



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JANAÍNA CORAZZA MONTERO

**EFEITO DA LEDTERAPIA À 940NM ASSOCIADA À  
PULPOTOMIA COM HIDRÓXIDO DE CÁLCIO EM INCISIVOS  
DE RATOS**

JANAÍNA CORAZZA MONTERO

**EFEITO DA LEDTERAPIA À 940NM ASSOCIADA À  
PULPOTOMIA COM HIDRÓXIDO DE CÁLCIO EM INCISIVOS  
DE RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Profa. Dra. Solange de Paula Ramos.

Londrina  
2015

### **Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

M778e Montero, Janaína Corazza..

Efeito da ledterapia a 940nm associada à pulpotomia com hidróxido de cálcio em incisivos de ratos / Janaína Corazza Montero. - Londrina, 2015.

49 f.: il.

Orientador: Solange de Paula Ramos.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Pulpotomia - Teses. 2. Polpa dentária - Doenças - Teses. 3. Capeamento da polpa dentária - Teses. 4. Fototerapia - Teses. I. Ramos, Solange de Paula. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. \b Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU 616.314.18

JANAÍNA CORAZZA MONTERO

**EFEITO DA LEDTERAPIA À 940NM ASSOCIADA À PULPOTOMIA  
COM HIDRÓXIDO DE CÁLCIO EM INCISIVOS DE RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dra. Solange de Paula Ramos  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Graziela Garrido Mori Panucci  
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

---

Prof. Dr. Osny Ferrari  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 14 de maio de 2015.

Dedico este trabalho a Deus que me proporcionou sabedoria e paciência para a conclusão deste curso.

## **AGRADECIMENTO (S)**

Aos meus pais Luiz e Aldinéia, e minha irmã Jaqueline, que viveram comigo esse sonho. Agradeço por sempre acreditarem em mim, vibrarem com minhas conquistas e sempre me mostrarem o quanto sou capaz, isso me fez nunca desistir.

Ao meu amado Luiz, pelo seu amor, companheirismo, compreensão, recebidos todos os dias. Não tenho palavras para dizer o quanto sua compreensão foi essencial nessa conquista. Sua presença em minha vida, fez com que cada dificuldade tivesse um amparo e cada alegria tivesse um sentido.

Agradeço a Família do Sr. Wilson, pelo carinho e apoio em todas minhas vitórias, obrigada por compartilharem todos os meus momentos.

Agradeço imensamente a minha orientadora Profa. Dra. Solange de Paula Ramos, pela oportunidade de realização desse trabalho, por me receber em seu laboratório, compartilhar seus conhecimentos. Mas agradeço principalmente pela sua paciência com minha ausência, pela sua acolhida como mãe. Tenho certeza que tudo isso foi essencial para a conclusão deste trabalho.

Agradeço aos meus queridos amigos de mestrado que dividiram comigo esses dois anos juntos, guardo cada um de vocês em meu coração. Em especial à amiga Debora Pigatto Mitihiro que compartilhou a orientação da Prof. Dra. Solange de Paula Ramos, e por conseguinte dividiu comigo os momentos, angústias, incertezas e tempo dedicado para a realização de nossos trabalhos.

Agradeço imensamente com carinho a meus exemplos de professores, Prof. Dra. Graziela Garrido Mori Panucci, Prof. Me. Marcelo Pomini e Prof. José Roberto de Barros Simões por me ensinarem a Endodontia e amor pela carreira acadêmica. Com certeza vocês foram os responsáveis pelo meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço a confiança em meu trabalho, hoje somos uma equipe, juntamente com o Prof. Me. Ericke Mucke Silva e a Prof. Me. Ligia de Moraes Teixeira, onde dividimos companheirismo e ensinamentos.

Muito Obrigada aos funcionários da UEL, Professores e alunos da graduação, entre eles, Halef Turini, Lorena Scudeller, Larissa Belieiro, Gabriele de Andrade Ribeiro, Aline Alves Campos e tantos outros que me ajudaram de alguma maneira.

MONTERO, Janaína Corazza. **Efeito da ledterapia a 940nm associada à pulpotomia com hidróxido de cálcio em incisivos de ratos**. 2015. 47 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

## RESUMO

Apesar dos avanços na prevenção da cárie dentária e o aumento da compreensão da importância de manter a dentição natural, muitos dentes ainda são perdidos prematuramente. Cáries extensas, remoção do tecido cariado e traumas mecânicos podem expor o tecido pulpar prejudicando a formação de dentina e desenvolvimento radicular em dentes jovens. O capeamento pulpar direto pode ser uma alternativa de tratamento financeiramente viável, e com alta taxa de sucesso, em relação ao tratamento endodôntico. A pulpotomia é definida como a remoção coronária da polpa dental, e capeamento pulpar do remanescente de tecido pulpar com um material adequado que protege a polpa de novas lesões e promove o reparo do complexo dentina-polpa. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da LEDterapia a 940nm sobre o reparo do tecido pulpar de incisivos de ratos Wistar machos submetidos a pulpotomia e capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio. Doze ratos Wistar machos de aproximadamente 300g foram submetidos a pulpotomia em seus incisivos superiores direito. O grupo Pulpotomia (P, n = 6) foram os dentes submetidos a pulpotomia e capeamento direto com hidróxido de cálcio e o grupo pulpotomia e LEDterapia (P + LED, n=6) foram os dentes submetidos a pulpotomia, LEDterapia a 940 nm e capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio. Os incisivos superiores esquerdos foram utilizados como controle contralateral não irradiado (C, n=6) e irradiado (C + LED, N=6). Os animais foram sacrificados após 7 dias para análise microscópica de densidade de vasos sanguíneos e células na polpa dentária, avaliação da camada de odontoblastos e formação de dentina secundária e terciária. Diferenças entre os grupo foram avaliadas pelos teste de Kruskal-Wallis e Dunn, ou teste exato de Fisher, considerando  $P < 0.05$ . Não foram observadas áreas de necrose pulpar, reação inflamatória e desorganização da camada odontoblástica em nenhum dos grupos. A densidade de vasos foi maior no grupo P, em relação a P + LED ( $P < 0.05$ ). A densidade de fibroblastos e a espessura da camada de pré-dentina foi maior no grupo C + LED e P + LED em relação aos grupos não irradiados ( $P < 0.05$ ). Os resultados sugerem que a LEDterapia a 940nm favorece a síntese de matriz e reparo do complexo dentina-polpa quando associado ao capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio.

**Palavras-chave:** Pulpotomia. Polpa dental. Ledterapia.

MONTERO, Janaina Corazza. **Effect of ledtherapy ate 940 nm associated with pulpotomy with calcium hydroxide on rats incisors.** 2015. 47 p. Dissertation (Master's Degree in Dentistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

### ABSTRACT

Despite advances in caries prevention and in knowledge about maintenance of natural dentition, too much tooth are still early lost. Large caries, mechanical removal of caries and trauma can expose the pulp tissue and harm dentin deposition and the root development of young teeth. The direct pulp capping may be one low cost alternative, with high success rate, to endodontic treatment. The pulpotomy is the removal of coronary pulp, and capping of remanent pulp with an inert material that protects pulp from a new injury. The aim of this work is to evaluate the effects of LEDtherapy at 940nm in repair of pulp tissue of male Wistar rats submitted to pulpotomy and direct pulp capping with calcium hydroxide. Twelve Wistar rats weighting 300g were submitted to pulpotomy in the right upper incisors. The Pulpotomy group (P, n = 6) were submitted to pulpotomy and direct pulp capping with calcium hydroxide and the Pulpotomy and LEDtherapy group (P + LED, n=6) were submitted to pulpotomy, LEDtherapy at 940 nm and pulp capping. The left upper incisors were used as controls without treatment (C, n=6) and irradiated (C + LED, N=6). The animals were killed after 7 days for microscopic analysis of blood vessels density, cell density in dental pulp, analysis of odontoblastic layer and deposition of secondary and tertiary dentin. Differences between groups were detected with Kruskal-Wallis and Dunn's test, or Fisher exact test, with  $P < 0.05$ . Pulp necrosis, inflammatory infiltration and disorganization of odontoblastic layer were not detected in any group. The blood vessels density were increased in P group in relation to P + LED ( $P < 0.05$ ). The fibroblast density and the height of predentine layer were increased in C + LED and P + LED groups in relation to non-irradiated ones ( $P < 0.05$ ). The results suggest that LEDtherapy at 940nm favors the matrix synthesis the repair of dentin when it is associated to the direct pulp capping with calcium hydroxide.

**Keywords:** Pulpotomy. Dental pulp. Ledtherapy



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Polpa dentária de incisivos superiores de ratos Wistar. A) Dente do grupo Controle (C), não tratados; B) dente do grupo C + LED, submetidos apenas da LEDterapia; C) dente do grupo P, submetidos a pulpotomia e capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio; D) dentes do grupo P + LED; submetido a pulpotomia, imediatamente irradiados com LED e capeamento pulpar direto de hidróxido de cálcio. Aumento de 40X, coloração de Hematoxilina e Eosina .....31
- Figura 2** – Número de vasos sanguíneos por área ( $10^4 \mu\text{m}^2$ ) de polpa dentária. C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia. \*\*\* $P < 0.005$ , C x P; #  $P < 0,05$ , P x PLED, Teste de Dunn .....32
- Figura 3** – Densidade de células da polpa dentária ( $10^4 \mu\text{m}^2$ ). C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia. \*\*\* $P < 0.005$ , C x C + LED; #  $P < 0,05$ , P x P + LED, Teste de Dunn .....33
- Figura 4** – Espessura mediana da camada de pré-dentina.(C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia.  $P > 0.05$  .....34
- Figura 5** – Espessura mediana da camada odontoblástica.C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia.  $P > 0.05$ . .....34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
LED	<i>Light-emitting diode</i>
nm	Nanômetro
J	Joule
mW	Miliwatt
mV	Milivolt

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO</b> .....	<b>25</b>
4.1	RESUMO .....	26
4.2	INTRODUÇÃO.....	27
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.4	RESULTADOS .....	31
4.5	DISCUSSÃO .....	35
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>ANEXO 1</b> .....	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A polpa dental é um tecido conjuntivo frouxo composto por odontoblastos, fibroblastos, vasos sanguíneos, nervos e fibras colágenas (Pereira, L. O. *et al.*, 2012). O tecido apresenta um reservatório de células-tronco sendo considerado um tecido candidato a terapias regenerativas, não só na odontologia, mas em áreas médicas variadas (Utsunomiya, 1998). No entanto, a capacidade de defesa da polpa é limitada, em razão de ser revestida por paredes de dentina, possuir pequeno volume e ausência de circulação colateral (Ohbayashi *et al.*, 1999)

A perda de vitalidade da polpa requer a substituição do tecido necrótico por um material obturador inerte e biocompatível. O tratamento endodôntico pode prevenir a perda do elemento dentário, com taxas de falhas, em até cinco anos, que variam de 8 a 19.1% (Bernstein *et al.*, 2012; Touboul *et al.*, 2014), com taxa anual de extração de 1,9% de dentes (Skupien *et al.*, 2013). Mas, o custo elevado, a perda de sensibilidade dentária e os riscos de falhas (fraturas, recidivas de cárie e infecção) são fatores limitantes da indicação de tratamento endodôntico, sendo considerado a preservação da vitalidade pulpar o tratamento de primeira escolha.(Bernstein *et al.*, 2012; Asgary e Ahmadyar, 2013)

O tecido pulpar pode receber estímulos mecânicos, químicos, físicos ou bacterianos. Cáries extensas, a remoção do tecido cariado e traumas mecânicos podem expor o tecido pulpar. Fatores como duração, tipo e gravidade desses estímulos podem causar reações inflamatórias reversíveis ou irreversíveis na polpa dentária. Em dentes de pacientes jovens, com cáries oclusais extensas e sem sintomatologia de dor, o capeamento pulpar direto pode ser uma alternativa de tratamento financeiramente viável, e com alta taxa de sucesso, em relação ao tratamento endodôntico (Aguilar e Linsuwanont, 2011; Schwendicke e Stolpe, 2014).

