



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
Departamento de Patologia e Medicina Legal

**OTAVIO HENRIQUE PINHATA BAPTISTA**

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL DA “TERAPIA A LASER  
DE BAIXA-POTÊNCIA” (LLLT) NA PERIODONTITE  
APICAL: Avaliação histológica da influência da LLLT na  
evolução do processo inflamatório periapical induzido, e  
no seu uso como terapia adjuvante ao tratamento  
convencional, no modelo experimental da periodontite  
apical em ratos.**

**FORTALEZA**  
**2006**

**OTAVIO HENRIQUE PINHATA BAPTISTA**

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL DA “TERAPIA A LASER DE BAIXA-POTÊNCIA” (LLLT) NA PERIODONTITE APICAL: Avaliação histológica da influência da LLLT na evolução do processo inflamatório periapical induzido, e no seu uso como terapia adjuvante ao tratamento convencional, no modelo experimental da periodontite apical em ratos.**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu

**FORTALEZA  
2006**

B175e Baptista, Otavio Henrique Pinhata

Estudo sobre o potencial da terapia a laser de baixa potência (LLLT) na periodontite apical: avaliação histológica da influência da LLLT na evolução do processo inflamatório periapical induzido, e no seu uso como terapia adjuvante ao tratamento convencional, no modelo experimental da periodontite apical em ratos/ Otávio Henrique Pinhata Baptista. 2006.

85 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.  
Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2006.

1. Periodontite Periapical. 2. Terapia a Laser de Baixa Intensidade. I. Govindaswamy Naidu, Talapala (orient.). II. Título.

CDD 617.63

**OTÁVIO HENRIQUE PINHATA BAPTISTA**

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL DA TERAPIA A LASER DE  
BAIXA POTÊNCIA (LLLT) NA PERIODONTITE APICAL:  
avaliação histológica da influência da LLLT na evolução do  
processo inflamatório periapical induzido, e no seu uso como  
terapia adjuvante ao tratamento convencional, no modelo  
experimental da periodontite apical em ratos.**

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Mestrado em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Patologia.

Aprovado em: 06/02/2006

---

**Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu (Orientador)**  
Universidade Federal do Ceará

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Anna Galgany Fernandes Almeida**  
Academia Cearense de Odontologia

---

**Prof. Dr. Eduardo Costa Studart Soares**  
Universidade Federal do Ceará

---

**Prof. Dr. Ilan Sampaio do Vale**  
Universidade Federal do Ceará

À minha querida esposa Simone, pela paciência, afeto, compreensão e dedicação a mim dispensada durante todo o tempo em que estamos juntos, pois sem isso não teria a tranquilidade necessária para me desenvolver integralmente; meu muito obrigado.

À Lola, minha sogra, pelo zelo, cuidado e amor que dedica ao Lar de nossa família, lugar onde busco paz e energia para desempenhar minhas tarefas; minha gratidão.

Aos meus pais por minha educação, e por proporcionarem a mim oportunidade de evoluir.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

À Deus, Inteligência Suprema e Causa Primária de todas as coisas.

Ao Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu, um verdadeiro "Mestre" e amigo, pois além de ensinar, orientar e mostrar os caminhos, ele, através do exemplo, consegue modificar comportamentos e pensamentos

## AGRADECIMENTOS

- À Margareth Gonçalves Maia pela imensa colaboração, carinho e presteza na realização de etapa fundamental deste trabalho; o meu sincero agradecimento.
- Ao amigo Francisco José Oliveira de Queiroz, por ensinar, orientar e ajudar nas horas de necessidade.
- À Paula da Paz Palácio, que sempre colaborou com minha caminhada durante a realização do curso.
- À colega cirurgiã-dentista Cristiana Fernandes Plutarco Nogueira Santos, pela disponibilidade em ceder o equipamento de LASER necessário para a realização deste trabalho; meu muito obrigado.
- Aos colegas e amigos Ricardo Ribeiro de Babo e Sandro Rodrigues Pinheiro, pelo auxílio, dedicação, troca de idéias e amizade, as quais foram fundamentais para a conclusão desta minha pesquisa.
- Aos professores do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, pelos novos ensinamentos e pelos novos horizontes a mim desvendados.
- À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anna Galganny Fernandes Almeida, ao Prof. Dr. Eduardo Costa Studart Soares, e ao Prof. Dr. Ilan Sampaio do Vale, por terem aceitado prontamente o convite para comporem a Banca Examinadora desta Dissertação.
- Aos colegas de mestrado pelo companheirismo e solidariedade compartilhados durante o curso.
- À todos os meus familiares e amigos que de alguma forma incentivaram, colaboraram ou estiveram presentes na realização deste trabalho.

## RESUMO

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL DA “TERAPIA A LASER DE BAIXA-POTÊNCIA” (LLLT) NA PERIODONTITE APICAL: Avaliação histológica da influência da LLLT na evolução do processo inflamatório periapical induzido, e no seu uso como terapia adjuvante ao tratamento convencional, no modelo experimental da periodontite apical em ratos.**

A periodontite apical, muito freqüente como seqüela da cárie dentária, ainda é considerada como um processo patológico de difícil controle e resolução, tendo o sistema imunológico como o principal fator de desenvolvimento e perpetuação da mesma. A terapia a laser de baixa potência (LLLT) já vem sendo estudada como método terapêutico em várias áreas da Odontologia, porém seu mecanismo de ação e conseqüentes efeitos sobre as periodontites apicais não são ainda bem compreendidos. Esse estudo teve os objetivos de avaliar: I. a conseqüência da aplicação da LLLT sobre a evolução da inflamação periodontal apical induzida em ratos, e II. o efeito da utilização da LLLT como adjuvante à terapia convencional no tratamento da periodontite apical estabelecida, nesse mesmo modelo experimental. O estudo foi realizado em duas fases: na primeira, 40 ratos *Wistar* machos adultos foram utilizados, sendo 4 deles como grupo controle (GC) não-operados (***sham-operated***), e os demais 36 ratos operados divididos em 2 grupos de 18 ratos cada (G1 e G2) e submetidos à indução de periodontite apical através da abertura coronária e da exposição das câmaras pulpares do primeiro molar inferior esquerdo. Os animais do grupo G1 sofreram apenas a indução da lesão periapical, enquanto os do G2 receberam também a LLLT, com comprimento de onda de 830 nm e potência de saída de 100 mW na região periapical dos dentes, nos dias 0, 2, 4, 6 e 8 da indução da lesão (dose total = 28 J/cm<sup>2</sup>, a 5,6 J/cm<sup>2</sup> por aplicação). Os animais sofreram eutanásia na seguinte sistemática: um dos controles (GC) em cada um dos dias 0, 10, 20 e 30, e 6 animais do G1 e 6 do G2 aos dias 10, 20 e 30. Na segunda fase do estudo, 12 animais foram divididos nos seguintes 3 grupos experimentais de 4 animais cada: G3 - periodontite apical induzida e sacrificados 21 dias após; G4 - periodontite apical induzida + tratamento com Calen<sup>®</sup> no 21<sup>o</sup> dia após a indução da doença, sofrendo eutanásia 21 dias após; e G5 - periodontite apical induzida + tratamento com Calen<sup>®</sup> + aplicação de LLLT nos mesmos moldes do grupo G2, sofrendo eutanásia 21 dias depois. Estudos histológicos realizados nas mandíbulas do lado esquerdo dos animais revelaram que os ratos controles (GC) não apresentaram alterações dos tecidos periapicais. Os ratos do grupo G1 revelaram lesões inflamatórias periapicais, ao passo que os animais que receberam LLLT desde a indução da lesão periapical (G2) apresentaram lesões muito mais intensas, com uma maior perda óssea na região periapical, do que nos ratos operados e não irradiados do G1. Estudos histológicos nos grupos da segunda fase (G3, G4 e G5) evidenciaram que os animais tratados somente com Calen<sup>®</sup> (G4) e com Calen<sup>®</sup>+LLLT (G5), apresentaram lesões menos intensas no 42<sup>o</sup> dia da indução, em comparação aos animais que não receberam nenhum tratamento (G3) no 21<sup>o</sup> dia da doença. Os animais tratados com Calen<sup>®</sup>+LLLT (G5) revelaram lesões periapicais menos intensas do que ratos tratados apenas com Calen<sup>®</sup> (G4). Esses dados indicam que a irradiação com laser

de baixa potência, como único tratamento da periodontite apical, poderá apresentar o risco de agravamento do processo inflamatório em curso, ao passo que o uso da mesma como tratamento adjuvante à terapia endodôntica convencional parece contribuir para o melhor controle do processo inflamatório da periodontite apical. Essas observações preliminares, aparentemente contraditórias, parecem sugerir que a LLLT não possui de fato o efeito antiinflamatório a ela atribuído em estudos ocasionais, mas exerce algum efeito estimulador sobre as células imunes engajadas na formação do processo inflamatório, ou nas envolvidas na involução do processo patológico iniciado pelas medidas terapêuticas convencionais.

**Palavras chave: Periodontite Periapical; Terapia a Laser de Baixa Intensidade.**

## **ABSTRACT**

**STUDY ON THE POTENTIAL OF LOW-LEVEL LASER THERAPY (LLLT) IN APICAL PERIODONTITIS: A histological evaluation of the influence of LLLT on the evolution of induced periapical inflammatory process, and in its use as an adjunct therapy to conventional treatments, in the experimental apical periodontitis model in rats.**

Otavio Henrique Pinhata Baptista

Department of Pathology & Legal Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará

## **ABSTRACT**

Apical periodontitis, most frequent as a consequence of dental caries, is considered a pathological process of difficult control and cure, due to the involvement of immune system in its evolution and maintenance. The low-level laser therapy (LLLT) is lately being used as a therapeutic measure in some areas of Dentistry; however its mode of action and the consequent effects on apical periodontitis are not yet well understood. The objectives of the present study was to show a histological evaluation of the consequence of application of LLLT during the evolution of experimentally induced inflammatory apical lesion in rats, and evaluate the effect of use of LLLT as an auxiliary therapy to conventional endodontic treatment of established apical periodontitis, in the same experimental model. The study was performed in two stages: in the first phase, 40 adults, male *Wistar* rats were utilized, with four animals used as "sham-operated" control group (GC), and the other 36 animals divided into two groups of 18 each (G1 and G2), and subjected to induction of apical periodontitis by opening the crown of the left front molar and leaving the root pulp open to the oral cavity. The animals of G1 suffered only the induction of lesion, while those of G2 also received LLLT, at 830nm wave length and exit potency of 100 mW in the dental apical region, on days 0, 10, 20 and 30 (total irradiation dose of 28 J/cm<sup>2</sup>, at 5.6 J/cm<sup>2</sup> per application). The animals were sacrificed in the following manner: one animal of the control group (GC) on each of the days 0, 10, 20 and 30, and six animals from each of the groups G1 and G2, on days 10, 20 and 30. In the second phase of the study, 12 animals constituted the following three experimental groups of four each (G3, G4 and G5): G3 – apical periodontitis induced and sacrificed 21 days later; G4 – apical periodontitis induced + treated with Calen<sup>®</sup> on day 21 of induction of lesion, and sacrificed 21 days later; and G5 – apical periodontitis + treated with Calen<sup>®</sup> + LLLT applied as in G2, and sacrificed 21 days later. Histological evaluations performed on the left mandibles revealed that animals of the control group (GC) did not have alterations in the periapical tissues. All the animals of G1 developed apical periodontitis, while the G2 animals treated with LLLT from day 0 of lesion induction revealed markedly more intense inflammatory lesions and greater alveolar bone loss in the periapical region, as compared to those of G1 which did not receive laser irradiation. Histological studies on the second phase groups G3, G4 and G5, demonstrated that animals

treated with Calen<sup>®</sup> alone (G4), and with Calen<sup>®</sup> + LLLT (G5) presented less severe apical periodontitis on day 42 of induction of disease, when compared with those of G3 at day 21 of disease induction. More significantly, animals of G5, treated also with LLLT, revealed less intense apical periodontitis, than those of G4 which received only Calen<sup>®</sup> treatment. These evidences indicate that low-level laser irradiation, when employed as the only treatment for apical periodontitis, could present the risk of aggravating an ongoing inflammatory process; while its use as an adjunct therapy to conventional endodontic treatment seems to contribute to a better control of the periapical inflammatory disease. These preliminary, and apparently contradictory, results seem to suggest that LLLT may not, in fact, possess an anti-inflammatory potential attributed to it in occasional reports, but it likely exerts some stimulatory influence on the activity of immune cells engaged in the inflammatory disease process, or on those involved in the resolution of the inflammatory disease initiated by the conventional endodontic therapeutic measures.

**Key words: periapical periodontitis; Low-level laser therapy (LLLT)**

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP -	Adenosina trifosfato.....	18
LT -	Leucotrienos.....	25
IL-1 -	Interleucina – 1.....	25
IL-6 -	Interleucina – 6.....	25
IgE -	Imunoglobulina E.....	26
IgA -	Imunoglobulina A.....	26
IgG -	Imunoglobulina G.....	26
IgM -	Imunoglobulina M.....	26
TCR -	Receptores de células T.....	27
MHC -	Molécula de histocompatibilidade.....	27
SIDA -	Síndrome da imunodeficiência humana adquirida.....	27
IFN- $\gamma$ -	Interferon gamma.....	28
IL-2 -	Interleucina – 2.....	28
IL-4 -	Interleucina – 4.....	28
IL-2R -	Receptor para interleucina – 2.....	28
RNA -	Ácido ribonucléico.....	33
IL-10 -	Interleucina – 10.....	36
IL-12 -	Interleucina – 12.....	36
nm -	Nanômetro.....	38
J/cm <sup>2</sup> -	Joule por centímetro quadrado.....	38
IL-1 $\beta$ -	Interleucina 1 – beta.....	65
TNF- $\alpha$ -	Fator de necrose tumoral – alfa.....	65

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figuras 1A e B</b>	Regiões periodontais apicais das raízes distais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo GC (animais não operados); coloração HE; aumento de 40 vezes.....	51
<b>Figuras 2A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G1 (lesões induzidas sem LLLT) submetidos à eutanásia no dia 10; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	52
<b>Figuras 3A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G1 (lesões induzidas sem LLLT) submetidos à eutanásia no dia 20; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	53
<b>Figuras 4A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G1 (lesões induzidas sem LLLT) submetidos à eutanásia no dia 30; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	54
<b>Figuras 5A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G2 (lesões induzidas e com LLLT) submetidos à eutanásia no dia 10; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	55
<b>Figuras 6A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G2 (lesões induzidas e com LLLT) submetidos à eutanásia no dia 20; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	56
<b>Figuras 7A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G2 (lesões induzidas e com LLLT) submetidos à eutanásia no dia 30; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	57
<b>Figuras 8A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G3 (lesões induzidas sem tratamento) submetidos à eutanásia no dia 21 após indução da lesão; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	58
<b>Figuras 9A e B</b>	Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G4 (lesões induzidas e tratamento com Calen <sup>®</sup> sem LLLT) submetidos à eutanásia 21 dias após tratamento; coloração HE; aumento de 40 vezes.....	59

**Figuras 10A e B** Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G5 (lesões induzidas e tratamento com Calen<sup>®</sup> + LLLT) submetidos à eutanásia 21 dias após tratamento; coloração HE; aumento de 40 vezes.....

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>REVISTA DE LITERATURA</b> .....	19
2.1	Periodontites apicais.....	19
2.1.1	Classificação das periodontites apicais.....	21
2.1.2	Fundamentos imunológicos.....	24
2.1.3	Tratamentos.....	33
2.2	Terapia a laser de baixa potência (LLLT) na Odontologia.....	36
2.2.1	Efeitos biológicos da LLLT.....	38
2.2.2	Riscos e efeitos colaterais da LLLT.....	42
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	44
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	45
4.1	Materiais.....	45
4.1.1	Animais.....	45
4.1.2	Instrumentais e suprimentos.....	45
4.2	Métodos.....	46
4.2.1	Indução da periodontite apical.....	46
4.2.2	Grupos experimentais.....	46
4.2.3	Preparação das mandíbulas para o processamento histológico.....	50
4.2.4	Exames histológicos.....	50
4.2.5	Documentação de resultados.....	50
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	51
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	61
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	69
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças inflamatórias dos tecidos periapicais (periodontites apicais) constituem patologias freqüentes da cavidade oral (SOUZA et al., 2003), sendo originadas principalmente como seqüela da cárie dentária, mas também podendo surgir como resultado de traumas mecânicos, térmicos ou químicos (NAIR, 1987; WAYMAN et al., 1992). Apesar de serem lesões orais freqüentes, e já conhecidas há bastante tempo, elas ainda são consideradas doenças de difícil controle e resolução.

Apesar de vários trabalhos relatarem o alto índice de sucesso dos tratamentos endodônticos não-cirúrgicos das lesões periapicais inflamatórias, a taxa de insucesso ainda continua grande, mesmo após o retratamento endodôntico convencional (SHAH, 1988; MURPHY et al., 1991).

Essa dificuldade, ou até mesmo impedimento, no reparo ou cura das lesões periapicais, mesmo após um criterioso tratamento endodôntico, pode ser causada por alguns fatores locais, tais como inacessibilidade aos microorganismos extra-radiculares, presença de microbiota diferente daquela normalmente encontrada nas infecções endodônticas, sobreinstrumentação, extravasamento de substâncias químicas auxiliares do preparo mecânico ou de material obturador e detritos da região periapical, assim como também por fatores sistêmicos como idade, desnutrição, doenças crônicas, distúrbios hormonais e deficiências imunológicas (BYSTRÖM et al., 1987; SJÖGREN et al., 1990; SOARES & GOLDBERG, 2001; SUNDE et al., 2002; NAIR, 2004).

O método alternativo ao tratamento endodôntico convencional, que visa eliminar as lesões periapicais persistentes, consiste da intervenção cirúrgica periapical, também chamada de cirurgia parendodôntica (FERRETE & CAMPOS, 1993; BERNABÉ & HOLLAND, 1998; BRAMANTE et al., 2003). A literatura cita que a taxa de insucesso na cura dessas lesões através do tratamento endodôntico convencional permanece alta. FRIEDMAN & MOR, em 2004, relataram uma taxa de insucesso de até 26%; CALISKAN, em 2005, evidenciou uma taxa de até 38,4%; e

KIRKEVANG et al., evidenciaram, em um trabalho mais recente de 2006, uma taxa de insucesso de até 60% em pacientes dinamarqueses. Dentro dessa realidade, um grande número de pacientes ainda necessitam recorrer aos procedimentos agressivos e invasivos, tais como as cirurgias parendodônticas, a fim de tratar definitivamente tais lesões.

A disponibilidade de terapias auxiliares ao tratamento endodôntico convencional para o controle mais eficaz da resposta inflamatória aos fatores agressores locais, e que ainda pudessem modular as respostas imunes do organismo, contribuindo desta forma com a eliminação definitiva do processo infeccioso, reduziria a necessidade de intervenção cirúrgica para remoção das lesões periapicais.

Dentre as terapias já conhecidas na Odontologia, a que mais se aproxima do ideal acima exposto é a “terapia a laser de baixa potência” (LLLT = low level laser therapy). São aproximadamente 325 estudos sobre esta terapia somente na área odontológica, para no mínimo 30 indicações terapêuticas diferentes, vindos de 82 instituições de 37 países diferentes (TUNÉR & HODE, 1999). A qualidade dos estudos varia, porém é interessante ressaltar que a grande maioria deles descreve efeitos positivos da laserterapia. Essa grande variedade de indicações clínicas tem sido usada como argumento contra os reais benefícios dessa terapia.

Alguns estudos recentes sobre o uso da LLLT demonstram ganhos do sistema biológico geral, assim como do sistema imune, da produção de ATP, da permeabilidade da membrana celular e da liberação de substâncias transmissoras (KUJAWA et al., 2004; CORRAL-BAQUES et al., 2005; NOVOSELOVA et al., 2006).

## 2 REVISTA DE LITERATURA

### 2.1 Periodontites apicais

Nas periodontites apicais, a contaminação bacteriana crônica dos canais radiculares, oriunda da diversidade de microorganismos que habitam a placa bacteriana, aparece como o principal fator etiológico, sendo responsável pelo desenvolvimento e, muitas vezes, pela perpetuação dessas lesões (KAWASHIMA et al., 1996). Porém, injúrias estéreis, tais como trauma dental, irritação com materiais endodônticos ou outros produtos químicos também foram constatados, repetidas vezes, como causadores de inflamações periapicais (NAIR, 1987; WAYMAN et al., 1992).

Alguns trabalhos revelam que o periápice do dente é envolvido quando as bactérias invadem a polpa, acarretando a necrose total ou parcial desta (WALTON & GARNICK, 1986; FOUAD et al., 1992).

KAKEHASHI et al. (1965) conseguiram induzir lesões periapicais em animais normais, apenas expondo as polpas dentais ao meio oral, ao passo que essa mesma experiência em animais *germ-free*, não resultou no desenvolvimento das lesões periapicais. A cavidade feita na coroa do dente dos ratos *germ-free* para a exposição das polpas, demonstravam sinais de reparação com dentina, por volta do 36<sup>o</sup> dia após a sua realização.

Num outro trabalho (MOLLER et al., 1981), realizado em macacos, demonstrou-se que o tecido pulpar necrótico não-infectado não induziu lesões inflamatórias periapicais; porém a infecção experimental do tecido pulpar desses animais resultou na formação de tais lesões.

Diferentemente dessas observações, alguns autores relatam que, mesmo nos casos onde o fator etiológico é estéril (trauma, irritação química e/ou mecânica), poderá ocorrer a contaminação do tecido pulpar e/ou periapical por via do ligamento periodontal, ou pela contaminação advinda da circulação sanguínea, processo este

denominado de anacorese (SMITH & TAPPE, 1962; GROSSMAN, 1967). Porém, outro trabalho não confirma tal ocorrência (DELIVANIS & FAN, 1984).

Os exames histológicos, em geral, não conseguem detectar bactérias vivas nas biópsias de lesões periapicais, gerando dúvida em relação a existência ou não de infecção nas mesmas, a não ser em casos de abscessos agudos. Porém, alguns trabalhos têm demonstrado através de culturas de tecidos de lesões periapicais biopsiadas, evidências da presença de bactérias vivas, o que explicaria mais facilmente os casos de insucessos das terapias endodônticas não-cirúrgicas nesses casos (IWU et al., 1990; WAYMAN et al., 1992; WALTON & ARDJMAND, 1992).

Neste contexto, deve-se considerar também o papel dos fatores imunológicos no desenvolvimento das lesões periapicais, haja vista que a periodontite apical foi uma das primeiras desordens orais que teve o sistema imunológico relacionado com seu desenvolvimento e perpetuação (TORABINEJAD et al., 1985).

