

UNIVERSIDADE TIRADENTES
CURSO DE ODONTOLOGIA

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE LASER DE BAIXA POTÊNCIA
(LLLT) E AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL (MTA) SOBRE O
REPARO ÓSSEO ALVEOLAR EM MODELO ROEDOR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
a Coordenação do Curso de Odontologia da
Universidade Tiradentes como parte dos
requisitos para obtenção do grau de bacharel
em Odontologia.

Paulo Vitor Oliveira de Oliveira
Ricardo Luiz Cavalcanti Albuquerque Jr.

ARACAJU/SE
Junho/2010

Paulo Vitor Oliveira de Oliveira

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE LASER DE BAIXA POTÊNCIA
(LLLT) E AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL (MTA) SOBRE O
REPARO ÓSSEO ALVEOLAR EM MODELO ROEDOR**

Aracaju, 20 / 05 / 2010

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado a Coordenação do Curso
de Odontologia da Universidade
Tiradentes como parte dos requisitos
para obtenção do grau de bacharel em
Odontologia.

Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Jr. – orientador
(presidente)
UNIT

1ª examinador
UNIT

2ª examinador
UNIT

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.”.

Roberto Shinyashiki

Agradecimentos

Não tem como algo dar certo sem trabalho e dedicação. Foram quatro anos e meio de muito esforço e muita entrega. E, tudo isso levou ao meu objetivo: Formatura! Uma grande etapa ficou para trás e, sei que uma maior ainda está por vir.

Quero agradecer primeiramente a Deus, por se fazer presente em todos os momentos da minha vida, me guiando, me livrando de todo mal e me dando coragem, saúde e perseverança para vencer.

Aos meus pais e irmã, capazes de abdicar de tudo por mim. Foram vocês que sorriram e choraram comigo e mesmo distantes ajudaram a vencer muitos obstáculos.

Aos meus familiares, namorada, amigos e todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram dessa conquista.

Aos mestres, que transmitiram seus conhecimentos e experiências, nos preparando a enfrentarmos as dificuldades e vencê-las. Quero agradecer em especial ao professor, orientador e amigo Ricardo. Foi quem abriu as portas para mim dentro da Universidade, em que na disciplina a ser ministrada por ele, fui o monitor, onde me ajudou sendo prestativo e passando seu conhecimento de uma forma descontraída. Obrigado por tudo. Sempre serei grato.

Enfim, gostaria de agradecer a todos que, mesmo distantes, transmitiam energia e vibrações, sempre torcendo pela nossa vitória.

EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE LASER DE BAIXA POTÊNCIA (LLLT) E AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL (MTA) SOBRE O REPARO ÓSSEO ALVEOLAR EM MODELO ROEDOR

Paulo Vitor Oliveira de Oliveira, Evelyne Aragão Oliveira, Maria Amália Gonzaga Ribeiro, Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior.

RESUMO

O Agregado de Trióxido Mineral (MTA) tem sido empregado com sucesso em procedimentos de apicificação, e parece ser um biomaterial promissor para acelerar o reparo ósseo. Em razão de suas propriedades bioestimulatórias, a Terapia a Laser de Baixa Potência (LLLT) vem sendo bastante utilizada para aprimorar o reparo de lesões mucocutâneas e ósseas. Assim, este estudo objetivou avaliar o efeito da associação entre LLLT e MTA sobre o reparo alveolar. Para tanto, foi extraído o incisivo superior direito de 20 ratos *Wistar*, divididos em 4 grupos de acordo com o tratamento do alvéolo: G1- sem tratamento; G2- tratado com MTA; G3- tratado com LLLT ($\lambda 780$ nm, 40 mw, 16 J/cm²); G4- tratado com associação entre LLLT e MTA. Os animais foram sacrificados com 14 dias após exodontias e as maxilas foram removidas e processadas histologicamente. Observou-se que apenas em G1, a neoformação óssea foi limitada a porção alveolar apical, com reação de granulação exuberante na porção cervical. Em G2 o tecido ósseo mostrou-se irregular e delgado, com hiperemia e inflamação crônica. Em G3 e G4 houve substancial formação de trabéculas ósseas entrelaçadas espessas, com evidente pavimentação osteoblástica. A área média de osso neoformado em G1 ($1,5 \pm 0,41$ mm²) foi significativamente menor que em G2 ($2,1 \pm 0,93$ mm²), G3 ($2,8 \pm 0,71$ mm²) e G4 ($2,7 \pm 0,74$ mm²), e que G3 e G4 foram maiores que G2 ($p < 0,05$). Concluiu-se que LLLT mostrou-se mais eficiente em aumentar a neoformação óssea alveolar, independente de sua associação ao MTA.

Palavras-Chave: Biomateriais, regeneração óssea, laser de baixa potência.