A preservação da vitalidade pulpar é muito importante para a continuação da formação de dentina e desenvolvimento radicular em dentes jovens e imaturos (Bakland, 2009; Keswani *et al.*, 2014; Borkar e Ataide, 2015). O tratamento conservador da polpa dentária em dentes com lesão cariosa ou exposição pulpar, pode garantir a preservação da vitalidade pulpar, reduzindo as chances de perda dentária (Yadav *et al.*, 2014). A pulpotomia é definida como a remoção parcial ou total da polpa dental coronária, sendo a polpa remanescente recoberta com um

material biocompatível que protege o tecido de novas lesões e promove o reparo do complexo dentina-polpa. (Eghbal *et al.*, 2009). O propósito desse procedimento é preservar a polpa radicular, evitar a dor e o inchaço e manter os dentes em função, prevenindo a má oclusão, problemas estéticos, fonéticos e funcionais que podem ser transitórios ou permanentes (Huth *et al.*, 2012; Yadav *et al.*, 2014). A realização da pulpotomia não limita-se aos dentes imaturos, qualquer dente independente da fase de desenvolvimento ou maturidade pode ser preservado após exposição accidental ou traumática se a polpa estiver saudável (Bakland, 2009).

O reparo da polpa após a pulpotomia é caracterizado pela formação de uma ponte de dentina que se desenvolve posteriormente ao capeamento pulpar usando o hidróxido de cálcio. Odontoblastos remanescentes e recém-diferenciados são responsáveis pela formação de dentina reparadora (Utsunomiya, 1998; Borkar e Ataide, 2015).

Muitos materiais dentários têm sido propostos para a realização da pulpotomia, entre eles destacam-se o Hidróxido de cálcio, o Agregado de Trióxido Mineral (MTA), Biodentine, Sulfato férrico, Óxido de zinco e eugenol, sendo os primeiros mais comumente empregados na prática clínica (Shirvani *et al.*, 2014).

Em 1929, Hess relatou uma técnica de pulpotomia utilizando o hidróxido de cálcio (Shirvani *et al.*, 2014). No entanto, o hidróxido de cálcio só tornou-se reconhecido como um importante material de capeamento pulpar após a sua utilização por MiomirCvek, em 1978 (Borkar e Ataide, 2015). O material apresenta-se como um pó branco, inodoro, com baixa solubilidade em água, elevado pH, é insolúvel no álcool, além de possuir ação clínica prolongada. É biocompatível, tem ação antimicrobiana, ação anti-inflamatória e ativa a enzima tecidual fosfatase alcalina, indutora da formação de tecido mineralizado e participante do processo de reparo (Estrela *et al.*, 1999; Fava e Saunders, 1999).

Estudos experimentais demonstram que após 6 a 12 horas da exposição pulpar e o capeamento direto com hidróxido de cálcio, ocorre a necrose do tecido pulpar superficial e da camada de odontoblastos (Sangwan *et al.*, 2013; Shigetani *et al.*, 2014). Um infiltrado inflamatório pode ser observado ao redor das áreas de necrose, após 12 horas (Shigetani *et al.*, 2014). Parece ocorrer um pico de proliferação e diferenciação de novos odontoblastos entre o segundo e terceiro dia após o capeamento pulpar e a deposição de nova camada de dentina se torna

evidente aos sete dias (Shigetani *et al.*, 2014). Em dentes humanos capeados com hidróxido de cálcio, ocorre a necrose por coagulação da camada superficial de polpa exposta e formação de um infiltrado inflamatório moderado, após 7 dias, e formação de dentina terciária após 30 dias (Sangwan *et al.*, 2013). Em dentes humanos, submetidos a capeamento pulpar direto, o padrão de dentina depositada é do tipo terciária reparativa, sem a formação característica de túbulos dentinários, com aprisionamento de células e vasos em algumas regiões e presença de odontoblastos, fibroblastos e fibras colágenas depositados sobre a superfície pulpar da dentina (Ricucci *et al.*, 2014).

Apesar do hidróxido de cálcio ser utilizado rotineiramente no capeamento pulpar direto de dentes com exposição pulpar por cárie ou trauma mecânico, a taxa de sucesso do tratamento é de aproximadamente 87,5% 68,5% e 59%, após 1, 2 e 10 anos, respectivamente (Aguilar e Linsuwanont, 2011; Hilton *et al.*, 2013; Mente *et al.*, 2014). As principais causas de falhas do capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio são a necessidade de tratamento endodôntico devido à sintomatologia dolorosa, necrose pulpar, desenvolvimento de lesão periapical assintomática ou extração (Aguilar e Linsuwanont, 2011; Hilton *et al.*, 2013; Mente *et al.*, 2014). Em dentes decíduos submetidos a pulpotomia e capeamento pulpar com hidróxido foram observadas áreas de necrose pulpar e reabsorção dentária interna, culminando em 42.9% de falha no tratamento, após 6 meses (Oliveira *et al.*, 2013).

Outro material usado para o capeamento pulpar direto é o Biodentine, composto de silicato tricálcico altamente purificado, silicato dicálcico, óxido de cálcio e carbonato, óxido de zircônio (radiopacificador), cloreto de cálcio e polímero. Tem a capacidade de estimular deposição de hidroxiapatita, não ser genotóxico e ser de baixa citotoxicidade (De Rossi *et al.*, 2014). Andiará *et al.*, 2014 utilizaram o Biodentine nas pulpotomias em cães, concluindo que o biodentine apresenta compatibilidade de tecidos e permitiu a formação de ponte de tecido mineralizado (De Rossi *et al.*, 2014). Um ensaio clínico, em molares permanentes, demonstrou que o Biodentine tem efeito semelhante ao MTA, induzindo a formação de osteodentina (dentina reparadora), sem áreas de infiltrado inflamatório subjacente a área de capeamento (Nowicka *et al.*, 2013).

O MTA apresenta-se como um material bioindutor que pode induzir a formação de tecido duro em contato direto com a polpa (Eghbal *et al.*, 2009; Shirvani *et al.*, 2014). É um material que possui boa vedação, capacidade de formação de

hidroxiapatita e é biocompatível. (Shirvani *et al.*, 2014). Apresenta taxa de sucesso de aproximadamente 80% após um período de 10 anos (Mente *et al.*, 2014). Mohammad JafarEghba *et al.*, 2009 realizaram pulpotomia com MTA em 14 molares de pacientes entre 16 e 28 anos. Após 2 meses, os dentes foram extraídos e avaliados histologicamente, concluindo que todas as amostras apresentaram formação de ponte de dentina, e as polpas remanescentes permaneceram vitais e sem sinais de inflamação (Shirvani *et al.*, 2014).

Apesar do sucesso relativo dos materiais comercialmente disponíveis, apresentados em ensaios clínicos, ainda existe uma taxa de falhas de até 72.9%, dependendo do tipo de material e tempo de acompanhamento clínico (Aguilar e Linsuwanont, 2011; Asgary e Ahmadyar, 2013; Hilton *et al.*, 2013; Mente *et al.*, 2014)

A fototerapia, utilizando a terapia com *laser* (*light amplification of stimulated emission of irradiation*) de baixa potência ou diodos emissores de luz (*light-emitting diodes* – LED), é baseada na absorção de luz do espectro vermelho ao infravermelho próximo (600 a 1010nm) pelos tecidos. Moléculas fotorreceptores, chamadas cromóforos, absorvem a luz e alteram o metabolismo celular, induzindo efeitos fotoestimuladores e fotomoduladores. A fototerapia têm efeitos sobre a proliferação celular, o aumento da atividade mitocondrial, aumento da síntese de matriz extracelular, inibição da resposta inflamatória, contribuindo para o reparo e regeneração tecidual (Ferriello *et al.*, 2010; Bossini *et al.*, 2012; Holder *et al.*, 2012; Pereira, L. O. *et al.*, 2012).

A fototerapia estimula a proliferação celular de fibroblastos e síntese de matriz extracelular por tecidos conjuntivos (Peplow *et al.*, 2010; Turrioni *et al.*, 2014). Além disso, estudos clínicos (Domínguez, 2013; Marques *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2015) e experimentais (Fekrazad *et al.*, 2014) demonstraram que a fototerapia pode estimular a síntese de dentina por odontoblastos.

Um estudo *in vitro*, com odontoblastos murinos imortalizados, demonstrou que a fototerapia (830nm) pode inibir ou estimular a proliferação e síntese de matriz de dentina, dependendo da dose (0.2 e 1J) e tempo de observação (7 e 10 dias) (Pereira, L. B. *et al.*, 2012). Um estudo, *in vitro*, com células mesenquimais isoladas de polpas humanas normais e inflamadas demonstrou que a fototerapia com *laser* (660nm, doses variando de 0.02 a 1.68J) não promoveu a proliferação e diferenciação celular, bem como síntese de matriz dentinária (Pereira, Luciana Oliveira *et al.*, 2012). A aplicação de LEDterapia a 830nm (densidade de potência de

4J/cm<sup>2</sup>) em cultura de células tronco isoladas de dentes decíduos promoveu a síntese de matriz extracelular (colágeno tipo I e *Dentin matrix protein -1*), além de aumentar a expressão de fosfatase alcalina (Turrioni *et al.*, 2014).