As alterações nos tecidos periapicais, seguidas das infecções bacterianas, podem ser causadas, essencialmente, por reações de defesa do hospedeiro, mediante respostas imunológicas desencadeadas contra antígenos específicos. Porém, os mecanismos detalhados envolvidos no desenvolvimento das lesões periapicais ainda não estão completamente elucidados (KAWASHIMA et al., 1996).

Deve-se também levar em consideração a intensidade e a duração dos eventos causadores das lesões periapicais e, dependendo desses fatores, as lesões poderão desenvolver-se de maneira aguda ou crônica. A virulência dos microorganismos envolvidos, assim como a capacidade de defesa do hospedeiro, contribui para a definição do tipo de doença periapical a ser formada (WALTON & ARDJMAND, 1992; YAMASAKI et al., 1992; STASHENKO et al., 1994; NAIR, 1997).

### 2.1.1 Classificação das periodontites apicais

A classificação clínica mais simples (DE DEUS, 1992) que se encontra em relação às periodontites apicais refere-se apenas a:

- (1) Lesões periapicais agudas, com ou sem áreas visíveis de tumefação.
- (2) Lesões periapicais crônicas;

Uma outra classificação (COHEN & BURNS, 1997) das periodontites apicais as divide em entidades distintas, dentro das duas categorias acima citadas:

#### I. Lesões periapicais agudas:

- (1) Periodontite apical aguda;
- (2) Abscesso apical agudo;
- (3) Osteomielite aguda;
- (4) Abscesso “Fênix”;

#### II. Lesões periapicais crônicas:

- (1) Periodontite apical crônica (“Granuloma”);
- (2) Periodontite apical supurativa (“Granuloma com fistulização”);
- (3) Cistos periapicais.

A periodontite apical aguda, também conhecida como pericementite, constitui-se na inflamação aguda do periápice radicular e do osso adjacente. Ela ocorre antes da reabsorção óssea. A resposta vascular aos antígenos da polpa produz edema, o qual, junto aos leucócitos, preenche rapidamente o espaço do ligamento periodontal entre o ápice radicular e o osso. Não havendo espaço para acomodação desse fluido, as terminações nervosas já afetadas e sensíveis são comprimidas, resultando em dor intensa. Esta sintomatologia dolorosa permanece até o momento em que o osso começa a ser reabsorvido. O espaço criado então acomoda o fluido do edema com os polimorfonucleares, fazendo com que o paciente se queixe, não raras às vezes, de uma sensação de que o dente se deslocou para fora da cavidade alveolar, mesmo não havendo evidência disso no exame radiográfico (DE DEUS, 1992; COHEN & BURNS, 1997).

O abscesso apical agudo é caracterizado pela presença de coleção purulenta na região apical, que ocorre quando uma grande quantidade de bactérias ultrapassa o ápice, ou após trauma físico ou químico ao elemento dental, causando, dessa maneira, uma reação inflamatória intensa. Como resultado dessa reação, ocorre a lise dos leucócitos polimorfonucleares associados à desintegração tecidual, culminando no surgimento de pus, que é a principal característica desta entidade patológica que se faz acompanhar também de sinais e sintomas bem marcantes de acordo com a evolução da infecção, desde uma dor localizada espontânea e pulsátil com extrusão dental, até a perda total da vitalidade pulpar acompanhada de alterações sistêmicas como linfadenite regional e febre (COHEN & BURNS, 1997).

A osteomielite aguda é uma complicação ou uma seqüela séria da infecção periapical, que resulta, freqüentemente, da disseminação difusa da infecção pelos espaços medulares do osso adjacente ao dente afetado, com necrose de quantidade variável do tecido ósseo. A osteomielite aguda pode ser localizada ou estender-se por grandes áreas ósseas. Geralmente, as pessoas acometidas por esta entidade patológica apresentam dor intensa e elevação da temperatura corporal com presença de linfadenopatia regional. Apesar dos dentes apresentarem, normalmente, mobilidade e sensibilidade nos estágios iniciais da doença, dificultando assim a alimentação do paciente, pode não haver edema ou eritema em pele ou mucosa adjacentes enquanto não ocorrer a periosteíte. A detecção radiográfica desta lesão é difícil até a doença ter evoluído pelo menos uma ou duas semanas, quando então, começam a surgir as alterações líticas difusas do osso. A contagem de leucócitos freqüentemente está elevada, e a parestesia e anestesia do lábio inferior é uma ocorrência comum no envolvimento da mandíbula (COHEN & BURNS, 1997).

O abscesso “fênix” é a exacerbação aguda de uma inflamação periapical crônica já existente, ou seja, se houver uma radiotransparência periapical com uma resposta inflamatória aguda sobreposta a esta lesão crônica pré-existente, dá-se o nome de abscesso “fênix”. Seus sintomas são idênticos àqueles de um abscesso apical agudo (COHEN & BURNS, 1997).

A periodontite apical crônica, também chamada de “granuloma”, é dentre os processos patológicos periapicais o que ocorre com maior incidência

(SPATAFORE et al., 1990; NAIR et al., 1996), sendo considerada a seqüela mais comum da pulpite. A denominação “granuloma” é bastante controversa devido ao fato de a lesão não mostrar todas as características histológicas associadas com a inflamação granulomatosa. Trata-se de uma reação de intensidade relativamente baixa e de longa duração contra as bactérias e irritantes provenientes do canal radicular e, muitas vezes, está associada a microorganismos de baixa virulência que exercem discreta, porém persistente, irritação aos tecidos periapicais. Quando encontra defesas orgânicas suficientemente intensas para conter a infecção, o processo reacional evolui rapidamente para a cronicidade caracterizada por tecido de granulação, o qual atua no sentido de neutralizar os agentes infecciosos que extravasam do canal radicular para a região periapical. Na maioria dos casos essa lesão é completamente assintomática, passando despercebida clinicamente, e vindo a ser descoberta somente após exame radiográfico, quando já está em estado adiantado de desenvolvimento. Microscopicamente, a lesão se caracteriza pela presença predominante de linfócitos, plasmócitos e macrófagos cercados por uma cápsula fibrosa relativamente não inflamada, composta de colágenos, fibroblastos e brotos capilares (NAIR et al., 1996).

Já a periodontite apical supurativa (“granuloma com fistulização”) não passa de uma periodontite apical crônica que drena secreção purulenta através de uma fístula. O paciente pode queixar-se de “abscesso gengival” e “gosto ruim na boca”. A fístula pode ser revestida internamente por tecido epitelial, e quanto mais persistente for a fístula, maior a probabilidade de revestimento epitelial (COHEN & BURNS, 1997).

Por fim, os cistos periapicais são lesões cavitárias de crescimento contínuo revestidas internamente por tecido epitelial de origem odontogênica e externamente por tecido conjuntivo, podendo conter no seu interior material fluido, semifluido ou sólido. Eles podem ser originados pela irritação de baixa intensidade e de longa duração proveniente do canal radicular, onde os restos epiteliais de Malassez existentes na membrana periodontal são estimulados e dessa forma proliferam formando uma massa hiperplásica. Outra hipótese bastante defendida é de que o cisto periapical se origina de “granulomas periapicais”. Porém, nem todos os granulomas se transformam em cistos periapicais mesmo estando os restos

epiteliais de Malassez presentes no pericementamento de todos os dentes (NAIR et al., 1996; REGEZI & SCIUBBA, 2000).

Vale a pena ressaltar que existem dois tipos de cistos periapicais: (i) os cistos verdadeiros e (ii) os cistos baía. Os primeiros são cavidades revestidas internamente por epitélio e externamente por um cinturão de tecido conjuntivo, porém sua luz não se comunica diretamente com o sistema de canais radiculares. Já no segundo tipo, o sistema de canais radiculares se comunica diretamente com o interior da cavidade cística. Essa diferenciação tem importância clínica do ponto de vista da cicatrização, pois os endodontistas relatam que é possível tratar um cisto periapical através de um tratamento endodôntico não-cirúrgico, porém os cirurgiões acham que a cura só se dá após a remoção cirúrgica do mesmo. Isso pode ocorrer devido à diferença clínica apresentada pelos dois tipos de cistos citados anteriormente (SIMON, 1980; NAIR et al., 1996; NAIR, 1998).

A formação de um cisto e a progressão de um cisto baía para um cisto verdadeiro ocorre em longo prazo, ou seja, quanto maior for o tempo da presença de uma lesão, maior será a probabilidade da mesma se tornar um cisto verdadeiro. Porém, a incidência de cistos verdadeiros é, provavelmente, menor do que 10% (SIMON, 1980).

### **2.1.2 Fundamentos imunológicos**

Os tecidos perirradiculares, assim como a polpa dental, respondem às infecções bacterianas da mesma forma que os demais tecidos conjuntivos do organismo, variando apenas em relação às suas posições anatômicas singulares (COHEN & BURNS, 1997).

A relação da virulência bacteriana e da resistência dos tecidos do hospedeiro é o que determina o grau da extensão do dano que acarreta nos tecidos citados. Uma periodontite apical aguda incipiente pode ser resolvida pela ação do sistema imune do hospedeiro (cura espontânea). Porém, poderão os agentes causadores – normalmente bactérias, seus antígenos e toxinas advindas do canal

radicular – saturarem os mecanismos de defesa do organismo, fazendo com que a lesão progrida para a formação de abscesso, com ou sem fístula, e disseminação para o interior do osso alveolar (NAIR, 1997).

A periodontite apical crônica representa um equilíbrio dinâmico entre os agentes irritantes exógenos e o mecanismo de defesa do hospedeiro, onde o último não é capaz de eliminar completamente os fatores patogênicos. Porém, através da formação de uma barreira circunscrita, previne efetivamente a futura disseminação dos mesmos (WALTON & ARDJMAND, 1992; YAMASAKI et al., 1992; STASHENKO et al., 1994).

Nas áreas necróticas e exsudativas da inflamação perirradicular, os neutrófilos promovem a primeira linha de defesa contra a invasão bacteriana advinda dos canais radiculares infectados. Devido a capacidade destrutiva e fagocítica dos neutrófilos, muitos dos microorganismos invasores são destruídos e eliminados, prevenindo assim sua disseminação por toda a região (BABIOR, 1984; WALTON & ARDJMAND, 1992; KAUFMANN, 1993). O neutrófilo também está presente na zona granulomatosa da lesão, porém em uma concentração muito menor do que na zona exsudativa quando comparado com outras células infiltrativas (YU & STASHENKO, 1987; PIATTELLI et al., 1991; MÁRTON & KISS, 1993).

Os neutrófilos não apenas combatem os microorganismos, mas também liberam alguns mediadores da inflamação, tais como leucotrienos (LT) e prostaglandinas, onde o  $LTB_4$  funciona como quimiotaxina que atrai mais neutrófilos e macrófagos para o interior da área periapical, e os macrófagos, por sua vez, ativam os osteoclastos promovendo a reabsorção óssea (STASHENKO et al., 1994).

A demonstração da produção por neutrófilos de interleucinas IL-1 e IL-6, induzida por lipopolissacarídeos nas lesões perirradiculares, sugere que estas células, outrora consideradas meros efetores passivos do estágio final do processo inflamatório não específico, podem também participar ativamente na promoção da periodontite apical (BANDO et al., 1993; MILLER et al., 1996; EULER et al., 1998).

Os eosinófilos, embora encontrados no interior do tecido de granulação, representam apenas uma minoria da população leucocitária do infiltrado inflamatório perirradicular (YU & STASHENKO, 1987; MÁRTON & KISS, 1993).

Na década de 70 e no início dos anos 80, acreditava-se que a reação de hipersensibilidade tipo anafilática, mediada por histamina e outras aminas vasoativas liberadas dos mastócitos e dos basófilos tissulares, ativados pelos IgE e antígenos nas superfícies, contribuía para o aparecimento da inflamação perirradicular (MATHIESEN, 1973; TORABINEJAD et al., 1981). Contudo, o uso de técnicas avançadas de imunohistoquímica a base de enzimas revelaram que a presença de mastócitos era muito menor do que se imaginava, o que sugere que a hipersensibilidade anafilática não seja um fator importante na evolução da doença (MÁRTON et al., 1990; PIATTELLI et al., 1991). A baixa presença de plasmócitos produtores de IgE encontrados na zona granulomatosa (MÁRTON et al., 1990), também reforça esta idéia.

Muitos autores têm demonstrado a presença de altas concentrações de IgG, IgA e quantidades menores de IgM e IgA secretora no interior do corpo dos granulomas periapicais, nas paredes dos cistos periapicais e nos fluídos císticos, como também no exsudato de canais radiculares de dentes afetados periapicalmente (GREENING & SCHONFELD, 1980; KEUDELL et al., 1981; JOHANNESSEN et al., 1983; TORRES et al., 1994). Estas observações sugerem que a imunidade antibacteriana local pode ser exercida principalmente pelas referidas classes de imunoglobulinas.

A significância *in vivo* da imunidade humoral é realçada pela observação experimental de que macacos imunizados contra microorganismos desenvolvem lesões periapicais menores do que os animais não imunizados (DAHLÉN et al., 1982). Pacientes acometidos com periodontites apicais, revelam uma ampla heterogeneidade molecular das imunoglobulinas, observação esta considerada consistente com respostas policlonais despertadas por estímulos multibacterianos (TAKAHASHI et al., 1996).

Junto das imunoglobulinas, outras proteínas plasmáticas transudadas da circulação sanguínea para o interior da lesão, tais como componentes do complemento, proteínas de coagulação e proteínas hepáticas da fase aguda, participam das defesas do processo inflamatório, no combate aos agentes infecciosos (JOHANNESSEN et al., 1983; LERNER, 1994; SUNDQVIST & LERNER, 1996).

Embora os linfócitos B e os plasmócitos representem uma população importante do infiltrado inflamatório perirradicular, estudos quantitativos das subpopulações linfocitárias têm demonstrado a preponderância de células T sobre os linfócitos B, indicando que os granulomas periapicais são predominantemente lesões mediadas por células T, tanto em humanos quanto em lesões experimentais induzidas em ratos (TORABINEJAD et al., 1985; YU & STASHENKO, 1987; PIATTELLI et al., 1991; MÁRTON & KISS, 1993).

A maioria das células T encontradas nas formas de imunidade celular, incluindo a hipersensibilidade retardada e a citólise mediada por célula, expressa receptores TCR de fenótipo  $\alpha$  e  $\beta$  (JANEWAY, 1992), além das moléculas co-receptoras CD4 e CD8, as quais dividem as células T em dois subgrupos funcionais: os linfócitos T CD4<sup>+</sup> ativados pelo complexo antígeno-MHC II, gerando citocinas moduladoras de respostas imunes, inclusive a produção de imunoglobulinas pelos linfócitos B (REINHERZ & SCHLOSSMAN, 1980; CROFT & SWAIN, 1991); e os linfócitos T CD8<sup>+</sup> que só reconhecem os antígenos apresentados nas moléculas de MHC classe I, e exercem atividade citotóxica contra os tecidos infectados por microorganismos ou tecidos neoplásicos (NABHOLZ & McDOLNARD, 1983). Os linfócitos T CD4<sup>+</sup> constituem a maioria das duas populações, na proporção normal de 1,5 a 2 linfócitos T CD4<sup>+</sup> para cada linfócito T CD8<sup>+</sup>.

A proporção CD4/CD8 tem sido usada largamente para caracterizar o equilíbrio regulatório do sistema imune e a integridade da saúde do organismo como um todo. Alterações na proporção relativa dessas populações de linfócitos T podem estar envolvidas na evolução de doenças auto-imunes, lesões malignas e inflamatórias, e estados de imunodeficiências, em particular na síndrome da imunodeficiência humana adquirida (AIDS) (KONG, 1983).

Nas periodontites apicais, a mais alta proporção de CD4/CD8 foi encontrada nas lesões císticas, as quais também continham maior porcentagem de células B do que os granulomas (SOL et al., 1998).

Em lesões periapicais experimentalmente induzidas em ratos, estudos imunohistoquímicos demonstraram que lesões periapicais recentes e lesões periapicais crônicas tinham diferentes composições dos subgrupos de linfócitos T,

com o predomínio das células T CD4<sup>+</sup> na fase inicial de desenvolvimento da lesão, seguido pelo seu gradual declínio na fase crônica, quando as células T CD8<sup>+</sup> excediam, ligeiramente, em número, as células T auxiliares (KAWASHIMA et al., 1996). Se os resultados observados nos modelos animais pudessem ser extrapolados para os seres humanos, isso significaria que o infiltrado celular perirradicular nos pacientes com lesões relativamente recentes seria caracterizado predominantemente pelas células T auxiliares, uma vez que as lesões mais avançadas seriam caracterizadas pela preponderância das células T citotóxicas. Algumas observações investigativas de granulomas induzidos experimentalmente por patógenos intracelulares e por partículas inertes, comprovaram que a infiltração das células T CD4<sup>+</sup> ativadas é essencial para a evolução do micro-abscesso à infiltração granulomatosa organizada (MIELKE et al., 1997).

Ambos os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> produzem uma variedade de potentes moléculas reguladoras (citocinas), quando sensibilizados por antígenos na presença das moléculas de MHC apropriadas, o que parece ocorrer no processo inflamatório granulomatoso (SELTZER, 1990). De acordo com o padrão de citocinas produzidas, os linfócitos T CD4<sup>+</sup> são classificados em T-auxiliar (helper) 1 (T<sub>h</sub>1 que secretam predominantemente IL-2 e IFN- $\gamma$ ), ou T-auxiliar (helper) 2 (T<sub>h</sub>2 com o perfil de IL-4, IL-5 e IL-10) (MOSMANN & COFFMAN, 1989).

Estudos imunohistoquímicos mais recentes evidenciaram a presença de IFN- $\gamma$ , mas não de IL-4, em granulomas periapicais de humanos, o que sugere ser esta uma lesão, provavelmente, de natureza T<sub>h</sub>1 (KABASHIMA et al., 1998).

Uma parcela significativa dos linfócitos T infiltrados na lesão sofre proliferação e diferenciação em células realizadoras de respostas celulares adaptativas (específicas). Esse processo se associa com o aparecimento de numerosas proteínas na membrana celular, incluindo o receptor de cadeia- $\alpha$  para IL-2 (IL-2R $\alpha$ ) (FUJITA et al., 1986; CROSS et al., 1987; BOHNLEIN et al., 1988; PIATTELLI et al., 1991; MÁRTON et al., 1998), o que prepara essas células para os efeitos de crescimento e diferenciação funcional pela IL-2.

Um tipo de cooperação tem sido descrito entre as células T<sub>h</sub>1 produtoras de IL-2 e precursores de linfócitos T CD8<sup>+</sup> que não produzem quantidades

significantes desta citocina (GLASEBROOK & FITCH, 1979). A estimulação parácrina, envolvendo a interação entre IL-2 e o seu receptor (IL-2R), poderá explicar a mudança progressiva na proporção das células CD4/CD8 no desenvolvimento dos granulomas periapicais em animais, e o relativo excesso de linfócitos T CD8<sup>+</sup> observado nas lesões crônicas humanas. Haja vista que o fenótipo CD8<sup>+</sup> responde tanto por linfócitos T citotóxicos quanto por linfócitos T reguladores (supressores) (SHEVACH, 2002; WOOD & SAKAGUSHI, 2003), ainda não está claro se os linfócitos T CD8<sup>+</sup> encontrados nas periodontites apicais exercem uma ação supressora, abrandando deste modo as reações imunes em excesso, ou uma atividade citotóxica lesiva aos tecidos.

O perfil funcional dos linfócitos T também é definido pelo tipo de receptor (TCR) que carregam na membrana. A maioria das células T nos órgãos linfóides e no sangue periférico expressa o heterodímero  $\alpha\beta$  (T $\alpha\beta$ ), em ambas as subpopulações CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. Essas células desempenham suas funções em todo o organismo, inclusive nas estruturas periodontais, constituindo-se a base da imunidade desempenhada pelos linfócitos T.

Uma pequena população de linfócitos T do organismo possui receptores TCR com as cadeias do tipo  $\gamma$  e  $\delta$  no lugar das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ . Conhecidos por T $\gamma\delta$ , essa população ainda não está bem conhecida quanto ao seu perfil funcional e a sua relevância para a defesa do organismo. Esses linfócitos T são encontrados nos tecidos linfóides mucosais, compondo a população linfocitária denominada de células interepiteliais (IEL), as quais são associadas com o fenômeno de tolerância oral - um sistema regulatório de respostas imunes, principalmente contra antígenos alimentares - que podem desencadear reações anafiláticas e doenças auto-imunes. (CARDING & EGAN, 2002; HAYDAY & TIGELLAR, 2003) Essas células são encontradas tanto em gengivas saudáveis quanto nas cronicamente inflamadas, como também em mucosa oral de pacientes com dermatite herpetiforme, onde elas podem exercer alguma função protetora especial, pela eliminação das células epiteliais danificadas ou infectadas (ALLISON, 1993; LUNDQVIST & HAMMARSTRÖ, 1993; PATINEN et al., 1997). Além disso, células T $\gamma\delta$  mostraram contribuir significativamente para a resposta protetora nas lesões granulomatosas desencadeadas por patógenos intracelulares (KAUFMANN, 1993).

Estudos das subpopulações de linfócitos, por meio de citometria de fluxo, em lesões periapicais humanas, têm revelado um baixo número de células  $T\gamma\delta$  no interior do infiltrado inflamatório perirradicular (SOL et al., 1998), porém o significado da presença dessas células necessita de elucidação futura.

As células assassinas naturais (*natural killer* - NK) representam a melhor e a mais precoce defesa contra infecções por microorganismos intracelulares, e contra neoplasias. São células de defesas inatas, funcionando sem o estímulo antigênico específico. Estudos mais recentes revelam que as células NK podem constituir um elo entre os ramos antígeno-específico e o não específico do sistema imune. Geralmente, as células NK são encontradas em pequena quantidade nas lesões periapicais, porém o uso do marcador CD16 para a caracterização dessas células tem revelado uma presença maior de NK nessas lesões. Ressalta-se que esse marcador é idêntico ao receptor tipo III para a porção Fc da IgG (Fc $\gamma$ RIII), também expresso em granulócitos e macrófagos, o que resulta na inclusão de todas essas células na população de células NK (KETTERING & TORABINEJAD, 1993; SOL et al., 1998; MÁRTON et al., 1998).