EFFECT OF THE ASSOCIATION BETWEEN LOW LEVEL LASER THERAPY (LLLT) AND MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE ON THE ALVEOLAR BONE REPAIR IN RODENT MODEL

Paulo Vitor Oliveira de Oliveira, Evelyne Aragão Oliveira, Maria Amália Gonzaga Ribeiro, Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Júnior.

ABSTRACT

Mineral trioxide aggregate (MTA) has been successfully employed in apicification procedures, and it seems to be a promising biomaterial for improving bone regeneration. Due to its biostimulatory properties, low level laser therapy (LLLT) has been widely used to improve mucocutaneous wound healing. Therefore, the goal of this study was to evaluate the effectiveness of the association between LLLT and MTA on the alveolar socket bone repair. Thus, the superior incisors of 20 *Wistar* rats were extracted, and the animals were assigned into 4 groups, according to the treatment of the alveolar socket: G1 – untreated; G2 – treated with MTA; G3 – treated with LLLT ($\lambda 780$ nm, 40 mw, 16 J/cm²); G4 – treated with the association of MTA and LLLT. The animals were euthanized after 14 days and the maxillas were removed, formalin-fixed, decalcified and paraffin-embedded. It was observed that in G1 the bone formation was limited to the apical alveolar area, with exuberant granulation tissue in the superficial zones. In G2, the bone tissue showed to be thin and irregular, with hyperemia and chronic lymphocytic infiltration. In G3 and G4 there was substantial formation of interconnected thick bone trabeculae, with conspicuous osteoblastic rimming. The mean area of neoformed bone in G1 (1.5 ± 0.41 mm²) was significantly lower than in G2 (2.1 ± 0.93 mm²), G3 (2.8 ± 0.71 mm²) and G4 (2.7 ± 0.74 mm²), and that G3 and G4 were significantly higher than in G2 ($p < 0.05$). In conclusion, LLLT itself was shown to be more efficient in improving the alveolar bone repair, irrespective the association with MTA.

Key-words: Biomaterials, bone regeneration, low level laser therapy.

1 INTRODUÇÃO

Diversos materiais têm sido testados na última década no intuito de acelerar o reparo alveolar após extrações dentárias. Contudo, a despeito dos esforços de muitos pesquisadores, nenhum material tem se mostrado plenamente eficiente¹. Tem sido relatado que o uso de determinados materiais em alvéolo dentário, tais como hidroxapatita microgranular (HÁ), fosfato tricálcico e cimento de ionômero de vidro parecem retardar o processo de reparo alveolar¹⁻³. Contudo, estudos recentes têm descrito resultados promissores quanto a neoformação e regeneração de tecido ósseo perdido⁴⁻⁶.

O agregado de trióxido mineral (MTA) foi desenvolvido para fins endodônticos e tem se mostrado eficiente em estimular a neoformação cementária, além de induzir a regeneração das estruturas que compõem o ligamento periodontal⁷. Além disso, o MTA promove proteção eficaz do tecido pulpar, propiciando maior velocidade no reparo e manutenção conseqüente da vitalidade deste tecido, particularmente quando utilizado em associação com materiais seladores⁸. Também tem sido sugerido que o MTA parece modular a deposição cálcica nos tecidos conjuntivos, e, portanto poderia funcionar como agente indutor da osteogênese^{9,10}.

A terapia a laser de baixa potência (*low level laser therapy* – LLLT), no espectro vermelho e infravermelho, vem sendo utilizada com sucesso na modulação de uma série de eventos biológicos, fenômeno conhecido como fotobiomodulação. Adicionalmente, tem sido relatado que determinados protocolos de fotobiomodulação a laser são capazes de estimular a neoformação óssea em experimentos *in vivo* e *in vitro*¹¹.

Os resultados positivos obtidos a partir da combinação entre o uso de materiais osteocondutores e a LLLT na aceleração substancial do reparo ósseo têm aberto um amplo e encorajador campo de pesquisa¹²⁻¹⁵. Embora existam alguns relatos investigando o papel da associação entre MTA e LLLT, eles estão basicamente focados no universo dos procedimentos endodônticos. Portanto, frente ao exposto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da

associação entre LLLT ($\lambda 780\text{nm}$) e MTA no processo de reparo ósseo alveolar após a exodontia em modelo roedor.

2 METODOLOGIA

Foram utilizados para o desenvolvimento deste estudo 20 ratos "*Rattus Norvegicus Albinus, Rodentia Mammalia*", da linhagem Wistar, provenientes do Biotério da Universidade Tiradentes-UNIT, o tamanho da amostra está baseado em estudos semelhantes realizados por Campanha (2003) e por Meireles et al (2004); Gerbi, (2004).

O experimento foi desenvolvido em cinco fases seqüenciais, a saber: adaptação; exodontia; constituição dos grupos; tratamento; sacrifício e ensaio histomorfológico laboratorial.