O cultivo *in vitro* de fibroblastos murinos na presença de hidróxido de cálcio, com ou sem a administração de fototerapia (680nm, uma aplicação, com densidade de potência de 4J/cm<sup>2</sup>) não alterou a taxa de proliferação celular, após 7 dias (Ferriello *et al.*, 2010). Um estudo recente demonstrou que a administração de Laser de baixa potência (660nm, 0,1J) em polpas de dentes decíduos submetidos à pulpotomia e capeamento direto com hidróxido de cálcio foi capaz de inibir significativamente a resposta inflamatória e a reabsorção dentária interna, além de estimular a síntese de dentina (Marques *et al.*, 2014). Outro estudo, utilizando os mesmos parâmetros de fototerapia, demonstrou que a associação de hidróxido de cálcio com a Laserterapia apresentou baixa taxa de falha clínica e radiográfica das pulpotomias de dentes decíduos, após 6, 12 e 18 meses de acompanhamento (Fernandes *et al.*, 2015).

Utilizando pré-molares submetidos à movimentação ortodôntica, com e sem irradiação com laser de baixa potência (830nm, 2.2J), Dominguez *et al.* (2013), demonstraram aumento da espessura da camada de odontoblastos, maior vascularização e áreas de dentina ectópica (denticulos) nos dentes tratados com fototerapia (Domínguez, 2013). Resultados semelhantes foram observados por Abi-Ramia *et al.*, (2010), em modelo experimental de movimentação dentária em ratos, utilizando laserterapia (830nm, 0.4J por ponto de aplicação, 4 pontos). (Abi-Ramia *et al.*, 2010).

Considerando os possíveis efeitos regulatórios da fototerapia sobre os mecanismos de defesa da polpa e síntese de matriz. O tratamento pode potencialmente acelerar o reparo e melhorar o prognóstico de sobrevida para os dentes afetados. O objetivo deste estudo é verificar a ação da LEDterapia a 940 nm (4J) sobre o reparo dos tecidos pulparens após a pulpotomia com hidróxido de cálcio em dentes de ratos.



## 2 OBJETIVOS

Avaliar o efeito da fototerapia associada ao hidróxido de cálcio no capeamento pulpar direto em incisivos de ratos.

### 2.1 Objetivos específicos:

- Avaliar a presença de fibroblastos, infiltrado inflamatório e vasos sanguíneos no tecido pulpar, após pulpotomia com hidróxido de cálcio associado ou não a fototerapia.
- Avaliar organização da camada odontoblástica e deposição da pré-dentina na polpa dentária de ratos submetidos a capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio associado ou não a fototerapia.

### 3 REFERÊNCIAS

ABI-RAMIA, L. B. P. et al. Effects of Low-Level Laser Therapy and Orthodontic Tooth Movement on Dental Pulp in Rats. **The Angle Orthodontist**, v. 80, n. 1, p. 116-122, 2010. ISSN 0003-3219.

AGUILAR, P.; LINSUWANONT, P. Vital pulp therapy in vital permanent teeth with cariously exposed pulp: a systematic review. **J Endod**, v. 37, n. 5, p. 581-7, May 2011. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21496652> >.

ASGARY, S.; AHMADYAR, M. W Vital pulp therapy using calcium-enriched mixture: An evidence-based review. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 16, n. 2, p. 92, 2013. ISSN 0972-0707.

BAKLAND, L. K. Revisiting traumatic pulpal exposure: materials, management principles, and techniques. **Dent Clin North Am**, v. 53, n. 4, p. 661-73, v-vi, Oct 2009. ISSN 1558-0512 (Electronic) 0011-8532 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19958904> >.

BERNSTEIN, S. D. et al. Outcomes of endodontic therapy in general practice: a study by the Practitioners Engaged in Applied Research and Learning Network. **J Am Dent Assoc**, v. 143, n. 5, p. 478-87, May 2012. ISSN 1943-4723 (Electronic) 0002-8177 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22547719> >.

BORKAR, S. A.; ATAIDE, I. Biodentine pulpotomy several days after pulp exposure: Four case reports. **J Conserv Dent**, v. 18, n. 1, p. 73-8, Jan-Feb 2015. ISSN 0972-0707 (Print) 0972-0707 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25657533> >.

BOSSINI, P. S. et al. Low level laser therapy (830nm) improves bone repair in osteoporotic rats: similar outcomes at two different dosages. **Exp Gerontol**, v. 47, n. 2, p. 136-42, Feb 2012. ISSN 1873-6815 (Electronic) 0531-5565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22138375> >.

DE ROSSI, A. et al. Comparison of pulpal responses to pulpotomy and pulp capping with biodentine and mineral trioxide aggregate in dogs. **J Endod**, v. 40, n. 9, p. 1362-9, Sep 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic)

0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25146016> >.

DOMÍNGUEZ, Á. Effect of low level laser therapy on dental pulp during orthodontic movement. **World Journal of Methodology**, v. 3, n. 2, p. 19, 2013. ISSN 2222-0682.

EGHBAL, M. J. et al. MTA pulpotomy of human permanent molars with irreversible pulpitis. **Aust Endod J**, v. 35, n. 1, p. 4-8, Apr 2009. ISSN 1329-1947 (Print)

1329-1947 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19335509> >.

ESTRELA, C. et al. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. **Braz Dent J**, v. 10, n. 2, p. 63-72, 1999. ISSN 0103-6440 (Print)

0103-6440 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10863391> >.

FARIVAR, S.; MALEKSHAHABI, T.; SHIARI, R. Biological effects of low level laser therapy. **J Lasers Med Sci**, v. 5, n. 2, p. 58-62, Spring 2014. ISSN 2008-9783 (Print)

2008-9783 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25653800> >.

FAVA, L. R.; SAUNDERS, W. P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **Int Endod J**, v. 32, n. 4, p. 257-82, Aug 1999. ISSN 0143-2885 (Print)

0143-2885 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10551118> >.

FEKRAZAD, R. et al. The effect of low-level laser therapy (810 nm) on root development of immature permanent teeth in dogs. **Lasers Med Sci**, May 24 2014. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24858234> >.

FERNANDES, A. P. et al. Clinical and radiographic outcomes of the use of Low-Level Laser Therapy in vital pulp of primary teeth. **Int J Paediatr Dent**, v. 25, n. 2, p. 144-50, Mar 2015. ISSN 1365-263X (Electronic)

0960-7439 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24974864> >.

FERRIELLO, V.; FARIA, M. R.; CAVALCANTI, B. N. The effects of low-level diode laser treatment and dental pulp-capping materials on the proliferation of L-929 fibroblasts. **J Oral Sci**, v. 52, n. 1, p. 33-8, Mar 2010. ISSN 1880-4926 (Electronic)

1343-4934 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20339230> >.

HILTON, T. J.; FERRACANE, J. L.; MANCL, L. Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. **J Dent Res**, v. 92, n. 7 Suppl, p. 16S-22S, Jul 2013. ISSN 1544-0591 (Electronic)

0022-0345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23690353> >.

HOLDER, M. J. et al. Effects of red light-emitting diode irradiation on dental pulp cells. **J Dent Res**, v. 91, n. 10, p. 961-6, Oct 2012. ISSN 1544-0591 (Electronic)

0022-0345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22879579> >.

HUTH, K. C. et al. Long-term effectiveness of four pulpotomy techniques: 3-year randomised controlled trial. **Clin Oral Investig**, v. 16, n. 4, p. 1243-50, Aug 2012. ISSN 1436-3771 (Electronic)

1432-6981 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21842145> >.

KESWANI, D. et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin and mineral trioxide aggregate as pulpotomy agents in permanent teeth with incomplete root development: a randomized controlled trial. **J Endod**, v. 40, n. 5, p. 599-605, May 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic)

0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24767550> >.

MARQUES, N. C. et al. Low-level laser therapy as an alternative for pulpotomy in human primary teeth. **Lasers Med Sci**, Sep 21 2014. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25240388> >.

MENTE, J. et al. Treatment outcome of mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide direct pulp capping: long-term results. **J Endod**, v. 40, n. 11, p. 1746-51, Nov 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic)

0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25227216> >.

NOWICKA, A. et al. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v. 39, n. 6, p. 743-7, Jun 2013. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23683272> >.

OHBAYASHI, E. et al. Stimulatory effect of laser irradiation on calcified nodule formation in human dental pulp fibroblasts. **J Endod**, v. 25, n. 1, p. 30-3, Jan 1999. ISSN 0099-2399 (Print) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10196840> >.

OLIVEIRA SAMPAIO, S. C. P. et al. Effect of laser and LED phototherapies on the healing of cutaneous wound on healthy and iron-deficient Wistar rats and their impact on fibroblastic activity during wound healing. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 3, p. 799-806, 2012. ISSN 0268-8921 1435-604X.

OLIVEIRA, T. M. et al. Clinical, radiographic and histologic analysis of the effects of pulp capping materials used in pulpotomies of human primary teeth. **Eur Arch Paediatr Dent**, v. 14, n. 2, p. 65-71, Apr 2013. ISSN 1818-6300 (Print) 1818-6300 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23549993> >.

PEPLOW, P. V.; CHUNG, T.-Y.; BAXTER, G. D. Laser Photobiomodulation of Proliferation of Cells in Culture: A Review of Human and Animal Studies. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. S1, p. S-3-S-40, 2010. ISSN 1549-5418 1557-8550.

PEREIRA, L. B. et al. Low-Level Laser Therapy Influences Mouse Odontoblast-Like Cell Response in Vitro. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 30, n. 4, p. 206-213, 2012. ISSN 1549-5418 1557-8550.

PEREIRA, L. O.; LONGO, J. P.; AZEVEDO, R. B. Laser irradiation did not increase the proliferation or the differentiation of stem cells from normal and inflamed dental pulp. **Arch Oral Biol**, v. 57, n. 8, p. 1079-85, Aug 2012. ISSN 1879-1506 (Electronic) 0003-9969 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22469390> >.

PEREIRA, L. O.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B. Laser irradiation did not increase the proliferation or the differentiation of stem cells from normal and inflamed dental pulp. **Archives of Oral Biology**, v. 57, n. 8, p. 1079-1085, 2012. ISSN 00039969.

RICUCCI, D. et al. Is hard tissue formation in the dental pulp after the death of the primary odontoblasts a regenerative or a reparative process? **J Dent**, v. 42, n. 9, p. 1156-70, Sep 2014. ISSN 1879-176X (Electronic) 0300-5712 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25008021> >.

SANGWAN, P. et al. Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: a review of proposed mechanisms. **Int Endod J**, v. 46, n. 1, p. 3-19, Jan 2013. ISSN 1365-2591 (Electronic) 0143-2885 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22889347> >.

SCHWENDICKE, F.; STOLPE, M. Direct pulp capping after a carious exposure versus root canal treatment: a cost-effectiveness analysis. **J Endod**, v. 40, n. 11, p. 1764-70, Nov 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25218524> >.

SHIGETANI, Y. et al. Temporospacial localization of dentine matrix protein 1 following direct pulp capping with calcium hydroxide in rat molars. **Int Endod J**, Jul 30 2014. ISSN 1365-2591 (Electronic) 0143-2885 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25074651> >.

