



BR0645221



BR0645221



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ALTERAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICAS DE TECIDOS DUROS
IRRADIADOS POR LASER DE NEODÍMIO CHAVEADO**

ANDREA ANTUNES PEREIRA

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientadora:
Dra. Denize Maria Zzell

Co-orientador:
Dr. Wagner de Rossi

**São Paulo
2003**



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ALTERAÇÕES QUÍMICAS E FÍSICAS DE TECIDOS DUROS
IRRADIADOS POR LASER DE NEODÍMIO CHAVEADO**

ANDREA ANTUNES PEREIRA

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientadora:
Dra. Denize Maria Zezell

Co-orientador:
Dr. Wagner de Rossi

**São Paulo
2003**

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**Alterações Químicas e Físicas de Tecidos
Duros Irrradiados por *Laser* de Neodímio Chaveado**

Andrea Antunes Pereira



Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de Doutora em Ciências
na área de Tecnologia Nuclear-Materiais

Orientadora: Dra. Denise Maria Zezell

Co-orientador: Dr. Wagner de Rossi

São Paulo 2003

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**Alterações Químicas e Físicas de Tecidos
Duros Irrradiados por *Laser* de Neodímio Chaveado**

Andrea Antunes Pereira

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de Doutora em Ciências
na área de Tecnologia Nuclear-Materiais

Orientadora: Dra. Denise Maria Zezell

Co-orientador: Dr. Wagner de Rossi

São Paulo 2003

Ao Eduardo.

*The process of scientific discovery is, in effect, a
continual flight from wonder*

Albert Einstein

Índice

Resumo	v
Abstract	vii
Agradecimentos	ix
1 Introdução	1
1.1 Motivação	5
1.2 Aspectos de Originalidade	6
1.3 Organização da Tese	6
2 Objetivos	7
3 Evolução histórica	8
4 Os Tecidos Dentais Mineralizados e o <i>laser</i> de Nd:YAG	15
4.1 Tecidos Dentais Mineralizados	15
4.1.1 Esmalte	17
4.1.2 Dentina	18
4.1.3 Raíz	18
4.1.4 Cimento	19
4.1.5 A cárie	19
4.2 O <i>laser</i> de Nd:YAG	20
4.2.1 Interação <i>Laser</i> -Tecido	23
5 Materiais e Métodos	25
5.1 Caracterização da Estrutura Dental	25

5.2	Materiais	27
5.2.1	Amostras de Tecidos Dentais	27
5.2.2	<i>Laser</i> de Nd:YAG Chaveado	27
5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	29
5.3.1	Funcionamento do MEV	31
5.3.2	Componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura	32
5.3.3	Preparação das amostras para o MEV	33
5.3.4	Técnica de Energia dispersiva (EDS) com detetor de Silício dopado com Lítio	33
5.4	Espectrometria de Fluorescência de Raios-X	35
5.5	Ativação com Nêutron Instrumental	37
5.6	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier	38
5.6.1	Princípio de Funcionamento	39
5.6.2	Preparação das amostras de KBr	41
5.6.3	Aspectos físicos	43
5.7	Microdureza Vickers	45
5.7.1	Princípio de Operação	46
6	Resultados e Discussões	47
6.1	Microscopia Eletrônica de Varredura	47
6.2	Espectrometria por Energia dispersiva (EDS) com detetor de Silício dopado com Lítio	56
6.3	Correlação entre o teor de Cálcio e Fósforo	61
6.4	Fluorescência de Raios-X	64
6.5	Ativação com Nêutron Instrumental	69
6.6	Espectroscopia por Transformada de Fourier	73
6.6.1	Esmalte	74
6.6.2	Dentina	83
6.6.3	Raíz Dental	87
6.6.4	Cimento Dental	92
6.7	Microdureza Vickers	99

Índice	xiv
7 Modelo Térmico Associado	103
7.1 Introdução	103
7.2 Monitoramento da Temperatura	105
7.3 Modelos Analíticos	106
7.3.1 Modelo Térmico para um único pulso	106
7.3.2 Fluxo de calor numa região semi-infinita	109
8 Conclusões	117
Bibliografia	119
Apêndice	127
A Anexo 1	127

Lista de Figuras

1.1	Percentuais de Incidência de Cárie por faixa etária (Dados extraídos do trabalho de Pinto, V. [3])	2
1.2	Coeficiente de absorção para os cromóforos do tecido dental relacionado com distintos comprimentos de onda	3
4.1	Constituintes de um dente	15
4.2	Arranjo das partículas que formam a hidroxiapatita	16
4.3	Estrutura cristalina da hidroxiapatita	17
4.4	Exemplo de bastão laser	20
4.5	Grupo de <i>lasers</i> desenvolvidos, muitos deles são aplicados atualmente em Odontologia	21
4.6	Pulso longo de <i>laser</i> de Nd:YAG da ordem de μs	22
4.7	Pulso curto de <i>laser</i> de Nd:YAG da ordem de ns	22
4.8	Interação do <i>laser</i> de pulso curto e pulso longo com o tecido	23
5.1	Resolução e limite de detecção de métodos analíticos	26
5.2	Esquema da montagem experimental destacando o <i>laser</i> , porta-amostra e motor de passo utilizados nos ensaios experimentais	29
5.3	Foto do equipamento JEOL-5900	32
5.4	Componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura	33
5.5	Etapa 1 e etapa 2 do mecanismo de FRX	35
5.6	Etapa 3 e etapa 4 do mecanismo de FRX	35
5.7	Diagrama esquemático do processo de FRX	36
5.8	Foto da janela de posicionamento da amostra com delimitante da região de interação com o feixe de Raios-X	37

5.9	Modos de deformação axial e angular	39
5.10	Foto do aparelho FTIR	41
5.11	Modelo de Pastilhador para a confecção das pastilhas de KBr	42
5.12	Pastilhas de KBr	42
5.13	Representação esquemática de um interferômetro de Michelson	43
5.14	Interferograma da amostra padrão e tecido biológico gerando o espectro de transmissão	44
5.15	Esquema do indentador para medida de dureza Vickers	46
6.1	Micrografia eletrônica do corte transversal do tecido dental humano. Dimensão de esmalte e dentina, espessura frontal e lateral	48
6.2	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano não irradiado	48
6.3	Região do esmalte dental humano irradiado com <i>laser</i> de Nd:YAG, densidade de energia 40 J/cm^2 , largura temporal de 6 ns e taxa de repetição de 5 Hz. Observa-se halo lateral	49
6.4	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano submetido a irradiação com densidade de energia de 40 J/cm^2 , largura de pulso de 6 ns e taxa de repetição igual a 5 Hz	49
6.5	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano submetido a irradiação com densidade de energia de 11 J/cm^2 , largura de pulso de 6 ns e taxa de repetição igual a 5 Hz	50
6.6	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano submetido a irradiação com densidade de energia de 22.5 J/cm^2 , largura de pulso de 200 ns e taxa de repetição igual a 7 Hz	50
6.7	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano irradiado com <i>laser</i> de Nd:YAG com parâmetros: 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz (aumento 1000X)	51
6.8	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano irradiado com <i>laser</i> de Nd:YAG com parâmetros: 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz (aumento 10000X)	52

6.9	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano irradiado com <i>laser</i> de Nd:YAG com parâmetros: 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz (aumento 20000X)	52
6.10	Perfil do feixe do laser e região modificada pela radiação	53
6.11	Resultado da profundidade atingida pelo feixe de pulso curto em função da densidade de energia aplicada	53
6.12	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino destacando a região prismática após ataque com ácido láctico	54
6.13	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino destacando a região prismática após ataque com ácido acético	54
6.14	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino irradiado 40 J/cm^2 , 10 ns, 10 Hz, destacando a região prismática após ataque com ácido láctico	55
6.15	Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino irradiado 40 J/cm^2 , 10 ns, 10 Hz, destacando a região prismática após ataque com ácido acético	55
6.16	Percentual em peso de elementos majoritários existentes em amostras de esmalte dental humano não irradiadas adquiridas por EDS	58
6.17	Espectro característico de uma amostra de esmalte dental humano-Percentual em peso de elementos majoritários e traço existentes em amostras de esmalte dental humano	59
6.18	Mapeamento da composição química elementar de amostra de esmalte dental bovino controle, em função da intensidade e da energia	60
6.19	Mapa da composição química elementar de amostra de esmalte dental bovino irradiado para a condição de energia 20 J/cm^2	60
6.20	Correlação entre teor de Cálcio e Fósforo presente no esmalte dental (não irradiado) cujo $r=0.803$	62
6.21	Correlação entre teor de Cálcio e Fósforo presente no esmalte dental irradiado cujo $r=0.637$, densidade de energia 20 J/cm^2 , 6ns, 5 Hz	62
6.22	Correlação entre teor de Cálcio e Fósforo presente no esmalte dental irradiado cujo $r=0.612$, densidade de energia 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz	63

6.23	Percentuais de elementos majoritários obtidos por FRX para cimento dental bovino controle e irradiado ($40 J/cm^{-2}$, 10 ns, 5 Hz)	68
6.24	Elementos majoritários e traço presentes em amostras de tecido dental	69
6.25	Espectro de absorvância de esmalte dental humano submetido a $\lambda = 1.064nm$, 10 e $40 J/cm^2$ e largura de pulso de 6 ns, 5 Hz	74
6.26	Espectro de absorvância por FTIR de esmalte dental humano submetido à $\lambda = 1.064nm$, 40 e $10 J/cm^2$ e largura de pulso de 6 ns para a faixa espectral de 1800 a $1300 cm^{-1}$	75
6.27	Espectro de absorvância por FTIR de esmalte dental humano submetido à $\lambda = 1.064nm$, 40 e $10 J/cm^2$ e largura de pulso de 6 ns para a faixa espectral de 1500 a $800 cm^{-1}$	75
6.28	Espectro de absorvância por FTIR de esmalte dental humano submetido a $\lambda = 1.064nm$, 40 e $10 J/cm^2$ e largura de pulso de 6 ns para a região de 900- $400 cm^{-1}$	76
6.29	Ajuste matemático para a determinação da área sob as bandas	77
6.30	Espectro de absorvância de esmalte e dentina humana na região de 1300- $700 cm^{-1}$	77
6.31	Espectro de absorvância de esmalte bovino para a condição $20 J/cm^2$, 6 ns, 5 Hz	78
6.32	Área sob as bandas de absorvância de esmalte dental controle e irradiado	79
6.33	Razão da área da banda à $1030 cm^{-1}$ sob as bandas de absorvância de esmalte dental humano controle e irradiado, $40 J/cm^2$, 6 ns e 5 Hz . . .	79
6.34	Espectro de Reflexão de esmalte humano	80
6.35	Espectro de Reflexão de esmalte bovino	80
6.36	Espectro de absorvância de esmalte humano controle e irradiado para a região à $1030 cm^{-1}$	81
6.37	Área sob as bandas de absorvância de esmalte bovino controle e irradiada	81
6.38	Espectro de absorvância de dentina bovina submetida a irradiação com densidades de energia de 10 e $22.5 J/cm^2$, largura temporal de 200 ns e taxa de repetição de 7 Hz	85
6.39	Área sob as bandas de absorvância de dentina humana controle e irradiada	85

6.40	Área sob as bandas de absorvância de dentina humana controle e irradiada para 40 J/cm^2 , 6ns, 5Hz	86
6.41	Área sob as bandas de absorvância de dentina bovina controle e irradiada	86
6.42	Área sob as bandas de absorvância de dentina radicular bovina controle e irradiada	87
6.43	Relação entre intensidades para raiz bovina controle e irradiada para a condição de 10 J/cm^2 , 200 ns e 7 Hz	88
6.44	Espectro de absorvância da raiz bovina para o pico relativo ao grupo fosfato na posição 1.030 cm^{-1} (10 J/cm^2 , 200 ns e 7 Hz)	89
6.45	Relação entre absorvância para raiz bovina controle e irradiada para o pico relativo a Amida I e II (10 J/cm^2 , 200 ns e 7 Hz)	90
6.46	Relação entre absorvância para raiz bovina controle e irradiada para 20 J/cm^2 , 6 ns e 5 Hz	91
6.47	Espectro de absorvância do cimento bovino	93
6.48	Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Amida I	94
6.49	Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Amida II	95
6.50	Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Amida III	96
6.51	Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Carbonato	96
6.52	Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Carbonato	97
6.53	Espectro de absorvância de cimento bovino	97
6.54	Espectro de Reflexão de cimento bovino	98
6.55	Espectro de Reflexão de cimento bovino	99
6.56	Valores de Microdureza Vickers associado ao valor da diagonal medida	100
6.57	Valores de Microdureza Vickers para esmalte dental humano (40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz)	100

7.1	Valores da temperatura obtidos para um <i>laser</i> de Nd:YAG operando no modo contínuo	107
7.2	Mapeamento da variação da temperatura (Valores Médios)	108
7.3	Variação da temperatura relacionado com a profundidade atingida pelo <i>laser</i>	109
7.4	Variação da temperatura relacionado com o tempo de exposição	110
7.5	Comportamento térmico associado com a profundidade para diferentes larguras temporais	111
7.6	Variação da temperatura com a profundidade para o esmalte, com diferentes tempos fixos: 0.001 ms (verm), 0.005 ms (azul-claro), 0.01 ms (amarelo), 0.05 ms (verde), 0.1 ms (azul)	112
7.7	Variação da temperatura com o tempo para o esmalte, com diferentes profundidades fixas: 0.0 (vermelho), 0.01 (azul-claro), 0.02 (amarelo), 0.005 (verde). Em unidades de 0.01 um	113
7.8	Variação da temperatura com a profundidade para a dentina, com diferentes tempos fixos: 0.001 ms (verm), 0.005 ms (azul-claro), 0.01 ms (amarelo), 0.05 ms (verde), 0.1 ms (azul)	115
7.9	Variação da temperatura com o tempo para a dentina, com diferentes profundidades fixas: 0.0 (vermelho), 0.01 (azul-claro), 0.02 (amarelo), 0.005 (verde). Em unidades de 0.01 um	116

Lista de Tabelas

5.1	<i>LASER</i> - Protótipo- Nd:YAG (IPEN)	28
5.2	<i>LASER</i> - Comercial- Nd:YAG Continuum-Surelite- SSP	28
5.3	<i>LASER</i> - Comercial- Nd:YAG (UFPE)	28
5.4	Técnicas de caracterização: alcances em tamanho	30
5.5	Propriedades das Técnicas de Microscopia	31
6.1	Dimensão da região de esmalte dental humano modificada pelo <i>laser</i> para diferentes densidades de energia	51
6.2	Análise elementar (% peso)para o esmalte por EDS para densidade de energia de $40 J/cm^2$, largura temporal 10 ns, 5 Hz	57
6.3	Resultado da análise quantitativa do esmalte dental após a irradiação com <i>laser</i>	57
6.4	Análise elementar (% peso)para o esmalte por FRX	64
6.5	Composição química do esmalte dental(percentual em peso) estabelecida por Hodge,H.C.	65
6.6	Composição química dos tecidos dentais(percentual em peso) estabelecida por Zipkin, I.	65
6.7	Análise elementar (% peso)para a dentina bovina por FRX	66
6.8	Análise da composição química elementar (% peso) para pastilhas de tecidos dentais por FRX (parâmetro de $40 J/cm^2$, largura temporal de 10 ns e taxa de repetição de 10 Hz)	67
6.9	Análise elementar (% peso)para o cimento bovino por FRX	67
6.10	Resultado da análise de variância de um fator para o conteúdo de Cálcio do cimento bovino por FRX ($40Jcm^{-2}$, 10 ns, 5 Hz)	68

6.11	Resultado da análise de variância de um fator para o conteúdo de Fósforo da amostra de cimento bovino por FRX ($40Jcm^{-2}$, 10 ns, 5 Hz)	68
6.12	Concentração de <i>Cálcio</i> no esmalte dental humano controle de dentes molares sem lesão	70
6.13	Concentração de <i>Zinco</i> no esmalte dental de dentes molares sem lesão .	71
6.14	Comparação qualitativa da concentração de Cálcio entre as técnicas de FRX e INAA	71
6.15	Valores médios de análise da taxa I/C para as bandas predominantes em amostra de Esmalte Dental Humano	82
6.16	Valores Médios das bandas de absorbância para dentina bovina	84
6.17	Valores Médios de picos de absorção para amostra de cimento bovino .	92
6.18	Valores de Microdureza Vickers para esmalte e dentina segundo exposto na literatura	101
6.19	Valores Médios de Microdureza Vickers para esmalte dental humano e bovino com distintas condições de irradiação	101
7.1	Características do Termopar Tipo T	105
7.2	Parâmetros térmicos de tecidos dentais duros usados no cálculo	107

Alterações Químicas e Físicas de Tecidos Duros Irrradiados por *Laser* de Neodímio Chaveado

Andrea Antunes Pereira

Resumo

O presente trabalho situa-se na área de *Lasers* em Ciências da Vida e visa contribuir para a prevenção de cáries, propondo o estudo das propriedades químicas, físicas e morfológicas dos tecidos dentais duros após a interação com radiação *laser* em 1.064nm, avaliada no domínio da largura temporal da ordem de nanosegundos.

A identificação e quantificação dos elementos químicos presentes nas amostras de tecido duro foi efetivada através das técnicas de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS), Fluorescência de Raios-X (FRX) e Ativação por Nêutron Instrumental (INAA). Determinamos a razão de átomos de [Ca]/[P] para as diferentes técnicas. Os valores médios da razão de átomos de [Ca]/[P] foi superior para a quase totalidade das amostras irradiadas.

Foi efetivada a análise em diferentes regiões da superfície e para diferentes áreas permitindo uma descrição quanto a mudança química na área total do espécime e a avaliação da homogeneidade composicional de cada espécime. Uma comparação entre os resultados das técnicas de FRX e INAA foi realizada.

Com base na análise morfológica das superfícies irradiadas com *laser* de Nd:YAG chaveado determinamos a área abrangida pela irradiação para os parâmetros desta tese, assim esta técnica permitiu-nos visualizar as regiões de fusão e re-solidificação. Os parâmetros variaram de 10 J/cm^2 para 40 J/cm^2 para larguras temporais de 6 ns, 10 ns e 200 ns e taxas de repetição de 5 e 7 Hz. A espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier foi o método físico-químico utilizado para o estudo das interações energéticas nos compostos orgânicos e inorgânicos constituintes da estrutura dental. Observamos as modificações nos espectros de absorbância característicos dos tecidos dentais no período anterior e posterior a irradiação para as condições definidas desta tese. Os resultados indicaram uma redução nas bandas relativas ao conteúdo

protéico e água, juntamente com alterações nos grupos fosfato e carbonato. Determinamos a razão entre a área da banda controle e irradiada e os resultados sugeriram um aumento na área sob a curva para as distintas condições de irradiação.

Monitoramos o aumento da temperatura ocasionado pela irradiação com o uso de um termopar tipo-T fixado na câmara pulpar. O resultado obtido para o maior valor de densidade de energia mostrou-se inferior a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, o que viabiliza seu uso sem comprometimento da polpa dental.

Com base em modelos apresentados na literatura para a transferência de calor efetivamos simulações numérica utilizando os parâmetros de irradiação desta tese e simulamos a variação da temperatura em profundidade e para distintos tempos de exposição sob o esmalte e a dentina.

Chemical and Physical Analysis on Hard Tissues after Irradiation with Short Pulse Nd:YAG Laser

Andrea Antunes Pereira

Abstract

This work reports on a study that was designed to investigate chemical, physical and morphological alterations in the dental enamel surface. The influence of application of *laser* in enamel surface by microscopic technical, X-ray fluorescence for chemical analysis, physical property as well as hardness and thermal analysis with Nd:YAG *laser* is also pointed out. A prototype of Nd:YAG (Q-switched) *laser* developed at the Center of Lasers and Applications - Institute of Energetic and Nuclear Research, aiming applications in the Medical Sciences that typical wavelength of 1.064 nm was used. The modifications in human dental enamel chemical composition for major and trace elements are here outlined. The accuracy of procedures was performed by analysis of natural hydroxyapatite as standard reference material.

The identification and quantification of the chemical elements presented in the dental tissue samples were performed through EDS, XRF and INAA. We determined the ratio Calcium/Phosphorus (Ca/P) for different techniques. We performed an analysis in different regions of the surface and for different areas allowing a description of the chemical change in the total area of the specimen and the assessment of the compositional homogeneity of the each specimen. A comparison between XRF and INAA is presented. Based on morphological analysis of the irradiated surfaces with short pulse Nd:YAG *laser* we determined the area surrounded by the irradiation for the parameters for this thesis, and this technique allowed us to visualize the regions of fusion and re-solidification. The energy densities ranged from 10 J/cm^2 to 40 J/cm^2 , with pulse width of 6, 10 e 200 ns, and repetition rates of 5 and 7 Hz.

In this thesis, FTIR-spectroscopy is used to analyze powder of mineralized tissue as well as enamel, dentine, root and cementum for human and bovine teeth after irradiation with short-pulse Nd:YAG *laser*. Characteristic spectra were obtained for

the proteins components and mineral compound of dental tissue.

We determined the rate between the area of the control and irradiated bands and the results pointed out an enlargement in the area below the curve of the distinct conditions of irradiation.

We monitored the raise of temperature caused by irradiation using the T-thermocouple fixed on the pulpar chamber. The result obtained for the highest value of the energy density was inferior to 5 °C, which indicates that its use is viable without damage on the dental pulp.

Based on models already presented in the literature for the heat transfer we performed numeric simulations using the irradiation parameters from this thesis and we simulated the temperature variation in deepness and for different exposition time on the enamel and the dentine.

Keywords: teeth, Nd:YAG laser, XRF, INAA, CA/P, rate, nanosecond, picosecond, FT-IR, absorption bands

Agradecimentos

À Professora Dra. Denise Maria Zezell, pela idealização desta pesquisa, juntamente com seu suporte científico, pelas atitudes e pelo apoio nas decisões.

Ao Professor Dr. Wagner de Rossi, pelo acompanhamento minucioso do trabalho e apoio no andamento desta tese. Agradeço a leitura atenta desta tese.

À amiga e Professora Vera Salvador, pelo suporte científico recebido em todas as etapas desta tese. Seu apoio foi fundamental para a conclusão deste trabalho. Agradeço o suporte de sua equipe.

À amiga Stefânia com quem compartilhei momentos importantes na UCSF. Tenho certeza que nesta vida não conseguirei retribuir o apoio recebido. Obrigada sempre!

À amiga e Professora Martha Simões Ribeiro, pela pessoa maravilhosa e justa para com todos.

Especialmente agradeço a Elsinha por sua eficiente presteza às infindáveis vezes que necessitei.

À amiga e Professora Lúcia Prado, pela sua conduta ética, seu entusiasmo e respeito para com todos. Obrigada por ampliar minha visão sobre pesquisa.

À Professora Dra. Ana Maria Graciano Figueiredo, pelo precioso auxílio nas análises realizadas na Divisão de Radioquímica do IPEN em especial durante as análises por Ativação com Nêutron Instrumental.

À equipe do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco na qual expressei meu agradecimento nos nomes do Professor Anderson Gomes e da Professora Sandra Vianna.

Aos Professores Dr. J. White, Dr. Peter Rechmann, Dr. Daniel Fried e Dra. Sally Marshall, University of California- San Francisco, pelo apoio recebido e uso das instalações da universidade para realização de ensaios desta tese.

Aos amigos da University of California- San Francisco em especial ao Larry, Grace, Stefan, Marcia, Megan. Page, Charles, Kamni, Naheed, Silvia Cechinni e todas as outras pessoas com quem compartilhei excelentes momentos.

À amiga Sandra, Renan, Edileuza do CCTM pelo apoio e suporte técnico.

À amiga Sarita pelo apoio, amizade e pelo precioso suporte com o MEV.

Ao Paulinho do LME-LNLS pelo auxílio no MEV e pela amizade.

Às minhas *roommates* Luciana, Simone, Michele e Hudielle, agradeço a boa convivência e apoio.

À Comissão de Pós-graduação pelo apoio e suporte em especial ao Prof. Dr. Roggero, ao amigo Fernando Moreira. Ilze, Verinha e Aninha.

Aos amigos de todas as horas: Débora Coimbra, Cláudia Radaelli e Ricardo, Aninha e Miltinho, Claudinha e Fábio. Regiane e Murilo, Suelene e Vítor, Patrícia e Silvio, Sabrina e Cláudia Marques. Obrigado pela amizade e apoio em todos os momentos.

Aos companheiros de trabalho do Laboratório de Lasers em Ciências da Vida.

Ao amigo especial Sandrinho pelo apoio e oportunidade de compartilhar momentos felizes e de reflexão sobre as etapas a transpor nesta tese.

Aos amigos especiais Aécio Yamada Jr e Ricardo Reda Hayek, por compartilhar pensamentos, condutas e principalmente pela afinidade que existe entre nós. À amiga Karin, pela cumpricidade e conduta. Às amigas Adriana e Renata que me agradam sempre com sua atenção e carinho.

Aos amigos Daniela, Walter, Luciano, Cassius e Tarso agradeço o precioso auxílio.

À minha mãe Carmen, ao meu irmão Anderson, minha sogra Esther e meu sogro Ramos, pelo apoio em todas as etapas deste trabalho. Aos meus irmãos Adriana, Alexandre e Aline agradeço o apoio em todas as horas.

À querida amiga Elisa pela amizade e apoio em todos os momentos. Obrigada!

Aos amigos especiais Ana, Irene, Miho, Maurício, Marcos, Manuel, Natalie, João, Mônica, Jorge e Alder.

Às amigas Cleide e Cris pelo grande incentivo.

Aos amigos de sala Felipe, Fábio e Paulo.

Aos amigos Marquinhos, Paulinho, Sr. Apolinário e Sr. Braga.

As meninas que auxiliam na manutenção do instituto. Agradecimento especial a

Severina.

À todos os amigos estudantes, professores e funcionários do instituto dos quais recebi apoio para executar todas as atividades. Obrigado pela solidariedade!

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN e ao Centro de Lasers e Aplicações pelo suporte técnico, científico e a utilização de suas instalações para a realização desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo- FAPESP pelo apoio concedido (Processo: 00/07378-9).

À Deus, pela oportunidade de concretizar este trabalho.

Capítulo 1

Introdução

A agregação de novas tecnologias no desenvolvimento de técnicas e sistemas experimentais inovadores, na busca de interpretações satisfatórias acerca do complexo mundo biológico, tem sido efetuada freqüentemente nas últimas décadas. Essa associação de idéias corresponde a uma estratégia multidisciplinar de geração de hipóteses que permitem a compreensão mais detalhada e funcional de tais sistemas.

A presente tese pretende apresentar uma descrição dos mecanismos de interação do *laser* de Nd:YAG de pulsos curtos com os tecidos dentais. Uma descrição sucinta dos diferentes empregos do *laser* de Nd:YAG como auxiliar em tratamentos odontológicos é apresentada.

A cárie dental é uma doença multifatorial que envolve desde características genéticas até as relacionadas ao meio oral [2]. Como a doença é apresentada por grande parte da população, seu tratamento deve ser priorizado. A prevalência das cáries e o desenvolvimento de estudos dos mecanismos de progresso da doença têm apontado para a importância do diagnóstico precoce (desde o início de sua incidência) e do tratamento restaurador sem traumas. A busca de métodos eficazes de diagnóstico da lesão e de agentes preventivos tem sido intensificada nas últimas décadas, permitindo assim uma abordagem cada vez mais enfática da utilização do *laser* como elemento auxiliar no processo preventivo.

Na década de 80, o trabalho de Pinto [3] diagnostica altíssimos padrões de ataque pela cárie dental em todas as faixas etárias. O gráfico da Figura 1.1 mostra a evolução da doença em grupos etários. O crescimento contínuo do índice de cárie ao longo da

vida tem como razão primordial e dominante a realização de extrações múltiplas e em larga escala, sendo esta a manifestação principal do quadro epidemiológico vigente.

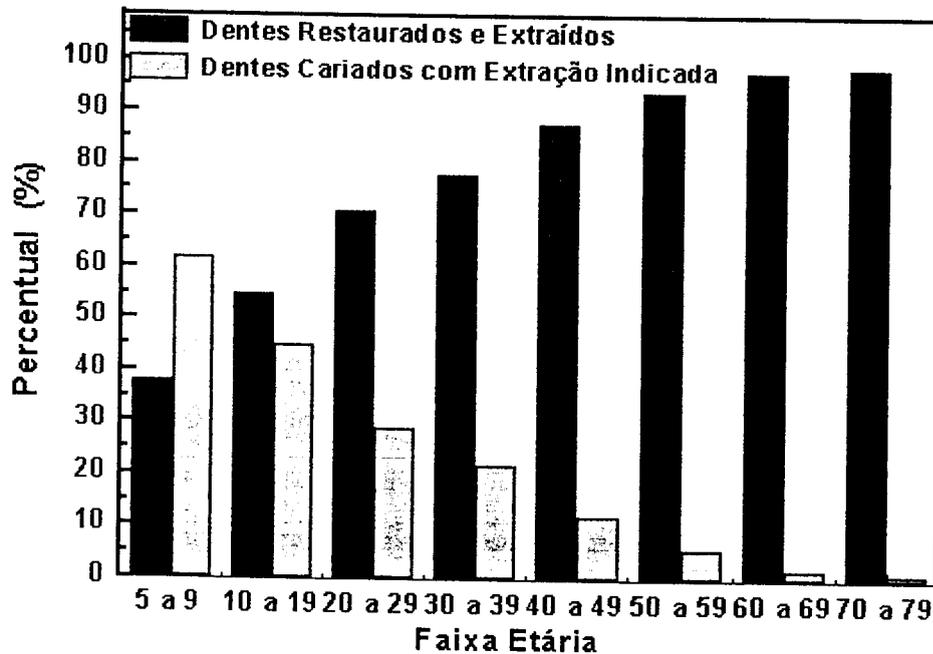


Figura 1.1: Percentuais de Incidência de Cárie por faixa etária (Dados extraídos do trabalho de Pinto, V. [3]).

O efeito da radiação *laser* sobre estruturas biológicas pode ser avaliado em termos do que ocorre quando a energia proveniente da luz *laser* interage com a matéria. Outros mecanismos de interação do tecido com a luz *laser* envolvem processos biológicos e fisiológicos do tecido, os quais são mais complexos em natureza e refletem uma maior interrelação intrínseca à matéria viva. Portanto, no que se refere à interação entre a radiação e o tecido devemos ter total controle dos parâmetros da fonte *laser* e o conhecimento das propriedades físicas dos tecidos biológicos que pretendemos estudar.

Nos tecidos dentais duros, a radiação *laser* pode ser absorvida, espalhada, refletida e transmitida. O efeito coadjuvante do *laser* está relacionado com os parâmetros do *laser*, tais como: comprimento de onda, intensidade, densidade de energia, largura de pulso e coeficiente de absorção dos tecidos a serem irradiados. Ambas as partes mecânica e térmica da interação são influenciadas pela natureza do material e pelas

variáveis acima mencionadas. Quando um feixe irradia a superfície do tecido, parte da luz penetra no tecido e parte pode ser refletida difusamente. A energia absorvida é convertida em calor e distribuída através do tecido. Essa conversão e a sua distribuição espacial são baseadas na combinação das propriedades ópticas e térmicas particulares a cada tecido, conforme apresentado na figura 1.2.

Identificaremos inicialmente as propriedades fundamentais e parâmetros da fonte *laser* que serão imprescindíveis para a compreensão das alterações ocasionadas no tecido após esta interação. O primeiro parâmetro é o comprimento da radiação emitida pelo *laser*, sua densidade de energia e características temporais do feixe, regime de operação contínuo ou pulsado e a taxa de repetição.

Outros aspectos relacionados aos procedimentos experimentais para a interação tais como modo contato e não contato, por fibra-óptica ou feixe focalizado sobre a superfície também são considerados para uma descrição desta interação. Os parâmetros energia e duração de pulso do *laser* são relevantes para nosso estudo, pois a relação com experimentos já efetivados com pulso longo de Nd:YAG abordados na literatura será efetuada.

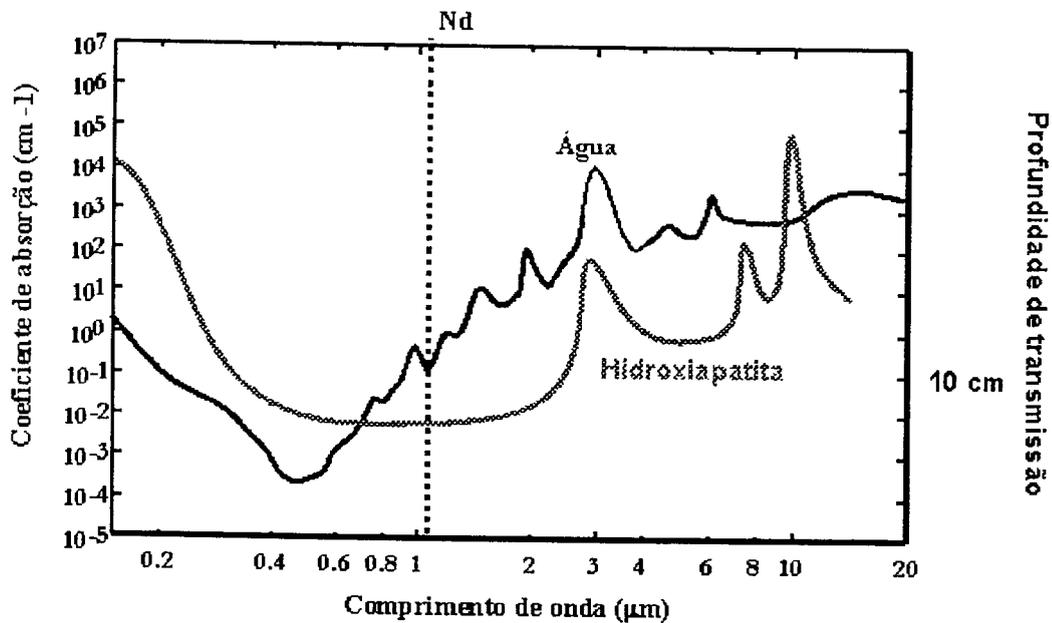


Figura 1.2: Coeficiente de absorção para os cromóforos do tecido dental relacionado com distintos comprimentos de onda.

Os fatores biológicos que influenciam esta interação são mais extensos. Incluem-se

as propriedades ópticas de vários elementos do tecido que são responsáveis por componentes químicos e moleculares específicos no tecido que reagem com a energia da fonte *laser*. A propriedade óptica do tecido determina a natureza e a extensão da resposta do tecido através dos processos de absorção, transmissão e reflexão e espalhamento do feixe *laser* [4]. Outros fatores são associados a vários tipos de processos fisiológicos e mecânicos que ocorrem como resultado das transformações de energia dentro do tecido. Estes incluem condução de calor e dissipação dentro da massa tecidual, resposta inflamatória do tecido e mecanismos de reparação.

Métodos típicos para a descrição do efeito dos *lasers* sobre o tecido dental têm sido objeto de estudo de outras especialidades. As modalidades usadas para a caracterização das modificações morfológicas da superfície tem sido: 1) *Perfilometria*; 2) *exame por microscopia eletrônica de varredura*; 3) *processamento de imagens digitais de fotomicrografias*; 4) *programas de software para o desenvolvimento de equações fractais para caracterização morfológica da superfície*; 5) *análise elementar das alterações físico-químicas sob a superfície*; e 6) *topografia tridimensional gráfica para reconstrução da superfície do esmalte*. Dentre os métodos acima mencionados, executaremos a microscopia eletrônica de varredura e análise elementar das alterações físico-químicas sob a superfície.

Como exemplos da aplicação do *laser* de Nd:YAG em Odontologia, podemos destacar: prevenção de cárie dental [5-7, 9, 10], remoção de tecidos duros cariados [11], cirurgias de remoção de tecidos moles [12], redução microbiana endodôntica e periodontal [13], tratamento para a hipersensibilidade dentária [14], entre outros.

Nas aplicações biomédicas, *lasers* de pulsos de longa duração temporal são frequentemente utilizados e têm-se estabelecido parâmetros de irradiação para o emprego em tecidos dentais duros e moles. Efeitos dinâmicos produzidos pela interação do *laser* com o material têm diferentes morfologias tais como ablação, fusão e re-solidificação. A influência de diferentes larguras temporais do pulso de *laser* é efetiva no controle do dano término e conseqüentemente do não comprometimento do tecido em estudo.

O estudo da interação da radiação *laser* com tecidos dentais moles e duros é, atualmente, um campo de intensa investigação. Isso se deve aos resultados favoráveis obtidos na utilização desta tecnologia em cirurgias orais. A remoção de tumores e lesões de

mucosa e outros tecidos moles bucais com *lasers* de rubi, argônio, neodímio e dióxido de carbono resultou em procedimentos com campo operatório mais limpo, excelente hemostasia e em geral com pós-operatório melhor do que com técnicas convencionais somente, permitindo o estudo de novas aplicações em cavidade oral [2].

O número de cirurgiões dentistas interessados na utilização do *laser* para o tratamento de tecidos moles e duros tem aumentado significativamente nos últimos anos. Os motivos do interesse são fundamentados no fato do *laser* ser uma tecnologia promissora para o desenvolvimento de aplicações nas áreas médicas e a possibilidade de realização de tratamentos com mais sucesso do que os convencionalmente utilizados.

1.1 Motivação

O *laser* de Nd:YAG empregado nesta pesquisa é um protótipo desenvolvido no Centro de *Lasers* e Aplicações do IPEN cujo sistema de montagem experimental permite a realização de modificações em sua configuração permitindo com isso, o uso deste como uma fonte de radiação pulsada, operando na faixa temporal de centenas de microsegundos. Com a inserção de um chaveador passivo na cavidade óptica, podemos operar com larguras temporais da ordem de nanosegundos. Este artefato garante a flexibilidade do sistema para aplicações biomédicas em estudos *in vitro* como proposto nesta tese. Também utilizamos sistemas *laser* em operação na Universidade Federal de Pernambuco operando na faixa temporal de 6 ns e 200 ns com a finalidade de comparar os resultados obtidos com o protótipo desenvolvido no Instituto e com *lasers* comerciais.

