

PATRICIA MOREIRA DE FREITAS

ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITO DA IRRADIAÇÃO COM O LASER DE
Er,Cr:YSGG NA INIBIÇÃO DO PROCESSO DE DESMINERALIZAÇÃO DO
ESMALTE DENTAL

São Paulo
2005

Patricia Moreira de Freitas

**Estudo in vitro do efeito da irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG
na inibição do processo de desmineralização do esmalte dental**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

São Paulo
2005

FOLHA DE APROVAÇÃO

Freitas PM. Estudo in vitro do efeito da irradiação com o Laser de Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

São Paulo, 29/07/2005

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À DEUS, pelo dom da vida, pela proteção, por ter iluminado meu caminho e me dado forças para atingir meus ideais.

Aos meus pais, MARIO e ANGELA, pelo companheirismo e incansável dedicação em todos esses anos de vida. A vocês, que me ensinaram princípios como honestidade e responsabilidade, e sempre acreditaram em mim, a minha eterna gratidão.

Aos meus irmãos e grandes amigos, DÚ e BÁ, pelo exemplo que sempre foram para mim e pelo suporte em tudo que sempre precisei.

E, finalmente, à pessoa que a cada minuto demonstra um amor incondicional, uma dedicação infindável e uma compreensão ímpar em todos os momentos da nossa vida. Ao meu marido, LÊ, agradeço pelas palavras e gestos de conforto, confiança, estímulo e, sobretudo, AMOR.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. CARLOS DE PAULA EDUARDO que, como orientador e amigo, me ensinou a ter paciência, tolerância e inteligência para vencer cada etapa almejada. Foi um exemplo constate de amor à profissão e à vida, me ensinando a respirar o ar da Cidade Universitária.

Ao Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY e à Profa. Dra. ALTAIR A. DEL BEL CURY, pela constante ajuda, orientação e confiança demonstradas durante todos esses anos.

Ao Prof. Dr. JOHN D. B. FEATHERSTONE, pelos ensinamentos na vida acadêmica e pessoal, e pela compreensão e apoio em todas as minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela concessão da bolsa de estudo (Processo 03/10000-6) e auxílio financeiro (Processo 04/12314-0) concedidos para o desenvolvimento dos trabalhos realizados durante o curso de Doutorado.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo para a realização do estágio no exterior (Processo BEX 3207/04-8), me dando a oportunidade de enriquecer o meu conhecimento através do contato com diferentes filosofias e métodos de estudo.

À Universidade de São Paulo, representada pelo Magnífico Reitor Prof. Dr. ADOLPHO JOSE MELFI.

À Faculdade de Odontologia de São Paulo - FOU SP, representada por seu Diretor, Prof. Dr. NEY SOARES DE ARAÚJO.

Ao Prof. Dr. JOÃO HUMBERTO ANTONIAZZI, Coordenador Geral da Pós-Graduação da FOU SP.

À Profa. Dra. MÁRCIA MARTINS MARQUES, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Dentística, pelo trabalho desenvolvido nesses últimos anos e pela constante atenção para com os alunos.

Ao Prof. Dr. NARCISO GARONE NETO, Chefe do Departamento de Dentística da FO-USP e a todos os docentes, pela competência e por todos os ensinamentos recebidos.

Ao Professor RUBENS CORTE REAL DE CARVALHO pelo constante apoio, incentivo, amizade e confiança.

Às Professoras ADRIANA BONA MATOS, MIRIAM LACALLE TURBINO e MARGARETH ODA, pela orientação em muitas das minhas atividades acadêmicas.

Ao Prof. MOACYR NOVELLI, pelo grande exemplo de vida e dedicação à Ciência. Obrigada pela sua ajuda e orientação em muitos momentos!

Ao Prof. JOSÉ LUIZ LAGE-MARQUES pela oportunidade de trabalhar juntos e pelo estímulo para estar constantemente publicando.

À Profa. MÔNICA CAMPOS SERRA, com quem iniciei meus trabalhos científicos, por ter me ensinado os princípios de ética e seriedade em pesquisa. O meu eterno agradecimento pelos seus brilhantes ensinamentos!

Ao Prof. ROGER WILLIAM FERNANDES MOREIRA (FOP-UNICAMP) por ter coletado os dentes necessários para o desenvolvimento deste trabalho, bem como pela amizade e ajuda sempre demonstradas.

Ao MARCELO ANTUNES (IPT) e ELENI KAIRALLA pela ajuda durante o desenvolvimento dos testes preliminares.

Aos funcionários do Departamento de Dentística DAVID, ANA, NEUSA, ARNALDO, SÔNIA e ALDO pela compreensão, ajuda e atenção sempre demonstradas.

À KÁTIA, ALESSANDRA e NAIR, da Secretaria de Pós-Graduação, pela paciência, ajuda e palavras de conforto diante de todas as dificuldades e conquistas desse período.

À Professora e amiga ROSELY CORDON pela orientação no início do meu estágio no LELO, pelas palavras de estímulo e pela confiança demonstradas ao longo desses dois anos.

Aos amigos e Professores da Odontopediatria, FAUSTO e DANIELA, pela ajuda nos meus trabalhos, pelas orientações nas minhas dúvidas e pelo constante aprendizado.

Aos meus amigos do curso de Pós-Graduação, ALESSANDRA, MÁRCIO, WASHINGTON, BETO, ALEX, BIA, NINO, FÁBIO, ARLENE, PATTY LLORET, KÁTIA, THAÍS, SHEILA e ANA DEL CARMEM por terem compartilhado comigo muitas das dificuldades durante o curso e pelos inúmeros momentos de descontração e alegria que me proporcionaram.

Aos amigos VINICIUS e ARCHILLA pela paciência no ensino da Física dos Lasers e por tornarem cada minuto de estudo um grande momento! Aprendi muito com vocês!!!

À CIÇA, pela agradável convivência, palavras e gestos de amizade, que muitas vezes me deram coragem e determinação para alcançar os meus objetivos.

À JÚ ALMEIDA, pela ajuda em todo esse processo, me dando força para vencer diversos obstáculos!

Às estagiarias "veteranas" do LELO..DAI, KAREN, CAMILA, VANESSA, NANDA, YURI, CÍNTIA, MARISA, FABI, MARY, TATI, que tanta paciência tiveram para compartilhar comigo um pouco do muito que sabem de Laser! Vocês são meus orgulhos!

Às novas estagiarias ALYNE, LEILA, LISIANE, JULIANA, MARINA, AUDREY pela ajuda e cumplicidade em todas as atividades no Centro de Pesquisa .

À LILICA, à JÔ e ao HAROLDO, que tanto me mimaram nesses anos, e por terem tornado cada dia de trabalho, mais um grande dia em minha vida! Vocês são parte da minha família "Leliana"!

Aos meus professores e grandes amigos LÚ, EDGAR, SHEILA, PELINO, ILÍRIA, RICARDINHO, TANNOUS E CLÁUDIA por terem ensinado com tanto

prazer e entusiasmo o estado da arte do Laser em Odontologia! Agradeço também ao DÚ GROTH (*in memoriam*) pelo exemplo de vida que deixou entre nós, mostrando que devemos viver cada dia com muita intensidade.

Ao quarteto LÊ, ANINHA, CÁ e RÔ por tudo que me ensinaram nestes poucos anos de convívio. Agradeço pela grande ajuda na realização deste trabalho e obrigada por terem feito destes dois anos um período inesquecível! Apesar de mais jovens, vocês são um grande exemplo para mim!!!

Ao meu grande amigo MAIA pelas poucas, mas sempre precisas, palavras de conforto e de estímulo. Com você aprendi que não existem problemas e sim desafios a serem vencidos!

À CIDA por ter sido amiga, mãe, madrasta, irmã e orientadora, compartilhando todas as minhas dificuldades e conquistas. O meu eterno agradecimento pelo carinho que sempre demonstrou por mim!

Aos meus amigos da UNICAMP, DÚ, DANI, FABINHO, LÉO, LÚ, VAN e RÔ, que me acompanharam nesta jornada. Desejo a vocês muito sucesso na vida acadêmica!!!

Às irmãs de coração CARLINHA, POLI e LÓ por toda a força e conforto que me deram, mesmo à distância. Vocês são presentes muito valiosos que Deus me deu!

A todas as pessoas que, com as mais simples palavras, gestos e auxílio, me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

"As pessoas e as coisas que nos cercam moldam o trampolim de nossas vidas. O salto é nosso."

Autor desconhecido

Freitas PM. Estudo in vitro do efeito da irradiação com o Laser de Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

RESUMO

O crescente desenvolvimento e aprimoramento das técnicas e materiais odontológicos introduziu a tecnologia *laser* nas diversas especialidades da Odontologia. Ainda que existam poucos estudos na literatura quanto ao emprego do laser de Er,Cr:YSGG para o tratamento preventivo de lesões de cárie, acredita-se que a sua aplicação sobre a estrutura dental seja capaz de promover uma superfície mais resistente a desafios ácidos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da irradiação do esmalte dental humano com o laser de Er,Cr:YSGG, com diferentes densidades de energia, em relação à desmineralização. Quarenta e cinco blocos de esmalte dental de terceiros molares humanos (3 x 3 mm) foram aleatoriamente divididas em 5 grupos (n=9): **G1** - Laser de Er,Cr:YSGG 0,25 W, 20 Hz, 2,84 J/cm², **G2** - Laser de Er,Cr:YSGG 0,50 W, 20 Hz, 5,68 J/cm², **G3** - Laser de Er,Cr:YSGG 0,75 W, 20 Hz, 8,52 J/cm², **G4** - Tratamento com dentifrício fluoretado (controle positivo), **G5** - Sem tratamento (controle negativo). Em seguida, as amostras

foram submetidas a ciclagem de pH por 2 semanas, permanecendo, diariamente, 6 h e 18 h nas soluções desmineralizante e remineralizante, respectivamente. Após o desafio ácido, as amostras foram seccionadas e o teste de Microdureza Knoop (25 g, 30 seg) foi realizado em distancias pré-determinadas em relação a superfície do esmalte (15 μm - 300 μm). OS valores de ANOVA e teste de Student Newman Keuls foram realizados($\alpha=5\%$). Os percentuais de inibição de cárie encontrados foram de: **G1**– 36,64 %, **G2**– 37,98 %. **G3** – 63,83% e **G4** – 50,47 %. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre a porcentagem de volume mineral perdido nos grupos G1 (1391,81 \pm 521,65) e G2 (1291,90 \pm 656,49), porém ambos foram maiores do que o grupo G3 (753,32 \pm 287,07). Nenhum dos grupos submetidos ao tratamento com o laser de Er,Cr:YSGG diferiu estatisticamente do grupo controle positivo (G4). Os resultados deste estudo *in vitro* sugerem que a irradiação com o Laser de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de 8,52 J/cm² pode ser uma alternativa efetiva na obtenção do aumento da resistência ácida do esmalte e que densidades de energia menores podem apresentar um potencial cariostático semelhante ao tratamento com dentifrício fluoretado.

Palavras-Chave: Esmalte, Desmineralização, Laser de Er,Cr:YSGG, Microdureza, Mineral

Freitas PM. In vitro study of the effect of Er,Cr:YSGG Laser irradiation on the inhibition of enamel demineralization [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

ABSTRACT

The continuing development and improvement of the techniques and materials have introduced the *laser* technology in the different specialties of Dentistry. Even though there are still few studies on the use of the Er,Cr:YSGG Laser on caries prevention, one believes that the enamel irradiation with this wavelength can lead to a more acid resistant surface. The aim of the present study was to evaluate the effect of different parameters of the Er,Cr:YSGG Laser irradiation on the enamel mineral loss. Forty five enamel samples obtained from third molars (3 x 3 mm) were randomly divided in 5 groups (n=9): **G1** - Er,Cr:YSGG Laser 0.25 W, 20 Hz, 2.84 J/cm², **G2** - Er,Cr:YSGG Laser 0.50 W, 20 Hz, 5.68 J/cm², **G3** - Er,Cr:YSGG Laser 0.75 W, 20 Hz, 8.52 J/cm², **G4** - Treatment with fluoride toothpaste (positive control), **G5** - No treatment (negative control). After the surface treatment, the samples were submitted to a 2-weeks pH-cycling, consisted of the daily immersion in demineralizing and remineralizing solutions for 6 h e 18 h, respectively. After

the acid challenge, the samples were sectioned and the Knoop microhardness test was performed (25 g, 30 sec) at different depth from the enamel surface (15 μm – 300 μm). ANOVA and Student Newman Keuls tests were performed ($\alpha=5\%$). The percentage of lesion inhibition for each group was: **G1**– 36.64 %, **G2**– 37.98 %. **G3** – 63.83% e **G4** – 50.47 %. Regarding the percentage of mineral loss volume, Groups G1 (1391.81 \pm 521.65) and G2 (1291.90 \pm 656.49) did not differ from each other, but both were higher than group G3 (753.32 \pm 287.07). All the groups irradiated with the Er,Cr:YSGG were similar to the positive control group (G4). The findings of the present study suggest that the Er,Cr:YSGG laser at 8.52 J/cm² can be an alternative for the enhancement of enamel acid resistant and that lower energy densities seem to present a cariostatic potential comparable to the use of fluoride dentifrice.

Keywords: Enamel, Er,Cr:YSGG Laser, Demineralization, Microhardness, Mineral

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 2.1 – Alterações químicas ocorridas no esmalte dental submetido a variações da temperatura superficial35
- Figura 4.1 – Diagrama ilustrativo do delineamento experimental.....52
- Figura 4.2 – Equipamento do laser de Er,Cr:YSGG (EUA) e peça-de-mão utilizada para o procedimento de irradiação das amostras.....55
- Figura 4.3 – Imagem ilustrativa do protocolo utilizado para a avaliação da perda mineral no esmalte dental seccionado.....61
- Figura 5.1 – Representação gráfica da perda mineral média de acordo com os grupos de tratamento. As barras de erro representam o desvio-padrão.....65
- Figura 5.2 – Representação gráfica da média da porcentagem de volume mineral nas amostras dos Grupos 1-5, nas diferentes profundidades.....65
- Figura 5.3 – Imagens ilustrativas das amostras de esmalte dental submetidas aos tratamentos da superfície e ao desafio ácido *in vitro* (aumento 5X).....67
- Figura 5.4 – Imagens ilustrativas dos secções de esmalte dental após a realização do teste de microdureza Knoop. (aumento 10X).....68

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1	Grupos de Tratamento.....	51
Tabela 5.1	Média e desvio padrão da perda mineral (ΔZ) e porcentagem de inibição da progressão de cárie do esmalte dental decíduo após o desafio ácido.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al_3O_4	Óxido de Alumínio
% vol	Porcentagem de volume mineral
μm	micrômetro(s)
μs	microsegundo(s)
cm	centímetro(s)
DES	Desmineralizadora
Er,Cr:YSGG	érbio-cromo:ítrio-escândio-gálio-granada
Er:YAG	érbio:ítrio-alumínio-granada
Er:YSGG	érbio:ítrio-escândio-gálio-granada
Hz	Hertz
J/cm^2	joule(s) por centímetro quadrado
KHN	<i>Knoop hardness number</i>
mL	Mililitro(s)
mm	Milímetro(s)
mm^2	Milímetro(s) quadrado(s)
mmol/L	Milimol(s) por litro
nm	nanômetro(s)

N	Número
pH	Logaritmo negativo da concentração hidrogeniônica ($-\log$ [H ⁺])
ppm	parte(s) por milhão
REM	Remineralizadora
ΔZ	delta Z (parâmetro que corresponde à perda mineral)
TCP	tri-cálcio-fosfato
A-TCP	alfa tri-cálcio-fosfato
B-TCP	beta tri-cálcio-fosfato
OH ⁻	Íon hidroxila

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	grau(s) celsius
Ca	Cálcio
g	grama(s)
h	hora(s)
M	Molar
P	Fósforo
s	segundo(s) (de tempo)
W	watt(s)
α	Alfa
β	Beta

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	24
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1 Aspectos Relacionados ao Esmalte Dental.....	26
2.2 Mecanismos de Ação dos Lasers em Alta Intensidade no Aumento da Resistência Ácida do Esmalte Dental.....	29
2.3 Efeitos do Laser de Er,Cr:YSGG no Esmalte e na Prevenção da Cárie Dental.....	35
3 PROPOSIÇÃO.....	43
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 Material.....	44
4.2 Métodos.....	48
4.2.1 aspectos éticos.....	48
4.2.2 delineamento experimental.....	48
4.2.3 preparo das amostras.....	49
4.2.4 tratamento da superfície do esmalte	51
4.2.4.1 irradiação do esmalte dental com o laser de Er,Cr:YSGG.....	51

<i>4.2.4.2 tratamento com dentifrício fluoretado</i>	55
4.2.5 desafio ácido.....	56
4.2.6 avaliação da resistência à remineralização.....	58
<i>4.2.6.1 teste de microdureza do esmalte dental seccionado.....</i>	58
<i>4.2.6.2 cálculo da perda mineral.....</i>	61
4.2.7 análise estatística.....	62
5 RESULTADOS.....	63
6 DISCUSSÃO.....	81
7 CONCLUSÃO.....	82
REFERÊNCIAS.....	83
APÊNDICES.....	91
ANEXOS.....	102

1 INTRODUÇÃO

A cárie é uma patologia complexa, que envolve fatores relacionados ao hospedeiro, à microbiota e à dieta. As lesões de cárie se desenvolvem a partir da dissolução de componentes minerais da estrutura dental, causada principalmente pela presença de ácidos orgânicos produzidos por bactérias.