SHIRVANI, A.; HASSANIZADEH, R.; ASGARY, S. Mineral Trioxide Aggregate vs. Calcium Hydroxide in Primary Molar Pulpotomy: A Systematic Review. **Iran Endod J**, v. 9, n. 2, p. 83-8, Spring 2014. ISSN 1735-7497 (Print) 1735-7497 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24688575> >.

SKUPIEN, J. A. et al. A practice-based study on the survival of restored endodontically treated teeth. **J Endod**, v. 39, n. 11, p. 1335-40, Nov 2013. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24139251> >.

TOUBOUL, V. et al. Outcome of endodontic treatments made by postgraduate students in the dental clinic of bretonneau hospital. **Int J Dent**, v. 2014, p. 684979, 2014. ISSN 1687-8728 (Print)

1687-8728 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24778652> >.

TURRIONI, A. P. S. et al. Phototherapy up-regulates dentin matrix proteins expression and synthesis by stem cells from human-exfoliated deciduous teeth. **Journal of Dentistry**, v. 42, n. 10, p. 1292-1299, 2014. ISSN 03005712.

UTSUNOMIYA, T. A histopathological study of the effects of low-power laser irradiation on wound healing of exposed dental pulp tissues in dogs, with special reference to lectins and collagens. **J Endod**, v. 24, n. 3, p. 187-93, Mar 1998. ISSN 0099-2399 (Print)

0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9558585> >.

YADAV, P. et al. Comparative evaluation of Ferric Sulfate, Electrosurgical and Diode Laser on human primary molars pulpotomy: an "in-vivo" study. **Laser Ther**, v. 23, n. 1, p. 41-7, Mar 27 2014. ISSN 0898-5901 (Print)

0898-5901 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24771970> >.

#### 4 ARTIGO

*Artigo formatado para Journal of Endodontics (Anexo 1)*

***Ledterapia com diodo emissor de luz a 940nm associada à pulpotomia com hidróxido de cálcio em incisivos de ratos***

Janaína Corazza Montero<sup>1</sup>

Débora Pigatto Mitihiro<sup>1</sup>

Solange de Paula Ramos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Histologia, Universidade Estadual de Londrina. Rodovia Celso Garcia CiD PR 445, km 370. Jardim Versalhes. Londrina. Brasil.

CEP: 86057-970

Autor de correspondência:

Janaína Corazza Montero

Rodovia Celso Garcia Cid PR 445 km380

CEP 86057-910

Londrina. Brasil.

e-mail: corazzajanaina@gmail.com



#### 4.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da LEDterapia a 940nm sobre o reparo do tecido pulpar de incisivos de ratos Wistar machos submetidos a pulpotomia com capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio. Doze ratos Wistar machos, aproximadamente 300g, foram submetidos a pulpotomia de incisivos superiores direito. O grupo pulpotomia (P, n = 6 dentes) foi submetidos a pulpotomia e capeamento direto com hidróxido de cálcio e o grupo P + LED (n=6 dentes) foram submetidos a pulpotomia e LEDterapia a 940 nm (4J/cm<sup>2</sup>, 4J, 16.6 mW/cm<sup>2</sup>) e capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio. Os dentes do lado esquerdo foram utilizados como controle, sendo o controle sem pulpotomia (C, n=6 dentes) e o controle sem pupotomia e irradiado (C + LED, n= 6 dentes). Os animais foram sacrificados após 7 dias para análise microscópica de densidade de vasos sanguíneos e células na polpa dentária, avaliação da camada de odontoblastos e formação de dentina secundária e terciária. Diferenças entre os grupo foram avaliadas pelos teste de Kruskal-Wallis e Dunn, ou teste exato de Fisher, considerando  $P < 0.05$ . Não foram observadas áreas de necrose pulpar, reação inflamatória e desorganização da camada odontoblástica. A densidade de vasos foi maior no grupo P, em relação a P + LED ( $P < 0.05$ ). A densidade de fibroblastos e a espessura da camada de pré-dentina foi maior no grupo C + LED e P+LED em relação aos grupos não irradiados ( $P < 0.05$ ). Os resultados sugerem que a LEDterapia a 940nm favorece a síntese de matriz e reparo do complexo dentina-polpa quando associado ao capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio.

Palavras chave: pulpotomia, polpa dental, ledterapia.

## 4.2 INTRODUÇÃO

A preservação da vitalidade pulpar é muito importante para a continuação da formação de dentina e desenvolvimento radicular em dentes jovens e imaturos (1-3). A exposição da polpa dentária pode ocorrer devido a traumas dentários, cáries, e durante a remoção de tecido cariado. A remoção da polpa coronária, conhecida como pulpotomia, pode ser necessária, sendo o remanescente de polpa capeado com material biocompatível que estimula o reparo tecidual (4). Entre os materiais utilizados para esse procedimento destacam-se o Hidróxido de cálcio, o agregado de trióxido mineral (MTA), Biodentine, Sulfato férrico, Óxido de zinco e eugenol (5), sendo os dois primeiros mais utilizados na prática clínica.

Apesar do hidróxido de cálcio ser utilizado rotineiramente no capeamento pulpar direto de dentes permanentes com exposição pulpar por cárie ou mecânica, a taxa de sucesso do tratamento é de aproximadamente 87,5% 68,5% e 59%, após 1, 2 e 10 anos, respectivamente (6-8). As principais causas de falhas do capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio são a necessidade de tratamento endodôntico devido à sintomatologia dolorosa, necrose pulpar, desenvolvimento de lesão periapical assintomática ou extração (6-8). Em dentes decíduos submetidos a pulpotomia e capeamento pulpar com hidróxido foram observadas áreas de necrose pulpar e reabsorção dentária interna, culminando em 42.9% de falha no tratamento, após 6 meses (9).

O uso de fontes de luz de baixa potência (fototerapia), empregando *Laser* de baixa potência (Laserterapia) ou diodos emissores de luz (LEDterapia), favorecem o processo de reparo tecidual (10, 11). Estudos *in vitro* apresentam resultados contraditórios em relação à ação da fototerapia sobre o tecido pulpar ou cultura de células isoladas de polpa (12-16). A aplicação de LEDterapia a 830nm (densidade de potência de 4J/cm<sup>2</sup>) em cultura de células tronco isoladas de dentes decíduos promoveu a síntese de matriz extracelular (colágeno tipo I e Proteína da Matriz Dentinária -1), além de aumentar a expressão de fosfatase alcalina (16). Um estudo recente demonstrou que a administração de *Laser* de baixa potência (660nm, 0,1J) em polpas de dentes decíduos submetidos à pulpotomia e capeamento direto com hidróxido de cálcio foi capaz de inibir significativamente a resposta inflamatória e a reabsorção dentária interna, além de estimular a síntese de dentina terciária (17).

Outro estudo, utilizando os mesmos parâmetros de fototerapia, demonstrou que a associação de hidróxido de cálcio com a Laserterapia apresentou baixa taxa de falha clínica e radiográfica das pulpotomias de dentes decíduos, após 6, 12 e 18 meses de acompanhamento (18). Estes estudos sugerem que a fototerapia pode auxiliar o processo de reparo do complexo dentina-polpa, após a exposição da polpa.

Considerando as evidências experimentais de que a fototerapia pode induzir o reparo do tecido pulpar e favorecer a síntese de matriz extracelular, o objetivo do presente estudo é verificar a ação da LEDterapia a 940 nm (4J) sobre o complexo dentina-polpa sem inflamação, após a pulpotomia e capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio, em dentes de ratos.

### **4.3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### *Animais*

Todos os procedimentos aqui descritos estão em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) [resolução 592 26/06/1992 do Conselho Federal de Medicina Veterinária e Lei n. 9605 (regulamentada pelo Decreto nº 3.179, 21/12/1999)], e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina (protocolo CEEA 107/2014).

Doze ratos Wistar machos pesando aproximadamente 300g foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas coletivas, forradas com maravalha e alimentados com ração (Nuvilab CR1, Nuvital Nutrientes S / A, Colombo, Brasil) e água potável à vontade, em ambiente com temperatura controlada (~ 22°C) em regime de luz/escuridão de 12 horas.

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, e 6 animais foram sacrificados 7 dias após os procedimentos de pulpotomia. Os incisivos superiores direitos foram submetidos a pulpotomia com capeamento pulpar direto, e os incisivos contralaterais (esquerdos) não foram submetidos a pulpotomia, sendo utilizado como controle.

Grupo Co: animais submetidos à pulpotomia e capeamento direto com hidróxido de cálcio.

Grupo LED: animais submetidos à pulpotomia, LEDterapia a 940nm e capeamento direto com hidróxido de cálcio.

#### *Procedimento de Pulpotomia e capeamento pulpar direto*

Os animais foram anestesiados com uma solução aquosa de cloridrato de xilazina (0,02 g / kg, Virbaxyl® 2%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil) e cloridrato de cetamina (1 g / kg, Francotar ® 10%, Virbac do Brasil, São Paulo, Brasil). Após a sedação e anestesia, foi realizada abertura coronária do incisivo superior direito e, remoção da polpa dentária com aproximadamente 0,5 cm de profundidade com auxílio de lima K#15 (Maillefer-Ballingues, Suíça) Após irrigação do canal com solução salina estéril, a polpa exposta foi submetida à fototerapia (grupo LED. A polpa foi recoberta com Hidróxido de cálcio p.a (Biodinâmica Química e Farmacêutica LTDA., Ibiporã, PR, Brasil) e a cavidade foi restaurada com resina composta (LLIS- FGM, Joinville, Brasil).

#### *LEDterapia*

A irradiação com diodo emissor de luz (LED) foi realizada com comprimento de onda de 940 nm, e abertura de banda de 45 nm. O dispositivo utilizado possuía 6 LEDs (potência de 16.6 mW) e área de *spot* de 1cm<sup>2</sup>. A fonte de radiação foi ligado a um suporte, mantido a 1 cm da boca do rato e posicionada sobre a região coronária do incisivo superior direito, de modo a atingir a superfície da polpa exposta. O mesmo procedimento foi realizado sobre a coroa do incisivo superior esquerdo, não submetido a pulpotomia. A irradiação foi aplicada por 4 minutos, com administração de energia total de 4J e densidade de energia de 4J/cm<sup>2</sup>, com densidade de potência de aproximadamente 16.6 mW/cm<sup>2</sup>. A fonte de luz empregada neste estudo foi desenvolvida especialmente para o experimento no Laboratório de Óptica e Optoeletrônica do Departamento de Física da Universidade Estadual de Londrina. A potência de saída óptica da fonte de luz foi verificada antes dos experimentos com um medidor de potência de banda larga de energia (Standard photodiodo Sensor PD 300; Ophir Optronics, Jerusalém, Israel).

A fototerapia foi aplicada imediatamente após a exposição da polpa dentária e antes do capeamento direto com hidróxido de cálcio.