Certas funções das células T podem ser parcialmente compensadas pelas células NK em infecções intracelulares de ratos com imunodeficiência combinada severa induzida pela mutação do genoma (BANCROFT et al, 1989). Todavia, esses animais podem ser susceptíveis à infecção generalizada, haja vista que as células NK não são capazes de produzir todas as citocinas necessárias para a formação adequada da resposta granulomatosa de defesa (BANCROFT et al., 1987).

Visto que as lesões periapicais crônicas se caracterizam pela formação do granuloma, responsáveis tanto pelo combate ao agente infeccioso quanto pelo processo patogênico, conclui-se que o verdadeiro papel das células NK nas lesões periapicais crônicas precisa ser ainda elucidado.

A presença dos macrófagos parece ser crucial para a estruturação do granuloma periapical e para a construção de defesas contra o agente infeccioso, e respondem por 4% a 50% do infiltrado inflamatório celular das lesões periapicais

(YU & STASHENKO, 1987; PIATTELLI et al., 1991; MÁRTON & KISS, 1993; KAWASHIMA et al., 1996).

Os macrófagos desenvolvem um papel altamente complexo entre os membros celulares do infiltrado inflamatório perirradicular. Em granulomas periapicais induzidos experimentalmente através da exposição da polpa de molares de ratos à microbiota oral, um dos eventos precoces evidenciados foi o pesado influxo de macrófagos para o interior do tecido periapical (KAWASHIMA et al., 1996), o que sugere que o sistema imune desencadeia rapidamente uma primeira linha de defesa local, constituída destes fagócitos, na tentativa de eliminar os estímulos nocivos em progressão da câmara pulpar para o espaço periapical.

Estudos, em ratos e em humanos, indicam que os macrófagos, caracterizados pela expressão dos antígenos do MHC classe II, são os mais freqüentemente encontrados dentre as subpopulações de macrófagos em lesões periapicais (YU & STASHENKO, 1987; OKIJI et al., 1994; MÁRTON et al., 1998). Este fato poderá indicar que tais macrófagos estariam envolvidos na apresentação de antígenos para linfócitos T, possibilitando assim o desencadeamento das respostas imunes específicas.

Os macrófagos do exsudato das lesões inflamatórias periapicais, são recrutados por múltiplos estímulos quimiotáticos.

A microbiota dos canais radiculares infectados, composta predominantemente por anaeróbios gram-negativos, possui suficiente quantidade de lipopolissacarídeos (LPS - também conhecidos por endotoxinas), os quais se disseminam em altas concentrações para o espaço periapical, após a desintegração desses microorganismos (SCHONFELD et al., 1982; YAMASAKI et al., 1992). Os lipopolissacarídeos, potentes ativadores de macrófagos, linfócitos T e linfócitos B, desencadeiam o processo de ativação do sistema do complemento pela via alternativa, induzindo a geração de peptídeos quimiotáticos (C3a, C5a, [C5b;6;7] e Ba), os quais mobilizam macrófagos e linfócitos para os locais de infecção perirradicular.

O organismo dispõe de variadas fontes de fatores quimiotáticos para leucócitos. Conhecidos atualmente por quimocinas ou quimotaxinas, esses fatores

são membros da super família das citocinas quimiotáticas, oriundas de células epiteliais, endoteliais, fibroblastos, células inflamatórias, células dendríticas, linfócitos e até de tecidos necrosantes (LUSTER, 1998). Uma fonte provável de produção de quimocinas em lesões periapicais recentes são as células epiteliais e endoteliais do ligamento periodontal estimuladas por lipopolissacarídeos. Em granulomas periapicais humanos, a produção da citocina IL-8 foi demonstrada pela imunohistoquímica, tanto em macrófagos quanto em células endoteliais que revestiam pequenas vênulas. Esta interleucina é um potente fator quimiotático de leucócitos (neutrófilos e eosinófilos). As quimocinas MCF-1 (fator quimiotático para macrófago-1), IL-8 e Rantes (um fator quimiotático de células T de memória) exibem um padrão característico de união com a matriz extracelular da lesão (MÁRTON et al., 2000). Os macrófagos também foram mostrados produzindo IL-8 em cistos radiculares (BANDO et al., 1993).

Os macrófagos recrutados para a linha de defesa se engajam na fagocitose e destruição dos microorganismos invasores do espaço periapical. As células ficam ativadas durante o ato de fagocitose, e processam os antígenos dos microorganismos e seus produtos, para o desencadeamento da imunidade pelos linfócitos T. Foram identificadas, repetidamente, em lesões periapicais, bactérias intracelulares em macrófagos adjacentes ao forame periapical (GOLDSTEIN & MCKINNEY, 1981; WALTON & ARDJMAND, 1992).

Os macrófagos apresentam aos linfócitos T os antígenos digeridos e conjugados à molécula de MHC classe II, seguido pela ativação da célula T (WEISS, 1993; MÁRTON et al., 1998). As células B policlonais também dependem dos macrófagos para a captação de antígenos do meio dos tecidos e a sua disponibilização sem processamento e conjugação com as moléculas de MHC (TEW et al., 1989).

Além disso, os macrófagos ativados também produzem um amplo espectro de substâncias biologicamente ativas (citocinas e outras moléculas mediadoras da inflamação) que, por sua vez, ativam outras células participantes das respostas de defesa do hospedeiro, tão bem como na formação do tecido de granulação organizado (NATHAN, 1987; HEINEMANN et al., 1997).

As moléculas solúveis mais relevantes em relação às respostas de defesa do hospedeiro e à formação de granuloma são a IL-1, o fator de necrose tumoral (TNF ou TNF- $\alpha$ ) e IL-12. A presença dessas moléculas foi primeiramente demonstrada em lesões periapicais no final da década de 80 e no início da década de 90 (BARKHORDAR & DeSOUZA, 1988; MEGHJI, HARVEY & HARRIS, 1989; SAFAVI & ROSSOMANDO, 1991), porém a relação entre os níveis desses mediadores e os sintomas clínicos foi descoberta mais tarde (LIM et al., 1994; MATSUO et al., 1994).

Atualmente, é possível determinar quantitativamente as citocinas oriundas dos exsudatos periapicais, graças à um método experimental confiável desenvolvido já há algum tempo (SHIMAUCHI et al., 1996). Contudo, a expressão de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  medida em níveis de proteína e RNA mensageiro (mRNA), em lesões periapicais, tanto experimentais quanto em humanos, ainda está restrita aos macrófagos, fibroblastos, células epiteliais e endoteliais, leucócitos, osteoblastos e osteoclastos, não podendo ser estendido para os linfócitos (BANDO et al., 1993; TANI-ISHII et al., 1995; TAKEICHI et al., 1996; WANG, TANI-ISHII & STASHENKO, 1997).

### **2.1.3 Tratamentos**

Em vários estágios da periodontite apical as manifestações istológicas representam respostas locais e sistêmicas do hospedeiro aos irritantes provindos dos canais radiculares. Na formação, desenvolvimento e perpetuação da lesão periapical inflamatória, as interações entre os macrófagos e as subpopulações de linfócitos T funcionalmente e fenotipicamente diferentes, resultam em um equilíbrio de ajuste fino dos processos protetores ou destrutivos dos tecidos, iniciados, em geral, pelas bactérias patogênicas para as estruturas endodônticas.

Por causa do fluxo contínuo dos microorganismos e de seus produtos, advindos dos canais radiculares infectados, a lesão não é usualmente autolimitada, apesar dos mecanismos de defesa montados pelo sistema imune-inflamatório do hospedeiro. Vários autores consideram que a desinfecção efetiva do sistema de

canais radiculares é essencial para a cicatrização da lesão (BYSTRÖM et al., 1987; ORSTAVIK, 1996).

Segundo KEREKES & TRONSTAD (1979), cerca de 85% a 90% dos pacientes com lesões periapicais podem ser satisfatoriamente tratados através dos métodos endodônticos convencionais não-cirúrgicos. Estudos mostram que o tratamento endodôntico apropriado, além de eliminar as bactérias, interfere na ecologia complexa da microbiota dos canais radiculares, privando os microorganismos restantes de sua fonte nutricional (SUNDQVIST, 1992; MAALOUF & GUTMANN, 1994). A cicatrização completa da lesão é um processo geralmente longo, podendo durar dois ou mais anos. Sinais de cicatrização incipiente, porém incompleta, estão presentes, em 89% dos casos, após um ano de tratamento, indicando que até mesmo a erradicação satisfatória da infecção dos canais radiculares é apenas um dos fatores, embora muito importante, no curso do processo cicatricial, o qual requer funcionamento ativo de vários mecanismos de reparo do hospedeiro na área periapical afetada (LIN et al., 1996; ORSTAVIK, 1996).

SELTZER et al., (1963) relataram que a presença da lesão periapical antes da realização do tratamento endodôntico convencional, reduz a taxa de sucesso terapêutico. Eles observaram que o tratamento endodôntico convencional consegue até 92% de sucesso em dentes sem periodontite apical, contra 76% em dentes com essa doença.

As causas de falhas do tratamento endodôntico convencional podem ser por fatores biológicos e/ou técnicos. A inabilidade de erradicar todos os microorganismos dos canais radiculares durante o tratamento endodôntico, a complexidade anatômica dos canais radiculares, as fraturas radiculares, as rachaduras, os canais não localizados, as obturações com guta-percha pouco condensada, as restaurações coronárias com infiltrações e a proximidade do ápice radicular ou comunicação deste com o seio maxilar, dentre outros possíveis, podem impedir a completa cicatrização da lesão periapical, por permitir a re-colonização bacteriana do ápice radicular (WAYMAN et al., 1992; ABOU-RASS, 1993; RAY & TROPE, 1995; ABOU-RASS & BOGEN, 1998).

A presença de bactéria não é a única causa de falha da cicatrização; cimentos obturadores extravasados pelo ápice radicular também podem atuar como corpo estranho, contribuindo para a natureza persistente das lesões periapicais refratárias (WAYMAN et al., 1992; BRATEL et al., 1998).

A introdução da terapia antibiótica sistêmica, nesse íterim, pode ser indicada em muitos casos de lesões periapicais persistentes; contudo, desde que o corpo das lesões periapicais seja raramente contaminado com grande quantidade de bactérias, a terapia antimicrobiana, muitas vezes, parece não contribuir na cicatrização (MATOSOW & GOODALL, 1983; HAAPASALO et al., 1987; READER et al., 1994).

O alto padrão para os tratamentos das lesões periapicais não responsivas continua sendo a cirurgia periapical (cirurgia parendodôntica), e o índice de sucesso relatado para esse tipo de cirurgia tem girado em torno de 65% a 99% (RAPP et al., 1991; EL-SWIAH & WALKER, 1996; ABOU-RASS & BOGEN, 1998).

A curetagem perirradicular é parte do procedimento terapêutico da cirurgia parendodôntica. Por ser o tecido de granulação inflamatório o resultado, e não a fonte, da irritação perirradicular, a região curetada é novamente ocupada por um tecido de granulação similar no processo de cicatrização da ferida cirúrgica. Nessas circunstâncias, a eliminação excessiva e intencional, desvitalizando dentes adjacentes, através da curetagem perirradicular estendida de lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico convencional, parece ser um procedimento supérfluo e, portanto, não justificado (LOESCHE et al., 1983).

Com intuito de elevar os índices de sucesso do tratamento convencional de canais radiculares, evitando a cirurgia periapical, novas estratégias terapêuticas endodônticas têm aparecido, visando influenciar as reações imune-inflamatórias no interior dos canais radiculares e ao redor do forame apical. Dessas novas propostas, o uso de hidróxido de cálcio, como um material preenchedor intermediário ou definitivo dos canais radiculares, tornou-se parte da rotina da terapêutica endodôntica (HEITHERSAY, 1975; SJÖGREN et al., 1991), o qual parece desempenhar, no espaço periodontal apical, os seguintes papéis: (i) ação

antibacteriana, (ii) ação antiinflamatória, (iii) inibição da reabsorção óssea e (iv) estimulação da remineralização (MAALOUF & GUTMANN, 1994).

O possível uso no tratamento das periodontites apicais de bifosfonatos, ciclosporina, calcitonina, dexametasona, antagonista do receptor recombinante para IL-1, citocinas IL-10 e IL-12 e a enzima hialuronidase, ainda está em fase de investigação (CONTI et al., 1993; GERATZ et al., 1995; HOLLAND, 1996; WIEBKIN et al., 1996; CHENSUE et al., 1997; MACHADO et al., 2004).

A terapia a laser de baixa intensidade (LLLT) tem sido recentemente recomendada como método auxiliar ao procedimento endodôntico convencional no tratamento de lesões periapicais. AZIM et al., (2001) mostraram que a LLLT, conjuntamente ao tratamento endodôntico, promove a regeneração óssea nas lesões periapicais. Num outro estudo, SOUSA et al., (2001) observaram que a LLLT, como coadjuvante à terapia endodôntica, promoveu uma redução significativa da área da lesão periapical em humanos. Contudo, a verdadeira eficácia dessa modalidade terapêutica ainda é discutida, e o seu exato mecanismo de ação é desconhecido. Por essas razões, os fatores que governam o sucesso da melhora do processo cicatricial realizado pela LLLT ainda necessitam ser estudados e entendidos.

## **2.2 Terapia a laser de baixa potência (LLLT) na Odontologia**

Na década passada houve uma explosão de estudos sobre a aplicação do laser na prática odontológica, em diversas áreas; em consequência, uma gama enorme de diferentes tipos de *lasers* se encontra em uso, na atualidade.

Os chamados *lasers* cirúrgicos (“hot or hard lasers”), tais como o laser de CO<sub>2</sub>, o de Nd:YAG ou o de Er:YAG, podem realizar uma variedade de procedimentos comuns na prática odontológica diária, tanto para tecidos moles quanto para aqueles relacionados ao elemento dental. Porém o alto custo do equipamento, associado ao rápido desenvolvimento da tecnologia nesse campo, o que faz com que os equipamentos se tornem obsoletos rapidamente, junto com o

potencial de injúrias térmicas à polpa dental, têm limitado a expansão dessa tecnologia (WALSH, 1994; PICK & MISERENDINO, 1995).

Na ponta oposta do espectro dos equipamentos de laser estão os *lasers* semicondutores de diodo, os quais são chamados de laser terapêutico (“soft or cold lasers”), ou também de lasers de baixa potência. Diferentemente dos *lasers* cirúrgicos de alta potência, os *lasers* de diodo são aparelhos compactos e de baixo custo.

Tanto em medicina como em odontologia, os *lasers* de diodo têm sido usados predominantemente para a terapia a laser de baixa potência (“low level laser therapy”-LLLT, ou simplesmente “lasertherapy”). Atribui-se a essa modalidade de tratamento a capacidade de bioestimulação ou biomodulação, sendo o último termo mais apropriado, pois, além de estimular, ela parece proporcionar também o poder supressor do processo biológico. Contudo, há controvérsias em torno da eficácia de alguns desses procedimentos (ABERGEL et al., 1984; NEMETH, 1993; BASFORD, 1995).

O uso da LLLT na Odontologia não é novo, e as técnicas dessa terapia vêm sendo bastante difundidas no Japão e na Europa há mais de 10 anos. O interesse pela LLLT na Odontologia têm sido particularmente alto nos antigos países do bloco oriental. Na verdade, a literatura Russa tem relatos sobre a LLLT, os quais cobrem cerca de 30 anos de experiência com a técnica (VALIENTE-ZALDIVAR & GARRIGO-ANDREU, 1989; PROKHONCHUKOV, 1995), embora essa literatura tenha permanecido largamente inacessível ao mundo ocidental. Muitos desses trabalhos foram feitos com *lasers* de gás de hélio-neon (HeNe), um laser de comprimento de onda de 632 nm que, mais recentemente, pode ser produzido por aparelhos de laser de diodo (VALIENTE-ZALDIVAR & GARRIGO-ANDREU, 1989; POSTEN et al., 2005).

Tem havido muitas reivindicações acerca dos efeitos terapêuticos da LLLT sobre uma vasta gama de doenças. Uma pequena amostra da lista de aplicações desta terapia, divulgado por alguns usuários e fabricantes dos aparelhos aplicadores da LLLT, inclui: aceleração da cicatrização das feridas, aumento do reparo e remodelação óssea, restauração da função neural normal após injúria,

normalização da função hormonal alterada, atenuação da dor, estimulação da liberação de endorfina e modulação do sistema imune (OHSHIRO & FUJINO, 1993; NANAMI et al., 1993). Haja vista que informações estão disponíveis sobre a eficiência de algumas dessas aplicações, e não para todas elas, fica difícil para o clínico decidir para qual delas a LLLT seria mais adequada.

Os *lasers* terapêuticos operam geralmente em um espectro de comprimento de onda visível e infravermelho que varia de 633 a 904 nm. Contudo, outros comprimentos de onda, assim como o de 1064 nm do laser de Nd: YAG e até mesmo o de 10600 nm do laser de CO<sub>2</sub>, têm sido usados com sucesso na laserterapia. A energia usada é indicada em Joule (J), a qual é composta pelo número de miliwatts (mW) multiplicado pelo tempo de irradiação em segundos. Dessa maneira, 50 mW em 60 segundos de irradiação produz uma energia de 3000 milijoules (mJ), igual a 3 J. Energias terapêuticas apropriadas oscilam de 1 a 10 J por ponto. A dose é expressa em J/cm<sup>2</sup>. Para calcular a dose, a área irradiada deve ser conhecida, ou seja, 1 J sobre uma área de 1 cm<sup>2</sup> é igual a 1 J/cm<sup>2</sup>, e 1 J sobre uma área de 0,1 cm<sup>2</sup> é igual a 10 J/cm<sup>2</sup>. Geralmente não há sensação de calor no tecido irradiado durante essa terapia (SUN & TUNÉR, 2004).

### **2.2.1 Efeitos biológicos da LLLT**

As principais estruturas absorventes para o comprimento de onda visível e próximo ao infravermelho do laser usado na laserterapia (LLLT) são, muito provavelmente, as proteínas; contudo, a identidade dos fotorreceptores responsáveis pelos efeitos biológicos da LLLT não tem sido determinada. Vários estudos têm sugerido que elementos do sistema do citocromo mitocondrial ou perferinas celulares endógenas são os cromóforos absorventes de energia na LLLT (LABBE et al., 1990; LUBART et al., 1992).

Visto que a penetração nos tecidos, da energia do laser utilizado na LLLT, pode ser da ordem de 5 a 10 mm, as estruturas superficiais e também as profundas, até certa distância, podem ser afetadas. Contudo, como a energia penetra nos tecidos, há múltiplas dispersões da mesma através dos eritrócitos, arteríolas e

vênulas, o que pode influenciar a distribuição final da energia do laser no meio dos tecidos (GUSH & KING, 1991). Não está claro se os efeitos foto-biológicos, que ocorrem com a LLLT, são específicos para a energia monocromática coerente do laser, ou se podem ser conseguidos a partir de fontes emissoras de luz convencional de energia não coerente, sobre uma extensão similar de comprimento de ondas.

Os efeitos estimulantes da LLLT na proliferação de fibroblastos *in vitro* estão bem estabelecidos. Embora em muitos desses estudos tenham sido usados fibroblastos dérmicos, vale a pena ressaltar que os fibroblastos da mucosa oral e da gengiva têm um perfil de resposta semelhante aos fibroblastos estudados: em baixas doses (por exemplo, 2 J/cm<sup>2</sup>), a LLLT estimula a proliferação dos fibroblastos, enquanto que em altas doses (16 J/cm<sup>2</sup>) ela exerce o efeito oposto (TOMINAGA, 1990; LOEVSCHELL & ARENHOLTD-BINDSLEV, 1994). O mesmo tipo de resposta dose-dependente foi observado tanto *in vivo* quanto *in vitro*, o que parece ocorrer com todas as LLLT de comprimentos de ondas comuns (TOLSTYKH et al., 1991). Segundo NOBLE et al., (1992), a maturação dos fibroblastos e a locomoção dos mesmos através da matriz extracelular são também influenciadas pela LLLT, o que por sua vez pode contribuir para as maiores forças de tensão relacionadas para as feridas cicatrizadas (ASENCIO-ARANA et al., 1992).

Acredita-se que a LLLT pode estimular a proliferação de fibroblastos por diversos mecanismos, dentre eles a capacidade para induzir a produção do fator básico de crescimento do fibroblasto (bFGF), um polipeptídeo multifuncional, o qual promove a proliferação e diferenciação do fibroblasto. Os fibroblastos irradiados com a LLLT de baixas doses apresentam tanto aumento da proliferação celular como também uma produção melhorada de bFGF, enquanto que com a LLLT em altas doses ambos os parâmetros são suprimidos (TOMINAGA, 1990; YU, NAIM & LANZAFAME, 1994), indicando uma relação causal entre a produção do bFGF pelo fibroblasto e a função autócrina deste fator sobre a sua própria proliferação.

A LLLT também parece promover a transformação dos fibroblastos em miofibroblastos responsáveis pela contração da ferida, podendo, dessa forma, influenciar no processo de cicatrização da ferida. Tem sido mostrado que a LLLT, em culturas de fibroblastos gengivais, induz a transformação dos mesmos em

miofibroblastos, antes mesmo de 24 horas após a laserterapia (POURREAU-SCHNEIDER et al., 1990).

Face aos efeitos induzidos pela LLLT nos fibroblastos, é importante reconhecer que essa terapia poderá também afetar o comportamento das células do sistema imune que secretam citocinas e outros fatores de crescimento para fibroblastos. Os próprios macrófagos, componentes-chave da resposta de cicatrização das feridas, são suscetíveis aos efeitos da LLLT. Em prova disso, tem sido mostrado que as células da linhagem macrofágica irradiadas com LLLT, liberam fatores solúveis, *in vitro*, os quais promovem a proliferação de fibroblastos (RAJARATNAM et al., 1994); contudo esses fatores não têm sido bem caracterizados.

Enquanto a LLLT tem se mostrado capaz de aumentar as atividades quimiotática e fagocítica dos leucócitos humanos *in vitro*, tem havido também um consenso de que a LLLT pode atuar direta e seletivamente no sistema imune (TADAKUMA, 1993). Porém, até o presente momento, não há dados que demonstrem que a LLLT pode restaurar a capacidade do sistema imune deficiente ou deprimido.

As irradiações *in vitro* dos linfócitos da circulação periférica, em doses semelhantes às aquelas distribuídas pela LLLT *in vivo*, induzem mudanças na cromatina nuclear, parecidas com aquelas encontradas após estimulação com o mitógeno fitohemaglutinina (PHA), além de potencializar a resposta proliferativa dos linfócitos T da circulação periférica a esta lectina (SMOL´YANINOVA et al., 1991). Nas cicatrizações das feridas, a ativação dos linfócitos pela LLLT pode torná-los mais responsivos aos estímulos de mediadores presentes nos tecidos feridos.

