TANJI, E., HAYPEK, P., CARDOSO, W., EDUARDO, C. P. The use of Er:YAG, Nd: YAG and Ga-Al-As lasers in periapical surgery: Three years clinical study. **J Clin Laser Med Surg**, v 19, n 4, p 193-198, 2001.

GOUW-SOARES, S., TANJI, E.; MATSON, E.; LAGE-MARQUES, J.; EDUARDO, C. P. Apicoectomy with Er: YAG lasers. SEM and permeability

study of dentine cut surface. In: INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH – Division [B#-116], *J Dent Res*, v 78, n 5, p 1008, 1999.

GROSSMAN, I.L. *Práctica Endodòntica*. 7. ed. Buenos Aires: Mundi, p. 318-345, 1973. 407p.

GUTKNECHT, N.; MORITZ, A.; CONRADS, G.; SIEVERT, T.; LAMPERT, F. Bactericidal effect of the Nd: YAG laser in vitro root canal. *J Clin Laser Med Surg*, New York, v. 14, n. 2, p. 77-80, Aug, 1996a.

GUTKNECHT, N.; KAISER, F.; LAMPERT, F. Long term clinical evaluation of endodontically treated teeth using a FRP Nd:YAG laser *J Clin Laser Med Surg*, New York, v. 14, n. 1, p. 7-11, Feb. 1996b.

GUTMANN, J.L.; PITT FORD, T.R. Management of the resected root end: a clinical review. *Int Endod J*, v.26, n.5, p.273-283, 1993

HIBST, R.; KELLER, U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances; I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med*, New York, v. 9, n. 4, p. 338-344, 1989.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, Saint Louis, v. 20, n. 30, p. 340-349, Sept. 1965.

KELLER, U.; HIBST, R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances; II . Light microscopic and SEM investigations *Lasers Surg Med*, New York, v 9, n 4, p 345-351 1989

KLINKE, T., KLIMM, W.,GUTKNECHT, N. Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. *J Clin Lasere Med Surg*, New York, v. 15, n. 1, p. 29-31, 1997.

KOMORI, T., YOKOYAMA, K., MATSUMOTO, Y., MATSUMOTO, K. Erbium: YAG and Holmium: YAG laser root resection of extracted human teeth. *J Clin Laser Med Surg*, New York, v. 15, n. 1, p. 9-13, 1997a.

KOMORI, T., YOKOYAMA, K., TAKATO, T., MATSUMOTO, K. Clinical application of the Erbium: YAG laser for apicoectomy. *J Endod*, Baltimore, v. 23, n. 12, p. 748-751, 1997b.

KREISLER, M. et al. Effect of diode laser irradiation on the attachment rate of periodontal ligament cells: an in vitro study. *Journal of Periodontology*, Chicago, v. 72, t. 10, p. 1312-1317, 2001.

KVIST, T. & REIT CLAES. Results of endodontic retreatment: a randomized clinical study comparing surgical and nonsurgical procedures. *J Endod*, Baltimore, v. 25, n. 12, p. 614-617, Dec. 1999.

LAN, W.H.; CHEN, K.W.; JENG, J.H.; LIN, C.P. A comparison of the morphological changes after Nd:YAG laser irradiation of dentin surfaces. *J Endod*, Baltimore, v.26, n.8, p.450-459, Aug. 2000.

LAGE-MARQUES, J. L. Avaliação dos efeitos da irradiação laser, utilizando Nd: YAG, CO₂ e argônio no selamento dentinário e marginal de obturações retrógradas. 122f. São Paulo, 1997. Tese (Livre Docência em Endodontia) – Faculdade de odontologia da Universidade de São Paulo.

LAGE-MARQUES, J. L., EDUARDO, C.P., MATSUMOTO, K. Surgical treatment of endodontic over filling. High speed versus laser. *Dental Outlook*. Spec issue, p.174-182, 1995.

LEAL, J.M.; BAMPA, J.U. Cirurgias Pararendodônticas: indicações, contra-indicações, modalidades cirúrgicas. In: LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M.

Endodontia: Tratamento dos canais radiculares. 3ed. São Paulo. Panamericana, p.737-801, 1998. 920p.

LECANDA, M.C. Apicetomia. **Divulg Cult Odont**, v.120, p. 23-28, 1968.

LEVY, G. Cleanning and shaping the root canal with a Nd: YAG laser beam: a comparative study . **J . Endod**, v.18, n 3, p.123-7, mar.1992 .

LIU, H.C., LIN, C.P.; LAN, W.H. Sealing depth of Nd:YAG laser on human dentinal tubules. **J Endod**, v.23, n.11, p.691-693, nov. 1997.