### *Análise histológica*

Seis animais de cada grupo foram pesados e eutanasiados após 7 dias, por meio de sobredosagem de solução anestésica. As maxilas foram imediatamente removidas e fixadas em solução de formalina 10% tamponada em fosfato (pH 7,2), durante 24 horas, e armazenadas em álcool 70%.

As maxilas foram descalcificadas em solução ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 10% (pH 7,0), sob corrente elétrica contínua de 75mV, durante 90 dias. Os tecidos foram desidratados em soluções de álcool etílico 70%, álcool etílico 90% e álcool absoluto. Em seguida, foram diafanizadas em xilol e incluídas em parafina histológica. Cortes de 7 micrômetros foram corados em solução de hematoxilina e eosina. A maxila esquerda (contralateral) foi utilizada como controle intra-individual.

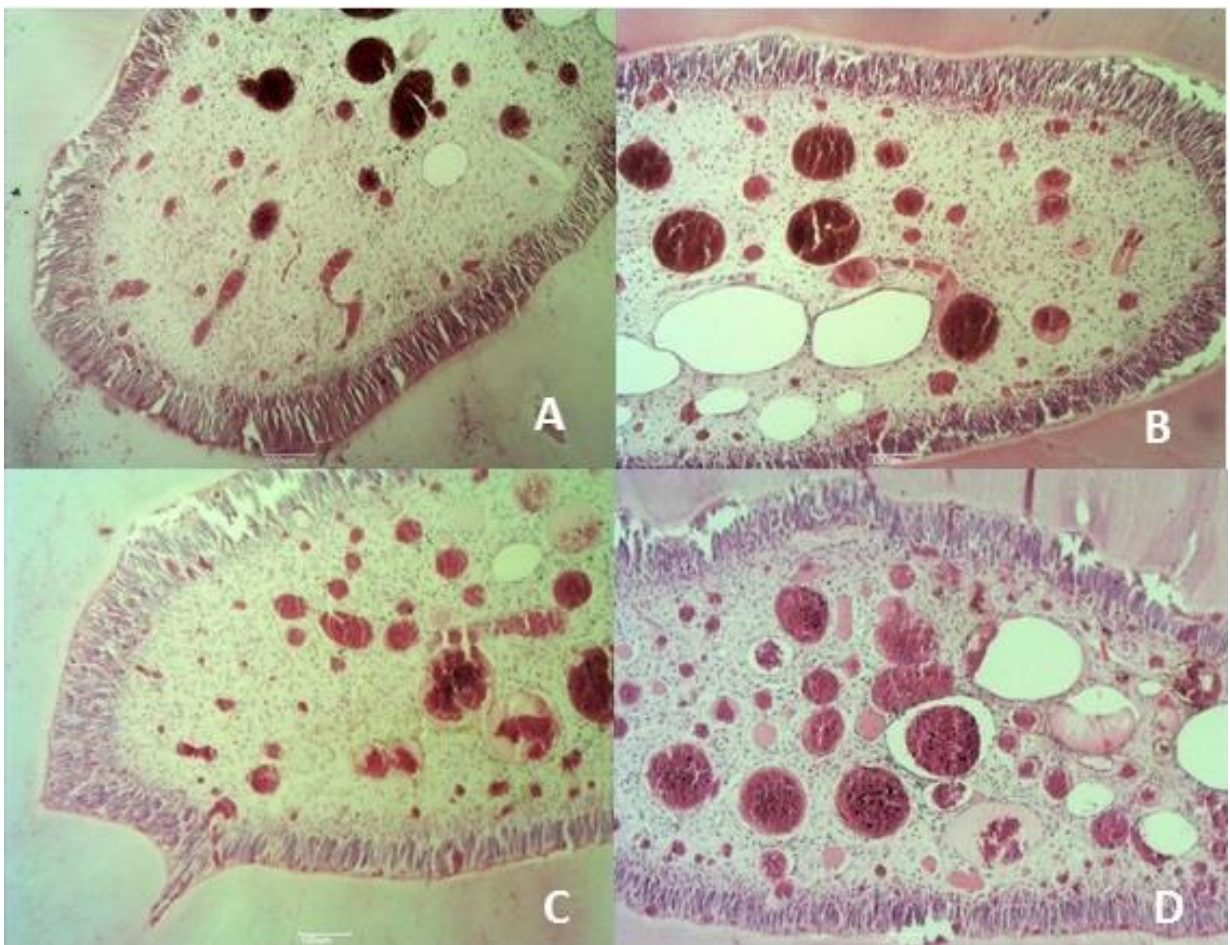
Cinco cortes seriados, no plano transversal da raiz, com distância mínima de 100 micrômetros, foram obtidos de cada amostra para análise por microscopia óptica em 40X e 100X de aumento. Vinte campos de  $10^4 \mu\text{m}^2$  foram selecionados para análise de cada corte seriado. Foram avaliadas as características da polpa dentária remanescente (viável ou necrosada), espessura da camada de odontoblastos e de pré-dentina na superfície vestibular e lingual da câmara pulpar, e densidade de vasos sanguíneos e células por campo ( $10^4 \mu\text{m}$ ). As imagens foram obtidas em sistema de captura de imagens Moticam (Motic, Xiamen, China) e avaliados em *software* Motic Image Plus 2.0 (Motic, Xiamen, China).

### *Análise estatística*

A distribuição de normalidade dos dados foi avaliada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis com distribuição normal foram comparadas com teste ANOVA e pós-teste de Tukey. Os dados não-paramétricos foram avaliados com teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn. Para variáveis categóricas foi utilizado o teste exato de Fisher. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

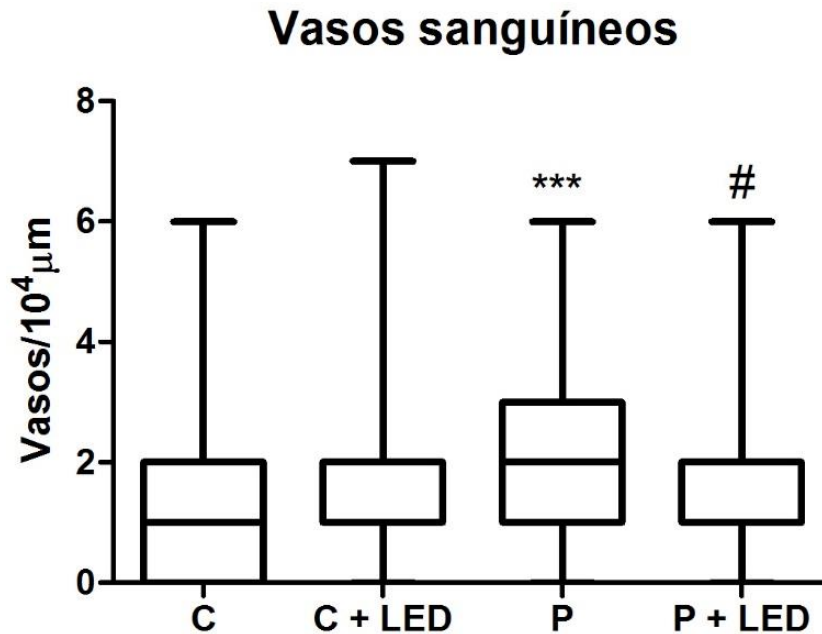
#### 4.4 RESULTADOS

Não foi observado infiltrado inflamatório, áreas de degeneração pulpar e desorganização da camada odontoblástica nos dentes não submetidos a pulpotomia (C e C + LED). No entanto, os animais dos grupos submetidos a pulpotomia apresentaram vasodilatação evidente, após os 7 dias (figura 1). Não foram observadas áreas de desorganização da camada odontoblástica e áreas de necrose pulpar em nenhum dos grupos (figura 1).



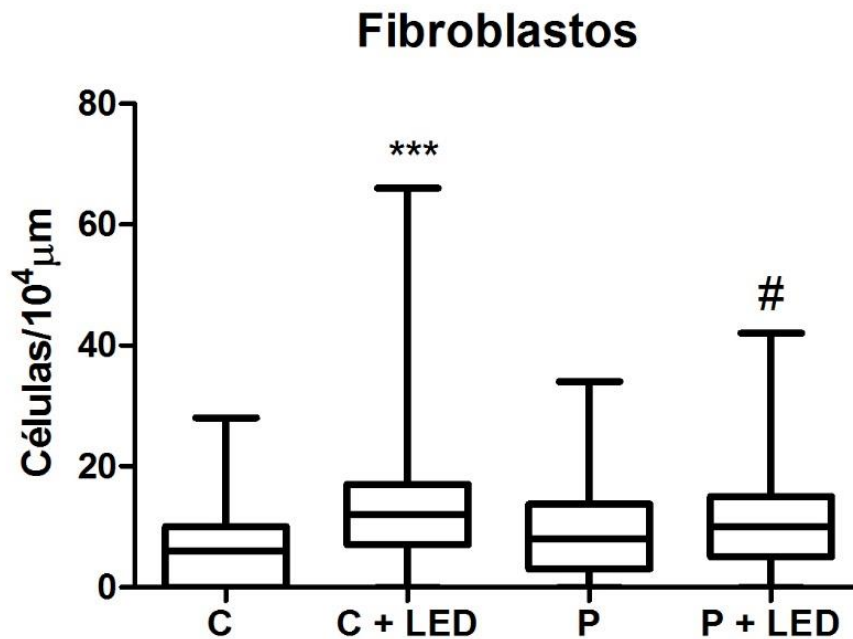
**Figura 1.** Polpa dentária de incisivos superiores de ratos Wistar. A) Dente do grupo Controle (C), não tratados; B) dente do grupo C + LED, submetidos apenas da LEDterapia; C) dente do grupo P, submetidos a pulpotomia e capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio; D) dentes do grupo P + LED; submetido a pulpotomia, imediatamente irradiados com LED e capeamento pulpar direto de hidróxido de cálcio. Aumento de 40X, coloração de Hematoxilina e Eosina.

Em relação a densidade de vasos sanguíneos, foi observado o aumento da mediana de vasos por área ( $10^4 \mu\text{m}^2$ ) no grupo P. No entanto, a densidade de vasos foi menor no grupo P + LED (figura 2).



**Figura 2.** Número de vasos sanguíneos por área ( $10^4 \mu\text{m}^2$ ) de polpa dentária. C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia. \*\*\* $P < 0.005$ , C x P; #  $P < 0,05$ , P x PLED, Teste de Dunn.