No que se refere ao tecido em análise, estamos longe de caracterizar completamente os mecanismos de interação entre a radiação *laser* e os tecidos biológicos devido à variação nas propriedades físicas e químicas, particularmente. A interação do *laser* com o tecido pode ser interpretada e classificada para interações fototérmicas, fotomecânicas ou fotoquímicas, entretanto, muitas interações não estão claramente entendidas e nem inseridas nas categorias descritas. Assim, é bastante complexo definir os limites destas interações e conseqüentemente caracterizar de maneira conclusiva estes sistemas.

A busca por métodos efetivos de prevenção de cáries, que possam ser implantados, principalmente em grandes centros de atendimentos a pacientes é desejável e necessária

a um país como o Brasil que é considerado como tendo um dos maiores índices de cáries do mundo.

1.2 Aspectos de Originalidade

A contribuição original deste trabalho é a avaliação das alterações químicas ocorridas nos tecidos odontológicos duros irradiados com *laser* de Nd:YAG chaveado pelo uso da técnica de FTIR.

1.3 Organização da Tese

No Capítulo 2, apresentamos os objetivos propostos para esta tese. No Capítulo 3 descrevemos detalhadamente o tecido duro e as implicações da instauração do processo cariogênico no mesmo, seguidos da importância do desenvolvimento de mecanismos preventivos para o combate à cárie. As considerações sobre o *laser*, seus parâmetros, configuração e sistema óptico e os atributos ideais da argumentação para a seleção do Nd:YAG como *laser* mais adequado nesta proposta constam no Capítulo 4. As técnicas empregadas para a caracterização do material biológico são exploradas no Capítulo 5, no qual destacamos os limites de resolução específico a cada técnica para as situações-problema de interesse. No Capítulo 6, apresentamos os resultados obtidos e uma discussão dos mesmos, através da correlação entre resultados de diferentes técnicas experimentais e comparação destes resultados à outros obtidos recentemente na literatura. Propomos no Capítulo 7 uma abordagem teórica sobre os mecanismos térmicos de transporte da radiação *laser* para o tecido biológico enfocando detalhes desta interação para diferentes larguras temporais a partir de modelos definidos na literatura. Uma comparação com nosso conjunto de resultados experimentais para o transporte de calor ao longo do tecido dental permitiu-nos a realização de uma simulação numérica. As considerações finais do trabalho são apresentadas no Capítulo 8, no qual destacamos nossas principais contribuições e nossas perspectivas para prosseguimento de trabalhos acerca das interações aqui estudadas.

Capítulo 2

Objetivos

O objetivo principal desta tese é a investigação das propriedades químicas e físicas do tecido dental após a interação com a luz proveniente de uma fonte *laser* de neodímio, operando nos regimes chaveado (*Q-switched*) e modo acoplado (*Mode-Locking*). Pretende-se avaliar o efeito de variação da taxa de repetição e larguras temporais (subnanossegundos e dezenas de nanossegundos) nas mudanças estruturais da superfície do esmalte, para verificar se a irradiação proporciona uma superfície mais resistente fisicamente e quimicamente.

Para avaliar as modificações morfológicas em seguimento à irradiação dos espécimes com *laser* empregamos a técnica de microscopia eletrônica de varredura.

As alterações provenientes da interação *laser* com os compostos orgânicos e inorgânicos dos tecidos dentais submetidos à irradiação foram mensuradas por espectroscopia por transformada de Fourier na região do infravermelho próximo.

As concentrações químicas médias dos macroelementos e elementos traço para os tecidos não irradiados e submetidos à ação do laser foram analisados por Fluorescência de Raios-X, Energia Dispersiva de Raios-X e Ativação por Nêutron Instrumental.

Implementamos ainda uma técnica numérica para simulação da propagação de calor ao longo do tecido dental durante a irradiação com *laser* para as condições definidas neste trabalho.

Capítulo 3

Evolução histórica

Estudos sobre a interação da luz *laser* em tecidos duros são recentes e estão concentrados principalmente nos processos de preparação de cavidades. Nesses trabalhos foram utilizados diversos *lasers*, entre eles os de neodímio, argônio, dióxido de carbono, hólmio, érbio, hélio-neônio e arseneto de gálio-alumínio. Os primeiros estudos clínicos utilizaram o *laser* em cirurgias de tecido mole e os estudos subsequentes foram estendidos para tecidos duros.

Renovado entusiasmo ocorreu em meados de 1980 com a introdução do primeiro *laser* especificamente designado para uso na cavidade oral [15].

As primeiras aplicações do *laser* de Nd:YAG em tecidos dentais consideraram inviável o uso desse *laser* em função do aquecimento excessivo em alguns estudos de gerador de necrose pulpar [16], devido aos parâmetros de irradiação e modo de operação.

O *laser* de Nd:YAG emite um comprimento de onda com maior penetração nos tecidos dentais duros quando comparado à outros *laser* como Érbio e CO_2 , devido à pouca absorção pela hidroxiapatita, água e o pelos demais cromóforos que são constituintes deste tecido .

A aplicação do *laser* de Nd:YAG pulsado sobre a superfície do esmalte resultou numa superfície regular e num aumento na resistência a ataques com solução ácida [6]. O aspecto morfológico da superfície apresenta regiões fundidas para densidade de energia de $50 J/cm^2$ que produz a elevação transiente de temperatura na superfície de aproximadamente $1000^\circ C$.

Estudos relatam a eficiência deste *laser* em processos de remoção de tecido cariado presente no esmalte e dentina com uso aprovado pelo órgão responsável pela fiscalização de medicamentos nos Estados Unidos (*FDA-Food Drug Administration*).

Muitos trabalhos empregaram fotoiniciadores objetivando aumentar a eficiência de absorção do *laser* de Nd:YAG pelo tecido alvo para o tratamento dos tecidos dentais duros [5, 17–19].

A análise “*in vitro*” dos efeitos do *laser* de Nd:YAG em superfícies de esmalte dental foram investigadas para distintas densidades de energia seguida da aplicação de flúor fosfato acidulado, anterior e posteriormente à irradiação [20]. Uma camada superficial de cromóforo absorvedor foi aplicada sobre a superfície com a finalidade de produzir um aumento na absorção do *laser*. Os resultados obtidos demonstraram que a distribuição de cálcio, fósforo e flúor para o grupo controle correspondia a um valor inferior ao obtido após a aplicação de flúor fosfato acidulado e que a distribuição de flúor era superior neste caso. Nas áreas circunvizinhas à região modificada pelo *laser* detectou-se maior concentração de cálcio e flúor, com uma redução do conteúdo de fosfato. Alguns autores sustentam a hipótese de que a redução na quantidade de fosfato possibilita um acréscimo na solubilidade do esmalte [21].

Estudo posterior apresenta a irradiação de sulcos e fissuras com *laser* de Nd:YAG. Esta pesquisa teve como objetivo a avaliação do grau de limpeza resultante da irradiação e a correlação com a resistência à ataques ácidos contraída pela superfície do esmalte. Oitenta e oito espécimes receberam a aplicação de cromóforo absorvedor [17]. A energia *laser* foi fornecida ao tecido por meio de uma fibra óptica com diâmetro de 200 micrômetros. A energia utilizada foi de 0.75 J com pulso de duração temporal de 0.3 ms, uma taxa de repetição de 20 Hz e o tempo de exposição do tecido ao *laser* foi limitado à 0.5 s. Avaliação morfológica mostrou áreas de fusão na superfície irradiada.

Regiões de sulcos e fissuras de dentes pré-molares foram irradiados com *laser* de Nd:YAG através de uma fibra com diâmetro de 320 micrômetros. Vinte dentes receberam uma camada superficial de pigmento absorvedor (tinta nanquim) anteriormente à irradiação [19]. Aspectos da superfície após a irradiação confirmaram a presença de áreas de fusão. Para a avaliação do selamento de sulcos e fissuras, os autores observaram que um procedimento convencional deveria ser usado para um completo selamento

dessas regiões, tendo em vista que somente a irradiação não produz o selamento.

Estudo “in vivo” foi desenvolvido visando uma avaliação prolongada (um ano) das modificações morfológicas em pacientes com faixa etária de seis a quinze anos. Trezentos e trinta e dois dentes permanentes selecionados possuíam ausência de cavitações ocasionadas por cárie ou descalcificação na região dos sulcos [5]. Os espécimes foram irradiados com *laser* de Nd:YAG com imediata aplicação de flúor. As laterais da mesma posição relativa corresponderam ao grupo controle. Para verificar a eficiência de pigmentos absorvedores foi efetuada uma comparação entre tinta nanquim, delineador, solução evidenciadora de placa bacteriana e finalmente, uma mistura de pó de carvão dissolvida em água e etanol. Os diferentes cromóforos foram aplicados na superfície do esmalte, com posterior irradiação dos espécimes.

A inspeção morfológica foi verificada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mais expressivos foram obtidos com a tinta nanquim e a solução de carvão devido a presença de regiões das superfícies do esmalte fundidas e ressolidificadas. Dos cromóforos avaliados, a mistura de carvão correspondeu ao agente mais facilmente removido e sua aplicação clínica num estudo desta dimensão foi pioneira.

Os parâmetros de irradiação corresponderam à potência média de 0.6 W, energia de 60 mJ e taxa de repetição de 10 Hz; um sistema de fibra óptica com diâmetro de 300 micrômetros foi usado para remeter a energia ao tecido, com densidade de energia aproximada de $85 J/cm^2$. Movimentos de varredura foram efetuados com a fibra sobre os sulcos e seguidos da aplicação de flúor. Este estudo validou o uso clínico do laser de Nd:YAG com seqüente aplicação tópica de flúor. As alterações morfológicas na superfície através da observação de fusão e ressolidificação juntamente com a aplicação de flúor constituem um tratamento auxiliar satisfatório para o controle da doença cárie.

Outra constatação da viabilidade do uso do *laser* de Nd:YAG em processos preventivos foi observada num estudo comparativo com o *laser* de Er:YAG [22]. O *laser* de Nd:YAG com densidade de energia de $31.08 J/cm^2$, taxa de repetição de 10 Hz e tempo de exposição de 60 s mostrou que a modificação morfológica com acréscimo na resistência à ataques com ácidos foi efetiva, correspondendo um indicativo da eficácia do uso do *laser* como método alternativo na prevenção de cáries oclusais.

Podemos destacar a aplicação da radiação-*laser* em tecidos moles como coadjuvante

em cirurgias periodontais, gengivectomia e remoção de pigmentação em tecido gengival. Na endodontia, alguns *lasers* têm apresentado resultados excelentes na redução bacteriana intracanal. No campo da dentística, já é possível o uso do *laser* na remoção de cáries e detritos dos sulcos, fóssulas e fissuras, preparos cavitários e outros. Na prevenção de cáries, o uso da luz *laser* é um método novo e eficaz, havendo nos últimos anos um número significativo de pesquisas que propiciaram o avanço desta aplicação.

A cárie afeta uma porção considerável da população brasileira causando altos níveis de ausência às atividades profissionais e do dia-a-dia. Comparado à outros países temos um dos maiores índices de cáries de todo mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde- OMS. Este fato reforça a necessidade de encontrarmos um método eficaz para a prevenção desta doença que atinge tantos indivíduos em nosso meio. Pesquisas indicam que o *laser* tem se mostrado muito eficaz na prevenção de cáries, principalmente quando associado ao flúor fosfato acidulado.

A revisão prévia da literatura indica que alguns tipos de *lasers* têm sido usados com sucesso na prevenção de cáries, especialmente se associado com flúor do tipo fosfato acidulado, e que a penetração do laser é mais efetiva em alguns tipos de fissuras e sulcos do que em outros. Esses resultados, somados à experiência prévia do grupo que vem desenvolvendo atividades na área de prevenção “in vitro” desde 1992, fazem deste trabalho uma consequência natural desta evolução.

Os primeiros trabalhos sobre prevenção de cáries, com *laser* na Odontologia, remontam à 1964 [23]. Pesquisadores demonstraram que a aplicação “in vivo” do *laser* de rubi no esmalte dentário estava associado à redução do grau de desmineralização do mesmo em ambientes ácidos. Entretanto, este laser não é bem absorvido pelos componentes do esmalte e dentina acarretando em excessiva elevação de temperatura, o que pode comprometer a vitalidade pulpar e mesmo do periodonto. Posteriormente, outros autores pesquisaram o efeito de vários tipos de *lasers* sobre o esmalte dentário e a sua relação com o aumento da resistência do esmalte à sua desmineralização. Várias pesquisas demonstraram que o *laser* permite um decréscimo na permeabilidade e na solubilidade do esmalte resultando assim numa alteração da composição mineral da estrutura dental.

Pesquisas foram realizadas no Japão [6, 7, 20, 24-26] visando examinar a resistência

do esmalte dental submetido ao *laser* de Nd:YAG, quando exposto à um meio ácido (produtos do metabolismo dos microorganismos da cavidade oral). A eficácia da associação do *laser* de Nd:YAG seguida da aplicação de flúor na prevenção de cáries incipientes foi determinada em trabalho publicado em 1991 [27]. A resistência ácida foi determinada pela quantidade de cálcio dissolvido pela superfície do esmalte em solução ácida, a absorção de flúor foi determinada por testes de microdurezas e técnica de microradiografia. O resultado obtido mostrou um aumento na resistência ácida do esmalte após a irradiação com *laser* e também que quando este procedimento foi associado ao tratamento com flúor após a irradiação. A remineralização foi notável no caso da associação do *laser* seguida do tratamento com flúor.

Estudo desenvolvido na década de 80 [6] avaliou a resistência à solução ácida (pH=4.5, 4 dias) de dentes humanos recém extraídos. Os dentes foram submetidos ao tratamento com a solução ácida. Os resultados quantitativos apontaram que dos 60 dentes (hígidos) analisados, aproximadamente 3/4 não apresentaram evidências de desmineralização e 1/4 apresentaram desmineralização moderada.

Extensiva atividade de pesquisa indicou um aumento da resistência do esmalte dental após a irradiação com vários *lasers* [20, 24–29]. Neste estudo concluiu-se que o seguimento para uso clínico era mais indicado com *laser* de Nd:YAG produzindo pulsos da ordem de microsegundos ou nanosegundos.

Dentes pré-molares, recém extraídos foram irradiados com *laser* de Nd:YAG e concluiu-se que o vedamento total das fissuras foi dependente do tipo de abertura e profundidade [19]. Outro estudo verificou o efeito do *laser* de Nd:YAG no esmalte dentário, “in vitro”, através da análise por fluorescência de Raios-X e pelo Microscópio de Eletrônico de Varredura (MEV) [30]. Concluíram que a maior resistência ao ataque ácido foi obtida para os grupos irradiados e tratados com flúor fosfato acidulado posteriormente [10].

A energia absorvida do feixe de *laser* pode resultar na destruição do tecido alvo através do processo de conversão de calor. Esta é uma reação foto-térmica que atua de forma ampla e significativa, numa variedade de procedimentos cirúrgicos, na remoção de cáries e preparo cavitário, na modificação do esmalte, da dentina e no clareamento dental. O *laser* de Nd:YAG com comprimento de onda de 1.064 nm é o mais utilizado

em Odontologia, estando disponível em modo contínuo e também no modo de operação pulsado (*free-running*). A energia de emissão do *laser* permite ao tecido relaxar termicamente por um longo período de tempo, sendo mais confortável para o paciente. Apresenta pouca absorção para o tecido e alguma para a água.

Atualmente foram realizados estudos com a finalidade de determinar mudanças físicas, químicas e morfológicas depois da irradiação *laser*. Esses resultados não foram conclusivos devido às diversas contradições existentes nas medidas experimentais obtidas sobre as características ópticas dos tecidos duros.

Estudos anteriores envolvendo o esmalte dental argumentam que *lasers* pulsados são necessários para a determinação da superfície dental desejável para a prevenção de cáries.

Uma comparação entre nove diferentes *lasers* visando identificar o melhor sistema com relação à resistência do esmalte dental frente a desmineralização [31] foi efetivada. O *laser* de Nd:YAG de pulso normal (pulsos de duração de centenas de microsegundos) proporcionou a maior resistência ácida do esmalte dental imediatamente após a irradiação com densidade de energia e observou-se uma superfície vitrificada. A resistência ácida do esmalte irradiado foi observada mesmo após ataque com solução ácida, significando que a estrutura da superfície do esmalte ainda persistiu com tratamento de *laser* associado ao flúor (APF). A inibição da dissolução de cálcio foi de 90%.

Estudo *in vitro* foi efetivado com amostras de esmalte dental humano, irradiadas com *laser* e submetidas à meio de cultura de *S.mutans*. Os parâmetros de irradiação usados nesta pesquisa variaram de 83.75 a 187.5 J/cm⁻². A morfologia da superfície apresentou aspectos de fusão e resolidificação. Os autores observaram um aumento da resistência à descalcificação promovida pelo laser quando comparada ao grupo controle [32].

Como exemplos da aplicação do *laser* de Nd:YAG em Odontologia destacamos: prevenção de cárie dental [5-7,20,24,25,28,29,31,32], remoção de tecidos duros cariados [11], cirurgias de remoção de tecidos moles [12,33], esterilização e limpeza superficial e hipersensibilidade dentária [13,14], entre outros.

Investigação realizada recentemente compara o uso de pulsos ultracurtos com larguras temporais de nanosegundo e picosegundo no mecanismo de ablação do esmalte dental

através da técnica de microscopia eletrônica de varredura. Nesse trabalho os autores concluem que o *laser* Nd:YAG picossegundos possibilitou a execução de micropreparos mais adequados à prática odontológica e dano térmico inferior ao obtido com aplicação de pulsos da ordem de nanossegundos. Com relação a análise composicional verificou-se um aumento na proporção Ca/P tanto para o esmalte dental quanto para a dentina ocasionando assim maior resistência à estrutura dental [34].

A avaliação morfológica dos efeitos do *laser* de Nd:YAG *Q-switched* no esmalte e as alterações químicas nos tecidos residuais foram obtidos por Espectroscopia Raman em pesquisa recente [35]. A profundidade da cratera obtida com função da taxa de repetição correspondeu a variação de 1 a 5 μm por pulso. A análise estatística mostrou que a profundidade da cavidade obtida aumenta com o número de pulsos. Para todos os tecidos avaliados, os espectros Raman foram idênticos não havendo alteração estatisticamente significativa entre tecido não irradiado e irradiado. Nesse estudo, a ablação do esmalte foi pequena comparada à outros tecidos mineralizados.

Pesquisadores concordam [36, 37] de forma geral que a absorção do *laser* pelo tecido é específica para cada comprimento de onda em particular, e do tecido em análise, mas o efeito do modo de operação, taxa de repetição, duração do pulso e energia fornecida ao tecido e fluência não estão totalmente esclarecidos [15], o que justifica a presente investigação.

Capítulo 4

Os Tecidos Dentais Mineralizados e o *laser* de Nd:YAG

4.1 Tecidos Dentais Mineralizados

Os tecidos mineralizados, esmalte, dentina e cimento, são sólidos permeáveis com estruturas complexas, conforme observamos na figura 4.1, em que o mineral cristalino está intimamente associado com o material orgânico. O componente mineral, uma forma impura de hidroxiapatita, constitui-se de 96% em peso no esmalte e 72% em peso na dentina seca [38].

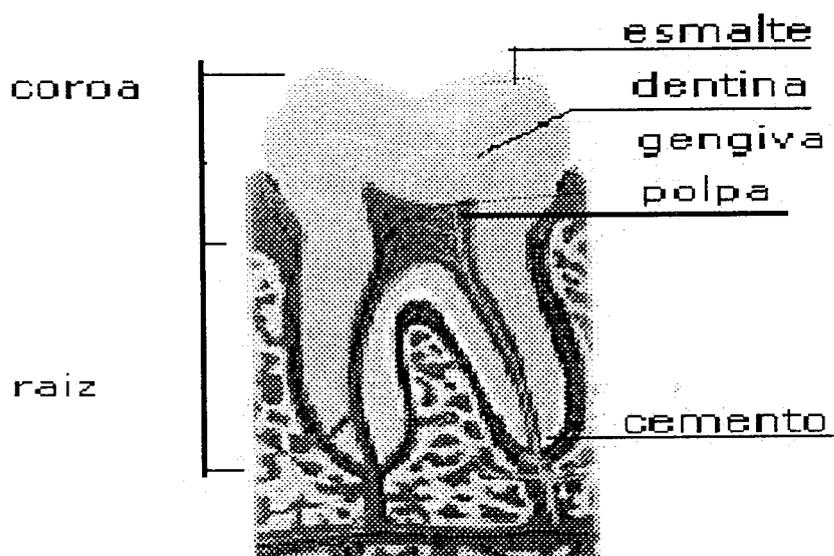


Figura 4.1: Constituintes de um dente.

A hidroxiapatita é um composto mineralizado que consiste de minúsculos cristalitos que formam os chamados prismas do esmalte, com diâmetros alcançando valores de 4 nm à 6 nm. À estrutura cristalina do esmalte são incorporadas impurezas, entre as quais destacamos, os íons Cl^- , F^- , Na^+ , K^+ e Mg^{2+} . A visualização do arranjo das partículas é mostrado na figura 4.2.

A incorporação de impurezas por troca iônica ou difusão afeta a morfologia, solubilidade e parâmetros de rede da hidroxiapatita e conseqüentemente a estabilidade do tecido. O processo de desmineralização em bioapatitas é frequentemente determinado pela quantidade e localização dos íons de carbonatos na rede da hidroxiapatita. Na figura 4.3 temos a estrutura cristalina na hidroxiapatita.

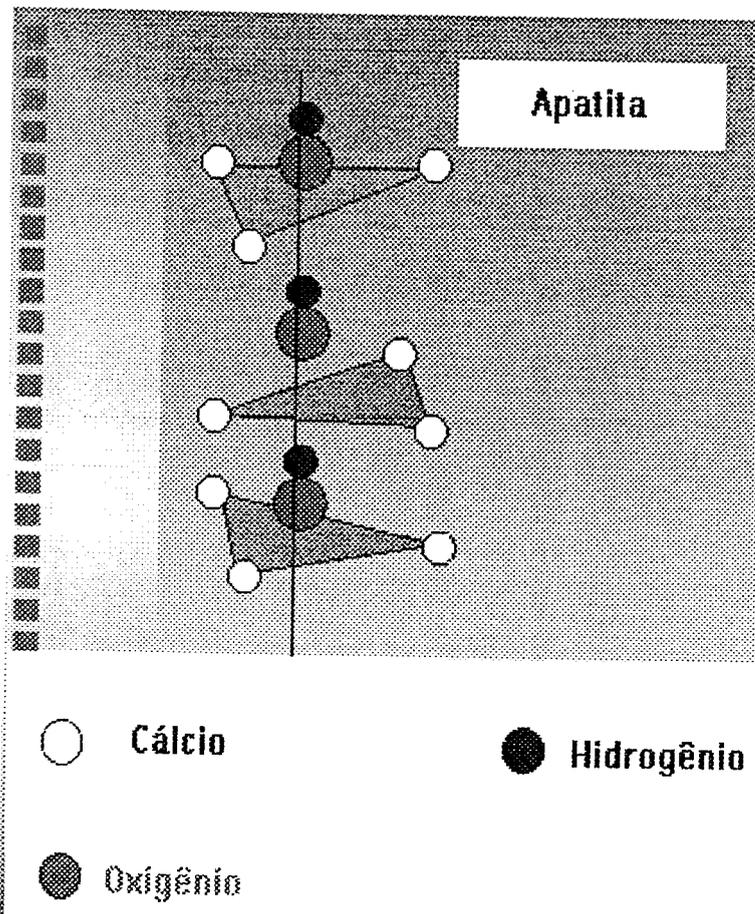


Figura 4.2: Arranjo das partículas que formam a hidroxiapatita.

A fórmula estrutural da hidroxiapatita é:



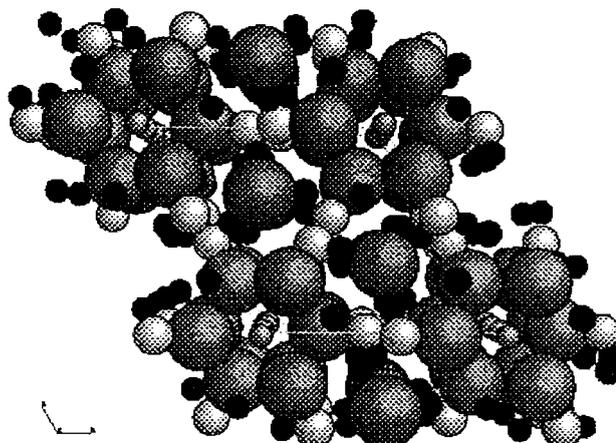


Figura 4.3: Estrutura cristalina da hidroxiapatita.

o qual corresponde a 44 átomos por célula. Nesta célula, agregam-se átomos de Ca, O, P e H.

A estrutura cristalina da hidroxiapatita é hexagonal com grupo cristalográfico espacial $P6_3/m$ e parâmetros de rede:

$$a = b = 9.432\text{Å} \quad c = 6.881\text{Å} \quad (4.2)$$

4.1.1 Esmalte

O esmalte dental é a estrutura mais rica em cálcio do corpo humano e também a de maior dureza. Contém cerca de 97% de sais de cálcio e apenas 3% de água e matéria orgânica (principalmente proteína) [2]. Outra peculiaridade do esmalte é ser um derivado epitelial calcificado, enquanto as outras estruturas dos dentes derivam da mesoderma.

Os prismas têm um trajeto complicado dentro do esmalte. Partindo da dentina, indo primeiramente em direção perpendicular à superfície do dente. Na região média orientam-se em espiral e, finalmente, assumem de novo a mesma direção perpendicular.

Nas porções mais laterais da coroa, os prismas do esmalte seguem um curso horizontal, perpendicular portanto, ao grande eixo do dente. Este é um composto de pequenos cristais de sais de fosfato de cálcio (hidroxiapatita) sobre os quais se absorvem carbonatos, magnésio, sódio, potássio e outros íons engastados numa fina rede, muito forte de

fibras protéicas completamente insolúveis. A pequena dimensão da estrutura cristalina dos sais torna o esmalte muito duro.

Do mesmo modo, a rede de fibras protéicas transforma o esmalte muito resistente à ataques ácidos, enzimas e outros agentes corrosivos porque esta proteína, dentre as que conhecemos, é uma das mais resistentes e insolúveis.

A extensão para o qual a proteína do esmalte influencia a taxa e direção do ataque pode ser deduzida do conhecimento sobre a distribuição de proteína no dente. A concentração de magnésio e carbonato são igualmente relevantes, a primeira mudança cariótica detectável no esmalte envolve a perda de magnésio e parte mineral rica em carbonato. As regiões do esmalte com altas concentrações de magnésio e carbonato tendem a ser mais suscetíveis à cárie.

4.1.2 Dentina

A dentina é composta por 70% de conteúdo mineral, 18% de matéria orgânica e 12% de água. A porção inorgânica da dentina é formada de cristais de hidroxiapatita semelhantes aos do osso e do cimento. O eixo destes cristais, como o das fibras colágenas, dispõem-se paralelamente à superfície da dentina, perpendicular aos canalítos dentinais que se originam na câmara pulpar e se dirigem para o limite amelo-dentinal [38].

A porção orgânica da dentina compõem-se em cerca de 93% de uma proteína estável, o colágeno; a fração restante é formada por lípideos, polissacárideos, compostos protéicos de colágeno ainda não identificados e ácidos cítricos. A composição química da dentina varia com a idade do dente e a mineralização normal é progressiva, mesmo após o dente estar completamente formado [38].

A dureza e a elasticidade da dentina são da mesma ordem de grandeza que as do cimento e do osso.

4.1.3 Raíz

A raiz é constituída por uma fina camada de cimento e uma porção maior de dentina radicular, o que lhe confere composição quimicamente similar a dentina. Pequenas variações ocorrem com o conteúdo orgânico desta porção de tecido, devido a existência

da fina camada de cimento.

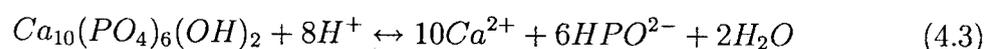
4.1.4 Cimento

O cimento é um tecido conjuntivo mineralizado que recobre a dentina radicular, sendo uma fina camada que varia de 30 à 200 μm dependendo da direção em que se encontra [39]. Sua composição química corresponde a aproximadamente 55 % de matéria orgânica e 45 % de matéria inorgânica. Sua matriz orgânica é constituída principalmente de colágeno do tipo I.

4.1.5 A cárie

A cárie dental é definida como um processo altamente destrutivo dos tecidos mineralizados devido à ação de bactérias da cavidade oral. A ação da bactéria é preferencial nas regiões de sulcos e fissuras da superfície do esmalte. O interesse por métodos eficientes de prevenção e auxiliares no tratamento da cárie é grande, e muitas pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de contribuir nesse sentido. Em anos recentes, informação considerável tem sido obtida no estudo sobre a cronologia e seqüência do aparecimento de diferentes tipos de bactéria na boca [2,39].

Os microrganismos responsáveis pela instauração da doença da cárie produzem ácido lático e ácido acético, reduzindo o pH para valores de aproximadamente 3.5. O grau de acidez e a solubilidade da hidroxiapatita são fortemente relatados pela reação química:



Essa reação representa o rápido processo de perda mineral que ocorre com o esmalte em questão de poucos dias. O cálcio da hidroxiapatita é ionizado e liberado pela saliva. Este processo transforma o esmalte muito duro numa estrutura muito porosa e permeável. Usualmente, esse tipo de perda é associado a mudança na cor. A lesão de cárie aparece como diminuição no brilho da superfície e é de difícil detecção.

4.2 O *laser* de Nd:YAG

O *laser* de Nd:YAG pertence ao grupo de *lasers* com meio ativo sólido. Este é composto por um cristal de YAG (Granada de Ítrio e Alumínio) dopado com Neodímio. O modo de operação *laser* pode ser contínuo ou pulsado, com comprimento principal de onda de 1.064 nm, com potência e número de pulsos por segundo ajustáveis à configuração do equipamento. Corresponde a faixa do infravermelho próximo no espectro eletromagnético e utiliza outro sistema *laser* para indicar o caminho do feixe, normalmente um *laser* de He-Ne ou diodo executa esta função.

O *laser* de Nd:YAG é um dos mais utilizados *lasers* de estado sólido. Qualitativamente opera de forma semelhante ao *laser* de Rubi que foi o primeiro a ser desenvolvido. Os átomos de neodímio apresentam concentrações em níveis de impurezas (bruto 1%) nos materiais da rede cristalina e são excitados pela luz de uma fonte externa, produzindo uma inversão de população no bastão do material *laser*. Na figura 4.4 mostramos o exemplo de bastão *laser*. A impureza produz uma concentração de neodímio sobre a ordem de 10^{20} átomos por centímetro cúbico, que é geralmente o ideal para a ação do *laser*. O bastão é montado numa cavidade óptica que produz a realimentação necessária para a ação do *laser*. O resultado é um *laser* versátil que pode emitir um feixe de luz pulsado ou contínuo, e que tem sido uma ferramenta padrão para diversas aplicações.

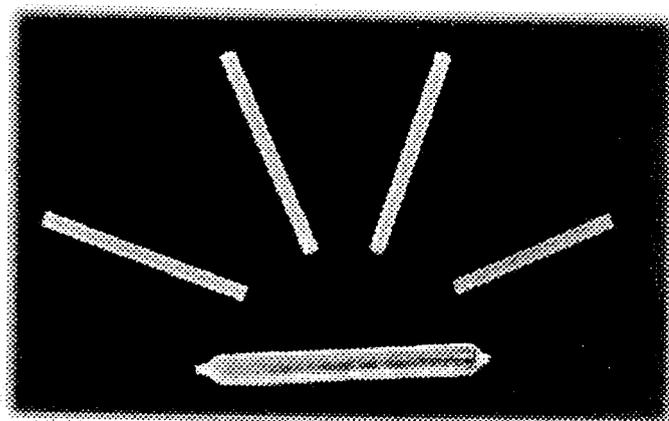


Figura 4.4: Exemplo de bastão laser

As principais características da radiação *laser* são a sua coerência temporal e espacial, a sua monocromaticidade e a sua alta colimação. Estas propriedades únicas per-

mitem a obtenção de feixes com altas potências pico ($>GW$), permitindo seu uso em inúmeras áreas de aplicação (indústria, instrumentação científica, armamento bélico, entre outros). Na figura 4.5, apresentamos um esquema do grupo de *lasers* desenvolvidos até hoje sendo que muitos deles são amplamente utilizados em Odontologia.

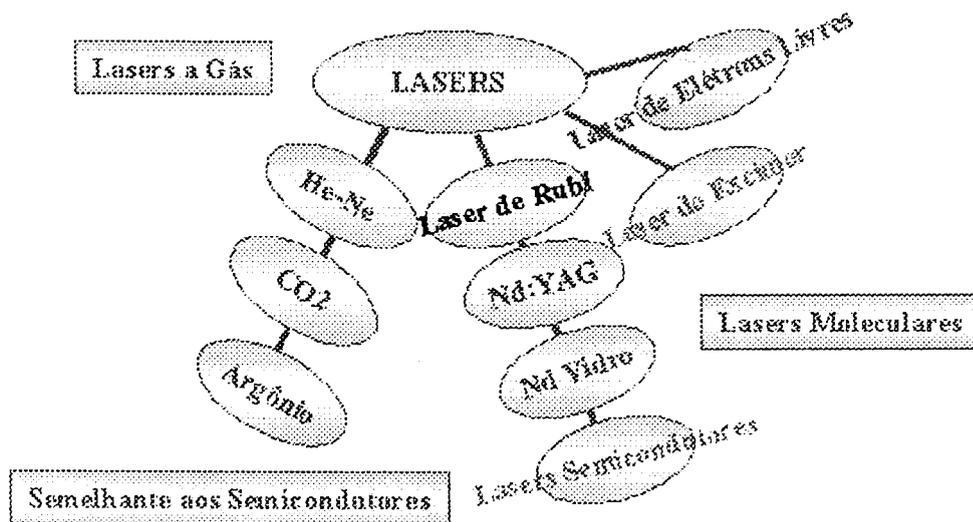


Figura 4.5: Grupo de lasers desenvolvidos, muitos deles são aplicados atualmente em Odontologia.

Os *lasers* possuem dois modos de funcionamento, de acordo com a forma de bombeamento: modo contínuo e modo pulsado. Com relação ao comportamento temporal, podem ser classificados segundo seu regime de operação em: emissão contínua, emissão pulsada, emissão chaveada (*Q-switched*) e emissão acoplada (*Mode-locking*). No primeiro modo, o meio *laser* é excitado de forma contínua, emitindo radiação continuamente.

No regime pulsado, o funcionamento pode ser dirigido pelo modo de bombeamento, e os impulsos típicos destes *lasers* têm duração que variam de $50 \mu s$ a $10 ms$, conforme mostrado na figura 4.6. No modo chaveado o bombeamento é efetuado para além do limiar de ação *laser*, permitindo a emissão laser apenas quando o bombeamento alcança um nível suficiente. Produz-se desta forma, pulsos de alta intensidade (da ordem de mJ) e curta duração (da ordem de ns), na figura 4.7 é apresentado o perfil temporal deste modo. No modo de emissão acoplado (*mode locking*), a existência de vários modos de oscilação com fases acopladas são utilizadas na obtenção de pulsos

com duração em torno de picossegundos, podendo chegar a potência em torno de GW.

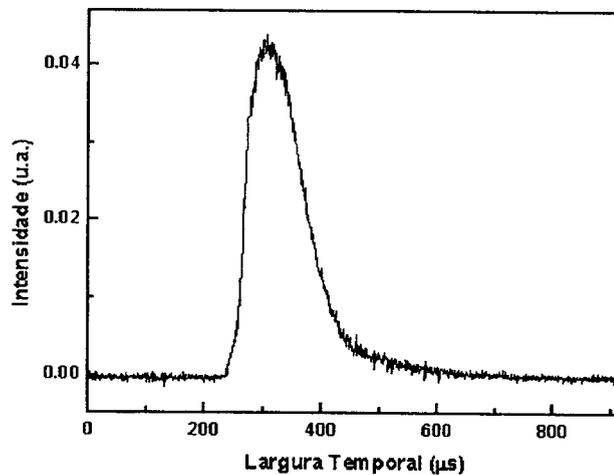


Figura 4.6: Pulso longo de *laser* de Nd:YAG da ordem de μs

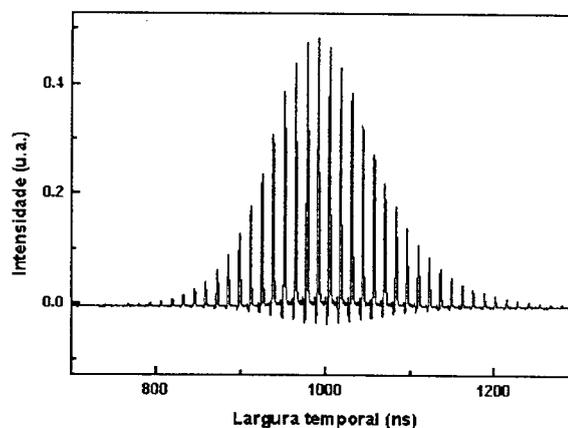


Figura 4.7: Pulso curto de *laser* de Nd:YAG da ordem de ns.

As principais vantagens para o uso do *laser* de Nd:YAG- modo *Q-Switched* [4, 40] são: pequeno dano térmico em relação aos *lasers* de pulso longo, se controlada a sua taxa de repetição, versatilidade, podendo ser usado em diversas aplicações na área odontológica, pois permite o tratamento controlado da superfície do esmalte.

As dificuldades estão relacionadas à forte dependência da interação entre o *laser* e o material, em relação às propriedades físicas da matriz dental, devido às variações na

estrutura química do mesmo, à falta de padrão para referência e, ainda, à quantificação dos agentes desmineralizadores.