LOWENBERG, B.F.; AUBIN, J.E.; PITARU, S.; MELCHER, A.H. A new 51 chromium assay for accurate measurement of cell attachment to demineralized and non-demineralized dentine in vitro. **J periodontal Res.** Copenhagen, v 19, n 1, p 40-50, 1984

MAILLET, W. A.; TORNECK, C. D.; FRIDMAN, S. Connective tissue response to root surfaces resected with Nd:YAG laser or burs . **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, Toronto, v.82, n.6, p.681 - 690, dec, 1996.

MARIOKA T. TAGOMORI S, NARA Y. Aplication of Nd: YAG laser and fluoride in the prevention of dental caries. **Proceedings of the international congress of laser in dentistry, Tokyo, Japan .5-6 August 1988, Excerpta medica**, 55-61 ,1989 .

MATTISON, G.D.; VON FRAUNHOFER, J.A.; DELVANIS, P.D.; ANDERSON, A.N. Microleakage of retrograde amalgams. **J Endod**, v. 11, n. 8, p.340-345, Aug. 1985

MISERENDINO, L. J.; ILL, W. The laser apicoectomy: endodontic application of the CO2 laser in periapical surgery. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.66, n. 5, p. 615-619, 1988.

MOLVEN, O., HALSE, A. GRUNG, B. Surgical management of endodontic failures: indications and treatment results. *Int Dent J*, Den Haag, v 41, n 1, p 33-42, Feb. 1991.

MOLVEN, O.; OLSEN, I.; KEREKES, K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod Dent Traumatol*, v.7, n.4, p. 226-229, Oct. 1991

MORAIS, C. A. H de. Avaliação da superfície radicular apical, após a ressecção com diferentes tipos de instrumentos (análise em microscopia eletrônica de varredura). Bauru, 1997. 175f. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

MORAES, C.A.H.; BERNARDINELLI, N. Avaliação da superfície radicular apical, após a ressecção com diferentes tipos de instrumentos. *J Bras Endo/Perio*, v.1, n.4, p.76-80, jan./mar. 2001

MORITZ, A.; DOERTBUDAK, O.; GUTKNECHT, N.; GOHARKHAY, K.; SCHOOP, U.; SPERR, W. Nd:YAG laser irradiation of infected root canals in combination with microbiological examinations. *J Am Dent Assoc*. Chicago, v. 128, p. 1525-1529, 1997

MORITZ, A.; SCHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; JOKALITSCH, S.; KLUGER, W.; WERNISCH, J.; SPEER, W. The bactericidal effect of Nd:YAG and Er:YAG irradiation in the root canal: an in vitro comparison. *J Clin Laser Med Surg* New York, v. 17, n. 4, p. 161-164, Apr 1999.

MOURA, A.A.M.; CIPELLI, S.R. Contaminação bacteriana extraradicular. *Anais do xv Congresso Paulista de Odontologia* P 75, jan 1992

MOURA, A.A.M.; FERNANDES, A.L.; STRAFEZZA, F. Cirurgias Pararendodônticas: indicações, contra-indicações e técnicas operatórias. *Rev Inst Ciênc Saúde*, v. 13, n.1, p 29-38, Jan/Jun. 1995

MOURA, A A M **Avaliação morfológica da superfície dentinária e cementária após apicectomia com broca Zekrya e com o laser de Er:YAG e irradiação direta e indireta com o laser de Nd:YAG.** Dissertação (Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002

NAIR, P. N. R., SJÖGREN, U., KAHNBERG, K. E., SUNDQVIST, G. **Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study.** *J Endod*, Baltimore, v.16, n. 12, p.580-588, dec.1990.

NEGRÃO, J.A.S. **Efeitos do Er:YAG laser na cirurgia periapical. Estudo em microscopia eletrônica de varredura.** Dissertação (Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001

NICHOLLS, E. **The role of surgery in endodontics.** *Br Dent J*, v.118, n.2, p.59-67, Jan. 1965.

PAGHDIWALA, A. F. **Root resection of endodontically treated teeth by Erbium:YAG laser radiation.** *J Endod*, Baltimore, v. 19, n. 2, p. 91-94, 1993.

PASHLEY, D.H.; MICHELICH, V.; KEHL, T. **Dentin permeability: effects of smear layer removal.** *J Prosth Dent*, v.46, n.5, p.531-537, Nov 1981

PITARU, S.; MELCHER, A. H. **Orientation of gingival fibroblasts and newlysynthesized collagen fibers in vitro.** *J Periodontal Res*, Copenhagen, v. 18, n. 5, p. 483-500, Sept., 1983.

PITARU, S.; GRAY, A.; AUBIN, J.E.; MELCHER, A.H. The influence of the morphological and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontal Res*, Copenhagen, v.19, p. 408-418, 1984.

PURUCELLI, E. Cirurgia periapical – estágio atual. In: Bottino, M.A.; FELLER, C. *Atualização na clínica odontológica: o dia-a-dia do clínico geral*. São Paulo. Artes Médicas. P.23-32, 1992.

RETON –HARPER, P MIDDIA , Nd:YAG laser treatment of dentinal hypersensitivity. *Br. Dent. J.*, v.11, p.13-6, jan. 1992.