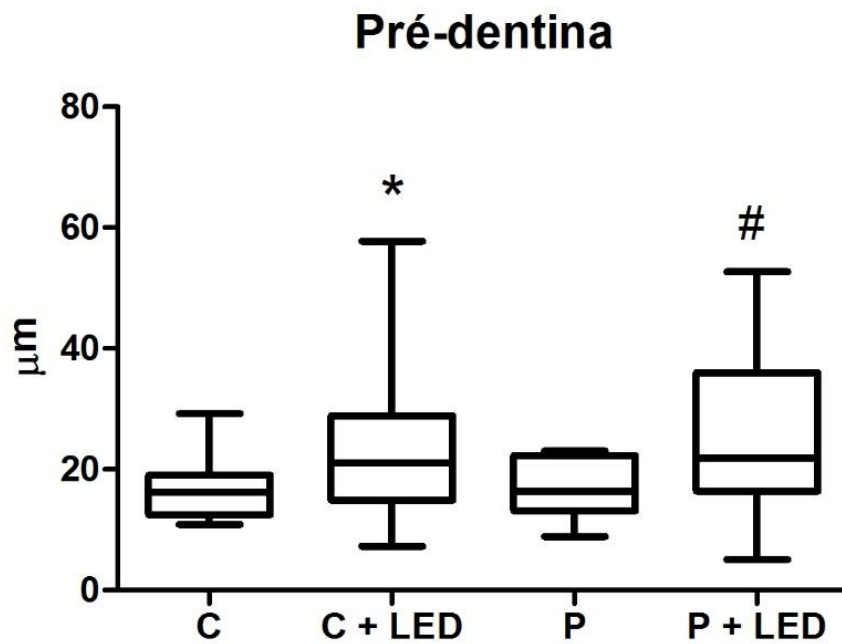
Células da polpa com aspecto de fibroblastos e fibrócitos apresentaram aumento significativo de densidade por área de polpa apenas nos grupos submetidos a irradiação com LED (figura 3).



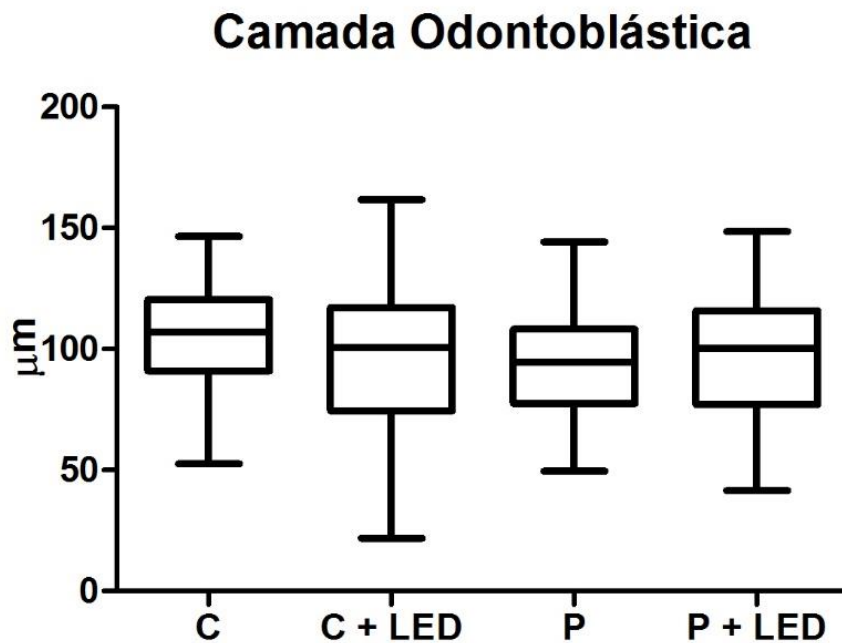
**Figura 3.** Densidade de células da polpa dentária ( $10^4 \mu\text{m}^2$ ). C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia. \*\*\* $P < 0.005$ , C x C + LED; # $P < 0,05$ , P x P + LED, Teste de Dunn.

A espessura da camada de pré-dentina foi avaliada na região vestibular e lingual da câmara pulpar. A irradiação com LED promoveu o aumento da espessura da camada de pré-dentina nos dentes C + LED e P + LED, em relação aos dentes não irradiados (figura 4). Porém não foram observadas diferenças na organização e altura da camada odontoblástica (figura 5).





**Figura 4.** Espessura mediana da camada de pré-dentina.(C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia.  $P < 0.05$ .



**Figura 5.** Espessura mediana da camada odontoblástica.C) grupo controle (dentes não submetidos a tratamento); C+LED) dentes submetidos a LEDterapia; P) dentes submetidos a pulpotomia; P+LED) dentes submetidos a pulpotomia e LEDterapia.  $P > 0.05$ .

## 4.5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que a administração de fototerapia sobre os incisivos de ratos estimulou a proliferação celular e síntese de matriz pelo complexo-dentina polpa, sugerindo que a terapia pode auxiliar no processo de reparo da polpa exposta.

A pulpotomia promoveu alterações vasculares, caracterizada por um aumento do número de grandes vasos sanguíneos por campo de análise. O maior número de vasos observados por campo pode ter ocorrido devido à formação de novos vasos sanguíneos e vasodilatação, após a pulpotomia (19, 20). No entanto, os animais irradiados apresentaram menor número de vasos sanguíneos por área de tecido pulpar em relação ao grupo submetido exclusivamente a pulpotomia. Abi-Ramia et al, realizaram um estudo em ratos avaliando as reações pulpares diante da movimentação ortodôntica com o uso do laser de diodo (830 nm), havendo um aumento da vascularização da polpa nos grupos irradiados, o que poderia acelerar a reparação tecidual da polpa (21). No entanto, os nossos resultados demonstram que a fototerapia parece não induzir a vascularização na polpa dentária não inflamada. Além disso, a síntese de mediadores inflamatórios (fator de necrose tumoral-alfa e interleucina-1) induz a expressão do fator de crescimento endotelial vascular, um importante agente angiogênico e vasodilatador no tecido pulpar (22). Considerando que a fototerapia tem uma potente ação anti-inflamatória, inibindo a síntese de mediadores inflamatórios (23, 24), é possível que este efeito tenha contribuído para reduzir a magnitude das alterações vasculares observadas no grupo irradiado.

A irradiação com LED promoveu o aumento do número de células com fenótipo de fibroblastos na polpa dentária dos dentes com e sem pulpotomia. Estes resultados estão de acordo com estudos prévios que demonstram que a fototerapia promove a proliferação de fibroblastos e aceleram o processo de reparo dos tecidos conjuntivos (25-27). Um estudo *in vitro* com cultura de fibroblastos gengivais demonstrou que os efeitos biológicos da fototerapia sobre o processo cicatricial pode estar relacionado a modulação das células com doses de 0.5 a 3J/cm<sup>2</sup>, o que foi capaz de induzir o aumento do metabolismo celular, o aumento do número de células e da capacidade de migração, após 4 dias (28). Embora, o efeito sobre a proliferação e viabilidade celular da fototerapia tenha sido observado em estudos

experimentais, um estudo *in vitro* demonstrou que a fototerapia não aumenta a proliferação de fibroblastos humanos expostos ao hidróxido de cálcio (13). No entanto, nossos resultados demonstram que a associação da fototerapia ao capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio estimula a proliferação de fibroblastos da polpa dentária.

A fototerapia aumenta a síntese de matriz de tecidos conjuntivos, especialmente a deposição de colágeno tipo I (11, 14, 28, 29), o que pode favorecer a formação de dentina secundária e terciária. Um estudo *in vitro* demonstrou que a irradiação de odontoblastos com laser de baixa potência de coloração infravermelha (830nm) com doses de 0.8 a 4 J/cm<sup>2</sup>, pode estimular a síntese de colágeno, proteína da matriz dentinária-1 e fosfatase alcalina, resultando na formação acelerada de matriz dentinária (14). Um ensaio clínico em premolares com indicação de extração, demonstrou que a irradiação do complexo dentina polpa (660nm, 2J/cm<sup>2</sup>) promoveu um aumento da síntese e organização da matriz de dentina, sugerindo que a fototerapia favoreça o processo de síntese e reparo da dentina (30). No presente estudo, não foram observadas alterações degenerativas na camada odontoblástica dos grupos de dentes submetidos a pulpotomia, com e sem fototerapia, sugerindo que o hidróxido de cálcio e a fototerapia não alteram a viabilidade dos odontoblastos. No entanto, a maior espessura da camada de pré-dentina nos dentes irradiados (C+LED e P+LED) sugere que a irradiação promoveu aumento da síntese de matriz dentinária.

Em um estudo em dentes decíduos humanos de Marques et al 2014, foi encontrado menor grau de inflamação pulpar na pulpotomia realizada com hidróxido de cálcio e aplicação de LEDterapia. Já no grupo onde só foi utilizado o Hidróxido de cálcio para o capeamento, foi observado maior taxa de barreira de tecido duro, maior camada odontoblástica e colágeno. Estes resultados corroboram outros estudos que sugerem que a reparação da polpa pode ser atribuída a capacidade do hidróxido de cálcio de induzir e regular a diferenciação de odontoblastos e a síntese de tecido mineralizado.(17). Os resultados do nosso estudo corroboram os achados de associação do MTA e a irradiação do laser acelerou a apicigênese e dentinogênese. (31).

Um Marques et al. (2014) e demonstram benefícios adicionais da aplicação da irradiação sobre o estímulo da síntese de matriz orgânica da dentina.

Fekrazad, 2014, estudaram o comportamento do laser de 810 nm na pulpotomia em cães utilizando o MTA como capeamento. Observaram que o grupo irradiado apresentou maior dentinogênese, aumento do número de fibroblastos em torno da lesão, nódulos calcificados e ponte de dentina. O estudo concluiu que a estudo *in vitro* de Pereira 2012, demonstrou que a aplicação do LLLT não aumentou a proliferação de células de fibroblastos (L-929) expostos a materiais de capeamento pulpar como o hidróxido de cálcio e o adesivo resinoso (24). Ao contrário do estudo de Pereira (2012), Fernandes et al, 2014 demonstraram resultados clínicos satisfatórios em pulpotomias utilizando capeamento pulpar e laserterapia. Os autores realizaram pulpotomia em 60 molares decíduos de crianças de 5 a 9 anos de idade, avaliadas clínica e radiograficamente em 6,12 e 18 meses., e concluíram que a irradiação do laser aumenta a taxa de sucesso do tratamento.

Os resultados do presente trabalho sugerem que a fototerapia aplicada imediatamente após a pulpotomia promove o reparo do complexo dentina-polpa, sem promover danos a polpa dentária e camada odontoblástica.