Na figura 4.8, apresentamos um esquema simplificado da interação e propagação térmica de um pulso de *laser* de Nd:YAG longo comparado com um pulso curto.

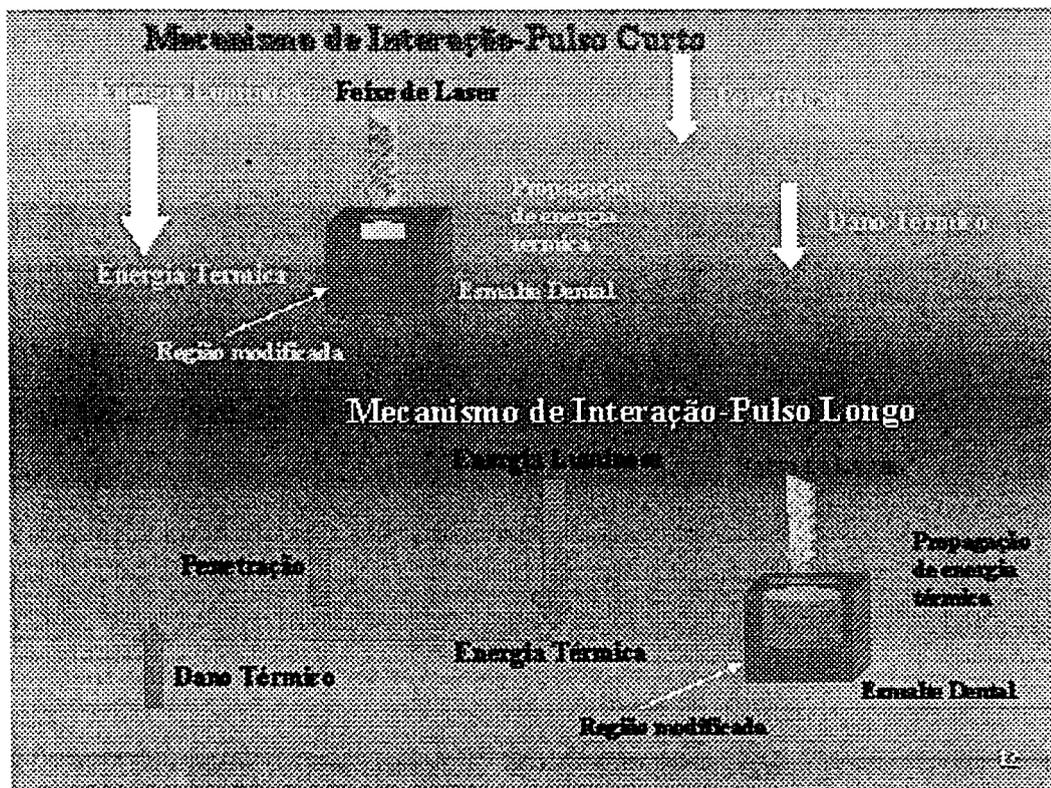


Figura 4.8: Interação do *laser* de pulso curto e pulso longo com o tecido.

A largura temporal do pulso representa o tempo de interação entre a radiação e o tecido dental. Deste modo, a figura 4.8 indica que para uma largura temporal da ordem de nanosegundos a propagação térmica é reduzida causando menor dano ao tecido em profundidade e vizinhança do pulso.

4.2.1 Interação *Laser*-Tecido

Fenômenos importantes ocorrem quando um feixe *laser* incide sobre a superfície de um tecido opaco. A absorção da radiação *laser* pelo tecido pode ocasionar aquecimento superficial, mudança de fase, ejeção de partículas (átomos, moléculas, íons e fragmentos), formação de plasmas (ionização do material) e ondas de choque [40]. Os mecanismos da

interação *laser*-tecido não estão completamente esclarecidos. Os parâmetros decisivos desta interação são a densidade de energia e comprimento de onda da radiação e as propriedades ópticas do tecido em questão.

Os fenômenos predominantes dessa interação são a vaporização e a ablação. A vaporização está relacionada ao mecanismo térmico que se sucede à irradiação. Este mecanismo é dominante para pulsos com duração da ordem de microsegundos (μs) e intensidade de $10^6 W cm^{-2}$. Um rápido processo converte a energia absorvida em calor e o fenômeno de vaporização ocorre. Embora o mecanismo descrito seja essencialmente térmico, a caracterização total, através de modelos termodinâmicos, ainda requer aprimoramento. Este fato justifica-se à curta duração do pulso e ao aquecimento pontual, ocasionando uma variação nas propriedades térmicas e ópticas durante o processo. Desse modo, aspectos da caracterização dos tecidos dentais como fusão parcial do tecido e variação de conteúdo vaporizado podem ser observados [4, 40].

A ablação é o principal processo para feixes de alta densidade de potência ($10^9 W cm^{-2}$) e duração da ordem de $10^{-9} s$ (ns). O aquecimento é instantâneo, transpondo a temperatura de vaporização. Neste caso, a absorção da energia do feixe em uma parte do tempo de duração do pulso e antes que o material das finas camadas da superfície, nas camadas mais inferiores gera-se uma explosão. Este fenômeno não é térmico e a formação de um plasma na parte superior da superfície do tecido pode ocasionar a vaporização da superfície [4, 40]. A definição do limiar destes processos é elementar, o que contribui para que uma combinação entre os dois fenômenos possa ser observado.

Fatores relacionados especificamente ao tecido biológico analisado como a sua pigmentação, composições químicas e percentuais de água influenciam em propriedades físicas como a absorção para o comprimento de onda de emissão do *laser* em estudo.

Podemos constatar que a radiação *laser* de Nd:YAG é absorvida pelo tecido pigmentado e, com menor intensidade pela água. A baixa absorção óptica corresponde a alta penetração da radiação, o que intensifica a exigência de um controle da densidade de energia aplicada ao tecido [41].

Capítulo 5

Materiais e Métodos

5.1 Caracterização da Estrutura Dental

Neste capítulo discorreremos sobre os métodos experimentais utilizados para a caracterização dos tecidos dentais propostos nesta tese.

Há vários métodos para a análise da composição química do tecido dental, entretanto, cada método produz informação parcial da interação em estudo.

A apresentação das técnicas para análise da composição química foram: Espectrometria de Fluorescência de Raios-X, Espectrometria Dispersiva de Raios-X e Ativação por Nêutron Instrumental. Neste caso, apenas a Ativação com Nêutron Instrumental foi um ensaio destrutivo. As técnicas são abordadas tratando a peculiaridade relativa, a preparação das amostras e o modo de operação do equipamento.

O método mais comum atualmente usado é o espectrômetro de energia dispersiva (EDS) por permitir uma análise composicional pontual ou por área, rápida juntamente com a prévia análise morfológica da região. Esta análise permite a determinação de elementos majoritários e minoritários presentes na amostra sempre correlacionando a análise para o grupo não irradiado e irradiado com *laser*. Nesta situação comumente verificamos a variação composicional associada com a mudança na morfologia da superfície.

A espectrometria de Fluorescência de Raios-X é comumente utilizada para análises elementares qualitativas e semiquantitativas de amostras de distintas composições e aplicações no qual enquadra-se o tecido dental duro.

de detecção de acordo com a figura 5.1. Podemos observar através desta figura que as mesmas avaliam com precisão o conteúdo elementar no alcance de 10 ppm. A informação referente à imagem da superfície pela Microscopia Eletrônica de Varredura restringe-se à ação num intervalo limitante de 1 mm e 100 Å.

Nesta tese utilizamos ensaios não destrutivos basicamente, que são designados para aplicações de métodos técnicos para examinar materiais, de modo, a não prejudicar sua futura utilidade, para detectar, localizar, medir e avaliar descontinuidade, defeitos, e outras imperfeições, para aferir integridade, propriedades e composição. Desse modo, permitiu-nos, por exemplo, a associação da técnica de fluorescência de Raios-X juntamente com a microdureza Vickers.

5.2 Materiais

5.2.1 Amostras de Tecidos Dentais

Posteriormente à aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa (conforme parecer em anexo), os espécimes terceiros molares humano e dentes bovinos foram selecionados sem fraturas e com ausência de cáries.

Após a separação dos espécimes, os mesmos foram limpos para a remoção de resíduos teciduais e em seguida armazenados em solução fisiológica. A troca da solução ocorreu periodicamente em intervalos de 5 dias.

As amostras consistem de secções transversais do espécimes seccionadas com disco diamantado.

5.2.2 *Laser* de Nd:YAG Chaveado

Para efetuar os ensaios propostos nesta tese, utilizamos o protótipo de *laser* de Nd:YAG projetado e desenvolvido no Centro de *Lasers* e Aplicações, operando no modo pulsado, com chaveador passivo ajustado (*Q-switched*). Os parâmetros de irradiação ajustados fixaram-se em largura temporal de 10 ns e a taxa de repetição correspondeu à 10 Hz.

Nas tabelas 5.1, 5.2 e 5.3 apresentamos os parâmetros do laser considerados neste estudo.

Tabela 5.1: *LASER* - Protótipo- Nd:YAG (IPEN)

Energia por pulso (mJ)	Fluência (Jcm^{-2})	Potência Pico (MW)	Largura Temporal (ns)	Taxa de Repetição (Hz)
73	40	7.5	10	5

Tabela 5.2: *LASER*- Comercial- Nd:YAG Continuum-Surelite- SSP

Energia por pulso (mJ)	Fluência (Jcm^{-2})	Potência Pico (MW)	Largura Temporal (ns)	Taxa de Repetição (Hz)
25	40	5	5	5
12.5	20	2.5	5	5
6.8	11	1.4	5	5

O *laser* de Nd:YAG, comercial, com largura temporal de 6 ns e 200 ns utilizado na Universidade Federal de Pernambuco operando no modo *Q-switched* e *Mode-locked* correspondeu ao Antares, Modelo 76-s da Marca Coherent fabricado na cidade de Palo Alto, CA.

Três valores de densidade de energia foram considerados: 10, 20 e 40 J/cm^2 .

Tabela 5.3: *LASER* - Comercial- Nd:YAG (UFPE)

Energia por pulso (mJ)	Fluência (Jcm^{-2})	Potência Pico (MW)	Largura Temporal (ns)	Taxa de Repetição (Hz)
45	22.5	0.22	200	7
20	10	0.1	200	7

Os espécimes foram divididos em grupos amostrais permitindo assim a execução de

ensaios. Para todos os experimentos houve comparação entre o grupo definido como controle (não irradiado) e os grupos submetidos à ação laser.

Para a determinação do perfil temporal do laser utilizamos um osciloscópio da marca Tektronix, modelo TDS 360, digital.

Na figura 5.2, temos o sistema protótipo laser utilizado, juntamente com o motor de passo e montagem para fixação da amostra.

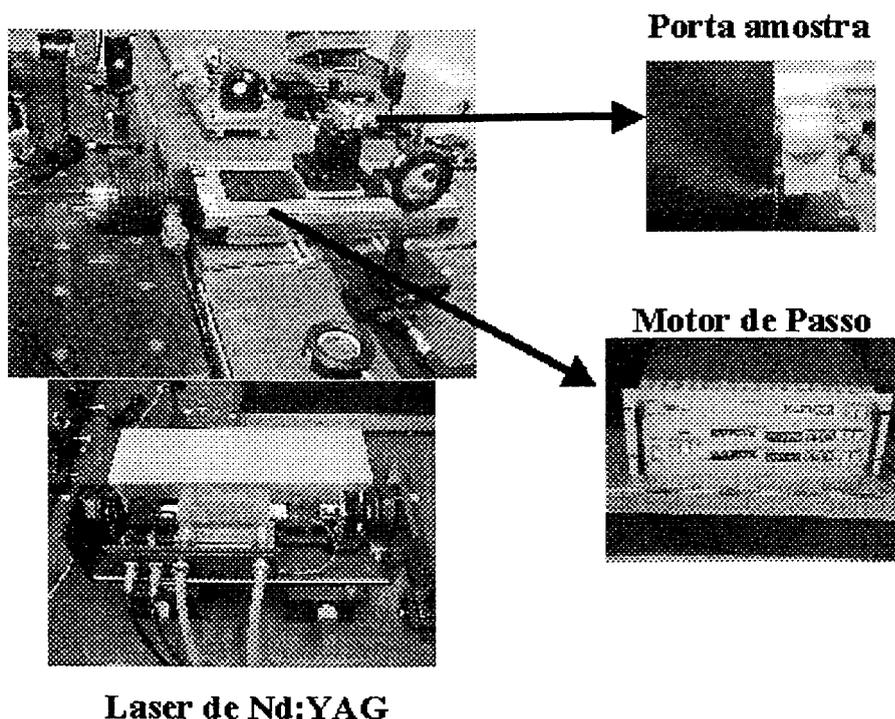


Figura 5.2: Esquema da montagem experimental destacando o *laser*, porta-amostra e motor de passo utilizados nos ensaios experimentais.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Microscopia é o estudo da estrutura fina e morfologia de objetos com o uso do microscópio. A resolução e o contraste são parâmetros chaves em estudos microscópicos. O espécime e o método de preparação também afetam a informação obtida como o contraste, permitindo que as estruturas sejam distinguíveis. Há variações microscópicas em resolução avaliada, magnificação, mecanismo de contraste e profundidade de foco e de campo.

O microscópio eletrônico de varredura possibilita a obtenção de morfologia e topografia de superfícies, com aumento de até 300.000 vezes. A resolução das imagens pode ser facilmente controlada a partir do maior tempo de varredura, assim como uma melhor nitidez é obtida com a mudança da distância focal da lente objetiva. As imagens obtidas mostram detalhes relevantes de suas superfícies. Porém, para uma análise mais detalhada foram necessárias focalizações em diferentes pontos das amostras, e simultaneamente mudanças na magnitude dessas regiões. A resolução e o contraste são parâmetros chaves em estudos microscópicos.

Os microscópios ópticos produzem imagens com uma pequena profundidade de foco enquanto que o microscópio eletrônico de varredura tem uma grande profundidade de foco e também uma grande profundidade de campo [42].

Artigos de revisão descrevem a aplicação das técnicas de microscopia para o estudo da estrutura dental. A microscopia eletrônica de varredura permite caracterizar a superfície de materiais, sua topografia, dimensões dos grãos, homogeneidade, análise cristalográfica e dispersão das partículas com dimensões entre 2-50 nm.

O interesse das técnicas microscópicas fundamenta-se na obtenção de uma caracterização adequada da superfície dos tecidos dentais, diagnosticando as alterações provenientes da irradiação com laser. Este fato sugere-nos a utilização de técnicas de análise morfológica complementares, sendo que cada qual permite-nos uma avaliação distinta.

Tabela 5.4: Técnicas de caracterização: alcances em tamanho.

Microscopia Óptica	200nm - 200 μ m
Microscopia Eletrônica de Varredura	4nm-4mm
Microscopia Eletrônica de Transmissão	0.2nm-0.2mm

Nesta tese, nos concentramos no uso da microscopia óptica e eletrônica de varredura para a caracterização morfológica das superfícies dentais. Na tabela 5.4, indicamos qual alcance da técnica, relacionado ao tamanho das partículas e também na tabela 5.5 algumas informações importantes sobre as propriedades das técnicas.

Tabela 5.5: Propriedades das Técnicas de Microscopia

Técnica	MO	MEV	MET
Resolução	300 nm	10 nm	0.2 nm
Alcance	2–2000	20-10 ⁵	200–2 x10 ⁶
Pode-se observar ambiente do espécime	superfície ou buraco ambiente	apenas a superfície	alto vácuo
Danos devido à radiação	não	pequeno	severo
Preparação do espécime	fácil	fácil	muito difícil
Análises químicas	não	sim, raios-X	sim, raios-X e perda de energia do e-
Detecta orientação molecular	sim	não	sim

5.3.1 Funcionamento do MEV

A imagem formada pelo microscópio eletrônico é originada a partir da varredura feita por um estreito feixe de elétrons na superfície do material analisado, obtendo-se uma imagem com aparência tridimensional. Na figura 5.3 exibimos uma foto do equipamento JEOL-5900.

Estes elétrons experimentam vários tipos de interações com os átomos superficiais, dentre os quais estão os processos de espalhamento elástico, responsável pela emissão de elétrons retroespalhados e o de espalhamento inelástico, o que causa a emissão de elétrons com baixa energia entre 5-50 eV, chamados elétrons secundários e Raios-X. Os elétrons retro-espalhados e secundários são detectados pelo microscópio eletrônico de varredura para a formação da imagem do espécime analisado.

O contraste topográfico observado nas cores preto e branco das imagens, surge devido à dependência do ângulo de incidência entre o feixe e a superfície do material e também da posição do detector. Dependendo deste ângulo, o número e a trajetória

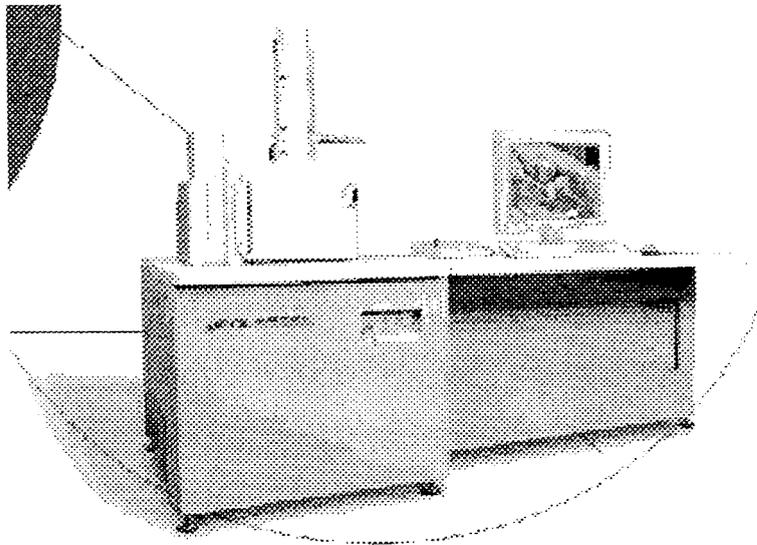


Figura 5.3: Foto do equipamento JEOL-5900

dos elétrons retro-espalhados e o número de elétrons secundários pode variar. Quanto maior for o número de elétrons retroespalhados e secundários emitidos pela superfície, mais brilhante será a imagem obtida. Isto ocorre em regiões dos contornos dos grãos e elevações da superfície.

A análise da radiação de raios-X fornece tanto informações composicionais quantitativa quanto qualitativa das regiões focalizadas.

A análise de EDS realizada no Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é uma técnica bastante eficiente para a determinação da composição de materiais desconhecidos, verificação de contaminações ou confirmação de valores composicionais, porém para uma análise mais precisa a amostra deve ser analisada em diferentes regiões de sua superfície e com diferentes magnificações para que se possa determinar um valor médio da quantidade dos elementos constituintes podendo ainda verificar sua homogeneidade composicional.

5.3.2 Componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura

O MEV consiste basicamente de uma coluna óptica-eletrônica, câmara para amostras, sistema de vácuo e um sistema de imagem. Na figura 5.4, apresentamos os componentes do microscópio eletrônico de varredura.

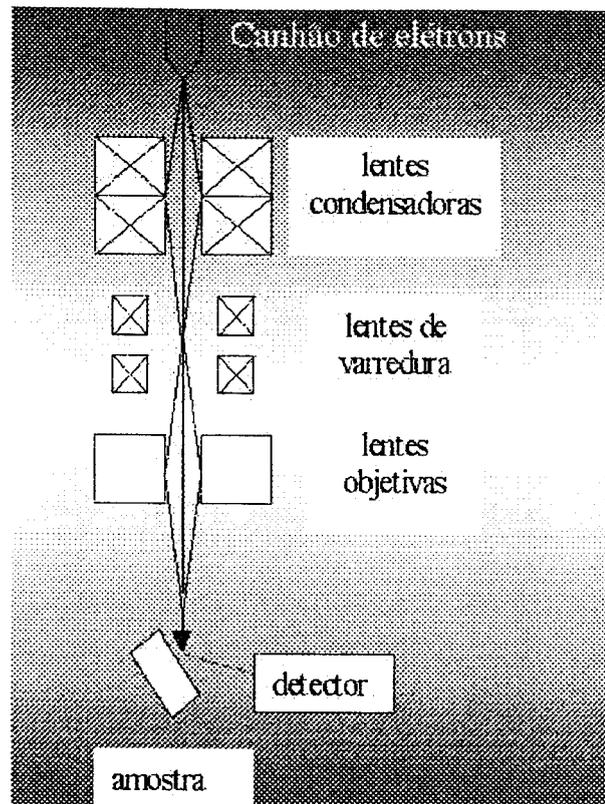


Figura 5.4: Componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura

5.3.3 Preparação das amostras para o MEV

A preparação das amostras de tecido dental para o exame no MEV requer cuidados básicos como a desidratação e a metalização. A análise da superfície com boa resolução tem variações em função do preparo executado e também da qualidade do equipamento.

A diferença do potencial entre o ânodo e o cátodo aplicado para que os elétrons deixem o filamento de tungstênio foi o mesmo para todas as amostras, ou seja, 30 KV. Assim como o tempo de varredura, 40 segundos.

5.3.4 Técnica de Energia dispersiva (EDS) com detector de Silício dopado com Lítio

Nessa técnica os raios-X removidos da amostra são captados pelo detector, através de um cristal semicondutor. Este semicondutor é um material que possibilita alguma dificuldade de passagem aos elétrons. O papel do cristal semicondutor é converter os raios-X em sinais eletrônicos. Os sinais eletrônicos produzidos pelo cristal de *Si(Li)* são

amplificados e distribuídos em um analisador multicanal de acordo com suas energias, constituindo-se um histograma. A intensidade dos picos ocupa o eixo das ordenadas e tem por unidade a contagem por segundo (cps) e o eixo das abscissas apresenta as energias cuja unidade corresponde à quilo-elétron-volt (KeV).

Através da técnica de Energia dispersiva (EDS) com detector de Silício dopado com Lítio determinamos a concentração média e relativa de elementos majoritários nas amostras de esmalte dental humano controle e irradiada. Foi efetivada uma análise em diferentes regiões da superfície para diferentes áreas permitindo uma análise mais precisa quanto à mudança química na área total do espécime e a avaliação da homogeneidade composicional de cada espécime.

A aplicação mais eficiente do EDS é a análise qualitativa, que permite a identificação dos elementos presentes na amostra. Através do mapeamento de raios-X é possível também obter uma distribuição dos elementos na amostra. Há também a aplicação do EDS para análise quantitativa provenientes dos espectros de raios-X, o que permite a determinação da composição elementar real da amostra.

Para a identificação dos elementos que compõem uma amostra a ser analisada, o programa tem em sua memória espectros de amostras padrões de todos os elementos químicos da tabela periódica, isto é, as intensidades relativas, os picos pertinentes a um certo elemento estão registradas, podendo assim ser comparadas (diretamente pelo programa) com as dos picos obtidos na amostra em questão. Identificando os elementos que compõem o material.

A obtenção de análises quantitativas confiáveis e reprodutíveis é permitida utilizando corrente do feixe estável, ângulo de detecção dos raios X adequados e amostra plana e de polimento excelente. Atualmente, o EDS tem sido empregado na caracterização de implantes dentários e em estudos que verificam a viabilidade da utilização do laser para tratamentos de dentes com cáries. O instrumento utilizado para análise química é um MEV com um espectrômetro de raios-X acoplado.

5.4 Espectrometria de Fluorescência de Raios-X

Essa técnica possibilita a identificação e quantificação de raios-X secundários obtidos através da irradiação dos elementos caracterizados numa amostra com um feixe de raios-X primários como objeto de excitação [30, 43–47]. No processo de irradiação da amostra, um ou mais elétrons são removidos o que gera um desbalanço dos elétrons nos orbitais da amostra alvo, ocorrendo então a emissão de radiação característica secundária.

Assim cada elemento tem um espectro de fluorescência de emissão de Raios-X característico, formado por radiações características de energias distintas, possibilitando analisar qualitativamente e quantitativamente a amostra.

Figura 5.5: Etapa 1 e etapa 2 do mecanismo de FRX

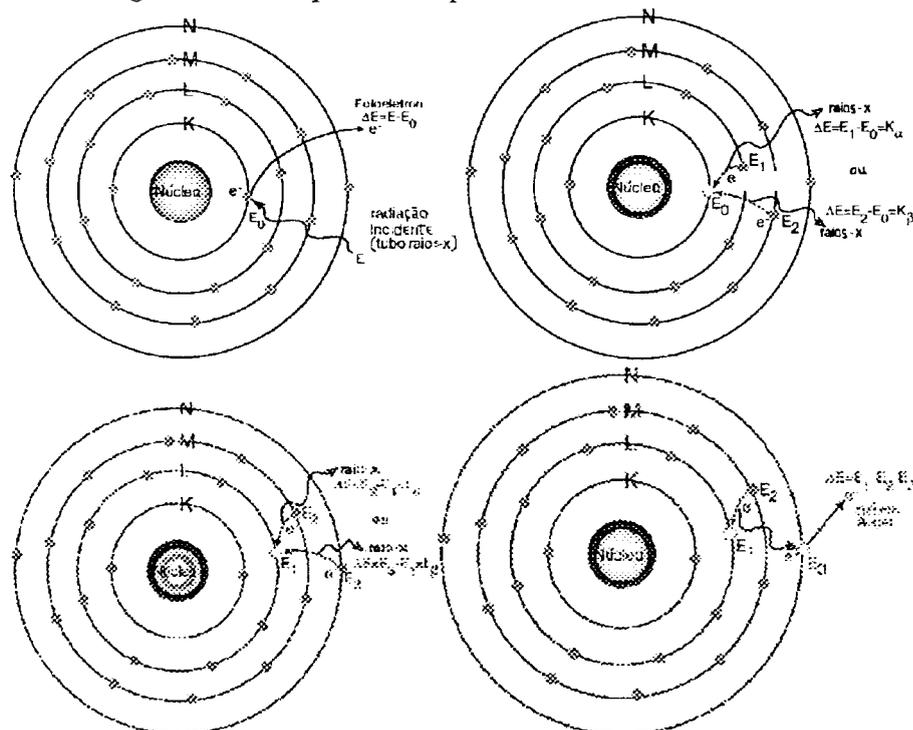


Figura 5.6: Etapa 3 e etapa 4 do mecanismo de FRX

Na Etapa 1, um elétron na camada K é ejetado do átomo por uma excitação primária externa de raios-X, criando um buraco. Na etapa que se sucede, um elétron da camada L ou M “desprende-se” para preencher o buraco. Neste processo, ele emite um único raio-X característico para este elemento e produz um buraco na camada L

ou M. As etapas 1 e 2 são mostradas na figura 5.5.

Na Etapa 3, quando um buraco é criado na camada L pela outra excitação primária de raios-X ou pelo evento anterior, um elétron da camada M ou L “desprende-se” para ocupar o buraco. Neste processo, ele emite um único raio-X característico para este elemento e produz um buraco na camada M ou N. Na Etapa 4, há transferência da energia de excitação do interior do átomo, a qual é transferida para um dos elétrons externos conduzindo a ejeção do átomo. As etapas 3 e 4 estão ilustradas na figura 5.6.

Ma figura 5.7, apresentamos um esquema indicativo do processo de FRX e o aparato experimental utilizado.

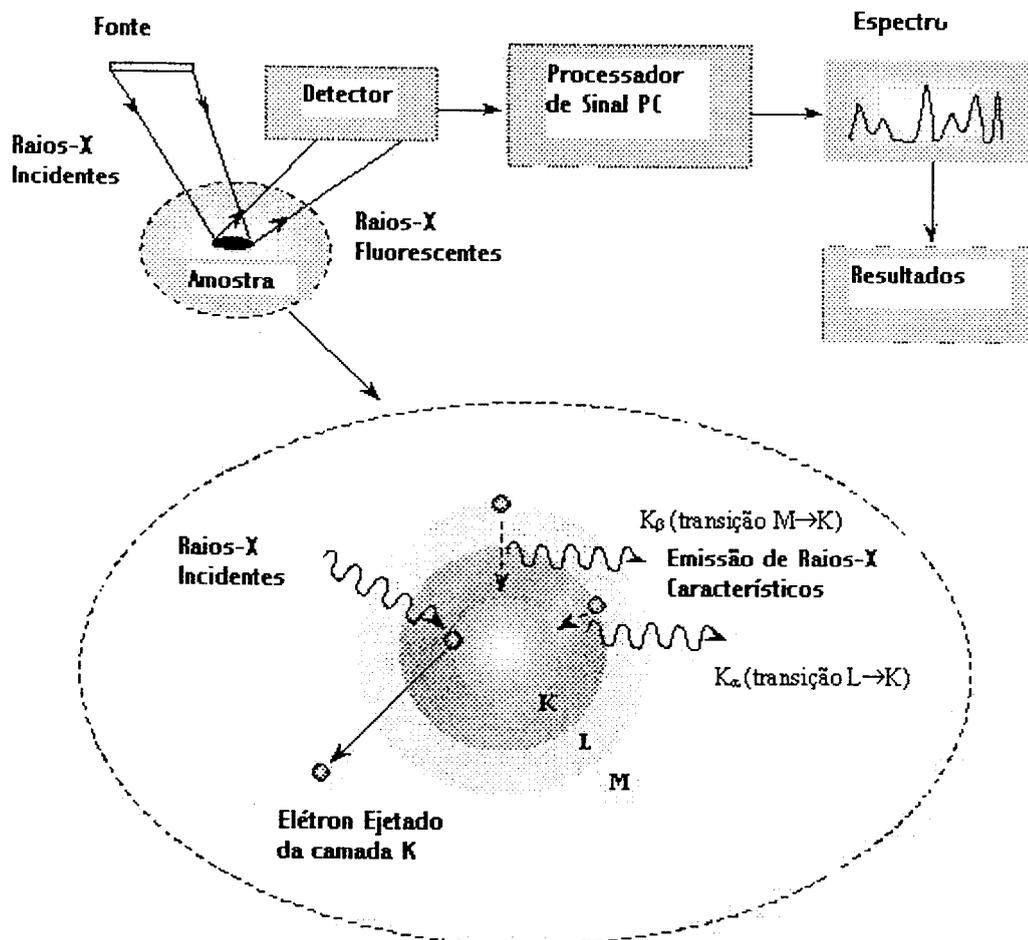


Figura 5.7: Diagrama esquemático do processo de FRX.

Na figura 5.8, mostramos uma foto da janela de posicionamento da amostra que permite limitar a região de incidência do feixe de Raios-X.

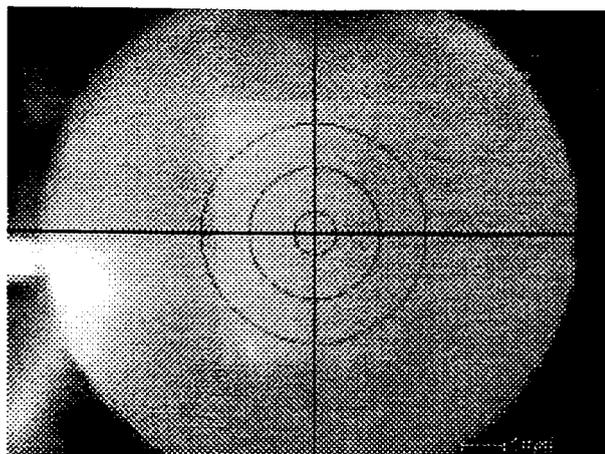


Figura 5.8: Foto da janela de posicionamento da amostra com delimitante da região de interação com o feixe de Raios-X.

5.5 Ativação com Nêutron Instrumental

Esta técnica é bem estabelecida, exata e possui boa sensibilidade para parte dos elementos químicos da tabela periódica. É possível detectar concentração de percentuais (%) até inferior a parte por bilhão (ppb).

Utilizamos o método de comparação que consiste no uso de um material de referência de composição química semelhante à amostra a ser analisada. A obtenção da concentração dos elementos foi feita por comparação direta com o padrão. O padrão de referência utilizado foi o pó de hidroxiapatita certificado.

Inicialmente, obtivemos a mesma massa entre as amostras e o padrão para manter a simetria geométrica. Efetivamos o selamento das cápsulas e em todas as etapas de análise as condições de ativação e contagem foram mantidas fixas.

A caracterização da amostra biológica pelo método de Ativação por Nêutron Instrumental envolve dois processos: a irradiação das amostras em um reator nuclear e a medida da ativação induzida por espectroscopia gama. A ativação foi realizada pela exposição da amostra à um fluxo de nêutrons, transformando os elementos estáveis em radioativos pela reação nuclear (n, γ) . A medida da radioatividade foi realizada em um detector semicondutor de alta resolução [49].

A ativação das amostras foi efetuada em duas etapas de acordo com a meia-vida dos radio-nuclídeos analisados.

Para a determinação de Mg, Cl e Mn, amostras e padrões foram irradiados por um minuto por um fluxo de nêutrons térmicos de $4 \cdot 10^{11} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, e por um período de 8 horas no reator nuclear IEA-R1 do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, em fluxo de nêutrons térmicos de $2.7 \cdot 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. A determinação dos elementos foi efetivada através de espectrômetro de raios gama constituído de um detector de Germânio hiperpuro cuja resolução corresponde à 1.83 KeV para o fotopico de energia de 1332 KeV do ^{60}Co , e analisador de sinal associado com 4096 canais.

Através desta técnica foram analisadas as condições analíticas como o método mais adequado de preparação das amostras, irradiação e contagem temporal, limites de detecção, acuracidade e a precisão do método foram analisados com base no estudo comparativo dos resultados obtidos por FRX e INAA. Quanto ao padrão foram definidos os elementos de interesse, sendo então preparadas as amostras.

5.6 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

Existem dois tipos de vibrações moleculares: as deformações axiais e as deformações angulares. Uma vibração de deformação axial é um movimento rítmico ao longo do eixo da ligação, de forma que a distância interatômica aumenta e diminua alternadamente. As vibrações de deformação angular correspondem à variações dos ângulos de ligação, seja internamente num conjunto de átomos, ou seja, deste grupo de átomos em relação à molécula como um todo. Podemos visualizar estes tipos de vibrações na figura 5.8.

Em uma molécula os átomos vibram e rotacionam na posição do seu centro de massa. Se a vibração é pequena, o movimento pode ser aproximado por um movimento harmônico simples. Os fenômenos de vibração e rotação são usados para determinar os compostos constituintes de um determinado material e sua estrutura.

Para a compreensão deste processo, a interação entre a radiação e a matéria deve ser analisada. Existem diferentes técnicas que permitem analisar esta interação. A Espectroscopia por Transformada de Fourier tem oferecido bons resultados em análise de compostos presentes em amostras biológicas.

A absorção pode ser determinada em todas as partes do espectro na região do

Infravermelho, não apenas para um comprimento de onda específico.

A radiação infravermelha na faixa de 10.000 à 100 cm^{-1} quando absorvida, converte-se em energia de vibração molecular. O espectro vibracional mostra-se como uma série de bandas.

Estudos espectroscópicos mostraram que os tecidos dentais duros possuem uma janela de absorção óptica entre 400 - 4000 cm^{-1} , permitindo a observação de várias linhas de absorção dos compostos orgânicos e inorgânicos associados.

A espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier é um método físico-químico para o estudo das interações energéticas dos compostos químicos, por meio de uma fonte de luz de frequência fixa. A grande vantagem na utilização deste método consiste na obtenção de uma boa relação sinal/ruído, conseguindo-se espectros de ótima qualidade em curtos períodos de tempo, além da possibilidade de analisar materiais em suas formas naturais. Estas características possibilitam determinar quantidades diminutas de substâncias (da ordem de ppm).

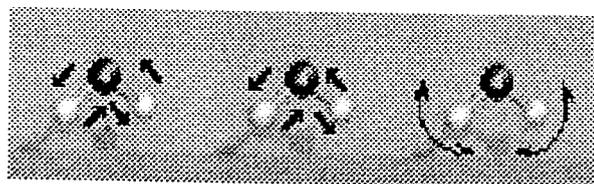


Figura 5.9: Modos de deformação axial e angular.

A figura 5.9, mostra os modos de deformação axial e angular possíveis para um grupo AX_2 de uma molécula.

5.6.1 Princípio de Funcionamento

A radiação contendo todos os comprimentos de onda é separada em dois feixes, um deles percorrendo uma distância fixa e o outro, uma distância variável (espelho móvel). Quando a diferença entre os comprimentos de onda correspondentes é um múltiplo inteiro do feixe, ocorre interferência construtiva. A interferência destrutiva ocorre quando a diferença é um múltiplo ímpar de um quarto do comprimento de onda. O resultado de uma variação completa de comprimentos de onda, é uma série oscilatória de combinações destrutivas ou construtivas que conhecemos como interferograma.

Uma transformação de Fourier converte este interferograma do domínio temporal para o domínio de frequências. A resolução desta técnica corresponde a um valor menor do que 0.01 cm^{-1} . O resultado de várias varreduras é combinado para diminuir o ruído e os espectros de podem ser obtidos com uma porção muito pequena de amostra. Na figura 5.10, podemos observar a foto do aparelho de FTIR.

As intensidades das bandas podem ser expressas como transmitância (T) ou absorbância (A). A transmitância é a razão entre a energia radiante transmitida por uma amostra e a energia radiante que nela incide.

$$T = \frac{E_T}{E_I} \quad (5.1)$$

A absorbância corresponde ao logaritmo na base 10, do recíproco da transmitância, sendo:

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} \quad (5.2)$$

As posições das bandas no espectro infravermelho são apresentadas nesta tese em número de onda ($\bar{\nu}$), cuja unidade é cm^{-1} . Essa unidade é proporcional à energia de vibração [48].

A radiação absorvida pela molécula corresponde à diferentes níveis de energia vibracionais e rotacionais. A concentração mínima que pode ser detectada com FTIR é de aproximadamente 0.2 ppm.