Tanto no sistema *in vitro* quanto no *in vivo*, a LLLT influencia a função dos macrófagos, através da promoção da secreção de fatores estimuladores da proliferação dos fibroblastos (RAJARATNAM et al., 1994). Um efeito adicional da LLLT, observado *in vivo*, é um aumento da atividade fagocítica dos macrófagos durante a fase inicial da resposta de reparo (6 horas após o trauma). Tal efeito poderá facilitar o debridamento da ferida pelos macrófagos, estabelecendo

condições necessárias para o início da fase proliferativa da resposta cicatricial (BURGUDZHIEVA et al., 1990; PETROVA, 1992).

É possível que a LLLT melhore a cicatrização das feridas *in vivo*, mediante a estimulação das células epiteliais. Segundo HAAS et al., (1990), a LLLT aumenta a mobilidade dos queratinócitos epidérmicos humanos *in vitro*, o que poderá explicar o fato de as feridas tratadas com a LLLT mostrarem fechamento acelerado (BECKER, 1990). ROOD et al., (1992) relatam que, apesar dos efeitos na proliferação dos queratinócitos, a LLLT não altera a diferenciação normal dessas células, nem a síntese de queratina, e dessa maneira não interfere com a formação de uma epiderme funcionalmente normal. Assim, o uso clínico da LLLT em condições que aumentam a migração dos queratinócitos, não deve alterar a integridade final ou função característica da epiderme, a qual migra para cobrir a área da ferida.

Em ambiente laboratorial, a LLLT, usando-se o laser de HeNe, exerce pronunciados efeitos na proliferação, diferenciação e calcificação das células osteoblásticas de culturas, embora haja uma janela terapêutica específica para esses efeitos. A proliferação celular e a síntese de DNA são aumentadas pela LLLT somente quando as células estão na fase de crescimento ativo. A LLLT causa aumento do acúmulo de cálcio e acelera a calcificação *in vitro* (YAMADA, 1991). Se puder ser traçado um paralelo para a situação *in vivo*, espera-se que, com a LLLT aplicada em áreas de cicatrização com feridas ósseas, haja um aumento da deposição óssea, promovendo a sua regeneração.

Num estudo da cicatrização da ferida após a extração dental em ratos, utilizando-se a LLLT a base de gálio-alumínio-arsênido (GaAIs), aplicada diariamente no local da ferida por um período de uma semana, foram observados tanto o aumento na proliferação dos fibroblastos, quanto uma aceleração na formação da matriz óssea (TAKEDA, 1988). Contudo, estudos sobre a influência da LLLT na regeneração óssea e no tecido conjuntivo, em palato de cachorros, falharam em evidenciar tais efeitos (KULIEV & BABAEV, 1991; IN DE BRAEKT et al., 1991). Embora isso possa se relacionar a muitos tipos de variações nas respostas das células ósseas à LLLT, deve-se ressaltar que, nesse caso específico, os níveis de irradiação utilizados foram baixos e as aplicações foram sempre feitas

no segundo dia ao invés de diariamente. Desse modo, permanece a dúvida se a LLLT exerce, ou não, resultados positivos na regeneração óssea que se seguem as exodontias em humanos (WALSH, 1992), embora haja relatos de que a formação de tecido de granulação durante o período de cicatrização pós-extração dental seja acelerada (WAHL & BASTANIER, 1991).

Espasmo vascular pode resultar em isquemia tecidual, e isto tem sido relacionado a uma extensão das condições dolorosas. No sistema *in vitro*, a LLLT parece induzir uma redução rápida na tensão isométrica da musculatura lisa vascular, podendo o mesmo efeito ser induzido pela LLLT *in vivo* distribuída através da pele que recobre os vasos, devido, provavelmente, ao relaxamento da musculatura lisa vascular, contribuindo para os efeitos analgésicos da LLLT (GAL et al., 1992).

Muitos trabalhos adicionais são necessários para determinar os mecanismos da ação da LLLT. Embora o acúmulo de evidências sustente algumas aplicações específicas em tecidos moles na prática odontológica, há indícios suficientes capazes de despertar dúvidas em relação à eficácia de suas outras aplicações. Para dirimir essas dúvidas, é essencial que os protocolos de tratamento sejam baseados nos resultados de ensaios clínicos controlados e randomizados. Existe a necessidade urgente para que os resultados dos novos estudos sejam amplamente divulgados, a fim de que a LLLT possa ser empregada por clínicos como um procedimento de efeitos biológicos seguros e devidamente comprovados.

### **2.2.2 Riscos e efeitos colaterais da LLLT**

No entendimento geral, o único risco físico conhecido da laserterapia é o dano ocular. Embora nenhum relato tenha sido feito na literatura a esse respeito, este problema em potencial deve ser considerado, especialmente quando se estiver utilizando um feixe invisível e colimado (paralelo). Recomenda-se que óculos de proteção apropriados devam ser utilizados tanto pelos pacientes que irão se submeter à laserterapia, como também pelo profissional aplicador.

Visto que os *lasers* terapêuticos estão bem acima do espectro ionizante, não há risco de alterações cancerosas (de WITH & GREULICH, 1995; KUJAWA et al., 2004); contudo a literatura relata os seguintes efeitos colaterais relacionados à LLLT: **(i)** cansaço após o tratamento, o que provavelmente representa o resultado do alívio doloroso da dor que anteriormente impedia o paciente de atingir um estado normal de relaxamento; **(ii)** agudização temporária da dor crônica, e; **(iii)** eritema e uma sensação de aquecimento na área submetida à irradiação, resultado do aumento da micro-circulação (SALATE et al., 2005).

### 3 OBJETIVOS

Diante do exposto, pode-se observar que o tratamento endodôntico convencional sofre limitações devido à presença da periodontite apical, contribuindo para o insucesso de muitos desses tratamentos. Dessa maneira, torna-se necessária a realização de novos estudos sobre a periodontite apical, a fim de que se compreendam a importância de novas terapias coadjuvantes ao tratamento endodôntico, as quais poderão diminuir o tempo gasto nesses tratamentos, como também o índice de indicações cirúrgicas para a resolução desses casos. Adicionalmente tais estudos podem proporcionar meios para a prevenção de seqüelas graves, como a perda de um elemento dental.

O objetivo geral deste estudo é o de avaliar os possíveis efeitos da LLLT como o único tratamento durante a evolução da periodontite apical experimentalmente induzida em ratos, e como tratamento adjunto a um tratamento endodôntico convencional sobre a doença já estabelecida.

Os objetivos específicos do estudo são:

- (i) avaliar os efeitos da aplicação da LLLT durante a evolução da doença;
- (ii) avaliar os efeitos do tratamento endodôntico convencional a Calen<sup>®</sup> sobre as lesões periapicais já estabelecidas, e;
- (iii) estudar os efeitos da LLLT como tratamento adjunto ao Calen<sup>®</sup> sobre a doença periapical.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 Animais

A amostra para este estudo foi composta por um total de 52 ratos machos da raça “Ratus Novergicus Albinus” da linhagem Wistar com idades variando entre 3 e 6 meses, e pesando entre 180 e 400 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas, com ração industrializada e água *ad libidum*.

#### 4.1.2 Instrumentais e suprimentos

- Brocas diamantadas esféricas n<sup>o</sup> 1/2;
- Abridor de boca para ratos, artesanalmente confeccionado;
- Seringas hipodérmicas descartáveis de 1 ml;
- Agulhas hipodérmicas esterelizadas descartáveis 25 x 7;
- Limas endodônticas tipo Kerr n<sup>os</sup> 6, 8, 10, 15 e 20;
- Cones de papel absorvente para secagem de condutos endodônticos n<sup>o</sup> 15;
- Lâminas de bisturi n<sup>o</sup> 15c;
- Instrumental para dissecação das peças cirúrgicas (tesouras cirúrgicas pequenas reta e curva, descolador de perióstio, cabo de bisturi n<sup>o</sup> 3, pinça hemostática curva pequena, pinça anatômica, e pinça dente de rato);
- Luvas de procedimento descartáveis;
- Solução de hipoclorito a 2,5%;
- Anestésico de hidrato de cloral a 10%;
- Ácido clorídrico a 7%;
- Formol a 10%;
- Aparelho de laser de arsenieto de gálio e alumínio (Ga-Al-As) (Photon Lase III, DMC Equipamentos, São Carlos, SP, Brasil), de comprimento

de onda de 830nm – infravermelho, com potência de saída de 100 mW;

- Óculos de proteção fornecido pelo fabricante do aparelho de laser;
- Calen<sup>®</sup> (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), pasta à base de hidróxido de cálcio, para tratamento endodôntico;
- Cimento de fosfato de zinco;
- Motor cirúrgico de baixa rotação e contra ângulo.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Indução da periodontite apical

Os animais operados foram anestesiados com infiltração intra-peritoneal de Hidrato de Cloral a 10% no dia 0 (zero), e então sofreram indução de lesão periapical no primeiro molar inferior esquerdo através de abertura coronária realizada com o uso de uma broca diamantada n<sup>o</sup> 1/2 deixando-se então ocorrer contaminação pulpar do dente operado pela exposição da câmara pulpar ao meio oral, modelo este vastamente utilizado para a indução de periodontite apical em ratos (KAKEHASHI et al., 1965; STASHENKO et al., 1994; METZGER et al., 2002).

### 4.2.2 Grupos experimentais

**A - Primeiro tempo:** 40 animais foram empregados, divididos em 3 grupos (G1, G2 e GC).

**Grupo experimental 1 (G1).** Este grupo foi composto por 18 animais, os quais foram submetidos aos seguintes procedimentos:

- Anestesia com hidrato de cloral a 10%, no dia “zero” (0);

- Indução da lesão periapical no primeiro molar inferior esquerdo, através da abertura coronária;
- Câmara pulpar deixada exposta ao meio oral, para ocorrer a contaminação microbiana;
- Sub-grupos de seis animais submetidos à eutanásia, através de sobredosagem anestésica intra-peritoneal de hidrato de cloral, em cada um dos dias 10, 20 e 30 após indução da lesão;
- Mandíbulas dos animais submetidos à eutanásia foram extraídas e conservadas em formol a 10%, para serem processadas para posteriores exames histológicos.

**Grupo experimental 2 (G2)**. Este grupo foi composto por 18 animais, os quais foram submetidos aos seguintes procedimentos:

- Anestesia e indução da lesão periapical no primeiro molar inferior esquerdo conforme descrito para animais do grupo G1;
- Irradiação, com laser de baixa potência (LLLT), do dente lesionado, foi realizada a partir do dia 0, em 5 sessões, com intervalos de 48 horas entre as sessões. Os animais foram anestesiados e a irradiação aplicada em um único ponto na região periapical do primeiro molar inferior esquerdo de cada animal, através de uma ponta de fibra óptica de 0,6 mm de diâmetro de secção transversal, a qual permaneceu a 1mm de distância da mucosa vestibular durante os 28 segundos de duração de cada aplicação;
- Cada aplicação foi de  $5,6 \text{ J/cm}^2$ , levando-se em consideração uma irradiação com potência de saída contínua de 100 mW, com duração de 28 segundos e sobre uma área de aplicação de aproximadamente  $0,5 \text{ cm}^2$ , perfazendo-se nas 5 aplicações uma dose total de  $28 \text{ J/cm}^2$ ;

- A densidade de potência aplicada foi de  $200\text{mW}/\text{cm}^2$ . Essas condições de irradiação foram determinadas por uma revisão de experimentos prévios (UEDA & SHIMIZU, 2003; PINHEIRO et al., 2003);
- Os animais foram então submetidos à eutanásia conforme o descrito para o grupo G1;
- Mandíbulas foram extraídas dos animais sacrificados e conservadas em formol a 10%, para serem processadas para posteriores exames histológicos.

**Grupo Controle (GC)**. Este grupo foi composto por 4 animais que se submeteram a todos os preparativos, porém sem sofrer indução da lesão periapical (“sham-operated”).

- Animais foram submetidos à eutanásia com sobredosagem anestésica intra-peritoneal, 1 de cada vez nos dias 0, 10, 20 e 30;
- Mandíbulas foram extraídas dos animais sacrificados e conservadas em formol a 10%, para serem processadas para posteriores exames histológicos.

**B - Segundo tempo**: 12 animais foram empregados, divididos em 3 grupo (G3, G4 e G5) com 4 animais em cada grupo.

### **Grupo experimental 3 (G3)**

- Abertura das câmaras pulpares dos primeiros molares inferiores do lado esquerdo, conforme realizado nos grupos G1 e G2;
- Câmaras pulpares deixadas expostas ao meio oral por um período de 21 dias;

- Animais submetidos à eutanásia e mandíbulas extraídas e conservadas para posterior processamento.

#### **Grupo experimental 4 (G4)**

- Abertura das câmaras pulpares dos primeiros molares inferiores do lado esquerdo, conforme realizado nos grupos G1 e G2;
- Câmaras pulpares deixadas expostas ao meio oral por um período de 21 dias;
- Animais submetidos a tratamento endodôntico com Calen<sup>®</sup> e as câmaras pulpares fechadas com cimento de fosfato de zinco. Esse tratamento consistiu de instrumentação dos condutos radiculares mesial e distal dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais desse grupo, utilizando-se de limas endodônticas tipo Kerr n<sup>os</sup> 6, 8, 10, 15 e 20, sem a realização de exame radiográfico complementar e, dessa maneira, sem uma odontometria precisa. Os condutos radiculares instrumentados foram irrigados com solução de hipoclorito 2,5% a cada troca de calibre de lima tipo Kerr, e posteriormente foram secos com cones de papel absorvente n<sup>o</sup> 15 esterelizados, para a colocação intra-radicular do cimento endodôntico Calen<sup>®</sup> com preenchimento total desses condutos;
- 21 dias após o tratamento com Calen<sup>®</sup>, os animais foram submetidos à eutanásia e suas mandíbulas extraídas e conservadas para posterior processamento.

#### **Grupo experimental 5 (G5)**

- Abertura das câmaras pulpares deixando-as expostas ao meio oral por 21 dias, e tratamento endodôntico com Calen<sup>®</sup>, efetuados como no G4;

- Animais receberam a LLLT nos mesmos moldes do tratamento realizado com os animais do grupo G2;
- 21 dias após o tratamento com Calen<sup>®</sup>, os animais foram submetidos à eutanásia e suas mandíbulas extraídas e conservadas para posterior processamento.

#### **4.2.3 Preparação das mandíbulas para o processamento histológico**

Após a eutanásia, removeu-se a hemi-mandíbula esquerda de cada animal, e a mesma foi então deixada em formol a 10% por um período de 24 horas. Após isso, a peça cirúrgica foi lavada em água corrente e colocada em ácido clorídrico a 7% por 5 dias, sendo trocado o ácido de 3 a 4 vezes ao dia. Terminada a desmineralização, a mandíbula foi retirada do ácido e permaneceu sendo lavada em água corrente por 24 horas. A peça sofreu preparo para ser incluída em parafina, e depois da inclusão foi levada ao micrótomo para ser cortada em secções de 3µm cada. Os cortes foram colocados nas lâminas e processados de acordo com a rotina, corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE), e prontificados para exames histológicos.

#### **4.2.4 Exames histológicos**

Os exames histológicos foram realizados nos cortes das mandíbulas, num microscópio óptico, na região periapical da raiz distal do primeiro molar inferior esquerdo de cada animal. A avaliação foi feita, quali-quantitativamente, do volume de infiltrado inflamatório, evidências de tecidos de granulação e o raio da lesão na região periodontal apical.

#### **4.2.5 Documentação de resultados**

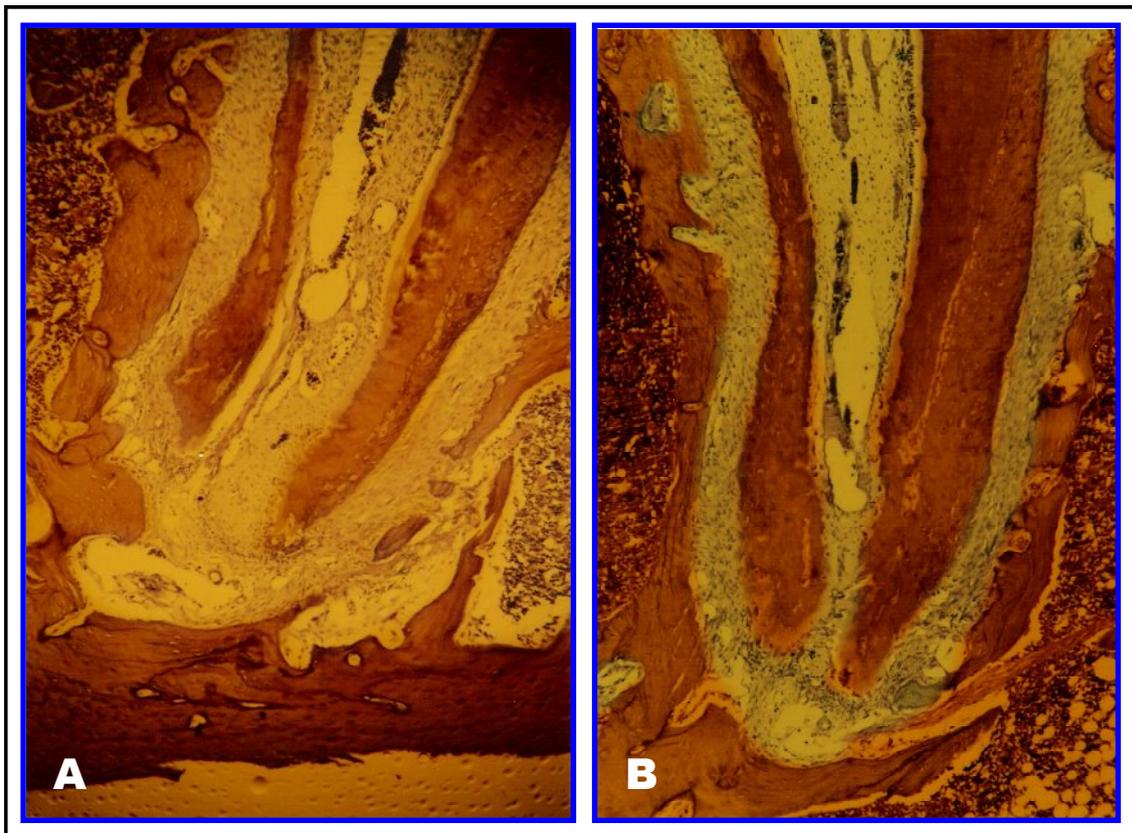
Os exames histológicos de todos os grupos foram documentados pela fotomicrografia, para avaliações comparativas da doença periodontal periapical entre grupos.

## 5 RESULTADOS

Os animais foram pesados regularmente durante todo o período do experimento, e todos apresentaram crescimento normal tanto em relação ao peso quanto ao tamanho.

### **Grupo GC** (animais não operados).

A análise histológica da região do periápice da raiz distal dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais desse grupo mostrou a arquitetura anatômica e histológica normais, tais como o osso alveolar e o espaço periodontal apical bem preservado, sem presença de infiltrado inflamatório no local e sem indícios de destruição dessas estruturas (figs. 1 A e B).

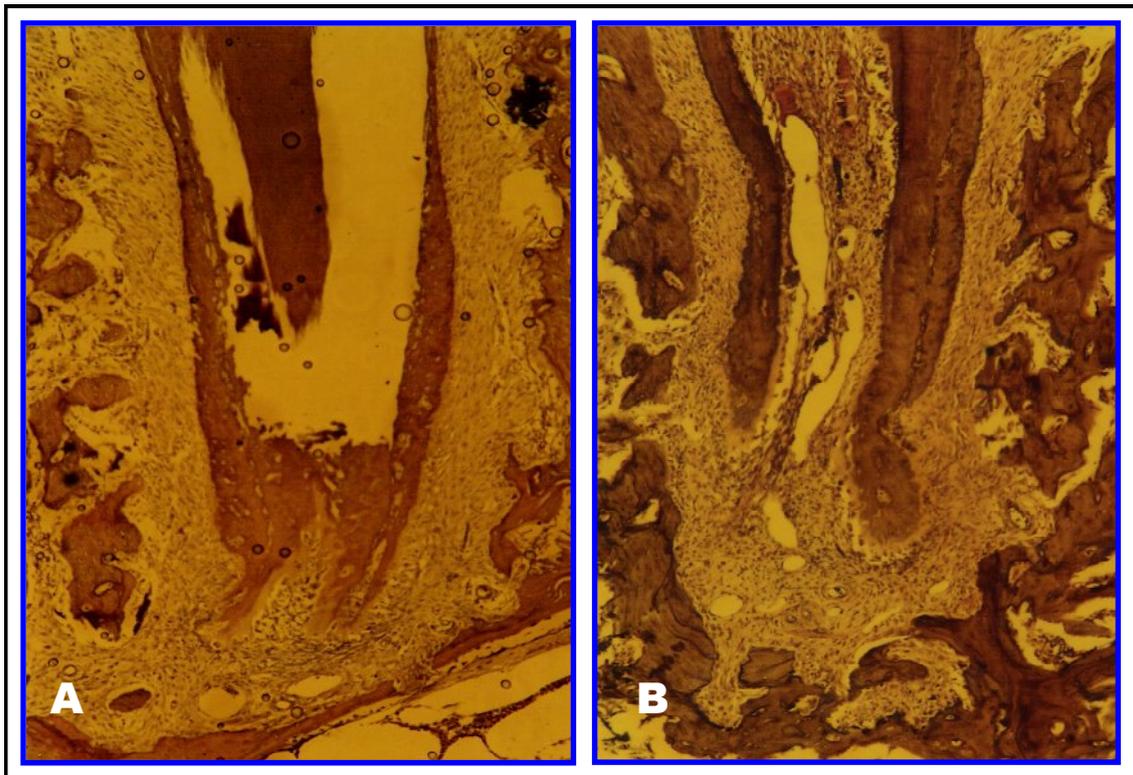


**FIGURAS 1 A e B** – Regiões periodontais apicais das raízes distais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo GC (animais não operados); coloração HE; aumento de 40 vezes.

**Grupo G1** (animais com lesões induzidas sem LLLT).

Os animais desse grupo “controle-efeito LLLT” foram submetidos à eutanásia nos períodos de 10, 20 e 30 dias após indução da periodontite apical. Os exames histológicos realizados nas peças cirúrgicas dos três grupos de animais revelaram as seguintes características nas regiões periapicais das raízes distais dos primeiros molares inferiores esquerdos:

a) nos animais do grupo G1 submetidos à eutanásia no dia 10, o padrão histológico da região foi caracterizado por uma moderada perda óssea alveolar e pela presença de um diminuto infiltrado inflamatório na região, caracterizando um discreto aumento do espaço periodontal apical (figs. 2 A e B), onde o processo inflamatório mostrou-se limitado e sem indícios de disseminação para as áreas adjacentes.