## **5. CONCLUSÃO**

Os resultados sugerem que a aplicação de fototerapia diminui a presença de vasos sugerindo diminuição da inflamação. A ledterapia também demonstrou aumentar a proliferação de fibroblastos sugerindo maior reparo, assim como aumento da espessura da camada de pré-dentina sugerindo que a irradiação promoveu aumento da síntese de matriz dentinária. A aplicação do led não aumenta a viabilidade dos odontoblastos.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABI-RAMIA, L. B. P. et al. Effects of Low-Level Laser Therapy and Orthodontic Tooth Movement on Dental Pulp in Rats. **The Angle Orthodontist**, v. 80, n. 1, p. 116-122, 2010. ISSN 0003-3219.
- AGUILAR, P.; LINSUWANONT, P. Vital pulp therapy in vital permanent teeth with cariously exposed pulp: a systematic review. **J Endod**, v. 37, n. 5, p. 581-7, May 2011. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21496652> >.
- ASGARY, S.; AHMADYAR, M. W. Vital pulp therapy using calcium-enriched mixture: An evidence-based review. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 16, n. 2, p. 92, 2013. ISSN 0972-0707.
- BAKLAND, L. K. Revisiting traumatic pulpal exposure: materials, management principles, and techniques. **Dent Clin North Am**, v. 53, n. 4, p. 661-73, v-vi, Oct 2009. ISSN 1558-0512 (Electronic) 0011-8532 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19958904> >.
- BERNSTEIN, S. D. et al. Outcomes of endodontic therapy in general practice: a study by the Practitioners Engaged in Applied Research and Learning Network. **J Am Dent Assoc**, v. 143, n. 5, p. 478-87, May 2012. ISSN 1943-4723 (Electronic) 0002-8177 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22547719> >.
- BORKAR, S. A.; ATAIDE, I. Biodentine pulpotomy several days after pulp exposure: Four case reports. **J Conserv Dent**, v. 18, n. 1, p. 73-8, Jan-Feb 2015. ISSN 0972-0707 (Print) 0972-0707 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25657533> >.
- BOSSINI, P. S. et al. Low level laser therapy (830nm) improves bone repair in osteoporotic rats: similar outcomes at two different dosages. **Exp Gerontol**, v. 47, n. 2, p. 136-42, Feb 2012. ISSN 1873-6815 (Electronic) 0531-5565 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22138375> >.
- DE ROSSI, A. et al. Comparison of pulpal responses to pulpotomy and pulp capping with biodentine and mineral trioxide aggregate in dogs. **J Endod**, v. 40, n. 9, p. 1362-9, Sep 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25146016> >.
- DOMÍNGUEZ, Á. Effect of low level laser therapy on dental pulp during orthodontic movement. **World Journal of Methodology**, v. 3, n. 2, p. 19, 2013. ISSN 2222-0682.
- EGHBAL, M. J. et al. MTA pulpotomy of human permanent molars with irreversible pulpitis. **Aust Endod J**, v. 35, n. 1, p. 4-8, Apr 2009. ISSN 1329-1947 (Print) 1329-1947 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19335509> >.
- ESTRELA, C. et al. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. **Braz Dent J**, v. 10, n. 2, p. 63-72, 1999. ISSN 0103-6440 (Print) 0103-6440 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10863391> >.

- FAVA, L. R.; SAUNDERS, W. P. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. **Int Endod J**, v. 32, n. 4, p. 257-82, Aug 1999. ISSN 0143-2885 (Print) 0143-2885 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10551118> >.
- FEKRAZAD, R. et al. The effect of low-level laser therapy (810 nm) on root development of immature permanent teeth in dogs. **Lasers Med Sci**, May 24 2014. ISSN 1435-604X (Electronic) 0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24858234> >.
- FERNANDES, A. P. et al. Clinical and radiographic outcomes of the use of Low-Level Laser Therapy in vital pulp of primary teeth. **Int J Paediatr Dent**, v. 25, n. 2, p. 144-50, Mar 2015. ISSN 1365-263X (Electronic) 0960-7439 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24974864> >.
- FERRIELLO, V.; FARIA, M. R.; CAVALCANTI, B. N. The effects of low-level diode laser treatment and dental pulp-capping materials on the proliferation of L-929 fibroblasts. **J Oral Sci**, v. 52, n. 1, p. 33-8, Mar 2010. ISSN 1880-4926 (Electronic) 1343-4934 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20339230> >.
- HILTON, T. J.; FERRACANE, J. L.; MANCL, L. Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. **J Dent Res**, v. 92, n. 7 Suppl, p. 16S-22S, Jul 2013. ISSN 1544-0591 (Electronic) 0022-0345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23690353> >.
- HOLDER, M. J. et al. Effects of red light-emitting diode irradiation on dental pulp cells. **J Dent Res**, v. 91, n. 10, p. 961-6, Oct 2012. ISSN 1544-0591 (Electronic) 0022-0345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22879579> >.
- HUTH, K. C. et al. Long-term effectiveness of four pulpotomy techniques: 3-year randomised controlled trial. **Clin Oral Investig**, v. 16, n. 4, p. 1243-50, Aug 2012. ISSN 1436-3771 (Electronic) 1432-6981 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21842145> >.
- KESWANI, D. et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin and mineral trioxide aggregate as pulpotomy agents in permanent teeth with incomplete root development: a randomized controlled trial. **J Endod**, v. 40, n. 5, p. 599-605, May 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24767550> >.
- MARQUES, N. C. et al. Low-level laser therapy as an alternative for pulpotomy in human primary teeth. **Lasers Med Sci**, Sep 21 2014. ISSN 1435-604X (Electronic) 0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25240388> >.
- MENTE, J. et al. Treatment outcome of mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide direct pulp capping: long-term results. **J Endod**, v. 40, n. 11, p. 1746-51, Nov 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25227216> >.
- NOWICKA, A. et al. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v. 39, n. 6, p. 743-7, Jun 2013. ISSN 1878-3554 (Electronic)

0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23683272> >.

OHBAYASHI, E. et al. Stimulatory effect of laser irradiation on calcified nodule formation in human dental pulp fibroblasts. **J Endod**, v. 25, n. 1, p. 30-3, Jan 1999. ISSN 0099-2399 (Print)

0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10196840> >.

OLIVEIRA, T. M. et al. Clinical, radiographic and histologic analysis of the effects of pulp capping materials used in pulpotomies of human primary teeth. **Eur Arch Paediatr Dent**, v. 14, n. 2, p. 65-71, Apr 2013. ISSN 1818-6300 (Print)

1818-6300 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23549993> >.

PEPLOW, P. V.; CHUNG, T.-Y.; BAXTER, G. D. Laser Photobiomodulation of Proliferation of Cells in Culture: A Review of Human and Animal Studies. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. S1, p. S-3-S-40, 2010. ISSN 1549-5418 1557-8550.

PEREIRA, L. B. et al. Low-Level Laser Therapy Influences Mouse Odontoblast-Like Cell Response in Vitro. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 30, n. 4, p. 206-213, 2012. ISSN 1549-5418 1557-8550.

PEREIRA, L. O.; LONGO, J. P.; AZEVEDO, R. B. Laser irradiation did not increase the proliferation or the differentiation of stem cells from normal and inflamed dental pulp. **Arch Oral Biol**, v. 57, n. 8, p. 1079-85, Aug 2012. ISSN 1879-1506 (Electronic) 0003-9969 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22469390> >.

PEREIRA, L. O.; LONGO, J. P. F.; AZEVEDO, R. B. Laser irradiation did not increase the proliferation or the differentiation of stem cells from normal and inflamed dental pulp. **Archives of Oral Biology**, v. 57, n. 8, p. 1079-1085, 2012. ISSN 00039969.

RICUCCI, D. et al. Is hard tissue formation in the dental pulp after the death of the primary odontoblasts a regenerative or a reparative process? **J Dent**, v. 42, n. 9, p. 1156-70, Sep 2014. ISSN 1879-176X (Electronic) 0300-5712 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25008021> >.

SANGWAN, P. et al. Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: a review of proposed mechanisms. **Int Endod J**, v. 46, n. 1, p. 3-19, Jan 2013. ISSN 1365-2591 (Electronic) 0143-2885 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22889347> >.

SCHWENDICKE, F.; STOLPE, M. Direct pulp capping after a carious exposure versus root canal treatment: a cost-effectiveness analysis. **J Endod**, v. 40, n. 11, p. 1764-70, Nov 2014. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25218524> >.

SHIGETANI, Y. et al. Temporospatial localization of dentine matrix protein 1 following direct pulp capping with calcium hydroxide in rat molars. **Int Endod J**, Jul 30 2014. ISSN 1365-2591 (Electronic) 0143-2885 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25074651> >.



SHIRVANI, A.; HASSANIZADEH, R.; ASGARY, S. Mineral Trioxide Aggregate vs. Calcium Hydroxide in Primary Molar Pulpotomy: A Systematic Review. **Iran Endod J**, v. 9, n. 2, p. 83-8, Spring 2014. ISSN 1735-7497 (Print) 1735-7497 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24688575> >.

SKUPIEN, J. A. et al. A practice-based study on the survival of restored endodontically treated teeth. **J Endod**, v. 39, n. 11, p. 1335-40, Nov 2013. ISSN 1878-3554 (Electronic) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24139251> >.

TOUBOUL, V. et al. Outcome of endodontic treatments made by postgraduate students in the dental clinic of bretonneau hospital. **Int J Dent**, v. 2014, p. 684979, 2014. ISSN 1687-8728 (Print) 1687-8728 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24778652> >.

TURRIONI, A. P. S. et al. Phototherapy up-regulates dentin matrix proteins expression and synthesis by stem cells from human-exfoliated deciduous teeth. **Journal of Dentistry**, v. 42, n. 10, p. 1292-1299, 2014. ISSN 03005712.

UTSUNOMIYA, T. A histopathological study of the effects of low-power laser irradiation on wound healing of exposed dental pulp tissues in dogs, with special reference to lectins and collagens. **J Endod**, v. 24, n. 3, p. 187-93, Mar 1998. ISSN 0099-2399 (Print) 0099-2399 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9558585> >.

YADAV, P. et al. Comparative evaluation of Ferric Sulfate, Electrosurgical and Diode Laser on human primary molars pulpotomy: an "in-vivo" study. **Laser Ther**, v. 23, n. 1, p. 41-7, Mar 27 2014. ISSN 0898-5901 (Print) 0898-5901 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24771970> >.

## 7. ANEXO 1



American Association of Endodontists

SPECIALISTS IN SAVING TEETH

# Guidelines for Publishing Papers in the *JOE*

Writing an effective article is a challenging assignment. The following guidelines are provided to assist authors in submitting manuscripts.

The *JOE* publishes original and review articles related to the scientific and applied aspects of endodontics. Moreover, the *JOE* has a diverse readership that includes full-time clinicians, full-time academicians, residents, students and scientists. Effective communication with this diverse readership requires careful attention to writing style.