Durante muitos anos, a Odontologia atuou de forma extremamente curativa. Porém, cada vez mais se enfatiza a Prevenção e a Promoção de Saúde Bucal. Nos últimos anos, novas técnicas para remoção de tecido cariado e prevenção da doença cárie têm sido desenvolvidas ou aprimoradas e, entre elas, a irradiação dos tecidos duros dentais com *lasers* de alta intensidade tem se destacado.

Desde que Sognaes e Stern (1965) demonstraram que houve o aumento da resistência ácida do esmalte dental irradiado com o *laser* de rubi, muitos trabalhos têm sido realizados na área de prevenção de cárie e têm demonstrado a redução de solubilidade do esmalte dental após a irradiação com *lasers* de alta intensidade.

O *laser* de Er,Cr:YSGG, recentemente introduzido na Odontologia, apresenta comprimento de onda de 2,78 μm e é absorvido, principalmente, pelo radical OH⁻ (hidroxila) presente na estrutura da hidroxiapatita e pela água. Desta forma, ele pode ser absorvido pelo tecido dental mineralizado, causando alterações morfológicas e químicas.

Até o presente momento, poucos estudos foram desenvolvidos e, portanto, ainda existem muitos questionamentos quanto à irradiação do esmalte dental com o *laser* de Er,Cr:YSGG para a prevenção da lesão de cárie. Desta forma, diferentes parâmetros de irradiação precisam ser avaliados para verificar o aumento da resistência ácida do esmalte dental irradiado com esse comprimento de onda.

2 REVISAO DA LITERATURA

Nesta Revisão de Literatura serão abordados os temas abaixo relacionados:

2.1 Aspectos Relacionados ao Esmalte Dental

2.2 Mecanismos de Ação dos *lasers* em Alta Intensidade no Aumento da Resistência Ácida do Esmalte Dental

2.3 Efeitos do *laser* de Er,Cr:YSGG no Esmalte Dental e na Prevenção da Cárie Dental

2.1 Aspectos Relacionados ao Esmalte Dental

A doença cárie é o resultado de um processo dinâmico de desequilíbrio entre os mecanismos de desmineralização e remineralização. De acordo com a Tríade de Keyes, três fatores principais devem ser considerados no desenvolvimento dessa patologia: hospedeiro, microflora bucal e dieta (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995). Por muitos anos, acreditou-se que a cárie

era um processo irreversível, resultando na perda definitiva da estrutura mineral do dente e, eventualmente, na formação de cavidades. Porém, os conceitos atuais da doença estão sedimentados no conhecimento de que a doença, detectável ou não clinicamente, é resultado de uma série de episódios de desmineralização e remineralização, e não apenas de um processo contínuo de perda mineral (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995; FEATHERSTONE, 2000; AOBA, 2004). Quando a desmineralização ocorre de forma predominante ao longo do tempo, o resultado é a perda gradual de mineral da estrutura dental, levando à formação de uma lesão de cárie irreversível.

Muitos estudos têm sido desenvolvidos no âmbito de prevenção de lesões de cárie com o objetivo de prevenir pequenas alterações no conteúdo mineral do esmalte dental. Para tanto, as características do tecido, bem como o mecanismo de dissolução do mesmo devem ser bem conhecidos para que os métodos avaliados sejam efetivos na redução da solubilidade do esmalte.

Imediatamente antes da erupção do dente, o esmalte já atingiu sua composição final, em peso, de 95% de mineral e 5% de material orgânico e água. O mineral do esmalte é a apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$), constituída, em peso, por 37% de cálcio, 52% de fosfato e 3% de hidroxila.

O esmalte dental normal e hígido consiste em cristais de hidroxiapatita firmemente ligados, organizados nos prismas e no esmalte interprismático. Os cristais são densamente reunidos e organizados em bastonetes que se estendem desde a dentina até a superfície do esmalte (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

Cada cristal é separado dos seus vizinhos por pequenos espaços intercristalinos, preenchidos por água e material orgânico. Estes espaços formam uma fina rede de vias de difusão, denominados poros do esmalte e é através desses poros que ocorrem os transportes de íons pela estrutura do esmalte. A camada de água que circunda cada cristal (película de hidratação) está firmemente ligada e não evapora, mesmo quando o esmalte é aquecido a 100°C. Porém, através do aquecimento do esmalte a 600°C por longos períodos, ela pode ser removida (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

Quando o esmalte é exposto a ácidos, os íons de hidrogênio rapidamente dissolvem os minerais do cristal, liberando cálcio e fosfato (FEATHERSTONE; DUNCAN; CUTRESS, 1979; FEATHERSTONE, 2000). Ocorre a redução do tamanho do cristal e ampliação dos espaços intercristalinos. Além disso, durante o processo de dissolução, o carbonato presente na estrutura do esmalte pode ser também liberado, formando bolhas que se

distendem e estas podem destruir a delicada estrutura de proteína (enamelinas) que circunda os cristais (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1995).

As alterações químicas que ocorrem no esmalte durante os processos de remineralização e desmineralização está intimamente relacionada à troca de íons entre estrutura dental e cavidade bucal (FEATHERSTONE; DUNCAN; CUTRESS, 1979). Alguns íons, como o cálcio, fosfato e flúor, podem se ligar à estrutura dental durante o processo de remineralização, tornando a superfície mais resistente à desmineralização (FEATHERSTONE, 2000).

2.2 Mecanismos de Ação dos *Lasers* em Alta Intensidade no Aumento da Resistência Ácida do Esmalte Dental

Além dos métodos que ainda utilizam produtos fluoretados no tratamento preventivo das lesões de cárie (NEGRI; CURY, 2002; CURY et al., 2003), outras técnicas e produtos não contendo flúor têm sido estudadas com o objetivo de prevenir a progressão dessa patologia (CLARKSON; RAFTER, 2001). Um dos tratamentos alternativos que tem sido bastante estudado se

refere à utilização de *lasers* em alta intensidade para aumentar a resistência ácida do esmalte.

Os primeiros estudos no âmbito do uso de *lasers* para o tratamento preventivo da cárie dental datam da década de 60 (STERN; SOGNAES, 1964; SOGNAES; STERN, 1965; STERN; SOGNAES; GOODMAN, 1966). Nesses estudos, o *laser* de rubi (693 nm) foi utilizado e os resultados mostraram que o *laser* é capaz de aumentar a resistência ácida do esmalte a lesões subsuperficiais em esmalte. Porém, a densidade de energia necessária para promover o efeito cariostático demonstrado nesses estudos foi extremamente elevada (10^4 J/cm²). Stern, Vhal e Sognaes (1972) realizaram um estudo com o *laser* de dióxido de carbono e verificaram uma diminuição da solubilidade do esmalte dental. Os autores afirmaram que houve fusão e selamento dos poros do esmalte e das irregularidades da superfície.

Em 1980, porém, um estudo utilizando condições de irradiação semelhantes às descritas por Stern, Vhal e Sognaes (1972), verificou que houve um aumento da permeabilidade do esmalte dental, aumentando a sua solubilidade (BORGGREVEN; van DIJK; DRIESSENS, 1980). Isso levou os autores do trabalho a postularem que alterações na estrutura química, e não física,

do esmalte dental seriam responsáveis por reduzir a progressão da lesão de cárie no tecido irradiado.

A partir de então, um grande número de estudos na área de *lasers* em Odontologia foram desenvolvidos, demonstrando as possíveis interações dos diferentes comprimentos de onda com os tecidos duros mineralizados (FOWLER; KURODA, 1986; FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 1999; COLUZZI, 2000; FEATHERSTONE, 2000; DELBEM et al., 2003). Com base no conhecimento da composição desses tecidos e da interação dos *lasers* com os tecidos biológicos, novos estudos foram realizados considerando o uso de *lasers* altamente absorvidos pela água ou pela estrutura da hidroxiapatita (HIBST; KELLER, 1989; KELLER; HIBST, 1989; FEATHERSTONE; FRIED, 2001; DELBEM et al., 2003).

Sabe-se que o comprimento de onda do *laser* é o um dos principais fatores necessários para se prever a interação e o efeito da luz com o tecido alvo (BACHMANN; ZEZZEL, 2005). No espectro de absorção da luz pelo esmalte dental, as bandas de absorção estão em torno de 3 μm , 7 μm e 9–11 μm . A primeira banda, situada em 3 μm , está diretamente relacionada à presença da água no tecido duro mineralizado; porém, existe um pico em torno de 2,8 μm , correspondente ao íon hidroxila (OH^-) presente no mineral

da hidroxiapatita. As bandas de absorção de 7 μm e 9–11 μm correspondem aos picos de carbonato e fosfato, respectivamente (FRIED et al., 2002).

Existem duas hipóteses quanto ao mecanismo de ação pelo qual os *lasers* de alta intensidade aumentam a resistência ácida do esmalte. Uma delas afirma que as alterações morfológicas (derretimento e resolidificação), causadas pelo aumento de temperatura dos *lasers* de alta intensidade, podem levar à formação de microespaços no esmalte, agindo como sítios de retenção de mineral (TAGOMORI; MORIOKA, 1989; MORIOKA; TAGOMORI; OHO, 1991). Acredita-se que esses microespaços sejam capazes de permitir a entrada e saída de íons através da estrutura do esmalte e da dentina, favorecendo o processo de deposição de minerais na estrutura dental.

As alterações morfológicas descritas em esmalte dental irradiado e com menor solubilidade em meio ácido correspondem aos aspectos de derretimento e resolidificação da superfície (TAGOMORI; MORIOKA, 1989; MORIOKA; TAGOMORI; OHO, 1991; HOSSAIN et al., 2001). Para tanto, uma temperatura superior a 1200°C é necessária (FOWLER; KURODA, 1986; FRIED et al., 1996).

Muitos estudos, porém, apontam para as alterações químicas que ocorrem na estrutura dental quando irradiada com *lasers* de alta intensidade

(FOWLER; KURODA, 1986; FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 1999) e acreditam que elas sejam as principais responsáveis pelo aumento da resistência ácida do esmalte (FRIED et al., 1996; FEATHERSTONE, 2000; DELBEM et al., 2003). Algumas das alterações mencionadas nos trabalhos incluem a redução do conteúdo de carbonato, o aumento da concentração de íons hidroxila, a formação de pirofosfatos e a decomposição de proteínas. Acredita-se que essas alterações são capazes de reduzir a solubilidade do esmalte diante de um desafio ácido.

As alterações químicas no esmalte dental ocorrem gradualmente e estão diretamente relacionadas ao aumento de temperatura (Figura 2-2). Quando a temperatura superficial do esmalte atinge entre 100-650°C, a principal alteração química que ocorre é a redução dos componentes de carbonato (CO_3) presentes na posição do fosfato e os íons ácidos de fosfato condensam para formar pirofosfatos; entre 650-1.100°C a principal mudança é a resolidificação causada pela temperatura e o crescimento do tamanho do cristal de esmalte, e o pirofosfato reage com a apatita para formar PO_4 junto com a formação de β -TCP; em temperatura superiores a 1.100°C o β -TCP é convertido em α -TCP e quando a temperatura atinge 1.430°C este composto se transforma em um polimorfo de alta temperatura. O tri-cálcio-fosfato α e

β (TCP) são potencialmente solúveis em meio ácido (FOWLER; KURODA, 1986; APFELBAUM; MAYER; FEATHERSTONE, 1990; FEATHERSTONE; FRIED; BITTEN, 1996).

Bachmann e Zezell (2005) relataram que a irradiação *laser* é capaz de alterar as características cristalográficas da matriz mineral dos tecidos, tais como os parâmetros da rede cristalina e o tamanho dos cristais. Há ainda a formação de novos compostos cristalinos decorrentes da ação térmica sobre o tecido dental. Os autores concluem que as alterações observadas após a irradiação *laser* estendem-se desde a matriz orgânica e água (termicamente instáveis) até a matriz inorgânica (termicamente mais estável).

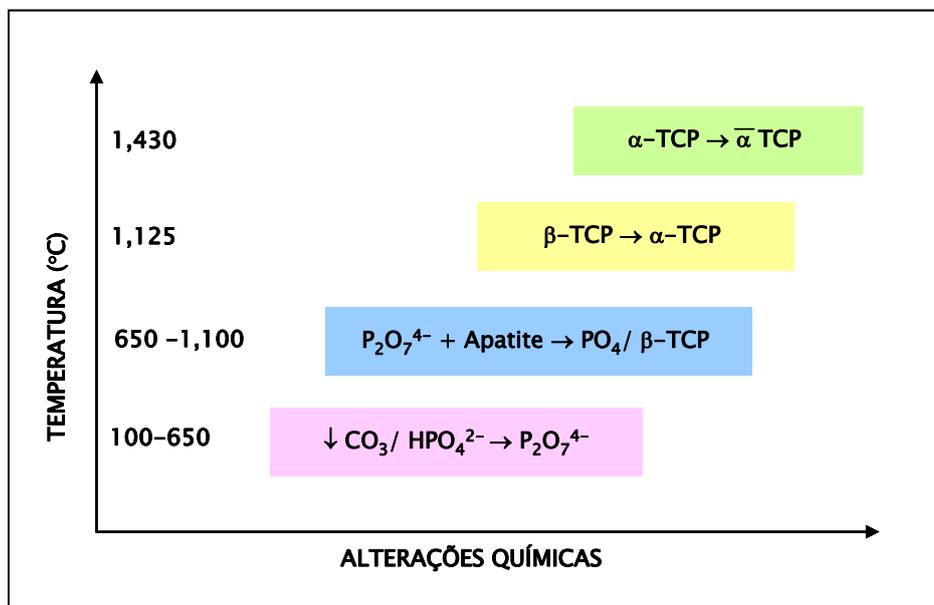


Figura 2.1 – Alterações químicas ocorridas no esmalte dental submetido a variações da temperatura superficial

2.3 Efeitos do *laser* de Er,Cr:YSGG no Esmalte e na Prevenção da Cárie Dental

O *laser* de Er,Cr:YSGG, recentemente introduzido na Odontologia, apresenta comprimento de onda de 2,78 μm e é absorvido, principalmente, pelo radical OH^- (hidroxila) presente na hidroxiapatita (FRIED et al., 1996; HADLEY et al., 2000). Desta forma, ele pode ser absorvido pela hidroxiapatita e água presente nos tecidos duros, causando microexplosões e remoção do tecido alvo (FRIED et al., 1996; HOSSAIN et al., 1999; YU et al., 2000; HOSSAIN et al., 2001; APEL; SCHAFER; GUTKNECHT, 2003). Uma das características diferenciais do *laser* de Er,Cr:YSGG em relação ao *laser* de Er:YAG é a de apresentar um jato de ar/água (com quantidade de liberação ar/água regulável) direcionado para a área de irradiação, permitindo a formação de uma película de água na superfície da área a ser irradiada e promovendo um aumento da ablação do tecido (EVERSOLE; RIZOIU; KIMMEL, 1997).