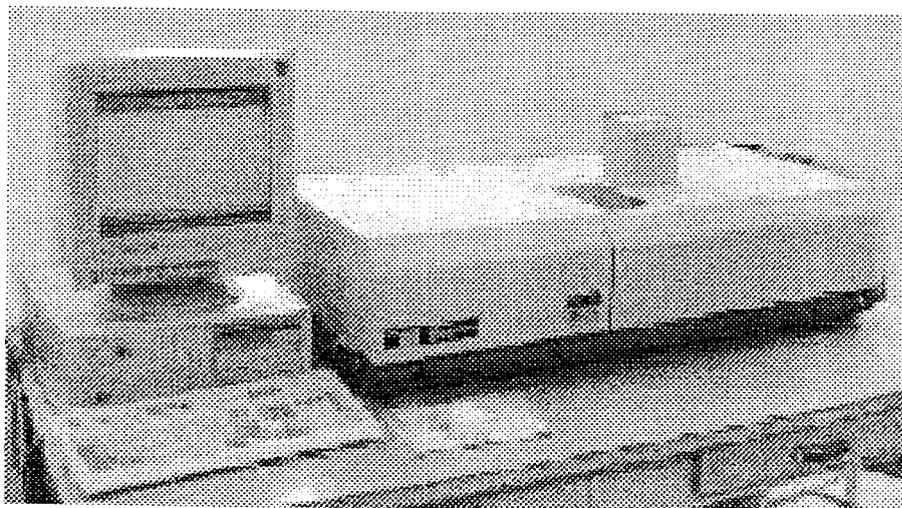


Figura 5.10: Foto do aparelho FTIR

5.6.2 Preparação das amostras de KBr

Examinamos os sólidos pelo método de preparação do disco prensado. A amostra é inteiramente misturada com brometo de potássio seco (KBr). A mistura foi feita por moagem em um almofariz liso de ágata. Para que um bom espectro seja obtido a mistura deve estar homogênea e as partículas devem ter no máximo $2 \mu\text{m}$.

A amostra é misturada completamente com KBr na proporção aproximada de 1% a 3% por peso e prensada para formar uma pastilha com espessura de cerca de 1 mm, relativamente transparente a olho nú. A atmosfera ambiente é tipicamente usada para esta técnica. Como referência uma pastilha pura de KBr é usada [48].

Na figura 5.11, apresentamos um pastilhador e na figura 5.12, algumas pastilhas confeccionadas para os experimentos. Um esquema do aparato óptico do equipamento consta da ilustração 5.13.

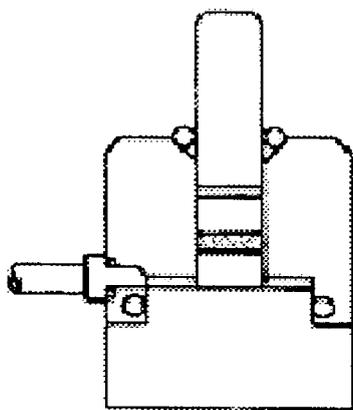


Figura 5.11: Modelo de Pastilhador para a confecção das pastilhas de KBr.

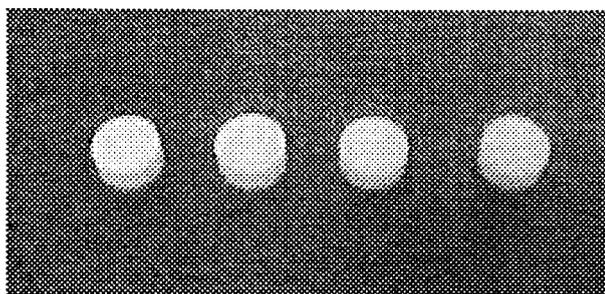


Figura 5.12: Pastilhas de KBr.

O processo de aquisição e tratamento do sinal detectado pelo equipamento passa por algumas etapas, como a aquisição do espectro do sinal da amostra de referência e a construção do interferograma associado seguido da comparação com o sinal da amostra e a diferença entre estes sinais constituem o espectro de transmissão para determinada amostra. Detalhes dessa descrição podem ser visualizados na figura 5.14.

Mede-se a radiação transmitida ou absorvida num certo intervalo da faixa espectral. O sinal gerado corresponde à diferença entre a radiação transmitida por um material tomado como referência e a radiação transmitida pela amostra analisada, num certo comprimento de onda.

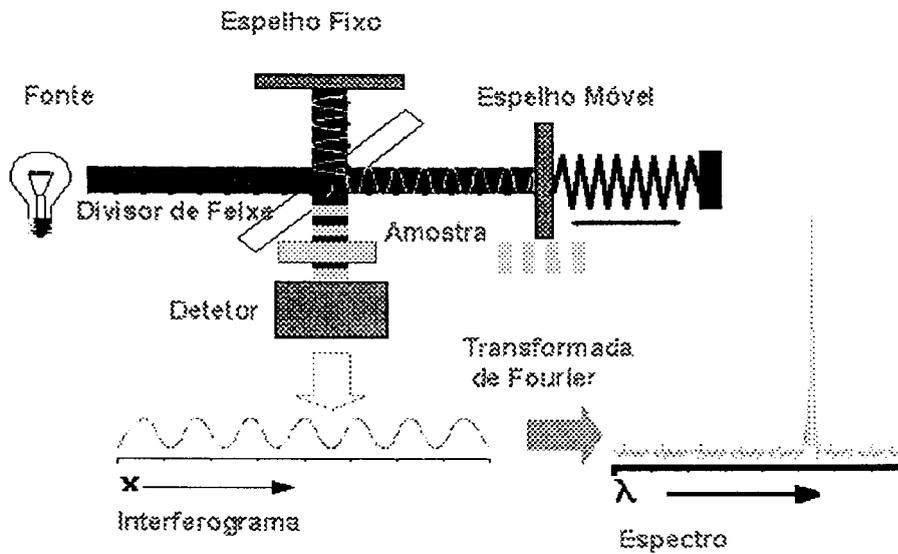


Figura 5.13: Representação esquemática de um interferômetro de Michelson.

5.6.3 Aspectos físicos

O processo de absorção de radiação por um material é aquele no qual um quanta de radiação excita um centro de absorção no material com um nível de energia E_1 para um nível mais alto E_2 , o que é representado pela equação abaixo:

$$E_2 - E_1 = \hbar\nu \quad (5.3)$$

na qual ν é a frequência da radiação e \hbar é a constante de Planck.

A radiação eletromagnética incide no material a ser estudado com uma intensidade I_0 e deixa o material com uma intensidade I . A equação diferencial que descreve a taxa de mudança de intensidade, devido à absorção da radiação eletromagnética pelo material é:

$$\frac{dI}{dx} = -\gamma I \quad (5.4)$$

na qual γ é o coeficiente de absorção que depende do material e do comprimento de onda da radiação. A integração desta equação nos fornece como resultado a sentença:

$$I = I_0 \exp(-\gamma(x)) \quad (5.5)$$

o qual é conhecida como Lei de Beer.

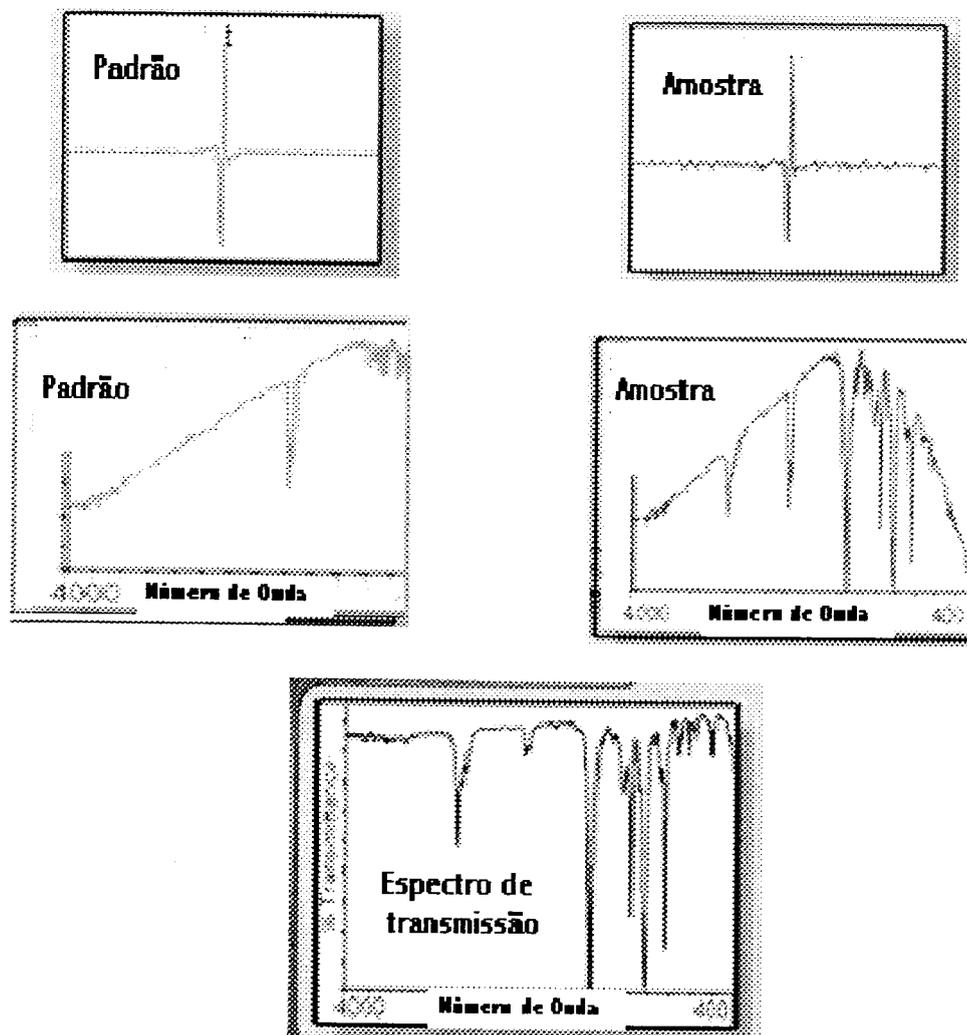


Figura 5.14: Interferograma da amostra padrão e tecido biológico gerando o espectro de transmissão

Como mencionado anteriormente esta técnica é usual para estudos de amostras biológicas por permitir o uso de quantidades diminutas de material, o que contribui para o desenvolvimento de estudos *in vivo* e *in vitro* com número reduzido de espécimes.

Os espectros de absorvância das amostras de tecidos dentais foram obtidos com um espectrofotômetro Bomem DA-8 FTIR, para a região de 4000-400 cm^{-1} , à temperatura ambiente. Na análise no infravermelho do pó de tecidos dentais foi usado KBr (2 mg (amostra)/300 mg (KBr)).

5.7 Microdureza Vickers

O comportamento mecânico de materiais através de teste de dureza reflete a característica do material durante o tratamento [50–53]. Entretanto, resultados do teste de microdureza podem ser diretamente usados para identificar sua condição após um dado tratamento o tratamento. Um progresso significativo tem sido feito para o entendimento da estrutura e função do esmalte dental nas últimas décadas [50, 51, 54, 55].

O objetivo desta análise é verificar as variações na microdureza ocasionadas pelo tratamento superficial com *laser*, correlacionando sua estrutura com medidas de dureza antes e após a irradiação. A figura 5.15, temos o perfil de indentação após a aplicação de uma carga na superfície.

A condição de carga usada nesta tese corresponde à 100 gramas por 10 s. A partir de cada impressão duas diagonais são medidas usando um microscópio óptico com aumento de 100 x.

A microdureza do esmalte dental tem sido associada com o aumento na concentração de cálcio depois de vagarosa descalcificação e ataque ácido. Vários autores têm relacionado a microdureza e a perda de cálcio ocasionada no esmalte dental [21, 56–58]. A dureza do esmalte do dente é uma propriedade fisiológica essencial do esmalte, enquanto que o conteúdo de cálcio é um importante parâmetro em mineralização, desmineralização e remineralização. Em três diferentes direções em relação às direções de orientação dos prismas do esmalte, medidas de microdureza não indicam uma anisotropia mecânica. Experimentos de microdureza feitos em secções longitudinais do dente realizados por diferentes autores mostram que a camada da superfície tem sua dureza aumentada após a irradiação [59].

A dureza do esmalte e dentina tem sido estudada por diversos pesquisadores que tem usado habitualmente indentadores esféricos, Vickers e Knoop. Entretanto, o indentador Knoop é o mais usado em amostras dentais. A dureza Knoop para o esmalte dental alcança de 272 à 440 KHN e para a dentina de 50 à 70 KHN [59].

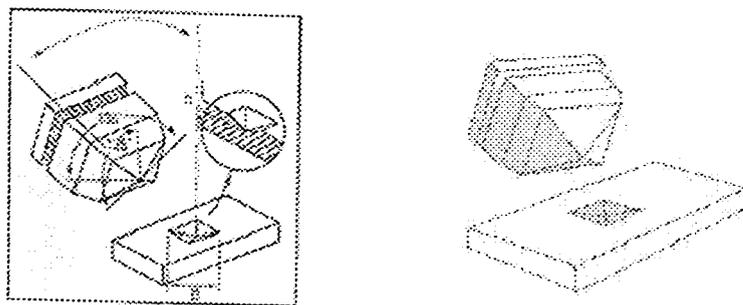


Figura 5.15: Esquema do indentador para medida de dureza Vickers.

5.7.1 Princípio de Operação

Todo equipamento padrão de microdureza opera com princípio similar. Um indentador de diamante com geometria padrão, por exemplo, um quadrado de 136 graus baseado num diamante piramidal (Vickers) é indentado sobre uma carga conhecida, na superfície da amostra. A carga é aplicada por um período conhecido de tempo, de 10 à 15 s, e depois o indentador é removido. A área de contato do indentador resultante é calculada a partir da diagonal de indentação. Conforme indicado na figura 5.16.

A medida é feita usando um micrômetro ocular, duas lâminas sob o micrômetro são alinhadas com os vértices opostos do indentador e sua separação é verificada na escala do micrômetro. A iluminação é ajustada de forma a obter o máximo de contraste. As lentes do microscópio óptico de teste de microdureza são desenhadas para dar profundidade limitada de campo e facilitar medidas precisas.

Medidas do comprimento da diagonal curta e longa de cada indentação foi estimada para 0.5 microns, a resolução na escala fina do instrumento teve como valor inicial 0.5 microns. Valores da dureza Vickers foram calculados para esmalte e dentina de acordo com a equação:

$$HV = \frac{C(Kgf)}{A(mm^2)} \quad (5.6)$$

na qual C corresponde a carga de teste e A representa a área da superfície.

Capítulo 6

Resultados e Discussões

Algumas importantes propriedades dos tecidos dentais incluem as propriedades ópticas e tribológicas. Nesta pesquisa, estudamos as propriedades ópticas como, absorvância para os tecidos dentais: esmalte, dentina, raiz e cimento para dentes humanos e dentes bovinos e a refletância para o cimento bovino. As propriedades ópticas foram avaliadas na região do infravermelho próximo.

São apresentados os resultados para a Microscopia Eletrônica de Varredura juntamente com a composição química dos tecidos dentais por Energia Dispersiva de Raios-X, Fluorescência de Raios-X, Ativação com Nêutron Instrumental, Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier e Microdureza Vickers.

6.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram adquiridas fotomicrografias eletrônicas de varredura com aumentos originais padronizados de 33, 100, 300, 500, 1200, 3000 e 10000 X. Nas micrografias analisamos as modificações morfológicas devido a irradiação com *laser* de Neodímio para os parâmetros estabelecidos nesta tese.

Obtivemos numa primeira etapa uma estimativa da variação da espessura do esmalte ao longo do dente, seguindo da face oclusal para a raiz e da lateral do esmalte para a dentina, conforme pode ser visualizado na figura 6.1.

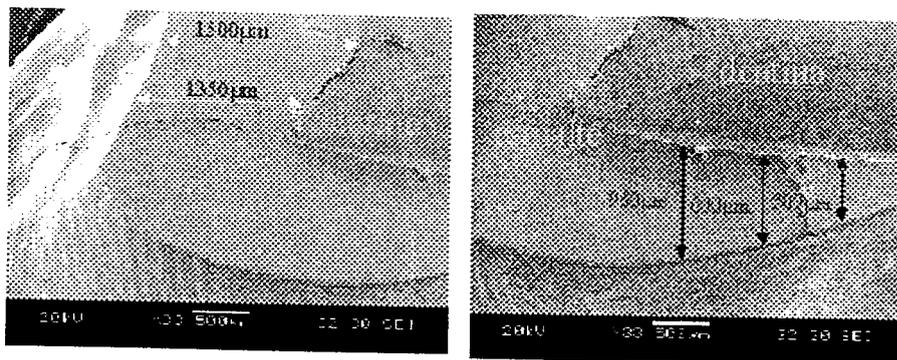


Figura 6.1: Micrografia eletrônica do corte transversal do tecido dental humano. Dimensão de esmalte e dentina, espessura frontal e lateral.

Selecionamos um conjunto de micrografias eletrônicas para cada parâmetro de irradiação com a finalidade de representar a morfologia resultante para cada condição experimental.

Na figura 6.2, exibimos a micrografia eletrônica da região não irradiada de esmalte dental humano. Observamos ondulações características do tecido, as linhas de Retzius [39].

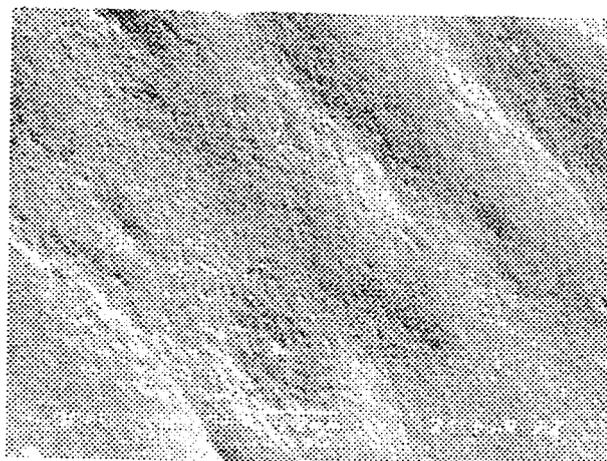


Figura 6.2: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano não irradiado.

Irradiamos a superfície do esmalte com densidade de energia de 10 a 40 J/cm^2 . Na figura 6.3, visualiza-se a incidência de um pulso, observando detalhes da morfologia alterada quando comparada ao tecido controle.

As amostras irradiadas com densidade de energia de 40 J/cm^2 e largura temporal

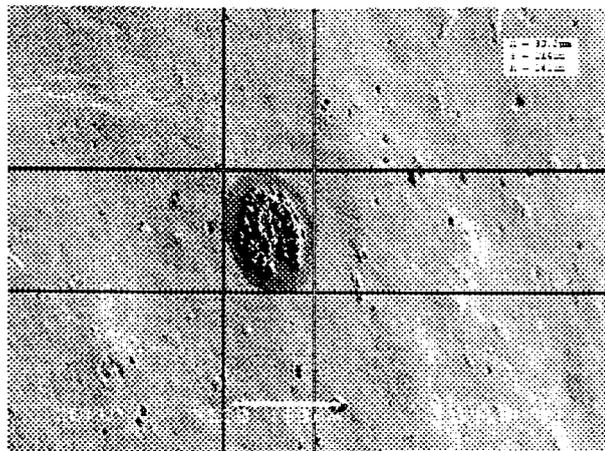


Figura 6.3: Região do esmalte dental irradiada com *laser* de Nd:YAG, densidade de energia 40 J/cm^2 , largura temporal de 6 ns e taxa de repetição de 5 Hz. Observa-se halo lateral.

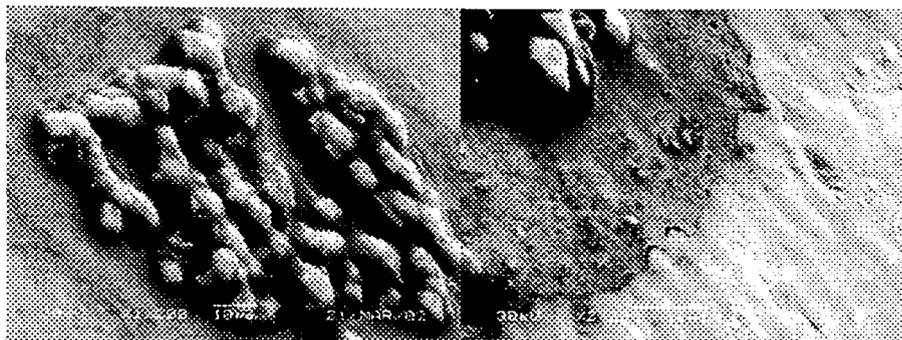


Figura 6.4: Fotomicrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano submetido a irradiação com densidade de energia de 40 J/cm^2 , largura de pulso de 6 ns e taxa de repetição igual à 5 Hz.

de 6 ns e taxa de repetição 5 Hz apresentaram aspectos de fusão e formação de bordas laterais a partir de resíduos provenientes do derretimento do material orgânico, conforme pode ser visualizado na figura 6.4.

Notamos que as superfícies irradiadas apresentam, de acordo com a densidade de energia e largura temporal aplicadas, dimensão distinta e áreas com tratamento da superfície, também como padrão para cada parâmetro considerado.

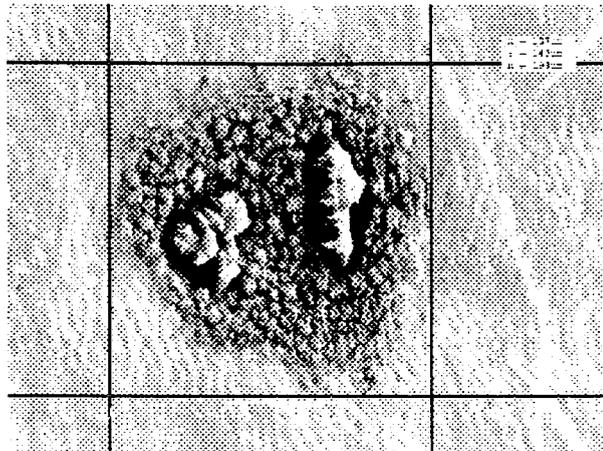


Figura 6.5: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano submetido a irradiação com densidade de energia de 11 J/cm^2 , largura de pulso de 6 ns e taxa de repetição igual à 5 Hz.

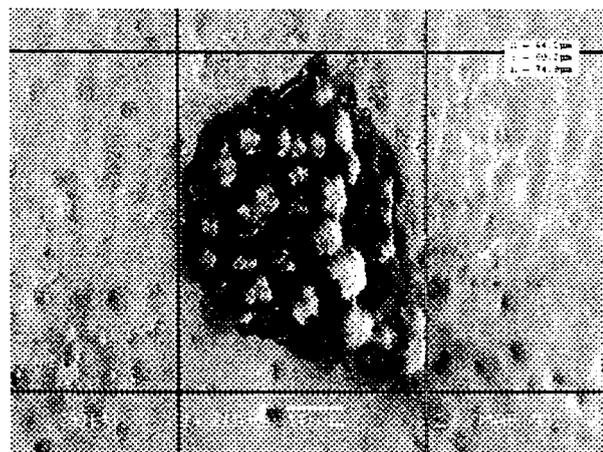


Figura 6.6: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano submetido a irradiação com densidade de energia de 22.5 J/cm^2 , largura de pulso de 200 ns e taxa de repetição igual à 7 Hz.

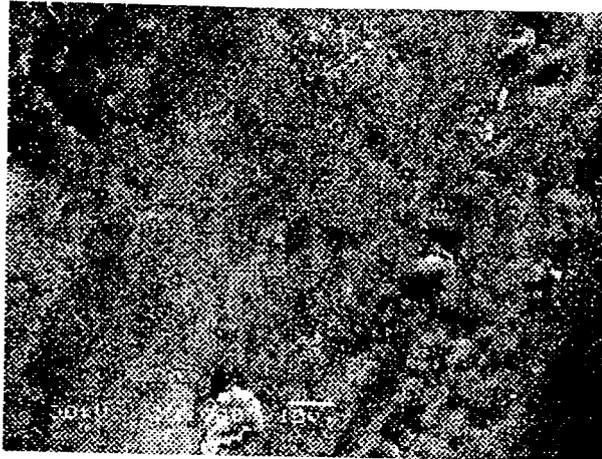


Figura 6.7: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano irradiado com *laser* de Nd:YAG com parâmetros: 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz (aumento 1000X).

As dimensões da região abrangida pela incidência do feixe estão mostradas na tabela 6.1.

Tabela 6.1: Dimensão da região de esmalte dental humano modificada pelo *laser* para diferentes densidades de energia aplicada.

Largura temporal	Densidade de Energia	Diâmetro (μm)
6 ns	40 J/cm^2	72
6 ns	20 J/cm^2	47
6 ns	11.5 J/cm^2	33
200 ns	22.5 J/cm^2	40

Não observamos o aparecimento de trincas provenientes de efeitos térmicos devido a irradiação do esmalte dental.

Nas micrografias obtidas para diferentes aumentos observamos regiões não ablaçionadas com ausência de fraturas. Conforme podemos visualizar nas figuras 6.3 à 6.7.

A superfície irradiada para o parâmetro de 40 J/cm^2 apresenta mudança morfológica com regiões sobressalentes que constituem basicamente conteúdo mineral. Podemos visualizar as regiões irradiadas nas micrografias eletrônica da figuras 6.8, 6.9 e 6.11.

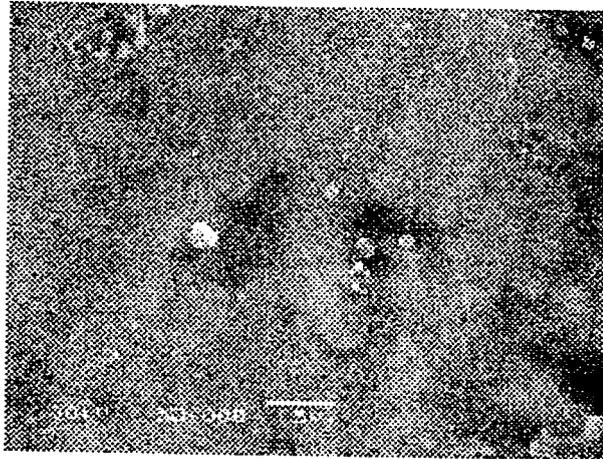


Figura 6.8: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano irradiado com *laser* de Nd:YAG com parâmetros: 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz (aumento 10000X).

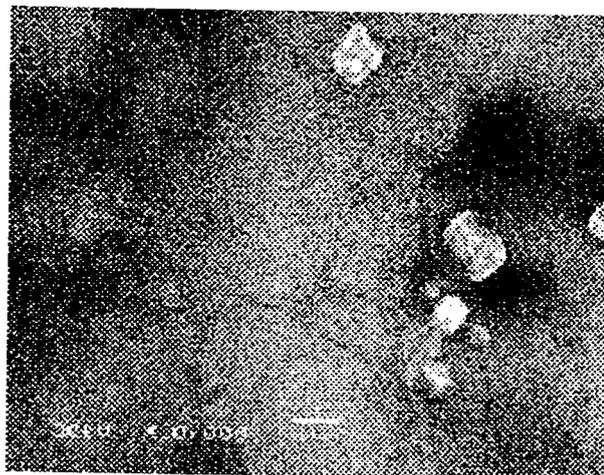


Figura 6.9: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental humano irradiado com *laser* de Nd:YAG com parâmetros: 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz (aumento 20000X)

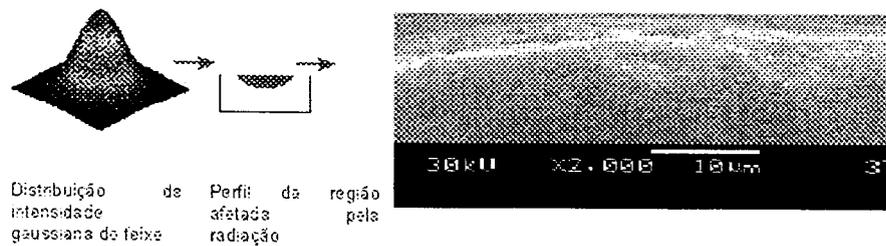


Figura 6.10: Perfil do feixe do laser e região modificada pela radiação.

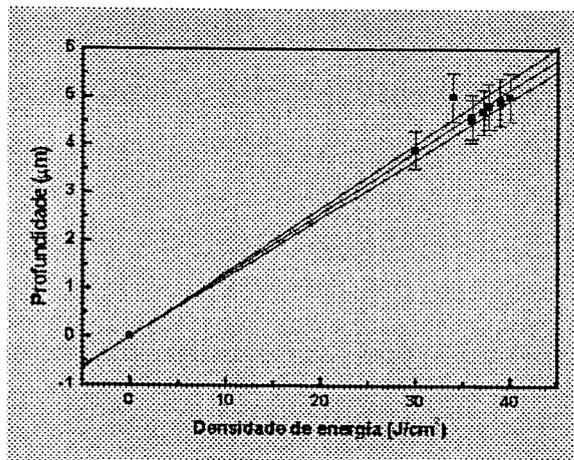


Figura 6.11: Resultado da profundidade atingida pelo feixe de pulso curto em função da densidade de energia aplicada.

Cortes transversais permitiram a verificação do efeito induzido pelo *laser* em profundidade no espécime de esmalte dental humano após a irradiação com *laser* de Nd:YAG, conforme podemos observar na figura 6.10.

Para os espécimes de esmalte dental humano analisados, os resultados indicam que diferentes densidades de energia induzem alterações ao longo da superfície com distintas espessuras, no caso deste trabalho não houve ablação do material e a região modificada pelo *laser* foi inferior à 5 μm .

O objetivo da realização do ensaio com ácido láctico e acético foi verificar as modificações no esmalte bovino após tratamento com ácido para simular o efeito microbológico, juntamente com a efetividade do uso de *laser*.

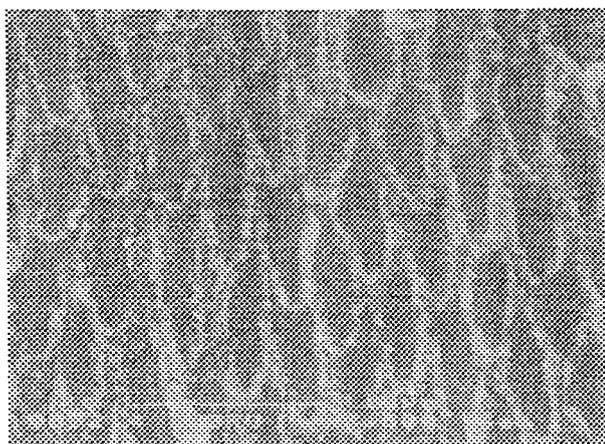


Figura 6.12: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino destacando a região prismática após ataque com ácido láctico.

Na figura 6.12, observa-se a região prismática após ataque com ácido láctico. Na região irradiada e submetida ao ataque ácido temos a estrutura prismática reduzida, conforme visualiza-se na figura 6.14.

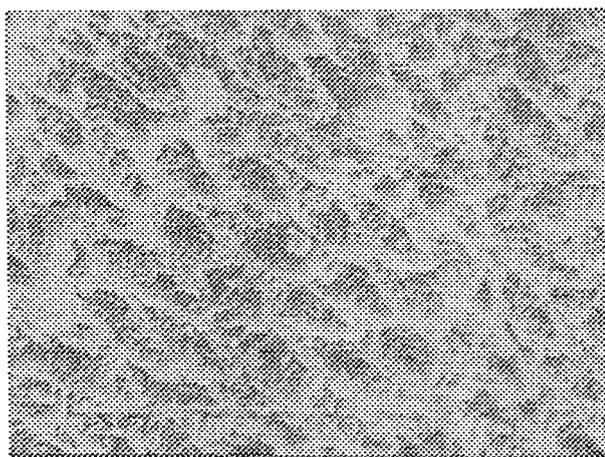


Figura 6.13: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino destacando a região prismática após ataque com ácido acético.

A morfologia superficial dos prismas de esmalte bovino apresentada na figura 6.13 possui estrutura similar à figura 6.12. Entretanto, nota-se que o material orgânico das

regiões interprismáticas é mais preservado, devido às diferença entre os dois tipos de ácidos. As modificações morfológica após a irradiação com *laser* apresentam-se nas figuras 6.14 e 6.15.



Figura 6.14: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino irradiado 40 J/cm^2 , 10 ns, 10 Hz, destacando a região prismática após ataque com ácido láctico.

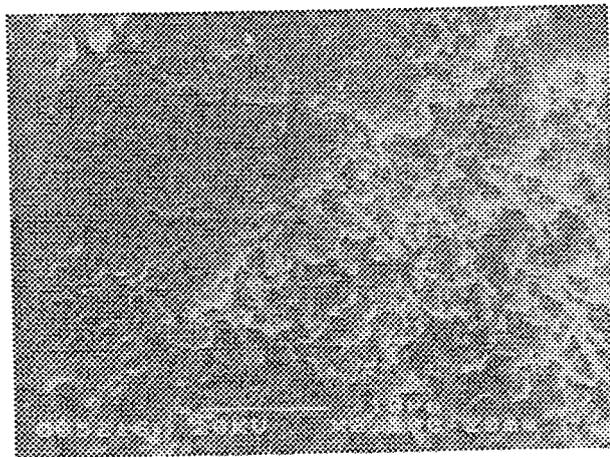


Figura 6.15: Micrografia eletrônica de varredura de esmalte dental bovino irradiado 40 J/cm^2 , 10 ns, 10 Hz, destacando a região prismática após ataque com ácido acético.

6.2 Espectrometria por Energia dispersiva (EDS) com detetor de Silício dopado com Lítio

Foram estudadas por EDS seis amostras para cada grupo. Os dados adquiridos foram analisados estatisticamente pela Correlação de Pearson e análise de Variância.

A composição dos elementos traço presentes na camada do esmalte dental pode ser afetada pela saliva [6] na região entre 100 a 150 μm da superfície [7].

Na análise deste resultado consideramos quatro elementos essenciais *Ca*, *P*, *O* e *F*.

Uma correlação entre a presença destes elementos está disponível na literatura [8] com relação à tendência para cárie, designam-os como influentes no processo cariogênico (*F,P*), levemente influentes (*Mo*, *V*, *Cu*, *Sr*, *B*, *Li*, *Au*), sem influência na cárie (*Ba*, *Al*, *Ni*, *Fe*, *Pd*, *Ti*), suportam a lesão (*Se*, *Mg*, *Cd*, *Pb*, *Pt*, *Si*) e são incertos quanto ao papel no processo (*Br*, *Be*, *Co*, *Mn*, *Sn*, *Zn* e *I*).

A razão da concentração de cálcio pela concentração de fósforo é variável na apatita sendo o valor aproximado de 1.67 o mais aceito. Os elementos que comumente são incorporados à estrutura de hidroxiapatita são carbonato, citrato, sódio, magnésio, potássio, cloro e quantidades variáveis de flúor. Um dos fatores relevantes para o flúor é sua propriedade de alterar a dureza do cristal. Outro fator determinante é que a hidroxiapatita é a forma menos solúvel de fosfato de cálcio em pH neutro.

Apresentamos, para a superfície controle valores da razão $[\text{Ca}]/[\text{P}]$ de diferentes autores sendo que nossos resultados são da mesma ordem de grandeza destes. Essa análise contribui para nos certificarmos da coerência existentes nos resultados aqui expostos.

Na figura 6.16, apresentamos os percentuais obtidos para os elementos principais do esmalte dental humano no irradiadas e irradiadas com densidade de energia de $40\text{J}/\text{cm}^2$, 10 ns e 5 Hz. Na figura 6.17, mostramos um espectro típico de EDS comparando uma amostra controle e irradiada de esmalte dental. Nesta figura visualizamos a perda de fósforo após a irradiação.

Tabela 6.2: Análise elementar para o esmalte (% peso) por EDS para densidade de energia de 40 J/cm^2 , largura temporal 10 ns, 5 Hz.

Elemento Atômico	Ca	P	Na	Cl	K	Ca/P
Tecido Dental	A	A	A	A	A	
Esmalte Humano Controle	64.83	34.01	0.45	0.71	0	1.91
Esmalte Humano Irradiado	46.27	22.05	10.85	18.71	2.12	2.10
Esmalte Bovino Controle	66.08	32.56	0.48	0.78	0.1	2.03
Esmalte Bovino Irradiado	42.95	20.74	12.78	19.25	4.28	2.07
<i>N=Número de amostras</i>	6					
<i>Análise em triplicata</i>						

Tabela 6.3: Resultado da análise quantitativa do esmalte dental após a irradiação com laser.

Densidade de Energia	Áreas Examinadas	Ca/P	
		10 J/cm^2	40 J/cm^2
	Centro da cratera	2.28	2.24
	Margem da cratera (derretimento)	2.17	2.00
	Periferia não irradiada	2.07	1.96

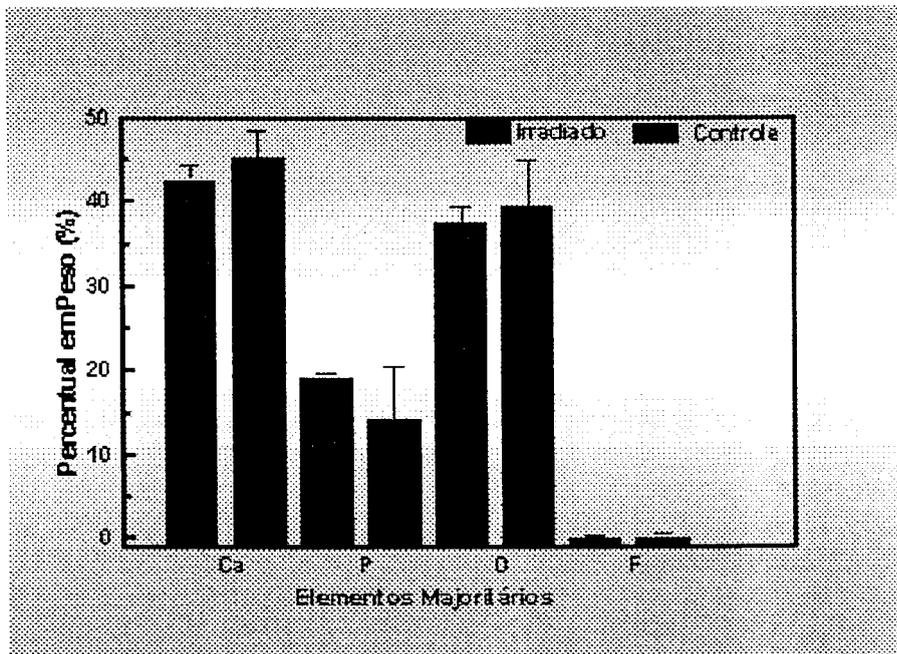


Figura 6.16: Percentual em peso de elementos majoritários existentes em amostras de esmalte dental humano não irradiadas adquiridas por EDS.