Adaptação - Antes do início dos procedimentos experimentais, os animais foram manipulados por uma semana, para reduzir ao máximo o estresse do mesmo. Inicialmente foi realizado o exame clínico, identificação, pesagem e o alojamento dos animais em gaiolas contendo maravalha, sendo que a limpeza da mesma deve ser em dias alternados. Os animais foram mantidos à temperatura ambiente, receberam água e ração (Nuvilab®) *ad libitum*, em regime de luz com ciclo claro-escuro de 12h até completarem dois meses de idade, quando foram operados.

Exodontias - Com 60 dias de idade, peso médio de 250g, os animais foram examinados, pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal (utilizando seringa e agulha estéril descartável marca B.D.) de tribromoetanol 2,5%, na dose de 1mL/100g de peso. Para assepsia foi utilizada solução tópica de iodo polividona 10% (forma aquosa para uso intraoral) (LM FARMA). Após cinco minutos, sob anestesia geral, foi efetuada sindesmotomia e exodontia do incisivo superior direito, com sindesmótomo e fórceps especialmente adaptados para esse fim. Todos os procedimentos foram efetuados dentro das normas de biossegurança, com uso de campo estéril (MedCare) com abertura apenas no local da cirurgia e também um campo cirúrgico para colocação dos instrumentais esterilizados.

Constituição dos grupos - Os 20 animais foram divididos em quatro grupos de cinco animais cada:

- **Grupo G1** – Cinco ratos tiveram seus incisivos superiores direitos extraídos e seus alvéolos permaneceram sem tratamento com MTA, laser ou ambos, atuando como grupo controle.
- **Grupo G2** – Receberam MTA (Ângelus® -São Paulo) no alvéolo após exodontia.
- **Grupo G3** –Receberam apenas fotobiomodulação a Laser λ 780nm (Twin Laser- MMOPTICS, São Carlos, São Paulo, Brasil), 40mW, CW, 16 J/cm² por sessão, divididos em quatro pontos de 4 J/cm² após exodontia.
- **Grupo G4** - Receberam MTA (Angelus® -São Paulo) no alvéolo após exodontia associado a fotobiomodulação a Laser λ 780nm (Twin Laser- MMOPTICS, São Carlos, São Paulo, Brasil), 40 mW, CW, 16 J/cm² por sessão, divididos em quatro pontos de 4 J/ cm².

Tratamento – Refere-se aos procedimentos de tratamento dos animais com MTA e laser. O MTA foi manipulado na proporção de 1:1(pó e líquido) em placa de vidro estéril e em seguida foi colocado nos alvéolos dentários expostos após as exodontias. As suturas foram realizadas utilizando fio de nylon 5.0 (TECH SYNT). Os animais não receberam medicação sistêmica auxiliar, tais como, antiinflamatório e antibióticos, pois a administração destes serviria de viés para o experimento.

Protocolo de fotobiomodulação – Os parâmetros da irradiação com Laser diodo, infravermelho próximo λ 780nm (Twin Laser- MMOPTICS, São Carlos, São Paulo, Brasil), área de 0,004 cm² da fibra óptica, 40mW, CW, 16J/cm² por sessão, divididos em quatro pontos numa densidade de energia de 4 J/cm². Os grupos em que foram aplicados a laserterapia, receberam um total de 4 irradiações a cada 48 h, sendo a primeira imediatamente após o ato cirúrgico, conforme protocolo descrito por Gerbi; Pinheiro, (2003).

Sacrifício dos animais - Os animais foram sacrificados após 14 dias após a cirurgia, com injeção intramuscular (seringa e agulha estéril descartável

– B.D de zoetil 0,8ml/kg, após 10 minutos e de Tio-Pental (Barbitúrico - CRYSTALIA) 0,43 ml/kg e 5 minutos após, Cloreto de Potássio (Ariston 19,1% 2,559 mEq/ml) 5ml/kg. A maxila dos animais foi desarticulada e a região dos incisivos devidamente seccionada com o uso de um macrótomo e lâmina de bisturi número 15.

Análise morfológica do reparo ósseo – As peças cirúrgicas foram identificadas e fixadas em solução de formol tamponado (tampão fosfato, pH 7,4) durante 24 horas; após a fixação os espécimes seguiram para descalcificação em solução de EDTA 5%. Subseqüente à descalcificação, os mesmos foram hemisseccionados e seguiram rotina histológica de desidratação, diafanização e inclusão em parafina. Foram realizadas secções histológicas de 5µm de espessura, as quais foram submetidas à coloração pela Hematoxilina/Eosina (H&E) para análise dos aspectos morfológicos. Por meio de microscopia de luz, foi avaliada a resposta local ao material implantado, o tipo celular, e padrão de reparo ósseo.