Fried et al. (1996) avaliaram o potencial dos *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG para o tratamento preventivo da cárie dental. Foram utilizados diferentes parâmetros de irradiação, variando o número de pulsos e intensidade de

energia. Durante a irradiação, a temperatura mínima necessária para iniciar a ablação do esmalte foi mensurada. Os autores reportaram que com a irradiação do esmalte dental com o *laser* de Er:YSGG, com densidade de energia de 18 J/cm², a temperatura na superfície do esmalte atinge 800°C e ocorre a ablação desse tecido mineralizado. Por outro lado, com o *laser* de Er:YAG, a ablação ocorreu com uma temperatura superficial de 300°C, quando utilizadas densidades de energia de 7–9 J/cm². Isso mostra o quanto a mais de energia é necessário para promover a ablação do tecido dental mineralizado com o *laser* de Er:YSGG, devido a sua maior interação pelo íons hidroxila presentes no cristal de hidroxiapatita (HADLEY et al., 2000). Após o desafio ácido, os autores reportaram 60% de inibição de cárie nas amostras irradiadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de 7,8 J/cm², sem refrigeração a água.

Hossain et al. (1999) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar o potencial de ablação do *laser* de Er,Cr:YSGG em esmalte e dentina, bem como o de ilustrar as características morfológicas do tecido irradiado. Foram utilizadas densidades de energia de 67,9 J/cm² e 33,9 J/cm², com e sem refrigeração à água. Os resultados revelaram que, independente do uso ou não da água durante a irradiação, houve ablação do tecido duro

mineralizado. Porém, a profundidade de ablação nas amostras irradiadas com a presença de água foi maior quando comparadas às amostras irradiadas sem refrigeração a água. Por outro lado, a não irrigação durante o tratamento com o *laser* de Er,Cr:YSGG promoveu a formação de áreas de carbonização.

Yu et al. (2000) avaliaram, através de análise química da estrutura dental, as alterações na composição do esmalte dental irradiado com o *laser* de Er,Cr:YSGG. Os resultados revelaram um aumento de íons cálcio na superfície do esmalte. Contudo, os autores não consideraram a ocorrência de alterações químicas na estrutura do esmalte dental, pois a proporção de Ca/P encontrada antes e após a irradiação foi semelhante. Acredita-se que tenha ocorrido uma reorganização dos cristais de hidroxiapatita após a irradiação com o *laser*.

No ano seguinte, foi realizado um estudo (HOSSAIN et al., 2001) avaliando o efeito do *laser* de Er,Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização do esmalte irradiado com densidade de energia de 67,9 J/cm², com ou sem água. As amostras irradiadas foram submetidas ao desafio ácido. Os autores reportaram uma maior perda mineral nas amostras irradiadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG com o jato de água. Além disso, nas

amostras irradiadas as alterações morfológicas decorrentes da irradiação com o *laser* não sofreram modificações significativas após o período de desmineralização; as amostras do grupo controle, por sua vez, apresentaram exposição dos prismas do esmalte após o desafio ácido. Os autores sugerem que os efeitos térmicos no esmalte irradiado são importantes para o tratamento preventivo e que, certamente, a maior perda mineral do grupo controle foi devido às alterações estruturais do esmalte, favorecendo a desmineralização dos cristais de hidroxiapatita.

Apel et al. (2002), utilizaram dentes bovinos para analisar o efeito cariostático do tratamento do esmalte com os *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG, utilizando densidades de energia de 4 J/cm², 6 J/cm² e 8 J/cm². Algumas amostras foram previamente submetidas ao tratamento com solução de fluoreto de sódio a 1%, por 15 minutos. Após a desmineralização por 24 horas em solução de acetato, o conteúdo de cálcio nas soluções foi mensurado através da análise de espectrometria de absorção atômica. Os resultados indicaram uma diminuição da solubilidade do esmalte após a irradiação com os ambos os *lasers* (20% menor do que no grupo controle), porém sem diferenças estatisticamente significativas. Os grupos submetidos ao tratamento com flúor e, em seguida, irradiados, apresentaram perda

mineral semelhante ao grupo controle positivo (exposição ao flúor). Pode-se concluir que o tratamento com os *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG não tiveram efeito adicional no tratamento com flúor. Os autores afirmaram que os parâmetros de irradiação avaliados não apresentam potencial para o aumento da resistência ácida do esmalte. Recentemente, os mesmos autores (APEL; SCHAFER; GUTKNECHT, 2003), relataram não haver aumento na resistência ácida do esmalte da margem da restauração após a realização de preparo cavitário com os *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG.

A partir do conhecimento de que as características físicas e químicas da superfície do esmalte são modificadas com a irradiação *laser* e estas modificações podem propiciar um aumento da resistência à cárie dental, Ana et al. (2004) realizaram um estudo com o objetivo de comparar os efeitos da irradiação do esmalte dental com o *laser* de Er,Cr:YSGG em baixas densidades de energia, com ou sem spray de água, na morfologia superficial do esmalte. Seis dentes bovinos recém-extraídos foram selecionados e divididos em quatro partes. A primeira parte de cada amostra foi utilizada como controle, sendo que as demais partes foram divididas de acordo com as seguintes condições de irradiação: 2,8 J/cm² sem spray de água; 2,8 J/cm² com 30% de água; 5,6 J/cm² sem spray de água; 5,6 J/cm² com 30% sem

água; 5,6 J/cm² com 60% de água; 5,6 J/cm² com 80% de água; 8,5 J/cm² sem spray de água; 8,5 J/cm² com 30% de água e 8,5 J/cm² com 60% de água. Após os tratamentos, as amostras foram preparadas para observação em microscopia eletrônica de varredura e análise química. Os resultados do estudo mostraram ablação em todas as amostras e, em alguns parâmetros de irradiação, pôde ser observada fusão superficial do esmalte. A análise química por EDX demonstrou que não houve um aumento estatisticamente significativo na proporção entre as concentrações de cálcio e fosfato. Pode-se concluir que a irradiação do esmalte dental com o *laser* de Er,Cr:YSGG em baixas fluências produz ablação do tecido e que, sem o spray de água, o tratamento com o *laser* pode produzir algumas áreas de fusão somadas ao aumento da temperatura. Os autores sugerem que baixas densidades de energia podem ser suficientes para alterar a temperatura superficial do esmalte e sugerem que novos estudos no âmbito de prevenção de cárie devem ser realizados com parâmetros de irradiação menores do que os sugeridos na literatura (8 J/cm²).

Apel et al. (2004) verificaram, através da avaliação por microdureza Knoop, as alterações químicas ocorridas no esmalte irradiado com os *lasers* de Er:YAG (8 J/cm²) e Er:YSGG (6 J/cm²). Após 1 semana de desafio ácido *in*

situ, a microdureza superficial do esmalte foi avaliada. Foi reportado que imediatamente após a irradiação do esmalte com parâmetros sub-ablativos (antes dos procedimentos de exposição das amostras ao desafio cariogênico), os valores de microdureza do esmalte irradiado foram menores do que os resultados do grupo controle, indicando uma perda mineral durante o procedimento de irradiação. Após o desafio ácido, as amostras irradiadas apresentaram uma tendência à menor perda mineral em relação às amostras não-irradiadas, porém a diferença de valores de microdureza Knoop para os grupos não foi estatisticamente significativa. Com base nos resultados encontrados, os autores consideraram a necessidade de novos estudos para avaliar o efeito do *laser* de Er,Cr:YSGG no aumento da resistência ácida do esmalte.

Em 2005, um estudo *in situ* foi realizado com a finalidade de avaliar, através da microscopia de luz confocal (Confocal Laser Scanning Microscopy) o efeito de parâmetros de sub-ablação com os *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG na resistência ácida do esmalte. As densidades de energia utilizadas foram 6 J/cm² e 8 J/cm², respectivamente. As amostras foram submetidas a um modelo *in situ* de desafio ácido por 1 semana. Após esse período, as amostras foram avaliadas e foi possível verificar a presença de pequenas

fendas na superfície do esmalte das amostras irradiadas. A maior profundidade de perda mineral encontrada nas amostras submetidas ao tratamento com os *lasers* foi atribuída à presença dessas fendas. Desta forma, os autores sugerem que os benefícios da irradiação com baixas densidades de energia dos *lasers* de Er:YAG e Er:YSGG para o tratamento preventivo de cárie podem não ser obtidos em função de alterações morfológicas na estrutura do esmalte.

Os resultados encontrados na literatura quanto ao efeito cariostático obtido após a irradiação do esmalte dental com o *laser* de Er,Cr:YSGG ainda são controversos. Existem muitos questionamentos quanto aos parâmetros ideais de irradiação do esmalte dental com o *laser* de Er,Cr:YSGG na superfície de esmalte para prevenção da doença cárie, justificando a necessidade de mais estudos que comprovem sua real efetividade.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar a resistência à desmineralização do esmalte dental irradiado com diferentes parâmetros do *laser* de Er,Cr:YSGG.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Foram utilizados, no presente trabalho, os seguintes materiais e equipamentos:

1 – Equipamentos pertencentes ao Laboratório Especial de *Laser* em Odontologia (LELO) do Departamento de Dentística da FOUSP:

- Equipamento Odontológico Kavo: micromotor, contra-ângulo, peça-reta, seringa tríplice e sugador a vácuo;
- *Laser* de Er,Cr:YSGG e óculos de proteção (Waterlase Millenium, Biolase, San Clemente, CA, EUA – Projeto FAPESP CEPID/CEPOF¹, Processo n. 98/14270-8).

¹ Em 2000, a FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo) criou dez Centros de Pesquisa, Inovação e Difusão (CEPIDs), sendo um deles o Centro de Pesquisas em Óptica e Fotônica (CePOF).

2 – Equipamentos pertencentes ao Departamento de Dentística da FOU SP:

- Cortadeira metalográfica Labcut Modelo 1010 (Extec, EUA);
- Disco de corte diamantado (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA);
- Lupa estereoscópica (ZEISS 475200/ 9001, Alemanha);
- Politriz Ecomet 3 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA).

3 – Equipamentos pertencentes ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT):

- Registrador de Temperatura (Yokogawa Electric China Co., Ltd., Shanghai, China).

4 – Equipamentos pertencentes ao Departamento de Materiais Dentários da

FOUSP:

- Microdurômetro (HMV-2000, SHIMADZU Corporation, Kyoto, Japão);
- Medidor de pH
- Agitador Magnético

5 – Materiais utilizados:

- água destilada e deionizada;
- adesivo a base de cianocrilato (Zapit Base, Dental Ventures of America, EUA);
- almotolias de plástico;
- cera utilidade (Polidental Indústria e Comércio Ltda, Brasil);
- cera pegajosa (Kerr Corporation, EUA);
- curetas periodontais (Duflex, Brasil);
- dentifrício fluoretado (Crest®, Procter & Gamble, EUA);
- disco diamantado dupla face;
- discos de feltro e pastas diamantadas de 6 μm , 3 μm e 1 μm (Buehler, EUA);
- escovas tipo Robinson (KG Sorensen, Brasil);
- esmalte cosmético vermelho (Revlon Consumer Products Corporation, EUA);
- fio ortodôntico n. 08 (Morelli, Brasil);

- lixas de oxido de alumínio (3MESPE, Brasil);
- papel absorvente;
- pasta condutora para análise termográfica;
- pedra pomes (SSWhite, Brasil);
- pinça metálica;
- pincel Microbrush (DFL, Brasil);
- recipientes de poliestireno – 50 mL (Falcon Blue Max, EUA);
- resina de poliestireno;
- solução desmineralizadora e remineralizadora;
- tubos de PVC;
- trinta (30) dentes terceiros molares inclusos.
- Vidrarias (béquer, pipetas, balão volumétrico)

4.2 Métodos

4.2.1 aspectos éticos

Este estudo foi conduzido após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FO–Ousp), conforme Parecer nº 182/03, Protocolo 180/03 (Anexo 1).

4.2.2 delineamento experimental

O fator em estudo foi o Tratamento Superficial em 5 níveis, sendo 3 experimentais, um controle positivo (tratamento com dentifrício fluoretado) e um controle negativo (sem irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG e/ou exposição ao dentifrício fluoretado). As unidades experimentais foram compostas por 45 fragmentos de esmalte dental obtidos de terceiros molares humanos inclusos. As amostras foram distribuídas aleatoriamente entre os 5 tratamentos (n = 9). A variável de resposta Desmineralização do Substrato foi avaliada quantitativamente através da Microdureza Knoop.

4.2.3 preparo das amostras

Foram coletados trinta dentes terceiros molares humanos inclusos, extraídos por razões não relacionadas a esta pesquisa (Figura 4.1A).

Os dentes foram armazenados em solução de formol a 2%, pH 7,0 a temperatura ambiente (CURY et al., 2000; DELBEM; CURY, 2002), até o início da fase experimental (2 semanas). Foi realizada a limpeza dos dentes com curetas periodontais e, em seguida, a profilaxia com pedra pomes/água e taça de borracha, em baixa rotação (Kavo, Joinville, SC, Brasil). As coroas dentais foram separadas dos remanescentes radiculares utilizando-se um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), sob refrigeração à água. Após a limpeza e seccionamento dos dentes, as amostras foram colocadas em ultra-som com água destilada e deionizada por 10 minutos com a finalidade de remover pequenos debris da superfície dental.

As coroas dentais foram fixadas com cera pegajosa em placas de resina acrílica de aproximadamente 8 x 4 cm (Figura 4.1B) e foram novamente seccionadas, em cortadeira metalográfica (Labcut, Modelo 1010, Extec, USA), para a obtenção de blocos de esmalte de aproximadamente 4 x 4 mm (Figura

4.1C). Os blocos foram obtidos das superfícies lisas dos dentes (vestibular e lingual) (Figura 4.1D).

Em seguida, as amostras foram aleatoriamente divididas entre os 5 grupos de tratamento, como descrito na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Grupos de Tratamento

Grupo	Potência (W)	Densidade de Energia (J/cm ²)	Taxa de Repetição(Hz)
G1* (n=9)	0,25	2,84	20
G2* (n=9)	0,50	5,68	20
G3* (n=9)	0,75	8,52	20
G4 (n=9)	Flúor (Controle Positivo)		
G5 (n=9)	Sem tratamento (Controle Negativo)		

*Todas as amostras foram irradiadas com porcentagem de água e ar de 0% e 20%, respectivamente

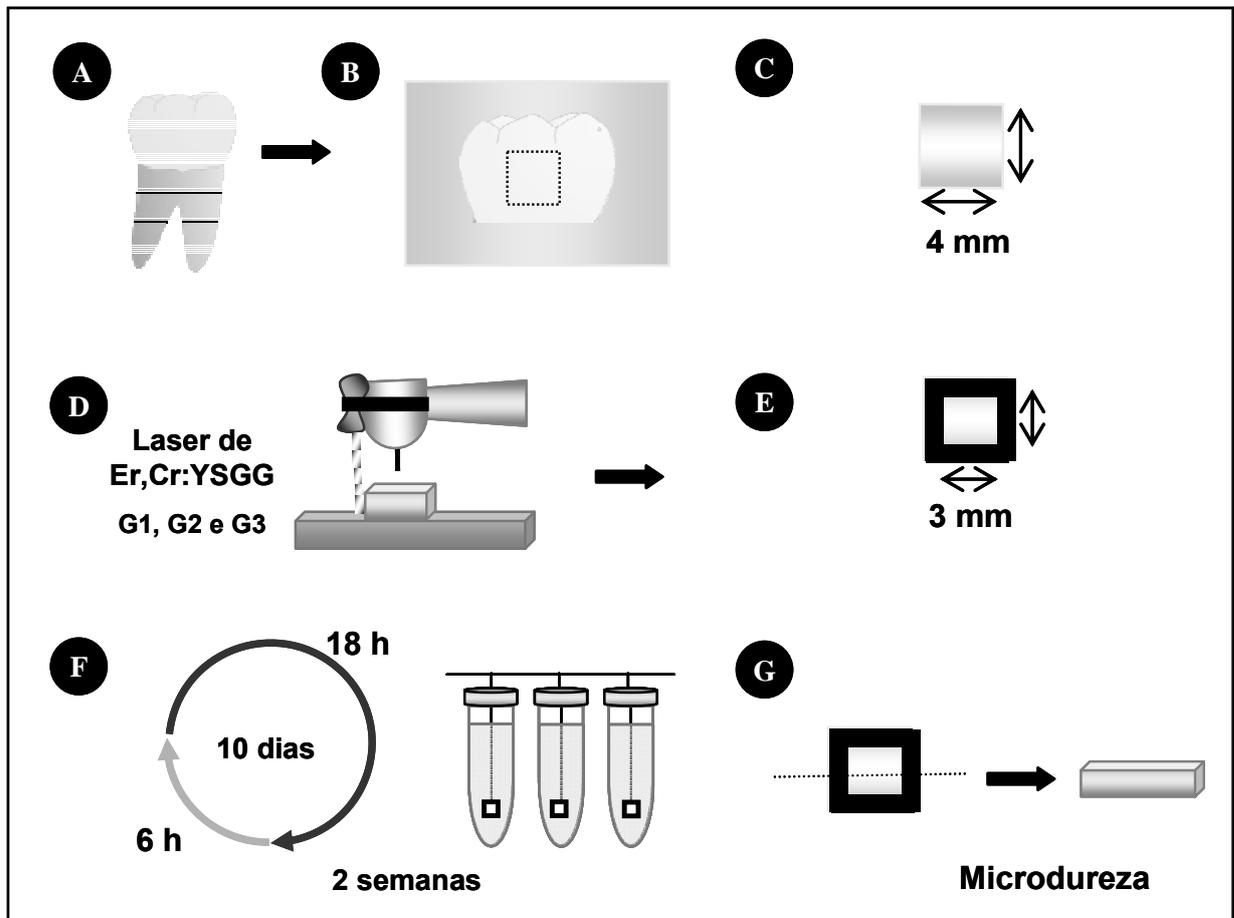


Figura 4.1 – Diagrama ilustrativo do delineamento experimental

4.2.4 tratamento da superfície do esmalte

4.2.4.1 irradiação do esmalte dental com o laser de Er,Cr:YSGG

Neste estudo foi utilizado o *laser* em alta intensidade, pulsado, de Er,Cr:YSGG (Waterlase Millenium, Biolase, San Clemente, CA, EUA), infravermelho, com comprimento de onda de 2,78 μm . A largura de pulso do

equipamento varia de 140 a 200 μs , de acordo com os parâmetros selecionados para a irradiação. Esse equipamento pertence ao Laboratório Especial de *Laser* em Odontologia (LELO-FOUSP), do Departamento de Dentística, e foi adquirido com recursos financeiros concedidos pela FAPESP (Projeto CEPID/CEPOF, Processo n. 98/14270-8).