## General Points on Composition

Authors are strongly encouraged to analyze their final draft with both software (e.g., spelling and grammar programs) and colleagues who have expertise in English grammar. References listed at the end of this section provide a more extensive review of rules of English grammar and guidelines for writing a scientific article. Always remember that clarity is the most important feature of scientific writing. Scientific articles must be clear and precise in their content and concise in their delivery since their purpose is to inform the reader. The Editor reserves the right to edit all manuscripts or to reject those manuscripts that lack clarity or precision, or have unacceptable grammar. The following list represents common errors in manuscripts submitted to the *JOE*:

- a. The paragraph is the ideal unit of organization. Paragraphs typically start with an introductory sentence that is followed by sentences that describe additional detail or examples. The last sentence of the paragraph provides conclusions and forms a transition to the next paragraph. Common problems include one-sentence paragraphs, sentences that do not develop the theme of the paragraph (see also section “c”, below), or sentences with little to no transition within a paragraph.
- b. Keep to the point. The subject of the sentence should support the subject of the paragraph. For example, the introduction of authors’ names in a sentence changes the subject and lengthens the text. In a paragraph on sodium hypochlorite, the sentence, “In 1983, Langeland et al., reported that sodium hypochlorite acts as a lubricating factor during instrumentation and helps to flush debris from the root canals” can be edited to: “Sodium hypochlorite acts as

a lubricant during instrumentation and as a vehicle for flushing the generated debris (Langeland et al., 1983)". In this example, the paragraph's subject is sodium hypochlorite and sentences should focus on this subject.

c. Sentences are stronger when written in the active voice, i.e., the subject performs the action. Passive sentences are identified by the use of passive verbs such as "was," "were," "could," etc. For example: "Dexamethasone was found in this study to be a factor that was associated with reduced inflammation", can be edited to: "Our results demonstrated that dexamethasone reduced inflammation". Sentences written in a direct and active voice are generally more powerful and shorter than sentences written in the passive voice.

d. Reduce verbiage. Short sentences are easier to understand. The inclusion of unnecessary words is often associated with the use of a passive voice, a lack of focus or run-on sentences. This is not to imply that all sentences need be short or even the same length. Indeed, variation in sentence structure and length often helps to maintain reader interest. However, make all words count. A more formal way of stating this point is that the use of subordinate clauses adds variety and information when constructing a paragraph. (This section was written deliberately with sentences of varying length to illustrate this point.)

e. Use parallel construction to express related ideas. For example, the sentence, "Formerly, Endodontics was taught by hand instrumentation, while now rotary instrumentation is the common method", can be edited to "Formerly, Endodontics was taught using hand instrumentation; now it is commonly taught using rotary instrumentation". The use of parallel construction in sentences simply means that similar ideas are expressed in similar ways, and this helps the reader recognize that the ideas are related.

f. Keep modifying phrases close to the word that they modify. This is a common problem in complex sentences that may confuse the reader. For example, the statement, "Accordingly, when conclusions are drawn from the results of this study, caution must be used", can be edited to "Caution must be used when conclusions are drawn from the results of this study".

g. To summarize these points, effective sentences are clear and precise, and often are short, simple and focused on one key point that supports the paragraph's theme.

## General Points on the Organization of Original Research Manuscripts

- a. **Please Note:** *Starting in 2009, all abstracts should be organized into sections that start with a one-word title (in bold), i.e., Introduction, Methods, Results, Conclusions, etc., and should not exceed more than 250 words in length.*
- b. **Title Page:** The title should describe the major conclusion of the paper. It should be as short as possible without loss of clarity. Remember that the title is your advertising billboard—it represents your major opportunity to solicit readers to spend the time to

read your paper. It is best not to use abbreviations in the title since this may lead to imprecise coding by electronic citation programs such as PubMed (e.g., use “sodium hypochlorite” rather than NaOCl). The author list must conform to published standards on authorship (see authorship criteria in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at [www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

- c. **Abstract:** The abstract should concisely describe the purpose of the study, the hypothesis, methods, major findings and conclusions. The abstract should describe the new contributions made by this study. The word limitations (250 words) and the wide distribution of the abstract (e.g., PubMed) make this section challenging to write clearly. This section often is written last by many authors since they can draw on the rest of the manuscript. Write the abstract in past tense since the study has been completed. Three to ten keywords should be listed below the abstract.
- d. **Introduction:** The introduction should briefly review the pertinent literature in order to identify the gap in knowledge that the study is intended to address. The purpose of the study, the tested hypothesis and its scope should be described. Authors should realize that this section of the paper is their primary opportunity to establish communication with the diverse readership of the *JOE*. Readers who are not expert in the topic of the manuscript are likely to skip the paper if the introduction fails to provide sufficient detail. However, many successful manuscripts require no more than a few paragraphs to accomplish these goals.
- e. **Material and Methods:** The objective of the methods section is to permit other investigators to repeat your experiments. The three components to this section are the experimental design, the procedures employed, and the statistical tests used to analyze the results. The vast majority of manuscripts should cite prior studies using similar methods and succinctly describe the particular aspects used in the present study. The

inclusion of a “methods figure” will be rejected unless the procedure is novel and requires an illustration for comprehension. If the method is novel, then the authors should carefully describe the method and include validation experiments. If the study utilized a commercial product, the manuscript should state that they either followed manufacturer’s protocol or specify any changes made to the protocol. Studies on humans should conform to the Helsinki Declaration of 1975 and state that the institutional IRB approved the protocol and that informed consent was obtained. Studies involving animals should state that the institutional animal care and use committee approved the protocol. The statistical analysis section should describe which tests were used to analyze which dependent measures; p-values should be specified. Additional details may include randomization scheme, stratification (if any), power analysis, drop-outs from clinical trials, etc.

- f. **Results:** Only experimental results are appropriate in this section (i.e., neither methods nor conclusions should be in this section). Include only those data that are critical for the study. Do not include all available data without justification, any repetitive findings will be rejected from publication. All Figs./Charts/Tables should be described in their order of numbering with a brief description of the major findings.

**Figures:** There are two general types of figures. The first type of figure includes photographs, radiographs or micrographs. Include only essential figures, and even if essential, the use of composite figures containing several panels of photographs is encouraged. For example, most photo-, radio- or micrographs take up one column-width, or about 185 mm wide X 185 mm tall. If instead, you construct a two columns-width figure (i.e., about 175 mm wide X 125 mm high when published in the *JOE*), you would be able to place about 12 panels of photomicrographs (or radiographs, etc.) as an array of four columns across and three rows down (with each panel about 40 X 40 mm). This will require some editing on your part given the small size of each panel, you will only be able to illustrate the most important feature of each photomicrograph. Remember that each panel must be clearly identified with a letter (e.g., “A”, “B”, etc.), in order for the reader to understand each individual panel. Several nice examples of composite figures are seen in recent articles by Chang, et al, (*JOE* 28:90, 2002), Hayashi, et al, (*JOE* 28:120, 2002) and by Davis, et al (*JOE* 28:464, 2002). At the Editor’s discretion, color figures may be published at no cost to the authors. However, the Editor is limited by a yearly allowance and this offer does not include printing of reprints.

The second type of figure are graphs (i.e., line drawings) that plot a dependent measure (on the Y axis) as a function of an independent measure (usually plotted on the X axis). Examples include a graph depicting pain scores over time, etc. Graphs should be used when the overall trend of the results are more important than the exact numerical values of the results. For example, a graph is a convenient way of reporting that an ibuprofen treated group reported less pain than a placebo group over the first 24 hours, but was the same as the placebo group for the next 96 hours. In this case, the trend of the results is the primary finding; the actual pain scores are not as critical as the relative differences between the NSAID and placebo groups.

**Tables:** Tables are appropriate when it is critical to present exact numerical values. However, not all results need be placed in either a table or figure. For example, the following table may not necessary:

% NaOCl	N/Group	% Inhibition of Growth
0.001	5	0
0.003	5	0
0.01	5	0
0.03	5	0
0.1	5	100
0.3	5	100
1	5	100
3	5	100

Instead, the results could simply state that there was no inhibition of growth from 0.001-0.03% NaOCl, and a 100% inhibition of growth from 0.03-3% NaOCl (N=5/group). Similarly, if the results are not significant, then it is probably not necessary to include the results in either a table or as a figure. These and many other suggestions on figure and table construction are described in additional detail in Day (1998).

- f. **Discussion:** The conclusion section should describe the major findings of the study. Both the strength and weaknesses of the observations should be discussed. What are the major conclusions of the study? How does the data support these conclusions? How do these findings compare to the published literature? What are the clinical implications? Although this last section might be tentative given the nature of a particular study, the authors should realize that even preliminary clinical implications might have value for the clinical readership. Ideally, a review of the potential clinical significance is the last section of the discussion.
- g. **References:** The reference style follows Index Medicus and can be efficiently learned from reading past issues of the *JOE*. Citations are placed in parentheses at the end of a

sentence or at the end of a clause that requires a literature citation. Do not use superscript for references. Original reports are limited to 35 references. There are no limits in the number of references for review articles.

#### **4. Page Limitations for Manuscripts in the Category of Basic Science/Endodontic Techniques**

- a. **What is the limitation?** Original research reports in the category of basic science/endodontic techniques are limited to no more than 2,000 words (total for the abstract, introduction, methods, results and conclusions), and a total of three Figs./Charts/Tables. If a composite figure is used (as described above), then this will count as two of the three permitted Figs./Charts/Tables.
- b. **Does this apply to me?** Manuscripts submitted to the *JOE* can be broadly divided into several categories including review articles, clinical trials (e.g., prospective or retrospective studies on patients or patient records, or research on biopsies excluding the use of human teeth for technique studies), basic science/biology (animal or culture studies on biological research related to endodontics, or relevant pathology or physiology), and basic science/techniques (e.g., stress/strain/compression/strength/failure/composition studies on endodontic instruments or materials). Manuscripts submitted in this last category are the only category subject to these limitations. If you are not sure whether your manuscript falls within this category please contact the Editor by e-mail at [jendodontics@uthscsa.edu](mailto:jendodontics@uthscsa.edu).
- c. **Why page limitations?** Most surveyed stakeholders of the *JOE* desire timely publication of submitted manuscripts and an extension of papers to include review articles and other features. To accomplish these goals, we must reduce the average length of manuscripts since increasing the *JOE*'s number of published pages is prohibitively expensive. Although a

difficult decision, restricting this one category of manuscripts accomplishes nearly all of these goals since ~40-50% of published papers are in this category.

d. **How do I make my manuscript fit these limitations?** Adhering to the general writing methods described in these guidelines (and in the resources listed below) will help to reduce the size of the manuscript. Authors are encouraged to focus on only the essential aspects of the study and to avoid inclusion of extraneous text and figures. The Editor will reject manuscripts that exceed these limitations.

## **Available Resources:**

- . Strunk W, White EB. The Elements of Style. Allyn & Bacon, 4th ed, 2000, ISBN 020530902X
- a. Day R.. How to Write and Publish a Scientific Paper. Oryx Press, 5th ed. 1998. ISBN 1-57356-164-9
- b. Woods G. English Grammar for Dummies. Hungry Minds:NY, 2001 (an entertaining review of grammar)
- c. Alley M. The Craft of Scientific Writing. Springer, 3rd edition 1996 SBN 0-387-94766-3.
- d. Alley M. The Craft of Editing. Springer, 2000 SBN 0-387-98964-1.