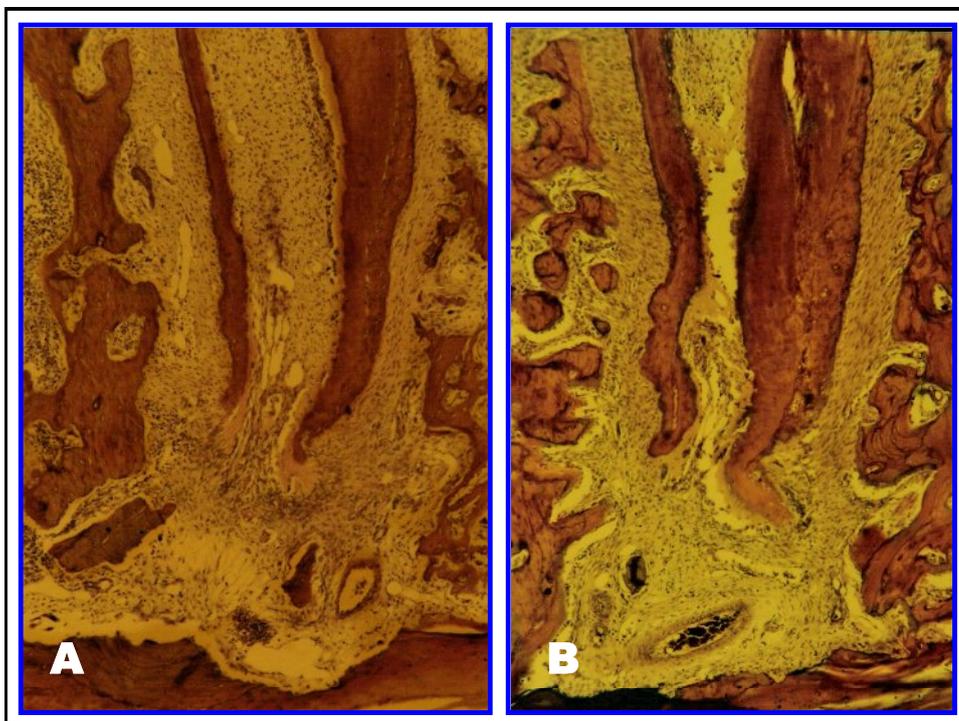


**FIGURAS 2 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G1 (lesões induzidas sem LLLT) submetidos à eutanásia no dia 10; coloração HE; aumento de 40 vezes.

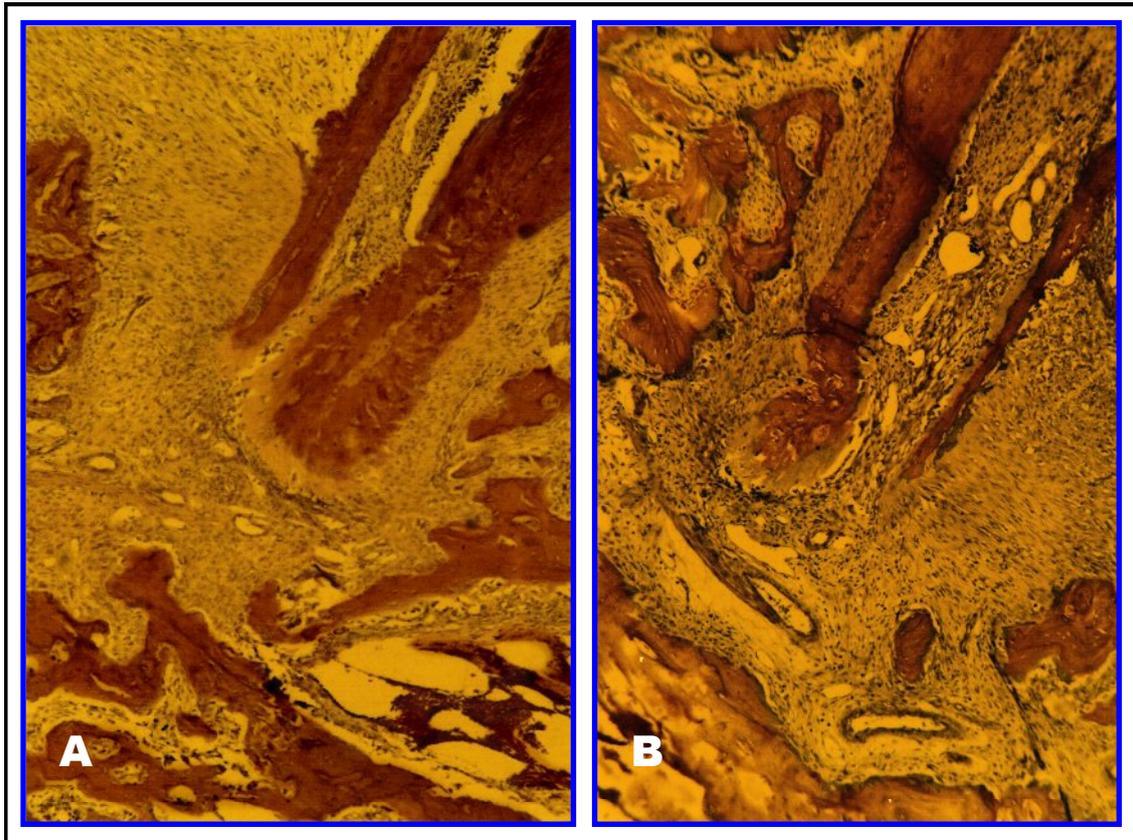
**b)** nos animais do grupo G1 submetidos à eutanásia no dia 20, o quadro histológico mostrou também uma maior perda óssea alveolar na região, junto com a presença mais intensa do infiltrado inflamatório, ocasionando um espaço periodontal apical comparativamente maior do que o ocorrido nos animais sacrificados no dia 10 (figs. 3 A e B).

**c)** os animais do grupo G1 submetidos à eutanásia no dia 30 também apresentaram as mesmas características histológicas já mencionadas para os animais submetidos à eutanásia nos dias 10 e 20, porém tanto a perda óssea alveolar quanto a quantidade de infiltrado inflamatório apresentaram-se muito mais pronunciados, revelando o caráter progressivo da doença durante o período de estudo (figs.4 A e B).

Vale a pena ressaltar que, apesar da presença do infiltrado inflamatório e da perda óssea alveolar ocorrida nos animais do grupo G1 sacrificados nos três períodos de estudo, a anatomia da região periodontal apical analisada permaneceu, de certa maneira, satisfatoriamente preservada.



**FIGURAS 3 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G1 (lesões induzidas sem LLLT) submetidos à eutanásia no dia 20; coloração HE; aumento de 40 vezes.



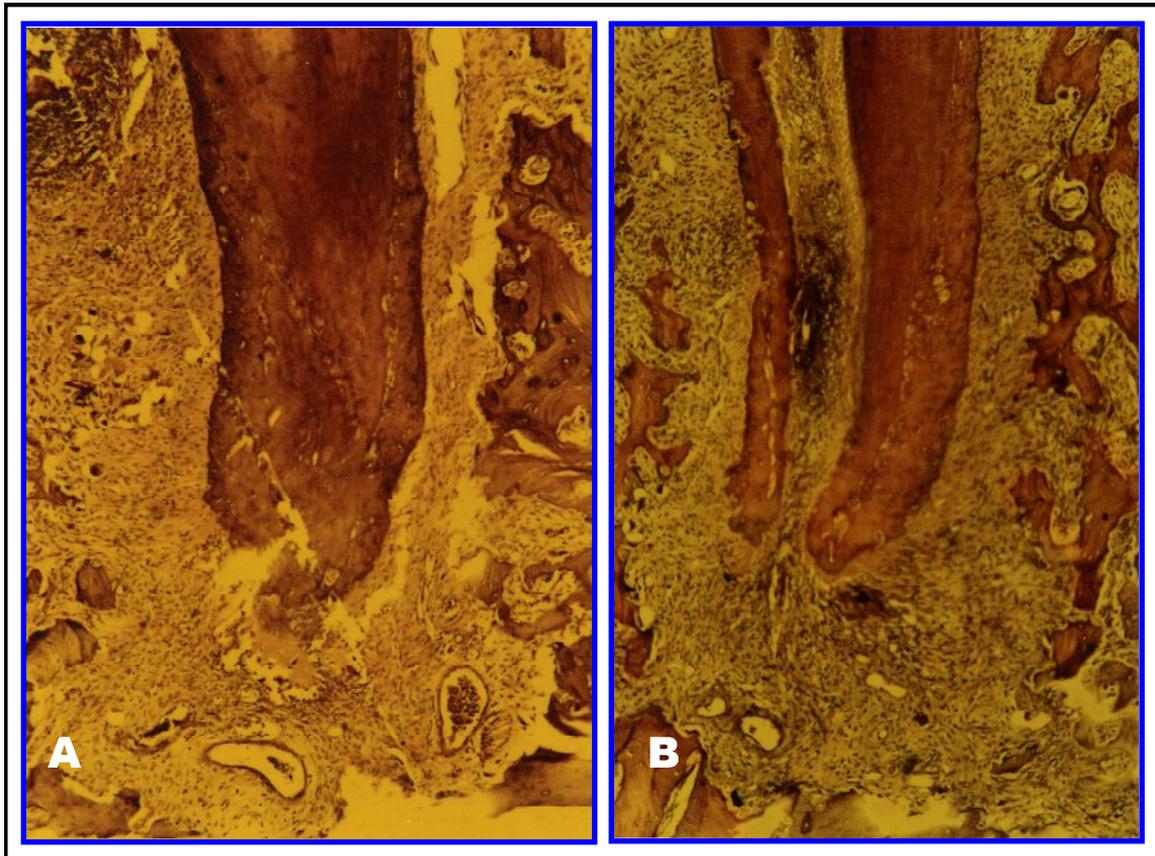
**FIGURAS 4 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G1 (lesões induzidas sem LLLT) submetidos à eutanásia no dia 30; coloração HE; aumento de 40 vezes.

**Grupo G2** (animais com lesões periapicais induzidas e submetidos à LLLT).

Os animais desse grupo também foram submetidos à eutanásia nos mesmos períodos dos animais do grupo G1, e os exames histológicos foram também realizados na mesma região anatômica.

De modo geral, os aspectos histológicos que caracterizaram as regiões periapicais das raízes distais dos primeiros molares inferiores esquerdos, dos animais desse grupo, foi a desorganização do arcabouço anatômico da região periodontal apical analisada. Os quadros histológicos dos três subgrupos de animais foram os seguintes:

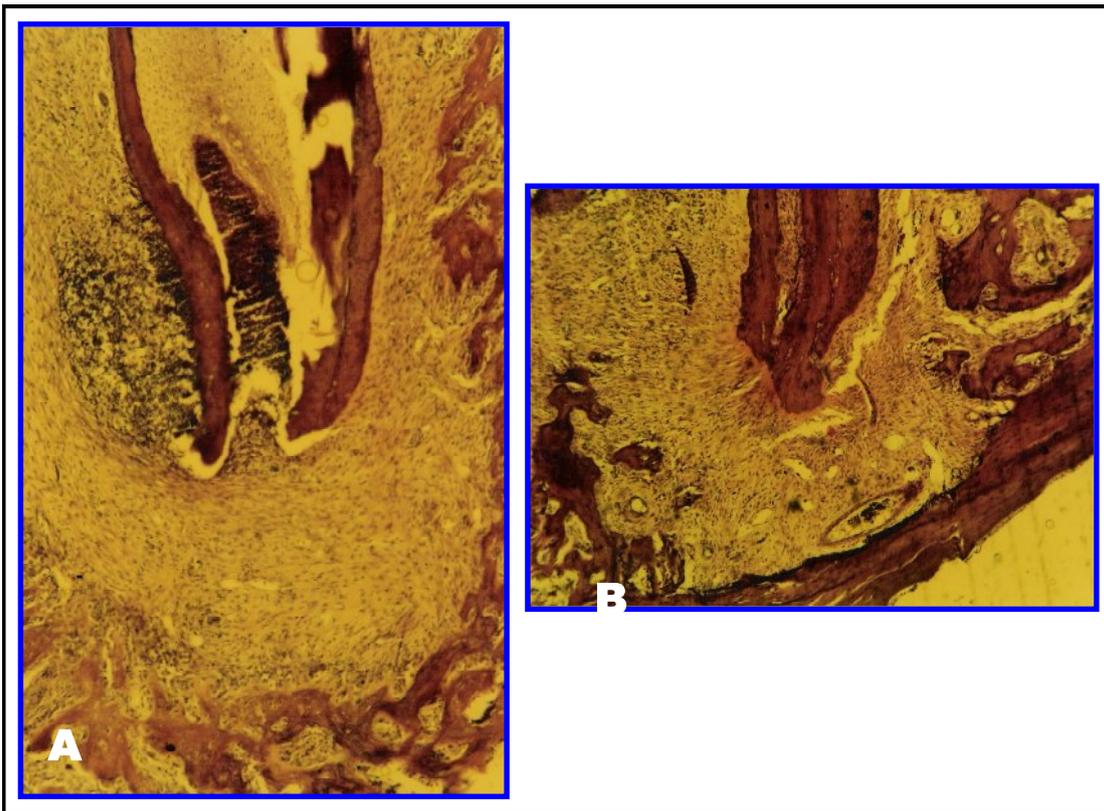
a) Os animais submetidos à eutanásia no dia 10 revelaram a presença de uma perda óssea mais intensa e de um infiltrado inflamatório com maior grau de intensidade, em comparação do que foi evidenciado nos animais do grupo G1 submetidos à eutanásia no mesmo período de observação (figs. 5 A e B).



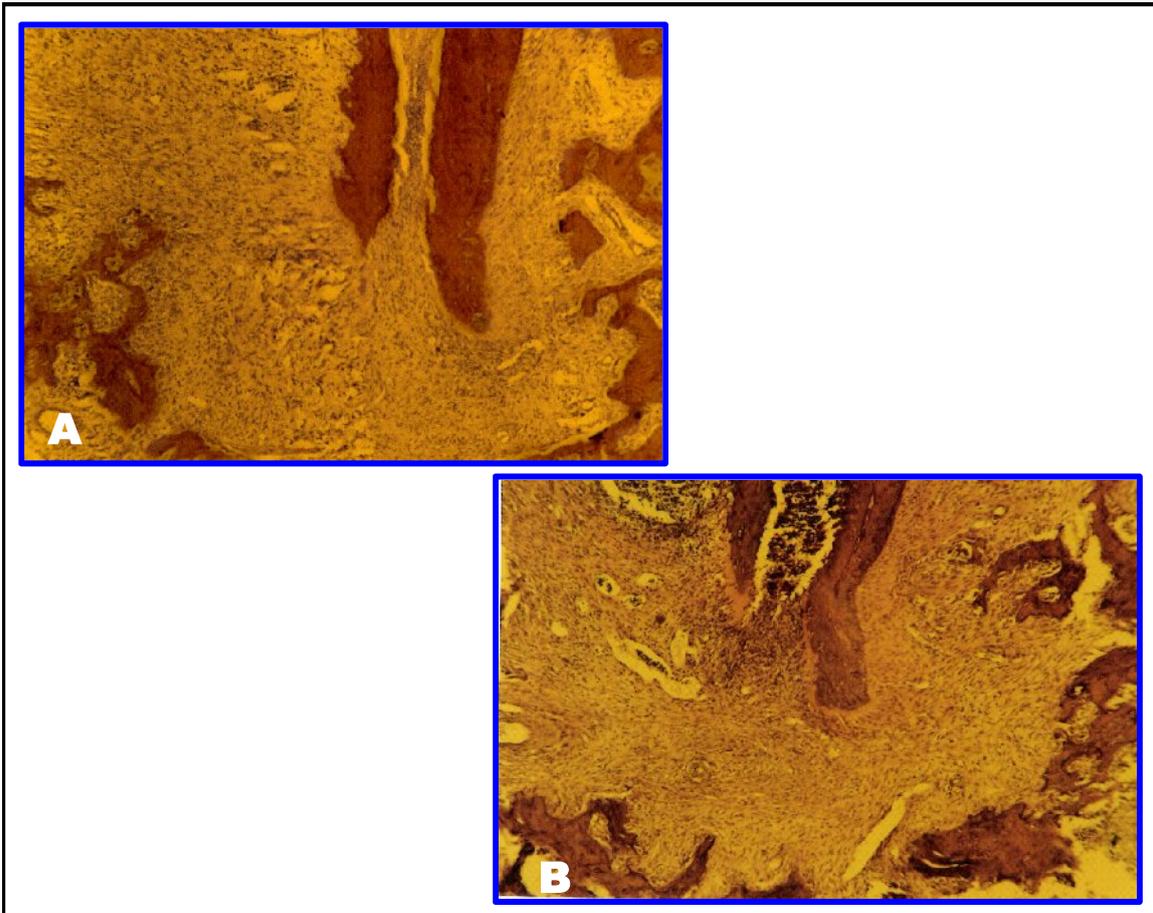
**FIGURAS 5 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G2 (lesões induzidas e com LLLT) submetidos à eutanásia no dia 10; coloração HE; aumento de 40 vezes.

b) as regiões periapicais dos animais submetidos à eutanásia no dia 20, diferiram daquelas encontradas nos animais desse mesmo grupo submetidos à eutanásia no dia 10, principalmente, pela presença de maior celularidade no local, e pelo aumento do tamanho da lesão (figs. 6 A e B). Entre os animais dos dois grupos submetidos à eutanásia no dia 20, os do grupo G2 revelaram uma intensificação da periodontite apical, com marcante perda óssea e comprometimento do arcabouço anatômico da região, revelando o caráter de disseminação da doença.

c) em termos comparativos com os animais de todos os grupos acima descritos, os animais do grupo G2 submetidos à eutanásia no dia 30 revelaram a maior destruição do osso alveolar e o mais intenso infiltrado inflamatório, caracterizando uma doença muito evoluída (figs. 7 A e B).



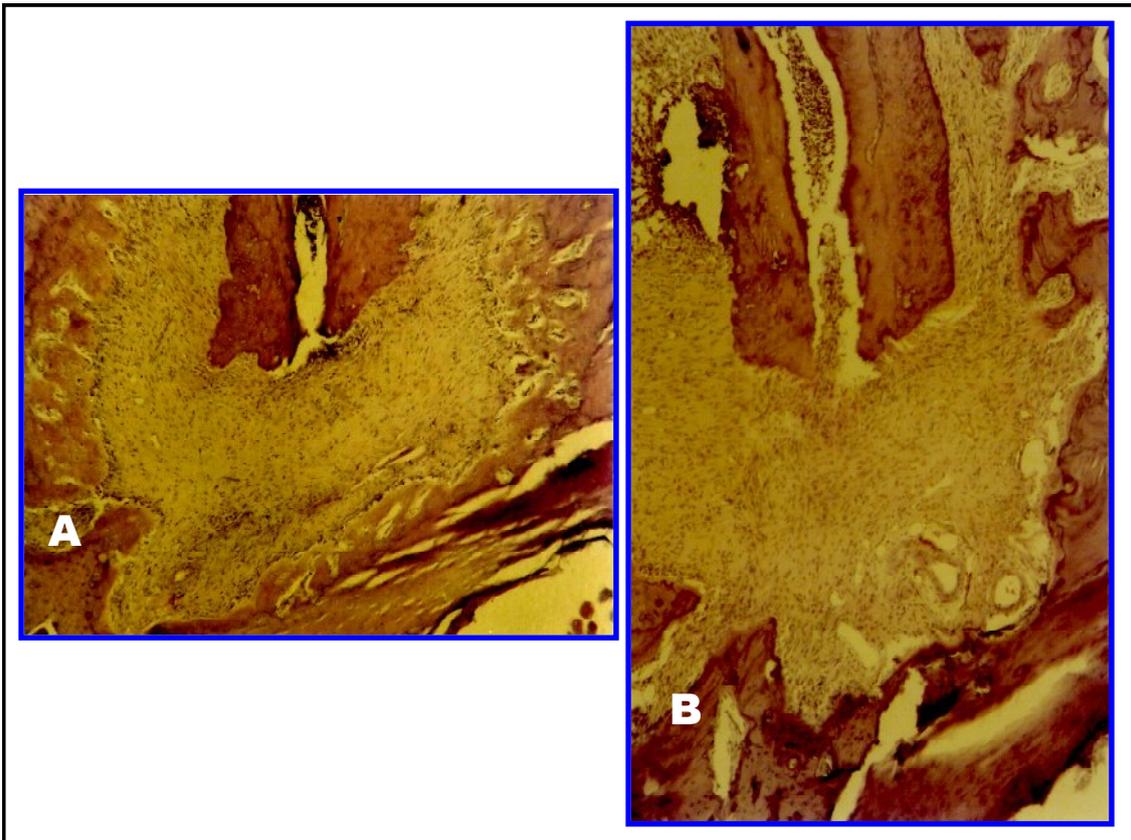
**FIGURAS 6 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G2 (lesões induzidas e com LLLT) submetidos à eutanásia no dia 20; coloração HE; aumento de 40 vezes.



**FIGURAS 7 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G2 (lesões induzidas e com LLLT) submetidos à eutanásia no dia 30; coloração HE; aumento de 40 vezes.