Com o objetivo de certificar que a variação de temperatura na parte interna da amostra (região da polpa), durante a irradiação da superfície do esmalte com o *laser* de Er,Cr:YSGG com os parâmetros selecionados neste estudo, não estaria acima dos limites considerados seguros para a manutenção da vitalidade pulpar (ZACH; COHEN, 1965), foi realizada uma análise termográfica nos testes preliminares. A análise foi realizada no Instituto de Pesquisa Tecnológicas (IPT), com o registrador de temperatura MV100 (Yokogawa Electric China Co., Ltd., Shanghai, China). A amostra foi fixada em um aparato de resina acrílica com dimensões semelhantes (aproximadamente 5 x 5 mm) e dois canais de termopares foram posicionados na parte interna da amostra, em contato com a superfície interna da amostra. Uma pasta condutora também foi utilizada com a finalidade de aumentar a qualidade de mensuração da variação de temperatura. Os resultados da avaliação não revelaram variações de

temperatura superiores a 0,1°C (Apêndice A), estando dentro dos limites seguros de irradiação sem injúrias ao tecido pulpar (ZACH; COHEN, 1965).

A irradiação das amostras foi realizada com a taxa de repetição fixa de 20 Hz, 0% água e 20% ar. As potências utilizadas para a irradiação das amostras dos grupos G1, G2 e G3, foram 0,25, 0,50 e 0,75 W, respectivamente. Foi utilizada a peça-de-mão para preparo cavitário, com a ponta de safira S75 (750 µm). A irradiação foi realizada com a ponta ativa do *laser* de maneira perpendicular à superfície do esmalte e a 1 mm de distância da superfície (modo focado), percorrendo toda a área do esmalte dental superficial. Com a finalidade de manter constante a distância entre a ponta de safira e a superfície do esmalte, uma lima endodôntica foi fixada à peça-de-mão e utilizada durante todo o procedimento de irradiação das amostras (Figura 4-1D). As densidades de energia, nessas condições de irradiação, foram de 2,84 J/cm² (G1), 5,68 J/cm² (G2) e 8,52 J/cm² (G3). A irradiação foi realizada por 30 segundos (15 segundos na vertical e 15 segundos na horizontal), percorrendo toda a área da superfície do esmalte com o objetivo de promover o tratamento homogêneo de toda a sua superfície.

Após o tratamento das amostras, foi realizada a delimitação da área de esmalte que seria exposta às soluções desmineralizante e remineralizante

durante o desafio cariogênico. Margens de 1 mm de espessura na superfície das amostras foram delimitadas com esmalte cosmético vermelho, expondo uma área de 3 x 3 mm de esmalte dental. Todo o restante do bloco de esmalte, exceto a área de 9 mm², foi coberta com uma fina camada de esmalte cosmético vermelho, evitando o contato com as soluções de ciclagem de pH.



Figura 4.2 – A. Equipamento do *laser* de Er,Cr:YSGG (EUA) e peça-de-mão utilizada para o procedimento de irradiação das amostras

4.2.4.2 tratamento com dentifrício fluoretado

As amostras do grupo **G4** (controle positivo) foram submetidas ao tratamento com dentifrício fluoretado (1100 ppm flúor) durante o período de ciclagem de pH (10 dias). Previamente à imersão das amostras em solução desmineralizante, as amostras foram imersas, por 1 minuto (sob agitação), em solução de dentifrício (*slurry*) em concentração de 1:3 (dentifrício fluoretado/água destilada e deionizada). O *slurry* foi composto, em peso, por 5 g de dentifrício e 15 g de água destilada e deionizada. Estes foram medidos em balança analítica de precisão, adicionando-se primeiramente a água destilada e deionizada a um tubo de poliestireno de 50 mL e, em seguida, o dentifrício. A solução foi homogeneizada em agitador e utilizada imediatamente após o seu preparo. Após o tratamento com flúor, as amostras foram lavadas com água destilada e deionizada e, então, imersas nas respectivas soluções remineralizantes.

4.2.5 desafio ácido

Após os diferentes tratamentos, as amostras foram submetidas ao desafio ácido, através de um modelo *in vitro* de ciclagens de pH (Figura 4.1F).

Cada amostra foi fixada, com cera pegajosa, à ponta de um fio ortodôntico (n. 08), preso à tampa do recipiente de poliestireno (Falcon Blue Max, EUA), de forma que ficassem suspensas nas soluções desmineralizante e remineralizante durante a ciclagem de pH.

As amostras foram armazenadas em recipientes individuais (tubos de poliestireno de 50 mL), no qual foram adicionadas as soluções desmineralizante (DES) ou remineralizante (REM). Para a realização da ciclagem de pH foi utilizado o modelo proposto por Featherstone *et al.* (1986). Cada amostra permaneceu imersa individualmente, durante 6 h, em 40 mL de solução desmineralizadora, contendo 2 mmol/L de cálcio, 2 mmol/L de fosfato e 75 mmol/L de acetato em pH 4,6. Após 6 horas, as amostras foram removidas desta solução, lavadas com água destilada e deionizada por 10 segundos e levemente secas com papel absorvente. Após

¹ Líquido espesso obtido pela mistura de água com um composto viscoso (Oxford Advanced

o tratamento das amostras do grupo **G4** (controle positivo) com dentifrício fluoretado, todas as amostras (grupos G1–G5), foram imersas individualmente, durante 18 h, em 20 mL de solução remineralizadora (pH 7,0), contendo 1,5 mmol/L de cálcio, 0,9 mmol/L de fosfato, 150 mmol/L de cloreto de potássio e 20 mmol/L de tampão cacodilato. A composição química desta solução aproxima-se do grau de saturação dos minerais da apatita encontrados na saliva, sendo semelhante à usada por ten Cate e Duijsters (1982).

O procedimento de ciclagem iniciou-se com a solução desmineralizadora e foi repetido durante 10 dias, conforme protocolo descrito por Featherstone *et al.* (1986). De acordo com o protocolo, as amostras foram submetidas a dois ciclos de 5 dias de imersão nas soluções desmineralizante e remineralizante, seguidos de 2 dias de imersão em solução remineralizante (dias correspondentes aos finais-de-semana), totalizando 14 dias. Durante todo o processo, os espécimes permaneceram em estufa ajustada a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$. As soluções remineralizadora e desmineralizadora foram trocadas após 1 semana de ciclagem. Para tanto, novos tubos de poliestireno de 50 mL foram utilizados.

4.2.6 avaliação da resistência à desmineralização

4.2.6.1 teste de microdureza do esmalte dental seccionado

Com o objetivo de verificar os efeitos dos diversos tratamentos na inibição da progressão da lesão de cárie, todas as amostras foram submetidas à análise de microdureza do esmalte seccionado longitudinalmente.

Após o período do desafio ácido (2 semanas), as amostras foram seccionadas em cortadeira metalográfica, utilizando-se um disco diamantado. Para isso, cada bloco de esmalte foi fixado a uma placa de resina acrílica com o auxílio de um adesivo a base de cianocrilato (Zapit Base, Dental Ventures of America, EUA). Após o seccionamento das amostras, uma das metades foi selecionada e embutida em resina de poliestireno, deixando a parte interna (seccionada) da amostra exposta. Após a completa polimerização da resina (24 horas), as amostras foram polidas com lixas de Al_3O_4 de granulação decrescente #600 e #1000, pelo total de 1 e 5 minutos, respectivamente. Discos de feltro com pastas de diamante de 6 μm (2 minutos) e 3 μm (4 minutos) também foram utilizados após o polimento com

as lixas de Al_3O_4 . A cada 30 segundos de polimento e entre as trocas das lixas e feltros, as amostras foram avaliadas em microscópio óptico para verificar a lisura superficial. Entre as trocas, as amostras foram submetidas à banho em ultrassom por 2 minutos com a finalidade de remover os debris do procedimento anterior.

A avaliação da resistência à desmineralização foi realizada através do teste de Microdureza Knoop (HVM-2000, Shimadzu, Japão). Foram realizadas 2 colunas com 18 leituras em cada fragmento (36 leituras/amostra), a partir de 15 μm da superfície do esmalte, seguindo até a profundidade de 50 μm , com intervalos de 5 μm entre as mensurações, e de 75-300 μm , com intervalos de 25 μm entre elas, conforme ilustra a Figura 4.3. Foi aplicada uma carga estática de 25 g por 30 segundos.

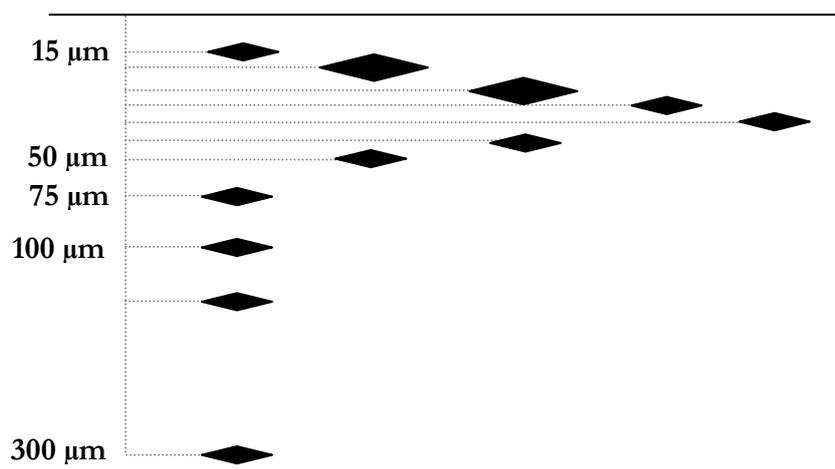
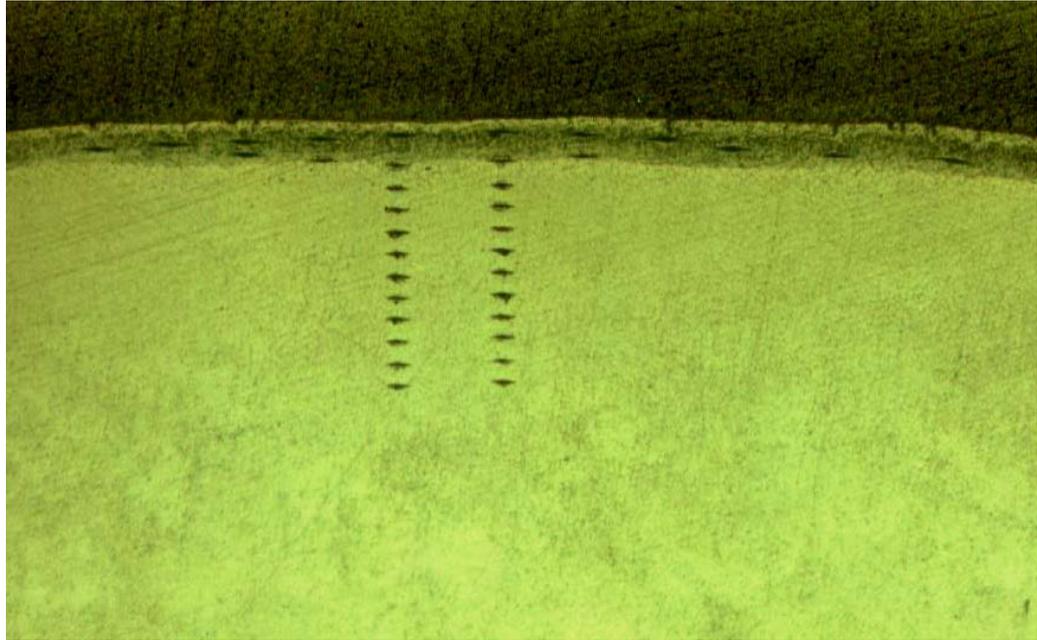


Figura 4.3 – Imagem ilustrativa do protocolo utilizado para a avaliação da perda mineral no esmalte dental seccionado

4.2.6.2 cálculo da perda mineral

Para o cálculo da perda mineral, as médias dos valores de Microdureza Knoop, obtidos em cada profundidade, foram transformados em porcentagem de volume mineral (% vol) pela fórmula proposta por Featherstone et al. (1983), onde KHN (*Knoop Hardness Number*) representa a dureza Knoop média em cada profundidade avaliada:

$$\% \text{ vol} = 4,3 \times (\text{KHN})^{1/2} + 11,3$$

A porcentagem de inibição da progressão de cárie foi calculada para os grupos experimentais, utilizando-se a média ΔZ , por meio da fórmula:

$$\% \text{ de Inibição} = \frac{(\Delta Z \text{ Controle} - \Delta Z \text{ Tratamento}) \times 100}{(\Delta Z \text{ Controle} - \Delta Z \text{ Tratamento})}$$

4.2.7 análise estatística

A variável de resposta analisada foi a Desmineralização do Substrato, representada pelo parâmetro ΔZ , tendo os tratamentos do esmalte como fontes de variação. Para a análise dos dados foi utilizado o Programa SPSS 12.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) .

- Foram verificadas as pressuposições necessárias para a Análise de Variância. Os dados referentes à variável Desmineralização do Substrato (ΔZ), apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância.
- Comparações múltiplas entre médias, por meio do Teste SNK (Student Newman Keuls), ao nível de significância de 5%, foram realizadas.

5 RESULTADOS

Os valores de ΔZ (% vol x μm) para cada tratamento, bem como a porcentagem de inibição da progressão de cárie para os grupos de tratamento, estão descritos na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Média e desvio padrão da perda mineral (ΔZ) e porcentagem de inibição da progressão de cárie do esmalte dental após o desafio ácido

Grupo (n=10)	ΔZ (% vol x μm)	Inibição da Progressão de Cárie (%)
G1 - <i>laser</i> 2,84 J/cm ²	1319,81±521,65 b	36,64
G2 - <i>laser</i> 5,68 J/cm ²	1291,90±656,49 b	37,98
G3 - <i>laser</i> 8,52 J/cm ²	753,32±287,07 a	63,83
G4 - Controle Positivo	1031,58±350,45 ab	50,47
G5 - Controle Negativo	2082,89±549,63 c	

Médias seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo Teste de SNK ($p < 0,05$)

A Figura 5.1 ilustra a perda mineral média dos grupos G1-G5.