Análise Morfométrica da neoformação óssea – A intensidade da neoformação óssea alveolar foi mensurada avaliando a área ocupada por osteóide e osso neoformado na área da ferida cirúrgica. Para obtenção dos valores relativos a essas áreas, imagens digitalizadas da região foram capturadas (Sistema de Captura Digital de Imagens Olympus®, acoplada a microscópio binocular de luz), em aumento de 100x, e processadas em um programa de morfometria específico que faz uso do sistema RGB (Red, Green and Blue) - IMAGELAB® (SOFTIUM, SOFTWARE), específico para este fim.

Análise estatística – Os dados foram analisados e comparados entre si utilizando análise de variância (ANOVA), seguida da extensão *post-hoc* de Tukey. Diferenças entre os valores médios foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

Para facilitar a análise anterior dos dados, o espaço do alvéolo dental tenha sido dividido em duas partes: porção superficial e porção cervical ou profunda. Em todos os grupos houve neoformação óssea preenchendo

parcialmente o alvéolo, embora, de forma geral, a maior densidade de deposição óssea tenha ocorrido na porção cervical do alvéolo, enquanto que o infiltrado inflamatório, quando presente, se concentrava especialmente na porção superficial. No entanto, algumas particularidades foram observadas em cada grupo, e são descritas a seguir.

Em G1 observou-se, de forma geral, boa neoformação óssea, o trabeculado apresentando-se de espessura variável e hiper celularizado (figura 2 - G1a), com áreas de atividade osteoblástica proeminente intercaladas por zonas de reabsorção ativa (figura 2 - G1b). Na porção mais superficial, a neoformação óssea foi menos evidente, onde se observou edema intersticial, áreas hemorrágicas e focos de coágulo remanescente (figura 2 -s G1c e G1d). Destaca-se que, de permeio ao trabeculado ósseo depositado, foi possível evidenciar reação de granulação residual sob a forma de proliferação fibroblástica moderada e presença de densa rede vículo-capilar bastante hiperemiada. A infiltração leucocitária mostrou-se bastante discreta e constituída por raros macrófagos, linfócitos e plasmócitos.

Em G2 os espécimes examinados exibiram, na porção alveolar superficial, neoformação óssea escassa e limitada às margens do alvéolo (figura 2 - G2a). O tecido conjuntivo se mostrou predominantemente frouxo, com moderada infiltração linfocitária e proeminente hiperemia vascular (figura 2 - G2b). Na porção cervical, observou-se deposição de trabéculas ósseas maduras, de espessura variável, exibindo atividade osteoblástica proeminente. O tecido conjuntivo medular se apresentou predominantemente frouxo (figura 2 - G2c), embora em algumas áreas fosse possível evidenciar moderada fibrose medular (figura 2 - G2d). Destaca-se a presença de focos de deposição de material mineralizado globular e hipocelular, consistente com corpos psamomatóides.

Em G3 observou-se intensa neoformação de trabéculas ósseas anastomosadas e espessas, hiper celulares, com atividade blástica bastante evidente, em ambas as porções superficial (figura 2 - G3a) e cervical (figura 2 - G3b), embora na primeira o trabeculado ósseo fosse menos marcante. Em algumas áreas do espécime foi possível observar, na porção cervical, fibrose intersticial e focos de degeneração gordurosa (figura 2 - G3c). Evidenciou-se, ainda, a presença de reação de granulação residual, mas esta se limitou a

algumas poucas áreas focais (figura 2 - G3d). Raros macrófagos e linfócitos foram observados, particularmente na porção superficial do espécime.

Em G4 observou-se, na porção superficial, tecido conjuntivo fibroso neoformado, ricamente celularizado, permeado por trabéculas delgadas de osso imaturo neodepositado. Evidenciaram-se, ainda, alguns vasos sanguíneos hiperemiado e discreta infiltração inflamatória mononuclear (macrófagos e linfócitos) (figura 2 - G4a). Na profundidade, a deposição óssea foi mais evidente, as trabéculas assumindo morfologia entrançada (anastomosada), com intensa atividade osteoblástica, e aspecto delgado nas zonas centrais (figura 2 - G4b), embora mais espesso nas zonas marginais (figura 2 - G4c). Em alguns cortes foi possível identificar focos de fibrose significativa nos espaços intertrabeculares ou, ocasionalmente, circunjacente a glóbulos mineralizados de aspecto psamomatóides (figura 2 - G4d).