RUANO, R; JAEGER, R. G.; JAEGER, M. M. Effect of a ceramic and a non-ceramic hydroxiapatite on cell growth and procollagen synthesis of cultured human gingival fibroblasts. *J. periodontal*, Chicago, v 71, n. 4 p. 540-545, Apr. 2000

RUD,J.; ANDREASEN,J.O. Operative procedures in periapical surgery with contemporaneous root filling. *Int J Oral Surgery*, v.10, n.4, p. 140-145, Apr. 1985.

SAYAGO, M.E.M.; PINTO, P.L.M.; COLLESI, J.P.P. Cirurgia perirradicular. In: LOPES, H.P.; SIQUEIRA JR, J.F. *Endodontia: Biologia e Técnica*. Rio de Janeiro: Medsi, p.577-613, 650p. 1999.

SCHMALZ, G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials-advantages and limitations. *J Dent*, Bristol, v. 22, p.S6-S11, 1994. Suplemento

STABHOLZ, A., KHAYAT,; WEEKS , D. A. ; NEEV ,J.; TORABINEJAD , M. Scanning electron microscopic study of the apical dentine surfaces lased with Nd: YAG laser following apicectomy and retro fill. *International Endodontic Jornal*, Jerusalem, v.25, p. 288 – 291, 1992.

STERN, R. H.; SOGNAFS, R. F. Laser beam effect on dental hard tissues. *J. Dent. Res.*, Chicago, v. 43, n. 5, p. 873. 1964.

TAYLOR, G.N.; BUMP, R. Endodontic considerations associated with periapical surgery. *O Surg O Med O Pathol.* v.58, p. 450-455, 1984

TANJI, E. Y., GOUW-SOARES, S., EDUARDO, C. P. S.E.M. of root canals irradiated with Er:YAG and Nd:YAG lasers. In: International Association for Dental Research - Division Abstracts, *J Dent Res*, Washington, v. 78, n. 5, p. 976, 1999.

TERRANOVA, V.P.; MARTIN, G.R. Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure. *J Periodontal Res*, Copenhagen, v.17, n 5, p 530-533, Sept, 1982

TEWFIK, H.M.; GARNICK, J.J.; SCHUSTER, G.S.; SHARAWY, M.M. Structural and functional changes of cementum surface following exposure to a modified Nd:YAG laser. *J PERIODONTOL*, Chicago, v.65, n.4, p. 297-302, Apr. 1994.

THOMAS, D.; RAPLEY, J.; COBB, C.; SPENCER, P.; KILLOY, W. Effects of Nd:YAG laser and combined treatments on in vitro fibroblast attachment to root surfaces. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.21, n. 1, p. 38-44, Jan. 1994.

TIDMARSH, B. G. & ARROWSMITH, M. G. Dentinal tubules at the root end of apicected teeth: a scanning electron microscopic study. *Int Endodon J*, Oxford, v. 22, p. 164-169, 1989.

TRYLOVICH, D.J.; COBB, C.M.; PIPPIN, D.J.; SPENCER, P.; KILLOY, W. J. The effects of the Nd:YAG laser in vitro fibroblast attachment to endotoxin-

treated root surfaces. *J Periodontol*, Chicago, v.63, n.7, p. 626-632, July, 1992

TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; CERVONE, F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol*, Copenhagen, v. 6, n. 2, p. 73-77, 1990.

TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; RISO, K.; SLOTS, J. Extra-radicular infections. *Endod Dent Traumatol*. Copenhagen, v. 3, p. 86-90, 1987.

VON ARX, T. & WALKER, W. A. Microsurgical instruments for root-end cavity preparation following apicoectomy: a literature review. *Endod Dent Traumatol*, Copenhagen, v. 16, p. 47-62, Apr. 2000.

WFICHMAN, J A ; JOHNSON, F M ; NITTA, I K Laser use in endodontics · *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v.34, n.5 p.828-830, Nov. 1972.

WESTON, G.D.; MOULE, A.J.; BARTOLD, P.M. A scanning electron microscopic evaluation of root surfaces and the gutta-percha interface following root-end resection in vitro. *Int Endod J*, v.32, p.450-458, 1999.

WHITE, J .M, GOODIS, H.E., COHEN, J .N. Bacterial reduction of contaminated dentin by Nd: YAG laser. *J. Dent.Res.*, v. 70,p 412,1991.

WONG, W. S.; ROSENBERG, P. A.; BOYLAN,R. J .;SCHULMAN ,A . A comparison of the apical seals achieved using retrograde amalgam fillings and the Nd: YAG laser. *Jornal of Endodontics*, New York, v.20, n12, p.595 – 597, Dec, 1994.

ZEZELL, D. M. *Curso Clínico de laser em odontologia*, São Paulo: FUNDECTO/USP, 2001. Apostila de curso