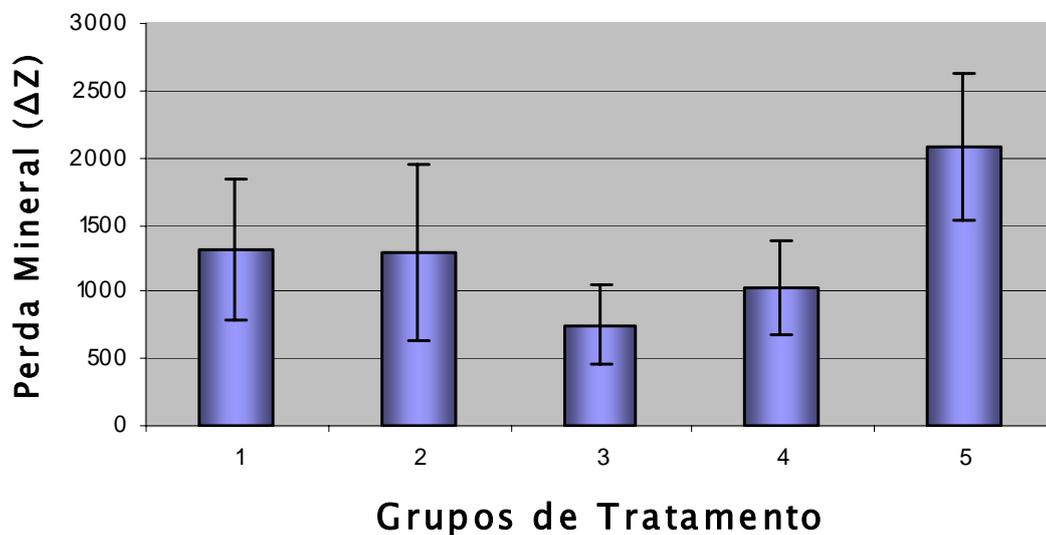


Figura 5.1 – Representação gráfica da perda mineral média de acordo com os grupos de tratamento. As barras de erro representam o desvio-padrão

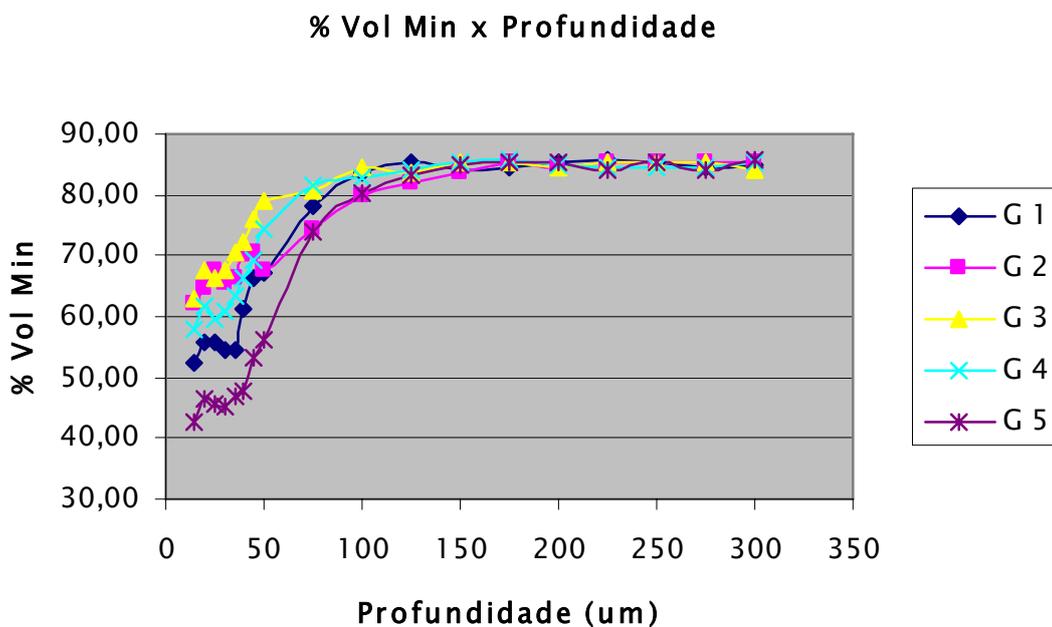
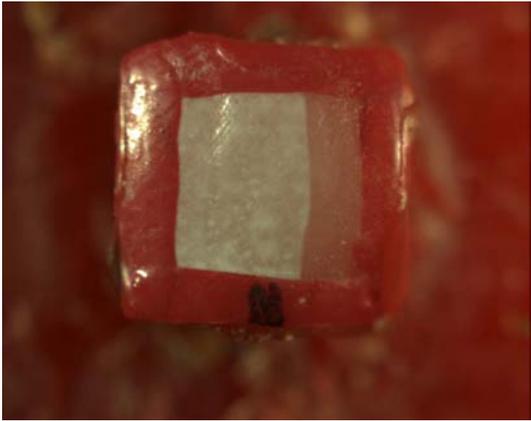


Figura 5.2 – Representação gráfica da média da porcentagem de volume mineral nas amostras dos Grupos 1-5, nas diferentes profundidades

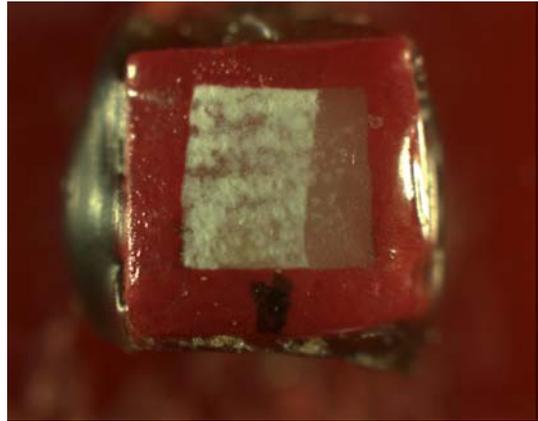
Neste trabalho, observou-se a inibição da progressão da lesão de cárie de 36,64% a 63,83%. A análise da Tabela 5.1 também mostra que a perda mineral (ΔZ) do esmalte submetido ao tratamento com *laser* de Er,Cr:YSGG com densidades de energia de 2,84 J/cm² e 5,68 J/cm² foram estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$) e menores ($p < 0,05$) do que o grupo de amostras irradiadas com densidade de energia de 8,52 J/cm² (G3). Porém, não diferiram estatisticamente do grupo G4, no qual as amostras foram submetidas ao tratamento com dentifrício fluoretado. Os grupos G3 e G4, por sua vez, apresentaram semelhanças estatísticas ($p = 0,093$).

Adicionalmente, pode-se verificar que maior porcentagem de inibição da progressão de cárie foi obtida nas amostras irradiadas com a maior densidade de energia, não havendo diferenças significativas quando comparadas às amostras do grupo controle positivo (dentifrício fluoretado).

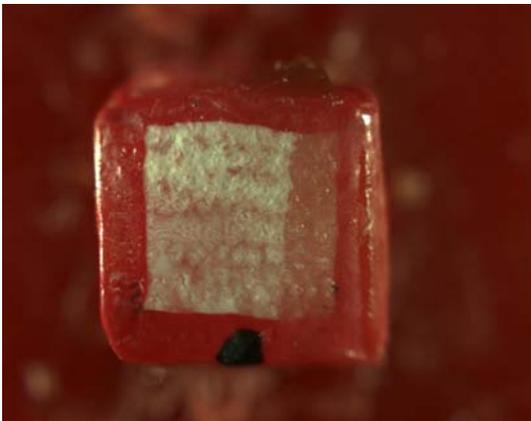
Na Figura 5.2 é possível verificar as alterações de volume mineral nas amostras dos grupos controles e experimentais, ocorrendo principalmente entre as profundidades de 15 μm a 100 μm .



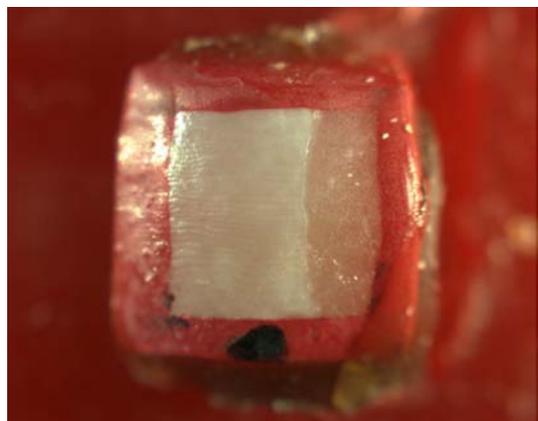
Grupo 1



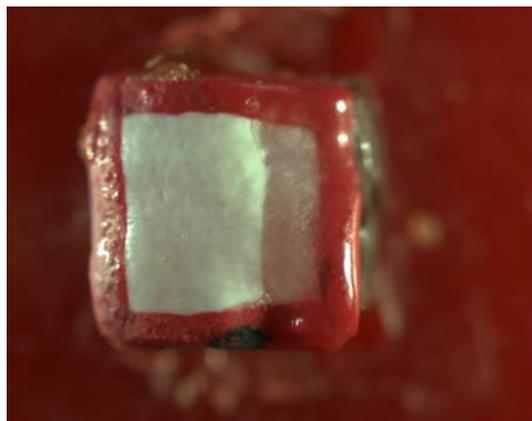
Grupo 2



Grupo 3



Grupo 4



Grupo 5

Figura 5.3 - Imagens ilustrativas das amostras de esmalte dental submetidas aos tratamentos da superfície e ao desafio ácido *in vitro* (aumento 5X)

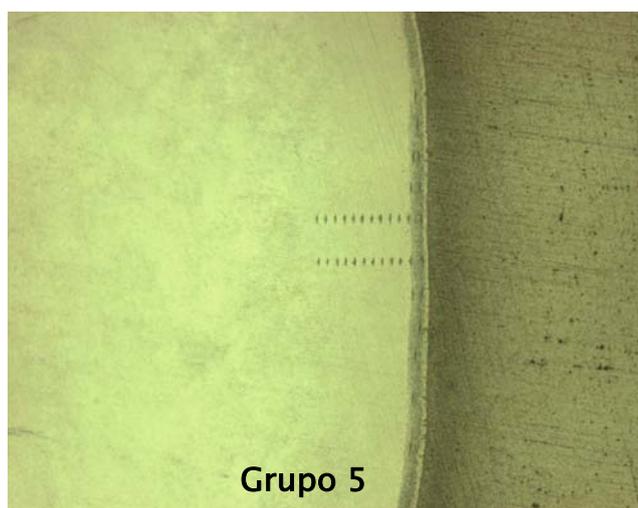
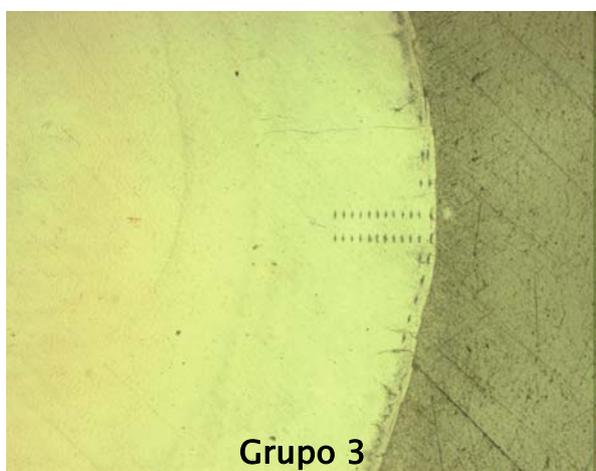
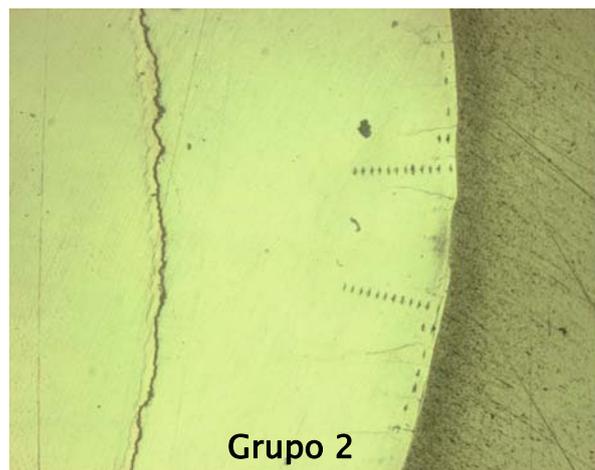
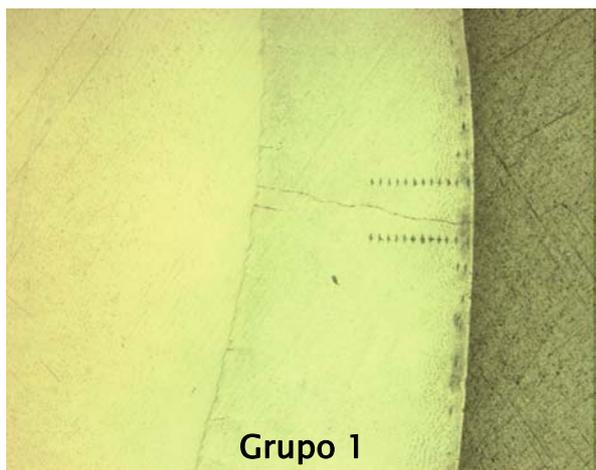


Figura 5.4 – Imagens ilustrativas dos secções de esmalte dental após a realização do teste de microdureza Knoop (aumento 10X)

6 DISCUSSÃO

Ainda que o uso de produtos fluoretados seja considerado um importante fator no que diz respeito a redução do índice de cárie, tanto em países desenvolvidos como em subdesenvolvidos (NARVAI; FRAZÃO; CASTELLANOS, 1999; CLARKSON; RAFTER, 2001), ainda consiste em um fator de risco para o desenvolvimento da fluorose dental (MASCARENHAS, 2000). Desta forma, novas técnicas e produtos contendo baixa concentração de flúor ou não contendo flúor têm sido estudadas com o objetivo de prevenir a progressão das lesões de cárie (CLARKSON; RAFTER, 2001). Um dos tratamentos alternativos que tem sido bastante discutido na literatura corresponde à utilização de lasers em alta intensidade, como os de érbio, para aumentar a resistência ácida do esmalte dental.

O comprimento de onda do *laser* de Er,Cr:YSGG (2,78 μm) coincide com o pico máximo de absorção do íon hidroxila presente na hidroxiapatita (FRIED et al., 1996; HADLEY et al., 2000). Além disso, ele pode ser altamente absorvido pela água, sendo capaz de promover a ablação do tecido duro mineralizado (HOSSAIN et al., 1999; YU et al., 2000).

Com o objetivo de utilizar o *laser* de Er,Cr:YSGG para o tratamento preventivo de lesões de cárie em esmalte, parâmetros de irradiação abaixo do limiar de ablação têm sido sugeridos (FRIED et al., 1996; FEATHERSTONE; FRIED, 2001; APEL et al., 2004; APEL et al., 2005). Fried et al. (1996) demonstraram que densidades de energia de aproximadamente 8 J/cm² seriam necessárias para promover aumento de temperatura suficiente para transformar a estrutura química do esmalte em uma estrutura menos solúvel em meio ácido. Parâmetros de irradiação mais elevados poderiam levar à ablação do tecido irradiado, podendo favorecer a perda mineral da estrutura dental (HOSSAIN et al., 2001); por outro lado, densidades de energia menores não seriam capazes de aumentar a temperatura do esmalte entre 300°C–450°C, ideal para a formação de compostos mais ácido resistentes (FOWLER; KURODA, 1986; FRIED et al., 1996; FEATHERSTONE; FRIED; BITTEN, 1996; DELBEM et al., 2003). Porém, Ana et al. (2004) demonstraram que a irradiação do esmalte dental com baixas densidades de energia, com o mesmo comprimento de onda, pode promover a formação de áreas de derretimento, sugerindo o aumento de temperatura ainda que com parâmetros de irradiação mais baixos. Considerando as controvérsias existentes na literatura, o presente estudo propôs avaliar o efeito da

irradiação do esmalte com diferentes densidades de energia com a finalidade de verificar *in vitro* o potencial cariostático desse tratamento.