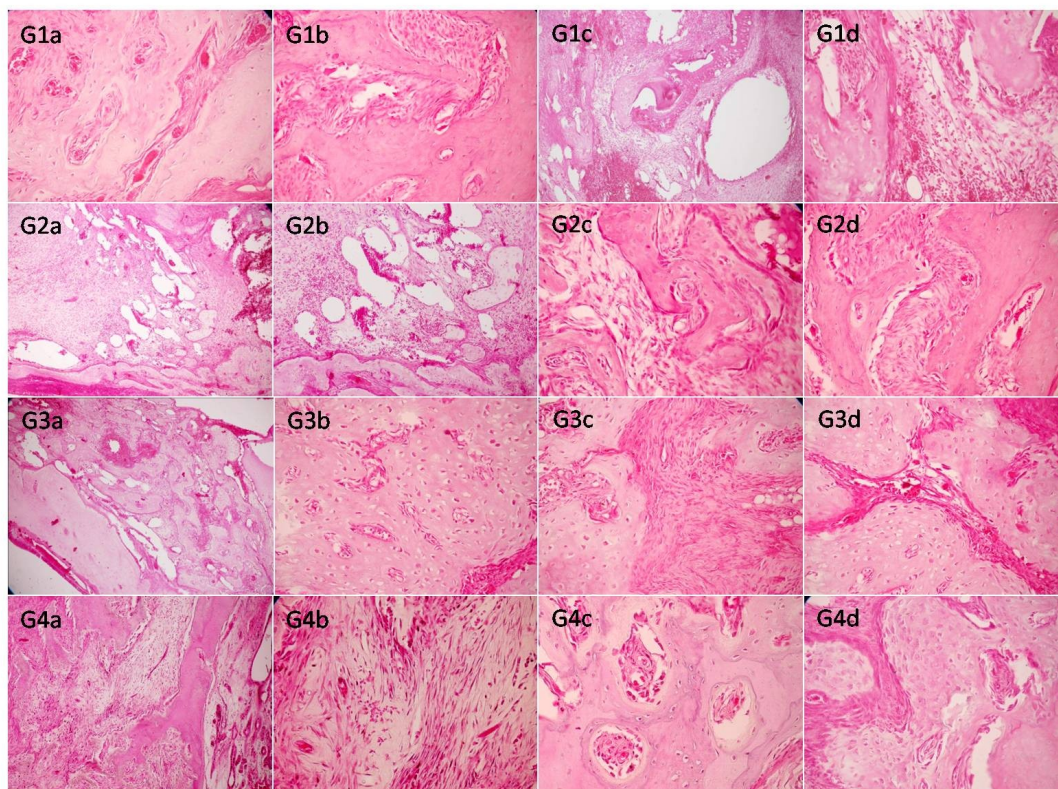


Figura 2. Secções histológicas coradas em HE. Maior neoformação óssea na porção apical (G1a/b, 400x) que na cervical (G1c/d, 100x) em G1. MTA residual na porção cervical (G2a, 100x e G2b, 200x) e trabeculado irregular bem formado (G2c/d, 400x) em G2. Neoformação óssea moderada na cervical do alvéolo (G3a, 100x) e intensa formação óssea espessa e hipercelularizada na porção apical (G3b, 400x), além de fibrose medular em G3. Trabeculado ósseo neoformado delgado e irregular (G4a, 100x), com intensa reação fibroblástica (G4b, 400x) na região cervical, e proeminente neoformação de

trabéculas ósseas anastomosadas e espessas (G4c, 400x) e fibrose medular (G4d) na porção apical do alvéolo em G4.

Conforme observado na tabela 1, a área de tecido ósseo neoformado em G1 foi significativamente menor que em G2, G3 e G4 ($p=0,000$). Os grupos G3 e G4 exibiram área de neoformação significativamente melhor que G2 ($p=0,03$ e $0,05$, respectivamente), mas não houve uma diferença significativa entre os dois (G3 e G4) ($p=0,16$).

Tabela 1. Área de neoformação óssea em alvéolos dentais de ratos após exodontia submetidos a diferentes tratamentos experimentais.

Grupo	Tratamento	Área de osso neoformado (mm ²)
G1	Sem tratamento	1,5 ± 0,41
G2	MTA	2,1 ± 0,93
G3	LLLT	2,8 ± 0,71
G4	MTA / LLLT	2,7 ± 0,74

MTA – Agregado de trióxido mineral; LLLT – laserterapia de baixa potência.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo, foi observada substancial formação de tecido ósseo reacional alveolar em todos os grupos estudados após 14 dias. Tais achados corroboram estudos prévios que afirmam que, em ratos, a ferida alveolar é preenchida por osso trabecular neoformado entre 15 e 21 dias ^{2,3}. Adicionalmente, a neoformação óssea foi mais evidente na profundidade dos alvéolos do que na porção mais superficial, corroborando estudos anteriores que indicaram que o reparo ósseo alveolar ocorre primeiro no terço mais profundo do alvéolo, estendendo-se posteriormente para a superfície ^{3,16,17}.