Os resultados apresentados na tabela 6.2 indicam que a concentração $[Ca]/[P]$ aumentou 10 % para o esmalte dental humano e 2 % para o esmalte dental bovino após a irradiação com *laser*.

A razão $[Ca]/[P]$ para o centro, margem da cratera e periferia não irradiada foram 2.24, 2.00 e 1.96, respectivamente, conforme mostrado na tabela 6.3. Isto indica que houve uma modificação somente na área na qual observamos o aumento no relevo da superfície com halo lateral.

A transformação de fase e mudança estrutural do esmalte para distintos intervalos de temperatura tem sido estudado [60].

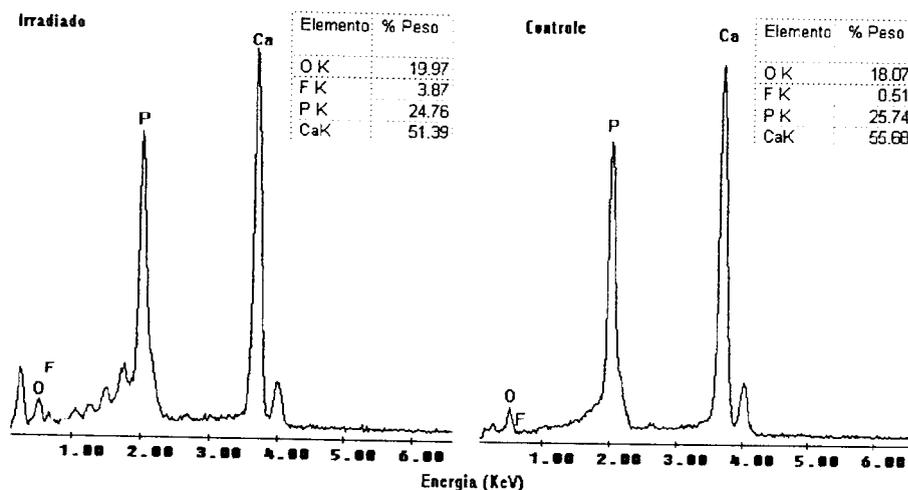


Figura 6.17: Espectro característico de uma amostra de esmalte dental humano- Percentual em peso de emementos majoritários e traço existentes em amostras de esmalte dental humano.

A apatita do esmalte e dentina fundem acima de 1000 °C. Durante a irradiação com *laser* pulsado, o gradiente de temperatura decresce rapidamente ocorrendo mudança estrutural e composicional devido a considerável aumento em temperatura numa fina camada sem afetar a região subjacente, este fato pode ser verificado na tabela 6.3.

A energia do *laser* causa uma rápida elevação da temperatura local induzindo a fusão, resolidificação e a decomposição dos cristais de hidroxiapatita [61].

Como mencionado anteriormente, o grau das mudanças é afetado pelas características ópticas do tecido, assim as mudanças variam de acordo com o tipo de *laser* e tecido. Geralmente, a irradiação com *lasers* de pulso curto é acompanhada por um microplasma. O tempo de vida do microplasma é da ordem de 40 segundos, mas produz alta temperatura, aproximadamente 10.000 °C [62]. O microplasma produz uma mudança composicional, estrutural e de fase numa camada muito fina da superfície.

Amostra de tecido dental bovino apresenta composição química semelhante ao tecido dental humano, deste modo podemos utilizar o dente bovino cujas dimensões permitem a separação dos constituinte do dente com maior precisão.

Nas figuras 6.17 e 6.18, mostramos a variação química elementar de amostra de esmalte bovino controle e irradiado com densidade de energia de 20 J/cm², 6 ns e 5 Hz.

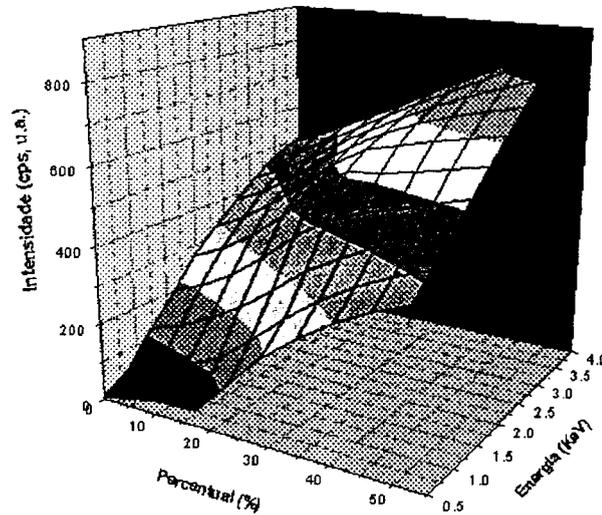


Figura 6.18: Mapeamento da composição química elementar de amostra de esmalte dental bovino controle em função da intensidade e energia.

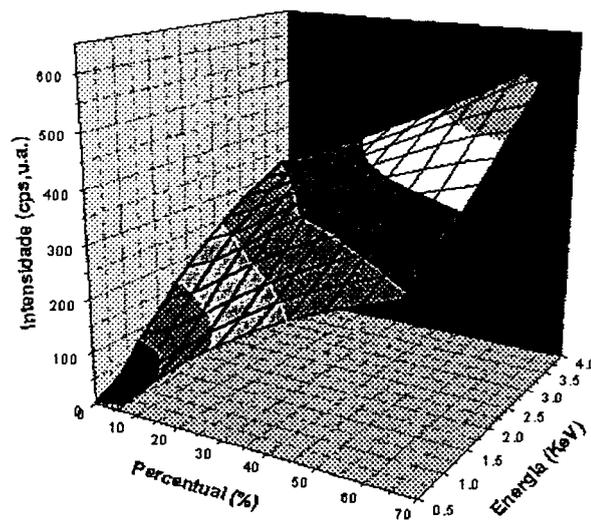


Figura 6.19: Mapa da composição química elementar de amostra de esmalte dental bovino irradiado para a condição de energia 20 J/cm^2 .

6.3 Correlação entre o teor de Cálcio e Fósforo

A correlação é definida como o grau de associação entre variáveis quantitativas e prediz o comportamento de uma variável em função de outra a partir de um conjunto de dados experimentais.

A correlação corresponde a medida da similaridade e associação entre variáveis. Sua utilização para a análise estatística de dados provenientes de ensaios químicos têm sido apresentada frequentemente.

Utilizamos a correlação com o intuito de definir uma possível dependência linear entre o teor de Cálcio e Fósforo presente nos tecidos dentais controle e irradiados com distintos parâmetros do *laser*.

Para a verificação do acima exposto, calculamos a correlação de Pearson, a partir do coeficiente de correlação definido por r , verificando a dependência linear entre dois grupos de valores quantitativos. A correlação de Pearson determina a extensão da relação linear entre dois valores quantitativos (expressão 6.1).

O grau de associação é máximo quando r corresponde a 1, o que representa uma relação diretamente proporcional e r com valor -1 indica uma relação inversamente proporcional, sendo que entre as variáveis. Quando o valor é igual a zero ou próximo de zero, representa a ausência de uma relação de linearidade entre as variáveis.

$$r = \frac{\sum[(x - \bar{x})(y - \bar{y})]}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}} \quad (6.1)$$

Os resultados mostrados nas figuras 6.20, 6.21 e 6.22, para o coeficiente de correlação, mostram que embora sejam distintas densidades de energia aplicadas e largura temporal de mesma ordem, os valores de r mantêm um padrão de correlação positiva, indicando que existe uma relação linearmente proporcional entre os conteúdos de Ca e P, no período anterior e posterior à irradiação com *laser*.

Com base nos parâmetros utilizados neste estudo, as densidades de energia, larguras temporais e as taxas de repetição aplicadas foram indicativo de que um padrão de mudança morfológica juntamente com alteração na composição química produz um aumento de resistência à ataques cariogênicos sem comprometimento da superfície e prejuízo em razão do efeito térmico ao tecido adjacente.

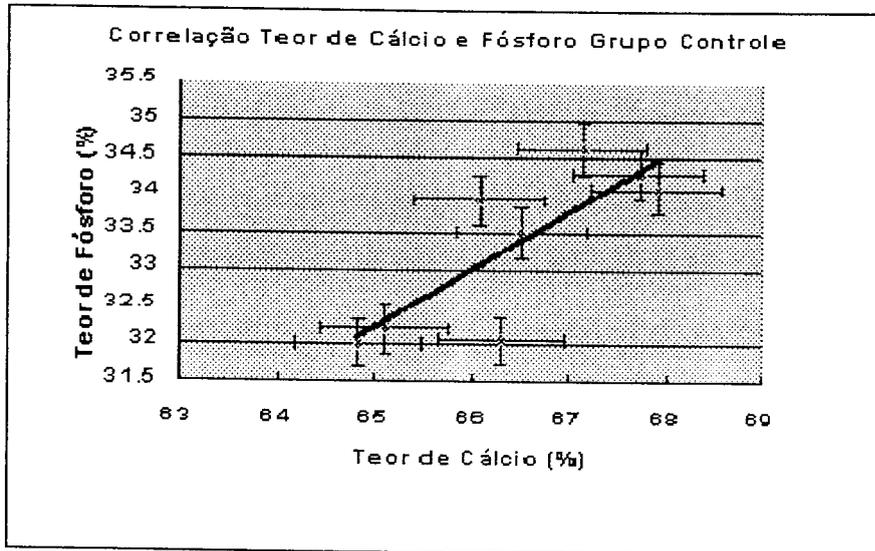


Figura 6.20: Correlação entre teor de Cálcio e Fósforo presente no esmalte dental (não irradiado) cujo $r=0.803$.

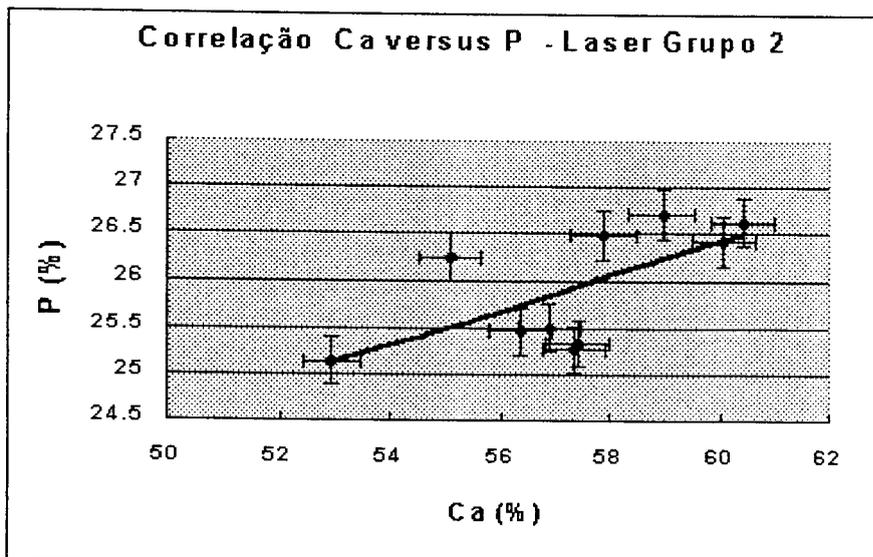


Figura 6.21: Correlação entre teor de Cálcio e Fósforo presente nos tecidos dentais controle cujo $r=0.637$, densidade de energia 20 J/cm^2 , 6 ns, 5 Hz .

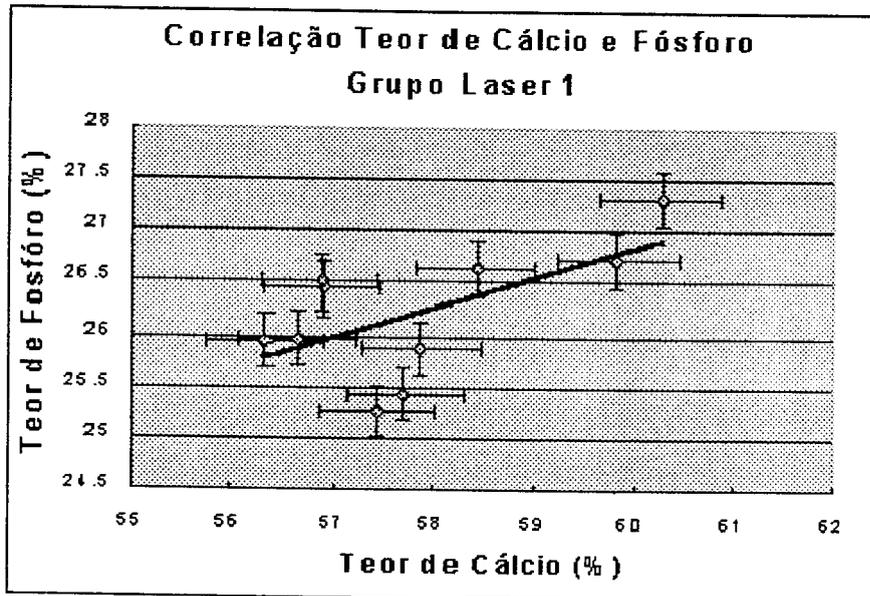


Figura 6.22: Correlação entre teor de Cálcio e Fósforo presente nos tecidos dentais irradiado cujo $r=0.612$, densidade de energia 40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz.

As densidades de energia aplicadas foram inferiores às densidades sugeridas para ablacionar o tecido. Assim, os parâmetros propostos neste estudo destinaram-se a tratar sem retirar material do tecido, isto é, modificar a superfície visando unicamente a formação de regiões com microespaços suficientes para infiltrar soluções fluoretadas e outros agentes com efeito de prevenir o surgimento de lesões do tipo cárie.

6.4 Fluorescência de Raios-X

Conforme descrito no capítulo 5, a técnica de FRX permite a determinação dos elementos majoritários presentes na amostra de tecido. A tabela 6.4, apresenta os valores da concentração dos elementos Cálcio e Fósforo obtidos aplicando esta técnica.

Medidas destinadas a avaliar a variação no conteúdo químico dos espécimes foram efetuadas para 32 amostras de esmalte dental por FRX. Estas amostras foram examinadas em duas etapas: antes do tratamento a laser e após o tratamento. O tratamento a laser consistiu de irradiação com densidade de energia igual a 40 J/cm^2 , largura temporal de 10 ns e taxa de repetição de 5 Hz. Apresentamos na tabela 6.4 os valores de Ca e P obtidos no experimento com valor médio e desvio padrão associado.

Tabela 6.4: Análise elementar para o esmalte (% peso) por FRX.

Elemento Atomico	$Ca \pm DP$	$P \pm DP$	$O \pm DP$	$F \pm DP$	Ca/P
Tecido Dental					
Esmalte Humano Controle	42.78 ± 1.79	19.44 ± 0.3	37.74 ± 1.91	0.1 ± 0.22	2.2
Esmalte Humano Irradiado	45.36 ± 3.28	14.24 ± 6.37	39.64 ± 5.28	0.24	3.24
$N = \text{Número de amostras}$	32	32	32	32	

Nas tabelas 6.5 e 6.6, observamos os valores para os elementos majoritários cuja taxa entre os elementos Cálcio e Fósforo para o esmalte dental humano correspondem a 2.09 e 2.1, respectivamente. Entendemos que estes valores não são absolutos, mas constituem uma medida importante para a comparação com os resultados apresentados.

A análise dos valores da composição química indica que a irradiação com *laser* para o parâmetro de 40 J/cm^2 , largura temporal de 10 ns e taxa de repetição de 5 Hz apresenta um aumento de 10% para o conteúdo de Cálcio e uma redução de 20 % no conteúdo de Fósforo, conforme a tabela 6.4.

Na tabela 6.6, temos os valor da razão Ca/P para a dentina humana. Os valores obtidos para a dentina bovina foram razoavelmente superiores, conforme visualiza-se na tabela 6.7. O aumento da razão Ca/P para a dentina bovina correspondeu a 7%.

Tabela 6.5: Composição química do esmalte dental (percentual em peso) estabelecida por Hodge, H.C. [38].

Conteúdo Mineral	Média	Ca/P
Cálcio	36.1	2.09
Fósforo	17.3	
Carbonatos	3.0	
Magnésio	0.5	
Sódio	0.2	
Potássio	0.3	
Cloro	0.3	
Enxofre	0.3	
Cobre	0.01	
Zinco	0.016	
Flúor	0.016	
Silício	0.003	
Ferro	0.0025	

Tabela 6.6: Composição química do esmalte dental (percentual em peso) estabelecida por Zipkin, I. [63].

Conteúdo Mineral	Esmalte	Dentina	Osso
Cálcio	35.9	25.9	39.4
Fósforo	17.0	12.6	18.0
Flúor	0.01	0.02	0.095
<i>Ca/P</i>	2.1	2.06	2.2

Tabela 6.7: Análise elementar para a dentina bovina (% peso) por FRX.

Elemento Atômico	Ca \pm DP	P \pm DP	O \pm DP	Ca/P
Tecido Dental				
Dentina Bovina Controle	40.74 \pm 1.43	13.47 \pm 0.51	45.88 \pm 1.82	3.02
Dentina Bovina Irradiada	46.67 \pm 4.55	14.57 \pm 1.37	38.75 \pm 5.91	3.20
N= Número de amostras	5	5	5	5
Densidade de Energia	40 J/cm ⁻²		10 ns	

A tabela 6.8, apresenta valores composicionais obtidos de pastilhas de tecido dental. Verificamos que os resultados tiveram menor variabilidade do que os obtidos para fragmentos de amostras do dente. Ressalta-se que a razão Ca/P foi superior neste caso para as amostras de esmalte humano, esmalte bovino e hidroxiapatita, com valores inferiores para dentina e cimento. Este fato está relacionado à separação das amostras para confecção das pastilhas.

Com relação ao cimento bovino, os resultados obtidos indicam um aumento abaixo de 30% para a razão Ca/P, de acordo com os resultados apresentados na tabela 6.9.

Concluimos que não há diferença significativa no percentual por peso de Cálcio obtido entre o grupo não irradiado e irradiado com laser para 40 J/cm⁻², 10 ns, 10 Hz, conforme apresentado na tabela. Verificamos também que para o conteúdo de Fósforo há diferença significativa entre o grupo não irradiado e irradiado com laser para 40 J/cm⁻², 10 ns, 10 Hz, na tabela esta análise é apresentada.

Durante a pesquisa realizamos um estudo comparativo entre a técnica de espectroscopia de Raios-X e a técnica de Ativação com Nêutron Instrumental com o intuito de verificar a precisão da técnica frente à proposta inicial do trabalho. Posteriormente discorreremos sobre o ensaio experimental realizado e seus indicativos.

Para produzir resultados conexos, deve ser aplicada uma correção, que permita-nos considerar um intervalo médio de valores da composição elementar sem detrimento para a proposta em desenvolvimento. Esta correção permite sugerirmos um valor que contemple uma maior totalidade de indivíduos. Na tabela 6.10, apresentamos os valores obtidos por diferentes métodos analíticos para a concentração de Cálcio. Nesta

Tabela 6.8: Análise da composição química elementar (% peso) para pastilhas de tecidos dentais por FRX (parâmetro de $40 J/cm^2$, largura temporal de $10 ns$ e taxa de repetição de $10 Hz$).

Elemento Atômico	Ca \pm SD	P \pm SD	O \pm SD	F \pm SD	Ca/P
Tecido Dental					
Esmalte Humano Controle	56.54 \pm 0.59	20.31 \pm 0.16	22.40 \pm 1.06	0.75 \pm 0.51	2.78
Esmalte Humano Irradiado	55.21 \pm 1.09	19.27 \pm 0.24	25.23 \pm 1.31	0.29 \pm 0.25	2.86
Esmalte Bovino Controle	51.41 \pm 2.10	20.60 \pm 0.50	27.92 \pm 2.63	0.06 \pm 0.11	2.49
Esmalte Bovino Irradiado	52.28 \pm 0.80	20.18 \pm 0.19	26.98 \pm 1.02	0.75 \pm 0.51	2.59
Dentina Humana Controle	62.76 \pm 2.03	16.85 \pm 0.29	20.33 \pm 2.22	0.06 \pm 0.10	3.72
Dentina Humana Irradiada	61.59 \pm 2.14	16.74 \pm 0.33	20.86 \pm 2.40	0.80 \pm 0.103	3.68
Cimento Humano Controle	67.68 \pm 1.08	11.68 \pm 0.16	20.38 \pm 1.21	0	5.79
Cimento Humano Irradiado	63.61 \pm 1.29	12.89 \pm 0.15	23.49 \pm 1.42	0	4.93
Hap Controle	46.49 \pm 0.52	20.86 \pm 0.15	32.26 \pm 0.66	0.38 \pm 0.26	2.23
Hap Irradiada	46.85 \pm 0.92	20.65 \pm 0.27	32.28 \pm 0.82	0.28 \pm 0.38	2.27
<i>N</i>	3	3	3	3	

Tabela 6.9: Análise elementar para o cimento bovino (% peso) por FRX.

Elemento Atômico	Ca	P	O	Ca/P
Tecido Dental				
	A	A	A	
Cimento Bovino Controle	31.18	11.65	57.18	2.67
Cimento Bovino Irradiado	27.47	9.57	62.96	2.87
Cimento Bovino Controle	30.29	11.02	58.69	2.75
Cimento Bovino Irradiado	19.93	5.68	74.59	3.51
Cimento Bovino Controle	30.86	11.75	57.44	2.63
Cimento Bovino Irradiado	31.31	11.47	57.23	2.73

Tabela 6.10: Resultado da análise de variância de um fator para o conteúdo de Cálcio do cimento bovino por FRX ($40Jcm^{-2}$, 10 ns, 5 Hz).

Cálcio				
Fonte de variabilidade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	p
Entre grupos	31.1853	31.1853	1.52	0.2632
erro	122.786	20.4643		
total	153.971			

Tabela 6.11: Resultado da análise de variância de um fator para o conteúdo de Fósforo da amostra de cimento bovino por FRX ($40Jcm^{-2}$, 10 ns, 5 Hz).

Fósforo				
Fonte de variabilidade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	p
Entre grupos	828.164	828.164	270.28	0.0000
erro	18.3844	3.06407		
total	846.548			

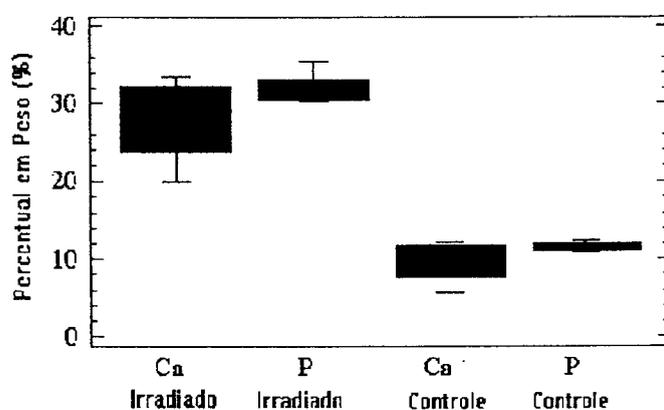


Figura 6.23: Percentuais de elementos majoritários obtidos por FRX para cimento dental bovino controle e irradiado ($40Jcm^{-2}$, 10 ns, 5 Hz).

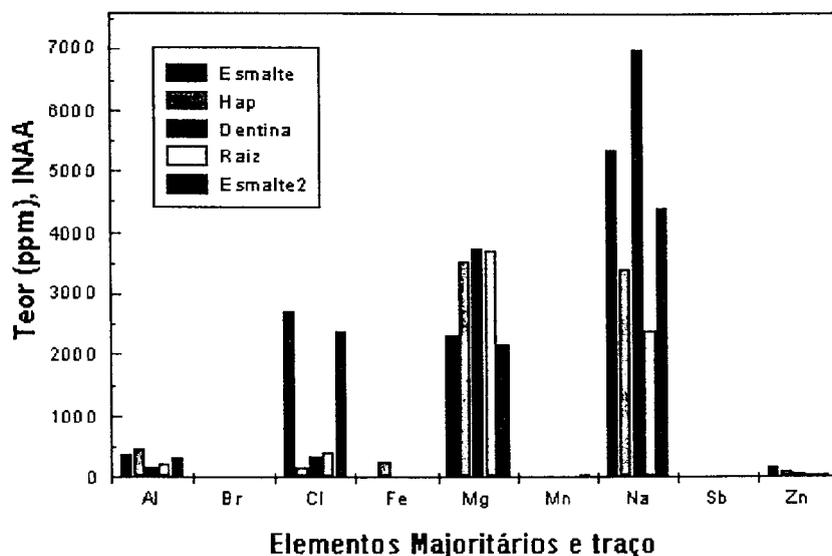


Figura 6.24: Elementos majoritários e traço presentes em amostras de tecido dental.

tabela temos como percentual máximo medido 43.6 e valor mínimo igual a 29.5.

As investigações efetuadas neste trabalho e os resultados alcançados ressaltam a boa aplicabilidade da técnica de FRX para analisar as alterações induzidas pelo *laser* nos tecidos dentais duros.

6.5 Ativação com Nêutron Instrumental

Esta técnica foi utilizada para a determinação de elementos majoritários e traço acumulados no tecido dental. Através desta técnica foram analisadas as condições analíticas como o método mais adequado de preparação das amostras, irradiação e contagem temporal, limites de detecção, acuracidade e precisão do método foram estudados baseado no estudo comparativo dos resultados obtidos por FRX e INAA.

Na tabela 6.11 apresentamos a concentração do elemento Zinco obtido por INAA. Uma comparação com resultados publicados é também apresentado nesta tabela. Quanto ao padrão foram definidos os elementos de interesse e preparadas as amostras. Conforme mostrado na tabela 6.12.

O uso da técnica de INAA permitiu verificarmos as flutuações nos valores obtidos comparando amostras com a composição química analisadas anteriormente por

Tabela 6.12: Concentração de *Cálcio* no esmalte dental de dentes molares sem lesão.

Referência	n	Média	Método Analítico
Soremark and Samsahl, 1961	15	36.4±1	RNAA
Little et al. 1962	60	36.1	
Besic et al.	1	31.0–37.5	EPXRMA
Retief et al. 1971	8	37.0±0.6	INAA
Derise et al. 1974	175	35.2±0.5	AAS
Ahlberg and Akselssom, 1976	1	35–30	EPXRMA
Turkstra, 1977	8	37.0±0.6	INAA
Breus, 1981	80	39.7±0.1	RDDR
Bodart et al., 1981	80	30	SP
Olkkonem et al., 1982	22	31.6±2.7	EDXRF in vivo
Borovsky et al., 1984	39	37.4±2.6	EXRMA
Borovsky et al., 1987	16	29.5±2.1	CH
Nikolishin et al., 1989	5	37.0±0.3	EPXRMA
Udovitskaya and Parpalei, 1989	140	34.5±0.9	CH
Borovsky and Lukinykh, 1991	30	37.02±0.01	AES
Manea-Krichten et al., 1991	6	36.5±0.4	MS
Aeshed et al., 1994	1	43.6±0.4	RBS
Nikolishin et al., 1989	35	36.3±0.8	INAA
Nikolishin et al., 1989	5	37.0±0.3	EPXRMA
Nossos Resultados [45], 2002	32	42.7±0.8	FRX

Tabela 6.13: Concentração de *Zinco* no esmalte dental de dentes molares sem lesão.

Referência	n	Média	Método Analítico
Maksimovsky et al, 1969	14	122-209	INAA
Desire et al.,1974	173	180–187	INAA
Borovsky et al.,1991	30	170±2	INAA
Nossos Resultados, 2002	3	156±7	INAA

Tabela 6.14: Comparação qualitativa da concentração de Cálcio entre as técnicas de FRX e INAA.

$Ca_{FRX-e1} > Ca_{FRX-Hap}$	$Ca_{INAA-e1} > Ca_{INAA-Hap}$
$Ca_{FRX-e2} > Ca_{FRX-Hap}$	$Ca_{INAA-e2} > Ca_{INAA-Hap}$
$Ca_{FRX-d} > Ca_{FRX-e1} > Ca_{FRX-Hap}$	$Ca_{INAA-d} > Ca_{INAA-e1} > Ca_{INAA-Hap}$
$Ca_{FRX-r} > Ca_{FRX-d}$	$Ca_{INAA-r} > Ca_{INAA-d}$
e1= esmalte 1	e2= esmalte 2
d= dentina	r= raiz
Hap= Hidroxiapatita	

FRX. Os resultados adquiridos por INAA mostraram que as proporções estão em concordância para as duas técnicas.

Resultados da literatura sugerem uma correlação entre concentração de magnésio e a densidade do esmalte dental e possivelmente entre magnésio e a concentração de proteínas. Regiões do esmalte com alta concentração de magnésio são mais suscetíveis à cárie. A concentração de magnésio nas partículas assume valores de 0.1 para 0.6 com ocasional valor 1. Em cada uma das secções analisadas a concentração aumentou da superfície para o interior do esmalte. Podemos visualizar na figura 6.25 que o valor obtido para o Mg foi superior ao encontrado para o Al e Zn, cujo valor não foi detectado por outras técnicas.

Resultados da distribuição mineral em secções mesio-distais de esmalte de dentes pré-molares permanentes indicam uma concentração (percentual em peso) de Cálcio de 36.0 à 39.0 e uma concentração de fósforo de 17.4 à 18.6 e a concentração de magnésio variou de 0.18 à 0.30. Os autores argumentam que devido às dificuldades vivenciadas para a determinação da concentração de cálcio, fósforo e magnésio numa mesma amostra os valores para cálcio e fósforo podem estar ligeiramente elevados. A localização ultraestrutural do magnésio no tecido não está totalmente esclarecida e uma possibilidade é que ele esteja associado à fase mineral, entretanto no núcleo central dos cristalitos do esmalte. Estudos envolvendo espectroscopia Raman tem sustentado esta hipótese.

Estudos realizados com dentes incisivos de ratos relatam que as concentrações de carbonato e magnésio diminuem com os estágios de formação do dente. Esta afirmação é coerente, pois a concentração tende a ser alta próxima a junção amelodentinal e é também compatível com a sugestão de que no núcleo dos prismas do esmalte, verificado por microscopia eletrônica contém relativamente altas concentrações de ambos os íons.

6.6 Espectroscopia por Transformada de Fourier

As características espectrais mais intensas para os tecidos dentais encontram-se nas regiões do espectro de 620 cm^{-1} , 582 cm^{-1} , 961 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} , 1081 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} todas essas bandas estão associadas aos íons fosfatos. Já os íons carbonatos podem ser encontrados em sítios de OH^- na rede de fosfato de cálcio hidratado que forma o esmalte. Uma banda relativamente intensa aparece e corresponde à 878 cm^{-1} . Bandas relacionadas às vibrações do grupo carbonato contribuem para as características espectrais na região que compreende 1410 à 1560 cm^{-1} .

O espectro de absorvância do esmalte, dentina e raiz foram obtidos para dentes humanos e bovinos. As amostras irradiadas mostraram uma redução na região da água, fosfato, carbonato e matéria orgânica. Observamos uma redução nos compostos basicamente orgânicos. Os resultados espectrais indicam uma alteração no espectro de absorvância dos compostos inorgânicos que correspondem à absorção do grupo fosfato, um dos componente principais dos tecidos dentais.

6.6.1 Esmalte

Os espectros de absorvância de FTIR das amostras de tecidos dentais controle e irradiados podem ser visualizados nas figuras 6.26, 6.27, 6.28 e 6.29. Na faixa espectral de 400-4000 cm^{-1} observamos as mudanças nas bandas relacionadas ao conteúdo orgânico (proteínas e água) e inorgânico (fosfato e carbonato). As avaliações das mudanças ocorridas nos grupos funcionais basearam-se na comparação das intensidades relativas das bandas de absorvância pré e pós irradiação com laser.

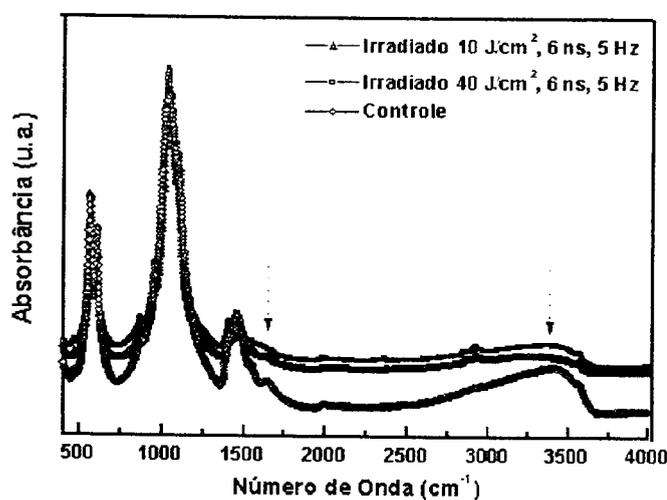


Figura 6.25: Espectro de absorvância de amostra de esmalte dental humano submetido a $\lambda = 1.064nm$, 10 e 40 J/cm^2 e largura de pulso de 6 ns, 5 Hz.

Na figura 6.26, mostramos o espectro obtido para o esmalte dental humano para densidade de energia de 10 e 40 J/cm^2 , largura temporal de 6 ns e taxa de repetição de 5 Hz. Alterações ocorreram para os dois valores de densidade de energia na porção orgânica e bandas relativas a água. Detalhes são mostrados nas figuras 6.27, 6.28 e 6.29 com ampliação das bandas.

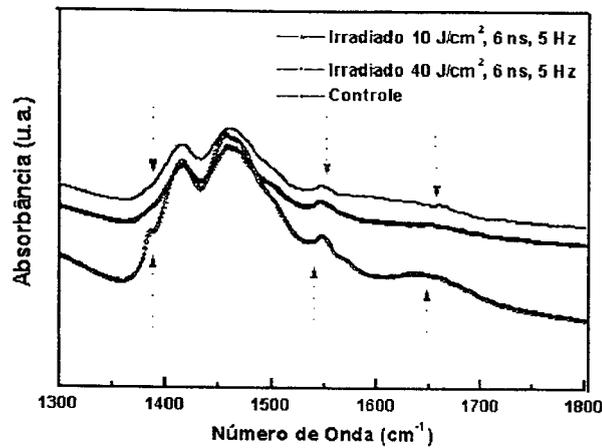


Figura 6.26: Espectro de absorvância por FTIR de esmalte dental humano submetido à $\lambda = 1.064nm$, 40 e 10 J/cm^2 e largura de pulso de 6 ns para a faixa espectral de 1800 a 1300 cm^{-1} . Observa-se diferenças na intensidade relativa das bandas amida I (1650 cm^{-1}), amida II (1550 cm^{-1}) e carbonato (1425-1450 cm^{-1}). A banda amida I é suprimida após a irradiação enquanto que as outras bandas são reduzidas.

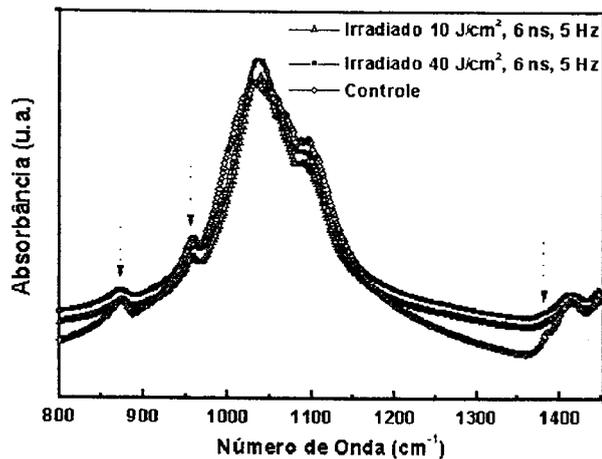


Figura 6.27: Espectro de absorvância por FTIR de esmalte dental humano submetido à $\lambda = 1.064nm$, 40 e 10 J/cm^2 e largura de pulso de 6 ns para a faixa espectral de 1500 a 800 cm^{-1} . Não há diferença nas bandas obtidas correspondente ao grupo fosfato e carbonato, apenas verificamos uma redução na intensidade relativa das bandas de fosfato (1160 -1030 cm^{-1}), carbonato (970- 870- cm^{-1}).

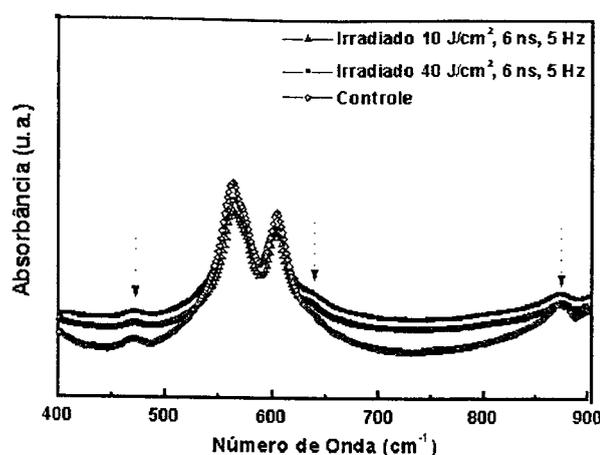


Figura 6.28: Espectro de absorvância por FTIR de esmalte dental humano submetido a $\lambda = 1.064nm$, 40 e $10 J/cm^2$ e largura de pulso de 6 ns para região de $900- 400 cm^{-1}$. Não apresenta modificações nas posições das bandas, mas a redução na intensidade relativa é observada.

Os espectros obtidos foram ajustados matematicamente para o cálculo da área sob cada banda. Na figura 6.30 podemos observar um exemplo do ajuste para curvas obtidas.