**Grupo G3** (animais com periodontite apical induzida e não tratados).

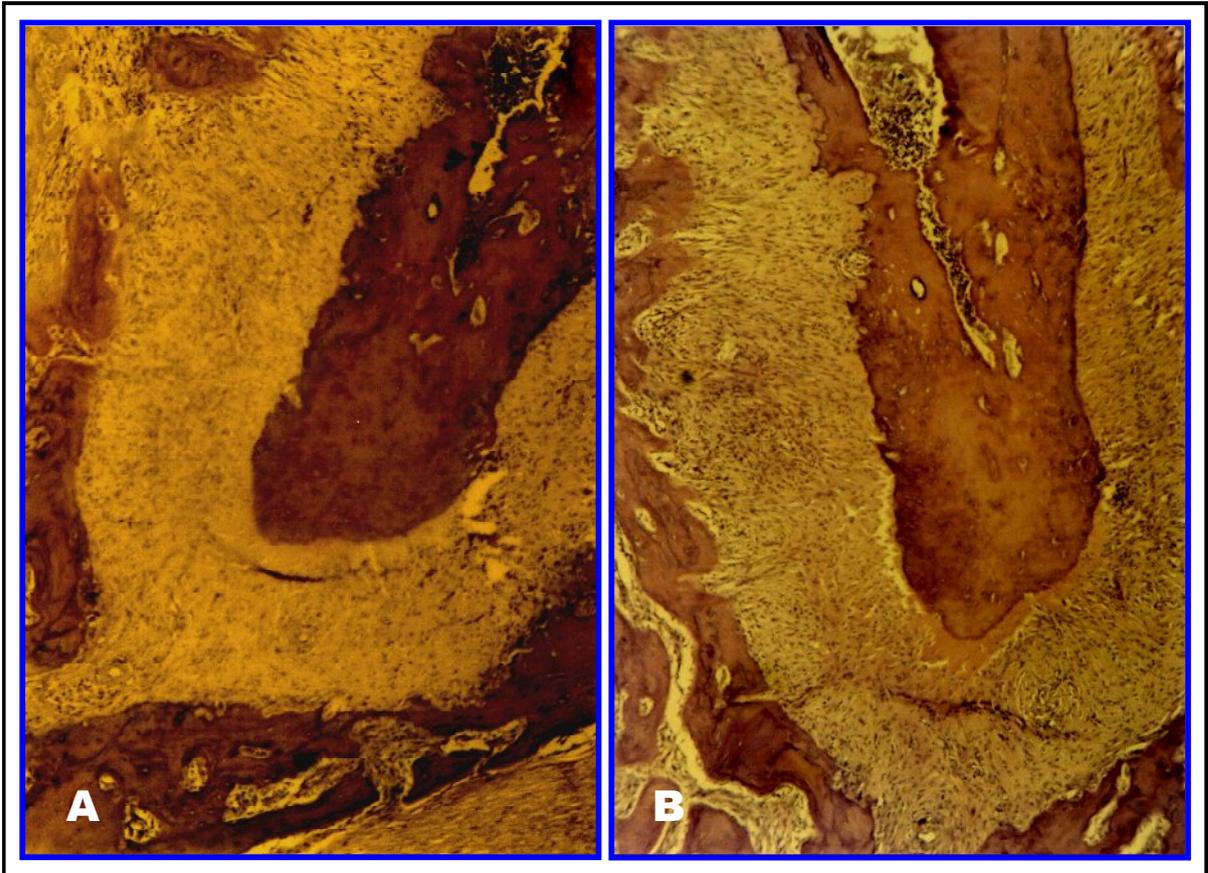
Os quatro animais desse grupo, os quais constituíram o “controle-tratamento Calen<sup>®</sup>”, mostraram após 21 dias de exposição da câmara pulpar de seus primeiros molares inferiores esquerdos, uma lesão histológica periapical na raiz distal do dente, com a presença de infiltrado inflamatório na região, grande extensão de reabsorção do osso alveolar periapical, e o conseqüente aumento do espaço periodontal apical (figs. 8 A e B).



**FIGURAS 8 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G3 (lesões induzidas sem tratamento) submetidos à eutanásia no dia 21 após indução da lesão; coloração HE; aumento de 40 vezes.

**Grupo G4** (Animais com periodontite apical induzida e tratados com Calen<sup>®</sup>, sem LLLT).

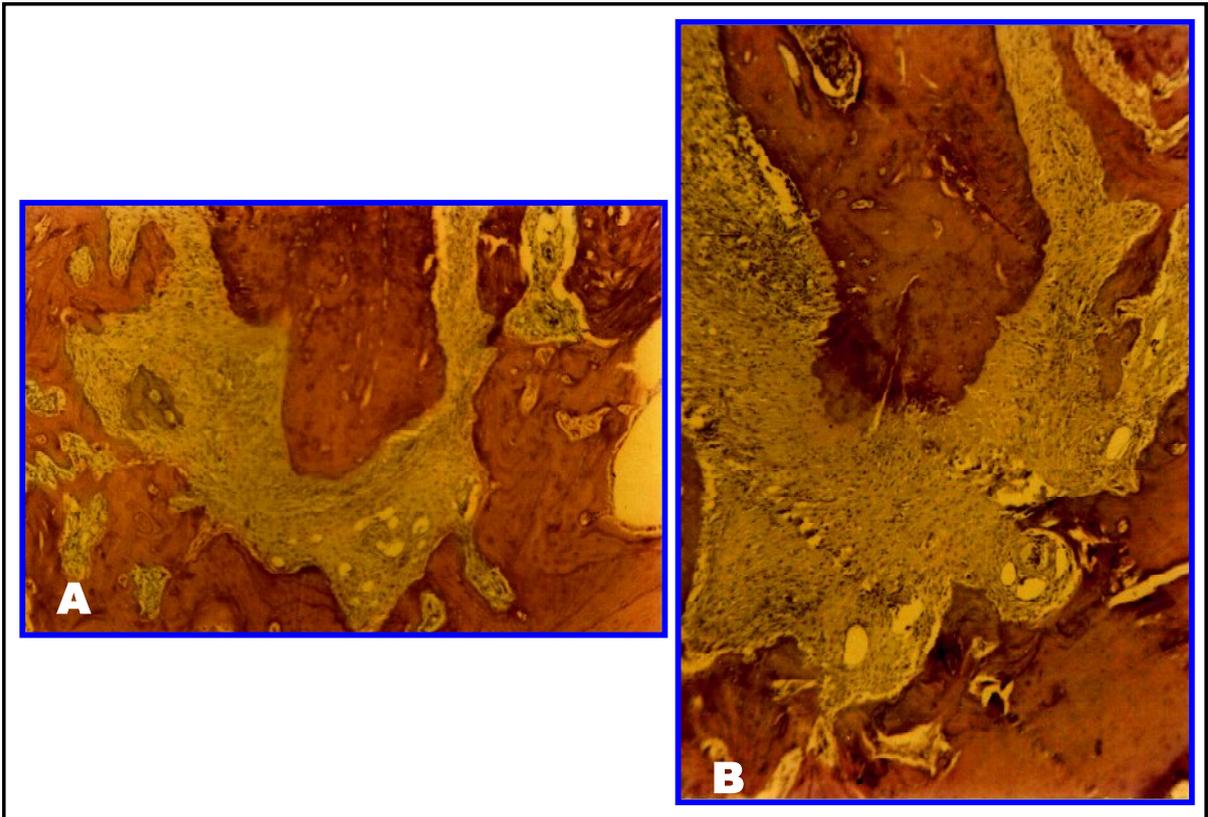
Esses animais do grupo “controle-LLLT” demonstraram em análises histológicas das raízes distais dos primeiros molares inferiores esquerdos, uma discreta melhora no quadro inflamatório da região apical dos dentes. Porém observou-se ainda um modesto infiltrado inflamatório no local, mas sem a concentração do mesmo junto ao osso alveolar, como foi evidenciado na análise histológica dos animais do grupo G3. Um outro aspecto que se destaca é a pouca diminuição do espaço periodontal apical, em relação ao do grupo G3 (figs. 9 A e B).



**FIGURAS 9 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G4 (lesões induzidas e tratamento com Calen<sup>®</sup> sem LLLT) submetidos à eutanásia 21 dias após tratamento; coloração HE; aumento de 40 vezes.

**Grupo G5** (Animais com periodontite apical induzida e tratados com Calen<sup>®</sup> + LLLT).

O exame histológico da região apical das raízes dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais desse grupo mostrou uma diminuição significativa do quadro inflamatório local, com evidências de neoformação do osso alveolar na região e a conseqüente diminuição do espaço periodontal apical, conforme se observa nas figuras 10 A e B.



**FIGURAS 10 A e B** – Regiões periodontais apicais dos primeiros molares inferiores esquerdos dos animais do grupo G5 (lesões induzidas e tratamento com Calen<sup>®</sup> + LLLT) submetidos à eutanásia 21 dias após tratamento; coloração HE; aumento de 40 vezes.

## 6 DISCUSSÃO

As periodontites apicais são expressões da resposta imune que previnem a disseminação da infecção, advinda dos canais radiculares contaminados, para o osso alveolar adjacente. Essas lesões foram uma das primeiras desordens orais reconhecidas como tendo o envolvimento do sistema imunológico no seu desenvolvimento e manutenção.

A periodontite apical é iniciada, primeiramente, por um contínuo fluxo de um largo espectro de bactérias, bem como de seus produtos, através do forame apical, provenientes de canais radiculares infectados, induzindo o influxo, ativação e interação coordenada das células do sistema imunológico no interior da região periapical. Injúrias estéreis, tais como trauma dental, irritação causada por materiais endodônticos, ou outros produtos químicos, foram apresentadas continuamente como causadoras de inflamação periapical (MÁRTON & KISS, 2000); porém inúmeras evidências clínicas e experimentais indicam que na maioria dos casos a periodontite apical é induzida por bactérias oriundas de canais radiculares infectados. Nos casos de inflamação periapical induzidas por agentes não infecciosos, as lesões podem ser resolvidas e as estruturas periodontais apicais podem ser restauradas, espontaneamente (ANDREASEN, 1986).

Desde que se reconheçam os microorganismos intra-radiculares como agentes etiológicos indispensáveis da periodontite apical (KAKEHASHI et al., 1965), o objetivo do tratamento endodôntico passa a ser a eliminação da infecção dos canais radiculares e a prevenção da reinfecção através da obturação dos mesmos. Quando o tratamento é realizado de maneira apropriada, a cicatrização da lesão periapical normalmente ocorre, juntamente com a regeneração óssea. (MOLVEN & HALSE, 1988; SJÖGREN et al., 1990) Contudo, por várias razões, pode não ocorrer uma completa cicatrização óssea, ou até mesmo uma simples diminuição da lesão óssea periapical, em todos os casos de dentes com canais radiculares tratados.

Dentre vários fatores contribuidores possíveis para a radiolucência periapical persistente após o tratamento endodôntico dos dentes acometidos pela

periodontite apical, cinco fatores biológicos são considerados de fundamental importância: (1) infecções intra-radulares no sistema de canais radulares apicais; (2) infecções extra-radulares, principalmente na forma de actinomicoses periapicais; (3) lesões císticas; (4) reação de corpo estranho às substâncias cristalinas de origem endógena (cristais de colesterol), à materiais obturadores extravasados ou à outros corpos estranhos; e (5) tecido cicatricial originário do processo de cicatrização da lesão (NAIR et al., 1990; FIGDOR, 2002; NAIR, 2004). Esses autores ressaltam que a infecção microbiana persistente na porção apical do sistema de canais radulares é, dentre os fatores citados acima, a maior causa de falhas nos casos de periodontites apicais tratadas adequadamente.

A periodontite apical é essencialmente uma doença infecciosa, e sua completa eliminação depende, quase sempre, não só de um tratamento endodôntico bem feito, mas também de procedimentos coadjuvantes que auxiliem na debelação dessa doença. Haja vista que os meios atualmente disponíveis para esse propósito nem sempre garantem um resultado satisfatório no tratamento dessa doença, fica evidente a necessidade de se estudar outros métodos alternativos às terapias endodônticas convencionais para o tratamento mais eficiente das periodontites apicais.

Como foi abordado na introdução, a terapia a laser de baixa potência (LLLT) é muito utilizada, com sucesso, em diversos tratamentos nas áreas odontológicas, porém apenas dois trabalhos relatam seu uso no tratamento coadjuvante das periodontites apicais humanas (AZIM et al., 2001; SOUSA et al., 2001).

O presente estudo objetivou-se a estudar o valor da LLLT como tratamento coadjuvante da periodontite apical, no modelo de doença experimentalmente induzida em ratos, e avaliar os possíveis efeitos da aplicação da LLLT na doença, sem nenhum outro tratamento convencional. De modo geral é considerado difícil empregar meios de tratamentos endodônticos em dentes de ratos, devido ao pequeno tamanho dos mesmos, e à dificuldade de obtenção de instrumentos adequados para tal tarefa. No presente estudo, improvisou-se o tratamento endodôntico convencional, com a instrumentação dos condutos radulares de molares de ratos e o preenchimento dos mesmos com Calen<sup>®</sup>, uma

pasta de hidróxido de cálcio. Este procedimento baseou-se em um trabalho recente de DAMMASCHKE et al. (2005), que realizaram um estudo comparativo do tratamento com clorexidina e pasta de hidróxido de cálcio, em molares de ratos com periodontite apical experimentalmente induzida. Nas avaliações do uso da LLLT como adjuvante à terapia endodôntica improvisada com Calen<sup>®</sup>, no modelo de doença experimentalmente induzida em ratos, observou-se que essa terapia proporcionou efeitos benéficos na contenção do processo inflamatório da periodontite apical, com redução da intensidade e da abrangência da lesão (Figs.10 A e B). Esse dado sugere que a LLLT exerce de fato um papel importante no controle do processo inflamatório, na condição de procedimento auxiliar ao tratamento convencional. Essa observação se encontra de acordo com os poucos relatos disponíveis na literatura sobre a aplicação dessa modalidade de tratamento adjuvante na periodontite apical, e com alguns outros relatos sobre a aplicação da LLLT em outras doenças inflamatórias.

A literatura científica revela que a LLLT, de fato, proporciona efeitos benéficos no controle dos processos inflamatórios em várias situações diferentes. Todavia, os mecanismos pelo qual esse tipo de irradiação promove tais efeitos, não são reconhecidos. Dentre os possíveis mecanismos de ação da LLLT levantados, estão a ação direta da LLLT sobre as bactérias, os seus efeitos sobre o processo inflamatório de modo geral, o potencial modulador sobre os mediadores da inflamação e os efeitos imunomoduladores sobre as células que promovem o processo inflamatório.

Alguns estudos apontam para a possibilidade de que a LLLT possa contribuir para a redução da atividade bacteriana nas doenças infecciosas inflamatórias, porém não parece haver um consenso da real eficácia dessa terapia nessas condições. Conforme os relatos da literatura, a LLLT tanto parece diminuir como aumentar a quantidade de bactérias em uma lesão, a depender do comprimento de onda do laser utilizado para tal terapia. Outros estudos sugerem que o tipo de ação da LLLT nas células do sistema imune determina a diminuição ou o aumento das bactérias no local infectado. BAYAT et al., (2005) observaram uma diminuição nas incidências das bactérias do gênero *Staphylococcus*, após a aplicação de LLLT, em lesões de queimaduras experimentalmente induzidas em

ratos. Diferentemente disso, NUSSBAUM et al. (2002; 2003) relataram que a LLLT tanto pode comprometer o crescimento bacteriano, como promovê-lo *in vitro*, a depender do comprimento de onda e da intensidade da LLLT empregada, como também das espécies de bactérias estudadas. Os autores concluíram que, de modo geral, as ondas de 630 nm de comprimento promoviam, predominantemente, a inibição do crescimento bacteriano. Não se sabe, porém, se a diminuição bacteriana evidenciada nas lesões de queimaduras superficiais experimentalmente induzidas em ratos e os efeitos observados sobre o crescimento de bactérias *in vitro* – ambos relacionados à LLLT – podem ser considerados como comparações válidas à aplicação de LLLT em lesões periodontais apicais *in situ*.

Neste estudo, o grau de infecção bacteriana não foi determinado durante a evolução da doença periodontal apical experimentalmente induzida. Conseqüentemente, possíveis efeitos da LLLT sobre os agentes infecciosos não puderam ser avaliados. Considerando que a literatura cita que a LLLT possui o potencial para promover o crescimento bacteriano, principalmente em faixas de comprimento de ondas superior a 630 nm, é possível especular que tal efeito poderia ter contribuído para o crescimento bacteriano e o conseqüente agravamento da periodontite apical evidenciado, em comparação ao grupo controle que não recebeu esse tratamento. Igualmente, é possível argumentar que a diminuição da gravidade da periodontite apical em curso no grupo de animais que receberam a LLLT como adjuvante ao tratamento improvisado com Calen<sup>®</sup>, poderia ter sido resultado da ação antimicrobiana da LLLT.

A LLLT, em vários estudos, mostrou-se capaz de produzir efeitos biológicos que auxiliam no tratamento de várias doenças de origem inflamatória. QADRI et al. (2005) estudaram o efeito da aplicação da LLLT como tratamento adjunto à raspagem e aplainamento radicular, na gengivite de pacientes com periodontite moderada, e observaram uma redução significativa nos índices de placa bacteriana, de sangramento gengival e da profundidade das bolsas periodontais; demonstrando que a LLLT contribuía para a redução do processo inflamatório periodontal. AIMBIRE et al. (2005) relataram que a LLLT proporcionou efeitos antiinflamatórios na doença de hiperreatividade traqueal aguda de ratos, efetuando redução da contagem neutrofílica na lavagem bronquial. Em trabalho de 2005,

YAMAGUCHI & KASAI relatam que a LLLT é capaz de reduzir a inflamação relacionada às forças de tracionamento ortodôntico.

Alguns trabalhos relatam que a LLLT poderá proporcionar efeitos antiinflamatórios, mediante alteração de mediadores específicos do processo inflamatório. O efeito de inibição da IL-1 $\beta$  pela LLLT, em fibroblastos humanos expostos ao lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), foi constatado por NOMURA et al., em 2001. Em dois trabalhos, AIMBIRE et al., demonstraram que a LLLT reduzia mediadores específicos do processo inflamatório. No primeiro deles observaram diminuição dos níveis de prostaglandina PGE<sub>2</sub> e tromboxina TXA<sub>2</sub>, de forma dose-dependente, na hiperreatividade bronquial aguda de ratos (AIMBIRE et al., 2005); em outro estudo evidenciaram que em bronquite experimentalmente induzida em ratos, a LLLT mostrou-se capaz de reduzir a expressão de TNF- $\alpha$  (AIMBIRE et al., 2006).

Vários estudos relatam que a LLLT age de alguma forma sobre o sistema imune, modulando suas respostas, podendo ativá-lo ou suprimí-lo. OHTA et al., em 1987, relataram que a irradiação com laser de baixa potência interferia no sistema imune *in vitro*, diminuindo as respostas funcionais dos linfócitos, e opinaram que similar modulação tinha potencial de ocorrer em humanos *in vivo*, expostos à irradiação com tal laser. Já IVANIUTA et al., em 1991, observaram que a aplicação de LLLT no tratamento da bronquite não-obstrutiva crônica associada ao adelgaçamento da mucosa bronquial, em humanos, induzia ação estimuladora em macrófagos e na produção de IgA pelo sistema imune. TADAKUMA (1993), também observou que a LLLT estimulava as atividades quimiotáticas e fagocíticas dos leucócitos humanos *in vitro*, servindo como exemplo da ativação fotobiológica. Trabalhos mais recentes de DUBE et al., (2003); e HEMVANI et al., (2005) confirmam que a LLLT estimulava a atividade macrofágica no processo inflamatório.

Considerando-se esses efeitos imunomoduladores atribuídos à LLLT parece lógico especular que a melhora no processo inflamatório da periodontite apical de ratos, evidenciada no presente estudo, quando a LLLT fora aplicada como procedimento adjunto ao tratamento endodôntico convencional, se deveu a estimulação das células do sistema imune engajadas no combate à infecção, e dessa forma controlando o processo inflamatório.

No presente trabalho, observou-se também que a aplicação da LLLT desde os primeiros momentos de indução experimental da periodontite apical em ratos, sem nenhum outro tratamento endodôntico convencional, resultou no agravamento da doença em todos os animais, ao passo que, a sua utilização ao lado do tratamento improvisado com Calen<sup>®</sup> proporcionou melhora no quadro inflamatório. A segunda observação tende a comprovar os relatos da literatura de que a LLLT exerce efeito antiinflamatório, constituindo-se como possível método válido de tratamento das doenças inflamatórias, inclusive as endodônticas. Porém, a primeira observação sugere que essa forma de irradiação poderá, também, contribuir para o agravamento da doença em evolução.

As possíveis razões para esta aparente contradição nos resultados não são conhecidas. A literatura acima revisada deixa claro que a LLLT induz predominantemente o efeito potencializador das atividades das células inflamatórias, mobilizando-as para uma atividade mais intensa, promovendo conseqüências no contexto da sua atuação. Essa observação levanta a hipótese de que a intensificação das atividades das células do sistema imune poderá levar ao controle da inflamação mediante o combate ao agente infeccioso, em condições de utilização de meios terapêuticos endodônticos convencionais. Neste contexto, a LLLT estaria potencializando o processo imunológico de controle da infecção já iniciado pelos procedimentos endodônticos principais, exercendo desta forma um papel auxiliar no tratamento da doença. É igualmente possível que a ativação funcional, pela LLLT, das células do sistema imune engajadas na construção do processo inflamatório, poderá resultar no agravamento da lesão tecidual, devido à falta de condições, como aquelas proporcionadas pelo tratamento convencional, no direcionamento da atuação dessas células para a defesa do organismo. Esta teoria pressupõe que as células do sistema imune participariam na destruição dos tecidos e no agravamento da doença, quando faltam condições para o restabelecimento do equilíbrio entre o poderio do processo infeccioso e a capacidade defensiva do sistema imune. A terapia endodôntica convencional, neste sentido, serviria para restabelecer um certo grau de equilíbrio no qual o sistema imune poderia funcionar melhor no combate ao processo infeccioso. A ativação das células do sistema imune pela LLLT, nessas circunstâncias, contribuiria para um melhor controle da infecção. Em animais com a periodontite apical em curso, as células do sistema

imune se encontram ativamente engajadas na construção do processo inflamatório destrutivo. A aplicação de LLLT, sem tratamento endodôntico para desencadear o combate ao processo infeccioso, parece deixar as células do sistema imune ainda mais habilitadas na construção do processo destrutivo, contribuindo dessa maneira para o agravamento da doença.

Em condições normais, a periodontite apical induzida parece caminhar para a cronificação e para a eventual contenção da lesão através da cicatrização (STASHENKO et al., 1994). Essa circunstância foi evidenciada em ratos com a doença induzida e mantidos como controles sem tratamento e sem a LLLT. No grupo de animais com a doença induzida e submetidos à LLLT desde o princípio da indução, observou-se uma relativa ausência na cronificação da lesão, sem tendência à cicatrização. Nestas circunstâncias, as células do sistema imune ativadas pela LLLT parecem ter agido demasiadamente na manutenção do processo ativo da doença, sem progredir para a cronificação. Tal acontecimento poderá explicar o agravamento e a maior disseminação da periodontite apical evidenciada no grupo tratado apenas com LLLT.

Este estudo foi realizado utilizando-se LLLT de comprimento de onda de 830 nm, de forma padronizada em todos os grupos de animais, com cinco aplicações iniciadas desde o princípio da indução da lesão. Consequentemente os efeitos observados se relacionam somente a essa condição de uso de LLLT. Os possíveis efeitos biológicos da aplicação da LLLT sobre a doença já estabelecida, como também os efeitos da LLLT de outros comprimentos de onda, não podem ser especulados. Novos estudos realizados nessas condições variantes poderiam fornecer informações que possibilitem definir as condições ideais de uso desse recurso no tratamento de doenças periodontais apicais.