Estudos anteriores vêm demonstrando que a persistência da resposta inflamatória nas fases mais tardias do reparo ósseo alveolar poderia ser resultado de atividade fagocítica residual do coágulo sanguíneo ¹⁶, o que parece corroborar os achados evidenciados neste estudo, representados por substancial infiltração mononuclear associado á áreas hemorrágicas e presença de coágulo residual em G1. Contudo, o grupo G2 (tratado com MTA)

surpreendentemente também apresentou infiltração inflamatória mononuclear moderada e discreto edema na porção superficial dos alvéolos em reparação. Tais achados poderiam estar relacionados ao fato de que a manipulação de biomaterial exógeno no interior do alvéolo poderia deflagrar um sinal flogístico e determinar a persistência da inflamação, mesmo que de baixa magnitude ^{2,3}. Por outro lado, em ambos os grupos tratados com LLLT (G3 e G4) foi observada escassa infiltração inflamatória. Este fenômeno poderia ter relação com o fato de que a LLLT apresenta uma ampla gama de propriedades bioestimulatórias, incluindo atividade antiinflamatória ¹⁸⁻²⁰.

Entre os grupos analisados neste estudo, G1 exibiu o menor conteúdo de osso neoformado, particularmente na porção alveolar superficial, o que poderia estar relacionado à persistência da resposta inflamatória e edema intersticial nesta área. Achados morfológicos semelhantes também já haviam sido reportados em outros trabalhos ^{16,17}.

O padrão de regeneração óssea em G2 (tratados com MTA) se mostrou melhor que em G1 (controle), especialmente nas zonas mais profundas do alvéolo dentário, onde o trabeculado ósseo pareceu se formar ao redor do material exógeno implantado. Além disso, houve formação óssea significativamente maior em G2 que em G1. Estes dados são fortemente sugestivos de que o MTA aparentemente facilitou o processo de deposição óssea. A deposição de tecido mineralizado ao redor do MTA pode ter ocorrido em resposta as suas propriedades bioquímicas, tais como alcalinidade, e alto teor de fosfato de cálcio, óxido de cálcio e sílica ^{21,22}, que são constituintes inorgânicos amplamente requeridos durante a dinâmica da mineralização óssea ²³. Embora a neoformação óssea nas porções mais superficiais dos alvéolos dentários tenha sido menos substancial, provavelmente devido à atividade flogística secundária a manipulação do biomaterial durante o preenchimento do alvéolo aberto, esta foi claramente mais conspícua que no grupo controle. Além disso, áreas de mineralização globular (“corpúsculos psammatóides”) poderiam representar expansão de focos de calcificação distrófica, induzidas por lesão tissular secundária à inflamação tecidual, em resposta a abundante oferta local de minerais propiciada pelo MTA implantado. Achados similares foram reportados anteriormente utilizando outros materiais implantáveis com alto teor de cálcio ¹⁶.

Os grupos tratados com LLLT apresentaram os melhores padrões morfológicos de deposição óssea, o trabeculado se estendendo da profundidade a superfície do alvéolo. Destaca-se ainda, que a quantidade de osso depositada em ambos os grupos (G3 e G4) foi significativamente maior que nos dois grupos não irradiados (G1 e G2). Considerando que a matriz óssea (osteóide) é rica em colágeno tipo I ²⁴, os efeitos benéficos associados a LLLT observados neste estudo poderiam estar relacionados com sua capacidade de estimular a síntese de colágeno, conforme já discutido em estudos anteriores ^{25,26}. Além disso, resultados similares foram relatados na literatura, atestando o papel biomodulatório da LLLT sobre a neoformação óssea ^{15,27,28}. A presença de áreas de fibrose medular intersticial em ambos os grupos irradiados também parece ratificar essa teoria, já que a irradiação laser também parece estimular a proliferação e atividade fibroblástica medular, induzindo maior síntese de colágeno por esta população celular ^{28,30}.

Embora a associação entre MTA e LLLT (G4) tenha promovido deposição óssea trabecular mais intensa que em G1 e G2, esta não foi tão efetiva quanto a irradiação laser utilizada isoladamente (G3). Estes resultados parecem sugerir que a presença do MTA poderia ter alterado a dinâmica da fotoestimulação do reparo ósseo. Contudo, estudos prévios realizados em fêmur de ratos demonstraram resultados bastante positivos com relação a associação entre MTA e LLLT ³¹, de maneira que alguns autores vem especulando se a manipulação do material dentro do alvéolo poderia levar a um desarranjo parcial do coágulo e alterar o processo de regeneração óssea ³². Adicionalmente, os focos de calcificação globular “psamomatóide” foram maiores e mais coalescentes no grupo onde foi utilizada associação MTA/LLLT (G4) que naquele onde o MTA foi empregado isoladamente (G2). Sugerindo que a irradiação laser pode ter influenciado o aumento dessas massas calcificadas, provavelmente por estimular a síntese protéica (deposição de matriz osteóide ao redor dos núcleos biominerais (MTA). No entanto, estudos posteriores são necessários para elucidar esta teoria.