Apresentamos na figura 6.31 uma comparação entre os espectros de esmalte e dentina para a região de 1300 a $700 cm^{-1}$. Visualizamos a banda central a $1030 cm^{-1}$. Observamos uma diferença na forma dos picos à 1260 , 960 , 870 e $810 cm^{-1}$. As bandas em $1260 cm^{-1}$ e $810 cm^{-1}$ aparecem apenas na dentina e $870 cm^{-1}$ apresenta-se com intensidade relativa reduzida no esmalte. A diferença na composição química do esmalte e dentina justifica a existência de distintas bandas características [64].

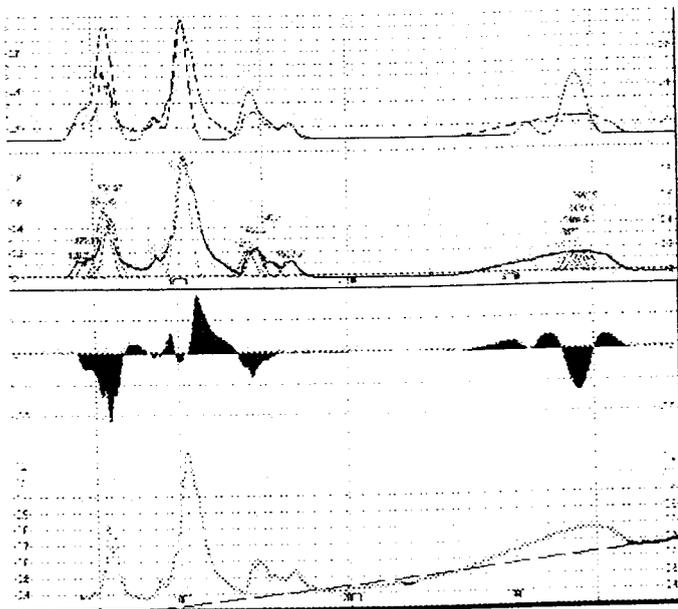


Figura 6.29: Ajuste matemático para a determinação da área sob as bandas.

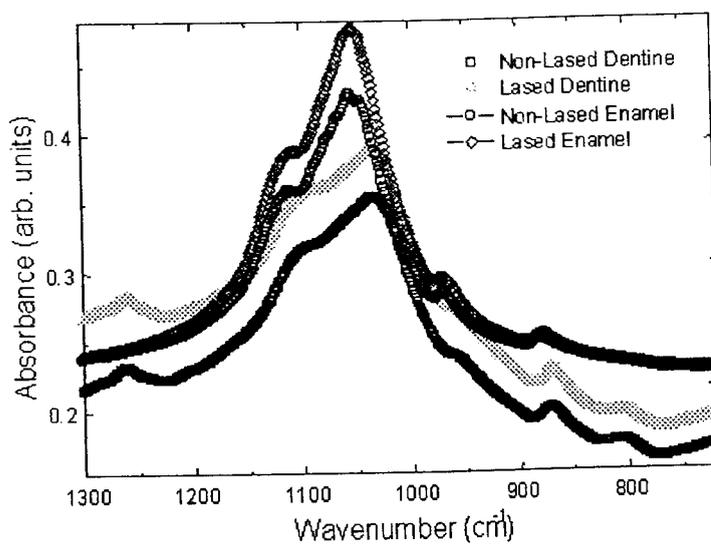


Figura 6.30: Espectro de absorvância de esmalte e dentina humana. O espectro permite a comparação entre os comportamentos dos constituintes do esmalte e dentina na região de 1030 cm^{-1} .

Na figura 6.32, temos o espectro de absorvância para o esmalte dental bovino controle e irradiado com densidade de energia de 20 J/cm^2 , largura temporal de 6 ns e taxa de repetição de 5 Hz.

Existem diferentes maneiras de examinar as razões entre os valores de área sob cada banda para os espectros de amostras irradiadas comparadas ao espectro das amostras controle. Adotamos a determinação da área sob cada banda em função da absorvância.

Podemos visualizar na figura 6.33 a relação entre a área estimada sob a banda e o respectivo valor da absorvância para o esmalte dental humano controle e irradiado para a condição: 40 J/cm^2 , 6 ns e 5 Hz. Observa-se que a reta obtida para a superfície irradiada apresenta valores superiores para as condições de irradiação definidas.

A figura 6.33 aparece a título de comparação com a figura 6.34. A razão determinada entre a área do pico mais intenso 1.030 cm^{-1} relacionado a área sob as outras bandas obtidas no espectro de esmalte dental humano é apresentada.

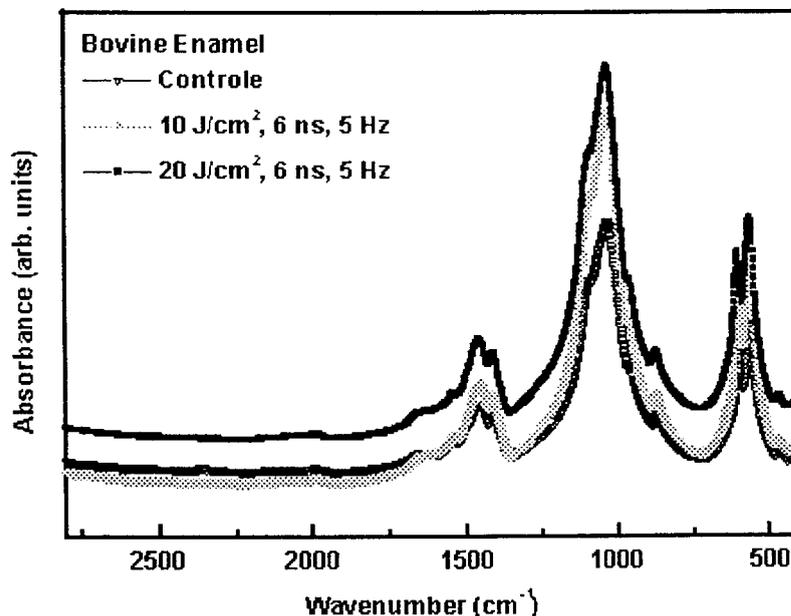


Figura 6.31: Espectro de absorvância de esmalte bovino para a condição 20 J/cm^2 , 6 ns, 5 Hz.

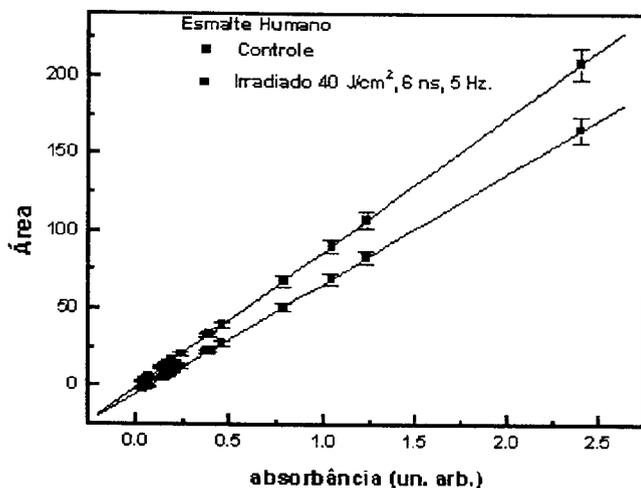


Figura 6.32: Área sob as bandas de absorvância de esmalte dental humano controle e irradiado.

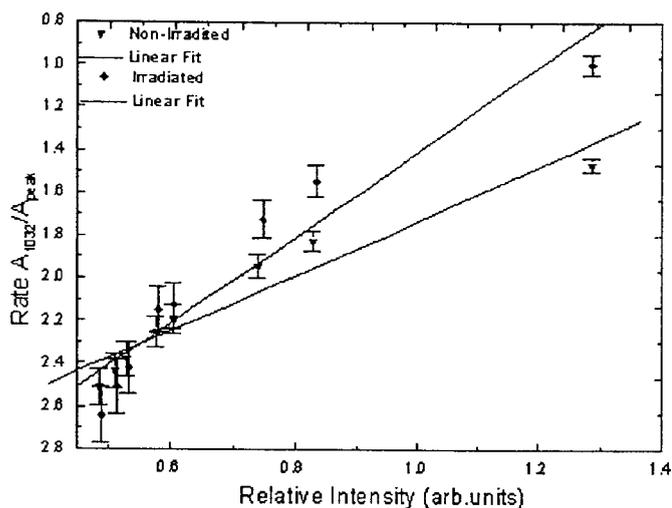


Figura 6.33: Razão da área da banda a 1030 cm^{-1} sob as bandas de absorvância de esmalte dental humano controle e irradiado, 40 J/cm^2 , 6 ns e 5 Hz.

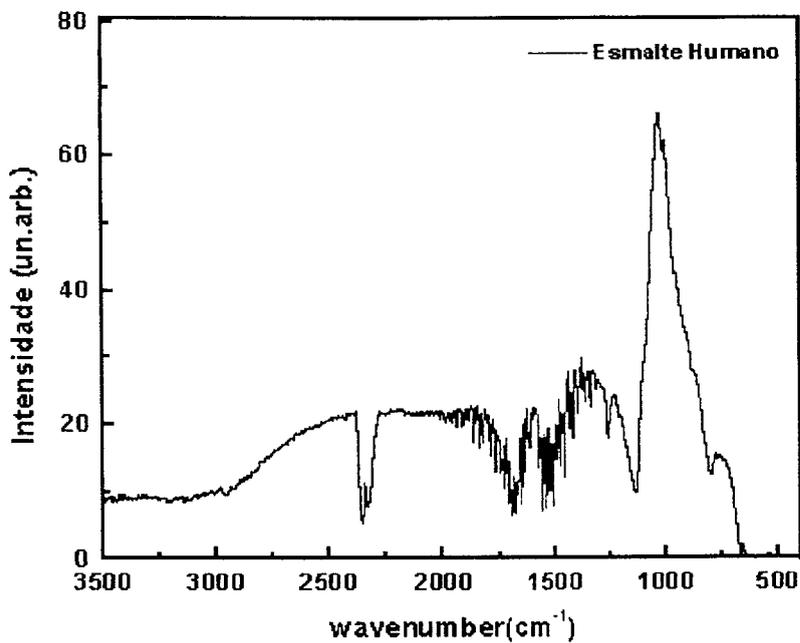


Figura 6.34: Espectro de Reflexão de esmalte humano.

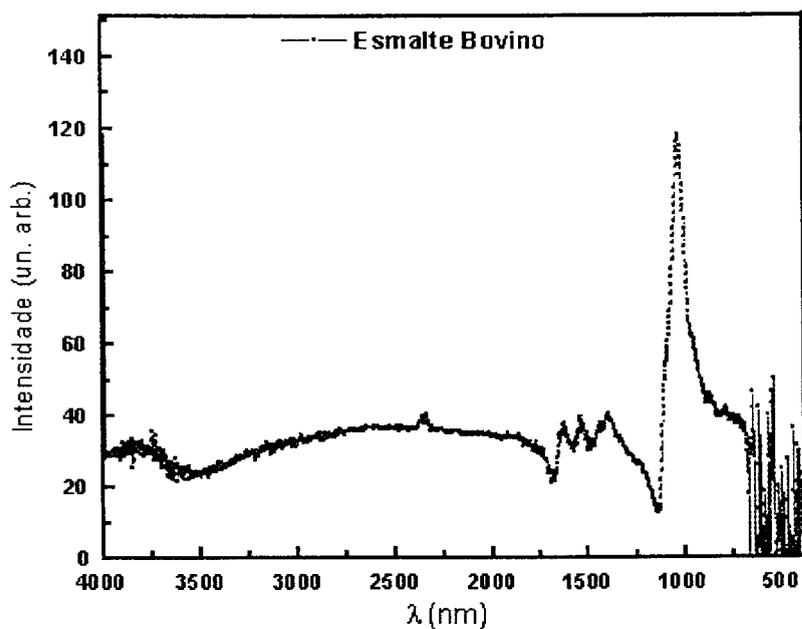


Figura 6.35: Espectro de Reflexão de esmalte bovino.

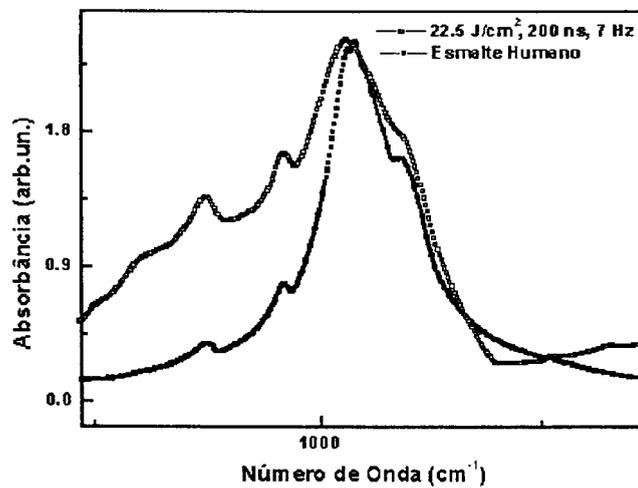


Figura 6.36: Espectro de absorvãbãnda de esmalte humano controle e irradiado para a região à 1030 cm^{-1} .

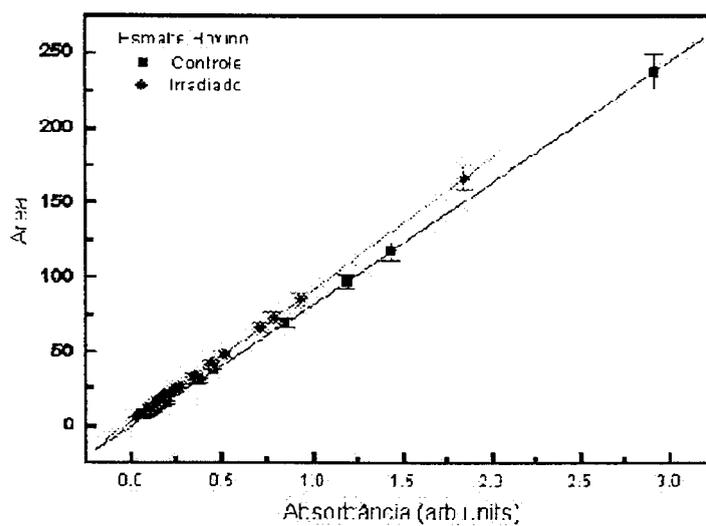


Figura 6.37: 'Área sob as bandas de absorvãbãnda de esmalte bovino controle e irradiada.

Tabela 6.15: Valores médios de análise da taxa I/C para as bandas predominantes em amostra de Esmalte Dental Humano.

Absorbância	Controle	Irradiado	Razão (I/C)	Aumento (%)
564 - Fosfato	1.143	1.14372	1.001	0.1
604 - Fosfato	0.95268	0.88634	0.93036	
872 - Carbonato	0.30449	0.30028	0.98617	
1032 - Fosfato	2.31546	2.38693	1.031	3.1
1415 - Carbonato	0.3031	0.29583	0.97601	
1459 - Carbonato	0.38133	0.3667	0.96163	
1550 - Amida II	0.16322	0.14033	0.85976	
1660 - Amida I	0.07969	0.11045	1.386	38

I= irradiado
C= controle

A tabela 6.15 mostra os valores de absorvância para as principais bandas do espectro de esmalte dental humano. Apresentamos o cálculo da razão irradiado (I) pelo controle (C) e a variação obtida. O aumento mais expressivo ocorreu na banda associada a amida I, representando a modificação na matriz orgânica do esmalte dental humano.

Na figura 6.35 e 6.36, apresentamos o espectro de reflexão para o esmalte dental humano e bovino. Observamos no espectro que a banda à 1000 cm^{-1} é expressiva nos dois espectros, através do espectro de reflexão é possível determinar as alterações nos grupos fosfato e carbonato.

A figura 6.37 apresenta o espectro de absorvância para o esmalte dental humano controle e irradiado. Podemos visualizar na figura 6.38 a área sob as bandas de absorvância de esmalte bovino controle e irradiado.

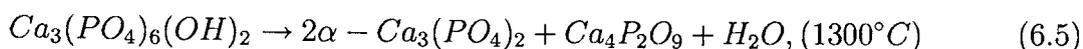
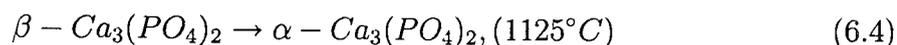
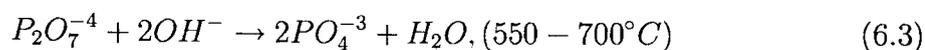
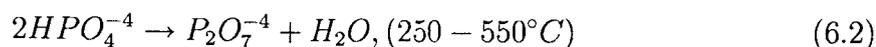
6.6.2 Dentina

Para a dentina humana e bovina este trabalho confirma as posições dos picos em 1.650 cm^{-1} (amida I) 1.550 cm^{-1} (amida II), 1445 cm^{-1} (carbonato), 1030 cm^{-1} e 960 cm^{-1} (fosfato e carbonato), 870 cm^{-1} (carbonato).

Conforme podemos visualizar nos espectros das figuras, as bandas mais intensas associadas as vibrações do grupo fosfato PO_4^{-3} ocorrem para $1100 - 1000\text{ cm}^{-1}$ e $600 - 550\text{ cm}^{-1}$. A banda relacionada ao carbonato corresponde a $1450 - 1425\text{ cm}^{-1}$ e está acoplada com a banda da Amida II (1550 cm^{-1} , N-H e C-H) e hidroxila OH^{-1} (1630 cm^{-1}). A fase mineral da dentina esta intimamente associada as bandas relativas ao ortofosfato nas posições $1030 - 1160\text{ cm}^{-1}$, $600 - 560\text{ cm}^{-1}$ e o carbonato em 870 cm^{-1} .

Os resultados obtidos para dentina humana e bovina indicam que o *laser* de Nd:YAG produz fusão e resolidificação da dentina. A mudança na morfologia, composição e fase da dentina ocorreram devido o gradiente de temperatura gerado durante a interação. A alta energia deste *laser* causa a fusão da hidroxiapatita presente na dentina e decompõe para óxido de cálcio ou fosfato de cálcio amorfo.

Uma descrição das reações que podem ocorrer na dentina, devido o aumento de temperatura, tem sido utilizada por alguns autores [61,65]. As referidas reações são:



A figura 6.39 mostra o espectro de absorvância para a dentina bovina antes e após a irradiação com laser. As bandas relativa ao grupos fosfato 1030 , 1160 , 600 e 560 cm^{-1} e a banda de carbonato cujo pico está em 870 cm^{-1} e 960 cm^{-1} correspondem a

fase mineral da dentina. As bandas mais intensas associadas com vibrações em PO_4^{-3} ocorrem para 1100-1.000 cm^{-1} . A banda na posição 1133 cm^{-1} corresponde a HPO_4^{-2} e para a banda em 634 cm^{-1} temos a vibração do OH^- .

A banda de carbonato 1.450 - 1.425 cm^{-1} coincidiu com a banda Amida II e OH^{-1} na posição 1.630 cm^{-1} , temos assim uma sobreposição destas bandas.

Tabela 6.16: Valores Médios das bandas de absorvância para dentina bovina.

Absorbância	Controle	Irradiado	Razão (I/C)	Aumento (%)	Redução
564 - Fosfato	0.9147	1.0067	1.1006	10.06	
604 - Fosfato	0.8196	0.9174	1.1193	11.94	
872 - Fosfato	0.5041	0.6255	1.2408	24.08	
1032 - Fosfato	1.3737	1.4521	1.0571	5.71	
1415 - Carbonato	0.5950	0.7393	1.2425	24.25	
1459 - Carbonato	0.6151	0.7577	1.2318	23.18	
1550 - Amida II	0.5048	0.6812	1.3494	34.94	
1660 - Amida I	0.5856	0.7576	1.2937	29.37	

I= irradiado
C= controle

Na figura 6.40 apresentamos a área sob as bandas de absorvância de dentina bovina controle e irradiado.

A figura 6.41 mostra os valores obtidos para a área sob as bandas de absorvância de dentina humana controle e irradiada para a condição de 40 J/cm^2 , 6 ns e 5Hz.

A área sob as bandas de absorvância de dentina humana controle e irradiada para a condição de 20 J/cm^2 , 6 ns e 5Hz é apresentada na figura 6.42. Podemos visualizar a diferença nas retas representativas do espectro da amostra controle e irradiada.

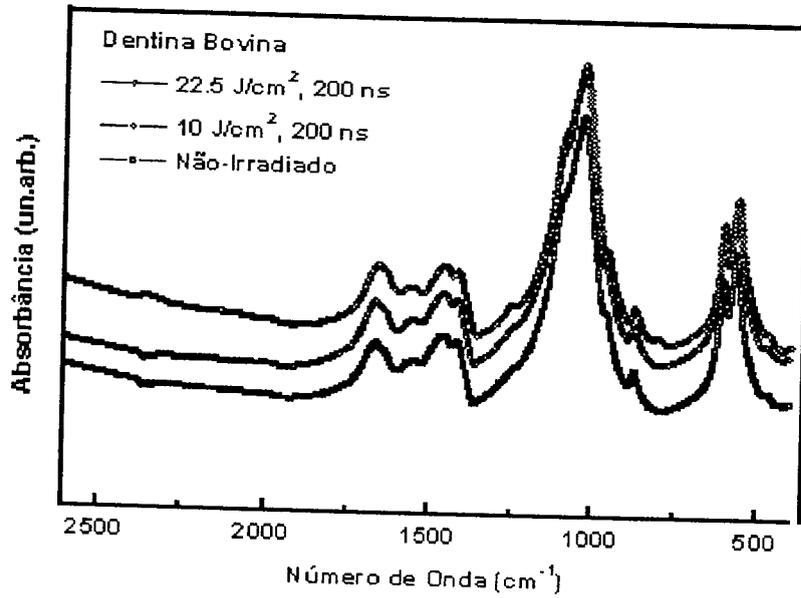


Figura 6.38: Espectro de absorvância de dentina bovina submetida a irradiação com densidades de energia de 10 e 22.5 J/cm², largura temporal de 200 ns e taxa de repetição de 7 Hz.

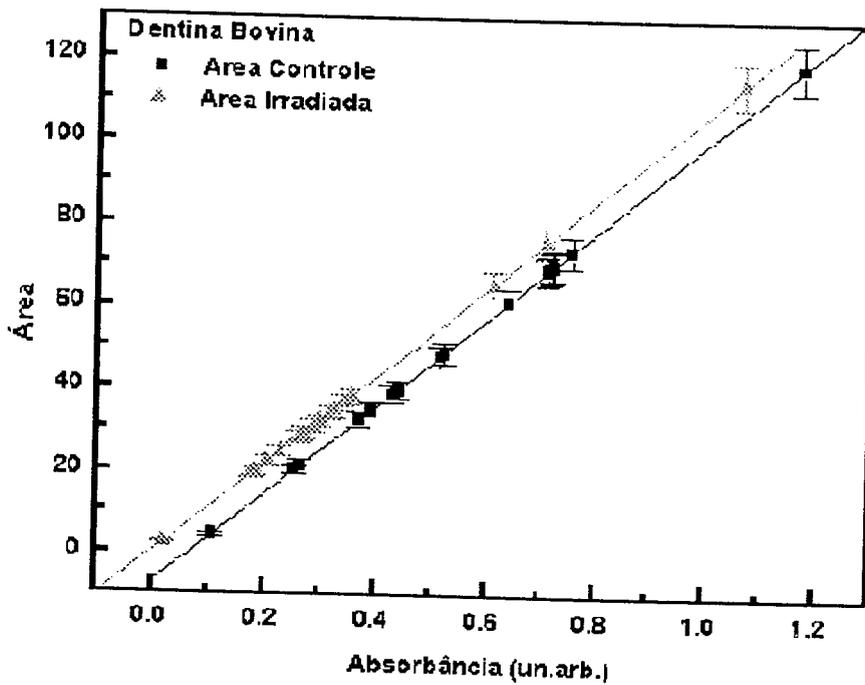


Figura 6.39: Área sob as bandas de absorvância de dentina humana controle e irradiada.

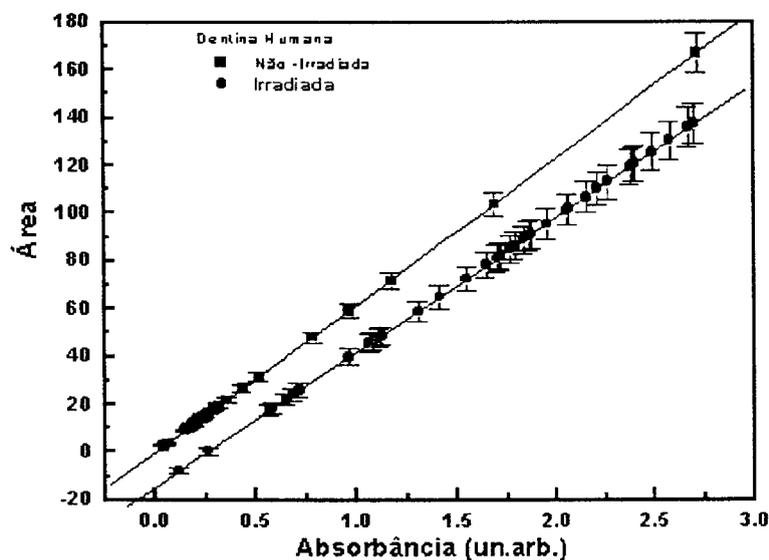


Figura 6.40: Área sob as bandas de absorção de dentina humana controle e irradiada para 40 J/cm^2 , 6ns, 5Hz.

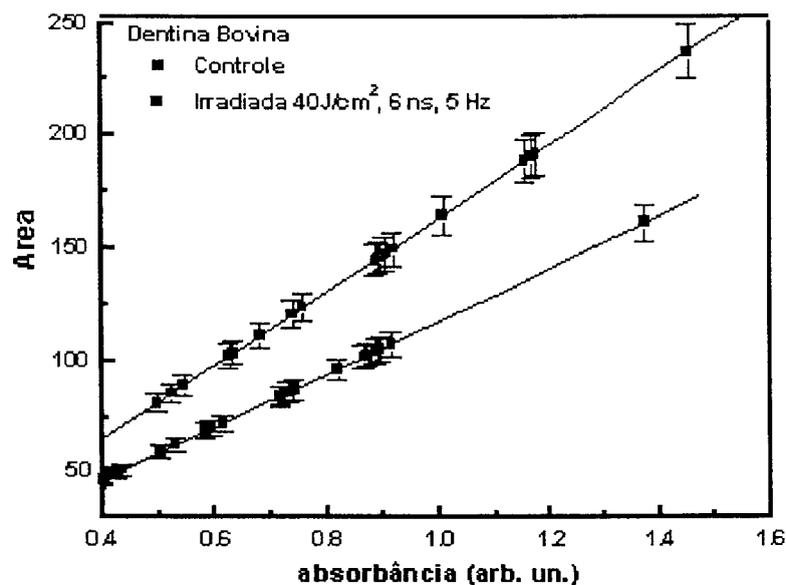


Figura 6.41: Área sob as bandas de absorção de dentina bovina controle e irradiada.

6.6.3 Raíz Dental

Os espectros de absorvância obtidos para a dentina radicular indicam uma redução nas bandas atribuídas a proteína, isto é, amida I, amida II e a amida III são notadas quando comparamos as curvas para os espectros controle e irradiado. O espectro também apresenta uma banda de absorção O-H entre 3500 e 3300 cm^{-1} relacionados a água.

Os resultados espectrais indicam uma redução nas bandas de absorção atribuídas para proteína.

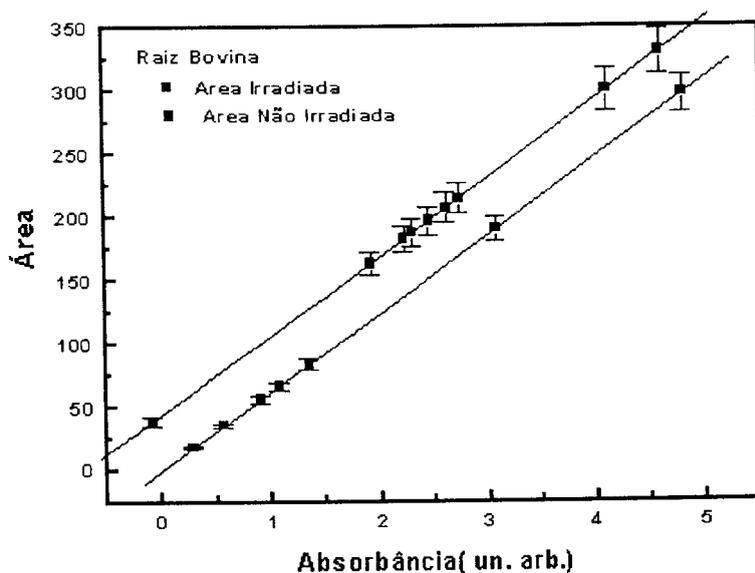


Figura 6.42: Área sob as bandas de absorvância de dentina radicular bovina controle e irradiada.

Uma comparação entre as área sob as bandas obtidas dos espectros coletados para superfície não irradiada e irradiada da raiz bovina é apresentada na figura 6.43.

Podemos verificar nas figuras 6.44 e 6.45 que houve uma redução na banda relativa a água e um aumento expressivo nos picos da posição 564 cm^{-1} indicando alteração no grupo fosfato.

O espectro da figura 6.44 mostra uma redução significativa na banda a 1550 cm^{-1} que corresponde a amida II. Uma modificação na banda relativa ao grupo fosfato

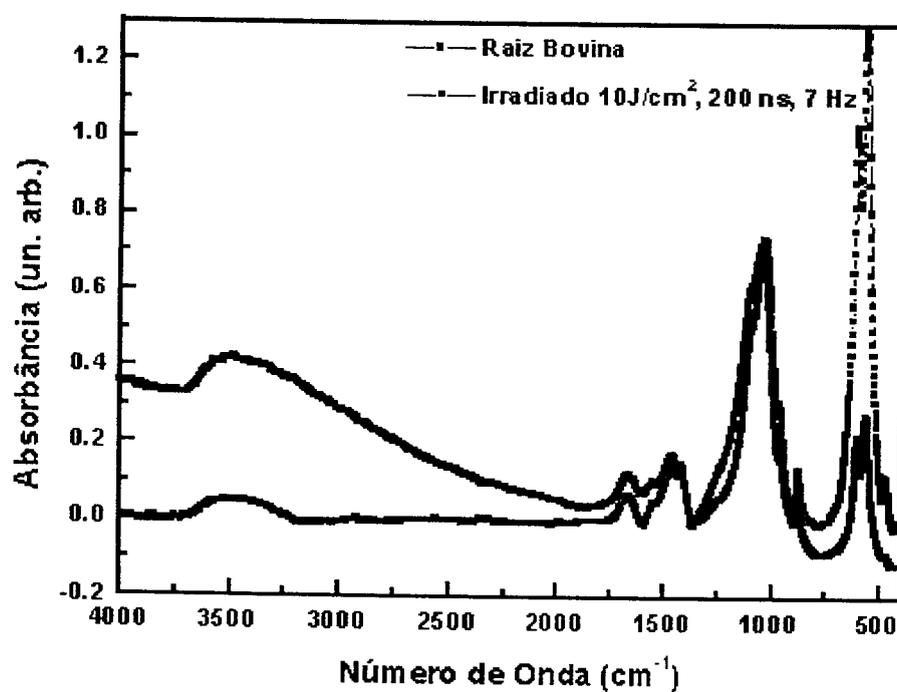


Figura 6.43: Relação entre intensidades para raiz bovina controle e irradiada para a condição de 10 J/cm², 200 ns e 7 Hz.

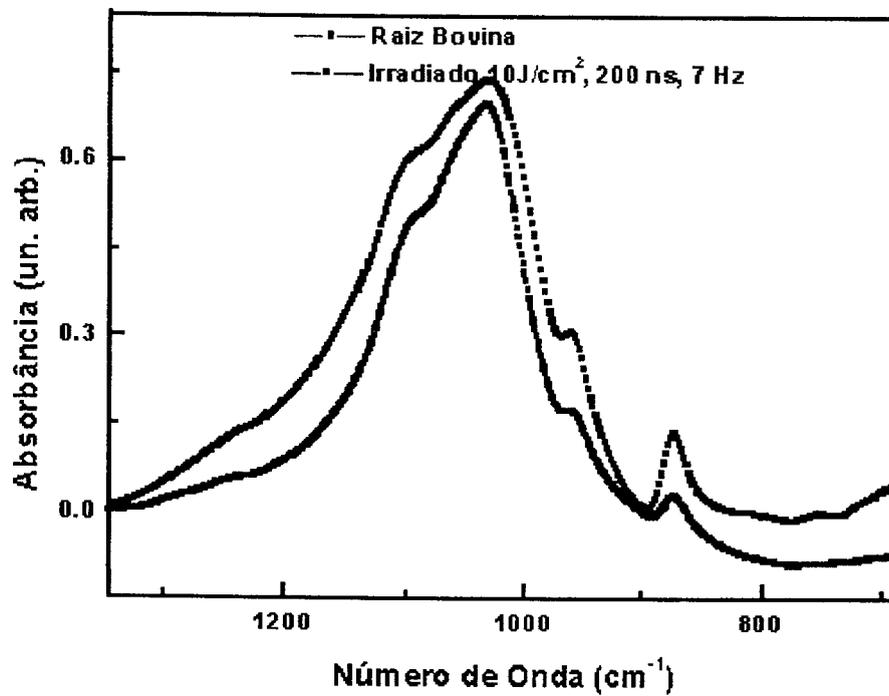


Figura 6.44: Espectro de absorvância da raiz bovina para o pico relativo ao grupo fosfato na posição 1.030 cm^{-1} ($10 \text{ J}/\text{cm}^2$, 200 ns e 7 Hz).

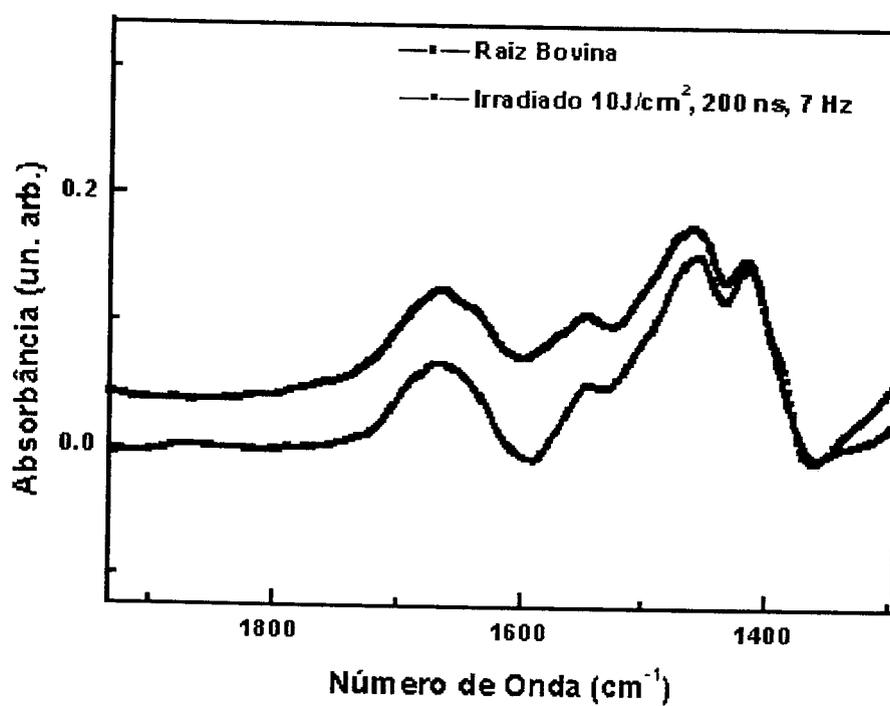


Figura 6.45: Relação entre absorvância para raiz bovina controle e irradiada para o pico relativo a Amida I e II (10 J/cm^2 , 200 ns e 7 Hz).

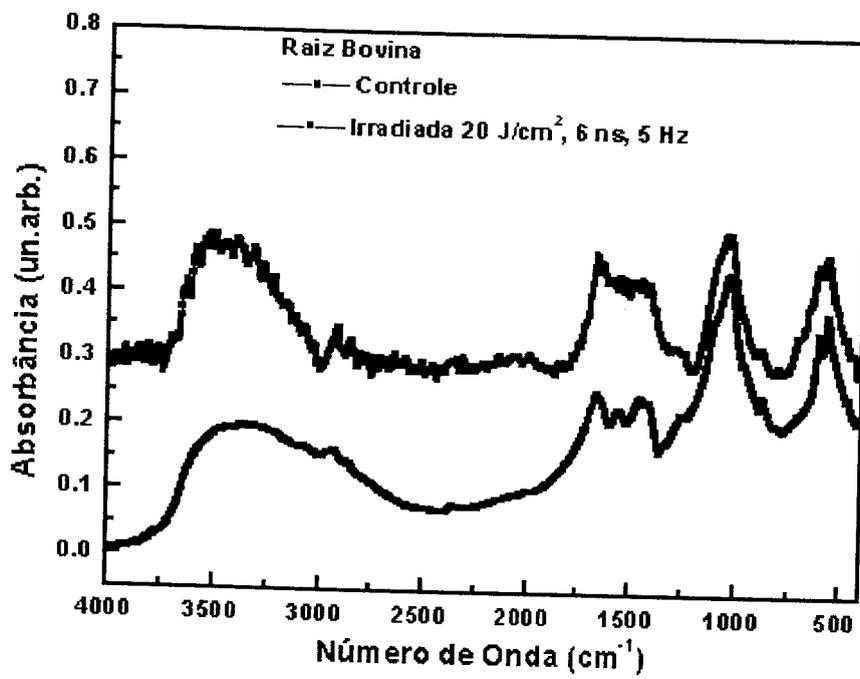


Figura 6.46: Relação entre absorvância para raiz bovina controle e irradiada para 20 J/cm², 6 ns e 5 Hz .

aparece na posição 564 cm^{-1} .