O presente estudo demonstrou que, em condições experimentais da periodontite apical induzida em ratos, a aplicação de LLLT foi benéfica, somente quando utilizada como adjuvante ao tratamento convencional. Os possíveis efeitos de LLLT em doenças periodontais apicais sem tratamento endodôntico convencional, parecem não terem sido estudados até este momento, seja em humanos seja em modelos animais. Tais estudos poderiam contribuir substancialmente para a compreensão dos mecanismos de ação da LLLT no

organismo, e para avaliar os reais benefícios e riscos em potencial associados ao seu uso. Os dados oriundos do presente estudo oferecem algum subsídio valioso nesse sentido.

## 7 CONCLUSÕES

- A perfuração coronária deixando as câmaras pulpares abertas ao meio-oral, induziu a periodontite apical nos primeiros molares inferiores em ratos adultos, ao passo que animais controles não-operados (*sham-operated*) não desenvolveram tal doença;
- A aplicação da LLLT, associada ao tratamento endodôntico improvisado com Calen<sup>®</sup> após 21 dias do início da indução da periodontite apical, resultou em uma maior diminuição da abrangência e da intensidade da doença, em comparação ao que foi observado em ratos controles que não receberam tratamento algum;
- Animais tratados com Calen<sup>®</sup>, sem a LLLT, apresentaram diminuição na severidade de suas lesões periapicais, quando comparados com animais que não receberam nenhum tratamento. O grau de redução das lesões periapicais nesses animais foi menor que em animais tratados com Calen<sup>®</sup> associado à aplicação da LLLT;
- A aplicação da terapia a laser de baixa potência (LLLT) durante a indução experimental de periodontite apical, sem nenhum tratamento endodôntico convencional, resultou no agravamento da destruição inflamatória dos tecidos periapicais, incluindo o osso alveolar;
- Tanto no grupo G1 (lesões periapicais induzidas sem LLLT) quanto no G2 (lesões periapicais induzidas e submetidas à LLLT), os animais revelaram progressão da doença, porém a evolução da doença nos animais do grupo G2 foi contínua, sem indícios de cronificação;
- Essas observações revelaram que somente a aplicação da LLLT, sem estratégias simultâneas de tratamento endodôntico convencional, pode agravar a doença periapical em andamento, ao invés de contribuir para sua resolução;
- Embora a LLLT tenha sido usada, na literatura, como medida terapêutica exclusiva em algumas doenças inflamatórias humanas, os dados da presente

investigação em ratos sugerem que tal estratégia poderá ser potencialmente perigosa no tratamento das periodontites apicais.

## 8 REFERÊNCIAS

ABERGEL, R.P.; MEEKER, C.A.; LAM, T.S.; DWYER, R.M.; LESAVOY, M.A.; UITTO, J. Control of connective tissue metabolism by lasers : recent developments and future prospects. **J Am Acad Dermatol**, v.11, n.6, p.1142-50, 1984, Dec.

ABOU-RASS, M. Endodontic treatment finalization – a systematic endodontic-restorative approach. **J Calif Dent Assoc**, v.21, n.12, p.33-42, 1993, Dec.

ABOU-RASS, M.; BOGEN, G. Microorganisms in closed periapical lesions. **Int Endod J**, v.31, n.1, p.39-47, 1998, Jan.

ALLISON, J.P. Gammadelta T-cell development. **Curr Opin Immunol**, v.5, n.2, p.39-47, 1993, Apr.

AIMBIRE, F.; ALBERTINE, R.; DE MAGALHAES, R.G.; LOPES-MARTINS, R.A.; CASTRO-FARIA-NETO, H.C.; ZANGARO, R.A.; CHAVANTES, M.C.; PACHECO, M.T. Effect of LLLT Ga-Al-As (685 nm) on LPS-induced inflammation of the airway and lung in the rat. **Lasers Med Sci**, v.20, n.1, p.11-20, 2005, Jun.

AIMBIRE, F.; ALBERTINI, R.; PACHECO, M.T.; CASTRO-FARIA-NETO, H.C.; LEONARDO, P.S.; IVERSEN, V.V.; LOPES-MARTINS, R.A.; BJORDAL, J.M. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNF- $\alpha$  levels in acute inflammation. **Photomed Laser Surg**, v.24, n.1, p.33-7, 2006, Feb.

ANDREASEN, F.M. Transient apical breakdown and its relation to color and sensibility changes after luxation injuries to teeth. **Endod Dent Traumatol**, v.2, n.1 p.9-19, 1986, Feb.

ASENCIO-ARANA, F.; GARCIA-FONS, V.; MOLINA-ANDREU, E.; VIDAL-MARTINEZ, J.; MARTINEZ-SORIANO, F. Endoscopic enhancement of the healing of high-risk colon anastomoses by low-power helium-neon laser. An experimental study. **Dis Colon Rectum**, v.35, n.6, p.568-73, 1992, Jun.

AZIM, A.A.; EL-SHERBIENY, M.I.; ELBOGHDADI, R.M. Effect of low-intensity laser on periapical lesions in endodontically treated teeth. **Egypt Dent J**, v.47, n.3.2, p.1265, 2001, Jul.

BABIOR, B.M. Oxidants from phagocytes: agents of defense and destruction. **Blood**, v.64, n.5, p.959-66, 1984, Nov.

BANCROFT, G.J.; SCHREIBER, R.D.; BOSMA, G.C.; BOSMA, M.J.; UNANUE, E.R. T cell independent mechanism of macrophage activation by interferon gamma. **J Immunol**, v.139, n.4, p.1104-7, 1987, Aug.

BANCROFT, G.J.; SHEEHAN, K.C.; SCHREIBER, R.D.; UNANUE, E.R. Tumor necrosis factor is involved in the T cell independent pathway of macrophage activation in SCID mice. **J Immunol**, v.143, n.1, p.127-30, 1989, Jul.

BANDO, Y.; HENDERSON, B.; MEGHJI, S.; POOLE, S.; HARRIS, M. Immunocytochemical localization of inflammatory cytokines and vascular adhesion receptors in radicular cysts. **J Oral Pathol Med**, v.22, n.5, p.221-7, 1993, May.

BARKHORDAR, R.A.; DESOUZA, Y.G. Human T-lymphocyte subpopulations in periapical lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.65, n.6, p.763-6, 1988, Jun.

BASFORD, J.R. Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. **Lasers Surg Med**, v.16, n.4, p.331-42, 1995.

BAYAT, M.; VASHEGHANI, M.M.; RAZAVI, N.; TAHERI, S.; RAKHSHAN, M. Effect of low-level laser therapy on the healing of second-degree burns in rats: a histological and microbiological study. **J Photochem Photobiol B**, v.78, n.2, p.171-7, 2005, Feb.

BECKER, J. Biostimulation of wound healing in rats by combined soft and middle power lasers. **Biomed Tech Berlin**, v.35, n.5, p.98-101, 1990, May.

BERNABÉ, P.F.E.; HOLLAND, R. Cirurgia parestodôntica: quando indicar e como realizá-la. In \_\_\_\_\_. **Atualização na clínica odontológica: a prática da clínica geral**. São Paulo: Artes Médicas, 1998. p. 217-54.

BOHNLEIN, E.; LOWENTHAL, J.W.; SIEKEVITZ, M.; BALLARD, D.W.; FRANZA, B.R.; GREENE, W.C. The same inducible nuclear protein regulates mitogen activation of both the interleukin-2 receptor-alpha gene and type 1 HIV. **Cell**, v.53, n.5, p.827-36, 1988, Jun.

BRAMANTE, C.M.; TORRES, M.; MORAIS, I.G.; BERNARDINELLI, N. Avaliação da superfície apical após apicetomia e alisamento com instrumentos manuais e mecanizados. **J Bras Endod**, v.4, n.13, p.105-109, 2003, Abr-Jun.

BRATEL, J.; JONTELL, M.; DAHLGREN, U.; BERGENHOLTZ, G. Effects of root canal sealers on immunocompetent cells *in vitro* and *in vivo*. **Int Endod J**, v.31, n.3, p.178-88, 1998, May.

BURGUDZHIEVA, T.; ENCHEV, V.; BRADINSKI, A. Comparative histological and light-microscopic cytomorphometric studies of the tissue repair process in postoperative wound complications treated locally with helium-neon laser radiation or a photolytic enzyme. **Akush Ginekol (Sofia)**, v.29, n.6, p.49-53, 1990.

BYSTRÖM, A.; HAPPONEN, R.P.; SJOGREN, U.; SUNDQVIST, G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic with controlled asepsi. **Endod Dent Traumatol**, v.3, n.2, p.58-63, 1987, Apr.

CALISKAN, M.K. Nonsurgical retreatment of teeth with periapical lesions previously managed by either endodontic or surgical intervention. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.100, n.2, p.242-8, 2005, Aug.

CARDING, S.R.; EGAN, P.J. Gammadelta T cells: functional plasticity and heterogeneity. **Nature Rev Immunol**, v.2, n.5, p.336-45, 2002, May.

CHENSUE, S.W.; WARMINGTON, K.; RUTH, J.H.; KUNKEL, S.L. Effect of slow release IL-12 and IL-10 on inflammation, local macrophage function and regional lymphoid response during mycobacterial (Th1) and schistosomal (Th2) antigen-elicited pulmonary granuloma formation. **Inflamm Res**, v.46, n.3, p.86-92, 1997, Mar.

COHEN, S.; BURNS, R.C. Patologia periapical. In \_\_\_\_\_. **Caminhos da Polpa**. 6<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. Cap.12, p.338-63.

CONTI, P.; PANARE, M.R.; FRIDAS, S.; BARBACANE, R.C.; GRILLI, A.; PLACIDO, F.C.; REALE, M.; FIORE, S. Inhibition of granuloma formation induced by potassium permanganate in the mouse by a specific human recombinant receptor antagonist for interleukin-1 (hrIL-1ra). **Cell Immunol**, v.147, n.2, p.446-57, 1993, Apr.

CORRAL-BAQUES, M.I.; RIGAU, T.; RIVERA, M.; RODRIGUEZ, J.E.; RIGAU, J. Effect of 655-nm diode laser on dog sperm motility. **Lasers Méd Sci**, v.20, n.1, p.28-34, 2005, Apr.

CROFT, M.; SWAIN, S.L. B cell response to T helper subsets. II. Both the stage of T cell differentiation and the cytokines secreted determine the extent and nature of helper activity. **J Immunol**, v.147, n.11, p.3679-89, 1991, Dec.

CROSS, S.L.; FEINBERG, M.B.; WOLF, J.B.; HOLBROOK, N.J.; WONG-STAAAL, F.; LEONARD, W.J. Regulation of the human interleukin-2 receptor,  $\alpha$ -chain promoter: activation of a nonfunctional promoter by the transactivator gene of HTLV-1. **Cell**, v.49, n.1, p.47-56, 1987, Apr.

DAHLÉN, G.; FABRICIUS, L.; HOLM, S.E.; MÖLLER, Å.J.R. Circulating antibodies after experimental chronic infection in the root canal of teeth in monkeys. **Scand J Dent Res**, v.90, n.5, p.338-44, 1982, Oct.

DAMMASCHKE, T.; SCHNEIDER, U.; STRATMANN, U.; YOO, J.M.; SCHÄFER, E. Effect of root canal dressings on the regeneration of inflamed periapical tissue. **Acta Odontol Scand**, v.63, n.3, p.143-52, 2005, Jun.

DE DEUS, Q.D. Alterações patológicas no periápice. In: \_\_\_\_\_. **Endodontia**. 5<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. Cap.6, p.157.

DELIVANIS, P.D.; FAN, V.S.C. The localization of blood-borne bacteria in instrumented unfilled and overinstrumented canals. **J Endod**, v.10, n.11, p.521-24, 1984, Nov.

DUBE, A.; BANSAL, H.; GUPTA, P.K. Modulation of macrophage structure and function by low level He-Ne laser irradiation. **Photochem Photobiol Sci**, v.2, n.8, p.851-5, 2003, Aug.

EL-SWIAH, J.M.; WALKER, R.T. Reasons for apicectomies. A retrospective study. **Endod Dent Traumatol**, v.12, n.4, p.185-91, 1996, Aug.

EULER, G.J.; MILLER, G.A.; HUTTER, J.W.; D'ALESSANDRO, M.M. Interleukin-6 in neutrophils from peripheral blood and inflammatory periradicular tissues. **J Endod**, v.24, n.7, p.480-4, 1998, Jul.

FERRETE, C.R.G.; CAMPOS, C.R.N. Cirurgia do periápice: indicações e técnicas. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v.11, n.2, p.67-71, 1993, Jul-Dez.

FIGDOR D. Apical periodontitis: a very prevalent problem. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.94, n.6, p.651-2, 2002, Dec.

FOUAD, A.F.; WALTON, R.E.; RITTMAN, B.R. Induced periapical lesions in ferret canines: histologic and radiographic evaluation. **Endod Dent Traumatol**, v.8, n.2, p.56-62, 1992, Apr.

FRIEDMAN, S.; MOR, C. The success of endodontic therapy: healing and functionality. **J Calif Dent Assoc**, v.32, n.6, p.493-503, 2004, Jun.

FUJITA, T.; SHIBUYA, H.; OHASHI, T.; YAMANISHI, K.; TANIGUSHI, T. Regulation of human IL-2 gene: functional DNA sequences in the 5' flanking region for the gene expression in activated T lymphocytes. **Cell**, v.46, n.3, p.401-5, 1986, Aug.

GAL, D.; CHOKSHI, S.K.; MOSSERI, M.; CLARKE, R.H.; ISNER, J.M. Percutaneous delivery of low-level laser energy reverses histamine-induced spasm in arteriosclerotic Yucatan microswine. **Circulation**, v.85, n.2, p.756-68, 1992, feb.

GERATZ, J.D.; PRYZWANSKY, K.B.; ANDERLE, S.K.; TIDWELL, R.R. Control of glucan-induced systemic granulomatosis by cyclosporine A. **Inflammation**, v.19, n.2, p.221-31, 1995, Apr.

GLASEBROOK, A.L.; FITCH, F.W. T cell lines which cooperate in generation of specific cytolytic activity. **Nature**, v.278, n.5700, p.171-3, 1979, Mar.

GOLDSTEIN, J.; MCKINNEY, R. Development of periapical infection in the presence of antibiotic therapy. **J Endod**, v.7, n.2, p.89-91, 1981, Feb.

GREENING, A.B.; SCHONFELD, S.E. Apical lesions contain elevated immunoglobulin G levels. **J Endod**, v.6, n.12, p.867-69, 1980, Dec.

GROSSMAN, L.I. Origin of microorganisms in traumatized pulpless sound teeth. **J Dent Res**, v.46, n.3, p.551-3, 1967, May-Jun.

GUSH, R.J.; KING, T.A. Discrimination of capillary and arterio-venular blood flow in skin by laser Doppler flowmetry. **Med Biol Eng Comput**, v.29, n.4, p.387-92, 1991, Jul.

HAAPASALO, M.; RANTA, K.; RANTA, H. Mixed anaerobic periapical infection with sinus tract. **Endod Dent Traumatol**, v.3, n.2, p.83-5, 1987, Apr.

HAAS, A.F.; ISSEROFF, R.R.; WHEELAND, R.G.; ROOD, P.A.; GRAVES, P.J. Low-energy helium-neon laser irradiation increases the motility of cultured human keratinocytes. **J Invest Dermatol**, v.94, n.6, p.822-6, 1990, Jun.

HAYDAY, A.; TIGELAAR, R. Immunoregulation in the tissues by gammadelta T cells. **Nature Rev Immunol**, v.3, n.3, p.233-42, 2003, Mar.

HEINEMANN, D.E.H.; PETERS, J.H.; GAHR, M. A human *in vitro* model using heat killed *Candida albicans* cells immobilized on plastic culture wells. **Scand J Immunol**, v.45, n.6, p.596-604, 1997, Jun.

HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. **J Br Endod Soc**, v.8, n.2, p.74-93, 1975, Jul.

HEMVANI, N.; CHITNIS, D.S.; BHAGWANANI, N.S. Helium-neon and nitrogen laser irradiation accelerates the phagocytic activity of human monocytes. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.6, p.571-4, 2005, Dec.

HOLLAND, G.R. Steroids reduce the periapical inflammatory and neural changes after pulpectomy. **J Endod**, v.22, n.9, p.455-8, 1996, Sep.

IN DE BRAEKT, M.M.; VAN ALPHEN, F.A.; KUIJPERS-JAGTMAN, A.M.; MALTHA, J.C. The effect of low-level laser treatment on maxillary arch dimensions after palatal surgery on beagle dogs. **J Dent Res**, v.70, n.11, p.1467-70, 1991, Nov.

IVANIUTA, O.M.; CHERNUSHENKO, E.F.; DZUBLIK, A.I.A.; TYSHKO, N.A.; NAIDA, I.V.; KULIK, I.V. Effect of low-energy laser irradiation of bronchial mucosa on systemic and local immunity in patients with chronic bronchitis. **Probl Tuberk**, n.6, p.26-29, 1991.

IWU, C.; MacFARLANE, T.W.; MacKENZIE, D.; STENHOUSE, D. The microbiology of periapical granulomas. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.69, n.4, p.502-5, 1990, Apr.

JANEWAY, C.A. Jr. The T cell receptor as a multicomponent signaling machine: CD4/CD8 coreceptors and CD45 in T cell activation. **Annu Rev Immunol**, v.10, p.645-74, 1992.

JOHANNESSEN, A.C.; NILSEN, R.; SKAUG, N. Deposits of immunoglobulins and complement factor C3 in human dental periapical inflammatory lesions. **Scand J Dent Res**, v.91, n.3, p.191-9, 1983, Jun.

KABASHIMA, H.; NAGATA, K.; MAEDA, K.; IJIMA, T. Interferon-gamma-producing cells and inducible nitric oxide synthase-producing cells in periapical granulomas. **J Oral Pathol Med**, v.27, n.3, p.95-100, 1998, Mar.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg**, v.20, p.340-9, 1965, Sep.

KAUFMANN, S.H.E. Immunity to intracellular bacteria. **Annu Rev Immunol**, v.11, p.129-63, 1993.

KAWASHIMA, N.; OKIJI, T.; KOSAKA, T.; SUDA, H. Kinetics of macrophages and lymphoid cells during the development of experimentally induced periapical lesions in rat molars: a quantitative immunohistochemical study. **J Endod**, v.22, n.6, p.311-6, 1996, Jun.

KEREKES, K.; TRONSTAD, L. Long-term results of endodontic treatment performed with standardized techniques. **J Endod**, v.5, n.3, p.83-90, 1979, Mar.

KETTERING, J.D.; TORABINEJAD, M. Presence of natural killer cells in human chronic periapical lesions. **Int Endod J**, v.26, n.6, p.344-7, 1993, Nov.

KEUDELL, K.; POWEL, G.; BERRY, H. A review of microbial and immunologic aspects of endodontics. **J Oral Pathol Med**, v.36, p.39-43, 1981, Apr-Jun.

KIRKEVANG, L.L.; VAETH, M.; HÖRSTED-BINDSLEV, P.; WENZEL, A. Longitudinal study of periapical and endodontic status in a Danish population. **Int Endod J**, v.39, n.2, p.100-7, 2006, Feb.

KONG, Y. T cell balance in organ targets. **Immunol Today**, v.4, p.304-5, 1983.

KUJAWA, J.; ZAVODNIK, I.B.; LAPSHINA, A.; LABIENIEC, M.; BRYZSEWSKA, M. Cell survival, DNA, and protein damage in B14 cells under low-intensity near-infrared (810 nm) laser irradiation. **Photomed Laser Surg**, v.22, n.6, p.504-8, 2004, Dec.

KUJAWA, J.; ZAVODNIK, L.; ZAVODNIK, I.; BUKO, V.; LAPSHYNA, A.; BRYZSEWSKA, M. Effect of low-intensity (3.75-25 J/cm<sup>2</sup>) near-infrared (810nm) laser radiation on red blood cell ATPase activities and membrane structure. **J Clin Laser Med Surg**, v.22, n.2, p.111-7, 2004, Apr.

KULIEV, R.A.; BABAIEV, R.F. Therapeutic action of laser irradiation and immunomodulators in purulent injuries of the soft tissues in diabetic patients. **Probl Endokrinol Mosk**, v.37, n.6, p.31-2, 1991, Nov-Dec.

LABBE, R.F.; SKOGERBOE, K.J.; DAVIS, H.A.; RETTMER, R.L. Laser photo-bioactivation mechanisms: *in vitro* studies using ascorbic acid up take and hydroxyproline formation as biochemical markers of irradiation response. **Lasers Surg Med**, v.10, n.2, p.201-7, 1990.

LERNER, U.H. Regulation of bone metabolism by the kallikrein-kinin system, the coagulation cascade, and the acute-phase reactants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.78, n.4, p.481-93, 1994, Oct.

LIM, G.C.; TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.; LINKHARDT, T.A.; FINKELMAN, R.D. Interleukin  $\beta$  in symptomatic and asymptomatic human periradicular lesions. **J Endod**, v.20, n.5, p.225-7, 1994, May.

LIN, L.M.; GAENGLER, P.; LANGELAND, K. Periradicular curettage. **Int Endod J**, v.29, n.4, p.220-7, 1996, Jul.

LOESCHE, W.J.; GUSBERTI, F.; METTRAUX, G.; HIGGINS, T.; SYED, S. Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. **Infect Immun**, v.42, n.2, p.659-67, 1983, Nov.

LOEVSCHELL, H.; ARENHOLTD-BINDSLEV, D. Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts *in vitro*. **Lasers Surg Med**, v.14, n.4, p.347-54, 1994.

LUBART, R.; WOLLMAN, Y.; FRIEDMANN, H.; ROCHKIND, S.; LAULICHT, I. Effects of visible and near-infrared lasers on cell cultures. **Photochem Photobiol**, v.12, n.3, p.305-10, 1992, Feb.

LUNDQVIST, C.; HAMMARSTRÖM, M.L. T-cell receptor gamma-delta expressing intraepithelial lymphocytes are present in normal and chronically inflamed human gingiva. **Immunology**, v.79, n.1, p.38-45, 1993, May.

LUSTER, A.D. Chemokines – chemotactic cytokines that mediate inflammation. **N Engl J Med**, v.338, n.7, p.436-45, 1998, Feb.