Os resultados deste estudo *in vitro* revelaram, entre os grupos irradiados, uma diferença estatisticamente significativa entre as amostras irradiadas com as densidades de energia de 2,84 J/cm² e 5,68 J/cm², quando comparadas às amostras do Grupo 3 (densidades de energia 8,52 J/cm²). A irradiação do esmalte dental com uma densidade de energia de aproximadamente 8 J/cm² promoveu um aumento da resistência ácida semelhante ao efeito cariostático encontrado com a utilização de dentifrício fluoretado, inibindo a progressão da lesão de cárie em 63,83%. Estes resultados corroboram com os reportados por Fried et al. (1996) e Featherstone e Fried (2001), podendo ser justificado pelo aumento de temperatura promovido na superfície do esmalte dental, levando a alterações químicas necessárias para promover a redução da solubilidade do tecido.

Apesar das diferenças estatisticamente significativas entre os grupos G1/G2 quando comparados ao grupo G3, foi possível verificar que todos os grupos submetidos à irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG não diferiram do grupo em que as amostras foram expostas ao tratamento com dentifrício fluoretado (G4). Ainda que Fried et al. (1996) tenham reportado a

necessidade de densidades de energia de 8 J/cm², pois menores parâmetros de irradiação parecem não ser suficientes para aumentar a temperatura superficial e promover as alterações químicas necessárias para a redução da solubilidade do esmalte, os resultados encontrados no presente trabalho sugerem que densidades de energia de 2,84 J/cm² e 5,68 J/cm² podem ser uma alternativa para o tratamento preventivo de lesões de cárie. Ana et al. (2004) avaliaram as alterações morfológicas no esmalte dental promovidas pela irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG, utilizando as mesmas densidades de energia avaliadas neste estudo, e verificaram que mesmo nas amostras irradiadas com as densidades de energia menores houve alteração morfológica correspondente à um aumento de temperatura, sugerindo a possibilidade de utilizá-las no tratamento preventivo de lesões de cárie em esmalte dental. Portanto, nos grupos G1 e G2, a irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG possivelmente promoveu alterações químicas da estrutura do esmalte suficientes para inibir o processo de desmineralização, porém em menor grau quando comparadas às modificações resultantes da irradiação com densidade de energia de 8,52 J/cm².

O aumento da resistência ácida do esmalte com o *laser* de Er,Cr:YSGG é resultante de um efeito fototérmico e não, fotomecânico, como acontece no

processo de ablação. De acordo com os conceitos propostos por Fowler e Kuroda (1986), a temperatura necessária para a ocorrência de efeito fototérmicos, com conseqüente aumento da resistência ácida do esmalte dental seria de aproximadamente 100–650°C.

Considerando a necessidade de aumento de temperatura para que ocorram alterações químicas e/ou morfológicas importantes para o tratamento preventivo das lesões de cárie (FOWLER; KURODA, 1986; FRIED et al., 1996; FEATHERSTONE; FRIED, 2001; DELBEM et al., 2003; BACHMANN; ZEZZEL, 2005), questiona-se a possibilidade de aumento de temperatura e injúria ao tecido pulpar durante os procedimentos de irradiação do tecido. Eversole, Rizoju e Kimmel (1997) avaliaram o efeito do tratamento com o *laser* de Er,Cr:YSGG no tecido pulpar subjacente ao local de irradiação e verificaram que não há injúrias à polpa, podendo ser utilizado com segurança e efetividade. No presente estudo, porém, não foi utilizada a refrigeração à água durante os procedimentos de irradiação do esmalte dental (Ana et al., 2004). Ainda que ocorra um controle do aumento de temperatura, o fluxo de água diretamente no tecido alvo poder levar a uma modificação da estrutura dental, favorecendo a perda de mineral diante de um desafio ácido (Hossain et al., 2001). Durante o tratamento preventivo com o *laser* de Er,Cr:YSGG

sugere-se, portanto, a diminuição ou ausência do fluxo de água para que a remoção de tecido mineral seja menor.

Desta forma, previamente à utilização dos parâmetros sugeridos para avaliação, foram realizados testes preliminares, no qual verificou-se a variação de temperatura na parte interna da amostra. Os resultados revelaram que os parâmetros escolhidos poderiam ser utilizados com segurança, visto que o aumento de temperatura na região correspondente ao tecido pulpar estava dentro dos limites seguros de irradiação da estrutura dental, como proposto por Zach e Cohen (1965). Além de terem sido utilizadas densidades de energia baixas, o *laser* de Er,Cr:YSGG é emitido no modo pulsado e, portanto, existe o período de relaxamento térmico e, conseqüentemente, ocorre uma menor probabilidade de injúria pulpar.

Ainda que a densidade de energia de 8,52 J/cm² tenha revelado o melhor percentual de inibição de progressão da lesão de cárie (63,83%), através das imagens realizadas em microscópio óptico (Figura 5.2) é possível verificar que quanto maior a densidade de energia utilizada, maiores as alterações na morfologia superficial do esmalte dental, após o desafio ácido. De acordo com Hossain et al. (2001), as alterações morfológicas decorrentes da irradiação do esmalte dental com o *laser* parecem não sofrer modificações

significativas após o desafio ácido. Isso sugere que as alterações na morfologia superficial do esmalte demonstradas no presente estudo, após a ciclagem de pH, correspondem às modificações principalmente causadas pela irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG.

Poucos estudos realizados até a presente data (APEL et al., 2002; APEL; SCHAFER; GUTKNECHT, 2003; ANA et al., 2004; APEL et al., 2005) reportaram as alterações morfológicas decorrentes da utilização de parâmetros para o tratamento preventivo da cárie dental. Dessa forma, questiona-se se esses parâmetros, capazes de aumentar a resistência ácida do esmalte, podem também favorecer a adesão de placa bacteriana pelo aumento da rugosidade superficial (GURGAN; BOLAY; ALAÇAM, 1997) e, conseqüentemente, aumentar a desmineralização do esmalte, devido à produção de ácidos pelas bactérias (FEATHERSTONE, 2000).

As amostras irradiadas com densidades de energia de 5,68 J/cm² também apresentaram, em avaliação com microscópio óptico, pequenas alterações de superfície, porém em menor grau quando comparadas às mencionadas anteriormente. Ainda que o efeito cariostático das amostras submetidas ao tratamento com o *laser* de Er,Cr:YSGG com densidades de energia de 2,84 J/cm² e 5,68 J/cm² tenham apresentado um menor potencial

de inibição da progressão da desmineralização do esmalte (36,64% e 37,98%, respectivamente), as modificações na morfologia superficial foram menos significativas quando comparadas às amostras do grupo G3 e, além disso, apresentaram uma perda mineral semelhante ao grupo de amostras submetidas ao tratamento com dentifrício fluoretado (G4).

Ainda que estudos *in vitro* tenham demonstrado a diminuição da solubilidade de esmalte irradiado com o *laser* de Er,Cr:YSGG com parâmetros abaixo do limiar de ablação (FRIED et al., 1996; FEATHERSTONE; FRIED, 2001), outros autores reportaram, através de modelos *in situ*, que estes parâmetros não são capazes de prevenir a desmineralização do esmalte dental (APEL *et al.*, 2004; APEL *et al.*, 2005).

Os resultados encontrados por Apel et al. (2004,2005), em estudo *in situ*, podem estar relacionados à formação de placa bacteriana e progressão do processo de desmineralização não apenas pela presença de microfendas na superfície do esmalte dental, mas também pela rugosidade da superfície do esmalte, favorecendo a adesão de bactérias e posterior perda mineral.

Ainda que Apel et al. (2005) tenham justificado a formação de lesões profundas em esmalte devido à presença de microtrincas decorrentes do tratamento com os *lasers* de Er:YAG e Er,Cr:YSGG com densidades de energia

de 8 J/cm², no nosso estudo, as imagens realizadas em microscópio óptico sugerem que as fendas podem não estar relacionadas à desmineralização. Todos os grupos de tratamento revelaram pequenas trincas na superfície do esmalte, possivelmente causadas após o preparo das amostras para a avaliação do teste de microdureza Knoop. Não foi considerada a possibilidade do tratamento com *laser* ter provocado pequenas fendas no esmalte, visto que as lesões formadas não estavam em continuidade com as fendas existentes na superfície do esmalte, bem como estavam presentes também nas amostras não irradiadas (controle positivo e controle negativo).

Um aspecto importante a ser descrito diz respeito a pequenas áreas de ablação presente na superfície das amostras irradiadas. Nos grupo G1-G3 (amostras irradiadas), durante a avaliação da microdureza Knoop, pode-se verificar a presença de pequenas áreas de remoção da superfície do esmalte. Nessas regiões, a desmineralização ocorreu de forma mais acentuada e pode ser justificada pela provável exposição dos prismas de esmalte, favorecendo o perda mineral (HOSSAIN et al., 2001). Considerando o protocolo de avaliação da microdureza Knoop, no qual as endentações são realizadas ao longo da superfície do esmalte, essas áreas foram avaliadas e consideradas

como um padrão de alteração do conteúdo mineral presente nas amostras irradiadas.

De acordo com o estudo realizado por Fried et al. (1996), a presença de pequenas áreas de ablação com densidades de energia até 8 J/cm² não deveriam ocorrer, visto que a remoção do esmalte com o *laser* de Er,Cr:YSGG se inicia acima desse parâmetro. Porém, o protocolo de irradiação utilizado no presente estudo foi o de varredura da superfície do esmalte nos sentidos horizontal e vertical (15 segundos em cada direção). A irradiação foi feita a mão, seguindo metodologias reportadas na literatura (HOSSAIN et al., 2001; APEL et al., 2005). Desta forma, em algumas áreas do esmalte dental as irradiações podem ser sobrepostas, levando a um maior efeito fototérmico nessas áreas. Porém, clinicamente, a sobreposição de irradiação pode ocorrer e essas condições de irradiação precisam ser criteriosamente avaliadas. Outro aspecto a ser considerado é que os equipamentos utilizados em ambos estudos foram diferentes, podendo ter variado a largura de pulso. Alguns trabalhos na literatura têm sugerido que ainda que o mesmo comprimento de onda seja utilizado, a variação dos parâmetros de irradiação podem levar à alterações na largura de pulso do sistema a *laser* utilizado. Essa variação

pode promover um maior ou menor efeito no tecido alvo, levando à maior ou menor ablação do esmalte (KANTOROWITZ; FEATHERSTONE; FRIED, 1998).

A associação do *laser* com o flúor não foi avaliada no presente estudo pois o objetivo principal foi avaliar um método alternativo de prevenção de cárie em que não seja necessária a utilização de produtos fluoretados, como mencionado anteriormente. Ainda que estudos tenham reportado a efetividade do flúor na inibição das lesões de cárie (FEATHERSTONE, 2000; CURY et al., 2003), ainda consiste em um fator de risco para o desenvolvimento da fluorose dental (MASCARENHAS, 2000; PAIVA; CURY, 2001). Portanto, o efeito dos *Lasers* de alta intensidade no aumento da resistência ácida do esmalte foi considerado isoladamente, como um possível método alternativo para o tratamento preventivo de lesões de cárie.

Os resultados encontrados para o grupo submetido ao tratamento com dentifrício fluoretado corroboram com os achados da literatura (PAES-LEME et al., 2003). Quando o flúor está presente durante o desafio ácido, ele entra em contato com a superfície do esmalte, podendo ser precipitado na forma de fluoreto de cálcio (MORGOLIS; MORENO, 1990; PAES-LEME et al., 2003). Este serve como um reservatório de flúor que, durante um novo desafio cariogênico, pode ser liberado (ØGAARD, 2001; PAES-LEME et al., 2003). A

formação de depósitos minerais enriquecidos com flúor no interior do esmalte dental é responsável por bloquear parcialmente o transporte de ácidos do mineral (TAKAGI; LIAO; CHOW, 2000), reduzindo a formação e/ou progressão da lesão de cárie.

O flúor apresenta três formas principais de mecanismo. O primeiro deles é a capacidade de inibir o metabolismo bacteriano, após sua difusão para o interior da bactéria, na forma de fluoreto de hidrogênio (HF), e posterior dissociação, acidificando a célula e liberando íons flúor que interferem na produção de enzimas pela bactéria; também é responsável por inibir o processo de desmineralização durante o desafio ácido, pela formação de uma estrutura química mais ácido resistente. Por último, é capaz de aumentar a remineralização, por adsorver na superfície do cristal e atrair íons de cálcio, fosfato, levando a formação de um novo mineral (FEATHERSTONE, 2000).

O método de avaliação da perda mineral utilizado neste estudo tem como objetivo quantificar a perda mineral de forma mais precisa. Os valores de microdureza Knoop representam uma quantificação indireta do conteúdo mineral. Featherstone et al. (1983) verificaram, em estudo comparativo, que a porcentagem de volume mineral (%vol) determinada pela microrradiografia,

uma técnica quantitativa, também pode ser calculada por meio da microdureza em corte transversal aplicando-se a seguinte fórmula: % vol = $4,3 \times (\text{KHN})_{1/2} + 11,3$ onde KHN (*Knoop hardness number*) é o número de dureza Knoop. O coeficiente de correlação encontrado foi de 0,919 e os pesquisadores concluíram que a técnica de microdureza pode ser utilizada não somente na comparação de alterações de dureza, bem como uma medida de perda/ganho mineral resultante de processos de desmineralização e remineralização.

Ainda que os resultados obtidos neste estudo tenham demonstrado que a utilização dos *lasers* de Er,Cr:YSGG seja capaz de promover a inibição da progressão da lesão de cárie em esmalte dental submetido ao modelo de ciclagem de pH, a utilização de modelos *in situ* é necessária para fornecer dados complementares para uma avaliação mais ampla do comportamento do esmalte irradiado frente a desafios cariogênicos. Seria esperado que as condições testadas *in situ* e *in vivo* fossem melhores devido à presença de saliva, que apresenta capacidade tampão e potencial de remineralização pela presença de minerais, repondo o cálcio e fosfato perdidos durante o processo de desmineralização (FEATHERSTONE, 2000). Porém, até o presente momento, nos estudos realizados *in situ*, a superfície tratada com o *laser de*

Er,Cr:YSGG parece não promover um maior aumento da resistência ácida do esmalte.

Algumas questões em relação ao uso dos *lasers* para o tratamento preventivo das lesões de cárie ainda permanecem sem respostas. Uma delas diz respeito às alterações causadas na superfície do esmalte, pois ainda que o objetivo principal seja alterar quimicamente a estrutura do esmalte dental, pequenas ou significativas alterações morfológicas tem sido reportadas e ainda não se sabe qual a susceptibilidade desta superfície irradiada à adesão e formação de placa bacteriana. Nesse sentido, densidades de energia menores ou semelhantes a $2,8 \text{ J/cm}^2$ precisam ser avaliadas, visto que podem apresentar potencial cariostático sem, contudo, alterar a morfologia superficial do esmalte dental.

Outro questionamento se refere à longevidade do tratamento, ou seja, com qual frequência deve-se submeter o esmalte dental à irradiação com *lasers* de alta intensidade para inibir a desmineralização durante um desafio ácido. Desta forma, novos estudos são necessários para avaliar o efeito desse tratamento em condições *in vivo*.

7 CONCLUSÃO

Dentro dos limites deste estudo *in vitro*, pode-se concluir que a irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG com densidade de energia de 8,52 J/cm² parece ser um parâmetro efetivo para o aumento da resistência ácida do esmalte, porém densidades de energia menores podem apresentar um potencial cariostático significativo, quando comparados ao tratamento com dentifrício fluoretado.

REFERÊNCIAS¹

Ana PA, Zezzel DM, Blay CC, Blay A, Eduardo CP, Miyakawa W. Thermal analysis of dental enamel following Er,Cr:YSGG laser irradiation at low fluencies. *Lasers Surg Med* 2004;16:53.

Aoba T. Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries. *Oral Diseases* 2004;10:249–57.

Apel C, Birker I, Meister J, Gutknecht N. The caries–preventive potential of subablative Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in a intraoral model: a pilot study. *Lasers Surg Med* 2004;22:312–7.