Diante dos resultados obtidos neste estudo, sugere-se que, embora tenha potencial para ser usado com sucesso em condições clínicas similares àsquelas simuladas neste estudo, associado ou não a LLLT, a irradiação laser, mesmo utilizada isoladamente, se mostrou mais efetiva em estimular o reparo

ósseo alveolar. Não obstante a possibilidade de extrapolação direta dos dados apresentados, estudos posteriores envolvendo MTA e outros protocolos de irradiação laser de baixa potência são necessários para assegurar sua eficiência em aplicações clínicas.

5 Conclusão

De acordo com a pesquisa realizada, é possível concluir que:

1. LLLT mostrou-se mais eficiente em aumentar a neoformação óssea alveolar.
2. O MTA apresentou potencial promissor para utilização como biomaterial para neoformação óssea alveolar.
3. A associação ao MTA, apesar de trazer resultados satisfatórios, foi menos eficiente que a utilização da LLLT isoladamente.

SOBRE OS AUTORES

Paulo Vitor Oliveira de Oliveira é graduando do curso de Odontologia da Universidade Tiradentes Monitor da matéria Diagnóstico Estomatológico Integrado III do curso de Odontologia – pvo088@hotmail.com. Evelyne Aragão Oliveira Graduada em Odontologia pela Universidade Tiradentes, (Aracaju/SE) evelyneo@hotmail.com

Maria Amália Gonzaga Ribeiro Graduada em Odontologia pela Universidade Federal de Sergipe (1994); Doutora em Laser em Odontologia pela Universidade Federal da Bahia (2006); Mestre em Endodontia pela Universidade Camilo Castelo Branco (1997); Atualmente é Professora Adjunta da disciplina Endodontia da Universidade Federal de Sergipe- UFS; Professora Convidada do curso de Especialização em Endodontia ABO/SE-endoribeiro@yahoo.com.br. Ricardo Luiz Cavalcanti de Albuquerque Junior Mestre em Patologia Oral pela UFRN (1998); Doutor em Patologia Oral pela UFRN (2002); Pesquisador do Instituto Tecnológico de Pesquisa (Aracaju/SE); Prof. titular de Diagnóstico Estomatológico Integrado do Curso de Odontologia e professor permanente do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, ambos da Universidade Tiradentes (Aracaju/SE) ricardo_luiz@unit.br.

REFERÊNCIAS

1. Brandão AC, Brentegani LG, Novaes Júnior AB, Grisi MF, Souza SL, Taba Júnior M, et al. Histomorphometric analysis of rat alveolar wound healing with hydroxyapatite alone or associated to BMPs. *Braz Dent J.* 2002; 13: 147-54.
2. Carvalho TL, Teófilo J, Araújo C, Brentegani L. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 26: 149-52.
3. Carvalho TL, Teófilo JM, Araújo CA, Brentegani LG. Chronology of alveolar healing following immediate implantation of Ricinus communis polyurethane resin: histometric analysis in rats. *J Biomed Mater Res.* 1997; 37: 449-52.
4. Balabanian CACA, Coutinho-Neto J, Lamano-Carvalho TL, Lacerda AS, Brentegani LG. Biocompatibility of natural latex implanted into dental alveolus of rats. *J Oral Sci.* 2006; 48:201-5.
5. Boix D, Weiss P, Gauthier O, Guicheux J, Bouler JM, Pilet P, et al. Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction: a study in dog. *J Mater Sci Mater Med.* 2006; 17: 1145-52.
6. Weng Y, Wang M, Liu W, Hu X, Chai G, Yan Q, et al. Repair of experimental alveolar bone by tissue-engineered bone. *Tissue Eng.* 2006; 12: 1503-13.
7. Witherspoon, D.E. and K. Ham, One-visit apexification: technique for inducing root-end barrier formation in apical closures. *Pract Proced Aesthet Dent.* 2001; 13: 455-60; quiz 462.
8. Faraco IM.Jr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol.* 2001; 17: 163-6.
9. Holland R, de Souza V, Nery MJ, Bernabé FE, Filho JA, Junior ED, et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod.* 2002; 28: 173-6.
10. Silva MJ, Vieira LQ, Sobrinho AP. The effects of mineral trioxide aggregates on cytokine production by mouse pulp tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105: e70-6.
11. Pinheiro AL, Gerbi ME. Photoengineering of bone repair processes. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24: 169-78.