Na figura 6.45, observamos a banda da posição 1.030 cm^{-1} e mudança na banda após a irradiação para 10 J/cm^2 , 6 ns e 5 Hz.

Uma ampliação da faixa espectral permite-nos visualizar uma diferença entre grupos representativos da matriz orgânica. O espectro irradiado indica uma alteração na resolução das bandas amida I e II com alargamento da banda nestas posições, conforme apresentada na figura 6.46.

Na figura 6.47, temos o espectro de absorvância para a raiz bovina irradiada para 20 J/cm^2 , 6 ns e 5 Hz. O espectro mostra uma redução das bandas amida I e II, principalmente.

6.6.4 Cimento Dental

Apresentamos na figura 6.48 espectro de absorvância para o cimento bovino. Não observamos neste espectro variação nas bandas de absorvância no que se refere a aparecimento ou supressão de bandas seja relacionada ao conteúdo orgânico ou inorgânico do tecido.

Entretanto, observa-se mudança na absorvância (intensidade das bandas) com um aumento para as curvas dos grupos irradiados.

Tabela 6.17: Valores Médios de picos de absorção para amostra de cimento bovino.

Absorvância	Controle	Irradiado	Razão (I/C)	Aumento
564 - Fosfato	0.8092	0.8336	1.030	3.0
604 - Fosfato	0.7247	0.7472	1.031	3.1
872 - Fosfato	0.4842	0.4877	1.007	0.7
1032 - Fosfato	1.2437	1.2871	1.035	3.5
1415 - Carbonato	0.5712	0.5790	1.014	1.4
1459 - Carbonato	0.5955	0.6043	1.015	1.5
1550 - Amida II	0.5068	0.5134	1.013	1.3
1660 - Amida I	0.5245	0.5317	1.014	1.4

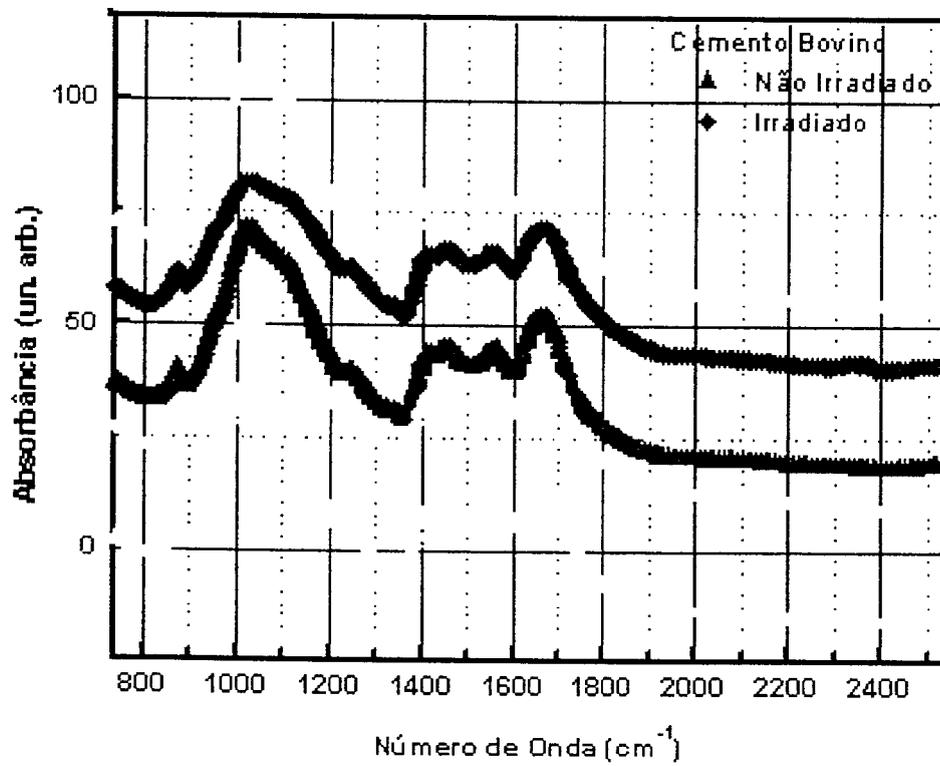


Figura 6.47: Espectro de absorvância do cimento bovino.

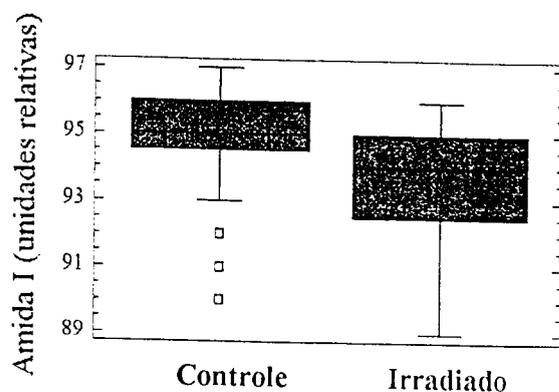


Figura 6.48: Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Amida I.

Observando o espectro de absorção do cimento dental na figura 6.48, submetido à ação do *laser*. Não observamos neste espectro variação nos picos de absorção no que se refere a aparecimento ou supressão de bandas seja relacionada ao conteúdo orgânico ou inorgânico do tecido. Entretanto, observa-se mudança na absorbância (intensidade dos picos) com um aumento para as curvas dos grupos irradiados.

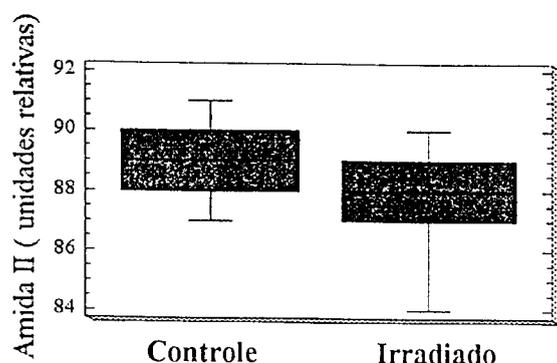


Figura 6.49: Relação entre intensidades para cemento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Amida II.

Os grupos fosfatos presentes nos cristais de hidroxiapatita estão fortemente ligados as moléculas de água. Portanto, a interação laser-tecido ocorreu de maneira a priorizar uma reação química que contribua para a quebra destas ligações. Embora o mecanismo de propagação térmica não seja dominante devido ao limite imposto pela densidade de energia aplicada e largura temporal, temos ainda uma reação termoquímica que justifica a redução do elemento fósforo o que corrobora para um acréscimo na taxa Ca/P. Estudos publicados por pesquisadores tem utilizado o aumento desta taxa como regulador da resistência acida adquirida pelo tecido após a irradiação. A justificativa para a variação no valor desta taxa para a dentina e cemento é similar a enfocada anteriormente, entretanto devemos considerar a diferenças na estrutura dos tecidos o que lhes confere diferentes relação entre conteúdo orgânico e inorgânico. Desse modo mudam as características do tecido. O tecido de dentina e cemento possui espaços maiores com conteúdo orgânico.

Os espectros adquiridos revelam vibrações de ambos componentes orgânicos e inorgânicos. A maior contribuição de proteínas são indicados pelas bandas de absorção, 1.650 cm^{-1} (amida I, C=O), 1.550 cm^{-1} (amida II, N-H e C-N) e 1.240 cm^{-1} (amide III, C-N e N-H). Contribuições da fase mineral são as bandas ortofosfato para 1.030 cm^{-1} , 1.160 cm^{-1} , 600 cm^{-1} , 560 cm^{-1} , e banda carbonato 870 cm^{-1} . A banda de

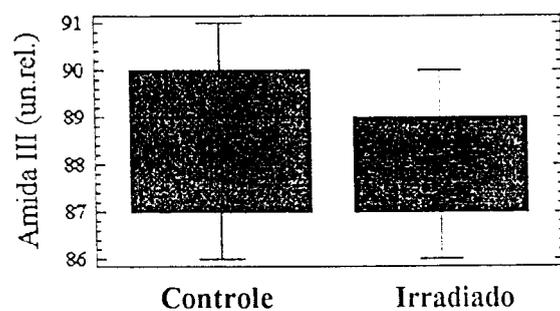


Figura 6.50: Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Amida III.

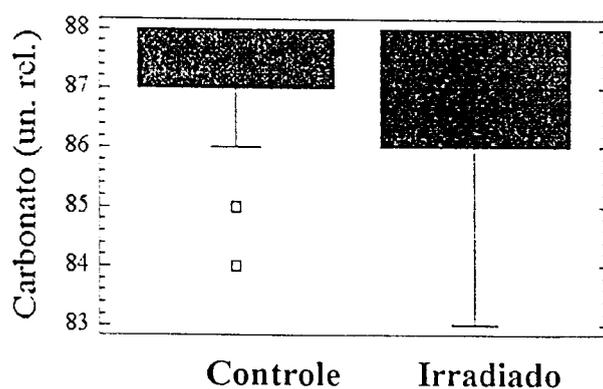


Figura 6.51: Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Carbonato.

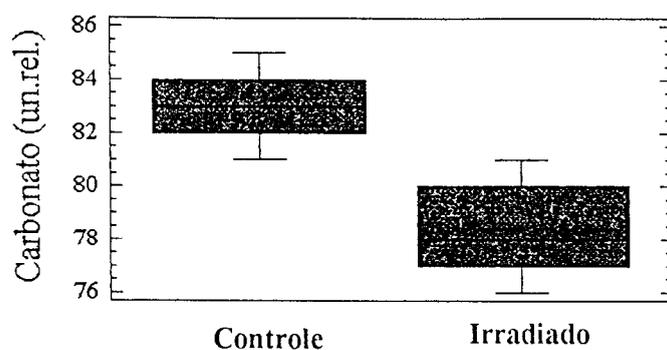


Figura 6.52: Relação entre intensidades para cimento bovino controle e irradiado para o pico relativo a Carbonato.

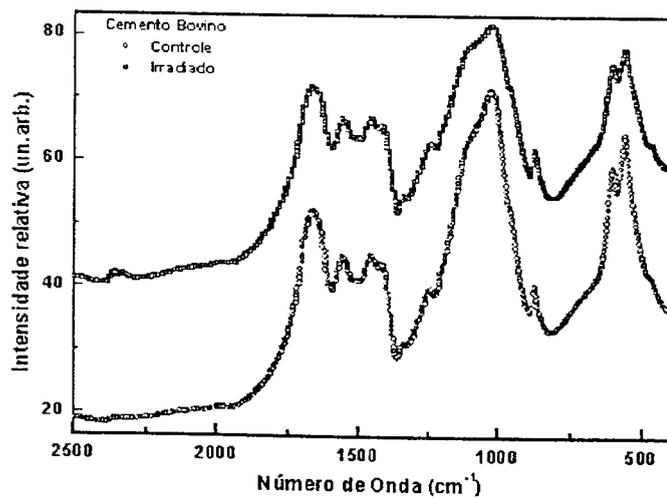


Figura 6.53: Espectro de absorvância de cimento bovino.

carbonato para 1.450 cm^{-1} e 1425 cm^{-1} são sobrepostas com contribuições da banda amida II.

A banda de absorção para 2.380 cm^{-1} está associada com CO_2 , uma contaminação no ambiente interno do compartimento da amostra.

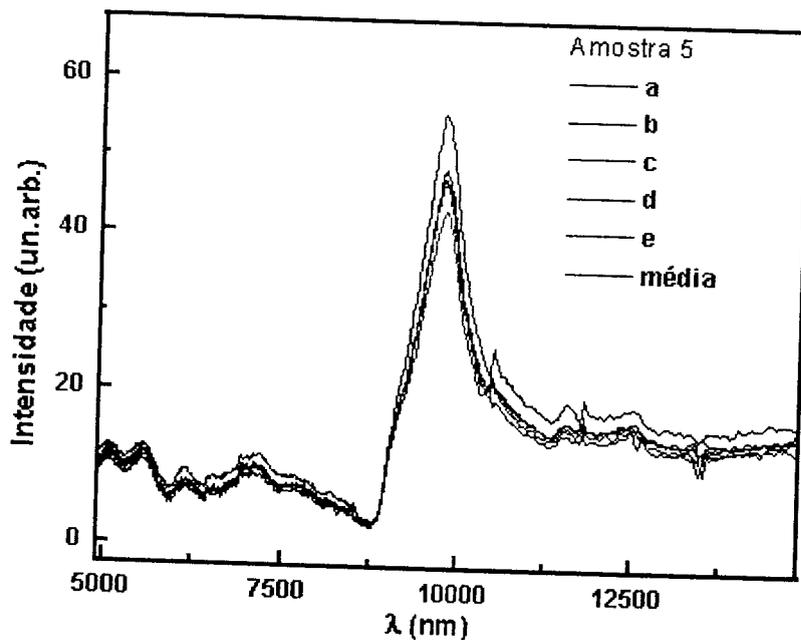


Figura 6.54: Espectro de Reflexão de cimento bovino.

Comparando os tecidos não irradiados e irradiados, as diferenças espectrais corresponderam num decréscimo na intensidade relativa das bandas de absorção dos grupos amida II e amida III em todas as superfícies submetidas ao tratamento com laser.

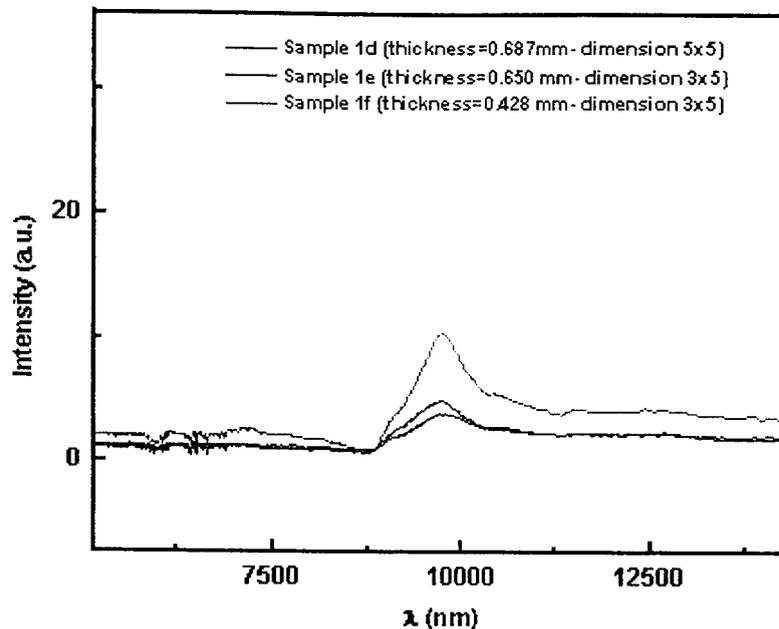


Figura 6.55: Espectro de Reflexão de cemento bovino.

6.7 Microdureza Vickers

Testes de microdureza são importantes em experimentos envolvendo os mecanismos de de- e remineralização [59]. A dureza do dente tem sido avaliada por diversos métodos, sendo a micro-indentação preferida. Recentemente, a dureza da dentina foi avaliada determinando-se a nano-indentação usando um microscópio de força atômica [66].

Apresentamos na tabela 6.18 uma comparação quantitativa entre os valores obtidos na literatura, para o esmalte e dentina. A seguir apresentamos um gráfico representativo da diagonal medida (figura 6.56) e a microdureza associada (figura 6.57).

Na figura 6.57, mostramos os valores de microdureza obtidos para a densidade de energia de 40 J/cm^2 e largura temporal de 10 ns, 5 Hz.

Alguns autores têm mostrado que a microdureza do esmalte aumenta após a irradiação com *laser* de Nd:YAG e outros têm apresentado um decréscimo no valor da microdureza no momento posterior á irradiação, conforme podemos visualizar na tabela 6.18.

Na tabela apresentamos valores médios obtidos de microdureza do esmalte dental

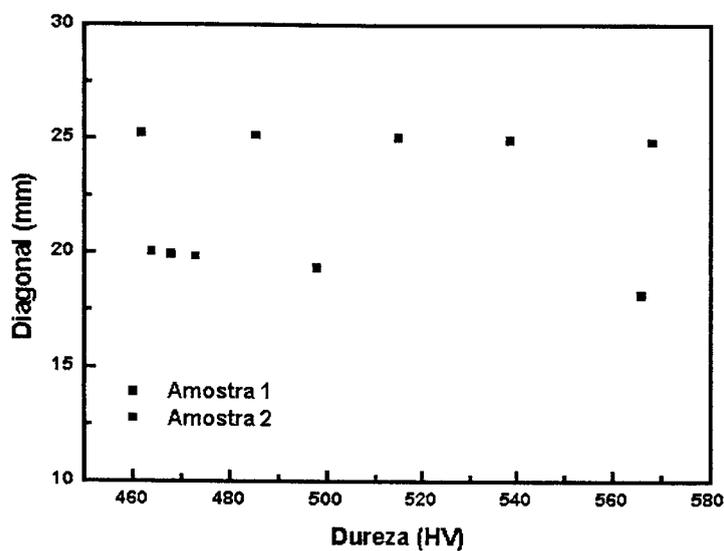


Figura 6.56: Valores de Microdureza Vickers associado ao valor da diagonal medida.

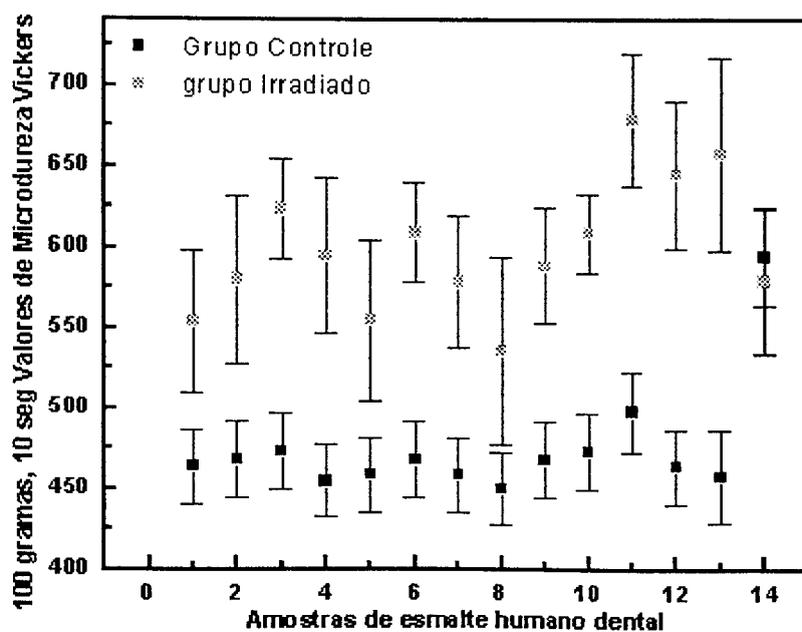


Figura 6.57: Valores de Microdureza Vickers para esmalte dental humano (40 J/cm^2 , 10 ns, 5 Hz).

Tabela 6.18: Valores de Microdureza Vickers para esmalte e dentina segundo exposto na literatura.

Autores	Esmalte (VHN)	
	Valor Mínimo	Valor Máximo
Craig e Peyton [67]	344±49	418±60
Collys et al. [68]	369±25	431±35
Wilson e Love [69]	263±26	327±40
Gutierrez et al. [70]	270	360
Davidson et al. [58]	327±34	367±17

Tabela 6.19: Valores Médios de Microdureza Vickers esmalte dental humano e bovino com distintas condições de irradiação.

	Esmalte (VHN)			
	HC	HI	BC	BI
10 J/cm ² , 6 ns	374±17	412±27	355±15	398±32
20 J/cm ² , 6 ns	385±15	430±24	367±19	422±22
22.5 J/cm ² , 200 ns	410±18	442±26	392±14	434±24
N	6			

humano e bovino para distintas densidades de energia e largura de pulso. As variações do desvio padrão das amostras mostra uma ampla e significativa variação. Este fato também foi observado nos resultados presentes na tabela 6.19.

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a microdureza do esmalte aumenta após a irradiação. Entretanto, não observamos a existência de uma relação de proporcionalidade entre a densidade de energia aplicada e os valores experimentais obtidos para a microdureza Vickers.

Para o esmalte humano, uma investigação indicou que os valores de dureza, conteúdo mineral e densidade decrescem gradualmente do exterior da superfície para a junção amelo-dentinal [71]. A análise composicional do esmalte mostrou uma moderada correlação entre os valores de microdureza Vickers e a concentração de P e uma baixa correlação com Ca. Uma indicação de que os valores de Microdureza Vickers e os percentuais de Ca e P decrescem nas porções externas, centrais e interiores [71].

Capítulo 7

Modelo Térmico Associado

7.1 Introdução

Lasers têm sido aplicados em medicina e odontologia por mais de três décadas . Entretanto, a maioria das aplicações em medicina e odontologia envolve efeitos térmicos. A radiação *laser* é absorvida pelo tecido e o calor gerado é usado para a terapia (algumas aplicações como o uso de luminescência ou espalhamento para o diagnóstico ou o uso de comprimentos de onda específicos para indução de reações químicas ou biomodulação não envolvem efeitos térmicos).

Quando o feixe *laser* é focalizado sobre o tecido o calor gerado poderá causar: coagulação, junção de tecidos, hipertermia e ablação a *laser* entre outros efeitos. Em todas essas aplicações as condições de irradiação devem ser cuidadosamente definidas. O aquecimento sem evaporação pode algumas vezes ser preferencial se usarmos comprimentos de onda que não são altamente absorvidos pelo tecido, gerando calor em profundidade no tecido. Entretanto, a densidade de energia deve manter certos limites causando mínimos danos térmicos nas áreas vizinhas ou adjacentes e tecidos funcionais sujeitos a necrose como a polpa dental.

O problema teórico para calcular a distribuição de temperatura e os resultados dos efeitos térmicos sobre o tecido não é simples [72]. Normalmente a solução requer uma série de hipóteses e o uso de métodos numéricos. Métodos semelhantes foram usados no passado por vários autores para calcular a distribuição de temperatura no tecido exposto à radiação *laser*.

Uma revisão de trabalhos e modelos foi desenvolvida por Mckenzie [73], objetivando a compreensão dos processos térmicos nos tecidos irradiados. Estes estudos são muito específicos, enfocando a investigação de processos térmicos em certas partes do corpo e sobre condições físicas limitadas.

A temperatura limite e danos térmicos no dente exposto ao *laser* de CO₂ [74, 75] foram calculados. Modelos previamente desenvolvidos não consideravam as larguras temporais da ordem de grandeza de “pulso curto” e este fator constituiu-se num limitante para muitos modelos.

Feixes de *laser* têm uma simetria cilíndrica ao redor do seu eixo, esta característica permite-nos reduzir o problema tridimensional (3D) para um problema bidimensional (2D) através da escolha de um modelo cilíndrico axissimétrico, no qual o eixo de simetria do corpo irradiado coincide com o eixo de propagação do feixe.

Para considerar diferentes condições de irradiação é essencial vincularmos ao modelo os distintos processos térmicos que podem ocorrer para o cálculo. Os processos térmicos são: condução de calor dentro do tecido, convecção de calor para a análise dos efeitos sobre a superfície.

Os modelos analíticos e numéricos consideram a largura temporal do feixe, a densidade de energia assim como as propriedades térmicas e ópticas do tecido dental, incluindo o coeficiente de absorção para o comprimento de onda incidente. Neste trabalho, o diâmetro do feixe é muito maior que a profundidade modificada do tecido.

Se considerarmos que a temperatura de um corpo é elevada quando ele recebe energia podemos através da primeira lei da termodinâmica estimar o valor máximo da temperatura na câmara pulpar. Definido-se um volume médio do dente, para as condições de irradiação estabelecidas neste trabalho a temperatura máxima atingida na polpa corresponde ao valor inferior a 3 °C.

A simulação numérica baseada em modelos da literatura é utilizada neste trabalho para a determinação da variação da temperatura em regiões locais próximas à superfície visando determinar o valor máximo de temperatura na superfície e a profundidade modificada pela radiação.

7.2 Monitoramento da Temperatura

O monitoramento da elevação térmica foi efetuado para os parâmetros do *laser* com máximo de 40 J/cm^2 visando verificar qual o aumento da temperatura produzido na câmara pulpar. Estudos indicaram que a elevação térmica ocasiona lesões, como necrose pulpar [76, 77].

Um termoelemento ou termopar consiste de dois fios metálicos de ligas diferentes, os quais tem uma junção comum denominada junção quente. Uma diferença de temperatura entre a junção quente e os terminais livres resultam em uma força eletromotriz termoelétrica, cujo valor depende da diferença de temperatura. Essa tensão pode ser medida com um milivoltímetro graduado em $^{\circ}\text{C}$ ou $^{\circ}\text{F}$ conectando-se os terminais livres (junção fria) do termopar ao instrumento. A força eletromotriz termoelétrica depende da diferença de temperatura entre a junção quente e a fria de cada um dos condutores tomados individualmente (efeito Thomson) e das características de composição dos materiais dos fios soldados na junção quente (efeito Peltier). Como os circuitos termoelétricos industriais possuem muitas juntas com diversos metais não semelhantes (conectores ou terminais, fios de extensão, chaves, compensadores, etc.), todas, devem ser mantidas a uma temperatura constante de referência, geralmente $^{\circ}\text{C}$ exceto a junção quente. Então a força eletromotriz resultante depende da temperatura desta única junção e somente dela.

Na tabela 7.1 apresentamos as características do termopar utilizado no experimento.

Tabela 7.1: Características do Termopar Tipo T

Termopar Tipo T (Cobre Constantan)	
Termo elemento Positivo (TP)	Cu 100%
Termo elemento Negativo (TN)	Cu 55% Ni45%
Faixa de Utilização	-270C a 400C
fem produzida	-6.258mV a 20.872mV

Devido à grande homogeneidade com que o cobre pode ser processado, possuem uma boa precisão. Em temperaturas acima de $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$, a oxidação do cobre torna-se

muito intensa, reduzindo sua vida útil e provocando desvios em sua curva de resposta original.

As temperaturas foram medidas por meio de termopar (Tipo T), acoplado a um sistema de aquisição de dados com interface para comunicação direta com o computador. O sistema de aquisição de dados, dotado de *software* próprio foi programado para fazer leituras em intervalos regulares de 50 segundos. A fixação das junções quentes no dente ocorreu com o uso de pasta térmica sob as pontas sensíveis (junções) em contato com a parede da câmara pulpar. O monitoramento da temperatura foi feito ao longo do eixo orientado segundo a posição do termopar na cavidade pulpar. Utilizamos os resultados obtidos do monitoramento da variação de temperatura na câmara pulpar através da inclusão destes dados na forma matricial em modelo teórico para a simulação numérica, permitindo assim usarmos as condições iniciais do ensaio experimental.

Os resultados mostraram que na condição crítica para uma varredura no período de 60 segundos ininterruptos com o maior parâmetro de energia fixo num único ponto da amostra a variação de temperatura detectada pelo termopar não excedeu. Isso nos indica que quando utilizamos uma fonte de radiação *laser* com largura temporal de 10 ns o processo de transferência de calor em volume no mínimo 10 vezes maior que o volume determinado pelo diâmetro do feixe, fixado numa única posição da amostra, apresenta variação de temperatura na câmara pulpar imperceptível para o mesmo mantendo-se menor que corresponde ao erro do aparelho.

Na figura 7.1, apresentamos a variação na temperatura pulpar quando irradiamos o dente com laser contínuo com potência 4W, resultados estes obtidos por Frentzen e Koort [36]. Os valores de temperatura são altíssimos e indicativo de que ocasionarão a necrose pulpar.

7.3 Modelos Analíticos

7.3.1 Modelo Térmico para um único pulso

Para eliminar o dano térmico do *laser*, a espessura da região afetada pelo calor deve ser limitada por poucos micrometros. Estabelecemos que o comprimento de difusão térmica $\sqrt{4\alpha t}$ estima a extensão da região afetada pelo calor, sendo α a difusividade

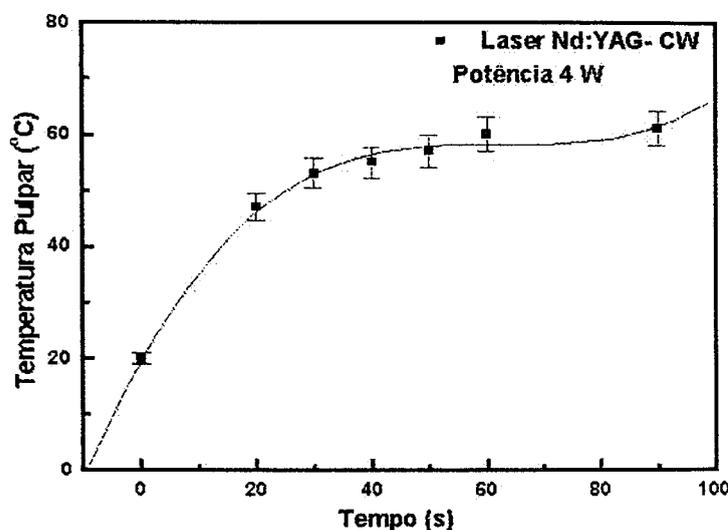


Figura 7.1: Valores da temperatura obtidos para um *laser* de Nd:YAG operando no modo contínuo.

térmica do material e t o tempo de aquecimento. Consideramos o aquecimento de um único pulso laser, t é a duração do pulso t_0 . Neste caso, *lasers* de pulso curto apresentam pequenas regiões afetadas pelo calor, *laser* chaveado, por possuir duração de pulso curta e alta potência de pico.

A duração do pulso do *laser* Nd:YAG chaveado corresponde a valores de 10 ns, 100 ns e 200 ns. O comprimento de de difusão é de $13.7 \mu\text{m}$ quando o *laser* aquece a superfície do esmalte por 10 ns .

Na tabela 7.2, temos as propriedades termofísicas dos tecidos dentais utilizadas para a realização dos cálculos analíticos propostos.

Tabela 7.2: Parâmetros térmicos de tecidos dentais duros usados no cálculo

	Condutividade térmica (cal/scm°C)	Capacidade térmica (cal/g°C)	Densidade (g/cm ³)
Esmalte	$2.23 \pm 0.11 \cdot 10^{-3}$	0.17	2.80
Dentina	$1.39 \pm 0.12 \cdot 10^{-3}$	0.38	1.96

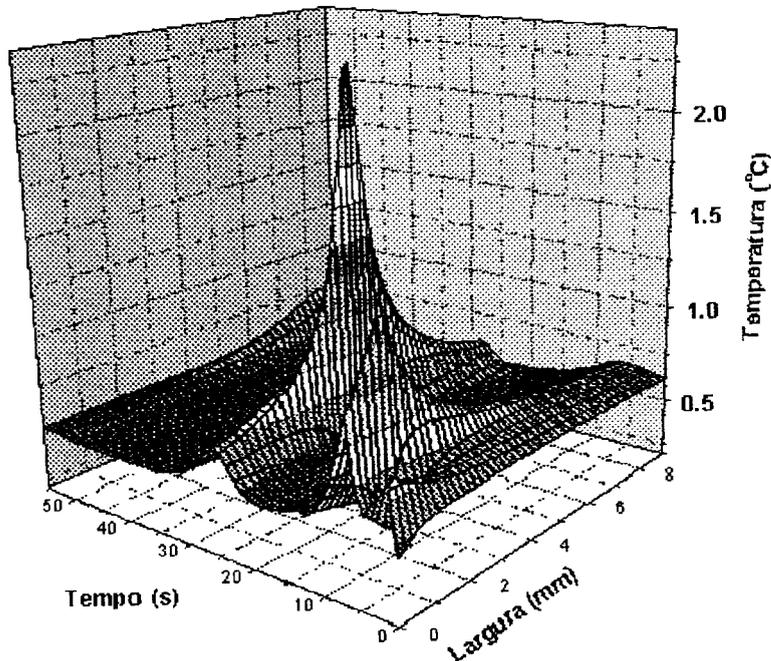


Figura 7.2: Mapeamento da variação da temperatura- (Valores Médios).

Como o alcance da difusão térmica é muito menor que a escala do diâmetro do feixe de luz no foco, isto é, abaixo de $100\mu m$, o calor flutuante do pulso de *laser* pode ser aproximado para a condução térmica de uma dimensão que é perpendicular para o aquecimento da superfície (direção z) assumindo uma superfície plana de um corpo semi-infinito que é aquecido uniformemente.

A equação de condução térmica é:

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} - \left[\frac{1}{\alpha} \right] \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \quad (7.1)$$

Para a primeira aproximação, é assumido que um pulso de laser retangular atua sobre a superfície ($z=0$).

$$I(t) = I \longrightarrow 0 \leq t \leq t_0 \quad I(t) = 0 \longrightarrow t(0, t)_{t_0} \quad (7.2)$$

A condição de contorno é:

$$AI(t) = -\kappa \left(\frac{\partial T}{\partial Z} \right)_{z=0}, \quad (7.3)$$

na qual A é o coeficiente de absorção do tecido para o feixe de laser, I é a densidade de energia e k é a condutividade térmica do material.

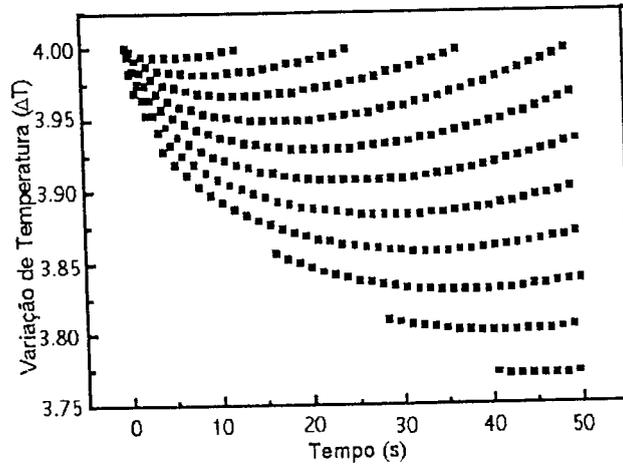


Figura 7.3: Variação da temperatura relacionado com a profundidade atingida pelo *laser*.

No estágio de aquecimento a temperatura para diferentes profundidades muda com o tempo, na qual $ierfc$ é a integral da função erro tabelada ($erfc$).

$$T(Z, t)_{0 \leq t \leq t_0} = \frac{2AI\sqrt{\alpha t}}{\kappa} ierfc \frac{Z}{\sqrt{4\alpha t}} \quad (7.4)$$

A temperatura da superfície corresponde a:

$$T(0, t)_{0 \leq t \leq t_0} = \frac{2AI}{k} \sqrt{\frac{\alpha t}{\pi}}. \quad (7.5)$$

Depois da ação do *laser* a temperatura para diferentes profundidades é:

A temperatura na superfície comporta-se de acordo com a equação abaixo:

$$T(0, t)_{t > t_0} = \frac{2AI\sqrt{\alpha}}{\kappa\sqrt{\pi}} [\sqrt{t}] - [\sqrt{t - (t_0)}] \quad (7.6)$$

Quando $t = t_0$, a temperatura da superfície assume o valor máximo dado por:

$$T_{max} = \frac{2AI}{\kappa} \sqrt{\frac{\alpha t_0}{\pi}} \quad (7.7)$$

7.3.2 Fluxo de calor numa região semi-infinita

Na literatura existem outros modelos analíticos que estimam a distribuição de temperatura, temporal e espacial induzida por radiação laser absorvida pela superfície [78, 79].

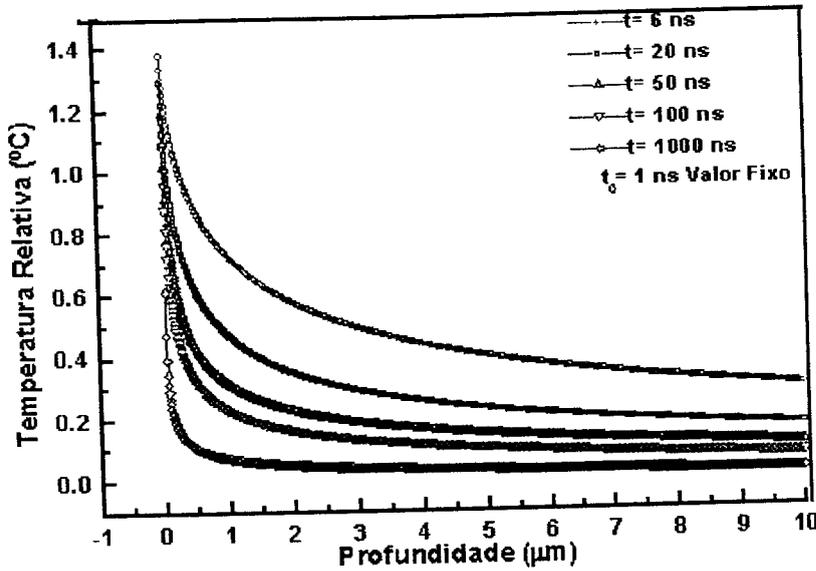


Figura 7.4: Variação da temperatura relacionado com o tempo de exposição.

O modelo aqui proposto supõe uma simetria radial da distribuição e que as propriedades térmicas do material absorvedor são constantes, devido ao fato de que pequenas variações locais serem pequenas.

A equação diferencial que fornece o fluxo de calor em uma região semi-infinita do material que sofre a radiação incidente, pode ser descrita por:

$$\nabla[k\nabla[T(r, z, t)] + A(r, z, t) = c\rho\frac{\partial T(r, z, t)}{\partial t} \quad (7.8)$$

na qual $T(r, z, t)$ representam a temperatura como função da posição radial (r), profundidade (z) e com o tempo (t), sendo que k 'e a condutividade térmica, ρ e a densidade do material, c o calor específico, e $A(r, z, t)$ representa a transferência de calor por unidade de volume e unidade de tempo como função da posição e do tempo.