Apel C, Meister J, Gotz H, Duschner H, Gutknecht N. Structural changes in human dental enamel after subablative erbium Laser irradiation and its potential use for caries prevention. *Caries Res* 2005;39:65–70.

Apel C, Meister J, Schmitt N, Gräber HG, Gutknecht N. Calcium solubility of dental enamel following sub–ablative Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. *Lasers Surg Med* 2002;30:337–41.

Apel C, Schäfer C, Gutknecht N. Demineralization of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser–prepared enamel cavities in vitro. *Caries Res* 2003;37:34–7.

¹ De acordo com o estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Apfelbaum F, Mayer I, Featherstone JBD. The role of HPO₄²⁻ and CO₃²⁻ ions in the transformation of synthetic apatites to β-Ca₅(PO₄)₂. J Inorg Biochem 1990;38:1-8.

Bachmann L, Zezell DM. Tratamento térmico e irradiação laser. In: Bachmann L, Zezell DM, editors. Estrutura e composição do esmalte e da dentina. São Paulo: Editora Livraria da Física; 2005. p. 299.

Borggreven JMPM, van Dijk JWE, Driessens FOM. Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental enamel. Arch Oral Biol 1980;25:831-2.

Clarkson BH, Rafter ME. Emerging methods used in the prevention and repair of carious tissues. J Dent Educ 2001;65:1114-20.

Coluzzi DJ. An overview of laser wavelengths used in dentistry: In: Lasers and light amplification in dentistry. Dent Clin North Am 2000;44:753-65.

Cury JA, Rebelo MAB, Del bel Cury AA, Derbyshire MTVC, Tabchoury COM. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. Caries Res 2000;34: 491-7.

Cury JA, Francisco SB, Simoes GS, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization in situ. Caries Res 2003;37:194-9.

Delbem AC, Cury JA, Nakassima CK, Gouveia VG, Theodoro LH. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ formation and its anti-cariogenic action on human enamel: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg* 2003;21:197–201.

Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent* 2002;15:169–72.

Eversole LR, RizoIU I, Kimmel AI. Pulpal response to cavity preparation by an erbium,chromium:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc* 1997;128:1099–1106.

Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000;131:887–99.

Featherstone JDB, Fried D, Bitten ER. Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel. *Lasers in Dentistry. Proceedings of the SPIE Meeting*; 1997 Jan 28–29; San Jose. Washington: Bellingham; 1996. p.112–6.

Featherstone JDB, O´Really MM, Shariati M, *et al*. Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. In: Leach AS, editor. *Factors relating to demineralization and remineralization of teeth*. IRL: Oxford; 1986. p.23–4.

Featherstone JDB. Caries detection and prevention with laser energy. *Dent Clin North Am* 2000;44:955–69.

Featherstone JDB, Fried D. Fundamental interactions of lasers with dental hard tissues. *Med Laser Applic* 2001;16:181–94.

Featherstone JDB, Duncan JF, Cutress TW. The mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in vitro caries simulation on human tooth enamel. *Archs Oral Biol* 1979;24:101–12.

Featherstone JDB, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983; 7:385–91.

Fowler BO, Kuroda S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif Tissue Int* 1986;38:197–208.

Fried D, Featherstone JDB, Visuri SR, Seka W, Walsh JT. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation. *Lasers in Dentistry. Proceedings of the SPIE Meeting*; 1996 Jan 28–29; San Jose. Washington: Bellingham; 1996. p.73–8.

Fried D, Zuerlein MJ, Le CQ, Featherstone JDB. Thermal and mechanical modification of dentin by 9–11 micron CO₂ laser pulses of 5–100 microsecond duration. *Lasers Surg Med* 2002;31:275–82.

Gürkan S, Bolay Y, Alaçam R. In vitro adherence of bacteria to bleached or unbleached enamel surfaces. *J Oral Rehabil* 1997;24:624–7.

Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavities preparation. J Am Dent Assoc 2000;131:777-85.

Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on the dental hard substances I. Measurement of the ablation rate. Lasers Surg Med 1989;9:338-44.

Hossain M, Kimura Y, Yamada Y, Nakamura Y, Yamada Y, Kinoshita J-I, Matsumoto K. A study on acquired acid resistance of enamel and dentin irradiated by Er,Cr:YSGG laser. J Clin Laser Med Surg 2001;19:153-9.

Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Kimura Y, Matsumoto N, Matsumoto K. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. J Clin Laser Med Surg 1999;17:155-9.

Kantorowitz Z, Featherstone JDB, Fried D. Caries prevention by CO₂ laser treatment: dependency of the number of pulses used. J Am Dent Assoc 1998;129:585-91.

Keller U, Hibst R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. Lasers Surg Med 1989;9:345-51.

Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: a re-view of the recent literature. Pediatr Dent 2000;22:269-77.

Morgolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspectives on the cariostático mechanism of the systemic and topic fluoride. *J Dent Res* 1990;69:606-13.

Morioka T, Tagomori S, Oho T. Acid resistance of laser in human enamel with Er: YAG laser. *J Clin Laser Med Surg* 1991;9:215-7.

Narvai PC, Frazão P, Castellanos RA. Decline in caries experience in permanent teeth of Brazilian scholars at the end of the twentieth century. *Odontol Soc* 1999;1:25-9.

Negri HM, Cury JA. Dose-response effect of a dentifrice formulation with low fluoride concentration - an in vitro study. *Pesqui Odontol Bras* 2002;16:361-5.

Øgaard B. CaF₂ formation, cariostatic properties and factor of enhancing the effect. *Caries Res* 2001;(Suplemento 1):40-4.

Paiva SM, Cury JA. Fluoride dentifrice and risk of dental fluorosis. *RPG Rev Pós Grad* 2001;8:322-8.

Paes Leme AF, Tabchoury CP, Zero DT, Cury JA. Effect of fluoridated dentifrice and acidulated phosphate fluoride application on early artificial carious lesions. *Am J Dent* 2003;16:91-5.

Sognaes RF, Stern R H. Laser effect on resistance of human dental enamel to demineralization in vitro. *J South Calif State Dent Assoc* 1965;33:328-9.

Stern RH, Sognaes RF, Goodman F. Laser effect on in vitro enamel permeability and solubility. *J Am Dent Assoc* 1966;78:838–43.

Stern RH, Sognaes RF. Laser beam effect on hard dental tissues. *J Dent Res* 1964;43:873.

Stern RH, Vhal J, Sognaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res* 1972;51:455–60.

Tagomori S, Morioka T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res* 1989;23:225–31.

Takagi S, Liao H, Chow LC. Effect of tooth-bound fluoride on enamel demineralization and remineralization in vitro. *Caries Res* 2000;34:281–8.

ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res* 1982;16:201–10.

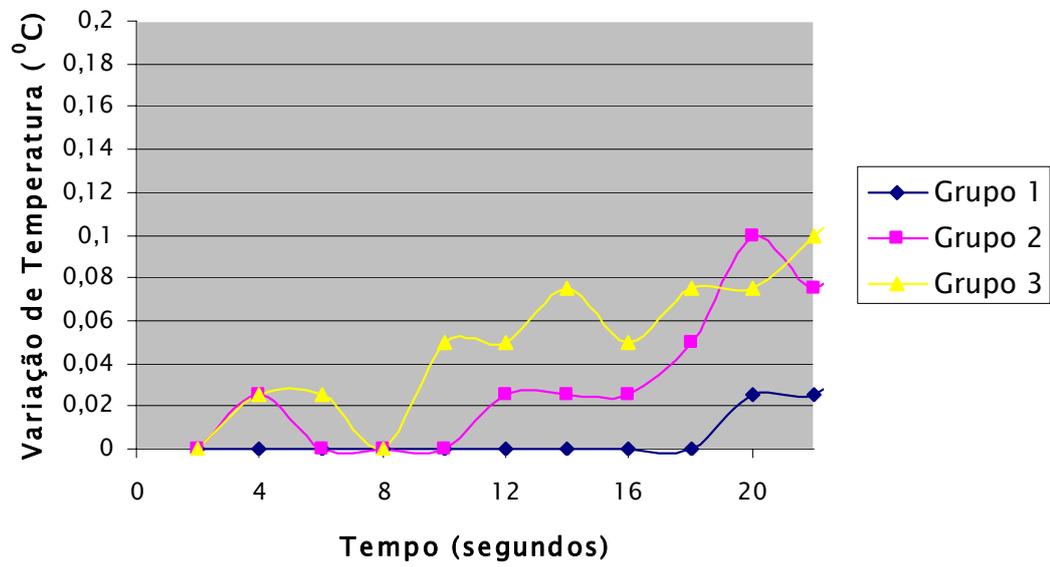
Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of Clinical Cariology*. Copenhagen: Munksgaard; 1995.

White DJ, Featherstone JDB. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. *Caries Res* 1987;21:502–12.

Yu D, Kimura Y, Kinoshita J, Matsumoto K. Morphological and atomic analytical studies on enamel and dentin irradiated by an Erbium,Chromium:YSGG laser. J Clin Laser Med Surg 2000;18:139-43.

Zach L, Cohen C. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965;19:515-30.

APÊNDICE A – Variação de temperatura mensurada durante a irradiação das amostras de esmalte dental com os parâmetros selecionados no presente estudo



APÊNDICE B – Valores originais de porcentagem de volume mineral e de ΔZ (% vol min x μm) das amostras do grupo G1

Grupo 1

Carga 25 g, 15 μm – 300 μm

Coluna 1 % Volume Mineral

Distância

<u>(μm)</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
15	46,25	44,63	65,58	40,78	51,38	58,18	40,56	49,11	50,07
20	41,97	45,90	68,79	54,84	57,53	55,15	47,36	50,30	50,88
25	46,03	55,98	60,72	48,93	60,43	59,83	47,10	55,71	55,04
30	53,23	44,02	57,53	48,44	60,81	71,07	54,76	48,19	55,70
35	50,14	43,24	58,56	65,36	62,80	64,97	41,13	61,68	57,05
40	71,10	53,21	60,72	66,26	72,24	75,10	59,60	63,57	58,46
45	42,16	53,51	81,98	69,65	73,91	60,51	60,84	54,82	60,34
50	68,54	54,72	76,26	78,21	69,62	68,76	48,40	57,57	62,75
75	72,18	80,71	76,26	87,54	84,28	75,64	70,65	61,68	66,76
100	87,41	88,05	87,83	90,02	84,28	82,73	76,85	77,91	82,57
125	88,22	91,37	86,29	86,74	85,03	80,83	82,65	79,10	87,97
150	85,07	84,22	86,29	86,74	83,55	83,38	85,06	93,35	81,14
175	85,83	86,47	87,06	78,86	79,40	79,62	82,65	80,95	87,15
200	89,04	81,39	84,08	89,18	83,55	85,40	84,24	85,64	81,85
225	82,85	86,47	76,85	88,35	89,79	88,24	87,61	84,93	84,04
250	85,07	87,25	82,67	85,20	81,42	88,24	81,88	80,95	84,04
275	83,57	83,49	89,43	82,97	91,50	84,71	85,06	84,93	87,97
300	83,57	85,71	88,62	83,70	85,78	85,40	88,50	84,24	88,80
<u>ΔZ</u>	1572,82	1370,26	1020,79	809,66	800,96	1363,60	2181,65	2433,38	1706,68

Coluna 2	% Volume Mineral									Média	DP
<u>Distância</u>										<u>Amostras</u>	<u>Amostras</u>
<u>(µm)</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>1-18</u>	<u>1-18</u>
15	58,12	54,25	63,04	48,50	49,01	62,79	58,80	58,18	44,20	52,41	7,76
20	57,78	53,64	64,71	46,14	67,80	69,82	54,97	61,03	54,98	55,76	8,18
25	50,41	53,33	56,48	50,04	67,80	68,46	48,38	67,22	51,60	55,75	7,10
30	54,59	48,16	61,85	38,14	52,94	66,32	52,78	62,96	50,48	54,55	8,07
35	52,84	41,22	57,15	46,14	59,99	65,91	47,64	58,86	49,66	54,68	8,40
40	57,78	44,32	69,80	48,75	62,65	65,10	50,76	64,60	61,17	61,40	8,33
45	84,45	68,41	68,33	69,04	72,26	70,28	68,81	71,06	63,70	66,34	10,07
50	84,45	63,78	63,04	77,53	78,56	66,32	56,30	74,80	59,21	67,16	9,82
75	85,18	86,61	75,75	85,98	87,60	81,63	82,21	78,95	64,60	78,01	8,14
100	88,22	88,22	80,10	88,39	88,39	81,63	78,73	82,22	73,31	83,71	4,91
125	83,03	83,54	83,52	89,23	89,18	82,26	85,23	87,26	84,75	85,34	3,22
150	82,34	86,61	81,43	83,70	81,81	81,63	84,45	80,23	83,22	84,12	3,00
175	87,44	88,22	83,52	90,94	83,89	83,56	86,82	84,31	83,97	84,48	3,33
200	89,83	87,41	82,12	82,97	86,83	80,39	87,64	92,97	82,48	85,39	3,44
225	83,03	86,61	87,25	91,83	87,60	88,43	87,64	79,58	86,33	85,97	3,63
250	76,60	86,61	92,19	89,23	89,18	88,43	86,82	82,90	87,14	85,32	3,78
275	85,92	76,75	83,52	78,17	82,49	86,28	88,47	82,90	86,33	84,69	3,61
300	89,83	82,81	84,97	78,17	83,19	86,28	73,15	92,11	85,53	85,02	4,31
<u>ΔZ</u>	863,62	1307,83	1373,63	881,31	520,07	993,68	1270,66	1171,10	2114,96	1319,81	521,65
<u>Média ΔZ</u>	1218,22	1339,04	1197,21	845,49	660,52	1178,64	1726,15	1802,24	1910,82		

APÊNDICE C – Valores originais de porcentagem de volume mineral e de ΔZ (% vol min x μm) das amostras do grupo G2

Grupo 2

Carga 25 g, 15 μm – 300 μm

Coluna 1 % Volume Mineral

Distância

(μm)

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
15	42,92	86,55	68,44	42,63	77,25	63,83	55,20	53,30	54,13
20	64,67	76,93	65,33	58,06	73,50	61,51	58,42	58,59	47,57
25	75,78	76,33	70,85	61,05	72,99	56,07	61,67	51,83	59,24
30	71,85	80,11	61,72	57,35	75,60	45,51	71,36	57,52	60,38
35	74,05	75,73	67,98	67,11	77,82	49,75	63,63	65,06	53,82
40	83,62	79,45	83,15	72,79	80,79	43,00	66,60	81,32	50,10
45	64,67	88,12	76,22	75,10	61,18	56,07	61,29	53,30	54,13
50	63,40	85,03	70,36	58,06	63,37	41,25	68,90	52,12	74,75
75	71,85	88,93	64,08	68,08	71,03	47,87	84,67	72,57	84,09
100	82,91	86,55	75,65	66,17	80,79	83,87	84,67	73,70	85,62
125	76,99	76,33	85,99	81,58	88,94	88,25	87,64	84,23	84,85
150	88,18	84,29	79,22	86,03	82,68	82,51	84,67	84,23	87,21
175	81,51	83,56	85,99	79,52	84,00	82,51	83,95	84,99	84,85
200	89,82	82,85	84,55	80,88	78,98	91,43	86,12	84,99	82,62
225	89,82	88,12	83,84	84,49	82,04	90,61	82,57	84,99	83,35
250	78,23	88,93	80,49	92,77	86,75	85,28	87,64	87,35	88,02
275	80,83	81,46	94,92	84,49	94,50	75,17	84,67	84,99	84,85
300	86,61	85,78	85,99	86,82	86,05	87,49	85,39	83,48	84,09
<u>ΔZ</u>	1489,39	336,94	1291,10	2103,87	898,80	2824,24	858,31	1718,60	1176,93