12. Weber JB, Pinheiro AL, de Oliveira MG, Oliveira FA, Ramalho LM. Laser therapy improves healing of bone defects submitted to autologous bone graft. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24: 38-44.
13. Gerbi ME, Marques AM, Ramalho LM, Ponzi EA, Carvalho CM, Santos Rde C, et al. Infrared laser light further improves bone healing when associated with bone morphogenic proteins: an in vivo study in a rodent model. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26: 55-60.
14. Saltzman B, Sigal M, Clokie C, Rukavina J, Titley K, Kulkarni GVA. Assessment of a novel alternative to conventional formocresol-zinc oxide eugenol pulpotomy for the treatment of pulpally involved human primary teeth: diode laser-mineral trioxide aggregate pulpotomy. *Int J Paediatr Dent.* 2005; 15: 437-47.
15. Souza EB, de Amorim CV, Marques JL. Effect of diode laser irradiation on the apical sealing of MTA retrofillings. *Braz Oral Res.* 2006; 20: 231-4.
16. Coneglian PZA. Avaliação do processo evolutivo do reparo ósseo frente ao sulfato de cálcio e à hidroxiapatita. Estudo microscópico em alvéolos dentários de ratos ?dissertação?. Bauru (SP), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2007.
17. Gorustovich AA, Steimetz T, Nielsen FH, Guglielmotti MB. Histomorphometric study of alveolar bone healing in rats fed a boron-deficient diet. *Anat Rec (Hoboken).* 2008; 291: 441-7.
18. Sakurai, Y; Tamaguchi, M; Abiko, Y. Inhibitory effect of lowlevel Laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci.* 2000; 108: 29-34.
19. Freitas AC, Pinheiro AL, Miranda P, Thiers FA, Vieira AL. Assessment of inflammatory effect of 830 Laser light using C-reactive protein levels. *Braz Dent J.* 2001; 12: 187-90.
20. Mendez TM, Pinheiro AL, Pacheco MT, Nascimento PM, Ramalho LM.. Dose and Wavelength of Laser Light Have Influence on the Repair of Cutaneous Wounds. *J Clin Laser Med Surg.* 2004; 22: 19-25.
21. Menezes R, Bramante CM, Garcia RB, Letra A, Carvalho VGG, Carneiro E, et al. Microscopic analysis of dog dental pulp after Pulpotomy and

- pulp protection with mineral Trioxide aggregate and white portland cement. *J Appl Oral Sci.* 2004; 12: 104-7.
22. Naik S, Hegde AH. Mineral trioxide aggregate as a pulpotomy agent in primary molars: an in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2005; 23: 13-6.
 23. Patrick H, Bacon JA.. The effect of vitamin D upon bone mineralization of Ca45 and Sr89 as chlorides and as phosphopeptides. *J Biol Chem.* 1957; 228: 569-72.
 24. Saito M, Fujii K, Marumo K. Degree of Mineralization-related Collagen Crosslinking in the Femoral Neck Cancellous Bone in Cases of Hip Fracture and Controls. *Calc Tissue Int.* 2006; 79: 160-8.
 25. Pinheiro ALB, Frame JW. Laser em Odontologia seu uso e perspectivas futuras. *Rev. Gaúcha Odont.* 1992; 40: 327-32.
 26. Rocha-Júnior AM, Oliveira RG, Farias RE, Andrade LCF, Aarestruo FM. Modulation of fibroblast proliferation and inflammatory response by low-intensity laser therapy in tissue repair process. *An Bras Dermatol.* 2006; 81: 150-6.
 27. Garavello-Freitas I, Baranauskas V, Joazeiro PP, Padovani CR, Dal Pai-Silva M, da Cruz-Höfling MA.. Low-power laser irradiation improves histomorphometrical parameters and bone matrix organization during tibia wound healing in rats. *J Photochem Photobiol B.* 2003; 70: 81-9.
 28. Pinheiro AL, Limeira Júnior F A, Gerbi ME, Ramalho LM, Marzola C, Ponzi EA. Effect of low level laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. *Braz Dent J.* 2003; 14: 177-81.
 29. Pugliese LS, Medrado AB, Reis SR, Andrade ZA. The influence of low-level Laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Braz Oral Res.* 2003; 4: 307-13.
 30. Poon VK, Huang L, Burd A.. Biostimulation of dermal fibroblasts by sublethal Q-switched Nd: YAG 532nm Laser: collagen remodeling and pigmentation. *J Photochem Photobiol B.* 2005; 81: 1-8.
 31. Leahy JCK, Ribeiro MAG, Albuquerque-Júnior RLC, Barreto ALS, Oliveira VGM, Santana RA, et al. Estudo comparativo in vivo do efeito da irradiação Laser 780nm e do agregado de trióxido mineral (MTA) sobre o reparo ósseo em ratos. *Braz Oral Res* 2007; 21(suppl.1): 95-128.

32. Okamoto T, Okamoto R, Alves Resende MCR, Gabrielli MFR. Interface of the blood clot on granulation tissue formation after tooth extraction. Histomorphological study in rats. Braz Dent J. 1994; 5: 85-92.