A condição inicial e dada por:

$$T_{(r, z, t)} = T_0, t = 0, \quad \forall r, \quad \forall z \quad (7.9)$$

as condições de contorno são:

$$\frac{\partial T(r, z, t)}{\partial z} = 0 \quad em z = 0 \quad t > 0 \quad (7.10)$$

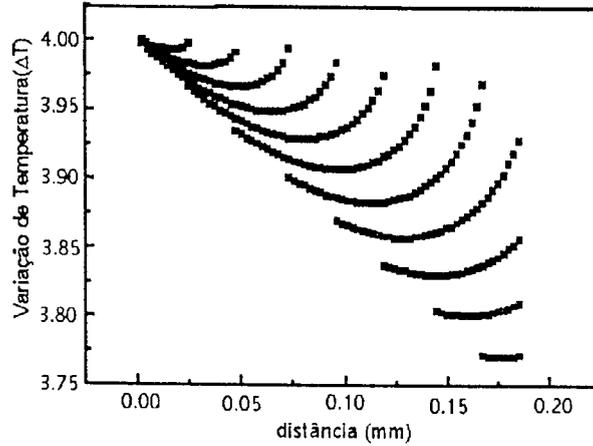


Figura 7.5: Comportamento térmico associado com a profundidade para diferentes larguras temporais.

Uma solução analítica da equação (7.11) pode ser aplicado também para uma placa de espessura L , para:

$$\frac{L^2}{4kt} \gg 1 \quad (7.11)$$

na qual t é o intervalo de tempo de interesse. Integrando a equação para uma fonte de luz, caracterizada por um perfil gaussiano de raio d , podemos obter:

$$T_{(r,z,t)} = \frac{E_0 d^2}{\rho c (\pi k t)^{1/2} (4kt + d^2)} \exp \left[-\left(\frac{z^2}{4kt} \right) - \frac{r^2}{(4kt + d^2)} \right] \quad (7.12)$$

na qual E_0 é a densidade de energia no centro do feixe, ρ a densidade do material, c é o calor específico e k é a difusividade térmica.

A elevação da temperatura como função da profundidade no esmalte dental irradiado para o comprimento de onda de 1.064 nm e larguras temporais de 6, 10, 100, 200 ns foi calculada analiticamente, conforme apresentado na figura. Os cálculos analíticos efetivados produzem temperaturas que aproximam-se de 3000 °C para a superfície externa [80]. A fusão do esmalte ocorre para temperaturas entre 800 e 1300 °C e a vaporização da hidroxiapatita ocorre para valores maiores de temperatura (1600 - 2000 °C).

É esperado que a temperatura exceda o ponto de fusão do esmalte, parte do material

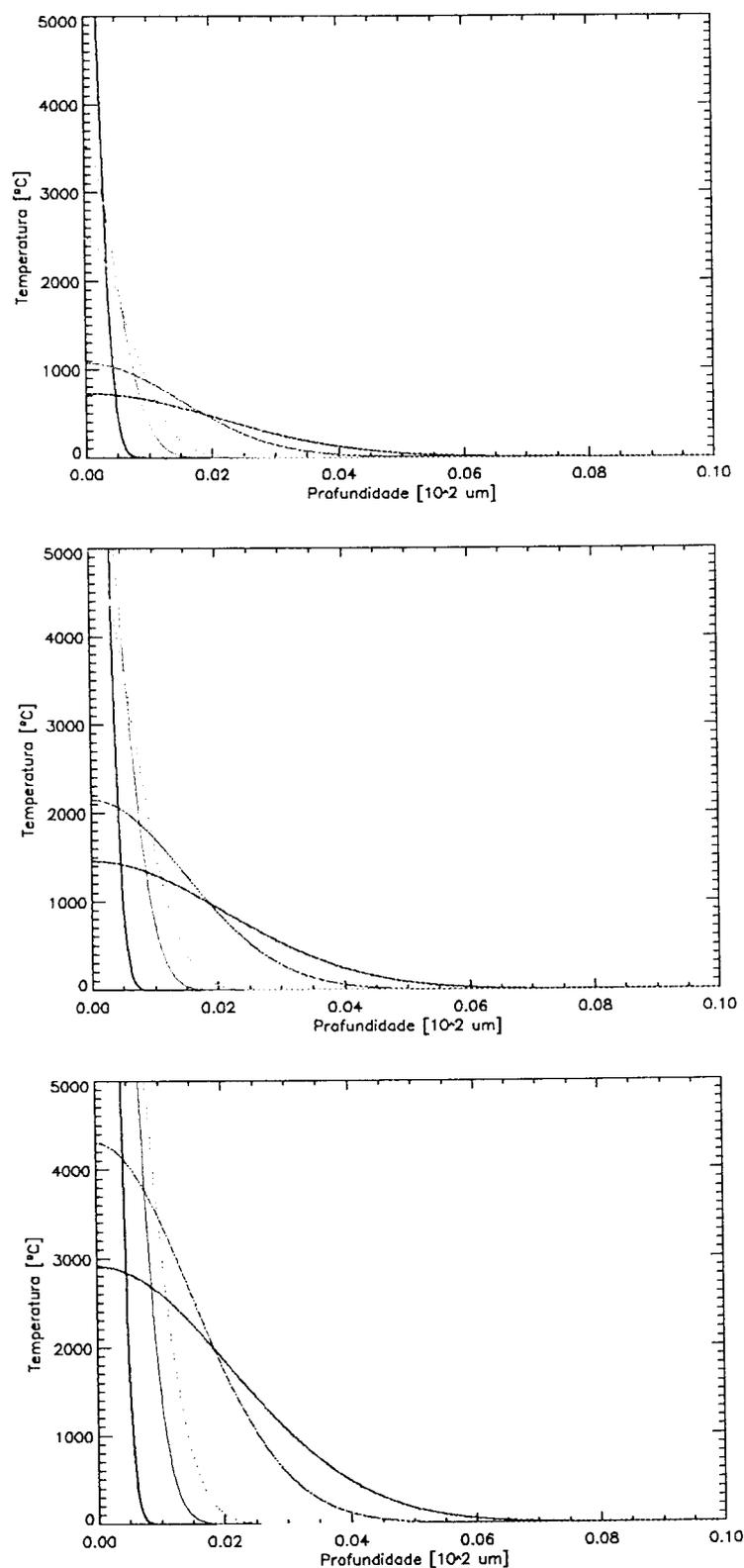


Figura 7.6: Variação da temperatura com a profundidade para o esmalte, com diferentes tempos fixos: 0.001 ms (verm), 0.005 ms (azul-claro), 0.01 ms (amarelo), 0.05 ms (verde), 0.1 ms (azul).

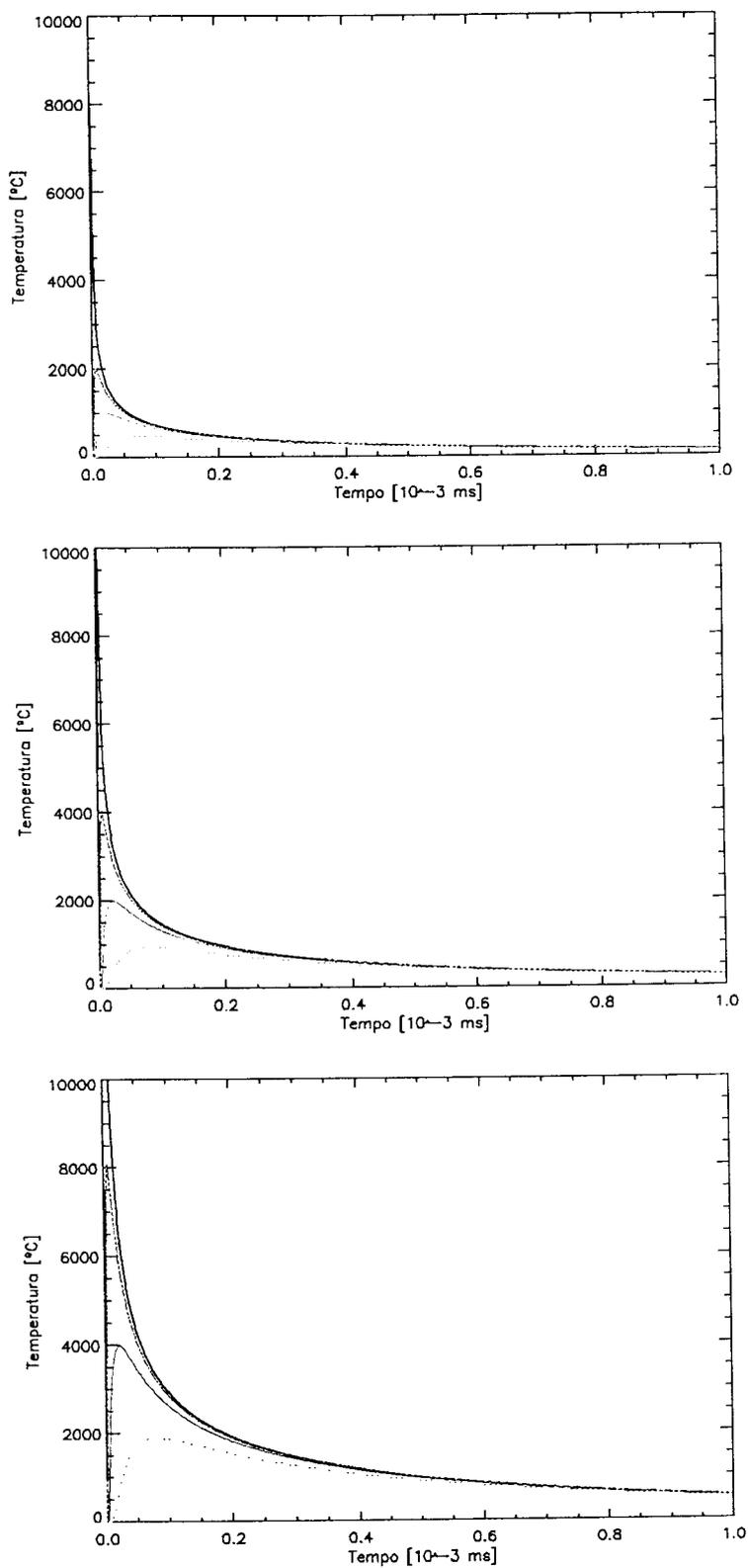


Figura 7.7: Variação da temperatura com o tempo para o esmalte, com diferentes profundidades fixas: 0.0 (vermelho), 0.01 (azul-claro), 0.02 (amarelo), 0.005 (verde). Em unidades de 0.01 μm .

é ejetado da superfície resultando na perda da energia depositada com concomitante redução na espessura da zona modificada.

Para muitos casos no qual o tecido é exposto à pulsos curtos o transporte de calor por convecção pode ser desconsiderado na vizinhança do ponto irradiado, devido a rápida mudança de temperatura nesta região.

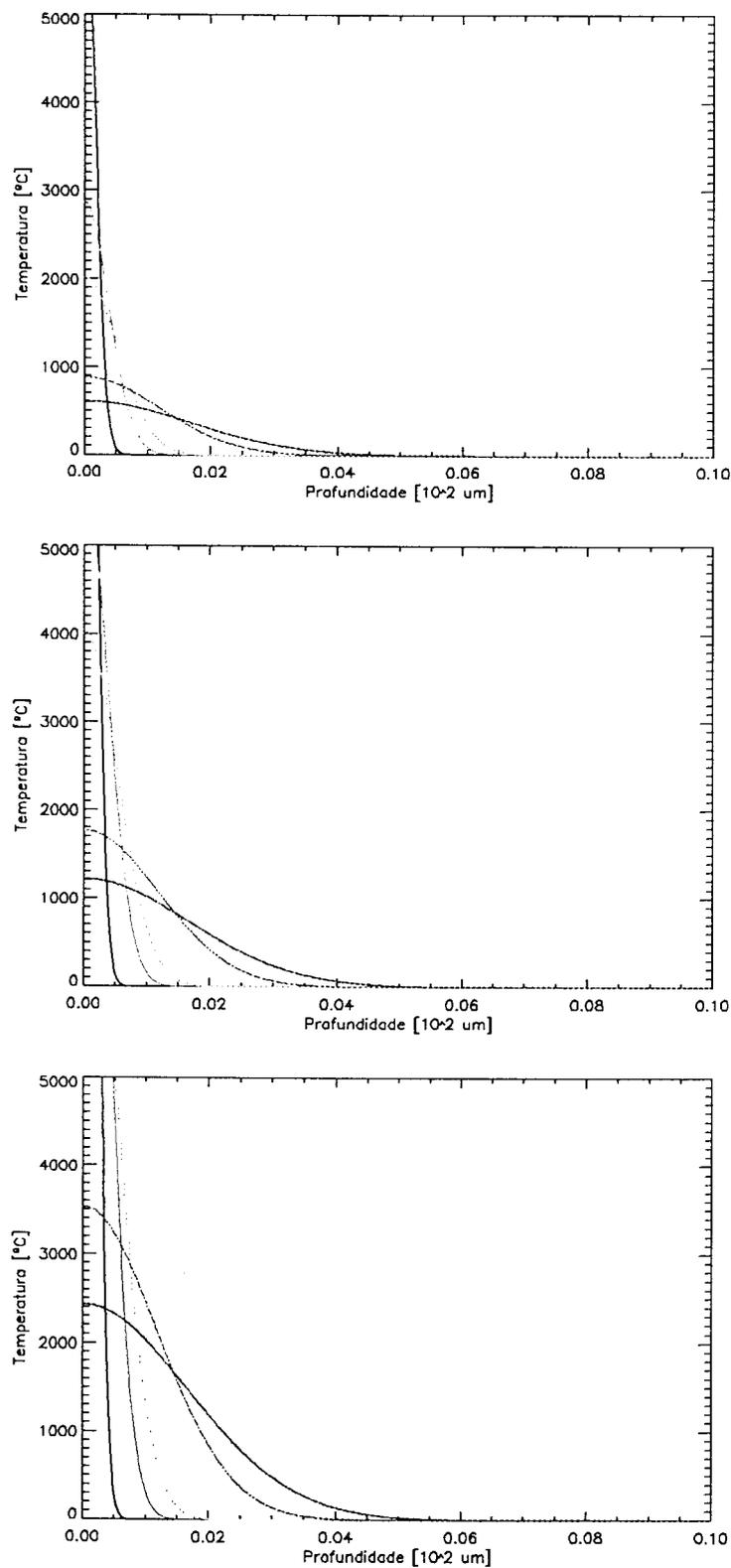


Figura 7.8: Variação da temperatura com a profundidade para a dentina, com diferentes tempos fixos: 0.001 ms (vermelho), 0.005 ms (azul-claro), 0.01 ms (amarelo), 0.05 ms (verde), 0.1 ms (azul).

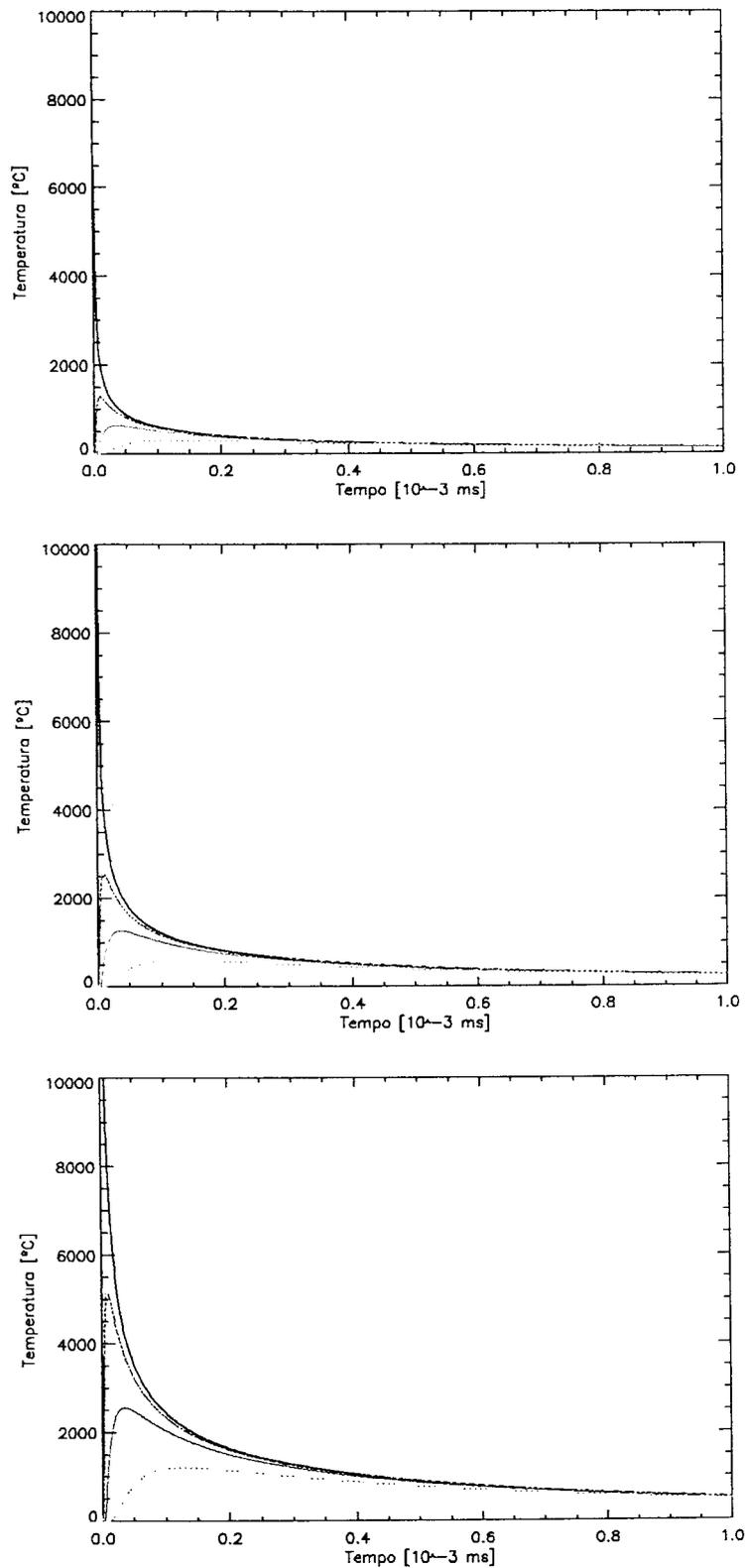


Figura 7.9: Variação da temperatura com o tempo para a dentina, com diferentes profundidades fixas: 0.0 (vermelho), 0.01 (azul-claro), 0.02 (amarelo), 0.005 (verde). Em unidades de 0.01 μm .

Capítulo 8

Conclusões

Os resultados obtidos mostram que as técnicas de MEV e EDS suplementam-se mutuamente na análise da morfológica e da composição química dos tecidos dentais. A partir dos resultados obtidos concluímos que o gradiente de temperatura no tecido ocasiona uma variação na morfologia e composição química das regiões analisadas indicando o mecanismo de propagação do *laser* do ponto de irradiação e em contornos ao redor da região de incidência.

Observamos mudanças morfológicas, nas propriedades físicas e químicas para todas as larguras temporais e densidades de energia aplicadas.

Para os experimentos realizados há um indicativo de que a razão Ca/P aumenta com a elevação da temperatura. Neste processo alguns íons de fósforo podem evaporar devido o fato do fósforo ser volatilizado com facilidade quando a temperatura é superior à 1125°C . A evaporação do fósforo é um dos indícios mais significativos para o aumento da razão Ca/P quando o tecido é tratado com *laser*.

A variação na densidade de energia, taxa de repetição e largura temporal demonstra as possíveis e ainda necessárias investigações valendo-se dos parâmetros utilizados. Os processos de interação *laser*-tecido resultam em arranjos altamente organizados e complicados dos prismas de esmalte e constitui um assunto com a necessidade de maior aprofundamento.

Nossos resultados sugerem um aumento na razão Ca/P para as condições de irradiação definidas nesta tese.

Através da análise morfológica por MEV observamos as formações decorrentes da

fusão e re-solidificação do esmalte, com aumento da rugosidade superficial com granulações variadas e com regiões de picos e vales sinuosos de acordo com o aspecto tridimensional visualizado nas micrografias eletrônicas obtidas no MEV, permitindo assim a incorporação de íons de distintos elementos químicos. Observamos um aumento na microdureza após a irradiação.

Os resultados obtidos pela técnica de FTIR comprovaram as mudanças no comportamento molecular inerente ao tecido dental complementando as análises morfológicas e químicas. Os resultados de análises químicas obtidos nesta tese para o grupo controle estão em acordo trabalhos publicados confirmando nossas hipóteses.

Para o esmalte dental humano irradiado com densidade de energia de 10 e 40 J/cm^2 , observamos uma modificação nas bandas características de amida I e amida II.

As amostras de dentina para 20 J/cm^2 , 6 ns indicaram modificação nos bandas de amida II, amida I e carbonato. Para a raiz bovina nas condições de 20 J/cm^2 , 6 ns também observa-se alterações nos grupos amida I e amida II.

Os resultados obtidos permitem-nos concluir que o tratamento *laser* promove mudança na razão proteína/mineral e uma aumento da área sob a curva obtida para os compostos dentais, entretanto essa mudança não é significativa para todos os tecidos avaliados.

Obtivemos valores de temperatura na câmara pulpar inferiores aos que ocasionam necrose da polpa. Sendo este fato indicativo da boa aplicabilidade deste *laser* para ações preventivas da doença cárie.

No capítulo 7 foi realizado, com o apoio de modelos existentes na literatura, uma simulação numérica o qual considerou os mecanismos térmicos associados a interação do *laser* de Nd:YAG com os tecidos dentais e verificando o efeito do mesmo em profundidade.

As simulaes numéricas indicaram que a temperatura aumenta com a densidade de energia aplicada e que o comportamento obtido está de acordo com as modificações morfológica devido o aumento de temperatura.

Bibliografia

- [1] Sugai, M., Igami, M.P.Z. Guia para elaboração de publicações técnico-científicas, São Paulo, IPEN, 1995. Guia para elaboração de Teses e Dissertações - Versão revisada, 1999.
- [2] Baratieri, L. N. Dentística: Procedimentos Preventivos e Restauradores. Edição 1992. Livraria Editora Santos.
- [3] Pinto, V. G. Epidemiologia das Doenças Bucais no Brasil, Revista Saúde Pública, vol, 31 n, 3, junho 1999.
- [4] Maillet, H.; O Laser:Princípios e Aplicação, Editora Manole Ltda, 1987.
- [5] Boari, H. G. D. Avaliação clínica da eficiência do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado na prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças e adolescentes. Dissertação de Mestrado em Ciências, na área de Tecnologia Nuclear—Materiais, IPEN, São Paulo, 2000.
- [6] Yamamoto, H.; Sato, K. Prevention of dental caries by acousto—optically Q—switched Nd:YAG laser irradiation. J. Dental Res. 59(2),137, fev. 1980.
- [7] Yamamoto, H.; Ooya,K. Potential of yttrium aluminium garnet laser in caries prevention. J. Oral Pathol. P.7—15, jan1974.
- [8] Morioka, T.; Tagomori, S.;Inai, Y. Incremental effect of acid resistance acid remineralization on incipient caries of enamel with laser irradiation. J. Jpn Soc Laser Den, v.2, p.1-9,1991.

- [9] Eduardo, C. P.; Cecchini, R.C.M.; Cecchini, S.C.M.; Zezell, D.M. Clinical uses of Neodymium laser in Dentistry. Invited paper, Dental Outlook (special issue) 12, 29-34, 1994.
- [10] Cecchini, R..C.M; Zezell, D.; Salvador, V.; Eduardo, C. P. In vitro analysis of the Nd:YAG laser in enamel using X-ray fluorescence and scanning electron microscopy. SLA 1997 (Symposium of Lasers and Proceedings and their Applications) 3-5 December 97- Campinas-SP-Brazil.
- [11] Altshuler, G. B.; Belashenkov, N. R.; Karabev, V. B.; Skripnik, A. V.; e Solunin, A. A.; Laser Destruction of a Demineralized Dentine; Optics and Spectroscopy, vol.85, 4, 1998, p. 627-630.
- [12] Niccoli, W; Neves,A.C.C.; Penna, L.A.P, et. al; Removal of epulis fissuratum associated to vestibuloplasty with carbon dioxide laser. Laser Med. Sci. 14: (3) 203-206 1999.
- [13] Gouw-Soares, S.; Tanji, E.; Matson, E.; Lage-Marques J.; Eduardo, C. P.; Apicectomy with Er:YAG and Nd:YAG lasers-SEM and permeability study of dentine cut surface. Journal of Dental Research 78: (5) 1008-1008 Maio 1999.
- [14] Gouw-Soares, S.; Gutknecht, N.; Conrads, G.; Lampert, L.; Matson, E.; Eduardo, C.P. The bactericidal effect of Ho:YAG laser irradiation within contaminated root dentinal samples. Journal of Clinical Laser Medicini & Surgery 18: (2) 81-87 abril 2000.
- [15] McDonald, A., Claffey, N., Pearson, G., Blau, W., Setchell, D. The effect of Nd:YAG pulse duration on dentine crater depth, Journal of Dentistry 29, 43-53, 2001.
- [16] Cobb, C. M., Cawley, T. K. Killoy, M. J. A preliminary study on the effects of the Nd:YAG laser on root surfaces and subgingival microflora in vivo. J. of Periodontol., v. 63, n. 8, p. 287 - 91, 1992.
- [17] Bahar, A., Tagomori, S. The effect of normal pulsed Nd:YAG laser irradiation on pits and fissures in human teeth. Caries Res., 28, n6, p. 460-467, Nov/dez. 1994.

- [18] Morioka, T., Suzuki, K., Tagomori, S. Effect of the beam absorptive mediators on acid-resistance of surface enamel by Nd:YAG laser irradiation. *J. Dent. Health*, 34:40-44, 1984.
- [19] Myaki, S.I. Efeitos da irradiação da luz *laser* Nd:YAG nos sulcos e fissuras de pré-molares humanos: estudo in vitro, empregando o MEV. Dissertação de Mestrado.
- [20] Morioka, T.; Tagomori, S.; Nara, Y.; Application of the Nd: YAG laser and fluoride in the prevention of dental caries. Proceedings of the International Congress of Laser in Dentistry, Tokyo, Japan, 5-6 August 1988.
- [21] Featherstone, J. D. B.; Fried, D., Bitten, E.R., Mechanism of laser induced solubility reduction of dental enamel, Conference on Lasers in Dentistry III, San Jose, California, february 1997.
- [22] Verlangieri, J., Estudo in vitro do efeito do *laser* de Nd:YAG e Er:YAG sobre o esmalte dental humano através de microscopia eletrônica de varredura. 2001. Dissertação do Mestrado Profissionalizante *Lasers* em Odontologia - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- [23] Stern, R. H., Sognaes, R. F. Laser beam on dental hard tissues. In: International Association for Dental Research. General Session and Exhibition, 42. Los Angeles, mar. 19 -22, 1964. Abstract of papers. Los Angeles. *J. Dent. Res.* v. 43, n. 5, p. 873, [Resumo n. 307], 1964.
- [24] Morioka, T.; Tagomori, S.; Tsutsuni, H. Effect of laser irradiation on fluoride uptake in enamel by EPM surface scanning. Abstract 1986.
- [25] Morioka, T.; Tagomori, S.; Tsutsuni, H. Effect of laser irradiation on fluoride uptake in enamel by EPM surface scanning. Abstract 1986.
- [26] Morioka, T.; Tagomori, S.; Tsutsuni, H. Increase in acid resistance of hamsters enamel by using a normal pulse Nd:YAG laser. *Fukuoka Acta Med.*, V.76(2) p.49 abstract, 1985.

- [27] Morioka, T.; Tagomori, S. Enhancing effects of Nd:YAG laser on remineralization of incipient dental caries. SPIE vol.1066 p.217-220.1989.
- [28] Tagomori, S.; Morioka, T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.* 23: 225-231 1989.
- [29] Oho, T.; Morioka, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of dental human enamel by laser radiation. *Caries Res.* 24:86-92 1990.
- [30] Cecchini, R. C. M. Dissertação de Mestrado 1997-USP- Estudo in vitro do efeito do laser de Nd:YAG no esmalte dental: análise de fluorescências de Raios-X e microscopia eletrônica de varredura SLA 1997 (Symposium of Lasers and Proceedings and their Applications) 3-5 December 97- Campinas-SP-Brazil.
- [31] Morioka, T., Morita, E., Suzuki, K., An increment of acid resistance of dental enamel with the irradiation of various types of laser beam. *J. Jap. Soc. Laser Med.*, 3:605-624, 1982.
- [32] Pelino, J.E.P.; Mello, J.B.; Eduardo, C.P.; Jorge, A.O.C. In vitro study of Nd:YAG on human dental enamel: Optical and scanning electron microscope analysis. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 17(4):171-7, 1999.
- [33] Niccoli, W.; Furlani, J.C.; Schwab, C.; et. al; Intrapulpar temperature during continuous laser irradiation in human molars: An in vitro study. *J. Laser Appl* 9: (6) 291-294 Dezembro 1997
- [34] Lizarelli, R.F.Z., Kurachi, C., Misoguti, L., Bagnato, V.S. A comparative study of nanosecond and picosecond laser ablation in enamel: morphological aspects, *Journal of Clinical Laser Medicine Surgery* 18:(3) 151-157, jun 2000.
- [35] Rohanizadeh, R.; Jean, A.; Dalcusi, G. Effects of Q-switched Nd:YAG laser on Calcified Tissues, *Laser Med Sci* 1999, 14:221-227.
- [36] Frentzen, M., Koort, H.J. Laser in Dentistry: new possibilities with advancing laser technology, *International Dental Journal* 1990, 40:323-332.

- [37] White, J. M., Goodis, H.E., Marshall, G.W. Identification of the physical modification threshold of dentin induced by neodymium and holmium YAG laser using scanning electron microscopy, *Scanning Microscopy* 1993,7:239-246.
- [38] Orban's Oral histology and embryology, edited Sicher, H.; The C. V. Mosby Company, Sant Louis 1966.
- [39] Katchburian, E.; Arana, V. *Histologia e embriologia Oral*, editora Médica Panamericana, 1999.
- [40] Russo, R.E., *Laser ablation*, *Applied Spectroscopy*, V.49,n.9,p.14A-28A, 1995.
- [41] Maldonado, E.P.; Ribeiro, M.S.; Zezell, D.M.; *Mecanismos de Interação laser tecido*, 2001 (Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia), IPEN-SP, 2001.
- [42] Manual Technical JEOL. <http://www.jeol.com>.
- [43] Zezell, D.; Bonk, P.; Salvador, V.; Rossi, W.; Ranieri, I.; Bachman, L.; Vieira, N.; Morato, S.; Combined effect of Holmium laser and fluoride in prevention of dental caries in vitro. 1997.
- [44] Eduardo, P.L.P. Estudo in vitro das alterações morfológicas e químicas do esmalte dental bovino irradiado pelo laser de Hólmio, *Dissertação de Mestrado em Ciências, na área de Tecnologia Nuclear—Materiais*, IPEN, São Paulo, 2001.
- [45] Antunes, A.; Rossi, W. de; Salvador, V.; Zezell, D. M. Relationship between mineral composition and hardness of the human dental treated with short pulsed Nd:YAG laser in caries prevention. In. 1st Congress of the European Society for Oral Laser Applications, 05, 2001, Vienna.
- [46] Bertin, Eugene P. *Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis*, Plenum Press, New York-London, 1970.
- [47] *Elemental Analysis*, Asoma Bench-Top XRF Analyzers, 1998.
- [48] Silverstein, R.M.; Bassler, G. C.; Morrill, T.C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, trad. Alencastro, R.B., editora Guanabara Koogan, 1991.

- [49] De Soete, D.; Gijbels, R.; Hoste, J.; Neutron Activation Analysis, John Wiley and Sons, Londres, 1972, p177.
- [50] Zhang, G.M.; Ko, W.F.; and Ng, S.J., " Submerged Precision Machining of Ceramic Material", Proceedings of 1995 Joint ASME Applied Mechanics Materials Conference, AMD-Vol. 208, pp.65-79,1994.
- [51] Zhang, G. M., Ng, S.J., Le, D. T., "Characterization of Surface Cracking Formed During the Machining of Ceramics Material", Proceedings of 1995 ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition, MED-Vol.,2-1,pp.415-429,1995.
- [52] Rekow, D.; Zhang, G.M.; Thompsom, V.P., " Machining Ceramic Materials for Dental Restorations", Proceedings of International Conference on Machining of Adavanced Materials, NIST Special Publication 847, 1993.
- [53] Rekow, D., "Dental CAD/CAM Systems: What is the State od the Art?", Journal of the American Dental Association, Vol.122, 43-48,1991.
- [54] Boyde, A., " The Development of Enamel Structrure", Proceedings of the Royal Society of Medicine, 60, pp. 923-929, 1967.
- [55] Boyde, A., and Fortieus, M., "Development, Structure and Function of Rhinoceros Enamel", Zoological Journal of the Linnean Society, 87, pp.181-214, 1986.
- [56] Kuramoto Jr,M.;Matson, E.; Turbino, M.L.; Marques, R.A., Microhardness of Nd:YAG laser Irradiated Enamel Surfaces, Braz Dent J (2001)12 (1):31-33.
- [57] Fried,;D., Zuerlein; M. J., Featherstone; J. D. B.; Machule; D., Thermal and chemical modification of dentin by pulsed laser irradiation at 9–11m, Conference on Lasers in Dentistry III, San Jose, California, fevereiro 1997.
- [58] Davidson,C.L.,Hoeska,I.S. and Arends,J. Caries Res. 8:135-144, 1974.
- [59] Gutierrez-Salazar, M.P.; Reyes-Gasga, J. Microhardness and chemical composition of human tooth, Materials Research, Vol.6, No.3, 2003.

- [60] Kuroda, S.; Flower, B.O. composicional, structural and phase changes in in vitro laser irradiated human tooth enamel. *Calcif Tissue Int* 1984;36:361-369.
- [61] Lin, Chun-Pin; Lee, Bor-Shiunn; Lin, Feng-Huei; Kok, Sang-Heng; Lan, Wan-Hong, Phase, composicional, and morphological changes of human dentin after Nd:YAG laser treatment, *Journal of Endodontics*, vol.27, No 6, June 2001.
- [62] Boulnois, J. L. *Matériaux et lasers de haute puissance*. In: *Le laser principes et techniques d'application*. Maillet A H, editor. Paris: Technique et documentation-Lavoisier, pp. 112-121.
- [63] Zipkin, I. The inorganic composition of Bones and Teeth. In: *Biological Calcification, Cellular and Molecular aspects*. Sebraer, H. ed. Meredith, New York, p.60-103, 1970.
- [64] Pelino, J.E.P., *Análise morfológica e espectrofotométrica do esmalte e dentina irradiados com lasers de Nd:YAG e Er:YAG- Estudo in vitro*, Tese de doutorado, 2002.
- [65] Locardi, B.; Pazzalia, U.E.; Gabbi, C.; Profilo, B.; Thermal behavior of hydroxyapatite for medical applications. *Biomaterials* 1993;14:437-41.
- [66] Kinney, J.H.; Balloch, M.; Marshall, S.J.; Marshall, G.W.; Weihs, T.P. *Archs Oral Biol.*, V.41, p.9-13, 1996.
- [67] Craig, R.G.; Peyton, F.A. *J.Dent.Res.*, v.37, p.661-668, 1958.
- [68] Collys, K., Slop, D., Cleymaet, R., Coomans, D., Michotte, Y. *Dent Mater.*, v.8, p.332-335, 1992.
- [69] Wilson, T.G., Love, B. *Am. J. Orth. and Dentofacial Orthop.*, v.107, p.379-381, 1995.
- [70] Gutierrez-Salazar, M.P., Reyes-Gaza, J. *Materials Research*, v.6, No.3, 2003.
- [71] Robinson, C.; Weatherell, J.A.; Hallsworth, A.S. *Caries Res.*, V.15, p.70-77, 1981.

- [72] Sagi, A.; Shitzer, A.; Katzir, A. Heating of biological tissue by irradiation: theoretical model, Vol 31 (7), pp.1417-1424 (1992).
- [73] McKenzie, A. L.; Ohysics of thermal process in laser tissue interaction, Phys. Med. Biol. 35, 1175-1209 (1990).
- [74] Zuerlein, M.J.; Fried, D.; Featherstone, J.D.B. Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel, Lasers in Surgery and Medicine 25:335-347 (1999).
- [75] Sagi, A.; Segal, T.; Dagan, A numerical model for temperature distribution and thermal damage calculations in the teeth exposed to a CO_2 laser.
- [76] Zach, L.; Cohen, G. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg., v. 19, p.515-530, 1965.
- [77] Eriksson, A. R.; Albrektsson, T.; Temperature threshold levels for heat induced bone tissue injury: a vital microscopic study in the rabbit. J. Prosthet. Dent. v.50, p. 101-107, 1983.
- [78] Ready, J.F. Effects of high-power laser radiation. New York: Wiley, 1990.
- [79] Castellini, P.;Revel, G.M.; Scalise, L.; De Andrade, R.M. Experimental and numerical investigation on structural effects of laser pulses for modal parameter measurement, Optics and laser Engineering, 32 (2000)565-581.
- [80] Fried,D.; Zuerlein, M.; Featherstone,J.D.; Seka, W.; Duhn, C.; McCormack, S.M.; IR laser ablation of dental enamel:mechanistic dependence on the primary absorber, Applied Surface Science 127-129 (1998) 852-856.

Apêndice A

Anexo 1

Trabalho aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do IPEN.

Parecer - Projeto Nº 0015/CEP-IPEN/SP

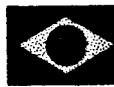
Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa "Laser de neodímio em odontologia: alterações físicas e químicas em prevenção de cáries", de responsabilidade do(a) pesquisador(a) **Andrea Antunes Pereira** foi considerado **APROVADO**.

São Paulo, 13 de Junho de 2000.


Dra. Martha Marques Ferreira Vieira
Coordenadora do CEP-IPEN



M23076



Ministério
da Ciência
e Tecnologia

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Diretoria de Ensino & Informação Científica e Tecnológica

Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 Cidade Universitária CEP: 05508-000

Fone/Fax(0XX11) 3816 - 9148

SÃO PAULO - São Paulo - Brasil

<http://www.ipen.br>

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Turismo do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência e Tecnologia, e associada à Universidade de São Paulo.