Coluna 2 <u>Distância</u> <u>(μm)</u>	% Volume Mineral									<u>Média</u>	<u>DP</u>
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>Amostras</u> <u>1-18</u>	<u>Amostras</u> <u>1-18</u>
15	62,62	62,90	71,20	59,18	81,43	69,14	48,41	64,27	55,97	62,19	12,25
20	68,50	65,59	63,78	66,89	82,67	72,75	54,65	64,73	61,08	64,73	8,31
25	71,88	69,57	66,08	73,26	89,50	64,99	81,98	51,78	60,06	67,49	10,20
30	73,43	73,46	74,07	61,13	79,05	61,31	62,66	50,62	65,34	65,69	9,73
35	75,60	66,06	75,91	55,95	76,26	73,85	59,26	46,00	67,42	66,18	9,79
40	76,74	81,99	61,23	65,94	59,18	83,32	84,80	43,15	68,43	70,31	14,05
45	74,50	78,49	68,03	85,48	83,30	87,04	76,85	64,27	62,41	70,58	11,47
50	76,74	68,02	80,57	75,05	72,20	69,14	63,88	64,73	70,01	67,64	10,24
75	74,50	81,99	84,26	63,23	73,67	80,57	81,30	71,92	76,86	74,53	9,88
100	71,38	87,46	82,01	79,58	82,04	75,57	86,29	80,19	72,23	79,82	6,08
125	73,43	80,55	80,57	89,62	89,50	76,76	90,25	68,13	71,11	81,93	6,88
150	79,74	83,48	82,01	76,93	89,50	81,24	84,08	80,91	89,23	83,67	3,47
175	82,31	85,82	90,94	96,16	82,04	81,24	91,09	87,13	90,11	85,43	4,26
200	87,24	82,73	79,18	80,27	79,63	90,26	88,62	84,69	87,24	84,56	3,96
225	77,32	80,55	93,72	88,76	85,95	79,26	87,05	84,69	89,23	85,35	4,24
250	84,35	86,63	74,07	88,76	85,27	81,92	88,62	87,98	79,84	85,16	4,61
275	94,51	89,15	85,04	82,42	87,34	85,51	82,67	87,98	75,85	85,35	5,59
300	89,53	86,63	90,05	81,69	85,27	95,57	72,87	81,64	83,50	85,47	4,51
<u>ΔZ</u>	1502,61	801,29	627,16	1120,31	666,98	1362,10	501,20	2195,25	1779,14	1291,90	656,49
<u>Média ΔZ</u>	1496,00	569,12	959,13	1612,09	782,89	2093,17	679,76	1956,93	1478,04		

APÊNDICE D – Valores originais de porcentagem de volume mineral e de ΔZ (% vol min x μm) das amostras do grupo G3

Grupo 3

Carga 25 g, 15 μm – 300 μm

Coluna 1 % Volume Mineral

Distância

(μm)

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
15	53,28	56,94	67,91	55,13	63,28	70,72	85,67	69,83	53,98
20	68,10	59,44	63,65	66,10	69,77	71,90	69,46	57,90	63,22
25	62,90	59,83	62,85	66,67	69,69	69,68	61,56	68,27	60,51
30	56,96	62,67	73,86	65,14	64,89	68,16	68,54	49,72	74,01
35	70,21	63,06	66,76	68,77	66,61	71,26	79,69	58,64	65,65
40	65,63	68,98	71,26	71,36	80,01	71,26	84,27	65,34	78,89
45	82,34	83,24	88,76	71,48	79,20	61,48	58,74	64,88	73,67
50	85,45	77,77	72,80	81,43	77,73	75,25	84,27	87,96	85,51
75	82,34	84,08	84,32	82,09	80,05	75,86	77,88	81,68	82,56
100	86,26	84,84	85,75	81,09	83,12	81,09	90,18	90,57	79,15
125	91,49	82,59	82,27	90,13	83,82	79,71	90,18	87,96	87,86
150	87,94	83,33	73,86	90,13	89,01	83,24	88,62	89,68	81,16
175	85,45	84,08	82,94	81,43	89,80	85,51	84,27	83,92	86,28
200	80,15	85,62	89,55	82,89	88,23	84,74	90,98	84,70	84,82
225	80,87	82,59	91,16	89,27	83,82	87,91	80,32	86,30	87,13
250	83,86	88,88	84,32	86,76	82,44	86,30	82,24	86,30	84,75
275	88,80	84,08	89,55	85,17	83,12	81,79	82,91	82,41	85,05
300	87,94	86,41	83,63	79,35	78,58	85,51	85,67	81,68	85,81
<u>ΔZ</u>	484,78	911,68	533,50	538,77	673,62	1162,42	539,46	698,61	531,27

Coluna 2 Distância (μm)	% Volume Mineral									Média	DP
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>Amostras</u> 1-18	<u>Amostras</u> 1-18
15	60,55	61,53	52,41	69,71	63,26	52,16	71,77	58,50	63,58	62,79	8,74
20	64,60	75,73	61,64	71,51	65,22	72,07	69,60	78,96	66,06	67,50	5,48
25	66,80	65,63	61,64	76,48	50,38	74,34	71,77	71,94	69,70	66,15	6,26
30	72,92	81,36	56,84	80,27	59,15	76,14	65,16	75,28	69,30	67,80	8,60
35	80,88	69,95	76,11	82,75	59,49	78,68	62,50	67,91	77,89	70,38	7,44
40	63,74	78,79	71,74	67,92	57,54	82,82	67,55	78,99	78,08	72,45	7,34
45	81,57	87,12	70,03	85,13	63,81	79,34	74,09	84,45	82,42	76,21	9,31
50	80,88	80,04	62,52	82,27	89,99	76,14	79,20	71,94	73,48	79,15	6,64
75	83,70	74,02	76,11	83,68	90,77	80,01	75,30	72,47	82,42	80,52	4,54
100	85,87	85,45	87,53	78,32	89,99	77,39	82,03	81,61	88,59	84,38	4,13
125	81,36	81,36	70,59	82,97	84,91	85,83	76,81	83,01	80,33	83,51	5,13
150	89,12	87,12	85,82	81,58	86,30	87,42	86,67	84,45	81,71	85,40	4,08
175	82,27	91,15	84,98	84,40	88,48	84,30	83,52	86,71	85,39	85,27	2,51
200	78,90	82,04	80,30	87,41	84,91	81,39	84,29	83,01	87,77	84,54	3,35
225	89,12	87,12	83,36	80,91	79,17	85,06	85,86	85,94	87,77	85,20	3,43
250	86,71	80,69	85,82	87,41	86,30	88,24	87,50	83,01	83,15	85,26	2,30
275	85,18	82,73	92,14	87,41	85,60	84,30	85,86	85,94	82,42	85,25	2,77
300	83,70	84,14	82,58	85,88	84,23	84,30	81,30	85,94	86,79	84,08	2,55
<u>ΔZ</u>	645,51	698,84	1522,18	594,39	508,47	672,73	1211,48	922,00	710,08	753,32	287,07
<u>Média ΔZ</u>	565,15	805,26	1027,84	566,58	591,04	917,58	875,47	810,30	620,68		

APÊNDICE E – Valores originais de porcentagem de volume mineral e de ΔZ (% vol min x μm) das amostras do grupo G4

Grupo 4

Carga 25 g, 15 μm – 300 μm

Coluna 1 % Volume Mineral

Distância

(μm)

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
15	45,96	68,38	60,04	58,17	62,82	56,85	58,86	47,02	60,35
20	50,14	66,99	68,32	63,99	55,93	63,88	60,56	55,05	56,09
25	52,13	59,73	60,04	50,61	63,86	63,49	63,72	56,08	64,85
30	49,43	63,97	55,04	55,64	67,61	68,22	68,98	64,49	65,30
35	47,20	57,31	61,53	54,62	77,39	70,09	73,06	61,00	76,30
40	56,64	65,66	64,33	50,04	76,17	88,21	77,06	70,54	73,33
45	73,79	71,85	69,28	53,32	79,29	85,99	77,06	67,38	66,73
50	76,77	70,82	72,31	66,36	81,98	78,71	77,06	73,40	67,34
75	91,14	76,27	78,01	75,28	84,12	85,27	90,49	90,29	78,81
100	88,07	76,27	76,80	80,70	87,94	84,57	83,59	88,52	75,68
125	82,53	81,27	81,88	88,69	86,37	83,19	83,59	82,08	75,68
150	78,80	79,32	81,88	86,13	86,37	86,72	88,07	93,08	82,20
175	79,40	86,21	88,45	82,18	81,98	86,72	88,07	82,08	87,48
200	88,14	81,27	86,90	85,31	85,61	84,57	87,29	85,18	83,65
225	86,97	93,53	83,96	85,31	82,68	83,88	83,59	79,90	87,48
250	83,18	92,66	81,88	83,72	86,37	86,72	83,59	85,99	81,50
275	84,52	83,32	90,06	84,51	86,37	82,52	82,89	83,60	84,39
300	93,98	78,69	81,88	87,82	85,61	83,88	81,52	85,18	88,29
<u>ΔZ</u>	1065,00	1175,93	1178,06	1509,46	563,53	543,81	462,30	892,50	1433,84

Coluna 2 <u>Distância</u> (μm)	% Volume Mineral									<u>Média</u> <u>Amostras</u>	<u>DP</u> <u>Amostras</u>
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>1-18</u>	<u>1-18</u>
15	43,89	62,83	63,81	62,02	51,51	57,94	63,41	53,96	66,93	58,04	7,06
20	41,17	59,54	75,19	63,65	65,11	63,14	79,02	58,76	65,57	61,78	8,66
25	35,58	58,19	67,36	56,91	70,91	49,25	69,62	58,43	70,33	59,51	8,83
30	37,71	50,95	66,43	52,58	77,26	51,30	72,67	64,49	64,24	60,91	9,87
35	44,99	58,52	61,78	47,66	80,88	51,84	77,78	66,94	70,33	63,29	11,39
40	42,99	62,07	71,32	55,28	75,02	70,36	54,40	71,95	69,83	66,40	11,14
45	44,67	59,89	61,78	76,18	66,36	71,38	78,39	73,45	69,32	69,23	9,83
50	71,17	66,07	69,28	76,78	75,02	75,19	82,28	76,09	80,30	74,27	5,05
75	89,34	80,64	68,79	84,86	77,26	80,74	80,94	83,94	71,93	81,56	6,46
100	92,62	80,64	83,62	81,30	79,03	85,66	84,37	85,99	79,00	83,02	4,71
125	89,34	83,26	85,84	80,62	85,56	86,41	81,61	87,41	87,62	84,05	3,41
150	90,62	85,34	88,18	85,62	84,17	86,41	79,65	85,29	86,06	85,22	3,78
175	88,09	89,83	85,08	86,38	87,00	91,21	86,57	85,29	84,55	85,92	3,01
200	85,11	84,64	87,38	84,86	87,00	83,48	81,61	82,63	87,62	85,12	2,04
225	87,48	82,59	78,22	84,86	84,86	83,48	84,37	88,14	83,09	84,69	3,35
250	75,88	83,94	88,18	87,16	82,16	83,48	88,89	79,52	83,09	84,33	3,78
275	79,73	86,06	84,34	81,99	87,00	83,48	86,57	85,99	84,55	84,55	2,28
300	88,09	82,59	83,62	84,13	82,82	83,48	87,33	88,14	86,06	85,17	3,46
<u>ΔZ</u>	1176,65	1271,69	1365,45	1173,08	809,68	924,54	730,60	634,93	1117,46	1001,58	320,29
<u>Média ΔZ</u>	1120,83	1223,81	1271,76	1341,27	686,61	734,17	596,45	763,71	1275,65		

APÊNDICE F – Valores originais de porcentagem de volume mineral e de ΔZ (% vol min x μm) das amostras do grupo G5

Grupo 5

Carga 25 g, 15 μm – 300 μm

Coluna 1 % Volume Mineral

Distância

(μm)

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>
15	28,35	51,20	23,78	38,14	30,47	41,28	43,31	44,64	47,56
20	65,07	42,19	34,36	43,07	36,86	46,78	44,76	47,50	50,92
25	67,09	40,88	35,88	47,14	45,84	44,79	46,64	46,14	51,18
30	57,77	37,40	36,50	49,97	37,39	50,36	48,43	47,97	46,25
35	81,84	37,67	32,67	40,96	41,51	44,98	50,12	53,57	53,35
40	59,35	43,58	38,07	50,47	46,65	44,98	51,94	56,72	53,63
45	62,08	55,51	35,16	54,31	49,27	48,51	41,43	68,39	69,53
50	49,55	73,76	37,94	62,85	51,18	52,63	43,31	69,88	65,47
75	87,11	74,28	71,51	71,89	43,57	75,73	79,82	76,53	72,53
100	90,02	87,89	82,05	81,25	73,73	79,14	72,14	79,04	76,96
125	80,61	80,51	85,35	76,29	85,72	86,28	79,59	81,72	84,72
150	89,27	85,06	82,69	85,41	74,78	82,24	86,45	79,04	81,31
175	87,82	86,45	86,75	81,91	87,86	80,97	87,20	79,04	82,64
200	87,11	87,17	83,34	80,59	90,11	89,20	82,88	87,66	83,32
225	81,84	86,45	88,20	87,66	87,14	81,60	79,59	85,34	85,44
250	76,07	83,05	84,00	90,03	90,11	86,99	84,27	90,12	87,67
275	87,82	81,76	85,35	85,41	76,40	86,28	84,27	85,34	88,44
300	85,06	85,06	84,67	83,98	88,60	87,72	90,34	88,47	86,17
<u>ΔZ</u>	1080,73	1949,50	2527,39	2243,76	3410,63	2084,64	2356,92	1828,01	1794,42

Coluna 2 <u>Distância</u> (μm)	% Volume Mineral									<u>Média</u> <u>Amostras</u>	<u>DP</u> <u>Amostras</u>
	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>1-18</u>	<u>1-18</u>
15	52,06	58,31	39,13	52,87	35,10	42,30	46,57	45,33	47,32	42,65	9,02
20	49,38	47,19	32,36	53,15	37,47	48,29	51,23	51,45	52,33	46,35	7,89
25	33,44	45,27	32,99	46,32	39,41	45,10	60,59	41,49	49,45	45,54	8,46
30	37,21	49,72	38,83	40,07	48,10	52,98	49,00	42,88	44,55	45,30	6,25
35	31,83	46,99	37,12	40,72	50,48	47,04	56,35	45,94	47,78	46,72	11,21
40	30,19	46,99	42,07	44,68	38,18	52,47	53,66	49,71	57,84	47,84	7,67
45	38,29	51,09	37,12	64,73	48,10	52,73	54,44	66,39	58,18	53,07	10,65
50	36,44	59,87	39,13	71,62	53,58	49,84	55,24	69,06	73,26	56,37	12,47
75	64,44	75,25	79,49	82,10	79,33	71,80	65,90	85,04	71,15	73,75	9,61
100	80,67	81,29	74,78	80,79	86,03	74,75	80,52	86,47	79,12	80,37	4,94
125	88,80	89,09	90,14	78,28	88,53	77,41	81,69	90,26	76,08	83,39	4,87
150	84,54	88,39	92,62	86,31	91,16	83,96	84,13	83,66	89,91	85,05	4,37
175	85,92	87,69	84,84	82,77	86,03	82,06	82,29	92,70	89,91	85,27	3,48
200	94,35	83,73	84,13	81,44	87,26	82,68	86,72	82,99	85,26	85,55	3,47
225	88,06	84,37	87,03	82,10	80,37	85,27	81,69	79,77	79,76	83,98	3,13
250	80,06	87,69	84,13	92,65	80,37	88,02	87,39	85,75	81,07	85,52	4,28
275	78,86	86,33	82,75	84,15	82,54	82,06	85,40	83,66	85,26	84,01	2,98
300	83,21	76,80	79,49	85,58	87,26	90,95	87,39	86,47	83,82	85,61	3,49
<u>ΔZ</u>	2698,10	1583,60	2193,70	1835,31	1893,39	2527,95	2299,98	1123,28	2060,76	2082,89	549,63
<u>Média ΔZ</u>	1889,42	1766,55	2360,55	2039,54	2652,01	2306,29	2328,45	1475,64	1927,59		

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo

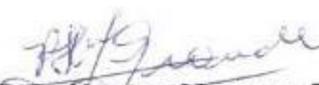


PARECER nº 182/03
Protocolo 180/03

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa "*Estudo in vitro do efeito da radiação do laser de Er, Cr:YSGG na inibição do processo de desmineralização e incorporação de flúor no esmalte dental*", de responsabilidade do Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais (parciais ou finais, em função da duração da pesquisa) referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 30 de outubro de 2003.


Profª Drª **ROSA HELENA MIRANDA GRANDE**
Coordenadora do CEP-FOUSP