MAALOUF, E.M.; GUTMANN, J.L. Biological perspectives on the non-surgical endodontic management of periradicular pathosis. **Int Endod J**, v.27, n.3, p.154-62, 1994, May.

MACHADO, A.R.T.; da SILVEIRA BUENO, C.E.; VILLELA, L. Tratamento de cisto periapical ou lesão persistente sugestiva de cisto com a enzima hialuronidase. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v.58, n.2, p.104-10, 2004, Mar-Abr.

MÁRTON, I.J.; DEZSŐ, B.; RADICS, T.; KISS, C. Distribution of interleukin-2 receptor  $\alpha$ -chain and cells expressing major histocompatibility complex class II antigen in chronic human periapical lesions. **Oral Microbiol Immunol**, v.13, n.4, p.259-62, 1998, Aug.

MÁRTON, I.J.; KISS, C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. **Int Endod J**, v.26, n.2, p.131-6, 1993, Mar.

MÁRTON, I.J.; KISS, C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.15, n.3, p.139-150, 2000, Jun.

MÁRTON, I.J.; NEMES, Z.; HARMATI, S. Quantitative significance of IgE producing plasma cells and tissue distribution of mast cells in apical periodontitis. **Oral Microbiol Immunol**, v.5, n.1, p.46-8, 1990, Feb.

MÁRTON, I.J.; ROT, A.; SCHWARZINGER, E.; SZAKÁLL, S.; RADICS, T.; VÁLYI-NAGY, I.; KISS, C. Differential *in situ* distribution of interleukin-8, macrophage chemoattractant protein-1 and Rantes in human chronic periapical granuloma. **Oral Microbiol Immunol**, v.15, n.1, p.63-5, 2000, Feb.

MATHIESEN, A. Preservation and demonstration of mast cells in human apical granulomas and radicular cysts. **Scand J Dent Res**, v.81, n.3, p.218-29, 1973.

MATUSOW, R.J.; GOODALL, L.B. Anaerobic isolates in primary pulpal-alveolar cellulitis cases: endodontic resolution and drug therapy considerations. **J Endod**, v.9, n.12, p.535-43, 1983, Dec.

MATSUO, T.; EBISU, S.; NAKANISHI, T.; YONEMURA, K.; HARADA, Y.; OKADA, H. Interleukin- $\alpha$  and interleukin-1 $\beta$  in periapical exudates of infected root canals: correlation with the clinical findings of involved teeth. **J Endod**, v.20, n.9, p.432-5, 1994, Sep.

MEGHJI, S.; HARVEY, W.; HARRIS, M. Interleukin-1-like activity in cystic lesions of the jaw. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v.27, n.1, p.1-11, 1989, Feb.

METZGER, Z.; KLEIN, H.; KLEIN, A.; TAGGER, M. Periapical lesion development in rats inhibited by dexamethasone. **J Endod**, v.28, n.9, p.643-5, 2002, Sep.

MIELKE, M.E.A.; PETERS, C.; HAHN, H. Cytokines in the induction and expression of T-cell-mediated granuloma formation and protection in the murine model of listeriosis. **Immunol Rev**, v.158, p.79-93, 1997, Aug.

MILLER, G.A.; DeMAYO, T.; HUTTER, J.W. Production of interleukin-1 by polymorphonuclear leucocytes resident in periradicular tissue. **J Endod**, v.22, n.7, p.346-51, 1996, Jul.

MÖLLER, A.J.; FABRICIUS, L.; DAHLÉN, G.; ÖHMAN, A.E.; HEYDEN, G. Influence on periapical tissues indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. **Scand J Dent Res**, v.89, n.6, p.475-84, 1981, Dec.

MOLVEN, O.; HALSE, A. Success rates for gutta-percha and Kloroperka N-0 root fillings made by undergraduate students: radiographic findings after 10-17 years. **Int Endod J**, v.21, n.4, p.243-50, 1988, Jul.

MOSMANN, T.R.; COFFMAN, R.L. Th1 and Th2 cells: different pattern of lymphokine secretion leads to different functional properties. **Annu Rev Immunol**, v.7, p.145-73, 1989.

MURPHY, W.K.; KAUGARS, G.E.; COLLETT, W.K.; DODDS, R.N. Healing of periapical radiolucencies after nonsurgical endodontic therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.71, n.5, p.620-24, 1991, May.

NABHOLZ, M.; McDONALD, H.R. Cytolytic T lymphocytes. **Annu Rev Immunol**, v.1, p.273-306, 1983.

NAIR, P.N. Light and electron microscopic studies on root canal flora and periapical lesions. **J Endod**, v.13, p.29-39, 1987, Jan.

NAIR, P.N. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. **Periodontol**, v.13, p.121-48, 1997, Feb.

NAIR, P.N. New perspectives on radicular cysts: do they heal? **Int Endod J**, v.31, n.3, p.155-60, 1998, May.

NAIR, P.N. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.15, n.6, p.348-81, 2004, Nov.

NAIR, P.N.R.; PAJAROLA, G.; SCHROEDER, H.E. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.81, n.1, p.93-102, 1996, Jan.

NAIR, P.N.; SJOGREN, U.; KREY, G.; KAHNBERG, K.E.; SUNDQVIST, G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J Endod**, v.16, n.12, p.580-8, 1990, Dec.

NANAMI, T.; SHIBA, H.; IKEUCHI, S.; NAGAI, T.; ASANAMI, S.; SHIBATA, T. Clinical applications and basic studies of laser in dentistry and in oral surgery. **Keio J Med**, v.42, n.4, p.199-201, 1993, Dec.

NATHAN, C.F. Secretory products of macrophages. **J Clin Invest**, v.79, n.2, p.319-26, 1987, Feb.

NEMETH, A.J. Lasers and wound healing. **Dermatol Clin**, v.11, n.4, 783-9, 1993, Oct.

NOBLE, P.B.; SHIELDS, E.D.; BLECHER, P.D.; BENTLEY, K.C. Locomotory characteristics of fibroblasts within a three-dimensional collagen lattice: modulation by a helium/neon soft laser. **Lasers Surg Med**, v.12, n.6, p.669-74, 1992.

NOMURA, K.; YAMAGUCHI, M.; ABIKO, Y. Inhibition of interleukin-1beta production and gene expression in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation. **Lasers Med Sci**, v.16, n.3, p.218-23, 2001.

NOVOSELOVA, E.G.; GLUSHKOVA, O.V.; CHERENKOV, D.A.; FESENKO, E.E. CHUDNOVSKY, V.M. Effects of low-power laser radiation on mice immunity. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v.22, n.1, p.33-8, 2006, Feb.

NUSSBAUM, E.L.; LILGE, L.; MAZZULLI, T. Effects of 630, 660, 810, and 905nm laser irradiation delivering radiant exposure of 1-50 J/cm<sup>2</sup> on three species of bacteria in vitro. **J Clin Laser Med Surg**, v.20, n.6, p.325-33, 2002, Dec.

NUSSBAUM, E.L.; LILGE, L.; MAZZULLI, T. Effects of low-level laser therapy (LLLT) of 810 nm upon in vitro growth of bacteria: relevance of irradiance and radiant exposure. **J Clin Laser Med Surg**, v.21, n.5, p.283-90, 2003, Oct.

OHSIRO, T.; FUJINO, T. Laser applications in plastic and reconstructive surgery. **Keio J Med**, v.42, n.4, p.191-5, 1993, Dec.

OHTA, A.; ABERGEL, R.P.; UITTO, J. Laser modulation of human immune system: inhibition of lymphocyte proliferation by a gallium-arsenide laser at low energy. **Lasers Surg Med**, v.7, n.2, p.199-201, 1987.

OKIJI, T.; KAWASHIMA, N.; KOSAKA, T.; KOBAYASHI, C.; SUDA, H. Distribution of Ia antigen-expressing nonlymphoid cells in various stages of Induced periapical lesions in rat molars. **J Endod**, v.20, n.1, p.27-31, 1994, Jan.

ORSTAVIK, D. Time-course and risk analyses of the development and healing of chronic apical periodontitis in man. **Int Endod J**, v.29, n.3, p.150-5, 1996, May.

PATINEN, P.; SAVILAHTI, E.; HIETANEN, J.; MALMSTRÖN, M.; MÄKI, M.; REUNALA, T. Intraepithelial lymphocytes bearing the  $\gamma\delta$  receptor in the oral and jejunal mucosa in patients with dermatitis herpetiformis. **Eur J Oral Sci**, v.105, n.2, p.130-5, 1997, Apr.

PETROVA, M.B. The morphofunctional characteristics of the healing of a skin wound in rats by exposure to low-intensity laser radiation. **Morfologija**, v.102, n.6, p.112-21, 1992, Jun.

PIATTELLI, A.; ARTESE, L.; ROSINI, S.; QUARANTA, M.; MUSIANI, P. Immune cells in periapical granuloma: morphological and immunohistochemical characterization. **J Endod**, v.17, n.1, p.26-9, 1991, Jan.

PICK, R.M.; MISERENDINO, L.J. **Lasers in dentistry**. Chicago: Quintessence, 1995, p.17-25.

PINHEIRO, A.L.; LIMEIRA JUNIOR, F. de A.; GERBI, M.E.; RAMALHO, L.M.; MARZOLA, C.; PONZI, E. A.; SOARES, A.O.; De CARVALHO, L.C.; LIMA, H.C.; GONÇALVES, T.O. Effect of 830-nm laser light on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone and decalcified cortical osseous membrane. **J Clin Laser Surg**, v.21, n.5, p.301-6, 2003, Oct.

POSTEN, W.; WRONE, D.A.; DOVER, J.S.; ARNDT, K.A.; SILAPUNT, S.; ALAM, M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. **Dermatol Surg**, v.31, n.3, p.334-40, 2005, Mar.

POURREAU-SCHNEIDER, N.; AHMED, A.; SOUDRY, M.; JACQUEMIER, J.; KOPP, F.; FRANQUIN, J.C.; MARTIN, P.M. Helium-neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblasts. **Am J Pathol**, v.137, n.1, p.171-8, 1990, Jul.

PROKHONCHUKOV, A.A. 30 years of experience in using lasers in dentistry. **Stomatologija Mosk**, v.74, n.4, p.68-73, 1995.

QADRI, T.; MIRANDA, L.; TUNER, J.; GUSTAFSSON, A. The short-term effects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. **J Clin Periodontol**, v.32, n.7, p.714-9, 2005, Jul.

RAJARATNAM, S.; BOLTON, P.; DYSON, M. Macrophages responsiveness to laser therapy with varying pulsing frequencies. **Laser Ther**, v.6, p.107-12, 1994.

RAPP, E.L.; BROWN, C.E. Jr.; NEWTON, C.W. An analysis of success and failure of apicectomies. **J Endod**, v.17, n.10, p.508-12, 1991, Oct.

RAY, H.A.; TROPE, M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root canal filling and the coronal restoration. **Int Endod J**, v.28, n.1, p.12-8, 1995, Jan.

READER, C.M.; BONIFACE, M.; BUJADNA-WAGNER, S. Refractory endodontic lesion associated with *Staphylococcus aureus*. **J Endod**, v.20, n.12, p.607-9, 1994, Dec.

REGEZI, J.A.; SCIUBBA, J.J. Cistos da boca. In: \_\_\_\_\_. **Patologia oral: correlações clinicopatológicas**. 3<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, Cap.10, p.260-91.

REINHERZ, E.L.; SCHLOSSMAN, S.F. The differentiation and function of human T lymphocytes. **Cell**, v.19, n.4, p.821-7, 1980, Apr.

ROOD, P.A.; HAAS, A.F.; GRAVES, P.J.; WHEELAND, R.G.; ISSEROFF, R.R. Low-energy helium-neon laser irradiation does not alter human keratinocyte differentiation. **J Invest Dermatol**, v.99, n.4, p.445-8, 1992, Oct.

SAFAVI, K.E.; ROSSOMANDO, E.F. Tumor necrosis factor identified in periapical tissue exudates of teeth with apical periodontitis. **J Endod**, v.17, n.1, p.12-4, 1991, Jan.

SALATE, A.C.; BARBOSA, G.; GASPAR, P.; KOEKE, P.U.; PARIZOTTO, N.A.; BENZE, B.G.; FOSCHIANI, D. Effect of In-Ga-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.5, p.470-5, 2005, Oct.

SCHONFELD, S.E.; GREENING, A.B.; GLICK, D.H.; FRANK, A.L.; SIMON, J.H.; HERLES, S.M. Endotoxic activity in periapical lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.53, n.1, p.82-7, 1982, Jan.

SELTZER, S.; BENDER, I.B.; TURKENKOPF, S. Factors affecting successful repair after root canal therapy. **J Am Dent Assoc**, v.67, p.651-62, 1963, Nov.

SELTZER, S. In: \_\_\_\_\_. **Inflammation**. An update. Chicago: R & E Foundation of the American Association of Endodontists, 1990.

SHAH, N. Nonsurgical management of periapical lesions: a prospective study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.66, n.3, p.365-71, 1988, Sep.

SHEVACH, E.M. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> suppressor T cells: more questions than answers. **Nature Rev Immunol**, v.2, n.6, p.389-400, 2002, Jun.

SHIMAUCHI, H.; MIKI, Y.; TAKAYAMA, S.; IMAI, T.; OKADA, H. Development of a quantitative sampling method for periapical exudates from human root canals. **J Endod**, v.22, n.11, p.612-5, 1996, Nov.

SIMON, J.H.S. Incidence of periapical cysts in relation to the root canal. **J Endod**, v.6, n.11, p.845-8, 1980, Nov.

SJÖGREN, U.; HAGGLUND, B.; SUNDQVIST, G.; WING, K. Factors affecting the long term results of endodontic treatment. **J Endod**, v.16, n.10, p.498-504, 1990, Oct.

SJÖGREN, U.; FIGDOR, D.; SPÅNDBERG, L.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int Endod J**, v.24, n.3, p.119-25, 1991, May.

SMITH, L.S.; TAPPE, G. Experimental pulpitis in rats. **J Dent Res**, v.41, p.17, 1962.

SMOL'YANINOVA, N.K.; KARU, T.I.; FEDOSEEVA, G.E.; ZELENIN, A.V. Effects of He-Ne laser irradiation on chromatin properties and synthesis of nucleic acids in human peripheral blood lymphocytes. **Biomed Sci**, v.2, n.2, p.121-6, 1991.

SOARES, I.J.; GOLDBERG, F. Reparo após o tratamento de canais radiculares. In: \_\_\_\_. **Endodontia: técnica e fundamento**. São Paulo : Artmed, 2001. Cap. 12, p.231-250.

SOL, M.A.; TKACZUK, J.; VOIGT, J.J.; DURAND, M.; SIXOU, M.; MAURETTE, A.; THOMSEN, M. Characterization of lymphocyte subpopulations in periapical lesions by flow cytometry. **Oral Microbiol Immunol**, v.13, n.4, p.253-8, 1998, Aug.

SOUSA, G.R.; RIBEIRO, M.S.; GROTH, E.B. A radiographic evaluation of bone repairs in periapical lesions of dental elements submitted to a therapy with low intensity laser  $\lambda = 904 \text{ nm}$ . (*A study in anima nobile*). **Professional Master's Degree "Lasers in Dentistry"**, Nuclear and Energy Research Institute/School of Dentistry, University of São Paulo, 2001.

SOUZA, M.E.; TORRES, M.A.; DUARTE, A.H.S. Lesões periapicais: estudo epidemiológico. **Rev Bras Patol Oral**, v.2, n.1, p.30-34, 2003, Jan-Mar.

SPATAFORE, C.M.; GRIFFIN, J.A.Jr.; KEYES, G.G.; WEARDEN, S.; SKIDEMORE, A.E. Periapical biopsy report: an analysis over a 10-year period. **J Endod**, v.16, n.5, p.239-41, 1990, May.

STASHENKO, P.; WANG, C.Y.; TANI-ISHI, N.; YU, S.M. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.78, n.4, p.494-502, 1994, Oct.

SUN, G.; TUNÉR, J. Low-level laser therapy in dentistry. **Dent Clin North Am**, v.48, n.4, p.1061-7, 2004, oct.

SUNDE, P.T.; OLSEN, I.; DEBELIAN, G.J.; TRONSTAD, L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic treatment. **J Endod**, v.28, n.4, p.304-10, 2002, Apr.

SUNDQVIST, G. Ecology of the root canal flora. **J Endod**, v.18, n.9, p.427-30, 1992, Sep.

SUNDQVIST, G.; LERNER, U.H. Bradykinin and thrombin synergistically potentiate interleukin 1 and tumor necrosis factor induced prostanoid biosynthesis in human dental pulp fibroblasts. **Cytokine**, v.8, n.2, p.168-77, 1996, Feb.

TADAKUMA, T. Possible applications of the laser in immunobiology. **Keio J Med**, v.42, n.4, p.180-2, 1993, Dec.

TAKAHASHI, K.; McDONALD, D.G.; KINANE, D.F. Analysis of immunoglobulin-synthesizing cells in human dental periapical lesions by *in situ* hybridization and immunochemistry. **J Oral Pathol Med**, v.25, n.6, p.331-5, 1996, Jul.

TAKEDA, Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v.17, n.6, p.388-91, 1988, Dec.

TAKEICHI, O.; SAITO, I.; TSURUMACHI, T.; MORO, I.; SAITO, T. Expression of inflammatory cytokine genes *in vivo* by human alveolar bone-derived polymorphonuclear leukocytes isolated from chronically inflamed sites of bone resorption. **Calcif Tissue Int**, v.58, n.4, p.244-8, 1996, Apr.

TANI-ISHII, N.; WANG, C-Y.; STASHENKO, P. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. **Oral Microbiol Immunol**, v.10, n.4, p.213-9, 1995, Aug.

TEW, J.; ENGEL, D.; MANGAN, D. Polyclonal B-cell activation in periodontitis. **J Periodontal Res**, v.24, n.4, p.225-41, 1989, Jul.

TOLSTYKH, P.I.; GERTSEN, A.V.; ELISSENKO, V.I.; SARASEK, I.K. Stimulation of the healing of aseptic wounds using laser irradiation. **Khirurgiia Mosk**, v.7, p.36-40, 1991, Jul.

TOMINAGA, R. Effects of He-Ne laser irradiation on fibroblasts derived from scar tissue of rat palatal mucosa. **Kokubyo Gakkai Zasshi**, v.57, n.4, p.580-94, 1990, Dec.

TORABINEJAD, M.; EBY, W.C.; NAIDORF, I.J. Inflammatory and immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. **J Endod**, v.11, n.11, p.479-88, 1985, Nov.

TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D.; BAKLAND, L.K. Localization of IgE immunoglobulin in human dental periapical lesions by the peroxidase-antiperoxidase method. **Arch Oral Biol**, v.26, n.8, p.677-81, 1981.

TORRES, J.O.C.; TORABINEJAD, M.; MATIZ, R.A.R.; MANTILLA, E.G. Presence of secretory IgA in human periapical lesions. **J Endod**, v.20, n.2, p.87-9, 1994, Feb.

TUNÉR, J.; HODE, L. Low level laser therapy-clinical practice and scientific background. 1999 **Prima Books**. ISBN 91-630-7616-0.

UEDA, Y.; SHIMIZU, N. Effects of pulse frequency of low-level laser therapy (LLLT) on bone nodule formation in rat calvarial cells. **J Clin Laser Med Surg**, v.21, n.5, p.271-7, 2003, Oct.

VALIENTE-ZALDIVAR, C.; GARRIGO-ANDREU, M.I. Lasers in dentistry. **Rev Cubana Estomatol**, v.26, n.4 p.336-43, 1989, Oct-Dec.

WAHL, G.; BASTANIER, S. Soft laser in postoperative care in dentoalveolar treatment. **ZWR**, v.100, n.8, p.512-5, 1991, Aug.

WALSH, L.J. The use of lasers in implantology: an overview. **J Oral Implantol**, v.18, n.4, p.335-40, 1992.

WALSH, L.J. Dental lasers: some basic principles. **Postgrad Dent**, v.4, p.26-9, 1994.

WALTON, R.E.; ARDJMAND, K. Histological evaluation of the presence of bacteria in induced periapical lesions in monkeys. **J Endod**, v.18, n.5, p.216-27, 1992, May.

WALTON, R.E.; GARNICK, J.J. The histology of periapical inflammatory lesions in permanent molars in monkeys. **J Endod**, v.12, n.2, p.49-53, 1986, Feb.

WANG, C-Y.; TANI-ISHII, N.; STASHENKO, P. Bone-resorptive cytokine gene expression in periapical lesions in the rat. **Oral Microbiol Immunol**, v.12, n.2, p.65-71, 1997, Apr.

WAYMAN, B.E.; MURATA, S.M.; ALMEIDA, R.J.; FOWLER, C.B. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. **J Endod**, v.18, n.4, p.152-55, 1992, Apr.

WEISS, A. T lymphocyte activation. In: PAUL, W.E. **Fundamental immunology**. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Raven Press, 1993, p.467-503.

WIEBKIN, O.W.; CARDACI, S.C.; HEITHERSAY, G.S.; PIERCE, A.M. Therapeutic delivery calcitonin to inhibit external inflammatory root resorption. I. Diffusion kinetics of calcitonin through the dental root. **Endod Dent Traumatol**, v.12, n.6, p.265-71, 1996, Dec.

de WITH, A.; GREULICH, K.O. Wavelength dependence of laser-induced DNA damage in lymphocytes observed by single-cell gel electrophoresis. **J Photochem Photobiol B**, v.30, n.1, p.71-6, 1995, Sep.

WOOD, K.J.; SAKAGUSHI, S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. **Nature Rev Immunol**, v.3, n.3, p.199-210, 2003, Mar.

YAMADA, K. Biological effects of low power laser irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). **Nippon Siekeigeka Gakkai Zasshi**, v.65, n.9, p.787-99, 1991, Sep.

YAMAGUCHI, M.; KASAI, K. Inflammation in periodontal tissues in response to mechanical forces. **Arch Immunol Ther Exp (Warsz)**, v.53, n.5, p.388-98, 2005, Sep-Oct.

YAMASAKI, M.; NAKANE, A.; KUMAZAWA, M.; HASHIOKA, K.; HORIBA, N.; NAKAMURA, H. Endotoxin and gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. **J Endod**, v.18, n.10, p.501-4, 1992, Oct.

YU, S.M.; STASHENKO, P. Identification of inflammatory cells in developing rat periapical lesions. **J Endod**, v.13, n.11, p.535-40, 1987, Nov.

YU, W.; NAIM, J.O.; LANZAFAME, R.J. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. **Photochem Photobiol**, v.59, n.2, p.167-70, 1994, Feb.